

445 ヒト子宮平滑筋細胞のカルシウムウェイブの観察—プロスタグランジンF2 α による刺激—

大分医大

吉松 淳, 江藤靖子, 榎原久司, 宮川勇生

【目的】プロスタグランジンF2 α (PGF2 α) は子宮収縮物質として陣痛発来と密接な関係を持つ. その子宮収縮作用は強力で子宮筋組織での作用機序は様々に研究されている. しかし, 子宮筋の細胞レベルでの収縮の検討はあまりされていない. 今回, 子宮筋細胞をPGF2 α で刺激し, 収縮の指標となるカルシウムウェイブをレーザー共焦点顕微鏡で観察, 検討したので報告する.

【方法】帝王切開時に患者の同意のもと, 切開創部より子宮筋組織を採取した. 採取された子宮筋組織から子宮平滑筋細胞が単離培養された. 観察前に平滑筋細胞はphysiological buffer (Na 140 mM, K 5mM, Ca 1.8mM, Mg 1mM) 中でCalcium Green-3 とともに37°C, 30分間incubateされた. PGF2 α を最終濃度で10 $^{-6}$ M から10 $^{-8}$ M となるように添加し刺激した. 488nmで励起されたCalcium Green を 0.5秒ごとに 1分間記録した.

【成績】PGF2 α 濃度10 $^{-6}$ M では100%, 10 $^{-7}$ M では40%, 10 $^{-8}$ Mでは 57%でカルシウムウェイブが観察された. ウェイブの速度は33.5 μ m/sec であった. 同一細胞で数回ウェイブが観察されるものと一度だけのものと共にみられた.

【結論】カルシウムウェイブは細胞内のカルシウムストアから細胞質内にカルシウムが放出される現象である. これは平滑筋細胞ではミオシン軽鎖をリン酸化し収縮させる. 細胞レベルでの収縮の指標とされる. 今回の検討では生理的濃度のPGF2 α で子宮平滑筋細胞を刺激すると活発なカルシウムウェイブの発現が認められた. PGF2 α の子宮収縮作用を細胞レベルではじめて視覚的に確認することができた.

446 ヒト子宮筋細胞のPlatelet-activating factor によるカルシウムウェイブの観察

大分医大

江藤靖子, 吉松 淳, 榎原久司, 宮川勇生

【目的】血小板活性化因子 (platelet-activating factor, PAF) は生体内のほとんどの組織に存在する脂質メディエータで, 他のメディエータとともにプロスタグランジン (PG) 産生に深く関与している. また PAFは直接ヒト子宮筋組織に作用し収縮させることが報告されており陣痛の開始, 維持への関与が示唆されている. 今回, 筋細胞レベルでの収縮をレーザー共焦点顕微鏡でカルシウムウェイブを観察し, 検討したので報告する.

【方法】帝王切開時に患者の同意のもと子宮切開創部上縁から子宮平滑筋組織を採取し, 平滑筋細胞を単離培養した. 観察前に平滑筋細胞はphysiological buffer (Na 140mM, K 5mM, Ca 1.8 mM, Mg 1mM), Calcium Green-3とともに30分間, 37°Cでincubateされた. c-PAF を最終濃度で10 $^{-8}$ M から10 $^{-12}$ Mとなるように添加し, 刺激した. 488nm で励起された Calcium Greenを 0.5秒ごとに 1分間記録した.

【成績】カルシウムウェイブは c-PAFの10 $^{-9}$ M から10 $^{-12}$ Mまでの刺激で観察されたが, 10 $^{-8}$ Mでは観察されなかった. また, 添加した c-PAFの濃度の低い方がウェイブの出現率が高かった (10 $^{-8}$ M 0%, 10 $^{-9}$ M 16.7%, 10 $^{-10}$ M 50%, 10 $^{-11}$ M 72.2%, 10 $^{-12}$ M 80%). 細胞内でのウェイブは一方向ではなく, また同一細胞で数回観察されるものもみられた. ウェイブの速度は 36.35 μ m/s であった.

【結論】 PAFで子宮平滑筋を刺激することによってカルシウムウェイブが観察された. この細胞内カルシウム濃度の上昇はミオシン軽鎖のリン酸化をおこし, 子宮筋を収縮させる. 陣痛発来への関与が示唆されている PAFの子宮筋収縮作用を細胞レベルではじめて視覚化することができた.