

359 精巣上体に発現されるヒトAEG
(acidic epididymal glycoprotein) 遺伝子の
cDNAクローニング

北海道大第二生化

林 正路、笠原正典、石橋輝雄

[目的] ラットで同定されたAEG (acidic epididymal glycoprotein) 分子は、精巣上体上皮細胞より分泌された後、精子頭部先体後域細胞膜に付着し、精子成熟に関与すると考えられている。またAEG分子は、精巣に特異的に発現されるTPX-1 (testis specific protein X-1) 分子などとアミノ酸配列相同性をしめす。本研究は、ヒトAEG遺伝子のcDNAクローニングを目的とした。[方法] 成人男子の精巣上体より抽出したtotalRNAから、逆転写酵素を用いてcDNAを合成後、独自に作成したプライマーを用いてPCR法によりヒトAEG遺伝子を増幅した。この増幅遺伝子をプローブとして、ヒト精巣上体cDNAライブラリーのスクリーニングから完全長cDNAを分離後、その塩基配列を決定した。また本遺伝子発現の組織特異性を剖検試料(精巣、精巣上体など9臓器)を用いて、Northern blot法で検討した。なお本研究における各組織試料の採取にあたっては、あらかじめ本人または家族の同意を得た。[成績] (1) 完全長cDNAクローンの塩基配列から類推される蛋白は、249個のアミノ酸残基から成り、ラット・マウスAEGならびにマウスTPX-1と約40%のアミノ酸配列相同性を示した。この蛋白は、ラットAEGと同様にN-linked糖鎖結合可能部位と豊富な酸性アミノ酸を有し、さらにラット・マウスAEGならびにマウスTPX-1に共通した特徴として膜貫通領域を持たず、C末にcysteine rich領域を含んでいた。(2) Northern blotでは、ラット・マウスAeg遺伝子と同様、精巣上体のみとその発現がみられた。[結論] ヒトAEG遺伝子のcDNAクローニングに初めて成功し、類推されるアミノ酸配列とmRNAの組織分布を明らかにしえた。

360 ラットstructural luteolysis過程における血中プロゲステロン、黄体内蛋白濃度、MMP活性ならびにTIMP mRNA発現の経時的変化について

札幌医大

後藤妙恵子、遠藤俊明、木谷 保、山本 弘、
工藤隆一

[目的] 黄体の退縮過程にはprogesterone(P4)の低下するfunctional luteolysis(FL)と黄体組織が縮小するstructural luteolysis(SL)がある。ラットとヒトではFLからSLへの段階的に移行するという考えが一般的である。SLの発生には我々が既に報告しているようにmatrix metalloproteinase(MMP)が関与している。そこで今回 FLからSLへのプロゲステロン、蛋白濃度、MMP活性、tissue inhibitor of metalloproteinase(TIMP) mRNA等の経時的変化を通してSL発生のメカニズムを検討した。[方法] PMS-hCGで過排卵させた幼若雌ラットにday4(hCG投与日をday0)からbromocryptine投与を開始してFLを誘導し、prolactin(PRL)をday6夕から投与した。day8からday11まで上記の項目の経日的な変化をRIA, zymography, northern hybridizationで検討した。[成績] 黄体重量はday9から減少し始めday10, 11ではcontrolの約55%まで減少した。day8からday11までprogesteroneは19.1→17.9ng/mlと有意の変化はなかった。20 α -dihydroprogesterone(20 α P)は62.3→29.3ng/mlと漸減した。蛋白濃度は150→118 μ g/mg wet weightと漸減する一方MMP-2活性はday9から増強し始め、day10でcontrolの2.2倍とpeakを示し、day11でやや減弱した。またTIMP mRNA発現はday9で減少傾向がありday10で最低値を示し、day11でやや増加傾向を示した。[結論] FLからSLに移行する過程で、MMP活性の増強とTIMP発現の減少の開始には3日間のPRL投与が必要であり、細胞外マトリックス蛋白の減少の開始とともに急速に黄体重量が減少し始める事が示唆される。また総プロゲステロン産生減少特に20 α Pの低下は細胞外マトリックスの変化と関連している可能性が考えられた。