

宿 輪 恵 子 論 文 内 容 の 要 旨

主 論 文

Diethylstilbestrol increases the density of prolactin cells in male mouse pituitary by inducing proliferation of prolactin cells and transdifferentiation of gonadotropic cells

ジエチルスチルベストロールによる雄マウス下垂体プロラクチン細胞の増殖誘導並びに性腺刺激ホルモン細胞の分化誘導によるプロラクチン細胞密度の増大

宿輪 恵子、和泉 伸一、菱川 善隆、江島 邦彰、井上 聡、
村松 正實、大内 尉義、北岡 隆、小路 武彦

Histochemistry and Cell Biology, 2006 年 掲載予定

長崎大学大学院医学研究科 新興感染症病態制御学系専攻
(指導教授：小路 武彦 教授)

緒 言

ジエチルスチルベストロール (DES) は、強力なエストロゲン様作用を持つ内分泌攪乱化学物質であり、生殖器官に多様な異常を引き起こすことが報告されている。下垂体では、DES によりプロラクチン (PRL) 細胞の過形成や腫瘍が引き起こされるが、その詳細な作用機構は不明である。エストロゲンは、エストロゲン受容体 (ER α 及び ER β) を介して、下垂体の PRL、卵胞刺激ホルモン (FSH)、黄体形成ホルモン (LH) のホルモン発現に効果を及ぼす。特に、PRL に対して、エストロゲンは、ホルモン産生及び細胞増殖を促進することが知られている。一方、PRL 遺伝子の発現は、pituitary-specific transcription factor (Pit-1) による調節も受けている。Pit-1 は、PRL 細胞、成長ホルモン (GH) 細胞、甲状腺刺激ホルモン (TSH) 細胞の分化を促進する。本研究では、マウス下垂体における DES の PRL 細胞動態への影響と ER 及び Pit-1 発現の関与について検討した。

対象と方法

6 週齢の雄性野生型マウス (ICR, C57BL/6J) と ER α ノックアウトマウス (ER α KO) (C57BL/6J) に、DES (1 ng-20 mg/kg 体重) または対照として溶媒 (Corn oil) のみを 5 日おきに皮下投与し、20 日目に下垂体を採取した。4%パラホルムアルデヒドにて固定後、パラフィン包埋組織切片を作成し、PRL、FSH、LH と ER α 、ER β の発現状態を免疫組織化学的に検討した。また、DES 投与時の下垂体の細胞動態を経時的に見るために、DES (20 mg/kg 体重) または溶媒のみを投与した野生型マウス (ICR) の下垂体を、0 日目、5 日目、10 日目、15 日目、20 日目に採取し、PRL、FSH、LH、

GH、TSH の陽性細胞密度を免疫組織化学的に検討した。さらに、細胞増殖の指標としての Ki-67 の発現と、細胞分化状態の指標としての Pit-1 の発現を、それぞれ免疫組織化学及びサウスウェスタン組織化学により検討した。

結 果

- 1) 野生型マウスの下垂体前葉では、FSH 及び LH の陽性細胞密度は DES 投与量依存的に減少したが、PRL 陽性細胞密度は逆に増加した ($p < 0.05$)。
- 2) PRL 陽性細胞に於いて、正常では ER α のみ陽性細胞が 80% であったが、DES 投与により ER α 及び β の両者陽性の細胞が 36%、ER β のみ陽性細胞が 20% に増加した。さらに、前葉細胞に於いて、ER β 陽性細胞の 90% が PRL 陽性細胞であった。
- 3) ER α KO では、DES 投与による PRL、FSH、LH 及び ER β の陽性細胞密度の変化はなかった。
- 4) 野生型マウスの PRL 陽性細胞における Ki-67 陽性細胞は、0 日目に 1% であったが、DES 投与後 10-15 日目で 16% に増加した。PRL 陽性細胞における Pit-1 陽性細胞は、0 日目に 17% であったが、5-15 日目で 33-77% に増加した。
- 5) GH 及び TSH の陽性細胞密度は、DES 投与により変化しなかった。
- 6) 性腺刺激ホルモン (GTH) 陽性細胞に於いて、0 日目では Pit-1 陰性で、PRL との共発現は見られなかったが、DES 投与後 5-10 日目では、GTH 陽性細胞の 32% が Pit-1 陽性で、26% が PRL を共発現していた。
- 7) PRL を共発現する GH 陽性細胞は、0 日目に 2% のみで、DES 投与により変化しなかった。

考 察

本研究では、DES による野生型マウス下垂体の PRL 陽性細胞密度の増大と ER β 発現の誘導が見られたが、DES の効果は ER α KO では消失していた。そのため、DES は、PRL、FSH、LH 発現に対して、主に ER α を介して作用すると考えられたが、PRL 細胞密度の増加には ER β の関与が示唆された。また、PRL 陽性細胞における Ki-67 陽性細胞の増加により、DES による PRL 細胞の増殖誘導が示唆された。さらに、GTH 陽性細胞の一部が DES 投与により Pit-1 陽性となり、PRL を共発現していたこと、及び同じ前駆細胞を持つ PRL と GH の共発現をほとんど認めなかったことから、GTH 細胞から PRL 細胞への分化 (transdifferentiation) の誘導が示唆された。以上により、DES による下垂体の PRL 細胞密度の増大は、PRL 細胞の増殖と、GTH 細胞から PRL 細胞への分化の誘導によると考えられた。本研究により、DES による PRL 細胞動態への影響が明らかになると共に、下垂体プロラクチン産生腫瘍の機構解明及び治療戦略に新たな展開が期待される。