

(関西医大)

田中 一朗, 芦原 孝三, 藤上 文隆
河田 泰彦, 榎木 晋, 森本 義晴
堀越 順彦, 中島 徳郎, 榎木 勇

目的: 妊娠初期脱落膜(D)がProlactin(PRL)産生能を有することを検討してきたが, 今回, この脱落膜に接する絨毛(C)が, そのPRL産生にいかなる影響を及ぼすかを器官培養法にて検討した。

方法: 正常妊娠5~11週のDとCとをTrowdl T₈培養液で, 95%O₂-5%CO₂の環境下にて24時間ないし48時間培養した。D単独培養群を対照とし, D+C培養群(同-Dish内に培養), これらに各種濃度のhCG, Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), Prostaglandin E₂ (PGE₂), Indomethacin, Steroid Hormon及び, Cycloheximideを添加した群について培養液中のPRLをRIAにて測定した。さらに, D単独群と, D+C群に対し [³⁵S] Methionine Incorporation 実験も同様条件下で行った。

成績: 妊娠5週例のD単独群のPRL値は, 24時間: 130±27 [ng/ml/100mg wwt (M+SD)], 48時間: 207±96。妊娠8週例では, 24時間: 2,316±887と急激にPRLが増加した。しかし, 5週例のD+C群では, 24時間: 73±21と有意に低値を示し, 48時間でも160±46と低く, 妊娠6, 7, 9, 10週例でも同様であった。しかし, 妊娠7週例での[³⁵S]Incorporation実験では, 培養液中[³⁵S]PRLは対照に比してD+C群では有意に低値であったが, [³⁵S] TCA precipitation proteinは対照と変わりなく, Dにおける蛋白合成には変化は見られなかった。一方, hCG, PGF_{2α}, PGE₂, Indomethacin添加群では有意な変化は見られなかった。Steroidについては, Progesterone(P)単独添加群では一定の傾向が見られなかったが, Estradiol(E₂)添加群においては, 有意のPRL低値, ないしは低下の傾向がみられた。

考察: CによるDのPRL分泌抑制は, 子宮腔という限られた環境下において, DがCによりなんらかの分泌調節を受けている事が推察され, 胎児由来のCの異常が, 母体由来のDの機能異常を惹起し, 流産や子宮内胎児発育遅延等の原因となり得る事が推測される。今後, Cよりの他の分泌物質について検討すると共に, in vivoについても考察を続けてゆきたい。

質問

(東京大) 武谷 雄二

① chorion の conditioned medium で decidua の PRL 産生の影響をみたか。

② chorion と decidua の co-culture 系において decidua のみの総タンパク合成量をみたか。

回答

(関西医大) 田中 一朗

① 絨毛培養後の培養液を加えた論文はあるが, 我々としては, 絨毛培養を行う事により培養が組成変化を起こす事を考え, 培養液添加実験は行っていない。

② 細胞内 [³⁵S] メチオニンの濃度は測定していない。以後, 検討の予定である。

56. ヒト脱落膜 prolactin (PRL) の卵膜透過性と羊水中 PRL の起源に関する研究

(信州大)

舟本 寛, 深松 義人, 富田 和彦
塚本 隆是, 福田 透

目的: ヒト脱落膜で産生されるPRLが羊水腔へ実際に移行し得るか否かは不明の点が多い。本研究は脱落膜PRLの羊水腔への移送機序について検討することを目的とした。

方法: (1) Ussing 型 chamber に卵膜の一部または全部をmountしてincubation実験(10%FCS加Ham's F-10medium, 95%O₂-5%CO₂, 37℃)を行い, その胎児側(F)と母体側(M)のmedium中のPRLを経時的に測定した。実験は, (a) 羊膜のみの場合(N=9), (b) intactな卵膜全体の場合(N=8), (c) (a)のMに細切した脱落膜を加えた場合(N=7), (d) 羊膜除去後, 絨毛膜・脱落膜2層とした場合(N=10), (e) 卵膜から羊膜を剥離し, 再びその羊膜を接触させて3層とした場合(N=6)について行なった。(2) intactな卵膜(N=35)を(1)の(b)と同様にincubateし, その4h後のFとMのmedium中のPRL並びに羊水中及び脱落膜組織中のPRLを測定して, これらのPRL濃度の相関を観察した。

成績: (1) (a)ではF, MともにPRLは増加せず, (b)と(d)では時間とともにF, Mともに有意に増加した。(c)ではMでPRLの増加傾向を認めたが, Fでの増加は全く認められなかった。(e)ではMのPRL増加は(b), (d)と同じであったが, Fにおいては増加は軽度であった。したがって脱落膜PRLの羊水腔への移行には羊膜が, ある程度barrierになっているものの, in vivoにおいては羊膜, 絨毛膜, 脱落膜のcellular contactが保たれていることが必要であると考えられた。(2) FとMのPRL, 羊水中PRL, 脱落膜組織中PRL濃度の4者の組み合わせにおいては全ての間で有意の相関が認められた(r=0.49~0.8, 全てp<0.01)。したがって, 羊水中のPRLは脱落膜を起源としてい

