

101 顆粒膜細胞内リン脂質代謝系の細胞増殖に及ぼす影響

慶應大

北岡芳久, 田辺清男, 岸 郁子, 浜谷敏生,
林 明德, 斎城綾子, 野澤志朗

【目的】卵胞発育において顆粒膜細胞の増殖は必須であるが、増殖機序特に細胞内刺激伝達経路に関しては未だ不明な点が多い。我々は今までにPKC pathwayが重要な役割を担い、activatorであるdiacylglycerol (DG) 及びその代謝産物であるアラキドン酸(AA)とeicosanoidも深く増殖に関与していることを明らかにしてきた。一方、細胞内DG量は二相性変化を示し、phosphatidylinositol-diphosphate-phospholipase (PL) C系を経て一過性に増加するacute phaseと、phosphatidylcholine (PC)-PLD-phosphatidic acid (PA)系またはPC-PLC系を経て産生が持続するchronic phaseのあることが知られている。そこで本研究では顆粒膜細胞内リン脂質代謝系の増殖に及ぼす影響と、DG産生経路を検討した。【方法】不死化ブタ顆粒膜細胞(PGV)を 1×10^4 / wellの割でdishに撒き、bromophenacyl bromide (BPB, PLA₂阻害剤), U73122 (U, PLC阻害剤), propranolol (PP, PAPase阻害剤), PAあるいはLyso-PAを単独またはAAと共に添加して、各種濃度で2日間培養し、吸光度測定法により細胞数を算定した。【成績】BPB, U, PPの単独添加群はいずれも 10^{-6} M以上で増殖を抑制し、AA(10^{-10} M以上)同時添加により抑制は解除された。PAとLyso-PA(各 10^{-10} M以上)は共に増殖を促進した。【結論】顆粒膜細胞の増殖にはPKC pathwayが関与しており、1) PKCを活性化するDGはPCからPLC, PLDのいずれの経路からも産生され、2) 特にchronic phaseで産生増加するDGが増殖に重要であることを、顆粒膜細胞で初めて明らかにした。さらに、3) DGとその代謝産物も顆粒膜細胞の増殖には重要な役割を担っていることを確認した。

102 ヒト卵巣周期におけるapoptosisの関与

和歌山医大

重根俊彦, 粉川克司, 矢本希夫, 仲野良介

【目的】卵巣周期、すなわち卵胞の発育、成熟、排卵および閉鎖、黄体の形成、発育および退行という一連の過程においては、恒常的な細胞数の調節が必須であり、apoptosisによるプログラム細胞死が重要な役割を果たしていると考えられる。今回われわれはヒト卵巣におけるapoptosisの関与について、DNA3'末端標識法を用いて検討した。

【方法】学内倫理委員会承認のもと、正常月経周期を有する子宮癌患者から手術時に卵巣を採取した。また妊娠黄体は、子宮外妊娠患者から得た。摘出卵巣組織を直ちにBouin液にて固定し、パラフィン切片を作製した材料について、digoxigenin-ddUTPを用いて断片化DNAの3'末端を標識染色した。

【成績】各発育段階の卵胞において、種々の程度に顆粒膜細胞のDNA断片化が認められた。排卵前卵胞では、DNAの断片化はほとんど認められなかった。閉鎖卵胞では、閉鎖の程度により、顆粒膜細胞におけるDNA断片化が強まる傾向を認めた。黄体では、黄体期初期から中期、後期へと断片化DNAの黄体細胞における出現、増加が認められた。月経周期4日目の退行黄体においてもDNAの断片化を強く認めた。妊娠初期の黄体については、染色陽性細胞はごくわずかであった。

【結論】ヒト卵巣における卵胞の閉鎖および黄体の退行にapoptosisが関与していることが示唆された。