

**P2-313** 機能的黄体退縮における Cyclooxygenase-2 (COX-2)-Prostaglandin F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α) 系の関与

山口大

谷口 憲, 松岡亜希, 李 理華, 木塚文恵, 田村 功, 前川 亮, 浅田裕美, 竹谷俊明, 田村博史, 杉野法広

【目的】PGF<sub>2</sub>αはプロゲステロン産生を低下させ、黄体退縮に関与することが知られている。PGF<sub>2</sub>αの産生には、COX-2の関与が考えられているが、その詳細は、充分明らかにされていない。今回、機能的黄体退縮におけるCOX-2-PGF<sub>2</sub>α系の関与を偽妊娠ラットの黄体退縮誘導モデルにおいて検討した。【方法】SD系雌ラットを用い、子宮頸管刺激にて偽妊娠を誘導し、偽妊娠7日目(黄体期中期)にPGF<sub>2</sub>α(3 mg/kg・body)を皮下投与し機能的黄体退縮を誘導した。投与2, 6, 24時間後に黄体を採取し、黄体内COX-2, COX-1 mRNA発現, 黄体内PGF<sub>2</sub>α濃度と血中プロゲステロン濃度を測定した。controlとして溶媒を投与した。また、選択的COX-2阻害剤であるNS-398(10 mg/kg・body)をPGF<sub>2</sub>αと同時に皮下投与し、投与24時間後の黄体内PGF<sub>2</sub>α濃度を測定した。【成績】PGF<sub>2</sub>α投与により、血中プロゲステロン濃度はいずれの時間もcontrolに比較し有意に低値を示し、機能的黄体退縮が誘導されていることを確認した。PGF<sub>2</sub>α投与2時間後は、黄体内COX-2 mRNA発現はcontrolに比較し有意に高値を示したが、6, 24時間後には有意差は認めなかった。黄体内PGF<sub>2</sub>α濃度は、PGF<sub>2</sub>α投与2, 6時間後には有意差は認めなかったが、24時間後にはcontrolに比較し有意に高値を示した。黄体内COX-1 mRNA発現には変化はなかった。PGF<sub>2</sub>α投与による24時間後の黄体内PGF<sub>2</sub>α濃度の増加は、NS-398投与により抑制された。【結論】機能的黄体退縮におけるPGF<sub>2</sub>αの産生には、PGF<sub>2</sub>αによるCOX-2を介したPGF<sub>2</sub>α産生増加という機序が関与していることが考えられた。

**P2-314** 新規ヒト alpha fetoprotein (AFP) mRNA isoforms (AFP-V mRNA isoforms) の発現調節についての検討

山梨大

多賀谷光, 深澤宏子, 平田修司, 正田朋子, 星 和彦

【目的】ヒトAFP遺伝子からはwild type mRNA以外にAFP-A, AFP-ABおよびAFP-C mRNAの3つのisoformが転写され、これら4つのmRNAの転写は独立した3つのプロモータによって調節されていることが明らかにされてきた。近年、ヒトAFP遺伝子においてexon 7とexon 8の間に存在するexon VAとVBが明らかとなり、exon VA, VB, 8, 9のalternative splicingによってAFP-V1~V3の3つの新たなmRNAの転写が確認された。今回、この新規mRNAの発現調節について検討した。【方法】ヒト肝細胞癌株と、インフォームドコンセントを得て手術時に採取した卵巣腫瘍組織から調製したtotal RNAを鋳型としてRT-real time PCRを行った。新規mRNAの定量にはAFP-V2 mRNAに対するprimerとprobeを作成し、wild type AFP mRNAに対するprimerとprobeとともに用いた。【成績】Wild type AFP mRNAはヒト肝細胞癌株Hep G2, HuH-7およびAFP産生卵巣腺癌組織で高レベルに発現し、卵巣卵黄嚢腫瘍組織ではそれらに比して低レベルであった。AFP-V2 mRNAの発現はHep G2において最も高く、卵黄嚢腫瘍では極めて低レベルで、wild type AFP mRNAに対するAFP-V2 mRNAの発現レベル比は細胞や組織によって異なっていた。【結論】AFP-V2 mRNAとwild type mRNAの発現レベル比の相違から、これら2つのmRNAの発現が独立したプロモータにより調節されていることが明らかになった。この成績から、ヒトAFP遺伝子には少なくとも4つのプロモータが存在し、組織特異的なAFPの発現調節に関与していると考えられた。

**P2-315** 塩酸イリノテカン (CPT-11) 治療にともなう卵巣機能不全の分子生物学的機序

和歌山県立医大

宇都宮智子, 田中哲二, 梅咲直彦

【目的】CPT-11は臨床的にもマウス動物実験でも、高率に卵巣を破壊し卵巣機能不全を誘発する。このマウス実験系でCPT-11誘発卵巣アポトーシスの分子機序を解析した。【方法】PMSG前処理8週齢MCH雌マウスに、CPT-11注射し、その1-4日後に卵巣を摘出、TUNEL染色法及びアポトーシス関連分子の免疫染色法で発現様式を検討した。生食注射マウスをCPT-11注射マウスの陰性対象とした。PMSG注射マウス卵巣を器官培養し、FasL, CPT-11, SN38で処理した。【成績】TUNEL陽性細胞はCPT-11注射マウス大卵胞顆粒膜細胞にのみ特異的に増加した。陰性対象マウス卵巣のほぼ全細胞でp53陰性、一部の顆粒膜細胞にcaspase3弱陽性、BAX, BCL-2は顆粒膜細胞以外に黄体細胞・間質細胞も陽性だった。CPT-11注射マウス卵巣では、顆粒膜細胞のcleaved caspase 3が有意に陽性、p53発現も増強、BAX, BCL-2は著変を認めなかった。Fas抗原はほぼ全種類の細胞で陽性で、特に黄体細胞の発現が強く、次いで顆粒膜細胞に発現していた。CPT-11注射はFas抗原発現分布に影響せず、中~大卵胞にのみFasL発現を誘導した。卵巣器官培養系への可溶性FasL添加は、大卵胞顆粒膜細胞と黄体細胞がTUNEL陽性を示した。卵巣をCPT-11または活性代謝物SN38で直接培養しても、顆粒膜細胞にはTUNEL陽性細胞もFasL発現も誘発されなかった。【結論】CPT-11投与により顆粒膜細胞特異的に発現誘導されたFasLが、構成的発現している顆粒膜細胞Fas抗原と特異的反応することで、大卵胞顆粒膜細胞に特異的なアポトーシスを誘導する。この特異的顆粒膜細胞傷害がCPT-11の卵巣機能不全の主機序と考えられるが、CPT-11やSN38以外の第3の活性代謝物質に起因するかもしれない。