

(課程 2)

審査の結果の要旨

氏名 細川 有美

本研究では、子宮における コレステロール硫酸 (cholesterol sulfate ; CS) の制御機構、機能について検討した。

まず、卵巣ホルモン影響下・排卵期・妊娠初期のラット子宮における CS 合成酵素である sulfotransferase 2B1b (SULT2B1b) と CS 分解酵素である steroid sulfates (STS) の遺伝子発現変化を検討し、過排卵刺激した血清における CS の濃度を薄層クロマトグラフィーで評価した。そして、妊娠初期における SULT2B1b mRNA、STS mRNA の局在を *in situ* hybridization の手法で検討した。また、CS の機能についてはヒト子宮内膜を用い、脱落膜化における CS の作用を *in vitro* で検討した。これらの実験により以下の結果を得た。

- 1-1 卵巣摘出後にエストロゲン、プロゲステロンを投与したラット子宮における、SULT2B1b mRNA と STS mRNA の発現量変化を検討した。SULT2B1b mRNA の発現はエストロゲンとプロゲステロンにより抑制された。一方 STS mRNA はエストロゲンにて抑制され、プロゲステロンにより誘導された。
- 1-2 過排卵誘発 (PMSG + hCG 群) したラット子宮での SULT2B1b mRNA と STS mRNA の発現量変化を検討した。SULT2B1b の発現量は PMSG 投与により減少し、hCG 投与により一時的に発現が誘導され後、抑制された。PMSG により分泌が亢進したエストロゲンにより SULT2B1b の発現が抑制され、hCG により SULT2B1b の発現が誘導され、そして hCG により分泌が亢進したプロゲステロンにより発現量が減少したと示唆された。hCG が SULT2B1b を誘導していることを確認するため、PMSG と hCG による過排卵誘発の実験において hCG 投与前に卵巣を摘出した (PMSG + OVX + hCG) 群では、SULT2B1b mRNA の発現は hCG 刺激により誘導され、その後抑制をうけなかった。この結果より、SULT2B1b は hCG により発現が誘導されることが示唆された。一方 STS の発現は PMSG + hCG 群 PMSG 投与後に有意な変化を示さず、hCG 投与後に増加した。PMSG はエストロゲン分泌の促進と共に軽度のプロゲステロン分泌促進作用があるため、STS の発現は有意に変化を示さなかったと示唆される。また hCG により STS の発現が増加した要因として、hCG かもしくは hCG によりプロゲステロン分泌が促進されたことによるものと考えられた。PMSG + OVX + hCG 群における STS の発現は誘導を認めなかったことから、STS の発現はプロゲステロンにより増加することが示唆された。
- 1-3 過排卵誘発したラット血清における CS 濃度は、SULT2B1b mRNA の発現量が STS mRNA より下回る PMSG + hCG 投与群では、変化を認めなかった。一方、SULT2B1b mRNA の発現量が STS mRNA より上回る PMSG + OVX + hCG 群では、CS の濃

度が hCG 投与後に分泌量が増加していることを確認した。このことより、CS の分泌はエストロゲン、プロゲステロン、hCG により調節されていることが示唆された。

- 1-4 妊娠初期ラットの子宮において、SULT2B1b mRNA の発現量は、妊娠 1 日目から妊娠 5 日目まで一定の発現量を示す中、妊娠 2~3 日目に発現のピークを認めた。着床が完全に成立する妊娠 6、7 日目以降は急激に SULT2B1b mRNA の発現量が低下した。STS mRNA の発現量は、着床の時期にかかわらず一定の発現を認めた。過排卵誘発実験における hCG 投与は、下垂体からの黄体化ホルモン (Luteinizing hormone:LH) による LH サージに相当する。hCG 刺激で SULT2B1b が誘導されるタイミングと LH サージ後の妊娠 2 日目は同じ時期であること、そして LH と hCG が受容体を共有していることから、SULT2B1b は hCG、LH により誘導されることが示唆された。
- 1-5 妊娠メスラット子宮における SULT2B1b mRNA と STS mRNA の局在は共に、妊娠 3 日目から 7 日目まで stromal cells に局在した。妊娠 3 日目には、子宮全体の stromal cells 全体に、子宮の形態から肉眼的に着床部を確認できる妊娠 5 日目には、胚の着床部の所在にかかわらず子宮全体の stromal cells に局在を示した。着床が成立した妊娠 7 日目には、着床部ではなく胚を取り囲む様に着床部周辺部の stromal cells へと限局した。非着床部では SULT2B1b mRNA の局在を認めなかった。

- 2 ヒト子宮内膜間質細胞の培養系において、CS 添加により脱落膜化マーカーであるプロラクチン (PRL) mRNA の発現量と、培養液中に分泌された PRL 濃度が増加した。さらに、CS 添加によりプロゲステロン受容体の発現量は増加するが、プロゲステロン受容体の転写活性には影響を与えないことが明らかとなった。これらの結果より、CS はプロゲステロン受容体の発現量を増加させることで子宮内膜間質細胞の脱落膜化を促進させる因子であることが示唆された。

以上、本研究では、CS の合成酵素である SULT2B1b mRNA の発現制御は着床、妊娠の成立に不可欠な エストロゲン、プロゲステロン、hCG によって制御されていることが明らかとなり、CS 合成も同ホルモンによって制御されていることが確認された。そして、CS の機能として PR mRNA の発現量を増加させることで子宮内膜間質細胞の脱落膜化を促進することが明らかとなった。したがって、着床までに分泌される CS が子宮内膜間質細胞の脱落膜化を促進し、子宮内膜が胚を受容する準備を促すと共に、胚の浸潤を制御することで、着床のタイミングやトロフォブラストの侵入範囲を規定する因子としての役割を担っていると推察される。