

1991年2月

一般講演

S-233

237 basic FGFによる顆粒膜細胞の自
(己) 分泌調節

和歌山医大

重根俊彦, 矢本希夫, 仲野良介

238 Epidermal growth factor による顆
粒膜細胞増殖, 分化のautocrine調整

神戸大

平松晋介, 丸尾 猛, 村田一男, 林 正人,
松尾博哉, 望月真人

〔目的〕 tissue Plasminogen Activator (tPA) は plasminogen を活性型 plasmin に転換する serine protease であり, 排卵, 妊卵の着床などに重要な役割を果たしている。今回, 我々は basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) に注目し, ラット顆粒膜細胞培養系における tPA 活性に及ぼす影響について検討した。〔方法〕 未熟雌ラットに 4 日間 DES 1mg/day 投与後, 卵巣より顆粒膜細胞を得て実験に供した。培養は serum free McCoy's 5a medium にて 37°C, 95% air - 5% CO₂ の条件下で行なった。培養液中の tPA 活性を fibrin autography にて測定した。また顆粒膜細胞の bFGF の binding assay と, 抗 bFGF 抗体を用いた免疫組織学的検討も併せて実施した。〔成績〕 ラット顆粒膜細胞に bFGF の特異的なレセプターが存在した。ovine FSH は 3~100ng/ml の濃度で, 用量依存的に bFGF の結合数を上昇させた。bFGF は 0.3~30ng/ml の量で, 用量依存的にラット顆粒膜細胞培養液中の tPA 活性を上昇させた。また, bFGF による tPA 活性上昇作用の発現時間は, 培養 24 時間から 48 時間で最大となった。bFGF による tPA 活性上昇作用は抗 bFGF 抗体の同時添加により抑制された。培養顆粒膜細胞に bFGF の免疫組織化学的な局在を認め, ovine FSH 30ng/ml 添加によりその染色性は増強された。〔結論〕 ラット顆粒膜細胞に, bFGF の特異的レセプターと免疫組織化学的な局在を認め, bFGF は培養顆粒膜細胞の tPA 活性を上昇させることが示された。以上より, bFGF は卵巣内自(己) 分泌調節因子として重要な役割を持つことが示唆された。

〔目的〕 卵胞発育と共に活発な増殖, 分化をとげる顆粒膜細胞の機能発現には各種成長因子の関与が推察される。事実 insulin, insulin 様成長因子 (IGF-I), 甲状腺ホルモンは, 卵巣で FSH 作用の amplifier として働き顆粒膜細胞機能分化を促進した。今回 EGF に注目し, 顆粒膜細胞における生物作用の特性を卵胞の発育段階別に考察した。〔方法〕 ブタ卵巣の各発育段階卵胞より得た顆粒膜細胞を, 無血清培地で, FSH, IGF-I と共に EGF の存在下, 非存在下に培養し, 細胞増殖ならびに progesterone, estradiol 分泌に及ぼす影響を検討した。¹²⁵I-EGF 結合の Scatchard 解析から顆粒膜細胞の EGF 受容体 (EGF-R) を, 他方, 抗 EGF 抗体, 抗 EGF-R 抗体を用いて EGF と EGF-R の卵巣内局在を ABA 法で調べた。顆粒膜細胞培養液を Sephadex G-75 でゲル濾過し, hEGF-RIA で EGF 免疫活性を測定して顆粒膜細胞の EGF 産生を検討した。〔成績〕 EGF は, 小卵胞由来顆粒膜細胞では細胞増殖を促進したが, 大卵胞由来顆粒膜細胞では細胞増殖には影響を与えることなく estradiol 分泌を著明に抑制し, progesterone 分泌を促進した。顆粒膜細胞には EGF-R が存在し, その受容体数は大卵胞由来顆粒膜細胞で最も大であった。顆粒膜細胞と莢膜細胞内に EGF と EGF-R の免疫組織学的局在を認め, 顆粒膜細胞培養液のゲル濾過では, hEGF 分画近傍に hEGF 免疫活性の溶出ピークを認めた。〔結論〕 顆粒膜細胞は自ら EGF を産生すると同時に EGF 受容体を有しており, EGF は autocrine 系調節により, 未分化顆粒膜細胞の増殖を促進する一方, 大卵胞由来分化型顆粒膜細胞では estradiol 分泌を抑制し, progesterone 分泌を促進するというきわめて興味ある生物作用を持つことが示唆された。