OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 57 】

氏名	深見和之（ふかみかずゆき）
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LHβ抗体または抗FSHβ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，同位置のブ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 μl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LHβ抗体または抗FSHβ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 $[Ca^{2+}]i$ 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。

①PRL分泌細胞のうちLHも分泌する細胞は6.23%認めた。

②PRL分泌細胞のうちFSHも分泌する細胞は5.91%認めた。

③LH分泌細胞のうちPRLも分泌する細胞は18.4%認めた。

④FSH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。

①LHをもつPRL分泌細胞は4.43%認めた。

②FSHをもつPRL分泌細胞は2.40%認めた。

(3) RHPAと $[Ca^{2+}]i$ 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 $[Ca^{2+}]i$ の反応性をみた。

①TRHに反応した細胞は28個。

②GnRHに反応した細胞は2個。

③GnRH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。