

# 内分泌器官としてのヒト卵巣表層上皮

岡村 均, 大場 隆

熊本大学大学院医学薬学研究部先端生命医療科学部門成育再建・移植医学講座産科学分野

## はじめに

卵巣は始原生殖細胞由来の卵細胞と、それを取り巻く体細胞由来の細胞群によって構成されている。分子生物学的手法の発達により、卵巣の機能はゴナドトロピンだけでなく、卵細胞とその周囲環境との局所的な相互作用による調節を受けていることが明らかになった [1]。卵巣の最外層を覆う一層の表層上皮 (ovarian surface epithelium, OSE) は、卵巣の生理あるいは上皮性卵巣がんによって代表される卵巣の疾患と深く関わっている。本稿では、内分泌器官としてのOSEに関する知見を紹介する。OSEの造腫瘍能についての検討は、既報 [2-5] をご覧いただければ幸いである。

## ヒト卵巣表層上皮細胞の採取と培養、不死化細胞系の樹立

われわれは、Nicosiaが家兎卵巣からOSEを採取した方法 [6] に準じて、婦人科的適応で摘出されたヒト卵巣よりscraping法にてOSEを効率よく採取する方法を開発した (図1) [7]。初代培養ヒトOSE細胞は敷石状の形態をとり、倍化時間は約80時間で、13から20日でコンフルエントとなり、数代は継代可能である。初代培養ヒトOSE細胞はin vivo OSEの性格をよく残している。

ヒトOSEを採取できる機会は限られており、採取できても細胞の数や継代期間には限りがある。さらにOSEはラットやニワトリといった限られた動物種にしか存在しない。系統的な研究に耐える細胞系を確立するために、上述の方法で採取、培養したヒトOSE細胞にSV40ラージT抗原を導入し、計7系統の不死化細胞株を樹立した [8]。われわれはこのなかから、軟寒天培地上でコロニーを形成しないOSE2aと、コロニーを形成し、ヌードマウスに移植した場合に腫瘍形成能を示す株

OSE2b-2を主に用いて、一連の検討を行っている。

## 内分泌標的器官としてのOSE

卵巣の表面積は卵胞発育とともに増大し、排卵後はさらにその増大に加速がかかる。OSEは個々の細胞の大きさを変えるのではなく、増殖によって増大した卵巣の表面を満たしている。さらにOSEには、排卵によって形成された卵胞破綻口を修復する役割がある。修復の過程で封入嚢胞が形成され、ここに二次的な刺激が加わった結果、上皮性卵巣がんなどの、卵巣の新生物が発生するものと考えられている [9]。

ヒトOSEはFSHおよびLH/hCG受容体を発現しており [10]、ゴナドトロピンは性ステロイド産生の調節には関与せず、MAPキナーゼを介した情報伝達 [11] によって細胞増殖を調節している [12]。これは上述した生理的な役割からも合目的である。われわれが樹立した不死化細胞株のうち、OSE2aは初代培養細胞と同様にLH/hCG受容体を発現しており、hCGは軟寒天培地上でのOSE2aの増殖を刺激した [13]。ところが興味深いことに、腫瘍形成能を示す株OSE2b-2はLH/hCG受容体を発現しておらず、代わりに初代培養OSEやOSE2aにはみられないhCG  $\beta$  サブユニットの産生能を獲得していた。卵巣がんのなかにはhCG  $\beta$  を分泌するものがあり、その多寡が予後と関連していることが報告されている [14]。OSEは、腫瘍化に伴ってhCG  $\beta$  を産生するよう変化していくのかもしれない。

OSEの役割は、LH/hCG刺激に応じた増殖のみではない。すでに1983年にはAuerspergらがラットOSEにおけるエストロゲン受容体 (ER) の存在を報告し [15]、OSEがエストロゲンの標的組織であることを示唆していた。その後、OSEにおけるER  $\alpha$ 、ER  $\beta$ 、プロゲステロン受容体 (PR)、アンドロゲン受容体 (AR) の発現が報告され、OSEはさまざまな性ステロイドによる細胞増殖あるいはアポトーシスの調節を受けうることが明らかになった。

