The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ヒト子宮内膜由来培養線維芽細胞のアンドロゲンレセプター
Author(s)	脇本, 博
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32856
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【20】

氏名・(本籍)	脇本　博（わきもと　ひろし）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　5034　号
学位授与の日付	昭和55年7月2日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**ヒト子宮内膜由来培養線維芽細胞のアンドロゲンレセプター**
論文審査委員	(主査) 教授 松本　圭史 (副査) 教授 倉智　敬一　教授 佐野　栄春

論文内容の要旨

〔目　的〕

未熟ラット子宮では，エストロゲンやプロゲステロンばかりでなく，アンドロゲンによっても重量増加が促進される事が知られている。またアンドロゲンによるこの作用は抗アンドロゲンにより抑制される事から，これはアンドロゲンレセプターを介する作用であると考えられる。ラット，ウシ等実験動物子宮のアンドロゲンレセプターについては報告されているが，ヒト子宮についての詳細な研究はみられない。そこでヒト子宮内膜由来の培養線維芽細胞のアンドロゲンレセプターを検索し，解離恒数，最大結合部位数を求め，またステロイド特異性その他の物理化学的性質等を検討した。皮膚由来の培養線維芽細胞のアンドロゲンレセプターとの比較も行った。

〔方法ならびに成績〕

子宮筋腫の為に子宮全摘を受けた更年期前期の婦人の子宮内膜を使用した。培養液は10%胎仔血清を含むEagle's MEMを使用し，4～5代継代したものを実験に使用した。ペトリディッシュの細胞を0.1～0.7nM ^{3}H-dihydrotestosteroneを含むMEM-HEPES（15mM）中で37℃でincubateした後，燐酸緩衝液でよく洗い，0.32M蔗糖液中で細胞を剝離し，遠沈後，細胞沈渣に0.5MKCl を加え細胞を超音波破砕する。再び遠沈後，0.5MKCl抽出液中の遊離の ^{3}H-dihydrotestosterone を dextran charcoalで除く。同時に250倍量のunlabelled dihydrotestosteroneを加えてincubateしたものを非特異的結合として，前述の値から差し引き特異的結合を得た。

特異的結合の経時変化をみると30分まで直線的に増加し，以後プラトーに近づくので，incubateは30分とした。

8個の異なる株についてScatchard analysis を試みた。解離恒数は0.33±0.16（SD）nM，最大結合部位数は14.3±8.5fmoles/mg proteinであった。ヒト皮膚由来線維芽細胞のアンドロゲンレセプターの最大結合部位数は陰茎，陰核，陰嚢，大陰唇等いわゆる陰部皮膚由来のものが，他の部位由来のものより3倍程度多い（11.5±8.6 vs 4.1±2.2fmoles/mg protein）。これらの値と比較すると内膜由来線維芽細胞は陰部皮膚由来のものと同じ程度の多い最大結合部位を有する。解離恒数については皮膚由来も内膜由来もほぼ同様の値であった。また内膜由来線維芽細胞は^{3}H-testosteroneとの特異的結合をも有した。

次に，^{3}H-dihydrotestosteroneとincubateし，0.5MKCℓで抽出したものを蔗糖密度勾配法で分析すると，4S附近に明らかなピークが出現し，unlabelled dihydrotestosteroneを加えてincubateしたものではピークが消失した。ピークを形成するフラクションを集めて薄層クロマトグラフィーで分析すると放射活性の75%がdihydrotestosteroneであり，再結晶法にて確認し得た。

^{3}H-testosteroneでincubateしたものでは，同様に4S附近にピークが出現した。

ついでステロイド特異性を検討した。0.4nM^{3}H-dihydrotestosteroneとincubateした時の結合を100%として，各々のunlabelledのステロイドを同時に加えてincubateした際，結合がどのように阻害されるかdextran charcal 法で検討した。dihydrotestosterone，testosteroneでは10倍量で60%以上の抑制がみられるのに対し，他のステロイドでは著明な抑制はみられなかった。17β-estradiol，cyproterone acetateでは200倍量で約70%の抑制がみられた。

結合部位の熱安定性を検討した。^{3}H-dihydrotestosteroneでincubateした細胞の0.5MKCℓ 抽出液を0℃，25℃，37℃でそれぞれ1時間incubateし，蔗糖密度勾配法で分析した。25℃では0℃におけるピークの60%，37℃では30%までピークが低下した。

次に結合部位は核酸か，または蛋白からなるのかを酵素消化によって検討した。前述の0.5MKCℓ抽出液にRNase，DNase，Pronase（各々100μg/mℓ）を加えて25℃で1時間incubateし，蔗糖密度勾配法で分析した。核酸分解酵素ではピークの低下はみられなかったが，蛋白分解酵素では75%の低下がみられた。また各々の酵素処理により，RNA，DNA，蛋白は50%の低下をみた。これらは結合部位は蛋白成分である事を意味する。

〔総　　括〕

以上の成績から，ヒト子宮内膜由来培養線維芽細胞には，dihydrotestosterone，testosteroneに特異的，高親和性で熱不安定性の結合蛋白（受容体）が存在することが明らかとなった。これらの成績は，すでに報告されたアンドロゲン標的器官のアンドロゲンレセプターの物理化学的諸性質と一致する。ヒト子宮内膜の線維芽細胞のアンドロゲンレセプターの結合部位数は，陰部皮膚のそれと同様で，その他の皮膚のものより多いことも明らかになった。

また，この培養系はヒト子宮のアンドロゲンレセプター研究に有用と考えられる。

論文の審査結果の要旨

本論文は内分泌学上の新知見として，ヒト子宮内膜線維芽細胞にはアンドロゲンレセプターが存在することを明らかにした。その最大結合部位数はヒト陰部皮膚線維芽細胞のそれと同程度に多く，またこのアンドロゲンレセプターの物理化学的性状は，前立腺，皮脂腺等のアンドロゲン標的器管のものと全く同一であった。従来ヒト子宮または子宮内膜のアンドロゲンレセプターに関する情報は，極めて少い。本論文はin vitroにおけるヒト子宮内膜のアンドロゲンレセプター研究に寄与しうるものと評価する。