

383 腹膜中皮細胞におけるエストロゲン受容体およびプロゲステロン受容体のmRNA発現

信州大

中山邦章、李 桂芳、土岐利彦、二階堂敏雄、
藤井信吾

【目的】腹膜中皮は、卵巣表層上皮のように女性内性器の原器であるミューラー管と同一の発生起源を有することから、卵巣性ステロイドに対する反応性を有し子宮内膜症のようなミューラー管上皮型の組織発生に関与している可能性が推定される。そこで腹膜中皮が性ステロイドによって発生及び分化が制御されるかどうかを知るため、性ステロイド受容体mRNAの発現をRT-PCR法を用い検討した。【方法】婦人科良性疾患手術の際、開腹直後に、承諾を得た7例より細胞診擦過ブラシを用いて、上腹壁腹膜、大網、ダグラス窩腹膜、卵巣表層を擦過し腹膜中皮細胞を採取した。検体一部の塗抹細胞診にて中皮細胞を確認した。各腹膜中皮細胞よりtotal RNAを抽出した後RT-PCR法を用いてエストロゲン受容体(ER)及びプロゲステロン受容体(PR)のcDNAを増幅し、アガロースゲルで電気泳動しバンドを検出した。増幅DNAはsouthern blottingの後、Digoxigenin 標識したER, PRのOligoprobeをHybridizeし、ER, PRに対する特異性を検討した。【成績】11例中の性ステロイド受容体mRNAの発現率は、上腹壁腹膜でER70%, PR60%, 大網でER64%, PR45%, ダグラス窩腹膜でER60%, PR70%, 卵巣表層上皮でER50%, PR70%であった。positive controlとして採取した子宮内膜擦過細胞はER, PR全例陽性、細胞を含まないnegative controlではER, PR全例陰性であった。【結論】腹膜中皮細胞および卵巣表層上皮細胞には、性ステロイド受容体であるER,PRのmRNAが潜在的に発現していることが明らかとなり、女性内性器同様、性ステロイドに対する反応性を有する可能性があることから、子宮内膜症のような性ステロイドに依存した疾患の起源としての腹膜中皮を再考する必要性が考えられた。

384 アンドロゲン不応症におけるアンドロゲンレセプター遺伝子の発現系を用いた検討

兵庫医大、同泌尿器科*

田中宏幸、小森慎二、阪田和子、島 博基*、
香山浩二

【目的】我々は既にアンドロゲンレセプター(AR)の熱不安定性を示すアンドロゲン不応症々例におけるAR遺伝子のホルモン結合ドメインの点突然変異(Gly(820)→Ala)を報告した。今回、本症例の突然変異を持ったAR遺伝子を動物細胞に発現させた系を用いてその突然変異自体のARの結合能への影響を検討した。【方法】(1)PCR法を用いたsite directed mutagenesis法により mutant AR cDNAを作製し、発現vector pSG5に組み込んだ。同様にしてwild type ARcDNAもpSG5に組み込んだ。

(2)これらの遺伝子をCOS 7細胞にcalcium phosphate法およびelectroporation法を用いて導入し、発現したAR蛋白とdihydrotestosterone(DHT)とのBinding AssayおよびThermolability assayを行った。

【成績】COS 7細胞で発現したAR蛋白は、Wild type ARではBinding Assay,Thermolability Assayともに正常範囲であった。mutant ARではレセプター数の減少、親和性の低下を認め熱不安定性も認めたが、著明な熱不安定性を有する患者培養線維芽細胞程の低下を認めなかった。そのため未検索であったN末端ドメイン(exonA)の塩基配列を調べたところ、さらにGln(189)→Arg、Leu(257)→Proの2ヶ所の点突然変異を認めた。【結論】本症例において、ホルモン結合ドメインにおけるGly(820)→Alaの点突然変異がARの結合能の異常を来することが判明したが、さらにN末端ドメインの遺伝子異常も関与していることが強く示唆された。