性ステロイドによるOSEの機能調節機構は、今後の研究課題である。われわれの検討では、エストロゲンは

連絡先：岡村 均, 熊本大学大学院医学薬学研究部先端生命医療科学部門成育再建・移植医学講座産科学分野,  
〒860-8556 熊本市本荘1-1-1  
TEL: 096-373-5269  
FAX: 096-363-5164  
E-mail: hokamura@kaiju.medic.kumamoto-u.ac.jp

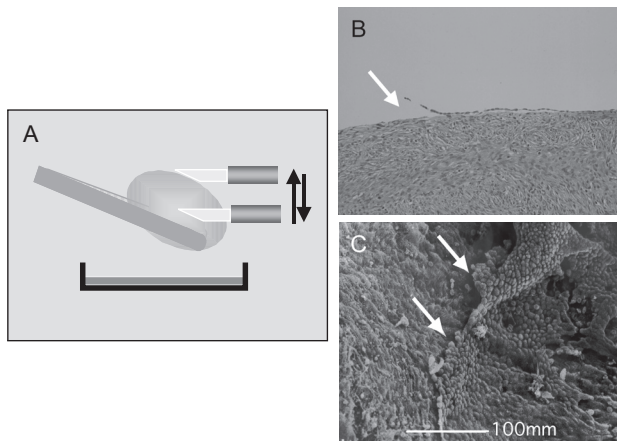


図1 scraping法によるヒトOSEの採取。  
 A. コラゲナーゼで前処理したヒト卵巣をメスの刃で擦過し、OSEを採取する。  
 B, C. 採取の過程で固定した卵巣のH.E.像 (B), 走査電子顕微鏡像 (C)。剥離した単層のOSEが観察される (矢印)。この方法で、1卵巣あたり約 $10^6$ 個の純度の高いOSEを採取することができる。

OSE2aの増殖に影響を与えなかった。しかし、コラーゲンゲルを用いた3次元培養系にて、初代培養ヒトOSE細胞をE2存在下で培養すると、OSEは管腔構造をとり、さらに子宮内膜間質細胞と共培養することによって子宮内膜症にみられるような腺上皮細胞様の形態に変化した[16]。卵巣における子宮内膜症は、いわゆる移植説[17]では説明困難であり[18,19]、間質内に迷入したcoelomic epitheliumより子宮内膜症が発生するとする、化生説によってのみ説明可能な状況が少なくない[20-22]が、われわれの3次元培養系は卵巣子宮内膜症の化生説を裏付けている。

### 内分泌器官としてのOSE

OSEはゴナドトロピンや性ステロイドの標的臓器である一方で、性ステロイドを産生する細胞でもある。

“common precursor hypothesis”[23]によれば、顆粒膜細胞、セルトリ細胞、そしてOSEは生殖堤を覆うcoelomic epitheliumを共通の起源として分化した細胞である[24,25]。ヒトOSEは卵巣顆粒膜細胞と同様にプロゲステロンやE2を分泌する[26]。われわれが樹立した不死化ヒトOSE細胞のうち、造腫瘍能を呈さないOSE2aは、LH/hCG受容体のほか、ER $\alpha$ 、ER $\beta$ 、steroidogenic factor-1 (SF-1)、アロマターゼ、そして17 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ(17 $\beta$ -HSDs)といった、卵巣顆粒膜細胞におけるE2合成に必要な酵素・蛋白を発現していた[27]。

SF-1は、副腎皮質や卵巣においてステロイドホルモン産生系に関与するタンパク質の共時的な転写調節を行っている[28]。Nashらは、ラットOSE細胞においてSF-1が発現していることを示し、さらにSF-1が発現していない不死化ラットOSE細胞に導入したSF-1は細胞増殖を抑制すると報告している[29]。ヒトOSEにおけるSF-1の存在意義は今後の課題である。

顆粒膜細胞とは異なり、ヒトOSEにおけるE2産生はアロマターゼによるアンドロゲンの芳香化ではなく、主として17 $\beta$ -HSD, type 1によって触媒されるエストロン(E1)を基質としたE2への転換である。機能の異なる17 $\beta$ -HSDアイソザイム(17 $\beta$ -HSDs)が、臓器特異的に、不可逆的な酵素反応を触媒しており[30]、ヒトではこれまでに11種類のアイソザイムが知られている[31]。17 $\beta$ -HSDsはさまざまな臓器やエストロゲン依存性の腫瘍[32]に発現し、標的臓器レベルでの性ステロイドホルモン活性調節を行う酵素として注目されている。

