

2000年2月

ポスター

409(S-333)

P-109 卵巣顆粒膜細胞の細胞増殖及びステロイド産生に与えるビスフェノールA(BPA)の影響

東京大分院、*東京大 許 繼平、松見泰宇*、堤 治、森田 豊、大須賀 穂*、広井久彦*、藤原敏博*、百枝幹雄*、矢野 哲*、武谷雄二*

【目的】ビスフェノールA(BPA)はエストロゲン作用を有する内分泌搅乱物質と考えられている。今回、顆粒膜細胞(GC)の培養系を用い、BPAの内分泌搅乱作用を細胞増殖及び分化(ステロイド産生)の観点から明らかにしようとした。【方法】Wistar系幼若雌ラットにPMSG(10IU)を腹腔内投与し、48時間後卵巣よりGCを採取し単層培養した。細胞培養にはフェノールレッド不含のDMEM/F-12培地及びチャコール処理したウシ血清を用いた。(1)GCを無血清培地にて前培養後、10%FBSを含む培地にて、BPA(1fm-100nM)を添加し24時間培養し、³H-チミジンの取り込み量を測定した。(2)GCを10%FBSを含む培地にて前培養後、BPAを添加した培養液と交換し48時間培養し、培養液中の17 β -estradiol(E2)及びprogesterone(P4)の濃度をELISA法にて測定した。(3)GCを(2)と同様に前培養後、hCG(20IU/ml)を添加し分化誘導させた黄体化GCに対しても同様に測定した。【成績】(1)³H-チミジンの取り込み量は100fMの低濃度で上昇する傾向が認められたが、100pM以上の高濃度では用量依存性に有意に抑制された。(2)培養液中のE2濃度(300pM程度)及びP4濃度(1nM程度)には有意差は認めなかった。(3)黄体化GCではGCと比べ培養液中のP4濃度の上昇(3nM程度)が認められたが、BPA添加による有意差は認めなかった。【結論】BPAは100pM以下の微量でGCの細胞増殖を促進または抑制した。この濃度はGCが産生する内因性E2の濃度以下であった。一方、100nM以上の高濃度でもGCのステロイド産生には影響を与えたかった。BPAは内分泌搅乱物質としてGCの分化に影響を与える、細胞増殖を搅乱することが示唆された。

P-110 アリルハイドロカーボン受容体(AhR)のヒト Steroidogenic acute regulatory (StAR) 遺伝子のプロモーター活性におよぼす影響

北海道大
菅原照夫、野村英司、中島亜矢子、藤本征一郎

3
ポ
日
ス
(月)
タ
ー

【目的】近年、化学合成物質による環境汚染が問題となっているが、ヒトの生殖機能におよぼす作用は詳細には明らかではない。ダイオキシンのStAR遺伝子のプロモーター活性にあたえる影響を検討し、その作用機序を明らかにすることを研究目的とした。【方法】StAR遺伝子のプロモーター領域1.3kbをpGL₂レポーター遺伝子に組み込み、マウス副腎癌細胞株Y-1に遺伝子導入し、プロモーター活性を測定した。実験①；ダイオキシン受容体であるAhRのアゴニストである β -ナフトフラボン(β -NF；0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 μ M)をY-1細胞培養液に添加し、プロモーター活性を測定した。実験②；AhRおよびAhRトランスロケーター(ARNT)を共導入するとプロモーター活性はコントロール群の1.3±0.1倍になり、 β -NF 1 μ Mを培養液中に添加するとプロモーター活性は基礎値の4.8±0.4倍に有意($p<0.05$)に増加した。AhRあるいはARNTのみを導入すると転写活性は0.91±0.3倍、0.81±0.06倍になり、プロモーター活性は抑制された。③8-Br-cAMP 1mM添加ではAhRおよびARNT遺伝子導入群と非導入群のプロモーター活性に差は認められなかった。【結論】ヒトStAR遺伝子の転写活性にダイオキシン受容体であるAhR、ARNTが関与し、 β -NFによりStAR遺伝子のプロモーター活性が高まることを初めて見出した。

P-111 子宮内膜間質細胞の脱落膜化に及ぼすglucocorticoidの作用

大分医大
松井尚彦、河野康志、中村砂登美、奈須家栄、穴井孝信、宮川勇生

【目的】子宮内膜間質細胞は様々なホルモンや成長因子により、形態的、機能的変化を遂げる。今回、子宮内膜の増殖・分化におけるglucocorticoidの役割を明らかにするために、子宮内膜間質細胞の脱落膜化に及ぼすglucocorticoidの作用についてin-vitroで検討した。

【方法】患者の同意を得て子宮筋腫摘出時に子宮内膜を採取した。組織を細切し、0.25% collagenase処理後、遠心しメッシュを通過させ間質細胞を分離、培養した。細胞がconfluentになった状態で、I群；controls、II群；medroxyprogesterone(MPA)(100nM)+db-cAMP(0.5mM)、III群；dexamethasone(DEX)(100nM)+db-cAMP(0.5mM)を48時間毎に添加し脱落膜化を誘導した。培養上清を回収し、prolactin(PRL)をELISAで測定した。

【成績】I群ではPRL産生は認められなかったが、II群、III群ではcontrolsと比較して時間とともにPRL産生の増加が認められた。[I群：Day7；0.2±0.1ng/ml, Day14；0.2±0.1ng/ml, II群：Day7；78.1±18ng/ml, Day14；194±5.5ng/ml, III群：Day7；52.5±8.8ng/ml, Day14；188±6.1ng/ml]。

【結論】Progesterone receptorとglucocorticoid receptorはその構造が類似している事が明らかにされており、DEXすなわちglucocorticoidには、MPAと同様に子宮内膜間質細胞の脱落膜化を促進する作用がある事が明らかになった。Glucocorticoidは受精卵の着床に影響を与えていたとされているが、その作用は、抗炎症あるいは抗免疫作用だけでなく、脱落膜化促進作用も関与している可能性が示唆された。