

43 superoxide dismutase (SOD)
antisense oligonucleotide による黄体細胞の SOD
活性の抑制と progesterone 分泌に及ぼす影響

山口大

杉野法広, 滝口修司, 樫田史郎, 高山尚子,
山縣芳明, 中村康彦, 加藤 紘

【目的】我々は、活性酸素の特異的消去酵素である superoxide dismutase (SOD) が黄体機能と密接に関係していることを報告してきた。今回は、SOD活性の低下が黄体機能に及ぼす影響を及ぼすかを検討した。【方法】3週齢の SD 系幼若雌ラットに PMSG (40IU) と hCG (40IU) を皮下注射し過排卵させ、排卵後 7日目の黄体より黄体細胞を得た。Cu,Zn-SOD活性を低下させる目的でCu,Zn-SOD の antisense oligonucleotide (5 μ M, 10 μ M) を添加し、無血清培地で hCG (2 IU/ml) の存在下または非存在下に48時間培養した。培養終了後、黄体細胞を超音波破碎し細胞中の Cu,Zn-SOD 活性と培養液中の progesterone (P) 濃度を測定し、さらに apoptosis 細胞の割合を Hoechst 33342 dye による核染色で検討した。【成績】10 μ M の Cu,Zn-SOD antisense oligonucleotide の添加により黄体細胞中の Cu,Zn-SOD活性は、control の50%以下まで抑制された。P分泌は、hCG存在下では antisense oligonucleotide により有意に抑制されたが、この抑制は抗酸化剤である N-acetyl-L-cysteine (100mM) の同時添加により完全にブロックされた。apoptosis 細胞数には Cu,Zn-SOD antisense oligonucleotide 添加による有意な変化はみられなかった。【結論】黄体細胞中の Cu,Zn-SOD活性の低下は、活性酸素を介し P分泌を低下させることが明らかとなった。また、この P分泌抑制は、apoptosis を介していない可能性が示された。

44 ヒト妊娠黄体の大黄体細胞に強く発
現する蛋白の精製と解析

京都大, 同ウイルス研究所*

高尾由美, 藤原 浩, 上田正道*, 樋口壽宏,
山田成利, 小坂謙三, 藤井信吾

【目的】卵巣における月経周期黄体と妊娠黄体はその分化・機能調節機構に異なった面があり、妊娠黄体には、妊娠黄体固有の分化調節機構の存在が考えられる。そこで、妊娠黄体に対する単クローン抗体を作成したところ、月経周期黄体に比べ妊娠黄体に強く発現している蛋白を見だし、その精製と解析をしたので報告する。【方法】妊娠15週黄体を BALB/c mouse に免疫し、単クローン抗体を作成した。月経周期黄体と妊娠黄体での抗原の発現を、凍結切片を用いた間接蛍光抗体法で調べた。affinity chromatography 法で抗原蛋白を精製し、SDS-PAGE によって分子量を調べた。胎盤から抗原蛋白を大量精製し、N末端アミノ酸配列の解析を行った。標本採取は患者同意のもとにおこなった。【成績】妊娠黄体ではこの単クローン抗体は、大黄体細胞の細胞質に顆粒状に強く反応し、小黄体細胞にはほとんど反応しなかった。また、月経周期黄体の大黄体細胞の細胞質には極めて弱く反応し、小黄体細胞には反応しなかった。ヒト妊娠黄体より精製した抗原蛋白は、SDS-PAGE上で単一のバンドを示し、分子量は、61 kD であった。ヒト胎盤より同様の蛋白が精製できたので、胎盤より大量に精製した。精製した蛋白の N末端アミノ酸配列を分析したところエドマン分解不能であった。N末端が化学修飾されている可能性が高く、現在再度アミノ酸分析中である。【結論】妊娠黄体の大黄体細胞に強く反応する単クローン抗体が得られた。この抗原解析から、分子量が61 kD の蛋白質であることを見だした。この蛋白を解析することで妊娠黄体に固有の黄体機能調節機構が存在するか否かを解明できるものと考えられる。