

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, 20α -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、少なくとも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), 20α -dihydroprogesterone ($20\alpha\text{p}$), 17α -hydroxyprogesterone (17

ap), estrone (E_1), estradiol (E_2) を radioimmunoassay により測定した. Clomid 0.75mg を投与した I, II, III群と control の V群では全例流産像が観察された. 妊娠9日(IV群)と11日(VI群)の血中 steroid レベルを比較すると後者の E_2 , E_1 , $17\alpha p$ は有意に上昇し, Pも上昇を示すが $20\alpha p$ は不変で, この時期に steroid 産生が旺盛である事が示唆された. Clomid 0.75mg 投与を受けたI群の E_1 , E_2 は control と略同レベルであつたがII, III群では両 steroid 共に明らかな上昇がみられ, PはI群で control の50%, II, III群でさらに顕著な下降を示し, $20\alpha p$ も投与群で1/2となり, $17\alpha p$ には著しい変化はみられなかつた. 全例流産像を呈したV群の全 steroid レベルは有意に低下し, 特にPは control (VI群)の約1/10と最も著しく, E_1 , E_2 は2/3—1/2であつた. Clomid は妊娠前半ラットに黄体細胞の微細構造上の変化および G6PDH, malic enzyme, ATP citrate lyase 活性の低下をもたらすのと同時に血中Pを有意に低下せしめ luteolytic に作用し流産を惹起するが, この際卵巣は poly-follicular な状態となり, 血中 E_1 , E_2 が上昇し $20\alpha HSD$ と plasma $20\alpha p$ レベルは不変である特異的な変化が明らかとなつた.

質問 (京都府立医大) 玉舎 輝彦

estrogen 分泌増加を介しての luteolysis と考えておられますが, clomiphene が estrogen receptor を介して luteolysis となる(演題142)と考えてよいと思います. 後に estrogen 分泌増加にも clomiphene により作用部位が block されていると思います. いかがですか.

答弁 (京都大) 本橋 亨

大川先生に対する回答に同じ. なお今回の検討はラットにおいてであり, rat における receptor に関しては rabbit と同様なのでしょうか. この点の解析を行つておりませんので今後の検討にまきたいと思います.

質問 (慈恵医大) 大川 清

1. lytic Granulosa lutein cell にみられる(特に mito 周辺)膜構造は artifact としての myelin figure とどのように鑑別しますか?

2. luteolysis の直接の factor は E_2 と考えてよいのですか? もし E_2 上昇の結果としたら, その黄体細胞内での作用機序はどのようなことなのですか?

答弁 (京都大) 本橋 亨

1) control 群において認められておりませんので artifact ではないと考えております.

2) 今回は組織学的所見と内分泌学的背景とから検討を加えてみました. 細胞内作用機序に関しましてはデータを持合わせておりません.

146. 正常絨毛より抽出・精製した大分子 hCG の活性および物理化学的性質に関する研究

(長崎大)

今村 定臣, 三浦 清鬱, 今道 節夫
加瀬 泰昭, 山辺 徹

hCG におけるプロホルモン存在の可能性について検討するために hCG を分泌源である絨毛より抽出・精製し, その生物学的, 物理化学的, 免疫学的性質を調べた. 正常妊娠初期の絨毛のアセトン粉末から微アルカリにて hCG を抽出し, この上清から硫酸分画により粗 hCG を得た. この結果60%飽和画分に生物活性(幼若マウス子宮卵巣重量法)を認めたので, これを DEAE Sephadex A-50のイオン交換クロマトにより stepwise に溶出した. 溶出パターンをみると hCG の免疫活性は各塩濃度の溶出画分で認められたが生物活性は0.1M NaCl 溶出画分でのみ高く, 他の画分では殆んど認められなかつた. このことから生物活性と免疫活性は異なるものであることが分つた. また, FSH と TSH の免疫活性を全ての fraction において認められなかつた. そこでこの0.1M NaCl 溶出画分を Ultrogel AcA 414によるゲル濾過さらに DEAE Cellulose で gradient に溶出することにより純化を行なつた. その活性画分は Disc 電気泳動的に均一なバンドを呈したためこれを p-hCG とし蛋白質化学的性質の分析に用いた. 分子量は SDS Disc 電気泳動法によると約80,000であり, また8M 尿素処理により57,000と23,000のサブユニットに分離された. 一方その生物活性は低く数百 IU/mg であつた. 構成アミノ酸は尿性 u-hCG に比べ Lys., Asp., Glu., Gly., Ala., が多く, Arg., Thr., Ser., Pro. の含量が低なかつた. N端アミノ酸は Ala., Val. の2種が同定された. 糖含量は20%前後で u-hCG の31.2%に比べ低く, 殊にシアル酸の含量が少なかつた. また抗 p-hCG 抗体を調整し, 新たに p-hCG RIA 系を確立し DEAE Sephadex A-50の溶出画分について従来の u-hCG RIA 系と比較した結果, 抗 p-hCG 抗体は0.2M 溶出部と低い反応性を示し, また抗 u-hCG 抗体は0.1M 溶出部との反応性が低かつた. 以上のことより p-hCG は u-hCG とは生物学的にも物理化学的にも免疫学的にも異なるものであることが示された.

質問

(神戸大) 足高 善彦