ることが強く示唆された。

独創点：in vivo に近似した intact な卵膜において脱落膜から産生された PRL の移送が促進されることを初めて証明した点。

質問 (東京大) 武谷 雄二

decidual PRL が amnion を移行する mechanism についてのお考えは。

回答 (信州大) 舟本 寛

PRL は卵膜透過性を有するといわれるものの、intracellular に通るのか、inter cellular channel を通るのか、現在よくわかっていない。文献並びに我々のスペキュレーションによれば intercellular permeation 説をとりたい。

質問 (京都大) 泰井 俊造

① incubation 実験では常に母体側への PRL 放出が高い。このことは in vivo において脱落膜 PRL が母体血中へ分泌されると理解してよいのか。

② この実験系では卵膜を使われている。Decidua basalis の場合、Decidua と Amnion の間に厚い胎盤実質が存在するわけだが、この場合の移行に関してのコメントは。

回答 (信州大) 舟本 寛

① 胎盤付着部の decidua basalis については検討していない。

② 本研究の結果からは母体側にも移行するものと考えられるが、どれくらいの量がとか、どういう経路でとかは、わかっていない。

57. 妊娠中 prolactin (PRL) の characterization に関する検討

(信州大)

富田 和彦, 深松 義人, 舟本 寛
塚本 隆是, 福田 透

本研究は妊娠末期の母体血、臍帯血、羊水中および脱落膜の等電点を決定し、その生物活性 (BA) と免疫活性 (IA) について測定したものである。

正常妊娠 5 例より母体血、臍帯血、羊水、脱落膜を分娩時採取し、その PRL 濃度を測定した。BA の測定は Nb₂ Node lymphoma cell assay を、IA の測定は RIA を用い、standard は同じものを使用した。さらに、他の 1 症例により上記と同様の 4 検体を採取し、十分な透析の後、等電点分画 (IEF) を実施した。IEF は Sephadex IEF gel, ampholyte は pH 4.0~6.5, 8w 定電圧, 14hrs で実施し、その分画について上記と同様に BA および IA を測定した。

母体血、臍帯血、羊水、脱落膜の PRL の BA, IA はほぼ 1 : 1 となり、ほぼ同等の活性を有することが明らかとなった。また、IEF からはこれらの等電点は pI 5.9~6.0 近傍にあり、したがって、その性状は相互に大きく変わらないものと考えられた。等電点における BA と IA の比も母体血、臍帯血、羊水、脱落膜で各々 1.39, 0.84, 1.08, 1.22 とほぼ 1 : 1 となった。さらに、pH 5.8 以下の分画の占める割合をみると BA では母体血 16%, 臍帯血 25%, 羊水 49%, 脱落膜 22% で、IA では各々 12, 24, 41, 31% であった。また、特に羊水においては pH 5.8 近くに BA 上もう一つの peak がみられたが、IA の上では peak は認められなかった (BA/IA 比=2.66)。このことから、羊水中 PRL はより acidic な部分に heterogeneity を有することが示唆された。

以上は、妊娠中 PRL はあまりその性状が異なるものの、時に isohormone の存在することもあり得る結果と結論できる。

58. ジエチルスチルベストロールによるプロラクチン産生下垂体腺腫の実験モデル作製とドーパミン・レセプターの動態について

(熊本大) 宮崎 康二, 前山 昌男

目的：短期間のうちにかつ容易にプロラクチン (PRL) 産生下垂体腺腫の実験モデルを作製することは、無月経・乳汁分泌症候群の本態を明らかにする上で有用である。従来のエストロゲンを投与して PRL 産生下垂体腺腫を作る方法を改良し、今回われわれは迅速かつ簡便に腺腫を作る試みをし、この腺腫においてドーパミン作動薬ブロモクリプチン (CB 154) および拮抗薬フルフェナジン (Fluph) がどのような効果をもつか検討した。

方法：35日齢雄 Fisher Rat にジエチルスチルベストロール (DES) 5mg を含む錠剤を皮下に套管針を用いて移植し、3週目にもう 1 錠移植した。4・5・6週目に下垂体前葉組織の重量、前葉中の PRL 含有量および血中 PRL 値を測定した。1部の群には3週目に CB 154 10mg を含む錠剤の移植、Fluph のデポー剤の皮下注を実施した。

成績：DES 投与後 6 週目には下垂体重量は 3.7 倍へ、組織中 RRL 値は 78 倍へ、血中 PRL 値は 14 倍へと増加した。3 週目に CB154 を投与した群では、4 週目以降の下垂体前葉重量、前葉中の PRL 量、血中 PRL 値の増加をほぼ完全に抑制した。CB154 と Fluph を同時投与した群では Fluph が CB154 の効果をほぼ完全