OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ラット卵巣におけるエストロゲン合成の酵素の局在と，エストロゲン合成に関与する細胞の超微構造について
Author(s)	平林，朋子
Citation	大阪大学，1989，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36079
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【14】

氏名・(本籍)	平林朋子（ひらばやしともこ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第8584号
学位授与の日付	平成元年3月24日
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**ラット卵巣におけるエストロゲン合成の酵素の局在と，エストロゲン合成に関与する細胞の超微構造について**
論文審査委員	(主査) 教授 藤田 尚男 (副査) 教授 松本 圭史　教授 橋本 一成

論文内容の要旨

〔目的〕

卵巣の分泌する女性ホルモンの一つであるエストロゲンが，どの細胞でどのように生合成され，分泌されるかについては，多くの研究がなされ，種々の説が出されているが，形態学的には明らかな解決をみていない。すなわち(i)エストロゲン合成の全過程が内卵胞膜細胞（theca interna cell）でおこるとする説と，(ii)コレステロールからアンドロゲンに至る過程が内卵胞膜細胞でおこなわれ，作られたアンドロゲンが顆粒層細胞（granulosa cell）に運ばれその中でエストロゲンになるという説がある。

この研究は，エストロゲン合成の場を形態学的に明らかにするために(i)アンドロステンジオンからテストステロンを合成する17β水酸基脱水素酵素および(ii)テストステロンからエストラジオールを合成するアロマターゼの局在を免疫組織化学的に検索し，さらにこれらの反応に関与する細胞の超微構造を観察し，エストロゲン産生能との関係を追求したものである。

〔材料と方法〕

Wistar系の成熟雌ラット（8週齢）と，幼若雌ラット（1週齢，2週齢，3週齢）を用いた。

4％paraformaldehyde で灌流固定後卵巣を取り出し，凍結切片を作製し，第1抗体として(i)ウサギ抗17β水酸基脱水素酵素抗体および(ii)ウサギ抗アロマターゼ抗体を，第2抗体としてＦＩＴＣでラベルした抗ウサギIgGを用い，蛍光顕微鏡で観察した。

また，これらのラットについて，3％glutaraldehyde で灌流固定後，卵巣を取り出し，オスミウム酸で後固定した。酢酸ウラニールでブロック染色後，脱水，包理，超薄切片を作製，酢酸鉛で後染色し，電子顕微鏡で観察した。

〔成績〕

免疫組織化学

成熟ラットの卵巣には種々の発育段階の卵胞，黄体，間質腺が存在する。17β水酸基脱水素酵素は，二次卵胞の内卵胞膜細胞と間質腺細胞に強い陽性を呈し，顆粒層細胞，卵母細胞，腹膜上皮細胞は陰性であった。アロマターゼは，大きな二次卵胞で排卵前と思われる卵胞の顆粒層細胞に陽性を呈した。そのうち卵丘の中のものや卵胞腔寄りの顆粒層細胞は，陰性あるいは弱い陽性であった。またいくつかの黄体では，弱いながらも陽性を呈する黄体細胞がみられた。内卵胞膜細胞，間質腺細胞，腹膜上皮細胞は陰性であった。

一週齢，二週齢，三週齢の幼若ラット卵巣には多くの一次卵胞，少数の二次卵胞，および間質腺が存在するが，成熟卵胞や黄体はまだみられない。17β水酸基脱水素酵素は二週齢以後の卵巣の，比較的大きな二次卵胞の内卵胞膜細胞および間質腺細胞にのみ陽性であった。アロマターゼは三週齢に至るまで，どの細胞にもみられなかった。

