

417 エストロゲンの赤血球変形能改善作用の検討

広島大

坂下知久 真田光博 児玉一郎 大濱紘三

【目的】赤血球変形能(Erythrocyte Deformability:ED)は血液レオロジーを左右する主要な因子で末梢循環および臓器循環に深く関わっているが、閉経後に低下し、エストロゲン補充療法(ERT)で改善されることが報告されている。またEDは赤血球内 Ca^{2+} による膜骨格蛋白の架橋形成の促進や膜脂質組成の変化によって低下することが知られている。そこで閉経女性の赤血球を用いてEDに対する Ca^{2+} とエストロゲンの影響を検討し、さらにERT実施例における赤血球膜脂質組成の変化を調べた。【方法】閉経女性の赤血球をグルコース加HEPESリンゲル緩衝液(Ca^{2+} -free)で 37°C にて30分培養し、各種薬剤(Ca^{2+} , Ca^{2+} 拮抗剤nicardipine, 17β -estradiol)を添加した後、更に30分培養して幅 $6\mu\text{m}$ のmicrochannelの通過時間を測定し、これをEDの指標とした。またERT前後に採取した赤血球の膜リン脂質組成を薄層クロマトグラフィーを用いて分析し、組成の変化とEDとの関連性を検討した。【成績】 4.2mM Ca^{2+} 添加群の通過時間(16.5 ± 0.4 秒)は Ca^{2+} 非添加群(15.6 ± 0.2 秒)に比し有意 ($p<0.01$) な延長を示し、 Ca^{2+} (4.2mM)とnicardipine(10^{-6}M)との同時添加では 15.9 ± 0.3 秒、 Ca^{2+} (4.2mM)と 17β -estradiol(10^{-6}M)の添加では 15.6 ± 0.3 秒でいずれも非添加群の通過時間と差がなかった。またERTにより膜リン脂質組成のうちのphosphatidyl ethanolamine / phosphatidyl choline比の低下と、EDの改善が認められ、両者の関連性が示唆された。【結論】エストロゲンによるEDの改善は、赤血球内への Ca^{2+} の流入の抑制ならびに膜リン脂質組成の変化によってもたらされることが示された。

418 卵巣摘出マウスの前破骨細胞における接着分子の発現に関する研究

東京医歯大、同大学院細胞機能制御学*

高 英、森田育男*、久保田俊郎、室田誠逸*、麻生武志

【目的】我々は卵巣摘出(ovx)により破骨細胞形成が促進される培養系を開発し、昨年度の本学会にて報告した。今回この培養系を用いて、細胞接着分子leukocyte function-associated antigen-1 (LFA-1) と intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) の役割と発現に対するovxの影響について検討した。

【方法】偽手術(sham)群、ovx群、ovx後estradiol投与(ovx+E)した群のマウスより破骨細胞前駆細胞に分化する脾臓細胞を単離し、マウス骨髄細胞からクローニングした間質系細胞(TMS)と共存培養し、LFA-1とICAM-1の発現を経日的に調べた。接着分子の発現は免疫染色法にて検討し、共焦点レーザー蛍光顕微鏡を用いて定量化した。細胞の識別には、propidium iodideによる核染色法を用いた。

【結果】①LFA-1、ICAM-1の中和抗体を添加後、破骨細胞形成は有意に抑制された。②ICAM-1の発現量はLFA-1の発現とは異なり、経日的に上昇した。③破骨細胞形成促進因子である活性型ビタミン D_3 添加により、LFA-1、ICAM-1の発現量が増加した。④ovxにより最も顕著な差がみられた($p<0.01$)のは7日目のICAM-1の発現で、その蛍光強度はsham群： $2.07\pm 0.43\times 10^5$ (mean $\pm$ SE, $n=274$)、ovx群： $2.59\pm 0.41\times 10^5$ ($n=284$)、ovx+E群： $2.03\pm 0.37\times 10^5$ ($n=308$)であった。また、ICAM-1を高発現している細胞($>2.5\times 10^5$)の割合は、sham群： $28.6\pm 1.6\%$ 、ovx群： $49.2\pm 3.3\%$ 、ovx+E群： $30.4\pm 3.3\%$ であり、ovx群で有意な高値($p<0.01$)を示した。

【結論】破骨細胞形成には、前破骨細胞におけるLFA-1とICAM-1の発現が必須であった。エストロゲンの低下は前破骨細胞におけるICAM-1の発現上昇による破骨細胞の形成亢進が示唆され、閉経後の骨量低下の機序解明に繋がるものと考えられた。