一方でエストロゲンの標的臓器でもあるOSEは、他のエストロゲンの標的臓器と同様に、E2からE1への転換を行うことによって、周囲の環境から供給されるE2の活性を調節している。OSEにおけるこの反応も、やはり17 $\beta$ -HSDsによって触媒される反応である。OSEから産生されるE2の量は、卵巣や黄体が産生する量に比べれば微々たるものだが、OSE細胞内でのエストロゲン活性調節機構の破綻はOSE由来の腫瘍や子宮内膜症の誘因となる可能性がある。

### おわりに

OSEは、卵巣重量の1%にも満たない一層の細胞ではあるが、さまざまな卵巣の生理や病理と関連しており、今後の研究の発展が待たれるところである。最近われわれは、安定した2倍体の不死化OSE細胞株を樹立することに成功した。より生理的な状態に近いOSE細胞株は、OSEの役割や、OSEから発生する異常のメカニズムを研究するのに役立つばかりでなく、卵巣がんの研究を行ううえでのネガティブコントロールとして有用性が期待できる。

### 謝辞

本稿で触れた研究成果の一部は文部科学省科学研究費補助金(基盤研究C12671616)により得られたものであり、山泉克教授(熊本大学)、Prof. J. F. Strauss III (University of Pennsylvania)、Prof. P. C. K. Leung (British Columbia University)の協力を得て行われた。共同研究者は、松浦講平、

