

267 ヒト子宮平滑筋及び子宮筋腫における VEGF 受容体に関する検討

東京医歯大、同大学院細胞機能制御学*

谷口義実、森田育男*、久保田俊郎、室田誠逸*、
麻生武志

〔目的〕血管内皮細胞の増殖因子である **vascular endothelial growth factor(VEGF)** は子宮内膜の増殖や癌の転移に関係し、血管周囲の細胞から産生され、血管内皮細胞の受容体に結合して作用を発現する。最近、**VEGF 受容体(VEGFR)** が他の細胞にも発現していることが明らかとなったが、その作用は解明されていない。本研究では子宮平滑筋細胞及び筋腫細胞における **VEGF** の作用を明らかにするため、これらの細胞における **VEGFR** の発現を検討した。〔方法〕子宮筋腫にて子宮全摘出術を施行された症例より患者同意のもとに子宮平滑筋組織及び筋腫組織を採取し、それぞれの純培養を行った。培養子宮平滑筋細胞及び筋腫細胞より **RNA** を抽出し、**RT-PCR** 法により **VEGFR** である **kinase insert domain-containing receptor(KDR)** の **mRNA** の発現を解析した。さらに **KDR** 及び他の **VEGFR** である **Flt-1** の蛋白レベルでの発現について、蛍光抗体を用いた間接免疫法を行い、共焦点レーザー顕微鏡下に観察し検討した。〔成績〕子宮平滑筋細胞及び筋腫細胞のいずれにも **KDR** の **mRNA** の発現を認めた。また、血管内皮細胞と同程度の **KDR** 及び **Flt-1** 蛋白の発現も認められた (**KDR** **pic/cell**:血管内皮細胞: 1.3×10^5 、子宮平滑筋: 2.0×10^5 、子宮筋腫: 1.7×10^5)。しかし、血管平滑筋細胞にはその発現が認められなかった。〔結論〕子宮平滑筋細胞では **VEGF** の産生が認められていたが、本研究により子宮平滑筋細胞、筋腫細胞に **KDR** が発現していることが証明された。これにより、**VEGF** が **autocrine** に作用している可能性が強く示唆された。

268 子宮筋腫細胞のアポトーシス誘導に伴う $TNF\alpha$ の発現動態

神戸大

倉智 治、松尾博哉、村越 馨、望月慎介、
吉田茂樹、佐本 崇、丸尾 猛

〔目的〕我々は **Bcl-2** 蛋白が子宮筋腫細胞に強く発現することを報告してきた。今回 **Bcl-2** 蛋白が $TNF\alpha$ によるアポトーシス誘導を抑制することに着目し、子宮筋腫細胞での $TNF\alpha$ の発現態度ならびに活性酸素発生下の子宮筋腫細胞アポトーシス誘導系での $TNF\alpha$ 発現を調べ、子宮筋腫細胞アポトーシスへの $TNF\alpha$ の関わりを検討した。

〔方法〕手術時にインフォームドコンセントを得て、増殖期と分泌期、さらに妊娠時子宮筋腫組織を採取し、**ABA** 法による免疫染色ならびに **Western blot** 法で $TNF\alpha$ 発現を調べた。また子宮筋腫細胞培養系で $0.5\text{ mM H}_2\text{O}_2$ 処理により活性酸素を発生させ、経時的に **Tripan blue** 染色により生細胞数を、**in situ DNA 3' end labeling** 法により **DNA** 断片化シグナルを、**Western blot** 法により $TNF\alpha$ 発現レベルを調べた。〔結果〕 $TNF\alpha$ の発現は正常子宮筋細胞に比して子宮筋腫細胞で強く、分泌期に比して増殖期で高いことを認めたが、妊娠時子宮筋腫細胞での $TNF\alpha$ 発現は観察されなかった。培養子宮筋腫細胞において H_2O_2 処理後 5 時間で生細胞数の減少とともに **Apoptotic cell** が観察され、同時に $TNF\alpha$ 発現の増強を認めた。

〔結論〕 $TNF\alpha$ が子宮筋腫細胞で発現し、その発現レベルは分泌期に比して増殖期に高く、妊娠時子宮筋腫細胞で観察されなかったこと、また筋腫細胞培養系での H_2O_2 によるアポトーシス誘導に伴い筋腫細胞での $TNF\alpha$ 産生が増強したことより、子宮筋腫細胞でのアポトーシス調節因子としての $TNF\alpha$ の役割が示唆された。