

P1-13 ヒト子宮内膜間質細胞 (ESC) の脱落膜化における manganese superoxide dismutase (Mn-SOD) 発現の細胞内情報伝達経路の解明

山口大

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

【目的】細胞の分化による機能亢進に伴い細胞内で活性酸素が産生されるが, Mn-SOD はミトコンドリアで発生する活性酸素を消去することで細胞の生命維持に貢献している. そこでプロゲステロンによる ESC の脱落膜化過程における Mn-SOD の発現調節について検討した. 【方法】患者同意を得て採取した ESC を用いて, 1) プロゲステロンによる脱落膜化を誘導するため medroxyprogesterone acetate (MPA; 10^{-6} M) を添加し 17 日間培養した. また, cAMP 伝達経路を中心とした細胞内情報伝達経路を解明するため cAMP (0.5mM) 添加による培養も平行して行った. 脱落膜化の指標は IGFBP-1 mRNA 発現を用いた. 2) MPA の Mn-SOD 発現増加に関わる細胞内情報伝達経路の同定するため, (1) 細胞内 cAMP 濃度測定と PKA 阻害薬 (H89; 5 μ M) の添加実験を行い, (2) Mn-SOD 遺伝子プロモーター領域における cAMP binding protein (CBP) の結合を ChIP assay で検討した. (3) MPA による細胞内 cAMP 増加作用における Wnt5a の関与を検討するため Wnt5a 中和抗体 (2 μ g/ml) 添加実験を行った. 【成績】1) IGFBP-1 mRNA は MPA 投与により D12 より発現し以後漸増した. Mn-SOD mRNA, 細胞内 cAMP 濃度, Wnt5a mRNA 発現も同様に脱落膜化に伴い増加した. 2) (1) MPA, cAMP による Mn-SOD 増加作用は PKA 阻害薬により抑制された. (2) MPA, cAMP 刺激による Mn-SOD プロモーター領域における CBP 結合が示された. (3) MPA による細胞内 cAMP 濃度の増加は抗 Wnt5a 抗体により抑制された. 【結論】ESC ではプロゲステロンによる脱落膜化に伴い Mn-SOD が増加し, この作用には Wnt5a を介した cAMP 伝達経路という cell survival に関係する興味深い経路が関与することが初めて明らかとなった.

P1-14 着床期子宮における CD52 の発現とその機能および発現制御について

兵庫医大

田中宏幸, 長谷川昭子, 細田容子, 荻野 舞, 坂 佳世, 小森慎二

【目的】CD52 はリンパ球と雄性生殖組織に存在する GPI アンカー型で, 雄性生殖組織 CD52 には特異的な糖鎖抗原が存在する. この抗原が女性に対し, 精子を障害する抗体を誘導し, 不妊症の原因となることが知られている. 最近, マウスにおいて雌性生殖組織にも抗原性の異なる CD52 が発現していることが報告された. 本研究では, 子宮における CD52 の発現とその遺伝子制御機構について検討した. 【方法】BDF1 マウスに過剰排卵処理を行い, 交配翌日に腔栓の見られた場合を 0.5dpc (days post-coitum) とし, 0.5, 4.5, 8.5, 12.5dpc に子宮を採取した. 免疫組織染色により, タンパクレベルでの CD52 の検出と局在を検討し, また western blot 法により時期的変化を調べた. 妊娠時期における mRNA の変動は RT-PCR を用いて検討した. CD52 の発現制御に係わるパスウェイ検索はコンピュータソフトを用いておこない, ゲルシフトアッセイにより確認した. 【成績】CD52 は子宮内膜上皮細胞に検出され, 特に着床期 (4.5dpc) に強く発現していた. 遺伝子発現も同様の発現変化を示した. またパスウェイ検索では CD52 の発現は, 着床に関係した uterosome 形成分子と相関していること, またこれらの分子は転写因子 NKX2.2 により発現制御されていることが判明した. 【結論】CD52 が妊娠初期の子宮に発現し, uterosome を介して着床に係わっている可能性を示した. また, 雌性 CD52 の発現は, NKX2.2 により制御されていることをはじめて明らかにした.

P1-15 子宮の着床能を評価するための生理的パラメーターの検索

大阪大¹, 大阪電気通信大医療福祉工学専攻²中村仁美¹, 細野剛良², 木村 正¹

【目的】着床不全は不妊症の原因のひとつとして考えられている. 前方的にかつ非侵襲的に子宮の着床能を評価する事ができるパラメーターの探索のために, マウスを用いて子宮の血流量について検討を行った. 【方法】子宮腔内からおよび子宮の外側からレーザードップラー法を用いて局所血流量, パルスオキシメーターを用いて SpO2 および心拍数, 体温を同時に測定するシステムの構築を行った. 着床期子宮局所で一過性に STAT3 の活性を 50% 抑制させた, 着床不全マウスモデル (FEBS lett. 2006, 580: 2717-2722) および非妊娠時から妊娠初期における各マウス子宮局所での血流量の測定を行った. 【成績】非妊娠時では発情後期で有意に子宮の血流量が増加し, 着床期において, 着床部位では非着床部位より約 150% の血流量の増加が認められた. また子宮腔内からと外部からの直接の血流の測定において差は認められなかった. 非妊娠時に比べ, 交配後では血流量の増加が認められた. 交配後 1.5 日目 (遺伝子導入後 24 時間) における着床不全マウスモデルの血流は, コントロール群に比べて有意に血流量が高値であった. 【結論】血流量を平均値で検討した時に, 非妊娠時に比べ妊娠初期で血流量が増加するものの, それぞれの値のばらつきは大きく, 例えばいくつかの異なる部位を測定して, その測定値から子宮の着床能を評価する事は困難である事が示唆された. この結果は, 子宮の Pulsatility Index (PI) がヒトの妊娠した周期と妊娠に至らなかった周期で差がなかったという報告を支持する.