

目をピークに下降している。そこで E_2 receptor に親和性のある clomiphene citrate を用い HCG 200iu 投与後のウサギに clomiphene citrate 400 μ g を同時投与し(毎日一定時刻に皮下注) cytosol と核での E_2 receptor 量と血中 E_2 , P 量の変動を比較した。clomiphene 投与により, Cytosol と核での E_2 receptor 量, 血中 E_2 , P 量は HCG 単独投与群に比し, 明らかに減少していた。特に Cytosol での E_2 receptor 量は, HCG 単独投与群に比し早期にピークを形成し減少していくのがみられた。

以上により黄体機能の維持には estrogen receptor が関与し, 抗エストロゲン剤である clomiphene citrate は E_2 receptor と結合し, estrogen の働きを阻害することにより luteolysis を起こすと考えられた。

質問 (関西医大) 余語 郁夫

私共はクロミッドの黄体に対する作用を, 直接作用とともに中枢を介した作用経路も考えているが, これに対する御意見, 御成績がありましたらお教え下さい。

答弁 (国立舞鶴病院) 大野 洋介

中枢を介して clomid の作用をまったく無視することはできません。今回の実験におきましては中枢を介しての clomid の作用は検討しておりません。

143. 高度に純化された子宮細胞質 progesterone receptor の性格について

(京都府立医大)

朴 震光, 玉舎 輝彦, 二岡 清昇

古田 典夫, 志村 達興, 岡田 弘二

progesteron の効果発現の第1段階は子宮組織細胞質に存在する progesterone receptor と結合体をつくらなければならない。これまで, この receptor はかなり crude な状態で検討が進められているが, 真の receptor の性格を知るためには, 純化した receptor について検討しなければならない。そこで, 本実験では先ずその純化の方法を検討し, 純化した receptor について種の性質を検討した。方法として, estrogen で priming したウサギ子宮をホモゲナイズし, この248,800 \times G上清を cytosol とし, これを硫酸塩析, 沈殿物再溶解, 蔗糖密度勾配遠心法, DEAE-cellulose column chromatography によりウサギ子宮 progesterone receptor を純化し, その性質, 凍結保存による安定性, steroid 特異性などを検討した。

成績として, progesterone receptor は硫酸塩析により

子宮 cytosol から CBG を容易に分離しうることを, これを -20°C で凍結, 10日間保存しても安定である。またこの濃縮された progesterone receptor は5~20%蔗糖密度勾配では6~5 S 付近の結合形となり, 0.3MKCl 存在下では5 S 付近の結合形となる。DEAE cellulose chromatography では0~0.3M KCl の間で分画される2種類の蛋白に分かれた。これらのことより, ウサギ子宮 cytosol の progesterone receptor は2つの subunits から成ると考えうる。また純化した receptor は crude cytosol よりも steroid 特異性が明らかであつた。ただ, 硫酸塩析で純化された progesterone receptor は8 S へ aggregate する能力は失つていた。

まとめ

ウサギ子宮, homogenate より progesterone receptor の純化を試み, 凍結により安定化しうることを, 2つの subunits に分かれることを明らかにし, またそのいくつかの性質について検討した。

質問 (都立墨田産院) 沼田 正広

1. 純化したものは何倍位 Steroid 特異性が増加しましたか?

2. 硫酸塩析後再溶解したものは8 S より(6~7 S) 軽くなることについてどのようにお考えですか?

答弁 (京都府立医大) 朴 震光

1) 今回定量的に specific activity 測定はおこなわれていませんので, 数的な倍数は今後裏付けたいと思います。

2) 定見はありませんが, 硫酸により分子生物学的性質が変性をうけていると思われまます。

144. ヒト黄体に対する hCG のルテオトロピン作用と prostaglandin (PG) $F_{2\alpha}$ の作用

(神戸大)

北浦 豊, 郭 英富, 土橋 俊明

福西 秀信, 仲野 良介, 東条 伸平

目的: ヒト黄体に及ぼす hCG と $\text{PGF}_{2\alpha}$ の影響を臓器レベルから in vitro で追求した。

方法: 手術によつて得た子宮・卵管・卵巣ユニットのうち黄体を内包するユニットの灌流を行つた。 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 500 μ g の単回注入, あるいは200 μ g を点滴注入し, その後 hCG 3000IU の単回注入を行い, 灌流液中の progesteron (P), 20α -OH-progesterone (20α -OH-P) を radioimmunoassay にて測定すると共に, 黄体の一部を経時的に採取し steroidogenesis に関する酵素組織化学

的検討を加え、併せて ^3H -uridine (^3H -U), ^3H -leucine (^3H -L) の取り込みを flash labeling による autoradiogram を作製し観察した。

