

**P-65** 免疫蛍光組織染色法を用いた、ヒト卵巣における LH/hCG receptor (LHR) の発現の検討

京都大、同胸部疾患研\*、同ウイルス\*\*  
 本田徹郎、藤原 浩、服部奈緒、前田道之\*、  
 上田正道\*\*、森 崇英

【目的】ヒト卵巣卵胞および黄体の分化におよぼす LH/hCG の生理的役割を検討することを目的として、卵巣における LHR の発現をモノクローナル抗体を用いて調べた。【方法】(1) (in vivo) ヒト卵胞あるいは黄体の凍結切片を作成し、抗 LHR モノクローナル抗体 3B5 による、免疫蛍光組織染色を行った。(2) (in vitro) 体外受精時に得られた卵胞液から顆粒膜細胞を分離し、hCG 10u/mL 投与群、TNF $\alpha$  10ng/mL 投与群、コントロール群に分けて 3 日間無血清培養した。LHR の発現を flow cytometry にて解析した。【成績】(1) LHR は、各段階の卵胞の莢膜細胞、成熟卵胞の莢膜細胞と顆粒膜細胞に発現していた。月経黄体では、中期に発現が最も強く、また大型黄体細胞での発現は小型黄体細胞のそれよりも強かった。初期妊娠黄体にも強い発現が認められた。(2) 培養顆粒膜細胞における LHR の発現は、発現細胞陽性率においては各群で差はなかったが(平均 60.8%)、平均蛍光強度においては、hCG 群で他の 2 群よりも高値であった(n=6、p=0.0024)。【結論】(1) 卵胞においては、LH が初期より莢膜細胞に作用している可能性が、黄体においては、LH の主な標的細胞は大型黄体細胞である可能性が示唆された。月経中期から妊娠初期に LHR の発現が継続していることから、LH/hCG が黄体の分化に関与していることが示唆された。(2) 黄体形成期の内因性 LH や、いわゆる黄体賦活療法としてこの時期に投与される hCG は大型黄体細胞の LHR 発現を増強する可能性が示唆された。

**P-66** ヒト顆粒膜細胞における GnRH の C-kinase 活性および Ca<sup>2+</sup> に及ぼす影響について

横浜・産育会堀病院、横浜市大\*  
 堀 裕雅、植村次雄\*、水口弘司\*

【目的】ヒト G-cell を用いて GnRH の C-kinase 系および細胞内 Ca<sup>2+</sup> への影響を調べた。【方法】IVF-ET 時採取した卵胞液より G-cell を分離し、G-cell を 0.5ml  $\alpha$  MEM にて 15 分間前培養後、GnRH agonist (GnRHa), C-kinase activator である TPA, Ca ionophore A23187, C-kinase 阻害剤である H-7, lipoxygenase 阻害剤である NDGA を添加して 5 時間培養し、培養液中の P<sub>4</sub>, E<sub>2</sub> を RIA にて測定した。また Fura-2AM を用いて Ca<sup>2+</sup> analyser にて、GnRHa の細胞内 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> に及ぼす影響を 340/380nm の蛍光強度比により測定した。【成績】1) G-cell の P<sub>4</sub> 産生についてみると GnRHa 1ng/ml 添加で(29.8 $\pm$ 2.4ng/10<sup>5</sup>cells, mean $\pm$ SD) 非添加対照群(11.5 $\pm$ 1.1) に比し有意(p<0.05)に増加させ、10ng/ml でも有意な増加が認められた。TPA は濃度依存性に P<sub>4</sub> の産生を増加させ、10<sup>-7</sup>M 添加にて(18.2 $\pm$ 0.9) 非添加対照群(10.1 $\pm$ 1.0) に比し有意な(p<0.05)増加を認めた。また GnRHa は 10ng/ml で細胞内 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> を有意に増加させることを認め、更に A23187 10<sup>-6</sup>M 添加では P<sub>4</sub> の産生を有意に増加させ(p<0.05)、TPA+A23187 では P<sub>4</sub> の産生に相乗効果を認めた。2) E<sub>2</sub> 産生についても GnRHa 1ng/ml 添加で(482.3 $\pm$ 20.3pg) 非添加群(245.3 $\pm$ 11.5) に比し有意に(p<0.05)増加させ、TPA についても P<sub>4</sub> と同様の成績が E<sub>2</sub> 産生についても得られた。3) H-7 は GnRHa, TPA の P<sub>4</sub>, E<sub>2</sub> 産生増加作用を有意に抑制し(p<0.05)、NDGA も GnRHa の P<sub>4</sub>, E<sub>2</sub> 産生増加作用を有意に(p<0.05)抑制した。これらの成績は過去に報告した同一条件下のラットの成績と同様の傾向を示した。【結論】GnRH はヒト G-cell においても C-kinase 系および細胞内 Ca<sup>2+</sup> を介して steroidogenesis に関与していることが認められた。