

- 59 dopamine ならびに D_2 agonist(LY171555) の培養顆粒膜細胞における progesterone ならびに estradiol 産生に及ぼす影響について

北海道大

古田伊都子, 櫻田芳弘, 林 正路, 計良光昭, 相原稔彦, 田中俊誠, 藤本征一郎

【目的】カテコールアミン(CA)が卵巣でのステロイドホルモンの合成に関与している可能性が示唆されている。本研究では dopamine(DA), および DA より安定性に優れている D_2 アゴニストの LY171555 (LY) の培養顆粒膜細胞(GC)における progesterone (P_4), estradiol (E_2)産生に及ぼす影響を検討する。【方法】①ブタ(p)ならびにヒト(h) GC 培養法; p-GC; 5×10^5 cells/ml, h-GC; 3×10^4 cells/ml の細胞浮遊液 1 ml を調整し 95 % air, 5 % CO_2 , 37 °C の条件下で 48 hr 培養した。GIT 培地には 100 nM androstenedione (A), 10 ng/ml FSH を加えた。②DA, LY 添加実験; A (100 nM) を含み, FSH を含まない GIT 培地に p-GC では $10^{-11} \sim 10^{-5}$ M の DA もしくは LY を, h-GC では $10^{-7} \sim 10^{-5}$ M の DA を加えて 48 hr 培養した。なお, h-GC は開腹手術の際に自然排卵周期における卵胞期の卵胞(直径 5 mm<)より採取した。 P_4 , E_2 の産生量を無抽出法の RIA (Coat-A-Count[®] Kit) で測定し, DA ならびに LY 無添加の control (Ct) と比較した。【成績】① p-GC での DA 添加; 施行した 4 回(それぞれの濃度で 6 dishes/回)のいずれの実験においても, DA $10^{-8} \sim 10^{-6}$ M で P_4 , E_2 の産生は有意に抑制された。② p-GC での LY 添加; 3 回のいずれの実験においても, P_4 , E_2 の産生はそれぞれ $10^{-9} \sim 10^{-5}$ M, $10^{-10} \sim 10^{-6}$ M で有意に抑制された。③ h-GC での DA 添加; P_4 は $10^{-7} \sim 10^{-5}$ M で, E_2 は 10^{-6} M, 10^{-5} M でそれぞれ 50 % 以上も産生が抑制された。【結論】① DA は培養 p-GC だけでなく培養 h-GC での P_4 , E_2 産生を抑制することが確認された。② D_2 アゴニストの LY も DA と同様に培養 p-GC での P_4 , E_2 産生を抑制することが確認された。

- 60 Prostaglandin $F_{2\alpha}$, Prostaglandin E_2 , hCG の luteotropic effect とヒト黄体細胞内 Ca^{2+} 濃度への影響について

札幌医大

遠藤俊明, 水沼正弘, 渡辺広史, 山本 弘, 田中昭一, 橋本正淑

〔目的〕動物で luteolysin と考えられている prostaglandin (PG) $F_{2\alpha}$ に関してわれわれは, ヒト黄体自身の $PGF_{2\alpha}$ の basal production は luteolytic は働かない事を報告している。今回外因性 $PGF_{2\alpha}$ の作用を hCG や PGE_2 などの luteotropin の作用と比較し, また最近各種 signal に対する細胞応答として小胞体からの Ca^{2+} 動員, Ca^{2+} チャンネルの開口が注目されている事からヒト黄体の細胞内 Ca^{2+} 動態を検討した。〔方法〕ヒト月経黄体を単層細胞培養液に $PGF_{2\alpha}$ 1 μ M, PGE_2 1 μ M, hCG 10 IU/ml, phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) 10 ng/ml, dibutyryl cyclic AMP (d-cAMP) 1 mM, を添加した。これらとの 2 時間接触での Progesterone (P) 産生への影響を検討し, また Fura 2 acetomethyl ester (1.5 μ M) を細胞内にとり込ませ蛍光光度計を用いて細胞内 Ca^{2+} 濃度の変化を検討した。〔成績〕luteotropin と考えられている hCG, PGE_2 , d-cAMP 添加で P 産生は control のそれぞれ 3.3 2.2 3.1 倍と増加したが, $PGF_{2\alpha}$ 添加でも 1.9 倍と増加し, hCG + $PGF_{2\alpha}$ では control の 3.7 倍の P 産生であった。なお PMA でも control の 2.0 倍であった。細胞内 Ca^{2+} 濃度は, 約 80 nM であり, $PGF_{2\alpha}$ で刺激すると, 約 2 倍に上昇した。続けて d-cAMP で更に刺激すると同様に上昇した。しかし PGE_2 の場合もやはり Ca^{2+} 濃度が上昇するが, 続く d-cAMP 刺激では Ca^{2+} 濃度の上昇は認められなかった。同様に hCG 刺激でも細胞内 Ca^{2+} 濃度は上昇するが, 続く d-cAMP では上昇しなかった。〔結論〕hCG, PGE_2 は cAMP を介して Ca^{2+} 濃度の上昇を伴い, luteotropic に作用する。しかし, $PGF_{2\alpha}$ は, cAMP とは無関係に, 細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇を伴い luteotropic に作用する。又, PMA も luteotropic に作用する事から $PGF_{2\alpha}$ の作用には C-kinase 系の関与が示唆される。