

琉球大学学術リポジトリ

[総説] 排卵への蛋白分解酵素の役割： (2)コラーゲン分解系の役割

メタデータ	言語: 出版者: 琉球医学会 公開日: 2010-07-02 キーワード (Ja): キーワード (En): interstitial collagenase, type IV collagenase, collagenase inhibitor, tissue inhibitor of metalloproteinase 1, procollagenase 作成者: 小杉, 忠誠, 砂川, 昌範, 花城, 和彦, 金城, 紀代彦, 中村, 真理子, Kosugi, Tadayoshi, Sunagawa, Masanori, Hanashiro, Kazuhiko, Kinjoh, Kiyohiko, Nakamura, Mariko メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016039

排卵への蛋白分解酵素の役割 (2) コラーゲン分解系の役割

小杉忠誠, 砂川昌範, 花城和彦, 金城紀代彦, 中村真理子

琉球大学医学部生理学第一講座

(1998年1月7日受付, 1998年5月26日受理)

The role of proteolytic enzymes in ovulation —The role of collagenolytic system—

Tadayoshi Kosugi, Masanori Sunagawa, Kazuhiko Hanashiro
Kiyohiko Kinjoh and Mariko Nakamura

First Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of the Ryukyus, Okinawa, Japan

ABSTRACT

Extracellular matrix of the ovary during ovulation is degraded and remodelled. After ovulation, angiogenesis and repair occur in the ovary. The dynamic change of extracellular matrix during ovulation is based on the role of proteolytic enzymes. Besides the fibrinolytic enzymes, the enzymes of collagenolytic system play important role in ovulation. In this article, we report that interstitial collagenase, type IV collagenase, collagenase inhibitor, tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) which belong to collagenolytic system play important role in the rupture of follicle, the migration of oocyte and the expulsion of oocyte from the ovary. During gonadotropin-induced ovulation, at 3 hr to 6 hr after hCG administration the interstitial collagenase mRNA increased, but at 9 hr after hCG administration TIMP-1 mRNA and collagenase type IV mRNA increased in the granulosa cell, thecal compartment and stroma compartment. Both the interstitial collagenase and type IV collagenase were secreted in the latent form (procollagenase). This latent form, procollagenase was activated by fibrinolytic enzyme, plasmin and converted to active collagenase. It was clarified that the cross talk of fibrinolytic enzymes and collagenolytic enzyme has been observed in the process of ovulation. *Ryukyu Med. J.*, 18(1, 2)11~14, 1998

Key words: interstitial collagenase, type IV collagenase, collagenase inhibitor, tissue inhibitor of metalloproteinase 1, procollagenase

はじめに

排卵時の卵胞破裂には、線溶系酵素が重要な役割を演じているのはすでに知られている¹⁾。一方、卵胞の成熟過程、排卵、黄体化には、卵巣間質の構造的変化を伴うのも知られている。これらの卵巣間質の構造的変化を具体的に担っているのは、間質構成成分の動的変化、すなわち、コラーゲンを含む基質分子の分解による卵巣間質の可塑性であると考えられる。卵巣間質は、細胞間質コラーゲン、エラスチン、プロテオグリカン、フィブロネクチン、糖蛋白質で構成されており、それらの構成成分のうち、卵巣間質の可塑性にはコラーゲンがその主役を演じているのが知られている。一方、最近では、血管生物学の分野において、各種病態での血管のリモデリング機序が解明されている。すなわち、血管の再構成には多く

の細胞外マトリックス成分が関与しており²⁾、血管新生機序も含めコラーゲン等の細胞間質構成成分の再構築が重要な役割をはたしているのが知られている^{3, 4)}。一方、癌の組織浸潤、転移には、コラーゲン分解酵素や細胞間質の分解が重要な意義を有しているのも知られている⁵⁾。このような生理学的、病態生理学的な細胞間質の再構築には、血管新生も含め複雑な組織の再構築機序が働いている。本稿では、卵巣間質の可塑性に焦点をあて、特に、細胞外マトリックスの排卵における変化について概説する。