成績：(1) hCG 投与により灌流液中の P 濃度の速やかな上昇、及び ^3H -U, ^3H -L の黄体細胞内への取り込み増加がみられたが酵素活性に著変はなかつた。(2) $\text{PGF}_2\alpha$ 投与では P, $20\alpha\text{-OH-P}$ 濃度には大きな変動がなく、酵素活性や黄体細胞内への ^3H -U, ^3H -L の取り込みにも著差を見なかつた。以上のことから、hCG はルテオトロピン作用を示したのに対し、ヒト黄体は使用する量の $\text{pGF}_2\alpha$ には無反応であつた。

独創点：ヒト黄体機能に対する $\text{PGF}_2\alpha$ の作用に関しては定説が見られない。in vivo では $\text{PGF}_2\alpha$ は肺、肝等の臓器で急速に代謝されることがその一因であるが、その隘路を解決するため in vitro の灌流実験を行い、臓器レベルでのヒト黄体に対する $\text{PGF}_2\alpha$ の作用を検討し、hCG のそれと比較した。

質問 (関西医大) 余語 郁夫

実験に用いられた黄体はどのような時期のものでしょうか。

$\text{PGF}_2\alpha$ の黄体に対する Optimal dosis は比較的狭いようにも思いますが、dosis を変えては検討されませんでしたか。

答弁 (神戸大) 北浦 豊

1. 今回の実験に用いたユニットの黄体の時期は全て同一の時期のものではありません。

2. $\text{PGF}_2\alpha$ の dosis については、現在、検討中であり、更に実験をすすめてゆく予定であります。

質問 (九州大) 楠田 雅彦

貴教室独自のユニークな研究方法に敬意を表しますが、このユニットにおける黄体細胞の機能は完全に in vivo の条件と同一と考えて良いのでしょうか？時間的因子の介入は如何でしょうか？

答弁 (神戸大) 北浦 豊

個々の症例による手術時の条件の皮頭及び卵巣への血液供給路としての A, ovarica は実験上用いる事ができない点では、完全に in vivo と同一条件下にあるとは言えないと考えますが、少なくとも、子宮動脈よりの血液が充分卵巣を環流している事は、個々の灌流実験の開始前に確認しております。

また時間的因子としては、摘出後可及的速やかに実験を開始しており、およそ10分~20分で set up できる状態であります。

質問

(九州大) 楠田 雅彦

私がお尋ねした時間的因子とは、灌流を開始してから何時間位 in vivo としての条件を維持できるのかという質問です。

答弁

(神戸大) 北浦 豊

黄体細胞の機能を時間的因子による影響という面からは検討しておりませんが、このユニットにおける各種の代謝面においては、少くとも3時間以上、ユニットとしての viability は保たれておると考えています。

黄体を持たないユニットとしては、排卵前の卵巣を持つたもの、卵巣のないもの、及び閉経期のユニットなどを考えればよいと思いますが、それらのユニット灌流で hCG による prog の著明な上昇は見られませんでした。

もちろんユニット灌流ですから、灌流液中の変化が必ずしも黄体への作用の結果を示しているとは考えませんが、prog については、その分泌原を考えれば hCG が黄体に作用した結果として考えてよいと思います。

答弁

(神戸大) 福西 秀信

コントロール実験として、只今お示ししました黄体を内包するユニットのほか、黄体のないもの、卵巣を含まないものの検討も行つており、その結果 hCG に対しては黄体を内包するユニットにみられたような dramatic な Progesterone の増加をみていない。

145. ラット 妊娠黄体 steroidogenesis に対する clomiphene citrate の作用

(京都大)

麻生 武志, 岡村 均, 森川 博史
本橋 亨, 西村 敏雄

Clomiphene citrate (Clomid) のヒト、ラット 卵巣 steroidogenesis に対する影響として各種 steroidogenic enzyme 活性、黄体の微細構造にみられる変化が報告されている。今回は今までの検討に加え血中 Steroid hormone 動態の分析を行い Clomid のラット妊娠卵巣への作用の解明を試みた。

実験は体重240—270g の Wister 系妊娠ラットを1群4~7匹から成る6群に分けて行い、I, II, IIIの各群には妊娠7, 8日に Clomid 0.75mg を各1, 2, 3回、IV群には control として生塩水0.25ml を投与し9日に開腹、V群には Clomid 1.5mg, VI群には生塩水0.5ml を7—9日に計5回投与し11日に開腹し、胎仔胎盤、卵巣を組織形態学的、酵素学的に検索、同時に腹部大動脈より採血して plasma Progesterone (P), $20\alpha\text{-dihydroprogesterone}$ ($20\alpha\text{p}$), $17\alpha\text{-hydroxyprogesterone}$ (17