

P-55 GH3細胞の細胞レベルでのプロラクチン分泌能に及ぼすアクチビンの影響

徳島大, 同酵素科学研究センター*
宮本誠一郎, 牛越賢治郎, 田村紀子, 桑原 章,
斎藤誠一郎, 漆川敬治, 東敬次郎, 苛原 稔,
青野敏博, 杉野弘*

【目的】アクチビンは下垂体からの各種ホルモン分泌能を調節する可能性が報告されているが, そのメカニズムは未だ不明である. 今回我々は下垂体細胞へのアクチビンの作用を明らかにする目的として, ラット下垂体腺腫由来の細胞であるGH3細胞を用い細胞免疫ブロット法により細胞レベルでのプロラクチン(PRL)分泌能に対するアクチビンの影響を検討した. 【方法】HAM F-10 (HS 15%, FCS 2.5%) を培養液としてGH3細胞にアクチビンA (0~10nM) を添加後, 24時間培養し無血清の環境で細胞免疫ブロット法に用いた. 細胞免疫ブロット法での培養時間は2時間であった. トランスファーメンブレン上のブロットの解析にはNIH Imageによるコンピュータ画像処理を行った. また統計学的検討にはOne-way factorial ANOVAならびにUnpaired t-testを用いた. 【結果】解析を行った総ブロット数は13,442個であった. GH3細胞に添加するアクチビンAの量(0~10nM)が増加するにしたがい, PRLを分泌している細胞数の割合はコントロール (36.1 ± 2.9 blots/mm²) に対して用量依存性に15% (5.3 ± 1.1 blots/mm²) まで有意に減少した ($p < 0.0001$). 一方, PRL分泌能を持つGH3細胞の1個あたりの平均PRL分泌量はコントロール ($58.3 \pm 40.4 \times 10^4$ ID) に対して用量依存性に44% ($25.6 \pm 21.2 \times 10^4$ ID) まで有意に減少した ($p < 0.0001$). 【結論】アクチビンAはGH3細胞において上清中の総PRL分泌量を用量依存性に抑制することが分かっていたが, 今回細胞免疫ブロット法を用いることで, ①PRLを分泌する細胞数の割合がコントロールに対して15%まで減少すること, さらに②細胞1個あたりのPRL分泌量も平均で44%まで低下することの2点に依ることが示された.

P-56 Chemokineのラット下垂体前葉ホルモン分泌に及ぼす影響

大阪大学, 大阪通信病院*, 耳原総合病院**
野原 当, 小池浩司*, 坂本能基**, 沢田雄至,
大迫靖子, 増原完治, 直原廣明,
池上博雅, 廣田憲二, 三宅 侃

【目的】近年免疫系と内分泌系の関連が注目され, 種々のサイトカインが視床下部下垂体系に作用し, ホルモン分泌を調節する事が報告されている. 我々はIL-1やIL-6が下垂体ホルモンの分泌を促進することを報告してきた. 今回, 我々はChemokineの一つであるCINC (Cytokine Induced Neutrophil Chemoattractant) のラット下垂体前葉細胞のホルモン分泌における影響について検討した. 【方法】雌Wister rat 下垂体前葉細胞を初代培養し, 5~7日目に実験に供した. ①下垂体前葉細胞から培養液中に分泌されるCINCの濃度を経時的にELISAにより測定した. ②下垂体前葉細胞およびGH3細胞の培養液中に5~100ng/mlのCINCを添加し, 3~24時間培養後に培養液中のPRL, GH, LH, FSHをRIAにより測定した. ③下垂体前葉細胞培養液中に, 百日咳毒素(IAP)を100ng/ml添加し, 3時間培養後に5~100ng/mlのCINCを添加し, 24時間培養後に培養液中のPRL, GH, LH, FSHをRIAにより測定し, IAP非添加群と比較した. 【成績】①ラット正常下垂体前葉細胞の培養液中にCINCが検出され, 時間依存的に分泌増加を認め, 24時間培養液中で約0.3ng/mlに達した. また, 免疫組織化学的検索により抗CINC抗体で染色される下垂体前葉細胞群を認めた. ②CINCは, 時間及び濃度依存的にラット下垂体前葉細胞からのPRL, GH分泌を促進させ, LH, FSH分泌を抑制した. ③IAP投与はCINCのラット正常下垂体細胞に及ぼすホルモン分泌促進作用に拮抗した. 【結論】CINCは, ラット正常下垂体細胞から分泌され, G蛋白を介して下垂体ホルモン分泌の調節に関与している可能性が示唆された.