1) 卵巣間質とコラーゲン

卵巣の間質は、卵巣としての構造維持やその形態を保持するために、結合組織による枠組みを形成している。すなわち、間質性コラーゲン、エラスチン、プロテオグリカン、フィブ

Table 1 Localized development of collagenase and inhibitor in follicles during gonadotropin-induced ovulation

	Granulosa cell	Thecal compartment	Stroma compartment
interstitial collagenase mRNA	+	+	+
collagenase type IV mRNA	-	+	+
TIMP-1 mRNA	+ (-) ↑ before hCG administration	+	?

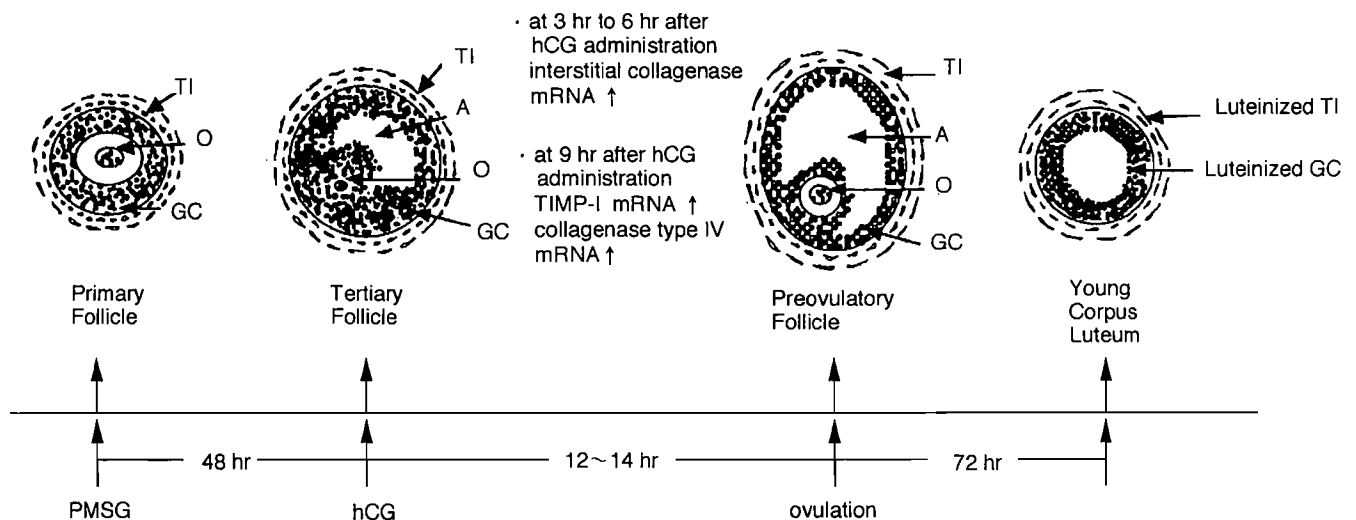


Fig. 1 Schematic drawing of follicles at different development stages during gonadotropin-induced ovulation (modified from ref. 1). O: oocyte; GC: granulosa cells; TI: thecal-interstitial cells; A: antrum. ↑: increase

ロネクチン、糖蛋白質により構成されている。これらの物質のうち、線維性蛋白質であるコラーゲンは、成熟卵胞の張力発現や維持に重要な役割を演じている。卵胞の成熟過程、排卵、黄体化に伴う卵巣間質の構造的変化をおこすには、コラーゲンを含む基質分子の分解による卵巣間質の可塑性が必要である。卵胞が成熟するにつれて、発育卵胞の周囲に空間を作るために、卵巣間質の再構築が生じるのである。この間質の再構築は同時にコラーゲンの再構築が生じる。

