

133 ヒト子宮内膜における sex hormone binding globulinの発現とその制御機構

岐阜大

操 良、和田圭介、伊藤直樹、森 秀弘、
玉舎輝彦

[目的]近年、性ステロイド標的組織における sex hormone binding globulin (SHBG) の局在が示されたが、その由来は未だ不明である。本研究の目的は、ヒト子宮内膜におけるSHBGの発現を蛋白およびmRNAレベルで検討し、さらにその発現に対する性ステロイドの影響を明らかにすることにある。[方法]日産婦学会倫理規定に従って得たヒト正常子宮内膜とヒト子宮内膜癌細胞株 (ISHIKAWA) を用いて、(1) 抽出蛋白の抗ヒトSHBG抗体によるWestern blot解析を行った。(2) Poly(A)⁺RNAを抽出後、逆転写酵素によりcDNAを合成し、それを鋳型として polymerase chain reaction (PCR)を行った。(3) PCR産物をpCR II vectorにクローニングしその塩基配列を決定した。(4) 内部コントロールとして glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH) 遺伝子を同時に増幅し、SHBG遺伝子とG3PDH遺伝子の増幅曲線の比較により子宮内膜のSHBG mRNAレベルを定量した。(5) ISHIKAWA細胞にestradiol (E₂)あるいはtestosterone (T)を添加培養し、SHBGのmRNAと蛋白レベルを測定した。[成績]すべての子宮内膜 (25検体) において、(1) 抗ヒトSHBG抗体反応性蛋白と (2) SHBG primerから予想されるサイズの増幅DNAが検出され、(3) その塩基配列は ヒトSHBG cDNAのそれに一致した。(4) 子宮内膜におけるSHBG mRNAの発現レベルは増殖期に比し分泌期で有意に高かった。(5) ISHIKAWA細胞によるSHBGの発現は、mRNAと蛋白のいずれのレベルにおいても、E₂の添加により増強し、Tの添加により減弱した。[結論]ヒト子宮内膜によるSHBGの *in situ* 合成が確認された。またその産生は、肝由来の血清SHBGと同様に、E₂と Tにより制御されていることが示唆された。

134 ヒト子宮内膜におけるオキシトシン受容体遺伝子の局在とその性周期による発現調節

大阪大

竹村昌彦、木村正、井上朋子、福田真理子、
金井利仁、橋本一昌、東千尋、佐治文隆、谷澤修

[目的] オキシトシン(OT)は分娩時の子宮筋を強く収縮させるが、非妊娠子宮に対する作用は明かではない。その生理学的機能を解析するために、我々が単離した OT受容体(OTR)を用いて、非妊娠子宮における OTR遺伝子の局在と発現の性周期による調節を検討した。[方法]1. 患者の同意の下、手術により摘出した、性周期の各期における子宮内膜、筋層を用いて、ジゴキシゲニンにより標識したOTRcRNAプローブによるnon-RI *in situ* hybridizationを行った。これにより、OTRmRNAの発現と局在を検討した。2. 各標本より子宮内膜と筋層を分離し、これらからRNAを抽出した。このRNAを用いて逆転写酵素反応の後に、PCR法により(RT-PCR)OTR 遺伝子断片を増幅する事で、OTRmRNAの半定量を行った。[成績] 組織切片上において、子宮内膜腺上皮細胞に、OTRmRNAの局在を確認し、間質や、筋層では、有意なシグナルを認めなかった。上皮細胞におけるシグナルの強度は、排卵期>卵胞期>>黄体期であり、同様の傾向は、RT-PCRによるOTRmRNAの半定量法でも認められた。一方、筋層でも、RT-PCRによって、OTRmRNAの存在は確認し得たが、その発現量は、極めてわずかであり、性周期による差異も明らかではなかった。[結論]強力な子宮収縮物質として知られるOTは、非妊時子宮においても、その内膜腺上皮を標的としていることがわかった。その受容体mRNA量は、性周期に依存して変化し、排卵時期に一致して最大発現を示した。これは、OTRの発現の増減が、排卵周期の制御や、受精着床環境の整備、維持に大きな役割をはたしている可能性を強く示唆するものである。