

P-221 子宮内膜症特異的な遺伝子の一部
クローニング

名古屋市立大、大阪市立大 第一解剖*
鈴森 伸宏、佐藤 真*、鈴森 薫

(目的) 子宮内膜症に特異的な遺伝子を Differential Display法を用い、クローニングすることにより、疾患に特異的な遺伝子の発現を見だし、その機能を解析することを目的とする。

(方法) 子宮内膜症を有する患者の開腹術で摘出したChocolate cystを用いて、同意の上、凍結標本を作製した。Controlとして、同意を得て、子宮頸部異形成などで開腹術を施行した患者より得た正常の卵巣より、同様に標本を作製した。凍結標本よりmRNAを抽出し、S-dATP存在下でRT-PCRを施行した。反応物は順に並べて、4.5% Polyacrylamid Gelで電気泳動し、Gelを濾紙に移し乾燥後、Filmにかけた。Filmにて、明らかに内膜症のみに発現していると思われるBandを切り出し、Gel抽出した。抽出物は再度PCRをかけ泳動後、抽出しpGEM vectorにLigationさせ、E.coliに形質転換し、Plasmidを作製した。制限酵素にて切断を確認し、Templateを作りcRNA probeとした。cRNA probeにて、In situ hybridizationを行い、比較した。次に、Total-RNAを抽出し、Northern blotにてcDNA probeの発現の差を確認した。(成績) 子宮内膜症に特異的な多くの候補クローンをスクリーニングしたところ、In situ hybridizationにて、子宮内膜症腺管上皮細胞に特異的な発現がみられたAntisense probeが存在した。このクローンはNorthern blotにて約0.7kbのcDNAの発現が確認された。(結論) Differential Display法にて子宮内膜症に特異的なクローンが存在することがわかった。今後は確認されたクローンの塩基配列の検索を行いその機能を解析すると同時に、他の候補となるクローンを探索する方針である。

P-222 子宮内膜におけるエクソン6欠失プロゲステロン受容体 mRNA 変異株の同定

山梨医大
奈良政敏、平田修司、奥田靖彦、星和彦

[目的] 子宮内膜のエストロゲン受容体 mRNA においてエクソン5や7が欠失した変異株の存在が報告され、子宮内膜癌の発生・進展との関連が注目されている。しかし、プロゲステロン受容体 (PR) mRNA 変異株についての報告はみられない。今回われわれは、正常子宮内膜において PR mRNA 変異株の同定を試みた。

[方法] 患者の同意を得て子宮筋腫の手術時に採取した増殖期子宮内膜より total RNA を調製し、ヒト PR cDNA のエクソン5からエクソン8までの410bpを規定する PCR プライマーを用いて RT-PCR 法を行った。得られた2種類のサイズの増幅遺伝子をサブクローニングし塩基配列を決定した。
[成績] 得られた2種類の増幅遺伝子のサイズは、410bp ならびに 279bp であった。410bp の増幅遺伝子の塩基配列はヒト PR cDNA と一致しており、wild type PR mRNA を起源としたものであることが確認された。一方、279bp の増幅遺伝子はヒト PR cDNA の塩基配列のうちエクソン6に由来する配列を欠失し、エクソン5-7-8構造を有していたことから、エクソン6欠失 PR mRNA 変異株を起源としたものであることが明らかになった。

[結論] 正常子宮内膜にエクソン6欠失 PR mRNA 変異株が存在していることがはじめて明らかになった。このエクソン6欠失 PR mRNA 変異株から翻訳されると推定されるエクソン6欠失 PR 変異株がどのような生理的役割を果たしているか不明であるが、病的関連性を有している可能性も考えられ、極めて注目すべき成績であると思われる。