

121 ヒト子宮内膜における表皮細胞増殖因子(Keratinocyte Growth Factor:KGF)の遺伝子発現

横浜市大

松井浩志, 黒木恵子, 多賀理吉, 水口弘司

〔目的〕Keratinocyte Growth Factor(KGF)は、間質細胞で産生され、上皮細胞の増殖を特異的に促進する増殖因子であり、これまでいくつかの組織でその遺伝子発現が報告されているが、ヒト子宮内膜での報告はこれまでない。そこで、増殖期と分泌期のヒト子宮内膜と妊娠初期脱落膜におけるKGFの遺伝子発現をRT-PCR, Northern blot hybridizationにより検討した。

〔方法〕①RNA抽出：増殖期と分泌期の子宮内膜を子宮筋腫手術時に、また妊娠初期脱落膜を人工妊娠中絶時に、それぞれ患者の同意のもとに採取した。これらの組織からRNeasy(QIAGEN)によりRNAを抽出した。②RT-PCR:KGFの既知の遺伝子配列からintronを挟み込んだ、上流側、下流側それぞれ20塩基のprimerをDNA合成機にて作成し、得られたそれぞれの試料のmRNAからcDNAを作成後、92°C1分、60°C1分、72°C2分を1 cycleとして合計40 cycleのPCRを行った。③Northern blot hybridization:RT-PCRにて増幅されたcDNAの遺伝子配列を確認後、精製し、³²Pでラベルしたものをprobeとしてhybridizationを行なった。

〔成績〕①RT-PCR:分泌期子宮内膜及び妊娠初期脱落膜より抽出されたtotal RNAから、デザインされた大きさの遺伝子が増幅され、これらの組織でKGF mRNAの遺伝子発現が確認された。②Northern blot hybridization:分泌期子宮内膜および妊娠初期脱落膜においてpositiveなsingle bandを検出したが、増殖期子宮内膜においてはほとんど認められなかった。

〔結論〕ヒト子宮内膜においてKGFの遺伝子発現を初めて明らかにし、その発現量は性周期および脱落膜変化によって異なることが示唆された。

122 培養ヒト子宮内膜間質細胞性ステロイド受容体遺伝子発現に及ぼす性ステロイドの影響の検討

北野病院

岩井正純, 小林八郎, 川口周利, 狩谷佳宣, 稲森久美子, 飯藤豪一, 井上欣也

〔目的〕ヒト子宮内膜における性ステロイド受容体の発現については、免疫組織化学染色法による報告はみられるが、その遺伝子発現調節に対する性ステロイドの影響に関しては不明の点が多い。そこで我々は培養ヒト子宮内膜間質細胞を用い、それにおけるプロゲステロン受容体(PR), エストロゲン受容体(ER), アンドロゲン受容体(AR)遺伝子発現が、プロゲステロン(P), エストロゲン(E), テストステロン(T)投与によって受ける影響を検討した。〔方法〕摘出されたヒト子宮より子宮内膜間質細胞を分離培養した。培養組織より得られるmRNAは微量であるため、定量はRT-PCR及びCCDイメージセンサーを用いた微量mRNA定量法で行なった。まずヒト子宮内膜間質細胞をP(10^{-6} M)添加群, E(10^{-8} M)添加群, T(10^{-8} M)添加群, 非添加群に分け3-9日間培養し、それらより抽出したtotal RNA 1 μ gを用いてRT-PCRを行い、微量mRNA定量法にて定量した。〔成績〕P投与群は非投与群に比しPR, ER, AR mRNA発現量がそれぞれ 56 ± 4 , 53 ± 8 , $84 \pm 4\%$ に減少した。T投与でも同様にそれぞれ 48 ± 6 , 52 ± 5 , $82 \pm 4\%$ に減少した。一方E投与では、それぞれ 390 ± 45 , 188 ± 35 , $270 \pm 30\%$ に増加した。またステロイド非添加群で、PRのみ0日, 3日, 6日, 9日において1, 1.62 ± 0.32 , 2.12 ± 0.46 , 2.50 ± 0.10 倍と経時的増加が見られた。〔結論〕性ステロイド受容体の発現調節に性ステロイドが関与している事が明らかとなった。またこれらは、生体内での免疫組織化学染色法の結果と一部異なったが、この事より生体内では性ステロイド受容体発現に対しmRNA合成以後での発現調節の可能性や、性ステロイド以外の調節因子が存在する可能性が示唆された。