

Title	The expression of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in the Fallopian tube : SLPI protects the acrosome reaction of sperm from inhibitory effects of elastase
Author(s)	太田, 行信
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/46061
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏 名	お 太 田 行 信
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 8 9 7 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 6 年 7 月 1 4 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	The expression of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in the Fallopian tube : SLPI protects the acrosome reaction of sperm from inhibitory effects of elastase (卵管における分泌型白血球由来プロテアーゼ阻害物質 (SLPI) の発現とその機能解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 村 田 雄 二 (副査) 教 授 奥 山 明 彦 教 授 宮 坂 昌 之

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

分泌型白血球由来プロテアーゼ阻害物質 (SLPI) は、白血球由来エラスターゼ、カテプシン、トリプシンなどのプロテアーゼの阻害物質であり、まず副甲状腺分泌液より単離された 12 kD の蛋白である。SLPI はさまざまな体液に認められ、副甲状腺分泌液以外にも産婦人科領域において子宮頸管粘液、精漿、腹水、羊水中などに存在する。SLPI は呼吸器感染症などさまざまな病態と関係していることが報告されている。SLPI は女性の子宮頸管粘液中において性周期によって変化し、排卵期に高値となる。また、SLPI は精液中に存在し、精子運動能に相関し、SLPI は妊孕現象に関与していることが明らかとなった。その他 SLPI は子宮内膜や腹水中に存在し、子宮内膜症や不妊症などの様々な病態に関与していることが明らかとなってきた。本研究ではヒト卵管における SLPI の発現を解析し、その局在を明らかとし、さらに卵管における SLPI の機能解析を行うために精子先体反応に対する SLPI の作用について検討し、ヒト生殖領域における SLPI の機能を解明することを目的とした。

[方法ならびに成績]

月経周期のある患者に対し、インフォームドコンセントを得て子宮摘出時にヒト卵管組織を採取した。まず、卵管における SLPI 蛋白の発現を検討するために卵管組織から蛋白を抽出し、抗 SLPI 抗体を用いてウェスタンブロット法にて検討したところ、卵管の峽部、膨大部、采部いずれの部位にも 12 kD の SLPI の存在を認めた。また、卵管の峽部、膨大部、采部における SLPI 蛋白量の卵管各部位での差異を NIH-image を用いて検討したところ、その3部位での卵管組織重量あたりの SLPI 蛋白量に有意差は認めなかった。次に、卵管における SLPI 蛋白の局在を抗 SLPI 抗体を用いて avidin biotin complex method 法による免疫組織学的にて検討したところ、卵管上皮にその局在を認めた。さらにその局在を絨毛の有無によって比較検討したところ非絨毛細胞に比べ絨毛細胞に SLPI の強い局在を認めた。さらに、SLPI mRNA の卵管における発現を解析する目的で SLPI に対する特異的プライマーを用い、RT-PCR 法により、卵管で SLPI mRNA の発現を検討したところ、570 bp の PCR 産物を認め、その発現を確認した。なお RT-PCR 産物の特異性を確認するために RT-PCR 産物を BamHI により切断し、SLPI に特異的産物であることを確認した。またヒト卵管において SLPI が阻害活性を有する好中球エラスターゼが存在することをヒト好中球エラスター

ーゼに対する特異的プライマーを用いて RT-PCR 法により検討したところ、230 bp の PCR 産物を認め、好中球エラスターゼの mRNA の発現を確認した。次に卵管での SLPI の機能を検討するため、ヒト精子先体反応を評価する目的でアクロビーズテストを用いて、SLPI のヒト精子先体反応に及ぼす影響を検討した。精子は妊孕性を確認された健康男子より、本人の同意を得て用手的に採取し、swim-up 法を用いて運動良好精子を回収した。運動良好精子に好中球エラスターゼ 1 mg/L、10 mg/L を添加したところ、濃度依存性に精子先体反応が阻害された。一方、SLPI を好中球エラスターゼとともに同時添加したところ精子先体反応阻害作用が抑制され、その抑制効果は SLPI 濃度依存的であった。

[総括]

SLPI はヒト卵管に存在し、主に卵管上皮とくに微絨毛をもつ卵管上皮細胞より産生されている。卵管に発現している SLPI はエラスターゼなどのプロテアーゼの作用から組織を保護しているとともに卵管において貯留される精子の先体反応に対しても保護的に作用し、卵管局所の感染防御に作用するのみならず、先体反応などのヒト妊孕現象に関与していることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

分泌型白血球由来プロテアーゼ阻害物質 (SLPI) は、白血球由来エラスターゼ、カテプシン、トリプシンなどの阻害物質であり、まず副甲状腺分泌液より単離された 12 kD の蛋白である。SLPI はさまざまな体液に認められ、副甲状腺分泌液以外にも頸管粘液、精漿、腹水、羊水中に存在する。SLPI は呼吸器感染症などさまざまな病態と関係しており、妊孕現象にも深く関与していることが報告されている。本研究では卵管での SLPI の発現を調べ、精子先体反応に対する SLPI の作用について検討した。その結果、SLPI はヒト卵管に存在し、主に卵管上皮より産生されていた。エラスターゼは精子先体反応を阻害し、その阻害作用を SLPI は保護した。SLPI は卵管局所の感染防御に作用し、受精、胚発生に関与している可能性が示唆された。

本論文は卵管において SLPI の発現を明らかにし、生殖領域での恒常性維持に寄与していることを示唆した論文であり、審査員の合議により学位論文に値するものと判定した。