

107 TRHのプロラクチン分泌刺激機構におけるMAP キナーゼの関与

大阪大

小池浩司、神田裕樹、野原 当、坂本能基、大迫靖子、前田哲雄、廣田憲二、三宅 侃

【目的】TRH刺激によるプロラクチン (PRL) 分泌機構には G蛋白の活性化や磷脂質代謝の亢進とそれに連動して生ずるC キナーゼの活性化および細胞内Caの上昇等が関与することが知られている。我々は GH3細胞において、Shc蛋白やraf-1 kinaseのチロシン磷酸化並びに ras活性の促進といった一連のチロシンキナーゼを介するカスケードが7回膜貫通型の受容体としてのTRHの新たな情報伝達を担っている可能性を報告した。今回、TRHがさらにその下流に存在するMAP キナーゼ(Mitogen activated protein kinase)を刺激するかどうかを検討した。【方法】ラット下垂体細胞およびGH3細胞を用い、TRH刺激後のMAPキナーゼの活性の測定並びに抗フォスフォチロシン抗体を用いたイムプロット分析を行った。またチロシンキナーゼ 阻害剤 (ST638)、Dopamine並びにIAP (inducer of ADP ribosylation of $G_i\alpha$)を用いてTRH刺激によるMAP キナーゼ のチロシン磷酸化に及ぼす影響を検討した。【結果】1) GH3細胞に於て、TRHはMAP キナーゼの活性およびチロシン磷酸化を促進した。また、ST638投与はTRHによるMAP キナーゼのチロシン磷酸化並びにPRL分泌を著明に抑制した。2) 正常ラット下垂体細胞に於てもTRHはMAPキナーゼの活性およびチロシン磷酸化を促進し、Dopamineはこれらの反応を抑制した。さらにIAPの添加はDopamineの作用に拮抗した。【結論】TRHのPRL分泌における新たな細胞内情報伝達機構としてMAPキナーゼが関与する可能性を初めて示した。

108 noradrenalineのGnRH分泌細胞の情報伝達系への影響

横浜市大、同三内*

山口肇、植村次雄、大庭信彰、水口弘司、新井隆*

【目的】noradrenaline (NA) のGnRH分泌調節機構を知るため、GnRH cell line (GT1-7)を用いてNAの細胞内情報伝達系への影響を検討した。

【方法】1) cytodex bead附着細胞を minicolumnに重層し、NA, Forskolin, TPA, Ca ionophore (A23187)添加し、灌流液中のGnRHをRIAで測定した。2) cellをIBMXを含むLocke's mediumにて90分間培養後、 $10^{-6}M$ 、 $10^{-7}M$ 、 $10^{-8}M$ を添加して10, 30, 60分間培養後細胞内cAMP濃度をRIAで測定した。3) cellにFura-2 AM ($4\mu M$)添加無血清DMEMを1時間負荷し、M-1000 Ca^{2+} analyser (Inter Dec)にて、NAによる細胞内 $[Ca^{2+}]_i$ の変動を340/380nmの蛍光強度比により測定した。【成績】1) 還流実験でNAは $10^{-8}M$ から $10^{-6}M$ (基礎値の3~5倍)で用量依存性にGnRHを分泌し、Forskolin $10^{-4}M$ から $10^{-6}M$ でGnRHの分泌亢進(2~3倍)、A23187でも著明なGnRH分泌亢進が認められた。2) 細胞内cAMP濃度は10分後対照群 $1286\pm 97pmol/10^6cells$ (Mean \pm SE, n=4)に対してNA $10^{-8}M$ では変化しないが、 $10^{-7}M$ では増加傾向を示し、 $10^{-6}M$ では 1726 ± 34 と有意な($p < 0.05$)増加を示した。3) cellをNA $10^{-6}M$ で5分間灌流した場合、投与後 $[Ca^{2+}]_i$ は%increase $275\pm 24\%$ (Mean \pm SE)と有意に増加し、Ca freeのmediumではこの $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は著明に減弱した。Forskolin $10^{-5}M$ でも投与後%increaseは $197\pm 12\%$ と増加し、A23187でも増加した。【結論】NAのGnRH分泌機構にはcAMP系と Ca^{2+} 系の関与が示唆された。