

**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 継平、松見泰宇\*、堤 治、森田 豊、大須賀 稯\*、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攪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 の内分泌攪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、 $^3\text{H}$ -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  $17\beta$ -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) $^3\text{H}$ -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なかった。BPA は内分泌攪乱物質として GC の分化に影響を与えず、細胞増殖を攪乱することが示唆された。

**P-110** アリルヒ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

【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  $\beta$ -ナフトフラボン( $\beta$ -NF; 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0  $\mu\text{M}$ )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)を強制発現させ、プロモーター活性を測定した。実験③； $\beta$ -NF あるいは 8-Br-cAMP を培養液中に添加し、プロモーター活性を比較した。【成績】①StAR 遺伝子プロモーター活性は 1  $\mu\text{M}$  の  $\beta$ -NF 添加で最大となり、基礎値の  $3.1 \pm 0.6$  (mean  $\pm$  SE)倍に有意( $p < 0.05$ )に増加し、2.0, 4.0  $\mu\text{M}$  ではプロモーター活性の増加率( $2.4 \pm 0.6$ ,  $1.2 \pm 0.4$ )は低下した。②AhR および 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  $1.3 \pm 0.1$  倍になり、 $\beta$ -NF 1  $\mu\text{M}$  を培養液中に添加するとプロモーター活性は基礎値の  $4.8 \pm 0.4$  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  $0.91 \pm 0.3$  倍、 $0.81 \pm 0.06$  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、 $\beta$ -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;  $0.2 \pm 0.1\text{ng/ml}$ , Day14;  $0.2 \pm 0.1\text{ng/ml}$ , II 群: Day7;  $78.1 \pm 18\text{ng/ml}$ , Day14;  $194 \pm 5.5\text{ng/ml}$ , III 群: Day7;  $52.5 \pm 8.8\text{ng/ml}$ , Day14;  $188 \pm 6.1\text{ng/ml}$ ]。

【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るとされているが、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。