2) 成熟卵の卵巣からの排出

成熟卵胞からの卵が卵巣から排出されるためには、5層のコラーゲン線維を通過しなければならない⁶⁾。最内層および外層は基底膜であり、タイプ-IVコラーゲンで構成されている。残る3層はtunica albuginea、外夾膜細胞、内夾膜細胞であり、これらの全てにタイプ-Iとタイプ-IIIコラーゲンを含んでいる。卵の通過すべき5層の成分はコラーゲンであり、このコラーゲン分解の進行により成熟卵の排出が進行していく。

3) コラーゲンの分解

5層にみられるコラーゲンの分解は、プラスミンによるのみ行われるのではなく、コラゲナーゼ(collagenase: コラーゲン分解酵素)と称される特異的なメタルプロテアーゼにより分解される。これらのメタルプロテアーゼは、最初にコラーゲ

ンの特異的残基を分解し、その後は非特異的蛋白分解により分解が進行する。タイプ-I、タイプ-IIIの間質性コラーゲンは、特異的に間質コラゲナーゼ(specific interstitial collagenase)によってのみ分解され、他の酵素による蛋白分解に強く抵抗する⁷⁾。一方、基底膜のコラーゲンであるタイプ-IVコラーゲンは、間質コラゲナーゼでは分解されず、最初の分解はタイプ-IVコラゲナーゼにより分解される。間質コラゲナーゼ、タイプ-IVコラゲナーゼの両者は、不活性型のものとして分泌される。この不活性型(procollagenase)のものは、蛋白分解により活性型に移行する。この蛋白分解による活性型コラゲナーゼへの転換^{8, 9)}には、線溶系酵素、プラスミンが必須である^{10, 11)}。

4) 卵巣における哺乳類コラゲナーゼ

卵巣内のコラゲナーゼ活性の直接的証明は、非常に難しく困難を極めて、1983年に至って初めて成功した。しかしながら、抑制物質の存在により、排卵過程とコラゲナーゼ活性の明白な相関関係は証明できなかった¹²⁾。卵巣コラゲナーゼ活性の間接的測定法として、排卵期のhydroxy prolineの消失量を測定する方法がある。最近の研究では、間質コラゲナーゼ、タイプ-IVコラゲナーゼ、コラゲナーゼインヒビター、tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1)の4者が排卵周期の過程で重要な役割を演じているのが明らかとなった¹³⁻¹⁵⁾。

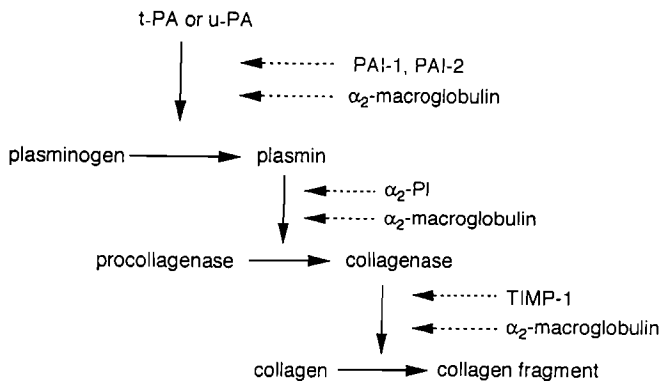


Fig. 2 Activation and inhibition of fibrinolytic enzymes and collagenase relating to ovulation.

—▶: activation
 - - -▶: inhibition.

