

245 Prolactin 分泌機構における Substance P の役割について

平塚市民病院

有澤正義, 稲垣 昇, 福庭一人, 小島雅彦,
持丸文雄

【目的】Prolactin (PRL) 分泌における Substance P (SP) の役割を解明する目的で, 雄ラット第Ⅲ脳室内へ, 合成 SP および SP に対する特異抗血清を投与し, その効果を比較検討した。

【方法】脳定位固定器を用いてラット第Ⅲ脳室内へ, 脳内カニューレを実験1週間前に植えこみ, 実験前日に, 採血用チューブを右心房へ留置した。実験は無麻酔下で行ない, 抗血清 (3 μ l 原液) を脳室内へ投与し, 経時的に採血して, 血中 PRL の変動を測定した。また, 大量の抗血清 (0.5 ml 原液) を静脈投与し, その効果も合わせて, 比較検討した。さらに同様の方法を用い, 合成 SP を第Ⅲ脳室内へ投与し, 血中 PRL の変動を測定した。また, 培養下垂体細胞に SP を直接作用させ, その効果も合わせて, 検討を加えた。特異抗血清は, 家兎を bovine thyroglobulin-SP conjugate により免疫して作製した。【成績】第Ⅲ脳室内へ投与された抗血清は, 血中 PRL を有意に上昇させた ($P < 0.02$)。しかし同抗血清を大量に静脈投与しても効果は認められなかった。合成 SP は比較的大量 (1, 5 μ g) に脳室内投与した場合, 血中 PRL を有意に上昇させたが ($P < 0.01$), 少量の SP (10 ng) では, 逆に PRL の放出を抑制した ($P < 0.01$)。また培養下垂体細胞に SP を作用させても, 直接効果は認められなかった。【結論】従来報告されてきた SP の PRL 放出作用は, 大量投与による薬理効果の可能性が高く, 生理的条件下では, SP は, 視床下部のレベルで, PRL の分泌を抑制していることが, 強く示唆された。

246 ヒト脱落膜細胞からの Prolactin (PRL) 分泌に及ぼす細胞内 Ca^{2+} と C-kinase の影響

東京医歯大

久保田俊郎, 鎌田周作, 田口 誠, 尾崎喜一,
西 望, 麻生武志

【目的】胎児の子宮内環境維持に重要な羊水中 PRL の分泌機構を解明する目的で, その産生源であるヒト脱落膜からの PRL 分泌に対し, 細胞内情報伝達機構として重要な細胞内 Ca^{2+} の変化とそれに伴う protein kinase C (PKC) の活性化という一連の反応が, どのように関与しているかを検討した。【方法】①妊娠初期婦人より採取した脱落膜を collagenase・DNase 処理後, メッシュにて large cells (PRL 分泌細胞) を分離し, 1×10^6 cells/well に調整した。 Ca^{2+} mobilizer である Ca^{2+} ionophore (Ca^{2+} INP), PKC activator の phorbol myristates acetate (PMA) を含んだ培養液とともに脱落膜細胞を 72 時間培養し, 培養液中の PRL 含有量を EIA にて測定し, 薬剤を添加しない control と比較した。②同様に処理した脱落膜細胞を 4 日間培養した後, Ca^{2+} INP 刺激後の脱落膜細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の変化を, Fura-2 AM 法により分光蛍光光度計を用いて測定した。【成績】1) 脱落膜からの PRL 分泌は $10^{-6} \sim 10^{-8}$ M の Ca^{2+} INP により用量依存性に有意に ($p < 0.001$) 抑制され, 10^{-6} M PMA にても有意に ($p < 0.001$) 抑制された。72 時間後の培養液中 PRL 総量は A) 10^{-6} M Ca^{2+} INP 群; 144 ± 4 ng/ml, B) 10^{-6} M PMA 群; 320 ± 5 ng/ml, C) control; 362 ± 2 ng/ml (mean $\pm$ S.D.) であった。2) Ca^{2+} INP 刺激約 15 秒後より $[Ca^{2+}]_i$ の上昇が始まり, 65 ~ 70 秒後にピークを示し, 以後漸減するも約 200 秒間の持続性の上昇が認められた。また, この反応は $10^{-6} \sim 10^{-8}$ M で用量依存性を示した。【結論】 Ca^{2+} channel を介する $[Ca^{2+}]_i$ の増加と PKC の活性化が, ヒト脱落膜細胞からの PRL 分泌機構を抑制することを明らかにした。