

155 Apoptotic Process としてのヒト黄  
体の退行

和歌山医大

重根俊彦, 矢本希夫, 仲野良介

〔目的〕黄体の形成, 発育, および退行の調節機構については, 未だ不明な点が多い。最近, 卵胞の閉鎖に apoptosis (programmed cell death) が関連していることが報告されている。今回われわれはヒト黄体退行における apoptosis の関与について, DNA 3' 末端標識法を用いて検討した。〔方法〕学内倫理委員会承認のもと, 正常月経周期を有する子宮癌患者から手術時に黄体を採取し, また妊娠黄体は, 子宮外妊娠患者から得た。黄体組織は冷凍保存後, DNA を抽出調製し, [ $\alpha^{32}\text{P}$ ]-ddATPにて 3' 末端標識後, 電気泳動分離, autoradiography にて低分子量DNA分画の出現について検討した。また, 摘出黄体組織を直ちにBouin液にて固定し, パラフィン切片を作製した材料について, digoxigenin-ddUTPにて断片化DNAの3'末端を標識染色した。〔成績〕DNA末端標識後 autoradiographyによる解析から, 低分子量DNA分画は黄体期初期の黄体にはほとんど認められないことが確かめられた。黄体期中期より後期にかけて, "DNA ladder-pattern"の出現とその増強を認めた。月経周期4日目の退行黄体においてもDNAの断片化を強く認めた。妊娠6-8週の妊娠黄体では低分子量DNA分画の出現はほとんど認められなかった。in situ DNA 3'末端標識法においても, 黄体期初期から中期, 後期へと断片化DNAの黄体細胞における出現, 増加が認められた。〔結論〕ヒト黄体の退行がプログラムされた細胞死, つまり apoptosis であることが示唆された。また妊娠初期には, 月経黄体において認められる apoptotic cell death が抑制されていることが示唆された。

## 156 GnRHによる卵胞内apoptosisの誘導

東京大、長崎大解剖学\*

伯野直美、矢野 哲、堤 治、武谷雄二、  
小路武彦\*、中根一穂\*

〔目的〕最近, GnRH (gonadotropin-releasing hormone) が卵胞閉鎖に関与することが報告されている。今回, 我々は下垂体摘除幼若ラットを用いて, GnRHが卵胞の発育及び閉鎖に及ぼす直接作用を検討した。同時にTNF/NGF receptor familyに属し, apoptosisの誘導に関連するとされているFas抗原の遺伝子発現を検討した。〔方法〕estradiolで前処置した下垂体摘除幼若Wistar系雌ラットを4群に分け, ①生理食塩水 ②Buserelin(GnRH agonist) 100 $\mu\text{g}$ ③porcine FSH 0.05IU ④porcine FSH 0.05IU+Buserelin 100 $\mu\text{g}$ を12時間毎に計4回皮下投与した。最終投与12時間後に卵巣を摘出し, 4% paraformaldehydeによる既固定凍結切片を作成した。これを用いて(1)顆粒膜細胞層における1卵胞あたり10個以上のpyknosisの出現を指標とした卵胞閉鎖の有無の検討(2)In situ TdT法によるDNA断片化の確認、(3)oligo DNA probeを用いた in situ hybridization法によるFas抗原のmRNAの発現の検討を行った。〔成績〕②群では①群に比して、また④群では③群に比して発育卵胞の数が少なく, また全卵胞中における閉鎖卵胞の出現率も高かった。In situ TdT法にて閉鎖卵胞の顆粒膜細胞にDNA断片化の陽性細胞が認められたが、原始卵胞では認められなかった。Fas抗原mRNAは、閉鎖卵胞の顆粒膜細胞で発現していた。〔結論〕GnRHは、下垂体を介さぬ直接作用により発育卵胞の顆粒膜細胞におけるapoptosisを誘導しており、これにFas抗原が介在することが示唆された。すなわち、GnRHが卵巣内局所因子として卵胞発育の制御に関与する可能性が示された。