

429 hCG レセプター結合物の解離方法を利用した胎盤絨毛 hCG レセプターの研究

名古屋大学

陳 帆, 後藤節子, 古橋義人, 齊藤 満,
木下吉登, 杉山正子, 岡本知光, 友田 豊

〔目的〕妊娠におけるhCGの生理作用はまだ解明されていない。我々は胎盤絨毛組織において、hCGレセプターが存在しhCG receptorを介するautocrine-systemが成立するか否かを調べるため、hCGレセプター結合法と解離法を確立して正常胎盤と絨毛癌細胞につき検索した。〔方法〕モデル実験としてのラット辜丸とヒト胎盤をhomogenizeし、27000×gの遠心pelletを採取した。絨毛癌細胞株はBewoを使用した。これらにつき¹²⁵IhCGとの結合、解離実験を行なった。〔成績〕ラット辜丸 preparationと¹²⁵IhCGをincubationすると¹²⁵IhCG-レセプター結合物が得られた。この結合物はdithiothreitol, neuraminidaseとlow pH buffer(3,3)の処理により解離され、解離率はそれぞれ42.8%, 35.2%, 68.7%であった。処理後のレセプターは¹²⁵IhCGとrebindingができ、結合常数は1.80~3.50/pMであった。高濃度のNaClとMgCl₂では解離できず、Triton X 100処理ではレセプターのrebinding activityを失なった。この結合および解離法を利用し、11例の胎盤(8w, 11w, 16w, 24w各一例とterm7例)のhCGレセプターを調べた。それぞれの処理により絨毛組織への¹²⁵IhCG bindingは39~126%増えたが、このbindingはCold hCGにより抑制されず、scatchard分析はbindingの特異性を示さなかった。BeWo細胞の¹²⁵IhCG結合テストにおいては処理前のBeWo細胞は¹²⁵IhCGを結合せずdithiothreitol, neuraminidase, low pH medium処理においても特異的receptor bindingは証明できなかった。

〔結論〕正常胎盤絨毛組織と絨毛癌細胞においてhCG receptorを介するautocrine-systemが存在しないと考えられる。

430 hCG分泌調節機構における細胞成長因子の意義に関する検討

三重大学医学部産科婦人科学教室

山脇孝晴, 野村浩史, 西山真人, 中 淳,
山本稔彦, 杉山陽一

〔目的〕hCG分泌におけるTransforming Growth Factor- β (TGF β)およびEpidermal Growth Factor (EGF)の作用をCa²⁺-and phospholipid-dependent protein kinase (C-kinase)との関連から追求した。〔方法〕ヒト絨毛癌細胞であるBeWo cell (CCL-98)を実験モデルとして、以下の如く添加実験を行なった。Coulter Counterにて細胞数を1×10⁵/mlに調整し、96時間のsubculture(37°C, 5%CO₂, 95%air, 湿度97%)の後、細胞成長因子(TGF β ・EGF)およびPhorbol 12-myristate 13-acetate(PMA:C-kinase賦活剤)を種々の濃度で添加し、24時間後に培養上清分画に分泌されたhCG量をRIAにより測定した。蛋白リン酸化反応については、Feuerstein and Cooperの方法に準拠し、IEF(pH 3.5-10.0)-12% SDS polyacrylamideを用いた二次元電気泳動法により解析した。

〔成績〕無添加control群のhCG産生量は57.9±10.4 mIU/ml/24hであったが、①EGFの添加では、容量依存性の産生亢進を認め、100ng/ml添加では356.6±32.3 mIU/ml/24h(6.2倍)に達した。②TGF β の添加では、容量依存性の産生低下を認め、IC₅₀は約10ng/mlであった。③PMAの単独添加では、3.4倍の産生亢進(ED₅₀=1 nM)を認めたが、TGF β の同時添加では、この作用が容量依存性に減弱した。④二次元電気泳動法により、PMAの添加では45kDaの酸性蛋白のリン酸化と14kDaの酸性蛋白の脱リン酸化が惹起されることが明らかとなったが、TGF β を同時添加しても顕著な差を認めなかった。〔結論〕TGF β およびEGFのhCG分泌能に及ぼす影響をC-kinaseとの関連から捉え、これらの細胞成長因子がその分泌調節機構において重要な役割を担っていることを明らかにした。