慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Expression of an Isoform ofthe Testis-Specific Estrogen Sulfotransferase in the Murine Placenta during the Late Gestational Period.
Sub Title	精巣特異的エストロゲン硫酸基転移酵素遺伝子の妊娠後期マウス胎盤における発現
Author	田中, 京子(Tanaka, Kyoko)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.1 (2005. 3) ,p.31-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050302-0031

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Expression of an Isoform of the Testis-Specific Estrogen Sulfotransferase in the Murine Placenta during the Late Gestational Period.

(精巣特異的エストロゲン硫酸基転移酵素遺伝子の妊娠後期マウス胎盤における発現)

田　中　　京　子

内容の要旨

ステロイドの硫酸化反応は、ステロイドが受容体へ結合することを阻害し活性を調節する重要な反応となっている。この反応を触媒する硫酸基転移酵素（Sulfotransferase；ST）には異なる基質特異性を持ったイソ酵素が存在し、硫酸化されるステロイド構造の違いにより２つのグループに大別されている。いずれのSTも複数の基質を硫酸化することができるが、STの性質および遺伝子の転写調節には不明な点が多い。妊娠中のステロイドホルモンの活性調節にもSTは重要な役割を果たしていると考えられるが、妊娠子宮や胎盤におけるSTの発現調節に関する研究は行われていない。本研究では妊娠維持に必要と考えられているステロイドホルモンの１つであるエストロゲンとその硫酸化反応を担っているエストロゲン硫酸基転移酵素（Estrogen ST；EST）に着目し、子宮内膜や胎盤におけるエストロゲンの硫酸化反応について酵素レベルで明らかにすることを目的としてESTの遺伝子発現を調べるとともに、妊娠後期マウスの胎盤から遺伝子をクローニングし遺伝子組み換え酵素を作成してその酵素学的性質について検討した。

異なる妊娠期間のマウス子宮と胎盤のシトゾール画分を酵素源としてエストロンを基質としたEST活性が認められた。EST活性は非妊娠時には低いが妊娠週数が進むにつれて子宮と胎盤で増加することが明らかとなった。

次にRT-PCR法を用いて妊娠子宮と胎盤におけるEST遺伝子発現を調べた（プライマーは遺伝子バンクに登録されているマウス精巣特異的ESTの配列情報を参考に設計した）。妊娠子宮と胎盤のESTmRNA量は妊娠週数が進むにつれて増加し酵素活性の増加と類似していたことから、両組織におけるESTの発現は転写レベルで調節されていることが示された。

続いて、妊娠18日目の胎盤からPCR法によりマウス胎盤EST（murine placental EST；mpEST）のcDNA全長をクローニングした。得られた核酸配列はマウス精巣特異的EST遺伝子と99.7%、ウシ胎盤EST遺伝子と74.7%、ヒト胎盤EST遺伝子と56.5%、ヒト内膜EST遺伝子と80.1%の相同性を示した。mp-ESTはマウス精巣特異的EST遺伝子と１%以下の違いを持つイソ酵素であり、296個のアミノ酸をコードしていて推定分子量は35.5Kdaであった。次にmp-ESTの酵素学的性質を調べるためにCOS-7細胞にmp-ESTをトランスフェクトし種々の基質を用いてST活性の測定を行った。ステロイドと合成基質のうちフェノール性水酸基を持つ構造に対してST活性を示し、なかでもエストロゲンに対する親和性が最も高いことが明らかとなった。

論文審査の要旨

ステロイドの硫酸化反応はステロイドの活性を調節する重要な反応である。この反応を触媒する硫酸基転移酵素（Sulfotransferase；ST）は複数の基質を硫酸化することができるために各組織に発現されているSTの種類と性質および遺伝子の転写調節には不明な点が多く、妊娠子宮や胎盤におけるSTの発現調節に関する研究は行われていない。本研究ではエストロゲンとその硫酸化反応を担っているエストロゲン硫酸基転移酵素（Estrogen ST；EST）に着目し、子宮内膜や胎盤におけるESTの発現変化と酵素学的性質について検討した。その結果、マウス子宮と胎盤におけるEST活性は非妊娠時には低いが妊娠週数が進むにつれて子宮と胎盤で増加することが明らかとなり、またESTmRNA量は酵素活性の増加と類似していたことから、ESTの発現は転写レベルで調節されていることが示された。さらにマウス胎盤EST（murine placental EST；mpEST）のcDNA全長をクローニングした。mpESTはマウス精巣特異的EST遺伝子と１%以下の違いを持つイソ酵素であった。mpESTはフェノール性水酸基を硫酸化し、水酸基が結合した構造の違いを区別する基質特異性をもっていることが明らかにされた。

審査ではまず、ステロイドの構造とmpESTの基質特異性について質問があり、基質の構造図を示しシクロペンタン環やシクロヘキサン環に結合した水酸基には反応せずフェノール性水酸基を認識していると説明された。続いて、精巣のLeydig cellにESTが多く発現されている理由についての質問があり、オスでは性成熟期以降に発現されることから精子形成に関わっている可能性を指摘した。また、高濃度のエストロゲンに暴露されると生殖器にダメージを与えることが確認されていることから、ESTはエストロゲンから精巣を保護していると考えられていると回答された。妊娠中に増加するESTの役割についての質問に対しては、エストロゲンの不活性化というよりは胎児へのステロイド供給など運搬に関わっていると考えられると回答された。最後にmpESTの核酸配列と基質特異性との関連についての質問があった。ESTに限らずクローニングされているSTはすべて硫酸供与体の結合部位が明らかにされているが、基質の結合部位については明らかにされていないと回答された。今後は精巣と胎盤におけるEST遺伝子のわずかな違いが基質特異性の違いに関与するかについての検討をすべきであるとの助言がなされた。

以上、本研究は今後検討すべき課題はあるものの、妊娠経過時の子宮と胎盤におけるESTの発現変化を明らかにし、新たに遺伝子をクローニングし、遺伝子組み換え酵素を用いて基質特異性を明らかにしており、今後ESTの機能解明の一端になる有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者　主査　産婦人科学　吉村　泰典
発生・分化生物学　須田　年生　　医化学　末松　　誠
泌尿器科学　村井　　勝
学力確認担当者：北島　政樹、須田　年生
審査委員長：須田　年生
研究指導者：野澤　志朗（産婦人科学）

試問日：平成17年 1月 8日