

233 末梢血採血によるアンドロゲンレセプター-mRNA の解析についての検討

山梨医大

笠井剛、平田修司、平井光男、加藤順三

【目的】これまで、アンドロゲン受容体 (AR) 異常症において、アンドロゲンレセプター遺伝子の一次構造の解析はエクソンごとのゲノムDNAの遺伝子増幅によりなされてきたが、今回我々は、末梢血採血により ARmRNA についての構造解析が可能であるかどうかを RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction) 法を用いて検討した。

【方法】ヒト末梢血 5ml より得られた白血球より Guanidium-CsCl 法で total RNA を調製した。total RNA から逆転写酵素を用いて一本鎖 cDNA を合成した後、これを鋳型として PCR を行い遺伝子増幅した。PCR は、ヒト ARcDNA のエクソン F、G、H に対応した 458bp を規定するプライマーを用いて行った。得られた増幅遺伝子を電気泳動により精製し、増幅遺伝子の存在をサザンブロット法によって検討するとともに、Taq DNA Polymerase を用いた Dideoxy 法による直接塩基配列決定法により、増幅遺伝子の塩基配列を決定した。

【成績】RT-PCR 法により、458bp の増幅遺伝子が得られた。サザンブロット法および直接塩基配列決定法によりこの増幅遺伝子がヒト ARcDNA の一部に相当することが確認されたと同時に、ARmRNA の塩基配列の解析が可能であることが明らかになった。

【結論】ヒト末梢血白血球に ARmRNA が存在していることが明らかになった。これは末梢血採血により ARmRNA についての構造解析が可能であることを示すものであり、アンドロゲン受容体異常症の AR 遺伝子の解析にきわめて有用であると考えられる。

234 ヒト子宮内膜間質組織のプロゲステロン依存性 M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) 産生能について

京都大

刈谷方俊、神崎秀陽、岩井正純、今井公俊、岡本紀彦、江見信之、狩谷佳宣、畑山 博、福岡正恒、森 崇英

【目的】M-CSF は単球、マクロファージ系細胞の増殖、分化に必須の造血因子であるが、近年マウスにおいてその mRNA が妊娠子宮内膜上皮に局在し、その受容体が絨毛膜に認められることなどから胎盤の形成、機能調節にも関与することが示唆されている。ヒトにおいても妊娠後の子宮内膜 (脱落膜) における M-CSF mRNA の存在が報告されている。今回我々はヒト子宮内膜の細胞培養系を用いて、非妊時子宮内膜間質組織の M-CSF 産生能およびこれに対する卵巣ステロイドホルモンの影響を検討した。【方法】性成熟期婦人の手術時に得られた子宮内膜組織より酵素処理後比重遠心法にて 90% 以上の純度で間質細胞分画を分離した。これをプロゲステロン (P)、エストロゲン (E) 存在下および非存在下で培養し、その上清中の M-CSF を ELISA で測定した。さらに上清中 M-CSF の生物活性を確認するため、上清添加によるマウス骨髄細胞のコロニー形成実験及び抗 M-CSF 抗体を用いた中和実験を行なった。【成績】ヒト子宮内膜間質細胞分画の培養上清中には M-CSF が検出され、P 添加群で著明に産生量が多く、P 濃度依存性が認められた。一方、E 添加群では対照群と差は見られなかった。この間質細胞分画の上清はマウス骨髄細胞のコロニー形成能を示し、そのコロニー形成は抗 M-CSF 抗体の添加により阻止された。【結論】非妊時ヒト子宮内膜間質組織が P 依存性に M-CSF を産生することが初めて明らかとなり、M-CSF を介した子宮内膜機能の調節機構が存在していることが示唆された。