

153 マウス初期胚発生におよぼすM-CSFの影響に関する研究

京都大

高畠桂子, 後藤康夫, 神崎秀陽, 高倉賢二,
中山貴弘, 姫野隆雄, 栗栖美穂, 大西 勉,
森 崇英

[目的] Macrophage colony stimulating factor (M-CSF)は生殖系においては, 子宮内膜に存在し絨毛細胞の増殖を促進していると報告されているが, 初期胚に対する影響はいまだ明らかではない。そこで今回我々はM-CSFのマウス初期胚発生に与える影響を検討した。[方法] PMSGおよびhCGにて過排卵処理した4週令のICR系雌マウスを妊娠3日目に屠殺し卵管より8細胞期の胚を回収した。0.3%BSA加BWW液にhuman recombinant M-CSFを0, 2.5, 25, 250ng/mlの4種類の濃度で添加した培養液を作成し, 回収した胚を5%CO₂ in air 37℃の条件下に培養した。培養後22時間に4,5 ³[H] Leucineを1.85MB/mlの濃度で加え, 2時間後に³[H]の取り込み量を測定した。また同様の方法で³[H]-Thymidine取り込みに与えるM-CSFの影響を検討した。さらに抗M-CSF抗体10μg/mlをM-CSF 0, 25, 250ng/mlとともに添加し³[H] Leucineの取り込み量を測定した。またウェスタンブロット法にてM-CSFの胚蛋白質チロシンリン酸化におよぼす影響を検討した。[成績] 1) M-CSF添加群は無添加群に比べてそれぞれ1.30倍, 1.64倍, 1.98倍と濃度依存性に4,5 ³[H] Leucineの取り込み量の増加を認めた。2) M-CSF添加群は無添加群に比べてそれぞれ1.25倍, 1.28倍, 1.52倍と濃度依存性に³[H] Thymidineの取り込み量の増加を認めた。3) 抗M-CSF抗体はM-CSFによる4,5 ³[H] Leucineの取り込み量の増加を抑制した。4) M-CSFの添加後, 蛋白質チロシンリン酸化の増強を認めた。[結論] 以上よりM-CSFは8細胞期以降の胚発生に促進的に働いていることが示唆された。

154 Interleukin-2(IL-2)およびinterleukin-6(IL-6)のラット卵巣steroidogenesisならびに排卵に対する影響について

北海道大学、同電子研細胞機能素子¹⁾

三国雅人、古田伊都子、根岸広明、牧野田 知、
小山富康¹⁾、藤本征一郎

[目的] 卵巣機能の調節因子として注目されるcytokineのうちIL-2とIL-6について, ラット卵巣のsteroidogenesisならびに排卵に対する影響を検討する。[方法] 1) DESにてprimingした幼若ラット(27日令)の顆粒膜細胞をFSH(50ng/ml)添加, 無添加で培養しIL-2, IL-6添加による48時間後のestradiol (E2,ng/ml), progesterone (P4,ng/ml)産生をRIAにて定量した。2) 独自に改良した卵巣灌流系における, PMSG投与幼若ラット(29日令)の排卵(卵子)数, E2, P4濃度の推移をLH(100ng/ml)単独添加群, LH+IL-2 (50, 100ng/ml)添加群, LH+IL-6 (50, 100ng/ml)添加群において比較した。[成績] 1) 培養顆粒膜細胞においてFSH(-)群(n=4)でE2, P4産生は殆ど見られず, FSH(+)群(n=4)ではE2は27.6±1.3(Mean±SE), P4は164.2±1.5であった。IL-2の10, 30, 100ng/ml添加(各n=4)でE2は43.5±3.4, 30.2±1.6, 33.4±0.7, P4は224.7±10.8*, 249.0±9.5**, 197.0±17.5となり, IL-6の0.3, 1, 3, 10ng/ml添加(各n=4)でE2は24.3±1.3, 17.9±1.1**, 6.8±0.8***, 0.4±0.3***, P4は178.3±9.5, 183.1±7.5, 134.1±8.4, 76.8±2.9***となった。2) 卵巣灌流ではLHは8.3±1.5(n=12)の排卵を誘発した。IL-2の添加で排卵数は8.0±2.6(n=5, 50ng/ml), 2.4±0.9*(n=7, 100ng/ml)となり, IL-6の添加では5.9±1.1(n=7, 50ng/ml), 2.3±1.4*(n=6, 100ng/ml)となった。どの群間においてもE2, P4濃度に差はなかった。(*p<0.05, **p<0.01, ***P<0.001) [結論] 1) 培養顆粒膜細胞においてIL-6はFSHによるE2, P4産生をdose-dependentに抑制した。2) IL-2 100ng/mlならびにIL-6 100ng/mlの添加は排卵期卵巣のホルモン産生には影響しないが, LHによる排卵を有意に抑制することが初めて示された。