Osaka University Knowledge Archive

Title	活性型エストロゲンレセプターを特異的に認識する細胞質因子の存在
Author(s)	西澤, 恭子
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34772
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【45】

氏名・（本籍）	西澤恭子（にしざわ やすこ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6706 号
学位授与の日付	昭和60年2月26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	**活性型エストロゲンレセプターを特異的に認識する細胞質因子の存在**
論文審査委員	（主査） 教授 岸本 進 （副査） 教授 坂本 幸哉　教授 松本 圭史

論文内容の要旨

（目　的）

ステロイドホルモンレセプターは，ホルモンと結合後活性化され，核への親和性が増大し核内へ移行するとされている。各段階でレセプター機能を調節する細胞質因子の存在が，これまでに報告されている。しかし，活性型レセプターを特異的に認識し，核結合部位に作用する因子についてはよくわかっていない。その様な細胞質因子が存在すれば，レセプター機能の調節機序のみならず，核結合部位の解析にも役立つものと思われる。そこで，ラット子宮エストロゲンレセプター（R_E）の活性型を特異的に認識・作用する細胞質因子の有無につき検討した。

（方　法）

成熟雌 Sprague-Dawley ラットを使用。去勢後16～20時間して子宮摘出。また，去勢・副腎切除後3日して肝摘出。成熟雄ラットは，去勢後16～20時間して前立腺摘出。18～23日令の無処置幼若ラットの子宮も使用。

組織は，10mM Tris (pH 7.4) - 2mM mercaptoethanol 中でホモゲナイズし 105000xg で60分遠心。得た上清を可溶性分画とした。核は，成熟雌ラットの子宮及び成熟雄ラットの前立腺を10mM Tris (pH 7.4) - 2mM mercaptoethanol - 3mM $MgCl_2$ - 0.32M sucrose 中でホモゲナイズし，10mM Tris (pH7.4) - 2mM mercaptoethanol - 3mM $MgCl_2$ - 25mM KCl - 1.8M sucrose 中で精製。肝の核は，Chauveau の方法で精製。

子宮・肝・前立腺の可溶性分画は，4nM ^{3}H- エストラジオール (E_2)・20nM デキサメサゾン(Dx)・4nM ^{3}H- ジヒドロテストステロン (DHT)とインキュベーションし，各種処理後，核と0℃1時間

混和。その後，レセプターの核への結合を調べた。

蔗糖密度勾配法（SDG)による分析は，5～20％sucrose－10mM Tris（pH 7.4)－1.5mM EDTA－2mM mercaptoethanol－0.4MKCl で行なった。

ゲル沪過による分析には，10mM Tris（pH 7.4)－1.5mM EDTA－2mM mercaptoethanol－0.4 M KClで平衡化したSephadex G－200を使用した。

（成　績）

(1) 成熟雌ラット子宮の可溶性分画を^{3}H-E_2で標識後，25℃で加温すると，E_2－R_E 複合体の核結合は時間と共に増加し一定値に達した。ところが0.15M KCl 存在下で加温すると，E_2 結合には変化がないにもかかわらず，核結合は一過性に上昇し，後急速に減少した。これは成熟雌ラット子宮の可溶性分画において，KCl 存在下で活性型E_2－R_E 複合体に，何らかの変化を生じていることを示す。

(2) このKCl 存在下で加温したE_2－R_E複合体を，イオン強度の高いSDG で分析すると，E_2 結合因子は4～5Sから5～20Sの巾広いピークへと移行した。Sephadex G－200カラムクロマトでは，void部分にE_2結合因子を認めた。これらの結果は，KCl 存在下の加温で，R_E が heterogenous 大分子に変化することを示す。

(3) 活性化阻止のための10mM $Na_2M_0O_4$ 存在下で，成熟雌ラット子宮E_2－R_E 複合体を加温すると，加温時にKCl が存在しても，続く透析操作（活性化を抑制する低分子物質の除去。$Na_2M_0O_4$，KCl も除去される）により，核結合が回復した。一方，透析で活性化したE_2－R_E 複合体をKCl 存在下で加温すると，核結合は消失し，これは加温時$Na_2M_0O_4$ が共存しても阻止できなかった。また核共存下で加温するとKCl が存在しても核結合の消失は認めなかった。従ってKCl 存在下の加温による核結合の消失は，活性型，しかもその核結合部位を特異的に認識する反応によるものと考えられる。更にKCl 存在下で加温したE_2－R_E 複合体は，透析で核結合が回復しないことから，核結合の消失は不可逆的な過程と考えられる。

(4) 幼若ラット子宮の可溶性分画を，KCl 存在下で加温した場合，核結合の消失は認められずイオン強度の高いSDG でも5Sにピークを示した。幼若ラット子宮のE_2－R_E複合体に成熟雌ラット子宮ないし肝のレセプターfree可溶性分画を加えKCl 存在下で加温すると，前者の場合のみ核結合の消失，SDG 上5～20Sのピークを認めた。これは，成熟雌ラット子宮可溶性分画にのみ核結合の消失をきたす細胞質因子が存在することを示す。

(5) 成熟雌ラット肝のDx－グルココルチコイドレセプター複合体・成熟雄ラット前立腺のDHT－アンドロゲンレセプター複合体では，加温時KCl が存在しても，核結合やSDG上のパターンに変化を認めなかった。成熟雌ラット子宮のレセプターfree可溶性分画の添加も効果がなかった。前述の細胞質因子は，R_E に特異的に作用するものと思われる。

（総　括）

成熟雌ラット子宮には，活性型R_E の核結合部位を特異的に認識し，温度・イオン強度依存性にR_E の凝集・核結合の急速な消失をきたす細胞質因子が存在すると考えられる。この細胞質因子は，各活性型ステロイドホルモンレセプターの核結合部位の相違を明らかにするのに有用であると思われる。

論文の審査結果の要旨

本研究は，エストロゲンレセプター機能を調節する細胞質因子の存在を明らかにしたものである。

成熟ラット子宮には，活性型エストロゲンレセプターの核結合部位を認識し，温度・イオン強度依存性に活性型レセプターの凝集をおこし核結合能を急速に消失させる細胞質因子が存在することを見い出した研究で，ステロイドホルモンレセプターの機能調節を考える上で興味深い。