

P-67 一酸化窒素(NO) のヒト黄体細胞機能に与える影響について

秋田大

利部徳子、児玉英也、福田 淳、軽部裕子、
村田昌功、清水 靖、池田雅人、田中俊誠

〔目的〕 NOのヒト黄体細胞の機能に対する影響を明らかにすることを本研究の目的とした。〔方法〕 患者の同意を得て体外受精時に採取したヒト黄体化顆粒膜細胞(2×10^4 個/well)をGIT 培地にて24時間培養し、顆粒膜細胞におけるNO 産生量をNO analyzer (chemiluminescence 法)にて測定した。また、 10^{-5} から 10^{-3} MのNO donor (SNAP) を添加して24時間追加培養し、(1)培養液中のprogesterone(P)産生量、(2)TUNEL 法およびflowcytometry によるapoptosis細胞の頻度、(3)NO scavenger (carboxy-PTIO) の同時添加の影響を検討した。〔成績〕(1)顆粒膜細胞でのNO 産生量は、1mM/h 以下であった。(2)Control、 10^{-5} 、 10^{-4} 、および 10^{-3} Mの SNAP を添加した場合のP産生量は、 1500 ± 350 、 850 ± 260 、 1400 ± 270 、 1600 ± 380 ng/ml (mean $\pm$ s.d. n=5)で 10^{-3} MのSNAP 添加(この場合の培養液中のNO産生量は 25mM/h)で有意に抑制された($p < 0.05$) が、apoptosis細胞の頻度は細胞当たり 11 ± 1 、 10 ± 1 、 9 ± 4 、 $12 \pm 3\%$ で有意差は認められなかった。(3)SNAP のP抑制作用は、carboxy-PTIO の同時添加により有意に($p < 0.05$) 減弱した。〔結論〕 ヒト顆粒膜細胞がNO に暴露された場合、P産生が抑制されることを明らかにした。しかし、NOはapoptosisを誘導しないこと、Pの抑制には顆粒膜細胞が自立的に産生するNO の少なくとも20倍以上のNO 量が必要であること、から顆粒膜細胞で産生されるNO がluteolysis を誘導する可能性は低いと考えられた。

P-68 プロラクチンによるラット黄体のapoptosis誘導と Structural luteolysis について

札幌医大

木谷 保、遠藤俊明、後藤妙恵子、山本 弘、
伊東英樹、工藤隆一

〔目的〕 黄体組織自体が縮小するStructural luteolysis(SL)の過程でmatrix metalloproteinaseの活性の増強が何らかの役割を担っている事を我々は報告している。このSLでは明らかな細胞数の減少が認められる事から、apoptosis(AP)の存在を想起させる。今回、SL発生のメカニズムの一つとしてprolactin(PRL)がAPを起こしうるかを検討した。

〔方法〕 実験モデルは既に我々が報告しているようにSD系幼若雌ラットにPMS50IU-hCG25IU(hCG投与日をday 0)で過排卵させday4よりbromocriptine(Br)400 μ gを連日投与し、まずfunctional luteolysis(FL)を発生させた。引き続きday7よりPRL 1 mgを連日投与しSLを発生させた。またBrもPRLも投与しないcontrol(Ctl)群、Brを投与せずPRLのみ投与したPRL単独群についても検討した。APの検出は、TUNEL法、透過型電顕によった。DNA量の測定はfluorometric assayによった。

〔成績〕 day10ではCtl群、FL群、PRL単独投与の間に黄体重量、DNA量には有意差はなく、それぞれ(mean) 120mg, 0.6mgであった。SLの黄体では黄体重量、DNA量ともに経日的に漸減しday10ではCtlの約50%と有意に減少した。またTUNEL法によるとSLではPRL投与開始24,48,72時間目にDNAのfragmentationの起こっている細胞はいずれも全体の約3.5%に検出された。更に電顕でも核の崩壊像などAPの存在が推察された。しかしCtl群、FL群、PRL単独投与にはAPは認められなかった。

〔結論〕 ラット黄体ではPRLによりAPが誘導されSLがおこる。しかしPRL単独にはその作用はなく、PRLが一度低下し再上昇する事によりAPが起こる事が明らかになった。またDNA量の減少が急激な事からAPのturnoverが非常に速い事が推察された。