

審査の結果の要旨

清 末 美 奈 子

本研究は着床期の家兎子宮内膜において、特異的に発現が増加することが知られるコレステロール硫酸に着目し、ヒト子宮内膜における着床期特異的な発現の確認とその発現調節機序の解明、さらにその機能について解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. コレステロール硫酸の合成酵素である SULT2B1b について、ヒト子宮内膜における発現の局在を検討したところ、腺管上皮細胞及び間質細胞双方で発現を認めた。腺管上皮細胞に発現を認めたことから、分泌される可能性が示唆されたため、 $[^{35}\text{S}]$ -PAPS をトレーサーとして分離培養した子宮内膜腺管上皮細胞に添加して検討したところ、培養上清及び細胞の双方からコレステロール硫酸の存在を確認し、分泌能を確認した。
2. SULT2B1b の子宮内膜組織中の月経周期における発現の変化を検討するために定量的 RT-PCR 法を行ったところ、着床期にあたる分泌中期で有意に発現の増加を認めた。この発現誘導の機序について、子宮内膜間質細胞培養系を用いて検討したところ、脱落膜化の誘導因子である cAMP の添加及びエストロゲンとプロゲステロンの同時添加で SULT2B1b の発現が誘導されることが示された。脱落膜化のマーカであるプロラクチンよりも早期に発現が誘導され、SULT2B1b は脱落膜化のより早期に誘導される遺伝子であることが示唆された。さらに、SULT2B1b の発現誘導に対するプロゲステロンの用量依存性を確認した。最後に、プロゲステロンによる SULT2B1b の発現誘導が cAMP の経路を介することを、プロゲステロンレセプター及び PKA の特異的なインヒビターを用いて証明した。
3. 子宮内膜上皮細胞培養系でも SULT2B1b の発現誘導に関与する因子を定量的 RT-PCR 法で検討したところ、cAMP でも同様に発現が誘導され、さらに cAMP を誘導する因子であるリラキシンでも発現誘導がみられた。

4. コレステロール硫酸の着床期子宮内膜における機能解析として、着床に重要なプロテアーゼである MMP とプラスミンに対する作用を、子宮内膜間質細胞培養系を用いて蛍光基質法、ウエスタンブロット法、ゼラチンザイモグラフィ法で検討したところ、*in vitro* の系で証明されていたプラスミン活性の抑制を示しただけでなく、MMP-3, MMP-9 の活性も抑制することを示した。一方で MMP-2 活性に対する抑制作用はみられなかった。

以上、本論文はコレステロール硫酸がヒト子宮内膜において着床期に特異的に発現を認めうることを示し、この分子生物学的機構として cAMP の経路を介したプロゲステロンによる誘導作用を明らかにした。さらにコレステロール硫酸のヒト子宮内膜における新たな作用として、トロフォブラストの浸潤に重要である MMP 系とプラスミノゲンアクチベーター/プラスミン系に対して抑制的に働くことを示した。本研究は、未解明な部分の多い、着床にかかわる因子の発現調節及び機能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。