

P1-271 マウス卵成熟および初期卵割過程における Bromodomain4 (Brd4) の発現と局在様式

慶應大

長島 隆, 丸山哲夫, 内田 浩, 升田博隆, 荒瀬 透, 小野政徳, 古谷正敬, 浅田弘法, 吉村泰典, 野澤志朗

【目的】アセチル化ヒストンの結合モジュールである bromodomain は、転写調節を介して様々な細胞機能に関与する。ユニークな bromodomain を有する核蛋白 Brd4 は、通常の転写因子とは異なり、体細胞分裂時においても染色体から遊離しないのでその結合を維持することから、細胞世代間での遺伝情報の記憶継承メカニズムに関与する可能性が示唆されている。さらに、Brd4 欠損マウスは内部細胞塊形成不全により胚性致死となり、ヘテロ個体は多発奇形と発育不全を呈する。本研究では、卵成熟・卵割過程における Brd4 の発現と局在を調べることににより、エピジェネティック機構への関与も含めた Brd4 の役割を解明することを目的とした。【方法】4週齢の BDF1 雌マウスに対して卵胞発育刺激を行い、摘出卵巣から GV を採取し、さらに培養にて GVBD および MI 期卵を得た。また同様の卵胞刺激に続いて排卵刺激を行い、卵管膨大部から MII 期卵を採取、体外受精を行い1細胞期胚および2細胞期胚を得た。これらに対して、抗 Brd4 抗体を用いた蛍光染色による局在解析、並びに RT-PCR と Western blot による Brd4 の mRNA と蛋白の発現解析を行った。【成績】Brd4 は、GV から1細胞期胚までは染色体から遊離した状態で核および細胞質に一樣に分布していたが、2細胞期胚では核に局在した。mRNA および蛋白の発現は、GV 卵から増強し MI および MII 期卵でピークに達した後、1細胞期胚以降は減弱した。【結論】1細胞期胚までは Brd4 は体細胞と全く異なる局在を示したことから、この間のエピジェネティックな遺伝情報制御と2細胞期胚前後から始まる zygotic gene activation の発動機構に関与する可能性が示唆された。

4
日
月
一
般
演
題

P1-272 一般成人の下垂体-卵巣ホルモン測定に関する検討

浜松医大¹, 豊橋市民病院不妊センター²竹内欽哉¹, 和田久恵¹, 高田佳世子¹, 小林友季子¹, 中村友紀¹, 沼野由記¹, 菅沼信彦², 金山尚裕¹

【目的】近年、排卵障害、男性不妊の増加が指摘されている。一般成人男女、特に結婚前で病院に訪れない成人の内分泌動態に関する調査は少ない。そこで、今回、一般成人の生殖関連ホルモンについて測定を試みた。【方法】平成15年11月から16年8月の期間中、大学生に対して、インフォームドコンセントを得た後、男子学生はFSH、女子学生はエストラジオール(E₂)、プロゲステロン(P)、LH、FSHを測定した。測定には東ソー AIA600II (EIA法)を用いた。また、任意にて男子学生には精液検査、女子学生には基礎体温測定とホルモンの再検査を行った。【成績】男子学生71名、女子学生44名の平均年齢はそれぞれ25.8歳、25.3歳であった。男子学生のFSHは 5.2 ± 4.4 (平均 \pm 標準偏差) mIU/mlであった。男子学生で任意の精液検査を行ったものは23名であった。FSH ≥ 10 は4名あり、このうち3名が精液検査を行った。女子学生については、卵胞期(P<1.0ng/ml)27名、排卵期(E₂ ≥ 150 pg/mlかつLH ≥ 20 mIU/ml)2名、黄体期(P ≥ 1.0)15名であった。女子学生で基礎体温測定とホルモン再検査を行ったものは5名であった。排卵期においてLH ≥ 10 かつLH/FSH ≥ 1 の学生が6名あり、この6名の月経周期はすべて40日以上であった。【結論】結婚前の一般成人男女において、少なからず生殖関連ホルモンの異常が存在することがわかった。特に女子学生はPCOS様の異常が比較的多くみられた。これらの集団に対して、何らかの医療側のアプローチが必要と考えられた。

P1-273 性成熟前後のラット視床下部・下垂体におけるレプチン受容体の発現の検討

徳島大大学院女性医学

清水扶美, 松崎利也, 水口雅博, 岩佐 武, 田中尚子, 苛原 稔

【目的】脂肪細胞から分泌されるレプチンは、女性の月経の開始と維持に必要である。レプチンは、視床下部のGnRH分泌と下垂体のゴナドトロピン分泌の促進作用があり、下垂体における促進作用の至適濃度は性成熟に伴い上昇する。思春期前後の雌ラット視床下部および下垂体において、レプチン受容体のmRNA発現を分析し、性成熟過程におけるレプチンの生理的意義を検討した。【方法】4週齢(幼若期, n=12), 6週齢(思春期, n=12), 8週齢(性成熟期, n=12)の雌ラットより脳と下垂体を摘出し、定量的PCR法によって、脳では細胞内ドメインをもつ機能的受容体と考えられるOB-Rb, 細胞内ドメインが短いOB-Ra, NPY, GnRH, 下垂体ではOB-Rb, OB-RaのmRNAの発現を検討した。内部コンのコントロールには β -actinを用いた。また、血清レプチン濃度についても検討した。【成績】脳ではGnRH mRNA発現量が4週齢に比べて6週齢で1.41倍(p<0.05), 8週齢で1.53倍(p<0.01)と有意に高く、OB-Rb, OB-Ra, NPY mRNA発現は各群間に有意差を認めなかった。一方、下垂体ではOB-Ra mRNAの発現に各群間の有意差はなく、OB-Rb mRNAの発現は4週齢に比べて8週齢は0.61倍と有意に低かった(p<0.05)。血中レプチン濃度は、4週齢の 1.18 ± 0.15 (mean \pm SE)に比べ、8週齢では 1.80 ± 0.17 と有意に高かった(p<0.05)。【結論】雌ラット下垂体において、機能を有する受容体であるOB-Rb mRNA発現は、4週齢の幼若期では高く、その後低下しており、発育に伴う血中レプチン濃度の推移とは逆の推移を示した。下垂体におけるレプチン受容体の発現の変動が、幼若期の下垂体機能や、その後の性機能に関与している可能性が示唆された。