

審査の結果の要旨

氏名 中江 華子

本研究は着床期の子宮内膜において特異的に増減する物質に着目し、子宮内膜の胚受容能保持期間である implantation window と呼ばれる時期の子宮内膜についてその特異性を明らかにするため、同時期に子宮内膜中で含有量が増加することが報告されているコレステロール硫酸を用いた *in vitro* の研究と、コレステロール硫酸合成酵素である SULT2B1b についての *in vivo* の研究を行ったものであり、以下の結果を得ている。

1. トロホプラスト細胞株である JAR 細胞のフィブリンゲルへの侵入能に対するコレステロール硫酸の作用を検討した。その結果コレステロール硫酸はトロホプラスト細胞株のフィブリンゲルへの侵入を抑制する作用を持つことが明らかにされた。その抑制機序として、コレステロール硫酸がセリンプロテアーゼであるプラスミンやトリプシンへの強い結合能を持つこと、またコレステロール硫酸と結合することでプラスミンの酵素活性が非競合的に抑制されることが明らかになった。着床期子宮内膜でコレステロール硫酸含有量が特異的に増加することでプラスミンなどの着床に重要な役割を果たしているプロテアーゼの酵素活性を抑制し、トロホプラストの子宮内膜への無秩序な浸潤を抑制している可能性が示唆された。

2. コレステロール硫酸の合成酵素であるコレステロール硫酸転移酵素 (SULT2B1b) 遺伝子がウサギでは未知であったため、RT-PCR 法、3'-RACE および 5'-RACE 法を用いてウサギ SULT2B1b の全塩基配列を同定した。さらに、同定した SULT2B1b の機能

解析をするためにウサギ SULT2B1b の ORF 全長を含んだ発現ベクターを作成し、COS-1細胞にトランスフェクションさせてタンパク合成したところ、ウサギSULT2B1b を発現させた COS-1 細胞にはコレステロール硫酸転移酵素活性がみとめられた。

3. 今回新しく同定したウサギ SULT2B1b は、コレステロール硫酸合成酵素であるコレステロール硫酸転移酵素活性を持つことから、ウサギ SULT2B1b 遺伝子の発現について、偽妊娠0日目から7日目の子宮内膜を用いて定量的RT-PCR法で定量したところ、SULT2B1b の発現は、偽妊娠4日目を最大として増加した後再び低下し、偽妊娠7日目にはほぼ偽妊娠1日目と同レベルとなっていた。

4. SULT2B1b のウサギ子宮内膜での局在について検討するため、妊娠7日目のウサギ子宮から作成したパラフィン切片を用いて *in situ hybridization* を施行したところ、ウサギ SULT2B1b は子宮内膜上皮には発現がみとめられず、間質にみとめられた。また、着床部位と非着床部位を比較すると、着床部位では SULT2B1b の発現がみとめられず、発現しているのは非着床部位の子宮間質のみであった。

以上、本論文は細胞外での生理活性物質としてのコレステロール硫酸の機能を明らかにした。さらにコレステロール硫酸合成酵素であるコレステロール硫酸転移酵素 (SULT2B1b) について、未知の遺伝子であったウサギ SULT2B1b 遺伝子を同定し、ウサギ偽妊娠子宮内膜での SULT2B1b 遺伝子発現の変化とウサギ妊娠子宮内膜での SULT2B1b 遺伝子発現の局在を明らかにした。本研究は、着床期の子宮内膜での胚受容能およびトロホブラストの侵入調節機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。