

(課程 2)

審査の結果の要旨

氏名 堤 亮

本研究ではコレステロール硫酸 (CS)の卵巣・胎盤におけるプロゲステロン産生に対する作用を検討した。実験には、卵巣ステロイド産生のモデルであるヒト顆粒膜細胞腫細胞株 (KGN)、ラット顆粒膜細胞及び、胎盤ステロイド産生のモデルであるヒト絨毛癌細胞株 (JEG-3) を用いた。

今回、それぞれの培養液中にCS, cAMPを単独及び同時添加し24時間培養した。培養液中のプロゲステロン濃度やプロゲステロン産生関連遺伝子の発現量を評価し、下記の結果を得ている。

1. ヒト顆粒膜細胞腫由来で KGN 細胞の培養系において、CS 添加によりプロゲステロン産生は低下した。プロゲステロン産生関連遺伝子の StAR protein と P450scc mRNA の発現量は CS により減少し、CS によるプロゲステロン産生抑制はこれらの遺伝子発現の抑制によることが示唆された。さらに Western blot 法による検討によって CS により KGN 細胞の StAR protein 蛋白の発現量も減少していることが明らかになった。これらの成績から CS は卵巣ステロイド産生においてプロゲステロン産生関連遺伝子抑制によりプロゲステロン産生を低下させる、制御的因子であることが示唆された。
2. ラット顆粒膜細胞でも KGN 細胞と同様に CS はプロゲステロン産生抑制作用を持ち、プロゲステロン産生の制御的因子である可能性が示唆された。更に過排卵誘発による卵巣周期によりラット卵巣中の CS 含有量が変化するかを CS 合成酵素(SULT2B1b)と分解酵素(STS)の mRNA 発現量から検討した。発現量は control 群では SULT2B1b が高く、STS が低く、幼若期の卵巣には CS が多く産生されていることが考えられた。ラット卵巣では幼若期において CS が多く存在することでプロゲステロン産生を抑制している事が考えられた。また in situ hybridization 法による検討で SULT2B1b ・ STS は共に卵巣間質・莢膜細胞に局在が認められた。
3. 胎盤ステロイド産生のモデルとして用いた JEG-3 細胞では、CS はプロゲステロン産生を促進した。JEG-3 細胞では CS は MLN64、P450scc 等のプロゲステロン産生に関連する蛋白の遺伝子発現に影響を与えなかった。JEG-3 細胞で過去の報告と同様に CS がプロゲステロン産生の基質として働いていることが推察された。
4. Cholesterol 輸送蛋白である StAR protein と MLN64 との CS ・ Cholesterol との結合性の違いが、プロゲステロン産生の促進・抑制に働いている可能性が考えられた。StAR protein と MLN64 と CS ・ Cholesterol の結合性を表面プラスモン共鳴法により検討した。CS に対する結合性は StAR も MLN64 もほぼ同レベルであった。またコレステロールに対する結合性も StAR も MLN64 もほぼ同レベルであった。したがって

以上、本研究では、KGN 細胞と初代培養を用い CS が卵巣のプロゲステロン産生の抑制的制御因子であることが、示唆された。そしてそのメカニズムとしては StAR protein と P450scc のプロゲステロン産生関連遺伝子の発現抑制によるものであることが、示された。本研究はプロゲステロン産生調節の解明に寄与するものであり、学位の授与に値するものと考えられる。