

139 哺乳類卵管特異糖蛋白質の構造解析

山形大学 同免疫学*

荒木慶彦、鈴木吉也*仙道富士郎*広井正彦

[目的] 哺乳動物の卵管には、エストロゲン依存性の特異糖蛋白質が存在し、この分子が受精に先立ち配偶子を修飾する事が含まれ、広く種を越えて知られている。しかし、その生殖生理学的活性は未知の点が多い。本研究では同分子の生化学的性状を明らかにする目的で、生殖生理学・分子遺伝学的知見の豊富なハスター・マウスをモデル動物として、同分子のcDNAのクローニングを試みた。[方法] 成熟オオルゲンハスター及びBALB/cマウスにeCG, hCGにて過排卵を誘起し、排卵時に卵管を摘出、cDNAライブラリーを作製した。同ライブラリーに対し、ヒト卵管特異糖蛋白質partial cDNA (Dr. H. Verhageより供与) をプローブにしてスクリーニングを行い、単離したクローンの塩基配列を決定した。[結果] ヒト卵管特異糖蛋白質のクローニングをコードしているハスター・マウスのcDNAクローン(gHOGP, pMOGP-1)を単離した。これらにより予想される分子量はハスター:70,9kDa, マウス:76,5kDa, gHOGPによってコードされるアミノ酸配列は既に報告されているハスター卵管特異糖蛋白質のN-末端配列であるY-K-L-V--を含んでおり、又、pMOGP-1にもN-末端と推定される同様の配列が存在した。これらの分子には、それぞれ19, 24箇所のO-glycosylation可能部位、3箇所ずつのN-glycosylation可能部位が存在した。これらは相互にアミノ酸レベルで極めて高い相同性を示し、また、最近報告されたHCgp-39とよばれるchitinase familyに属す糖蛋白質と高い相同性を示した。[結論] ハスター、及びマウス卵管特異糖蛋白質のcDNAクローンを単離した。これらのcDNAは同分子の全アミノ酸のcoding領域を含んでいると思われる。同分子の生理活性解明する上で強力な武器になる事が期待される。

140 排卵過程におけるゴナドトロピン作用の細胞内情報伝達系について

和歌山医大

嶋本都多子、矢本希夫、仲野良介

[目的] 近年、ゴナドトロピンの細胞内情報伝達系には、cAMP系以外に種々の経路が存在し、その作用発現に関与している可能性が示唆されている。今回、ラットのゴナドトロピン誘発排卵におけるプロテイン・キナーゼC (PKC)系およびチロシン・キナーゼ系の関与について検討した。[方法] まず、in vivoでhCG誘発排卵に対するPKCおよびチロシン・キナーゼの影響について、それぞれの阻害剤であるH-7またはtyrphostinを用いて検討した。PMSGを投与した未熟雌ラットの右卵巣嚢内にH-7またはtyrphostinを、hCGを腹腔内に投与し、24時間後に両側卵管内の排卵数を検討した。続いて、卵胞破裂において主要な作用を有している組織プラスミノゲン・アクチベーター(tPA)分泌に対するH-7およびtyrphostinの影響について検討した。PMSG投与未熟雌ラットより顆粒膜細胞を採取し、LH 30ng/mlおよびH-7 0.1-60 μ Mまたはtyrphostin 0.3-100 μ Mを添加し、無血清培地にて48時間培養し、培養液中のtPA活性をfibrin autography法により測定した。[成績] (1) H-7 10^{-9} - 10^{-3} Mおよびtyrphostin 30-3000 μ M投与により排卵数は用量依存性に減少し、H-7 10^{-6} M, tyrphostin 300 μ M以上でコントロール群に対して有意差を認めた。なお、処置卵巣の組織学的検討では出血、梗塞等の病理学的変化は見られなかった。(2) 顆粒膜細胞の培養系において、LHにより刺激されたtPA活性は、H-7またはtyrphostin添加により用量依存性に抑制された。[結論] ラットの排卵過程におけるLHの作用機序には、cAMP系以外にPKCおよびチロシンキナーゼ系を介する細胞内情報伝達系も関与していることが示唆された。