

125 着床現象におけるpp125^{FAK}の生理的役割

杏林大, 同生化学*
塩川滋達, 永松信哉*, 葉梨秀樹, 小山典宏,
吉村泰典, 中村幸雄

【目的】 pp125^{FAK}は、インテグリンとリガンドとの結合によりチロシンリン酸化を受け、シグナル伝達に関与するチロシンキナーゼである。今回、妊娠初期脱落膜における pp125^{FAK} の発現およびその役割を検討した。【方法】 1) 正常妊娠初期婦人より人工妊娠中絶時同意のもとに採取された脱落膜をBravermanらの方法で培養し、抗 pp125^{FAK} 抗体、抗リン酸化チロシン抗体を用い免疫蛍光染色した。2) 妊娠初期脱落膜よりtotalRNAを抽出し、RT-PCR法により pp125^{FAK} mRNAの発現を検討した。3) 7週齢のCD-1雌マウスをPMSG-hCGにて過排卵誘起し同系雄と交配させ、hCG投与96h後に子宮内初期胚を回収した。10日間培養したヒト妊娠初期脱落膜に実験群ではチロシンリン酸化阻害剤であるherbimycin A (HA)を、対照群ではnormal mouse IgGを添加した後、回収した初期胚を静置した。共培養開始12時間後にhatching、24時間後に脱落膜細胞表面への胞胚の attachment、48時間後にoutgrowthの有無を倒立位相差顕微鏡下で判定した。【成績】 1) 脱落膜培養細胞のpp125^{FAK}の局在は細胞表面の接着斑に認められ、抗リン酸化チロシン抗体による染色部位と一致していた。2) RT-PCR法で、妊娠初期脱落膜にpp125^{FAK}mRNAの発現が確認された。3) 脱落膜培養細胞へのHAの添加はマウス胞胚の %hatching、%attachmentに影響を与えなかったが、TBのoutgrowthを用量反応性に抑制した(control, 93.1%; HA1nM, 55.9%; HA10nM, 22.6%; HA100nM, 11.4%)。【結論】 pp125^{FAK}は、脱落膜細胞の接着斑に存在し、チロシンリン酸化を受けTBのoutgrowthに関与していると考えられた。

126 ヘパリン結合性EGF様増殖因子(HB-EGF)のjuxtacrine因子からparacrine因子への変換機構

旭川医大、*大阪大・生化
碁石勝利、石川陸男、谷口直之*

【目的】 HB-EGFは細胞膜結合型と分泌型の2つの形態をとって、それぞれjuxtacrine因子、paracrine因子として機能する。我々は、初期胚発生及び着床におけるHB-EGFのjuxtacrine因子としての機能に注目し、その基礎的動態の解析を行った。

【方法】 サル腎臓由来細胞株VeroにヒトHB-EGFcDNAをトランスフェクトして得たHB-EGF高発現株、Vero H細胞を用いてHB-EGFの動態を抗HB-EGF抗体によるフローサイトメトリーと、細胞表面のbiotin標識後の免疫沈降、さらに増殖活性についてはEGF依存性細胞株のDNA合成促進活性により検討した。

【結果】 HB-EGFはVero H細胞の細胞膜状に発現し、約90分の半減期でturn overする。その大部分は培養上清中に遊離せず細胞内へinternalizeされた後分解をうけ消失した。一方 phorbol ester 等でPKCを活性化すると約7分の半減期で-148Pro-149Val-で切断されて分泌型として一過性に遊離してくる。この膜結合型から分泌型への変換効率はほぼ100%であった。

【考察】 HB-EGFは通常、膜結合型として存在しておりjuxtacrineで作用していると考えられる。phorbol ester 等による刺激が加わったとき juxtacrineからparacrineへ迅速かつ高効率に変換されると考えられる、このようなHB-EGFの制御機構から着床に密接に関連を有することが推定された。