すなわち、卵巣周期の過程と共に、能動的にこれらコラゲナーゼおよびインヒビターの活性推移が認められている。

5) コラゲナーゼおよびインヒビターの発現

PMSG, hCGを用いたラットの排卵誘発実験において、間質コラゲナーゼmRNAの発現経過が明らかにされている。すなわち、hCG投与後3から6時間に、卵巣性間質コラゲナーゼmRNAが25倍も増強するのがみられている。間質コラゲナーゼは未成熟卵胞の顆粒膜細胞、夾膜細胞、間質部分に出現している。すなわち、卵胞側、間質部分の両方に間質コラゲナーゼが出現する。一方、基底膜の構成コラーゲンであるタイプ-IVコラーゲンを分解するタイプ-IVコラゲナーゼは、hCG投与後mRNAは約4倍程度にしか増加しない。さらには、その発現部位は夾膜と間質部分に限局されていた。間質コラゲナーゼおよびタイプ-IVコラゲナーゼも排卵前に誘導されるが、タイプ-IVコラゲナーゼの最大発現は、間質コラゲナーゼの発現時期より遅れて出現する。すなわち、間質コラゲナーゼはgonadotropin投与後3時間であるのに対して、タイプ-IVコラゲナーゼはそれの投与後9時間である¹⁹⁾。TIMP-1 mRNAは、ラット卵巣において排卵前に出現している。その発現部位は、夾膜細胞のみであり、顆粒膜細胞には出現していない。しかしながら、hCGを投与するとTIMP-1 mRNAは夾膜細胞ばかりではなく、顆粒膜細胞の一部にも出現する。特に、夾膜細胞においては、6~8倍のTIMP-1 mRNAの増加がみられる。hCG投与後12時間にTIMP-1 mRNAの最大増強がみられる。TIMP-1の誘導と分布の動態は、線溶系酵素抑制物質のplasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)のそれに酷似している^{18, 19)} (Fig. 1, Table 1)。

6) コラーゲン分解酵素と線溶系酵素のクロストーク

gonadotropinの投与により、卵巣においてはプラスミノゲンアクチベーター、コラゲナーゼ活性は増加する。一方、これに呼応するかのようPAI-1, TIMP-1の合成が組織特異性に発現する。これらの酵素とその抑制物質が共同的、連続的あるいは一過性に合成、分泌されるのは、排卵時における蛋白分解酵素活性の厳密な局在と活性調節が行われているのを示している。一般的に、蛋白分解酵素の活性調節には、その制御が重要であり、そのためには種々の阻害酵素の関与が必要となる。特異的な阻害酵素である PAI-1, TIMP-1 に加

えて、多価蛋白分解酵素阻害物質である α_2 -マクログロブリンの発現も、排卵周期の過程にみられる¹⁹⁾。この α_2 -マクログロブリンは、trap型インヒビターであり、非特異的に蛋白分解酵素を抑制することができる。卵巣における α_2 -マクログロブリンの発現は、PAI-1, TIMP-1の特異的蛋白分解酵素阻害のback upとして存在していると考えられる。また、 α_2 -マクログロブリンと線溶系酵素あるいはコラーゲン分解酵素との複合体は、 α_2 -マクログロブリンレセプターを介してのこれら蛋白分解酵素の直接的、間接的クリアランスに一役買っている^{19, 20)} (Fig. 2)。

まとめ

排卵時の細胞外マトリックスは、ダイナミックな変化を呈する。また、排卵後においても細胞外マトリックスの再構築がおきる。このような卵巣内の細胞外マトリックスのダイナミックな変化は、卵胞構成細胞により産生される線溶系酵素、コラーゲン分解酵素および、それらに対する特異的、非特異的抑制物質により制御されている。卵巣の細胞外マトリックスの分解、再構築の研究過程は、癌細胞の局所浸潤の機序解明に多くの情報を提供している。また、線溶系酵素とコラーゲン分解酵素のクロストークは、抑制系を介して絶妙に行われている。

