

特別講演

FSH 分泌の調節機序

群馬大学教授 五十嵐 正 雄

はじめに

1967年の第19回日本産科婦人科学会総会において私は「脳下垂体性ゴナドトロピン分泌に関する研究」と題する宿題報告を行つたが、以来今日まで21年の歳月の間に内分泌学の進歩はめざましく、まさに隔世の感がある。

脳下垂体前葉から分泌されるゴナドトロピン(性腺刺激ホルモン)には FSH と LH の 2 種類があるが、このうち LH の分泌は視床下部の神経細胞から拍動性に分泌される LH-RH によつてコントロールされていることも明らかにされた。松尾・有村・Schally et al. によつて化学構造が決定された LH-RH が下垂体前葉を刺激すると、LH だけでなく大量の FSH の放出が起こる。そこで下垂体前葉からの FSH の放出はやはり LH-RH によつてコントロールされているのだと考える一元説が有村や Schally et al. によつて提唱され、現在世界における定説となつている。ところが、LH-RH の化学構造決定の直後から既に私は下垂体前葉からの FSH の分泌は LH-RH の刺激による他に、LH-RH とは化学構造の異なる FSH-RF によつても調節されているという二重支配すなわち二元説の可能性とその根拠を主張してきた。しかし、FSH-RF を精製してその化学構造を決定しようとする研究は1988年現在世界で誰も成功していない。なぜこの研究が困難かという、いくつかの理由が考えられるが、第一 LH-RH の FSH 放出活性がかなり強力なために FSH-RF 特有の効果を判定することが容易でないことがあげられる。FSH-RF の効果を判定するための特異的な検定法を新しく開発する目的で、精巣と卵巣から分泌され、下垂体前葉からの FSH 分泌だけを抑制する新しいホルモン、inhibin の研究に着手したのは9年前である。当時インヒビンの研究は五里霧中の状態で、その実在を疑う学者もおり、インヒ

ビンは幻のホルモンないしは artifact ではないかとの説もあつた。

インヒビンに関する研究

inhibin の存在の発見は古く、去勢雄ラットの下垂体前葉に出現する去勢細胞の出現を阻止する作用を有する精巣中の水溶性活性物質を1932年に McCullagh が inhibin と命名した。以来今日までインヒビンに関する多数の研究が発表され、de Jong and Sharpe (1976) により卵胞液中のインヒビンの存在が証明され、Steinberger et al. や Channing et al. によつて広汎な研究が行われたが、インヒビンの純化には誰も成功しなかつた。

私共はラット下垂体前葉細胞の培養法を確立した後、ブタの卵胞液約1l から出発してインヒビンを7,900倍精製し、遂に純化に成功した(Miyamoto, K. et al. Biochem Biophys Res Commun, 129: 396~403, 1985)。私共が純化したブタ卵胞液性インヒビンは HPLC (高速液体クロマトグラフィ) で単一のピークを示し、SDS-PAGE (SDS-polyacrylamide gel electrophoresis) でも単一のバンドを示した。ところが還元すると、 α -subunit (分子量20,000) と β subunit (分子量13,000) との二つの peptid 鎖に分れたことから、インヒビンは α サブユニットと β サブユニットとが、S-S 結合して構成する分子量32,000の糖蛋白質であることを明らかにした。ところがオーストラリア、メルボルンの Monash 大学の Burger, de Kretzer, Robertson et al. のグループは、私共の発表より5カ月早く、やはり BBRC 誌上にウシの卵胞液インヒビンの純化に成功したと発表した。分子量は56,000、 α サブユニットは44,000、 β サブユニットは14,000の分子量をもち、アミノ酸配列も私共の発表結果と異なつていた。アメリカ Salk 研究所の Guillemain 博士(ノーベル受賞者)のグループと Vale 博士のグループは

インヒビン精製の目的で多額の研究費をもらい、数年間研究していたが、精製に成功していなかった。1985年6月アメリカ内分泌学会での教室の宮本の発表を聞いて、直ちに追試し、10日後にその結果をアメリカ学士院雑誌に投稿したが、インヒビンの分子量は32,000で、アミノ酸配列も宮本の結果と一致していた。

