

P-484 月経周期子宮内膜のアポトーシスと PI3K/Akt 関連蛋白の局在の検討

広島大
豊福 彩, 原 鐵晃, 大濱絃三

【目的】Aktは増殖因子の刺激により活性化され、Badをリン酸化してBcl-Xlとの結合を阻害し神経や心筋細胞等のアポトーシスを抑制することが知られている。我々は昨年の本学会で、マウス着床過程に脱落膜のPI3K/Akt pathwayが関与していることを報告した。そこで今回は、ヒト子宮内膜の月経周期におけるアポトーシスとAkt関連蛋白の発現変化との関連を検討した。【方法】患者の同意の下に、正常月経周期を有する良性疾患例での摘出子宮(27例)および子宮外妊娠例(5例)から子宮内膜を採取し、TUNEL法にてアポトーシス細胞を検出した。また、子宮内膜組織からtotal RNAを抽出し、RT-PCRでAkt1, 2 mRNAを検出した。さらに、免疫染色でAkt1/2およびリン酸化pAkt(Sr472), pBad(Sr136)の局在の変化を検討した。【成績】TUNEL法では増殖期前期から分泌期中期にかけては陽性細胞を認めず、月経周期25日目以降で基底層の腺および機能層の腺・間質に陽性細胞が認められ、脱落膜には陽性細胞を認めなかった。Akt1, 2 mRNAの発現は分泌期に低下し、脱落膜で著明に低下しており、免疫染色ではAkt1/2は基底層と機能層の腺上皮及び機能層の間質に発現を認め、脱落膜反応とともに陽性細胞の存在部位は拡大した。pAkt(Sr473)やpBad(Sr136)の変化もほぼ同様であった。pBadの発現とTUNEL陽性率とは逆相関を示し、pBadの発現が消失している部位にTUNEL陽性細胞が認められた。【結論】子宮内膜の脱落膜化に伴いAkt, pAkt, pBadの発現は増加した。一方月経直前にはpBadが消失してTUNEL陽性となることから、子宮内膜の剥脱にはアポトーシスが関与しており、その調節にはAkt, Badのリン酸化が関与することが示唆された。

P-485 正常子宮内膜表層の血管新生と性周期との関連性

岩手県立高田病院¹, 岩手医大²
秋元義弘¹, 松田壯正², 利部輝雄²

【目的】正常子宮内膜の周期的変化は受精卵の着床にとってきわめて重要である。子宮内膜周期の診断は通常、腺と間質の形態によるが血管新生も内膜機能の評価に重要と考えられる。そこで、正常子宮内膜表層における毛細血管新生と性周期との関係を検討した。【方法】子宮頸部病変で子宮摘出術を行った40例の子宮内膜を患者の了解を得て検討した。内訳は閉経期10例、正常性周期30例である。摘出子宮を20%ホルマリン液で固定、通常のパラフィン包埋後3μmの連続切片を作成、ひとつをHE染色、他の二つを血管新生因子のCD34と第8因子の抗体を用いて免疫組織学的に染色し表層の1mm²あたりの陽性毛細血管を10視野数えその平均値を求めた。【成績】子宮内膜表層1mm²あたりのCD34陽性毛細血管数はの平均値は以下のごとくである。閉経期の萎縮内膜14.0±11.6、静止期内膜37.0±5.1、であった。正常月経周期におけるそれらは増殖初期64.0±4.7、同中期79.0±3.6、同後期115.5±15.7、分泌期初期138.0±25.8、同中期94.0±8.6同後期90.0±7.2であり、分泌期初期特に排卵後2日に最も数が増加した。また、分泌期全体を通じて増殖期の毛細血管数に比して有意の増加を示した。子宮内膜表層の第8因子陽性毛細血管は分泌期にのみみとめられ、その1mm²あたりの数は16.0±2.4であった。【結論】子宮内膜表層のCD34陽性毛細血管数が性周期で変動すること及び第8因子陽性毛細血管は分泌期のみ出現することを明らかにした。これらのことから子宮内膜の血管新生は受精や着床にとって重要な因子のひとつであると考えられた。

P-486 子宮内膜上皮細胞から産生される血管新生促進因子に関する検討

東邦大大森病院¹, 東京医歯大医歯学総合研究科分子細胞機能学分野²
浅川恭行¹, 森田育男², 田中政信¹, 前村俊満¹, 久保春海¹

【目的】血管新生は、生理的状态においては、発生・分化に伴う血管新生が挙げられるが、これらはvasculogenesisに含まれており、その意味から生理的状态における血管新生としては月経周期に伴う子宮内膜の肥厚時に認められる血管新生がその代表であると考えられ、血管新生因子の同定、および性ホルモンによる調節を検討した。【方法】良性子宮疾患の適応により摘出手術を受けた子宮のうち、承諾の得られた正常な月経周期を有し、ホルモン治療の既往のないことが確認された子宮内膜を採取した。子宮内膜組織より間質細胞と上皮細胞を単離・培養する系を考案し、その血管新生促進能をin vitro tube formation系で比較検討した。【成績】子宮内膜細胞を間質細胞と上皮細胞に分離する方法を確立した。ウシ頸動脈由来血管内皮細胞をコラーゲン内で3次元培養すると血管腔が形成されるが、この系により上皮細胞における血管新生促進活性は、間質細胞よりも高いことが明らかとなった。上皮細胞の血管新生促進効果は、b-FGF(basic fibroblast growth factor), VEGF(Vascular endothelial growth factor)中和抗体で抑制されたが、血管新生実験に用いているウシ血管内皮細胞は自らb-FGFを産生しており、またその産生量は子宮内膜上皮細胞より高かったことより、子宮内膜上皮細胞から産生される血管新生促進因子は主にVEGFであると推測され、VEGF産生量をELISA法で測定したところ、上皮細胞で間質細胞よりも高い値が得られ、さらにエストロゲン添加により有意な上昇が認められた。【結論】子宮内膜上皮細胞からは血管新生因子としてVEGFが産生され、月経周期の子宮内膜の増殖、修復に関与している可能性が示唆された。