Japan Society of Obstetrics and Gynecology

249 骨芽細胞機能のIGFBP-4による調節とその内分泌制御：閉経後骨粗鬆症の発症病態におけるIGF-IGFBP系の関与

東京女子医大
工藤美樹, 岩下光利, 井口登美子, 武田佳彦

［目的］インスリン様成長因子（IGF）は骨芽細胞で産生される局所の調節因子であり，IGFに特異的な結合蛋白（IGFBP）のひとつであるIGFBP-4は，骨芽細胞でのIGFの作用を抑制するとされている．また骨芽細胞はIGFBP-4を分解するproteaseも産生する．そこで閉経後骨粗鬆症発症の機序解明のため，ヒト骨肉腫由来培養細胞のSaOS-2を用いてE_2，副甲状腺ホルモン（PTH）の骨芽細胞におけるproteaseを介するIGFBP-4結合活性の調節機構について検討した．［方法］SaOS-2はE_2，PTH存在および非存在の無血清培養液中で培養した．培養液中のIGFBP-4結合活性はWestern ligand blotにより，IGFBP-4 protease活性は［^{125}I］IGFBP-4の分解能をオートラジオグラフィーにより解析した．骨芽細胞機能としてDNA合成活性を［^{3}H］thymidineのDNAへの取り込みを測定することにより求めた．［成績］培養液中のIGFBP-4結合活性はPTHにより2倍に上昇したが，E_2の同時添加によりコントロールレベルまで低下した．培養液中にはIGFBP-4に特異的なproteaseが存在し，その活性はPTHにより抑制されたが，E_2の同時添加によりコントロールレベルまで回復した．さらにproteaseにより分解されたIGFBP-4には，IGF-IによるDNA合成促進を抑制する作用が低下した．［結論］E_2はPTHによるIGFBP-4結合活性の上昇を抑制することにより骨芽細胞機能低下を抑制している．すなわち，閉経後は血中E_2が減少し，それまではE_2により抑制されていたPTHによるIGFBP-4 protease活性低下が増強するためにIGFBP-4の結合活性が上昇し，骨芽細胞機能が抑制されることが閉経後骨粗鬆症の発症に関与している可能性が示唆される．

250 内部標準を用いた定量的PCRによるPTH receptor mRNA量の微量測定法の確立

群馬大，同生化学 *
宮本純孝，鏡一成，岡野浩哉，曽田雅之，
時沢俊也，水沼英樹，伊吹令人，内田勉 *

目的: 閉経後骨粗鬆症の発症にはエストロゲン(E)及び骨吸収促進ホルモンであるPTHの関与が知られている．今回我々は，①競合的PCR法を用いたPTH receptor(PTHR)mRNAの微量定量法を確立し，②ヒト骨肉腫細胞(HOS)株でのPTHR mRNAを定量し，③又，ラットにおけるPTHR mRNAの体内定量的分布とその発現に対するEの影響を検討した．方法: ①組織よりtotal RNAを抽出し，一定量を逆転写反応させcDNAを得，約440bpを挟むプライマーを用いるPCRを行った．この際，プライマーを共有する濃度既知のDNA断片である内部標準を同一のチューブ内に加え，同時に増幅した．サンプルと内部標準の塩基数の違いにより増幅産物は電気泳動上2つのバンドとして認められる．^{32}P-PTHRプローブを用いたサザン・ブロット後，バンドの放射活性をFuji BAS 2000で測定し，標準曲線を作成しmRNA量を測定した．②8週齢ラットに卵摘を施行し，17β-estradiol投与群(E群，N=4)及び非投与群(C群，N=4)とに分け，4週間経過後腎臓，頭蓋骨，子宮を取り出しPTHR mRNAを測定した．尚，PTHR mRNAは1gのtotal RNA当たりのmol数で表した(×10^{-13}mol/g RNA)．結果: ①本法によりHOSのPTHR mRNA量は10.1であった．②腎臓，骨，子宮のPTHR mRNA量は，それぞれ腎臓E群212±18.8(mean±SE)，C群192±71.1，骨E群0.674±0.175，C群0.498±0.059，子宮E群3.17±0.08，C群2.06±0.332であり，臓器により特徴的な分布が見られた．又，各臓器におけるPTHR mRNA量は，E処理により有意の変化を示さなかった．結語: 我々はPCRを用いたPTHR mRNAの微量定量法を確立した．又，子宮においてもPTHR mRNAが定量でき，この臓器におけるPTHRの生理学的関与の可能性が示唆された．

NII-Electronic Library Service