

127 マウス初期胚発育におけるユビキチンシステムの関与の検討

防衛医大¹, 同分婉部²牧村紀子¹, 福井詩子¹, 黒田浩一², 村上充剛¹, 松田秀雄¹, 古谷健一¹, 永田一郎¹

【目的】細胞周期の進行は細胞周期制御因子のユビキチン依存性蛋白質分解により制御されている。前回、細胞周期に関わる蛋白の mRNA 発現を調べ、オキシトシン (OT) が細胞分裂促進に関与していること、スタウロスポリン (ST) による 2 細胞期停止は G1 期で停止することを報告した。そこで今回は、OT および ST がこのユビキチン依存性蛋白質分解に関与し細胞周期の進行を促進および停止しているのかを検討した。【方法】ICR 系雌マウスの受精卵を用いた。1 細胞期胚 G1 期に ST を添加培養後 2 細胞期で停止した胚に OT を添加後 30, 60, 90 分間培養した。培養後の受精卵を 4% PFA で固定し、抗サイクリン B 抗血清および抗ユビキチン抗血清を用いて免疫組織染色を行い、サイクリン B およびユビキチンの局在を観察した。【成績】サイクリン B は停止した胚では細胞質全体に弱く、核の中では強く染色されていた。しかし OT 添加後で核の中のサイクリン B は経時的に減少し、90 分後にはほとんど認められなくなった。ユビキチンは停止した胚では細胞質全体に弱く認められていたが、OT 添加 30 分後から核の中で明らかに認められ始め、90 分後には核の中に強く更にその周囲にも強く認められた。【結論】ST により停止した 2 細胞期胚は、OT によって、細胞内に分解されずに蓄積されていたサイクリン B がユビキチン化され分解し、その結果、細胞周期の進行を再開することが示唆された。OT および ST はユビキチンシステムを介して細胞周期制御に関与していることが明らかとなった。

14 口演
日 演
(月)

128 正常子宮内膜における性ステロイド受容体の転写共役因子 (CBP, SRC-1, SMRT) の発現

信州大

塩沢丹里, 施 顯璋, 内川順子, 伊東和子, 二階堂敏雄, 小西郁生

【目的】性ステロイドの効果発現において性ステロイド受容体 (ER, PR) と種々の転写共役因子との相互作用が注目されているが、子宮内膜の増殖・分化における共役因子の関与は明らかにされていない。そこで、転写共役因子のうち co-activator の CREB binding protein (CBP), steroid receptor coactivator-1 (SRC-1), および co-repressor の silencing mediator for retinoid and thyroid-hormone receptor (SMRT) の子宮内膜における発現と局在、さらに受容体との結合を検討した。【方法】患者の同意のもと手術標本より得られた正常子宮内膜 25 例 (増殖期 15 例, 分泌期 10 例) のホルマリン固定パラフィン包埋切片について CBP, SRC-1, SMRT に対する抗体を用いて免疫染色を行い、ER, PR 発現と比較した。また正常内膜腺上皮より抽出した蛋白を用い各因子と ER, PR との結合を免疫沈降法により検討した。【成績】CBP は増殖期, 分泌期を通じて腺上皮細胞の核内に発現していたが、SRC-1 は増殖期の腺上皮細胞の一部に陽性で分泌期には陰性であった。一方、co-repressor の SMRT は増殖期では基底層の腺上皮細胞にのみ発現し機能層には陰性であったが、分泌初期には機能層の腺上皮細胞にも強く発現し、分泌中期以降は陰性となった。免疫沈降法により各因子と ER, PR の結合が認められた。【結論】子宮内膜において性ステロイド受容体の転写共役因子のうち、SRC-1 および SMRT は月経周期の中でその発現が変化していることが判明した。とくに SMRT はその局在や分泌初期における発現上昇から性ステロイド効果発現の負の制御に大きく関与している可能性が示唆された。

129 子宮内膜におけるヘパリン結合性成長因子 Midkine の産生について

東京医大

佐藤 力, 赤枝朋嘉, 福嶺紀隆, 白田三郎, 伊東宏絵, 鈴木良知, 井坂恵一, 高山雅臣

【目的】Midkine (MK) は、胚性腫瘍細胞の分化に際して発現が誘導されるヘパリン結合性成長因子であり、組織再構築と深い関わりがある。そこで剥離再生を繰り返すヒト子宮内膜における MK の産生および動態について検討した。【方法】患者の同意を得た後、子宮筋腫手術検体 12 例から子宮内膜を採取した。子宮内膜の一部を、病理用として切除後、機能層を削ぎ取り collagenase にて分散後、篩にて内膜腺細胞 (EM-G) と間質細胞 (EM-S) に分離し培養を行なった。培養 3 日目に steroid hormone, 成長因子の添加を行い、培養液は 3-4 日毎に交換した。組織内 MK の局在, mRNA の検出は、パラフィン切片を用い酵素抗体法および in situ RT-PCR 法により、培養上清中 MK 濃度測定は、ELISA 法を用いた。【成績】免疫組織学的染色では、EM-G に MK の染色を認めたが、EM-S には明らかな染色は認められなかった。mRNA の発現は EM-G, EM-S に認められたが、特に EM-G に強いシグナルを認めた。MK の濃度測定結果では、EM-G 培養上清中の MK 濃度は、培養経過とともに増加し、7 日目では平均 30.4 ng/ml (n=5) と高値を示したが添加による変化は認めなかった。一方、EM-S 培養上清中では、培養経過による増加は認めず、7 日目では平均 2.3 ng/ml (n=5) を示したが、progesterone 添加により無添加の 2-6 倍の著明な増加が認められた。【結論】子宮内膜より MK が産生分泌されることが明らかとなった。その産生は steroid hormone の影響を受けることから、月経周期と何らかの関連性を持つことが予想され、細胞分化時に発現する MK は受精卵の着床の際に重要な役割を演じるものと考えられる。