

免疫蛍抗体法によるエストロゲンの検出

守 隆夫(東大・理・動物), 鈴木賢英(亜細亜大・教養・生物), 新井康允, 宮川桃子, 水上志津子(順天堂大・医・解剖)

Immunofluorescent analysis of intracellular localization of estrogen

TAKAO MORI, YOSHIHIDE SUZUKI, YASUMASA ARAI, MOMOKO MIYAKAWA, SHIZUKO MIZUKAMI

細胞内へのステロイドホルモンの取込みを組織学的に検出するには, 標識ステロイドを投与して autoradiography を作製する方法があるが, 放射性物質を使用するための実験上の制約や, 技術的な難しさ, 長い露出時間などの短所から手軽に行なうことが出来ない。しかし最近, 免疫蛍抗体によるステロイドホルモンの検出法が開発され, 簡単に短時間で結果を見ることが可能になり, 内分泌系に関連したガン細胞のホルモン受容体の有無を調べるため, 臨床面で利用する試みが始まった。我々はエストラジオール (E_2) の標的器官であるマウスの膣を用いて, この方法が通常の実験の中で使用可能かを検討した。今回は二つの方法を比較検討した。第一の方法は E_2 を取込ませた膣を凍結切片にして, E_2 抗体である抗 E_2 -6-BSA 家兎血清 (Miles 社, 5 倍稀釈) と incubate (4°C , 1 時間) した後, FITC (fluorescein isothiocyanate) 標識抗家兎 IgG 羊血清 (Miles 社, 25 倍稀釈) と反応 (4°C , 30 分) させた。第二の方法は E_2 処理されていない膣の凍結切片を E_2 -6-BSA (帝国臓器製薬, 10^{-8} ~ 10^{-4}M 濃度) で incubate (4°C , 1 時間) した後, FITC 標識抗 BSA 羊血清 (Miles 社, 25 倍稀釈) と反応 (4°C , 30 分) させた。結果はグリセリンで封入後蛍光顕微鏡で観察した。蛍光は膣全体にわたって見られ, 特に上皮組織が他の組織に比べて強く光った。抗 E_2 あるいは E_2 -6-BSA 処理をせず, FITC のみで incubate しても蛍光は見られないし, 阻害実験として高濃度の DES で前処理すれば蛍光が著しく減弱することから, この蛍光は E_2 に特異的なものと考えられる。以上のことから, 蛍光抗体によるエストロゲンの検出は動物実験にも使用出来る有用な方法であると思われる。

魚類の下垂体中葉細胞の免疫細胞化学

内藤延子, 中井康光(昭和大・医・解剖), 高橋明義, 川内浩司(北里大・水産)

Immunocytochemical study on the pars intermedia of fish pituitary

NOBUKO NAITO, YASUMITSU NAKAI, AKIYOSHI TAKAHASHI, HIROSHI KAWAUCHI

目的: シロサケ下垂体の ACTH 前駆ホルモン (プロオピオコルチン: Pro-OPCO) に関して, 川内らはシロサケ Pro-OPCO 関連ホルモンを系統的に検索し, 主要な構造区分をなすペプチドを単離し構造を決定している。そこで今回は, シロサケ Pro-OPCO の N 端ペプチド (NPP-I) およびエンドルフィン (EP-II) の抗体を用いて, 免疫細胞化学的にシロサケ下垂体におけるこれらペプチドホルモンの産生細胞を同定し, シロサケ Pro-OPCO 産生細胞について検討した。同時に, 系統発生的見地から, 種々の魚類, 両生類, 哺乳類の下垂体における上記抗体との免疫交叉性についても検討した。

結果: そ上期のシロサケ下垂体において, NPP-I 抗体は前葉 ACTH および中葉の鉛ヘマトキシリン (Pb-H) 陽性細胞と, また EP-II 抗体は中葉の Pb-H 陽性細胞とのみ特異的に反応した。従って, NPP-I と EP-II が同時に存在している中葉 Pb-H 陽性細胞では, Pro-OPCO が生産されていると考えられる。また ACTH 細胞についても NPP-I の存在することにより Pro-OPCO 産生細胞である可能性が示唆された。今回用いた EP-II 抗体は Met-エンケファリンおよび h- β -LPH とは交叉しないことが RIA で確認されているので, ACTH 細胞がこの抗体と反応しなかったのは Pro-OPCO のプロセッシングが中葉とは異なり, C 端ペプチドが EP-II でなく, β -LPH であるためと考えられる。また上記 2 抗体を用いた免疫染色において, 13 種の魚類の下垂体でシロサケ下垂体と同様の結果が得られ, 魚類下垂体での Pro-OPCO 産生が広く支持された。更に, 上記 2 抗体はトノサマガエル, マウス, ラットの下垂体についてもシロサケと同様の免疫交叉性を示した。