片瀧秀隆, 田代浩徳, 福松之敦, 中村正也, 新田 慎, 大竹秀幸, 永吉裕三子, モンジュラ・ベガム, 前田知子である。

## 参考文献

1. 大場 隆, 片瀧秀隆, 岡村 均 (2001) 卵巣の生殖生理. 新女性医学大系 1. 性器の発生・形態・機能. 藤井信吾編, pp298-324, 中山書店, 東京.
2. 片瀧秀隆, 岡村 均 (2002) ヒト卵巣表層上皮の生理と病理—上皮性卵巣がんの腫瘍発生の観点から—. 日本婦人科腫瘍学会雑誌 20, 292-304.
3. Katabuchi H, Okamura H (2003) Cell biology of human ovarian surface epithelial cells and ovarian carcinogenesis. *Med Electron Microsc* 36, 74-86.
4. Okamura H, Katabuchi H (2001) Detailed morphology of human ovarian surface epithelium focusing on its metaplastic and neoplastic capability. *Ital J Anat Embryol* 106, 263-276.
5. Okamura H, Katabuchi H (2004) Pathophysiological dynamics of human ovarian surface epithelial cells in epithelial ovarian carcinogenesis. *Intl Rev Cytol* (in press)
6. Nicosia SV, Johnson JH, Streibel EJ (1984) Isolation and ultrastructure of rabbit ovarian mesothelium (surface epithelium). *Int J Gynecol Pathol* 3, 348-360.
7. Nakamura M, Katabuchi H, Ohba T, Fukumatsu Y, Okamura H (1994) Isolation, growth and characteristics of human ovarian surface epithelium. *Virchows Arch* 424, 59-67.
8. Nitta M, Katabuchi H, Ohtake H, Tashiro H, Yamaizumi M, Okamura H (2001) Characterization and tumorigenicity of human ovarian surface epithelial cells immortalized by SV40 large T antigen. *Gynecol Oncol* 81, 10-17.
9. 片瀧秀隆, 岡村 均 (1999) 妊娠, 分娩, 性生活の変化は婦人科腫瘍の発生を変える. 医学のあゆみ 199, 779-788.
10. Syed V, Ulinski G, Mok SC, Yiu GK, Ho SM (2001) Expression of gonadotropin receptor and growth responses to key reproductive hormones in normal and malignant human ovarian surface epithelial cells. *Cancer Res* 61, 6768-6776.
11. Choi K-C, Kang SK, Tai C-J, Auersperg N, Leung PCK (2002) Follicle stimulating hormone activates Mitogen-Activated Protein kinase in preneoplastic and neoplastic ovarian surface epithelial cells. *J Clin Endocrinol Met* 87, 2245-2253.
12. Kuroda H, Mandai M, Konishi I, Tsuruta Y, Kusakari T, Kariya M, Fujii S (2001) Human ovarian surface epithelial (OSE) cells express LH/hCG receptors, and hCG inhibits apoptosis of OSE cells via up-regulation of insulin-like growth factor-1. *Int J Cancer* 91, 309-315.
13. Tashiro H, Katabuchi H, Begum M, Li X, Nitta M, Ohtake H, Okamura H (2003) Roles of luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor in anchorage-dependent and -independent growth in human ovarian surface epithelial cell lines. *Cancer Sci* 94, 953-959.
14. Vartiainen J, Lehtovirta P, Finne P, Stenman UH, Alftan H (2001) Preoperative serum concentration of hCGbeta as a prognostic factor in ovarian cancer. *Int J Cancer* 95, 313-316.
15. Adams AT, Auersperg N (1983) Autoradiographic investigation of estrogen binding in cultured rat ovarian surface epithelial cells. *J Histochem Cytochem* 31, 1321-1325.
16. Ohtake H, Katabuchi H, Matsuura K, Okamura H (1999) A novel in vitro experimental model for ovarian endometriosis: the three-dimensional culture of human ovarian surface epithelial cells in collagen gels. *Fertil Steril* 71, 50-55.
17. Sampson JA (1927) Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 14, 422-469.
18. Rosenfeld DL, Lechen BD (1981) Endometriosis in a patient with Rokitansky-Kuster Hauser syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 139, 105-107.
19. Clement PB (1990) Pathology of endometriosis. *Pathol Annu* 25, 245-295.
20. Nisolle M, Donnez J (1997) Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertil Steril* 68, 585-596.
21. Matsuura K, Ohtake H, Katabuchi H, Okamura H (1999) Coelomic metaplasia theory of endometriosis: evidence from in vivo studies and an in vitro experimental model. *Gynecol Obstet Invest* 47 (Suppl 1), 18-20.
22. Nakamura M, Katabuchi H, Tohya T, Fukumatsu Y, Matsuura K, Okamura H (1993) Scanning electron microscopic and immunohistochemical studies of pelvic endometriosis. *Hum Reprod* 8, 2218-2226.
23. Gillman, J (1948) The development of the gonads in man, with a consideration of the role of fetal endocrines and the histogenesis of ovarian tumors. In: *Contributions to Embryology*. Carnegie Institution of Washington, Washington, DC pp83-131.
24. Juengel JL, Sawyer HR, Smith PR, Quirke LD, Heath DA, Lun S, Wakefield SJ, McNatty KP (2002) Origins of follicular cells and ontogeny of steroidogenesis in ovine fetal ovaries. *Mol Cell Endocrinol* 191, 1-10.
25. Albrecht KH, Eicher EM (2001) Evidence that Sry is expressed in pre-Sertoli cells and Sertoli and granulosa cells have a common precursor. *Dev Biol* 240, 92-107.
26. Iversson K, Sundfeldt K, Brännström M, Janson PO (2001) Production of steroids by human ovarian surface epithelial cells in culture: possible role of progesterone as growth inhibitor. *Gynecol Oncol* 82, 116-121.
27. Okamura H, Katabuchi H, Ohba T (2003) What we have learned from isolated cells from human ovary? *Mol Cell Endocrinol* 202, 37-45.
28. Honda S, Morohashi K, Nomura M, Takeya H, Kitajima M, Omura T (1993) AD4BP regulating P-450 gene is a member of steroid hormone receptor superfamily. *J Biol Chem* 268, 7494-7502.
29. Nash DM, Hess SA, White BA, Peluso JJ (1998) Steroidogenic factor-1 regulates the rate of proliferation of normal and neoplastic rat ovarian surface epithelial cells in vitro. *Endocrinology* 139, 4663-4671.
30. Andersson S, Moghrabi N (1997) Physiology and molecular genetics of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenases. *Steroids* 62, 143-147.
31. Adamski J, Jakob FJ (2001) A guide to 17beta-hydroxysteroid dehydrogenases. *Mol Cell Endocrinol* 171, 1-4.
32. Sasano H, Suzuki T, Niikura H, Kaga K, Sato S, Yajima A, Rainey WE, Nagura H (1996) 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in common epithelial ovarian tumors. *Mod Pathol* 9, 386-391.