

191 ヒト羊水中における、子宮筋細胞PGE₂産生促進物質の解析

済生会中和病院, 羽曳野病院*
足立 聡, 森本圭子*

〔目的〕羊水中には羊膜及び胎児より産生される種々の生理活性物質の存在が報告されており、胎児発育・分娩発来に密接に関与しているものと考えられる。今回我々は羊水中より、培養子宮筋細胞に対しprostaglandin(PG)E₂産生量を著明に増大させる物質の存在を確認し、その部分精製を試みた。〔方法〕子宮筋細胞培養は日本産婦人科学会倫理規定に従い閉経前良性疾患より摘出した子宮筋より行った。陣痛発来前の帝王切開症例より採取した羊水を、Heparin Sepharose, Blue sepharose さらにmonoS HR5/5を用いて分離し、培養上清中にそれぞれの分画50μlを加え、37℃にてincubationした。経時的に上清を採取し上清中に産生されたPGE₂をEIA法により定量し、同時に細胞内遊離脂肪酸濃度を高速液体クロマトグラフィーにより測定した。さらにSuperdex200及びmonoP HR5/20を用い分子量ならびに等電点を検索した。

〔成績〕1) Superdex200による分析の結果、分子量40Kdの分画を添加した細胞におけるPGE₂産生量は711.9(pg/ml)であり非添加群の99.6に対し約7倍の著明な増加を認めた。また同分画における細胞内arachidonic acid濃度は41.2(ng/mg protein)と、非添加群の246.4に対し著明な減少を認めた。2) monoPによる分析の結果、pH8.2の分画添加によるPGE₂産生量は626.2pg/mlと非添加群に比べ著明な増加を認めた。3) 本物質はBlue sepharoseに対しては吸着せず、Heparin sepharoseに対し親和性を示した(1.2M NaClにて溶出)。〔結語〕今回の検討により、羊水中には分子量40Kdの子宮筋に対してPGE₂産生を亢進させる物質が存在することを確認した。本物質は胎児・子宮筋間のクロストークに密接に関与しているものと考えられる。

192 dopamineのヒト脱落膜 prostaglandin産生刺激機構における cytosolic phospholipase A₂の役割

岡山大
近藤裕司, 岸本廉夫, 多田克彦, 柳川拓三,
新井富士美, 工藤尚文

〔目的〕我々はヒト卵膜 dopamine(DA)-receptorの存在を証明し、妊娠末期にヒト羊水中に急増するDAが卵膜における prostaglandin(PG)産生を刺激することを報告してきた。今回脱落膜PG産生へのDA-receptorの関与、および receptorを介してPG産生を制御する細胞内情報伝達物質として近年注目されているcytosolic phospholipase A₂(cPLA₂)について検討した。

〔方法〕①正期産選択的帝王切開症例より得た脱落膜をDA非添加群、DA添加群、DA+DA₁-antagonist(SCH-23390)添加群、DA+DA₂-antagonist(sulpiride)添加群に分け Krebs-ringer液中で incubateし、30分後にmedium中に放出されたPGFをRIAを用いて測定した。②脱落膜をhomogenize後 100,000×gで遠沈し、得られた上清をカットオフ値M.W.30,000の限外濾過膜を用い濃縮し酵素源とした。基質にはL-3-phosphatidylcholine, 1-stearoyl-2-[1-¹⁴C]arachidonylを用い、酵素源を加え37℃で2時間incubationの後、遊離したアラキドン酸の放射活性を測定しcPLA₂活性とした。

〔成績〕①PGF産生増加率は、DA非添加群(452.2±88.2%)に比べDA添加群(1046.1±393.4%)では有意に増加した。またDA+SCH-23390添加群(682.8±230.3%)ではDA添加群に比べ減少する傾向がみられた。DA+sulpiride添加群(628.8±195.8%)ではDA添加群に比べ、有意に減少した。②脱落膜cPLA₂活性は3.48pmol/mg protein/hであった。

〔結論〕DAはDA₂-receptorを介して脱落膜のPG産生を刺激していることを明らかにした。さらに脱落膜のcPLA₂活性を証明し、receptor-cPLA₂-PG産生系の存在が示唆された。