文 献

- 1) 小杉忠誠, 砂川昌範, 花城和彦, 金城紀代彦, 中村真理子: 排卵への蛋白分解酵素の役割 (1) 線溶系酵素の役割. 琉球医学会誌 17: 1-6, 1997.
- 2) 今村道博: 内皮細胞の形態と細胞外マトリックス. 血栓止血誌 7: 109-114, 1996.
- 3) Nagy J. A., Morgan E. S., Herzberg K. T., Mangeau E. J., Dvorak A. M., Dvorak K. F.: Pathogenesis of ascites tumor growth: angiogenesis, vascular remodeling, and stroma formation in the peritoneal lining. Cancer Res. 55: 376-385, 1995.
- 4) 居石克夫: 血管内皮細胞の機構 —病理学の立場から—. 臨床病理 42: 553-562, 1994.
- 5) 高橋敬: 細胞膜依存性の線溶機構とマトリックス破壊. 血栓止血誌 7: 295-311, 1996.
- 6) Espey L.L.: Ultrastructure of the apex of the rabbit Graefian follicle during the ovulatory process. Endocrinology 81, 267-276, 1967.
- 7) Liotta L.A., Abe S., Robey P. and Martin G.: Preferential digestion of basement membrane collagen by an enzyme derived from a metastatic murine tumor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 2268-2272, 1979.
- 8) Werb Z., Mainardi C.L., Vater C.A. and Harris E.D., Jr.: Endogenous activator of latent collagenase by rheumatoid synovial cells: Evidence for a role of plasminogen activator. N. Engl. J. Med. 296: 1017-1023, 1977.
- 9) Liotta L.A., Tryggvason K., Garbisa S., Hart I., Foltz C.M. and Shafie S.: Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement

- membrane collagen. *Nature* 284, 67-68, 1980.
- 10) He C., Wilhelm S.M., Pentland A.P., Marmer B.L., Grant G.A., Eisen A.Z. and Goldberg G.I.: Tissue cooperation in a proteolytic cascade activating human interstitial collagenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 2632-2636, 1989.
 - 11) Reich R., Tsafiriri A. and Mechanic G.L.: The involvement of collagenolysis in ovulation in the rat. *Endocrinology* 116: 522-527, 1985.
 - 12) Morales T.I., Woessner J.F., Marsh J.M. and Lemair W.J.: Collagen, collagenase and collagenolytic activity in rat Graefian follicles during follicle growth and ovulation. *Biochim. Biophys. Acta* 756: 119-122, 1983.
 - 13) Reich R., Daphna-Iken P., Chun S.Y., Popliker M., Slager R., Adelman-Grill B.C. and Tsafiriri A.: Preovulatory changes in ovarian expression of collagenases and tissue metalloproteinase inhibitor messenger ribonucleic acid: role of eicosanoids. *Endocrinology* 129: 1869-1875, 1991.
 - 14) Mann J.S., Kindy M.S., Edwards D.R. and Curry T.E., Jr.: Hormonal regulation of matrix metalloproteinase inhibitors in rat granulosa cells and ovaries. *Endocrinology* 128: 1825-1832, 1991.
 - 15) Zhu C. and Woessner J.F., Jr.: A tissue inhibitor of metalloproteinase and α -macroglobulins in the ovulating rat ovary: Possible regulation of collagen matrix breakdown. *Biol. Reprod.* 45: 334-342, 1991.
 - 16) Peng X.-R., Hsueh A.J.W. and Ny T.: Transient and cell specific expression of tissue-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 results in a controlled and directed proteolysis during gonadotropin-induced ovulation. *Eur. J. Biochem.* 214: 147-156, 1993.
 - 17) Chcen S.-Y., Popliker M., Reich R. and Tsafiriri A.: Localization of preovulatory expression of plasminogen activator inhibitor type-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase type-1 mRNAs in the rat ovary. *Biol. Reprod.* 47: 245-253, 1992.
 - 18) Gaddy-Kurten D., Hickey C.J., Fey G.H., Ganldie J. and Richards J.S.: Hormonal regulation and tissue-specific localization of α_2 -macroglobulin in rat ovarian follicles and corpora lutea. *Endocrinology* 125: 2985-2995, 1989.
 - 19) Herz J. Clonthier D.E. and Hammer R.: LDL receptor-related protein internalizes and degrades uPA-PAI-1 complexes and is essential for embryo implantation. *Cell* 71: 411-421, 1992.
 - 20) Olson D., Pollanen J., Hoyer-Hansen G., Ronne E., Sakaguchi K., Wun T.-C., Appella E., Dano K. and Blasi F.: Internalization of urokinase-plasminogen activator inhibitor type 1 complex is mediated by the urokinase receptor. *J. Biol. Chem.* 267: 9129-9133, 1992.