

310 マウスにおけるヒト Gross cystic disease fluid protein15 (GCDFP15) 相同蛋白の発現およびその遺伝子解析

山形大

吉田雅人 齊藤英和 廣井正彦

〔目的〕 Gross cystic disease protein 15 (GCDFP15) はヒト乳腺腫瘍において最初に見つかった 15~20kDa の糖蛋白であり、唾液、母乳、精漿などの体液にも含まれている。アンドロゲンやプロラクチンなどの生殖ホルモン反応性であることより、生殖生理の面での役割が推測される。今回われわれはマウスにおいてヒト GCDFP15 と相同性の高い蛋白を検出し、その遺伝子構造を解析したので報告する。〔方法〕 DBA/2 マウスより顎下腺を摘出後、RT-PCR 法を行い、約 14kDa のマウス顎下腺蛋白の cDNA を得た。これをもとにプライマーを設定し、マウスゲノム DNA を材料として PCR を行い、GCDFP15 遺伝子の塩基配列を決定し、さらにヒト GCDFP15 との相同性を調べるために配列内の構造を比較検討した。〔成績〕 RT-PCR 法により、約 0.6kb の単一なバンドが得られた。マウスゲノム DNA を用いた PCR の結果より、GCDFP15 遺伝子は約 4.6kb の大きさで、0.1kb のエクソン 4 個と 3 個のイントロン (2.2kb、1.6kb、0.3kb) で構成されていた。これはヒト GCDFP15 遺伝子とほぼ同じ構成であった。コードしているアミノ酸は 146 個で、47% がヒトと相同であった。またホモロジー検索 (FASTA) では、seminal vesicle autoantigen (SVA) などの遺伝子構造の似た糖蛋白は確認できたが、相同なものはなかった。〔結論〕 マウスにおいてもヒト GCDFP15 と相同な蛋白が発現していた。その機能はヒト蛋白同様に明らかではないが、今後他の発現臓器の同定やホルモン反応性の有無等を検討しながら、GCDFP15 の役割を解明していく予定である。

311 ヒト子宮内膜において月経周期により変動する遺伝子の解析 —cDNA expression array法による検討—

関西医大

岡田園子, 岡田英孝, 実積真由美, 中嶋達也, 吉村智雄, 松岡 進, 齊藤淳子, 安田勝彦, 神崎秀陽

〔目的〕 月経周期とともに子宮内膜局所でのサイトカイン、成長因子、接着分子、細胞外マトリックス等の発現の変動がみられ、着床やその後の妊娠維持におけるこれらの果たす役割が示唆されている。しかし、ヒトの生体内においてどのように制御されて作用するのかは不明な点が多い。本研究では、ヒト子宮内膜において月経周期により変動する遺伝子の解析を試みた。〔方法〕 患者の同意のもと、手術により得られた増殖期と分泌期の子宮内膜より RNA を抽出し、cDNA expression array法を施行した。cDNA expression arrayには、既知のサイトカイン、増殖因子、シグナル分子、転写因子のユニークな cDNA 断片が含まれ遺伝子発現の分析が可能である。また子宮内膜間質細胞を分離培養しプロゲステロン存在下で培養し RNA を抽出し、Northern blot法にて遺伝子発現を比較した。〔成績〕 両月経周期とも同様に発現が認められた一つに EPS (EGF-pathway-substrate)15 があり、Northern blot で子宮内膜組織に同様に EPS15 の発現を認めた。また分泌期において発現量の増加が認められるスポットを選別したところ、この一つが IL (Interleukin)-15 であった。子宮内膜組織の Northern blot においても増殖期に比べ分泌期において IL-15 の発現の増加を認めた。さらにヒト子宮内膜間質培養細胞においてプロゲステロン添加培養による細胞分化 (脱落膜化) 誘導により IL-15 の発現が増加した。〔結論〕 ヒト子宮内膜局所において、IL-15 はプロゲステロンにより誘導される局所因子の一つであることが判明した。

312 妊娠初期ヒト絨毛における X 染色体不活性化解析

東北大

上原茂樹、田村充利、室月 淳、八重樫伸生、岡村州博、矢嶋 聡

〔目的〕 マウス絨毛では父性 (父親由来) X 染色体が選択的に不活性化され妊娠維持の鍵となっている可能性があるが、ヒト絨毛では明確な結論がないため検討した。〔方法〕 妊娠 7~8 週の人工妊娠中絶時に了解を得て絨毛および妊婦末梢血を採取し、絨毛の染色体検査とともに genomic DNA を抽出した。一部の絨毛はホルマリン固定後パラフィン包埋し切片よりトロホプラスト細胞塊を microdissection し DNA を得た。X 染色体不活性化解析は、不活性化に伴う DNA メチル化部位を切断しない制限酵素 (*HpaII*) 処理後、X 連鎖遺伝子 *PGK* (phosphoglycerate kinase gene) exon 1 近傍を PCR 増幅 (増幅領域内に *HpaII* 切断部位が存在) し、増幅領域内の *BstXI* 切断部位を多型解析することによって。〔成績〕 絨毛検体 46 例中 21 例が 46,XX であり、21 例中 *BstXI* 多型ヘテロであった (不活化現象が評価可能であった) 検体は 11 例で、そのうち 6 例は母親が *BstXI* 多型ホモであった。PCR 増幅 *BstXI* 処理産物の泳動による定量的検討において、6 例中 5 例で父親由来バンドピークが母親由来ピークより優ったが優位性は 10~3 倍と多様であり、残り 1 例には差異がなかった。microdissection によるトロホプラスト 68 検体では、27 検体で父親由来バンドのみ、9 例で母親由来バンドのみが検出されたが、32 検体では両親由来のバンドが検出された。〔結論〕 結果は父性 allele がメチル化により *HpaII* 切断されず PCR template 中に相対的に多く含まれたため PCR 増幅 *BstXI* 処理産物量も多く得られたことを意味し、ヒトでも父性 X 染色体が多く不活性化されていることが示唆される。しかしヒト絨毛ではマウスよりその程度が小さく、ヒト発生段階での X 染色体不活性化開始はマウスより遅い可能性がある。