次に私共はウシ卵胞液についてもブタの時と同様な方法で精製を行い、やはり分子量20,000の α サブユニットと分子量13,000の β サブユニットがS-S結合した分子量32,000の蛋白質であることを明らかにした。次に精製ウシインヒビンに対するモノクローナル抗体とポリクローナル抗体を作成した。

次にウシ卵胞液をSDS PAGEで2次元に展開したものをnitrocellulose膜にうつし、インヒビンに対するモノクローナル抗体、 α サブユニットに対するモノクローナル抗体、 β サブユニットに対するモノクローナル抗体で、それぞれ免疫染色した結果、インヒビンおよびその前駆体は、分子量120K, 108K, 88K, 57K, 44K, 32Kと多様な型で、20K, 13Kのサブユニットと並んで存在することを証明出来た。

次に東海大学藤井明和教授らから提供していただいたヒト卵胞液からヒトインヒビンの精製純化を試みたが、ヒト卵胞液中のインヒビン含量が低いため、構造決定に必要な量のヒトインヒビンを純化することは出来なかった。

次に上記モノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的手法により、ブタおよびウシ卵巣組織標本を免疫染色した結果、顆粒膜細胞のみが染色された。更にラット顆粒膜細胞およびSertoli細胞の培養液中にインヒビンの放出を認め、FSHを添加するとインヒビン産生が増加することを認めた。この所見で両細胞がインヒビンを産生することを証明出来た。

ウシとブタ卵胞インヒビンに対するポリクローナル抗体を用いて、ウシ、ブタ、ラットの性周期中の血中インヒビンとその他のホルモンの動態を明らかにした。血中インヒビンが増加すると血中FSHが低下し、黄体期にも血中インヒビンが増加することを認めた。ヒトインヒビンと上記抗体と

の交叉率が低いため、交叉率の高い別の抗体を用いてヒト血中インヒビンの定量を検討中である。

Activin に関する研究

1986年Vale et al. はブタ卵胞液中にFSH releasing protein (FRP)が存在し、強いFSH放出活性を示し、その構造はインヒビンの βA サブユニットのdimerであると発表し、同時にGuillemainのグループでは βA と βB のdimerが存在し、強いFSH放出活性を有するのでactivinと命名した。私共はFRPを入手し、in vitroで強いFSH放出活性を確認した。

LH-RH とは異なる FSH-RF の存在

下垂体前葉からのFSHの分泌はLH-RHとインヒビンによるコントロールされている他に、第三者としてのFSH-RF (LH-RHとは化学構造の異なる)が実在するかどうか、activinないしFRPが視床下部で産生されているかは今後の研究にまたなければならない。

今後の研究課題

FSH分泌調節機序について緊急に解決を要する問題は次の10カ条と考える。

- 1) Activin, FRPのin vivoの活性の確認、
- 2) Activin, FRPのRIAの確立と血中濃度測定、
- 3) Activin, FRPの視床下部からの分泌の有無、
- 4) 3)が否定的の時にはLH-RHとは異なるFSH-RFの純化、
- 5) 遺伝子工学によるインヒビンの合成、
- 6) ヒト血中インヒビンの定量、
- 7) FRP, activinの遺伝子工学による大量生産、
- 8) FRP, activinの薬理的効果、とくにヒトの排卵誘発、IVF-ET, GIFTのための卵胞刺激に応用出来るか否か、
- 9) インヒビンの局所的生理作用の解明、
- 10) インヒビンの臨床応用：避妊効果、下垂体FSH抑制効果(ヒト排卵誘発、IVF-ET, GIFTの時)。

おわりに

下垂体前葉からのFSH分泌の調節は、LHのそれよりはるかに複雑で巧妙に複数の因子によってコントロールされていることが明らかとなった。未解決の課題の解決は困難ではあるが、生殖医学上極めて重要な問題なので、その解決のために前進の努力を続けなければならない。