



Title	Human peripheral blood polymorphonuclear leukocytes at the ovulatory period are in an activated state
Author(s)	Shirai, F
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/44508
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	白井文恵
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 17972 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Human peripheral blood polymorphonuclear leukocytes at the ovulatory period are in an activated state (ヒト末梢血好中球は排卵期に活性化状態にある)
論文審査委員	(主査) 教授 本田 武司 (副査) 教授 山西 弘一 教授 杉本 央

論文内容の要旨

【目的】

好中球は、感染防御の役割を担う食細胞であり、細菌などの貪食により活性化し、活性酸素を産生することが知られている。感染徴候のない成人の末梢血好中球の活性酸素産生量を測定したところ、男性では一定の低値を示すのに対し、女性では「ばらつき」があり、活性化状態と考えられる値もいくつか見られた。これらの女性には、排卵期であったという共通点が認められたことから、排卵が好中球の活性化と関係しているのではないかと推察された。そこで、排卵日の前日に血中濃度が極大になることで知られる黄体化ホルモン luteinizing hormone (LH) に注目した。

本研究では、月経周期と好中球の活性酸素産生量の関連、及び、下垂体 LH の好中球に対する作用について調べ、さらに、好中球における LH receptor の細胞内合成、並びに、好中球上に発現している LH receptor の存在を確認することで、排卵期と好中球の活性化との関係について明らかにすることを目的とした。

【方法ならびに成績】

1. 好中球の産生する活性酸素、活性窒素と月経周期との関連

感染徴候および妊娠徴候のない女性 20 名を対象に月経期、排卵期、黄体期の各期に採血を行い、Percoll 密度勾配遠心法により好中球を精製分画した。排卵期の確認は、基礎体温測定パターン、尿中 LH 量の半定量的測定陽性、超音波診断法による腹壁上からの卵胞の消失の確認の 3 方法により行った。好中球の活性酸素産生量はスコポレチンによる蛍光発光法により、活性窒素産生量はルミノールによる化学発光法により測定した。その結果、排卵日と推察される日を含めた前後 3 日間の好中球にのみ、月経期と黄体期に比較して有意に高い活性酸素産生が見られた。活性窒素については、排卵日と推察される日の好中球にのみ有意に高い産生が見られた。

次に、月経期又は黄体期の好中球に精製した下垂体 LH を作用させ、産生される活性酸素、活性窒素量を測定した。その結果、好中球は LH に反応し、濃度依存的に、活性酸素を産生した。その産生量は、好中球が細菌などを貪食して産生する量と同程度であった。また、この活性化が、ヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) や卵胞刺激ホルモン (FSH) では起こらず、LH に特異的であることも明らかになった。通常、細菌感染時は好中球を含めた末梢血白血球数の増加が見られるが、排卵期に白血球数の増加は見られなかった。

2. 好中球の細胞膜上に発現する LH receptor の検出

LH receptor の細胞内合成を調べるために、好中球から RNA を抽出し、卵巣 LH receptor のプローブを用いて RT-PCR を行った。その結果、好中球には LH receptor に対応する mRNA が存在することが明らかとなった。更に、下垂体 LH を放射性沃素で標識し、好中球への結合を *Scatchard analysis* により解析した。その結果、好中球一個当たり約 17,000 個の LH 結合サイトが存在することが明らかになった。

【総括】

ヒトの末梢血好中球は、排卵期にのみ高い活性酸素、活性窒素を産生することが明らかになった。また、**Luteinizing hormone** は好中球を活性化させ、活性酸素を産生させた。好中球は、細胞内で **Luteinizing hormone** レセプターを合成し、細胞膜上に約 17,000 個のレセプターを発現していた。

排卵期のヒト末梢血好中球は、血中 LH と結合して活性化状態になり、活性酸素、活性窒素を産生していることが明らかになった。しかし、この活性化していることが感染防御能の向上には繋がらなかったことから、この現象が卵巣における排卵のプロセスの一役割を担っているという可能性も示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、健常な女性の末梢血好中球の **resident state** での活性酸素産生量にばらつきがあることの発見から、感染防御の役割を担う好中球の活性酸素、活性窒素産生量と月経周期との関連を追究したものである。その結果、排卵日を含めた排卵期 3 日間の好中球にのみ、月経期と黄体期に比較して高い活性酸素産生が見られること、活性窒素については、排卵日の好中球にのみ高い産生が見られることを明らかにした。そして、排卵日の前日に排卵を誘発する黄体化ホルモン **luteinizing hormone (LH)** の血中濃度が極大になることに着目し、LH を好中球に反応させ、好中球の活性酸素産生量が上昇することを証明した。更に、好中球の膜上に LH 結合サイトが存在することを確認し、好中球が LH receptor の mRNA を細胞内合成していることを証明した。

本論文は、女性の末梢血好中球が排卵日に LH に反応し活性化していることを、初めて明らかにしたものであり、学位の授与に値するものと考えられる。