

論 文 内 容 要 旨

報 告 番 号	甲 薬 第 225 号	氏 名	山本 淳平
学位論文題目	ヒト卵胞液で産生されるリゾホスファチジン酸とその卵丘膨化促進作用		
<p>筆者が所属する研究室は、ヒト卵胞液(FF)中に存在する高濃度のリゾホスファチジン酸(LPA)がリゾホスホリパーゼ D (lysoPLD) によりリゾホスファチジルコリン (LPC) から産生されること、LPA がマウスとハムスターの体外卵成熟を促進することを報告している。本研究では、質量分析法を用いて体外受精を行う不妊治療患者の hFF 中の LPC・LPA 濃度の再吟味と、FF に分泌されている lysoPLD 活性を酵素共役蛍光法によって解析した。さらに上記の結果を卵母細胞の臨床データと照らし合わせることで LPA 産生・代謝経路の生理学的意義を明らかにしようと考えた。また、B6C3F1 雌マウスの卵丘-卵母細胞複合体 (COC) に LPA、卵胞刺激ホルモン(FSH)、上皮細胞成長因子(EGF)、または Gi タンパク共役型 LPA 受容体アンタゴニスト、ホスファチジルイノシトールホスホリパーゼ C(PI-LPC)、プロテインキナーゼ C(PKC)および MAP キナーゼの各種阻害剤を加えた場合の遊離型および結合型ヒアルロン酸 (HA) 濃度を測定し、LPA の HA 産生促進作用および作用機序を解析した。</p> <p>hFF 中の LPA 濃度は 20-30 μ M と高値で、多価不飽和型 LPA に富んでいた。lysoPLD 活性が抗オートタキシン(ATX)抗体で沈降することから、hFF 中の ATX により LPA が産生されることが示唆された。また、FF と LPA をインキュベートすると飽和型 LPA 濃度が有意に減少したが、不飽和型 LPA は減少しなかったことから、分泌型 LPA 分解酵素が飽和型 LPA に選択性を示すことが、hFF 中に高濃度多価不飽和型 LPA が存在する一因と考えられる。マウス COC 中に LPA を加えた結果、遊離型 HA が有意に増加したが、FSH と EGF には及ばなかった。さらに LPA 受容体アンタゴニストや PI-PLC 阻害剤添加では LPA の HA 合成促進作用は有意に低下したが、EGF および FSH による HA 合成は抑制されなかった。一方、PKC や MAP キナーゼの各種阻害剤添加では、LPA、EGF、FSH による HA 合成は抑制された。これらの結果から、LPA は LPA 受容体から EGF 受容体、PKC、MAP キナーゼの活性化を介して HA 産生誘導し、FSH および EGF と協調的に働くことが推定された。</p> <p>本研究では、FF が持つ特殊な LPA 分子種組成の要因は、卵丘細胞や顆粒膜細胞などの卵巣体内細胞が、不飽和 LPA よりも飽和 LPA をより効率的に分解あるいは取り込むことが一因と考察した。さらに LPA の生理活性として COC の遊離型 HA 分泌を促進することで卵丘膨化を引き起こすことを明らかにし、LPA が卵丘細胞との結合を介して COC へ複数のシグナルを送り込んでいることが推定された。</p>			