

117 ヒト妊娠初期脱落膜細胞における Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH)受容 体に関する検討

三重大

竹内茂人, 二村典孝, 浜口元昭, 松野忠明,
中 義尚, 西山真人, 山本稔彦

[目的] GnRHは、下垂体以外の内分泌臓器においても生理作用を発揮していることが次第に明らかにされつつある。そこで、GnRHの脱落膜細胞における生理的意義を明らかにするため、ヒト脱落膜細胞分離培養法を用いて、特異的受容体を解析するとともに、その作用機序をphosphoinositide代謝回転との関連から追求した。[方法] ①脱落膜細胞分離培養法：人工妊娠中絶術施行時に患者の同意の下に脱落膜を無菌的に採取し、collagenase・DNase処理後、Percoll比重遠心法にて脱落膜細胞を分離し、実験に供した。②GnRH受容体の解析： $[^{125}\text{I}]$ GnRH(比活性：74TBq/mmol)の競合結合阻害に基づきScatchard plotsにてBmax及びKdを求めた。③phosphoinositide代謝回転に及ぼすGnRHの影響：phospholipase Cの活性化に基づき産生されるinositol 1, 4, 5-triphosphate (IP_3)を指標とし、protein binding assayにて測定した。[成績] ①Scatchard plotsが直線性を呈したことから単一種のGnRH受容体の存在が明らかとなった。②Bmaxは 1.22×10^{-6} Mであり妊娠初期脱落膜細胞は細胞1個あたり 4.40×10^8 個のGnRH受容体を有するものと考えられた。③Kdは 3.79×10^{-4} Mであり、下垂体gonadotrophに比して親和性は低いものと考えられた。④ IP_3 産生量はGnRH添加後60秒後にピーク($7.1 \text{ pmol}/10^6 \text{ cells}$)となり、その増加は用量依存性であることがわかった。[結論] ヒト妊娠初期脱落膜細胞には、GnRHの特異的受容体が存在することを初めて明らかにすることができた。また、GnRHが脱落膜細胞の特異的受容体に結合すると、phosphoinositide代謝回転が促進されることから、脱落膜細胞においては、Caイオンの細胞内動員がGnRHの作用機序に関与しているものと考えられた。

118 培養ヒトトロホプラスト内カルシウム イオン濃度に対するエンドセリン-1の影響

愛媛大、同附属実験機器センター*、NTT松山病院**

香浦留美子、矢野樹理、松原圭一、吉良敏彦、
新谷敏昭、松浦俊平、岡 敬三*、金子久恵**

[目的] 近年、エンドセリンの生理作用について妊娠に関係したその動態も注目されている。本研究では蛍光法により培養ヒトトロホプラスト内カルシウム(Ca)イオン濃度を生理的条件下で測定し、エンドセリン-1(ET-1)刺激による影響を検討することを目的とした。[方法] 人工妊娠中絶術により、12例の絨毛(妊娠6週-9週)を無菌的に採取した。特殊well内でトロホプラストの培養をし、4日後に実験に供した。細胞内Caイオン濃度は、Fura-2による蛍光強度を日本分光工業製CAM-220を用いて測定、解析し求めた。培養液中に刺激物質を加えCaイオン濃度変化を経時的に測定した後、4-Bromo Calcium Ionophore A23187およびEGTA添加によるキャリブレーションを行って、Caイオン濃度を計測した。[成績] トロホプラストおよび繊維芽細胞では、ET-1刺激後3-5分でCaイオン濃度の上昇が認められ、その後徐々に低下した。血管内皮細胞およびリンパ球では変化が認められなかった。以下トロホプラストにて検討を行った。1細胞あたりのCaイオン濃度は、 $4.0 \pm 1.9 \text{ nM}$ ($n=35$)であった。ET-1刺激による上昇比は、 10 pg/ml にて 4.5 ± 3.7 ($n=14$)、 100 pg/ml にて 13.3 ± 4.5 ($n=16$)であった。 10 pg/ml のET-1にて刺激後 100 pg/ml で再刺激したが、再上昇は認められなかった。細胞外液Caイオンを除去しても、ET-1刺激に反応した。KイオンやCaイオンの添加によって変化が認められなかった。[結論] ET-1の濃度依存性に、細胞内Caイオン濃度の上昇が認められた。この反応は細胞膜ET-1レセプターを介した小胞体からのCa分泌によるものが主であると推察された。ヒトトロホプラストに、ET-1レセプターが存在することが示唆された。