

P-87 絨毛細胞のhCG分泌制御機構における
低分子量G蛋白質Rhoの役割に関する研究

京都大

上田博久、佐川典正、伊東宏晃、南野英隆、
北川京子、松本恒和、寺川耕市、森 崇英

【目的】低分子量G蛋白質Rhoは細胞質分裂、細胞遊走、細胞侵潤などの細胞機能に深く関わる蛋白質であることが明らかにされつつある。絨毛細胞はcytotrophoblastからsyncytiotrophoblastに分化すると分裂能、遊走能、侵潤能等は消失するが、同時にhCG産生分泌能を獲得する。本研究では、絨毛細胞の形態的变化と機能的分化に低分子量G蛋白質Rhoがどのように関与しているかを明らかにする目的で、絨毛癌細胞株(BeWo)をモデルとして、Rhoの特異的阻害剤であるC3酵素がBeWo細胞の形態とhCG分泌能に及ぼす影響を検討した。

【方法】10% FCS含有RPMI 1640培養液を用いて 1×10^4 cells/mlのBeWo細胞浮遊液を作成し、collagen-coated microplate (24 wells)に 1×10^4 cells/wellのBeWo細胞を散布し培養を開始した。培養液中へadenylate cyclase活性化剤であるforskolinあるいはRho阻害剤であるC3酵素を添加後、24時間毎に培養液を交換し、培養液中に分泌されたhCGを定量し対照群と比較した。

【成績】forskolin (0.25 μ M) 添加によってBeWo細胞は形態的には多核化し、hCG分泌量は対照群の約200%に増加した。一方、C3酵素(1.0 ng/ml、2.5 ng/ml、250 ng/ml、2.5 μ g/ml)添加群では、多核化像はみられなかったが細胞境界が不鮮明となり、hCG分泌量はそれぞれ対照群の236%、308%、540%および658%に増加した。

【結論】低分子量G蛋白質Rhoの阻害剤であるC3酵素によりBeWo細胞の形態が変化しhCG分泌能が促進されたことから、絨毛細胞の形態変化とhCG分泌制御機構において低分子量G蛋白質Rhoが重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

P-88 エンドセリン刺激によりヒト培養トロ
ホプラストに発現したCa振動の解析

愛媛大学

矢野樹理 堀玲子 福井敬介 谷口文章
山中研二 武田康成 越智博 松浦俊平

【目的】 endothelin(ET) は血管収縮作用の他、細胞増殖やホルモン分泌など多彩な作用を有している。本研究では、ヒトcytotrophoblast(CT) へのETの影響を調べる目的で、ET刺激に対するCTの細胞内Caイオン濃度($[Ca^{2+}]_i$) の変化について検討した。【方法】ヒト妊娠初期胎盤絨毛(17例)を培養し、培養4日目にCa蛍光指示薬(Fluo-3)を用いてレーザーサイトメトリー法によりヒト培養CT270個の $[Ca^{2+}]_i$ 測定を行った。測定装置にはメリディアン社のACAS570systemを使用した。【成績】外液中へのET-1 (10⁻⁷M)添加によりCTの $[Ca^{2+}]_i$ は著明に上昇し、続いて約4分周期で振動しながらしだいに減衰する明瞭なCa振動が観察された。このCa振動はET-2 (10⁻⁷M) またはET-3 (10⁻⁷M)の添加でも認められ、さらにsyncytiotrophoblast由来と考えられる多核巨細胞でも認められたが、子宮内膜上皮細胞では認められなかった。添加したET-1濃度とCa振動の振動数、振幅との間には一定の傾向を認めなかった。このCa振動は、外液中のCa除去や、Caキレート剤(EGTA3mM)の添加、L型Caチャンネル拮抗剤であるベラパミールやニフェジピン投与により抑制された。ET-A受容体拮抗剤(BQ123, BQ485 10⁻⁷M)添加ではET-1によるCa振動を抑制できなかったがET-B受容体拮抗剤(IRL1038 10⁻⁷M)を同時添加するとCa振動は抑制された。【結論】ET刺激によりヒトCTに細胞内Ca振動が発現する事を初めて確認した。このCa振動は外液中のCaイオンの存在を必要とし、L型Caチャンネルの関与が示唆された。またCTにはET-B受容体が存在する可能性が示唆された。