



Title	Bihormonal Cells Secreting Both Prolactin and Gonadotropins in Normal Rat Pituitary Cells
Author(s)	深見, 和之
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41104
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	深見和之
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 14098 号
学位授与年月日	平成 10 年 7 月 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Bihormonal Cells Secreting Both Prolactin and Gonadotropins in Normal Rat Pituitary Cells (正常ラット下垂体のプロラクチンとゴナドトロピンの両ホルモンを分泌する細胞の存在)
論文審査委員	(主査) 教授 村田 雄二 (副査) 教授 遠山 正彌 教授 奥山 明彦

論文内容の要旨

(目的)

“1細胞1ホルモン”説が提唱されて半世紀以上になるが、近年プロラクチン (PRL) と成長ホルモン (GH) が共存する細胞の存在、黄体化ホルモン (LH) と卵胞刺激ホルモン (FSH) が共存する細胞の存在が免疫組織化学で明らかとなり、“1細胞1ホルモン”説は修正を迫られている。

性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) が LH, FSH だけでなく PRL の分泌を刺激し、LH の分泌が PRL の分泌と同期することはよく知られているが、GnRH がプロラクチン分泌細胞にどのように作用しているかは不明である。一方、ヒトのプロラクチン産生下垂体腺腫の細胞に対して GnRH が直接作用をすることや GnRH レセプターの存在することが報告されている。さらに PRL 細胞と関連の深い GH 細胞で、GnRH に反応する細胞がラット下垂体に存在することも報告されている。

我々の実験でも細胞内カルシウム濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の反応を見ることにより GnRH と甲状腺ホルモン刺激ホルモン (TRH) の両視床下部ホルモンに反応するラット下垂体細胞の存在することを確認した。

以上のことを背景として、本研究では PRL と LH または PRL と FSH の両ホルモンを分泌する細胞の存在を個々の細胞を検討することにより明らかにしようとした。

(方法)

(1) Sandwich Cell Immunoblot Assay (CIBA), (2) Reverse Hemolytic Plaque Assay (RHPA) と Immunocytochemistry (ICC), (3) RHPA と $[Ca^{2+}]_i$ 測定, 以上 3 つの方法によった。

下垂体細胞は 180 g から 200 g の雌ウイスターラット下垂体より単離細胞を得た。

(1) Sandwich CIBA

一枚の転写膜の上に少量の下垂体細胞懸濁液を置き、この上にさらにもう一枚の転写膜をかぶせ、位置決定のための目印をつけ、下垂体細胞懸濁液をサンドイッチにした状態で培養した。培養終了後、二枚の転写膜を離し、一方の

転写膜を抗 PRL 抗体で染色し、他方の転写膜を抗 LH β 抗体または抗 FSH β 抗体で染色した。これらの転写膜は鏡面像をつくるがこれらを写真にとり位置決定用の目印を参照にして、同位置のプロット像により分泌細胞を同定した。

(2) RHPA と ICC

プロテイン A のついたヒツジ赤血球と下垂体細胞懸濁液を混和したうえ、30 μ l のカニンガムチャンバーに注入し 1 層に培養した。抗ラット PRL 抗体を加え培養した後モルモット補体を加え培養し、ザンボニ液で固定した。PRL がプロテイン A を介してヒツジ赤血球に固定されている抗 PRL 抗体に結合すると補体存在下でこの赤血球の溶血がおき、PRL 分泌細胞周辺に溶血斑が形成される。24 時間固定の後、抗 LH β 抗体または抗 FSH β 抗体を用いて免疫染色を行った。溶血斑を形成し、同時に染色された細胞を PRL を分泌しかつ LH または FSH をもつ細胞とした。

(3) RHPA と [Ca²⁺]_i 測定

[Ca²⁺]_i は細胞内に取り込ませた fura-2 の蛍光強度を計測することで得られることから、RHPA で溶血斑を形成した PRL 分泌細胞に引き続き fura-2 を取り込ませ、GnRH および TRH を順次加え、[Ca²⁺]_i の上昇を計測することで両放出ホルモンに対する PRL 分泌細胞の反応を検討した。

(成績)

(1) Sandwich CIBA

3 回の実験で、119 個の LH 分泌細胞、135 個の FSH 分泌細胞、708 個の PRL 分泌細胞について調べた。

- ① PRL 分泌細胞のうち LH も分泌する細胞は 6.23% 認めた。
- ② PRL 分泌細胞のうち FSH も分泌する細胞は 5.91% 認めた。
- ③ LH 分泌細胞のうち PRL も分泌する細胞は 18.4% 認めた。
- ④ FSH 分泌細胞のうち PRL も分泌する細胞は 15.5% 認めた。

(2) RHPA と ICC

3 回の実験で、908 個の下垂体細胞について調べた。

- ① LH をもつ PRL 分泌細胞は 4.43% 認めた。
- ② FSH をもつ PRL 分泌細胞は 2.40% 認めた。

(3) RHPA と [Ca²⁺]_i 測定

RHPA により検出した 32 個の PRL 分泌細胞について GnRH と TRH に対する [Ca²⁺]_i の反応性をみた。

- ① TRH に反応した細胞は 28 個。
- ② GnRH に反応した細胞は 2 個。
- ③ GnRH に反応した細胞は 2 個とも TRH にも反応した。

(総括) 上記の結果から以下の結論が得られた。

正常ラット下垂体には、PRL と LH または PRL と FSH を分泌する細胞の存在することが示された。

論文審査の結果の要旨

下垂体の“1 細胞 1 ホルモン”説が提唱されて半世紀以上になるが、近年プロラクチン (PRL) と成長ホルモン (GH) が共存する細胞の存在、黄体化ホルモン (LH) と卵胞刺激ホルモン (FSH) が共存する細胞の存在が免疫組織化学で

明らかとなり、“1細胞1ホルモン説”は修正を迫られている。さらに、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) が LH, FSH だけでなく PRL の分泌を刺激する,あるいは, GnRH と甲状腺ホルモン刺激ホルモン (TRH) の両視床下部ホルモンに反応する細胞が存在するなどのことが報告されている。以上のことを背景として,本論文では PRL と LH または PRL と FSH の両ホルモンを分泌する細胞の存在することを単一細胞を検討することにより明らかにした。この知見は本論文において初めて明らかにされたものであり,学位の授与に値すると考えられる。