

で個々の脳細胞に薬物を投与しうることを明らかにする目的で実験を行なった。

体重200~250g の雌のウイスターラットを用い実験の3~5週前に去勢した。ウレタン (1.2g/kg) 麻酔下で定位固定し、多連微小電極法にてエストロゲン (結合型) などを単一脳細胞に投与した。微小電気泳動法による投与量は定電流装置により常に一定に保たれる。脳細胞の活動は視覚聴覚的に示され興奮頻度は自動的に記録される。外側0.5mm の矢状面にて145個の間脳や大脳皮質の脳細胞を検索した。視床や大脳皮質では効果がなかった。16個の脳細胞がエストロゲンに反応しすべて抑制を示した。潜時は3~20秒であり効果は投与後10~50秒続いた。その分布域は、外側中隔核・采中隔核・内側視索前核および前核の前部であつた。さきほど雄ラットにおいてエストロゲン抑制細胞を報告した基底内側部には感受性細胞を検出できなかった。また静注による興奮反応も報告されているが、これらは反応性の性差や脱抑制によると思われる。

他方直視下での薬物投与方法では、モルモットの小脳を80 μ m の厚さで薄切片顕微鏡下で微小電極により脳内アミノ酸をプルキンエ細胞に直接投与した。GABA やグリシンは細胞体全周・主樹状突起表面および樹状突起の存在範囲内の分子層に作用し活動を抑制した。灌流液中に溶解したピクロトキシン (5.0mg/l) は両者の、また硝酸ストリキニン (0.2mg/l) はグリシンの作用を阻害し、後者は50ml/l 中でも GABA を阻害しえなかった。故に直視下にてホルモン投与は可能であり、更に血液の代わりに灌流液の性状を変化させ薬物相互の影響を調べることも可能と思われる。

質問 (鹿児島大) 池田 友信

脳血管関門を通過できないノルアドレナリンなども投与可能と思うが、本法で投与可能な薬剤の性状に条件はないですか。

答弁 (金沢大) 山田 靖幸

一般にアミノ酸は水に溶け易く、微小電極法には使いやすい物質の一つである。実際に、今回の報告でエストロゲン感受性脳細胞が同時にグルタミン酸によつて強く興奮しております。切片中の直視下での方法においてもグルタミン酸は細胞体全周囲および樹状突起全域に作用し興奮を起こさせます。上記2つの結果はそれぞれ外国誌に発表致しました。血液脳関門を通過しにくい同様のノルアドレナリンも微小電極にて投与可能であり、視床下部細胞に作用させその影響を我々は以前に報告致しまし

た。多分、水に溶けにくい物質に対しては、直視下法の灌流液中に懸濁させるなど、またプロスタグランディンに対してはトリスに混ぜ微小電極より投与することが可能でした。

128. 下垂体性ゴナドトロピン放出に関する性ステロイドホルモンの直接作用

(独協医大)

加藤 廣英, 堀口 文, 中川 国四

今村 久好, 大谷 博, 橋口 精範

目的: GRF による下垂体性 gonadotropin の放出は生体内では各種 gonadal steroids により modify されている。この feed back 機構を介さずに両者の相関を直接、下垂体細胞の monolayer cell culture によつて検索した。

方法: Wistar 系雌ラットの下垂体前葉を用い、培養細胞数は 4×10^5 cells/m である。投与量は LH-RH: 250ng/ml 10^{-8} M, Estradiol (E_2): 2.72ng/ml 10^{-8} M, Progesterone (PRG): 3.14ng/ml 10^{-8} M, Testosterone (T): 2.88ng/ml 10^{-8} M であり、これをA群、3倍量をB群とした。LH と FSH の定量は NIAMD の RIA kit によつた。(1) 培養細胞の LH, FSH 分泌減衰曲線、(2) LH-RH 長期投与時の培養細胞数と LH, FSH 濃度、(3) LH-RH 投与時に及ぼす E_2 , PRG あるいはTをA群、B群で負荷した場合の LH, FSH分泌効果につき測定した。

結果: (1) LH は培養約18日 (196.3 ± 16) mg/ml, FSH は約12日 (144.4 ± 12) ng/ml でそれぞれ plateau となる。(2) 培養細胞数と LH, FSH 分泌量の間には少なくとも平均関係はみられない。(3) LH-RH により LH 分泌は3日間は著明な peak を示すが、以後減少した。FSH は寧ろ上昇傾向を示した。1) 合成 LH-RH は LH と FSH の両者の分泌を促進した。2) gonadal steroids は LH-RH に反応した LH および FSH の分泌に対してそれぞれ異つた反応を示した。即ち LH 反応は E_2 および PRG では negative effect があり特にB群で著明である。TはA群については、著明な抑制効果がみられなかったが、B群では抑制された。

