

Title	Expression and localization of glucose transporter 1 (GLUT1) in the rat oviduct : a possible supplier of glucose to embryo during early embryonic development
Author(s)	田所, 千加枝
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40998">https://hdl.handle.net/11094/40998</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏 名	田 所 千 加 枝
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 2 9 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 5 月 7 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	Expression and localization of glucose transporter 1 (GLUT1) in the rat oviduct : a possible supplier of glucose to embryo during early embryonic development (ラット卵管におけるグルコーストランスポーター 1 の発現とその局在：卵管における胚へのグルコース供給機構の可能性)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 村 田 雄 二 (副査) 教 授 遠 山 正 彌 教 授 米 田 悦 啓

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目的〕

グルコースは、胎児の発育にとって不可欠な物質であり、その母体から胎児への移行は、主に胎盤に存在するグルコーストランスポーター 1 (以下 GLUT1) を介する促進拡散によることが知られている。我々は、今までに GLUT1 は胎盤の syncytiotrophoblast に存在し、妊娠の進行に伴いその発現量が増加することを示してきた。

グルコースは、8 細胞期以降の胚の主要な栄養源であり、同時に胚の側でも GLUT1 が発現する。着床期以前の胚へのグルコースの供給は主として胚を取り巻く卵管内の環境が主な役割を果たしているが、その機構の詳細は不明である。卵管において卵管上皮から分泌される卵管液中のグルコースが胚のエネルギー源となることが想定される。そこで、私は、ラット卵管での GLUT1 の発現と局在を明らかにし、この機構について Northern blot 解析, Immunoblot 解析, 及び免疫組織化学的染色法により検討した。

### 〔方法ならびに成績〕

Northern blot 解析として、ラット卵管及び、陽性対象であるラット脳と妊娠 38 週ヒト胎盤から guanidium-CsCl 法にて、RNA を抽出し、アガロースゲルにて電気泳動の後ナイロンフィルターに転写し、<sup>32</sup>P-GLUT1cDNA と反応後、オートラジオグラフィを行った。ラット卵管に、ラット脳及びヒト胎盤と同様に、2.8 kb の GLUT1 mRNA の発現がみられた。しかしながら、その発現量はヒト胎盤及びラット脳に比較し少なかった。Immunoblot 解析として、ラット卵管及び、陽性対象であるラット脳組織から膜分画の蛋白を調製し、10% SDS ポリアクリルアミドゲルで電気泳動を行い、ゲル上の蛋白をニトロセルロースフィルターに転写後、抗 GLUT1 抗体と反応を行った。ラット脳では 45kDa の位置に、卵管では 40kDa の位置に GLUT1 蛋白の発現を認めた。抗 GLUT1 抗体を non-immune serum と置換すると、上記のバンドは消失した。以上より、ラット卵管における GLUT1 の産生・発現が明らかになった。

さらに、4 日型の性周期を確認した Wistar 系成熟雌ラットを用い、下大動脈からの環流固定を行い、卵管を摘出し、浸漬固定の後、GLUT1 蛋白の局在を検討するために抗 GLUT1 抗体を用いて免疫組織化学的染色法を行い、顕微鏡観察に加え、さらに詳細な局在を知るために電顕観察を行った。光顕では、GLUT1 免疫活性は、粘膜上皮のみに観察さ

れ、卵管の筋層及び、漿膜には観察されなかった。卵管膨大部及び、峽部粘膜上皮では、GLUT1 免疫活性が強く、子宮卵管移行部粘膜上皮における GLUT1 免疫活性は微弱であり、卵管采部粘膜上皮には、ほとんど GLUT1 免疫活性は観察されなかった。性周期による GLUT1 免疫活性の違いの検討を追加したが、性周期による GLUT1 免疫活性の局在や、その発現量の変化は観察されなかった。光顕観察では、GLUT1 免疫活性は non-ciliated (secretory) cell にのみ存在する成績を得たので、さらなる検討を加えるために post-embedded immuno-gold 法による電顕観察を行った。その結果、non-ciliated (secretory) cell の管腔側の microvilli の表面にのみ GLUT1 免疫活性を示す immunogold particle が豊富に観察され、ciliated cell には、全く観察されなかった。

〔総括〕

ラット卵管において、GLUT1 発現が見られ、卵管膨大部と峽部の non-ciliated (secretory) cell の管腔側の microvilli に局在することが明らかとなった。この結果より、グルコース要求性の高い 8 細胞期以降の胚が通過する部位に一致して GLUT1 が発現していることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

卵管は、卵の輸送のみではなく、受精のための環境を整え、胚が着床しうるまでに不可欠な種々の物質を供給する場であるという役割も担っている。グルコースは 8 細胞期以降の胚の主要なエネルギー源であることが示されており、卵管上皮から分泌される卵管液中のグルコースが胚のエネルギー源であることが想定された。そこで、卵管液中へのグルコース供給機構の一端を卵管上皮に存在するグルコースに特異的な担体が担っていると考えた。そこで卵管における、グルコース輸送機構にも GLUT1 が関与している可能性を仮定し、その発現と局在を検討し、mRNA レベルおよび蛋白レベルでの発現を認め、その詳細な局在を明らかにした。このことによって、未だ、その機能が明らかにされていない卵管の機能の一端が明らかとなった。よって、本研究は、学位の授与に値するものと考えられる。