

61 構造的黄体腿縮 (structural luteolysis) における一酸化窒素 (NO) の役割

西宮市立中央病院¹、兵庫医大病理²
徐東舜¹、深見和之¹、中嶋康雄¹、小川春幾¹、
寺田信行²

【目的】我々は以前より、TNF- α 、IFN- γ 等のサイトカインが協調してマウス黄体細胞のアポトーシスを誘導し、黄体腿縮に関与する事を示唆してきた。しかし、これらのサイトカインがどのような機序で黄体細胞のアポトーシスを誘導するのかわからない。最近サイトカインによるアポトーシスがフリーラジカルの一つであるNOを介しているという報告がある。そこで今回、我々はマウス黄体細胞がサイトカインによりNOを誘導し、その作用により黄体細胞がアポトーシスとなるのかを検討した。(方法)未成熟マウスに排卵誘発を行い、腿縮期の黄体でのNO合成酵素の発現の有無をRT-PCR法で検討した。一方、妊娠中期マウスの黄体細胞を無血清培地で培養した。そしてTNF- α (500-3000U/ml)、IFN- γ (1000U/ml)、IL-1 (10-30U/ml)とNO合成酵素の阻害剤(L-NMMA 0.5mM)を添加し、培養後の生細胞数及び、培養液中に含まれるNOの量を測定した。NO合成酵素のmRNAの発現の有無も検討した。(成績)in vivoでは腿縮期(HCG投与後4日目)の黄体でNO合成酵素のmRNAの発現が明らかになった。in vitro においてはIFN- γ +TNF- α or IL-1では有意に、3つのサイトカインでは相乗的にNO産生が増加し、またNO合成酵素のmRNAの発現も見た。しかし、これらのサイトカインの組み合わせにL-NMMAを加えてNOの産生を抑制しても、黄体細胞のアポトーシスの増加を抑制する事は出来なかった。(結論)①腿縮期の黄体でNOの存在が明らかになった。②腿縮期の黄体でのNOは黄体細胞により産生され、黄体腿縮に何らかの作用を及ぼしている事が示唆された。③しかしNOは黄体細胞のアポトーシスの誘導には直接関与しなかった。

62 マウス卵成熟分化過程におけるcyclin D1・D2・D3-mRNA量の変化

帝京大学医学部産科婦人科学教室
綾部琢哉、森 宏之、冲永莊一

【目的】マウス卵の成熟過程から2細胞期胚までにおけるcyclin Ds-mRNA量の変化を観察し、初期胚の卵分割過程におけるcyclin Dsの役割を検討する。

【方法】過排卵誘起したマウス卵巣より未熟卵および成熟卵を、排卵後の卵管からmetaphase-II卵(Met-II卵)を採取した。Met-II卵を体外受精させ2細胞期胚までの各段階ごとに卵を200個ずつ回収しmRNAを抽出、reverse transcription-polymerase chain reaction法を用いてcyclin Ds-mRNAの量を測定し、各発生段階ごとに比較した。

【成績】(1)未熟卵、成熟卵、Met-II卵のcyclin D1・D3-mRNA量は一定、cyclin D2-mRNA量はMet-II卵で約40%まで低下していた。(2)受精後cyclin D1-mRNA量は一定で、第2細胞周期(2細胞期から4細胞期へ)のG2期に約3倍まで上昇していた。この上昇は α -amanitinによるRNA polymerase抑制下で約20%まで抑制された。(3)cyclin D2-mRNA量は第1細胞周期(1細胞期から2細胞期へ)の早期に約40%まで低下し、そのまま一定であった。(4)cyclin D3-mRNA量は受精後約60%まで低下、第1細胞周期のS期に約90%まで上昇、その後再び低下していた。

【結論】(1)cyclin D1・D2・D3はマウス卵の減数分裂、有糸分裂過程にそれぞれ別の様式で関与していること、(2)第2細胞周期でのcyclin D1-mRNA量の上昇は初期胚のgenomeからの転写によるものであること、が示唆された。