FSH 反応は、TはA群で basal FSH を増加させ positive effect を示した。但しB群では逆に有意に抑制された。3) basal LH, FSH に対して、 E_2 とTの単独反応は類似性のあることが認められた。

質問 (群馬大) 五十嵐正雄

1. E_2 その他のステロイド濃度の変化により RH に

対する下垂体の反応は異なりますが、先生の実験では各種の濃度を用いて検討されましたか。

2. 若し1種類の濃度だけで実験されたとすればその濃度をえられた根拠をお教え下さい。

答弁 (独協医大) 加藤 広英

培養下垂体は *in vivo* の状態と異なり、極めて sensitivity の高い状態にあります。従つて高濃度を用いることは好ましくなく、この濃度の問題は極めて大切であります。私は、Gay や Barraclough の *deta* からラットの *physicalisch* の血中濃度値の Estradiol 2.72ng/ml, Progesterone 3.14ng/ml それに Testosterone 2.88ng/ml を用いそれを A 群としその他にそれらの3倍量を B 群として、assay しました。

3倍量を用いたときの cell の状態は特に β cell と思われるものでは (D, D しにくくなる) 細胞の変形、膨大がみられ cell transformation が生じ、恐らく endopolyploidy も生じているのではないかと考えられます。即ち、添加 Estrogen には限度があるという考えています。

質問 (鹿児島大) 池田 友信

培養実験で用いる E_2 や T, PROG などの濃度は生理的条件下で作用しうる濃度と大きく違い違いますが、濃度の決定に際して何か根拠がありますか。

答弁 (独協医大) 加藤 広美

添加 E_2 の量につきまして、特に生理的血中濃度値を選んだ理由は Loretta や Tang が一応提唱していることを参考にした。

今回は LH-RH 250ng/ml $10^{-8}M$ を用い、これは higher dose であり寧ろ、LH discharge としては十分な plateau にしておいて、 E_2 を添加した。

質問 (自治医大) 荒木 重雄

最近、前葉細胞の cell culture においてエストロゲンを投与すると positive feedback effect を認めたという報告がありますが、先生の実験ではいかがですか。

答弁 (独協医大) 加藤 広英

E_2 による positive feedback effect は、 E_2 の添加量によつて変わりました。発表にもふれておきましたが、 E_2 2.72ng/ml $10^{-8}M$ の添加時には LH について、特に positive effect を認めています。3倍 B 群では抑制効果となります。

129. ヒト下垂体性 Gonadotropin Release に要する Estrogen の濃度と作用時間についてヒトにおける明らかな Positive Feedback Effect の証明

(自治医大) 水上 尚典, 荒木 重雄

小沼 誠一, 玉田 太朗

目的: Estrogen (E) が下垂体からの Gonadotropin (G) 放出を促進するということは周知の事実である。しかしヒトにおいては実験手技の困難さから G 放出に要する E の Strength-duration relationship を明らかにした報告はない。私どもは、Estradiol (E_2) を長期間持続静注しほぼ生理的レベルに維持し、G 放出に要する E のパターンを検討した。

方法: ① 卵胞期初期の婦人15名に36~66時間にわたり E_2 を250~100 μ g/24hrs の速度で静注し、3時間毎に採血し plasma E_2 LH 及び FSH を測定した。② 各種ホルモンは全て radioimmunoassay で測定した。

結果: ① plasma E_2 レベルが150pg/ml 以上に達すると速やかに G レベルは低下した。② plasma E_2 を300~700pg/ml に維持し、36~48時間で注入を中止すると6時間後には100pg/ml 以下に低下した。③ 注入中止後12時間で plasma LH は control 値のほぼ5倍 (40~60miu/ml) に達するピークをつくり18時間後にはやや低下した。④ E_2 を500pg/ml 以上に66時間維持すると E_2 が高値にもかかわらず54時間以後に前者と同様な LH ピークが出現し12時間持続した。

創点: ① ヒトにおいてを長時間生理的レベルに維持し、二つの G 放出の機序を明らかにした。② ヒトにおいて E の消退を伴わない本来の positive feedback effect のあることを実験的に証明しそれを詳細に検討した。

質問 (大阪成人病センター) 三宅 侃

卵胞期の時期により、 E_2 に対する反応が、違うのは、どういうメカニズムによるのでしょうか?

答弁

pituitary の responses のちがい。

質問 (横浜市立大) 植村 次雄

E_2 持続静注し、同じ血中 E_2 レベルにした際の LH peak の出現の状態は月経周期で違うのか、それはどのように考えればよいのか。

またその際の他のステロイドホルモンレベルを測定しておられたらお教え下さい。

答弁

Ed の priming の duration が重要と思われる。

質問 (金沢大) 山本 博

Est. 持続 DI 時の、Gonadotropin-RH に対する pituitary の態度はどうでしたか。お教え下さい。