

Title	Changes in Epidermal Growth Factor Receptor and the Levels of Its Ligands during Menstrual Cycle in Human Endometrium
Author(s)	今井, 隆
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40395
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

氏 名 ^{いま} 今 ^い 井 ^{たかし} 隆

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 2 8 0 7 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 9 年 1 月 31 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 2 項該当

学 位 論 文 名 Changes in Epidermal Growth Factor Receptor and the Levels of
Its Ligands during Menstrual Cycle in Human Endometrium
(ヒト子宮内膜における月経周期にともなう上皮成長因子受容体及
びそのリガンド量の変動)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 村 田 雄 二
(副査)
教 授 遠 山 正 彌 教 授 奥 山 明 彦

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

エストロゲンによって子宮内膜が増殖することはよく知られている。しかし、その増殖のメカニズムは十分には解明されていない。Rodents の子宮局所には上皮成長因子 (EGF) とトランスフォーミング増殖因子 (TGF) α によるオートクリン・パラクリン機構が存在する。この機構はエストロゲンによって誘導され、又、これはエストロゲンによる子宮内膜の増殖を媒介することが報告されている。しかしながら、ヒト子宮内膜ではこのような検討は十分には行われていない。私は、rodents と同様な機構がヒト子宮内膜にも存在する事を想定して以下の研究を行った。

(方法並びに成績)

子宮筋腫などの婦人科手術時に、患者の同意のもとに子宮内膜を採取した。月経周期の 3 つの時期、すなわち血中エストロゲン・プロゲステロン共に低値である卵泡期初期、エストロゲン高値・プロゲステロン低値である卵泡期後期、さらにエストロゲン・プロゲステロン共に高値である黄体期に得られた検体で、EGF, TGF α 及び EGF 受容体 (EGFR) の局在とその産生・発現量を以下に示す方法で検討した。月経周期の時期については基礎体温表、内膜の組織所見、及び検体採取時のエストロゲンとプロゲステロンの血中濃度により確認した。

(1) Immunohistochemistry

子宮内膜を浸漬固定後、超薄切片を作成した。抗 EGF ポリクローナル抗体 (pAb)、抗 TGF α モノクローナル抗体 (mAb) 及び抗 EGFR pAb を用いて ABC 法により染色し、これらの子宮内膜における局在を検討した。黄体期の検体で検討したところ、EGF, TGF α 及び EGFR はいずれも子宮内膜腺細胞に限局して発現していることが観察された。

(2) Immunoblot analysis

月経周期各時期の子宮内膜から細胞質及び膜分画を調製した。EGF と TGF α は細胞質分画を SDS-PAGE ののち、それぞれの pAb と mAb を用いてプロットした。Western blot 法による検討では EGF と TGF α 蛋白の分子量はそれぞれ 50 kD と 14 kD でいずれも preform として細胞質内に存在することが明らかとなった。EGFR は諸家の報告通り 170 kD の蛋白として膜分画に存在した。バンドの濃さを densitometry で定量した結果、いずれの蛋白量も卵泡期初期

と比較して、血中エストロゲン値が高値となる卵胞期後期・黄体期に有意な増加がみられた（各時期 n=3）。

(3) ^{125}I -EGF binding assay

月経周期各時期の子宮内膜より膜分画蛋白を調整し、 ^{125}I -EGF をリガンドとして結合実験を行なった。いずれの時期のサンプルでも $K_d \approx 0.5 \text{ nM}$ と affinity の高い特異的結合がみられた。 ^{125}I -EGF の結合量は卵胞期初期と比較して卵胞期後期・黄体期に有意な増加がみられた（各時期 n=3）。この結果は EGFR 蛋白量が卵胞期後期・黄体期に増加するという Western blot の結果とよく一致した。

(4) RT-PCR 及び competitive RT-PCR

各時期に子宮内膜より total RNA を抽出し、逆転写の後、EGF, TGF_α , EGFR それぞれに特異的なプライマーを用いて PCR を行なったところ、いずれの時期のサンプルにおいてもこれらの mRNA の発現が確認された。次に、これらの mRNA 量を定量するため、それぞれのプライマーとほぼ同様の増幅効率を持ち、かつ PCR 産物がそれぞれ wild type とは 100 bp 程度異なる mutant cDNA を設計した。一定量の検体 cDNA と既知の濃度の mutant cDNA を同一チューブ内で co-amplify し (competitive PCR), EGF, TGF_α 及び EGFR mRNA 量を定量した。いずれの mRNA 量も卵胞期初期と比較して卵胞期後期・黄体期に有意に増加していた。この結果は EGF, TGF_α 及び EGFR 蛋白量が卵胞期後期と黄体期に増加するという Western blot の結果とよく一致した。また血中プロゲステロン濃度が異なる卵胞期後期と黄体期では、EGF, TGF_α , EGFR いずれもその mRNA・蛋白量に有意差を認めず、子宮内膜でのこれらの産生・発現量についてプロゲステロンの関与は否定的であった。

(総括)

ヒト子宮内膜において EGF, TGF_α 及びその共通の受容体である EGFR の産生と発現が月経周期を通じて確認された。これらはいずれも内膜腺上皮細胞に局在しており、子宮内膜における EGF・ TGF_α /EGFR オートクリン機構の存在が示唆された。さらにその産生・発現量は、血中エストロゲンに関連して増加する事が確認された。エストロゲンによって誘導されるこの局所のオートクリン機構がヒト子宮内膜の増殖に関与している可能性が示唆される。

論文審査の結果の要旨

今回の論文の目的は、エストロゲンのヒト子宮内膜増殖機構を検討するため上皮成長因子 (EGF), トランスフォーミング増殖因子 (TGF_α), 及び両者の共通の受容体である EGF 受容体の子宮内膜での局在とこれらの月経周期各時期での産生・発現量の変動を検討することにある。EGF, TGF_α 及び EGF 受容体蛋白は免疫組織化学染色で子宮内膜腺上皮細胞に局在して存在した。Western blotting, ^{125}I -EGF 結合実験, 及び competitive RT-PCR でこれらの産生・発現量が血中エストロゲンが低い卵胞期初期と比し、エストロゲンの上昇のみられる卵胞期後期・黄体期に有意に増加している事を明らかにした。エストロゲンによって誘導されるこの局所のオートクリン機構がヒト子宮内膜の増殖に関与している可能性が想定されたということでこの論文は極めて意義深く学位に値するものと考えられる。