超微構造

成熟ラットの卵巣で，17β水酸基脱水素酵素陽性を呈するような大きい卵胞の内卵胞膜や間質腺には線維芽細胞様細胞に混じって(ⅰ)よく発達した滑面小胞体（sER），(ⅱ)管状又は小胞状のクリステをもつ卵円形や球形のミトコンドリア，(ⅲ)脂肪滴，の三者を備えた，いわばステロイド産生細胞の特徴をよく示す細胞が多くみられる。また幼若ラットの卵巣で，内卵胞膜や間質腺が17β水酸基脱水素酵素陽性を呈してくる時期（二週齢）には，これらの中にステロイド産生細胞に特徴的な上記の三つの要素を備えた細胞が出現する。またアロマターゼ陽性を呈する成熟卵胞の顆粒層細胞は，よく発達した粗面小胞体（rER），層板状のクリステをもつミトコンドリア，ゴルジ装置などを有するが，内卵胞膜細胞や間質腺細胞のような特徴は示さない。

〔考察と総括〕

(1) エストロゲンは，卵巣ではコレステロールからプレグネノロン，プロゲステロン，アンドロステンジオン，テストステロンを経て作られる。本研究では(ⅰ)アンドロステンジオンからテストステロン合成に必要な17β水酸基脱水素酵素と(ⅱ)テストステロンからエストラジオール合成に必要なアロマターゼ，の局在を形態学的に検索した結果，ラット卵巣では，前者は内卵胞膜細胞と間質腺細胞に，後者は大きな二次卵胞の顆粒層細胞にのみ陽性を呈することを示した。なおわれわれは既に，コレステロールからプレグネノロンを合成するコレステロール側鎖切断酵素が卵巣の内卵胞膜細胞，間質腺細胞，黄体細胞のミトコンドリアに存在することを形態学的に示してきた。またプレグネノロン以後の合成酵素についても生化学的に内卵胞膜細胞に存在する報告が数多くある。これらの事実は，コレステロールからテストステロンまでの合成の場が内卵胞膜細胞や間質腺細胞であり，テストステロンからエストラジオールの合成の場が顆粒層細胞であることを示している。

(2) 二週齢の幼若ラット卵巣で，既にテストステロン合成酵素の17β水酸基脱水素酵素が出現していること，テストステロンからエストラジオールを合成する酵素であるアロマターゼが存在しないことを形態学的に示した。二週齢のこの時期に血中のテストステロンの急激な増加がおこることが生化学的に報告さ

れているが，今回の研究は，このことを形態学的に裏付けるものである。

(3) 卵巣で，コレステロールからテストステロンまでの生合成に関与する細胞（内卵胞膜細胞と間質腺細胞）が超微構造的に副腎皮質や精巣の間細胞のようなステロイド産生細胞の特徴，即ち(i)発達した滑面小胞体，(ii)管状又は小胞状のクリステをもつ卵円形や球形のミトコンドリア，(iii)脂肪滴，の三者を備えているのに対し，最後の段階であるテストステロンからエストロゲンに至る反応をおこなう顆粒層細胞には蛋白合成細胞の特徴のみが見られることは興味深い。おそらく，この細胞のリボゾームで合成されたアロマターゼによって，テストステロンからの反応が，細胞内のどこかでおこるものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

本研究は女性ホルモンであるエストロゲンの卵巣での合成の場とメカニズムを形態学的に明らかにする目的で行なわれたものである。(1)アンドロステンジオンからテストステロンを合成する17β－水酸基脱水素酵素は内卵胞膜細胞や間質腺細胞に，テストステロンからエストラジオールを合成するアロマターゼは顆粒層細胞に存在することを免疫組織化学的に示した。(2)テストステロンを合成する内卵胞膜細胞や間質腺細胞が超微構造的にステロイド産生細胞の特徴をもつのに対し，エストロゲン合成の最終段階を行う顆粒層細胞では滑面小胞体はほとんど発達しないことを示した。さらに，(3)テストステロン合成能の出現は二週齢から，エストロゲン合成能の出現は三週齢以後であることを形態学的に明らかにした。

本研究はエストロゲン合成のメカニズムを形態学的に解明する上で大きな意義があり，学位授与に充分に値するものである。