

α p), 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 , 17α p は有意に上昇し, P も上昇を示すが 20α 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, 20α p も投与群で 1/2 となり, 17α 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 20α HSD と plasma 20α 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 清麿, 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% 飽和分画に生物活性 (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

NANA 量が u-hCG よりも p-hCG の方が少ないのであれば、

a) hCG の糖成分は、合成のどの過程でセリンやスレオニンなどと結合するのでしょうか。

b) NANA 量と生物活性の関係について、検討しておられたら御教示下さい。

big hCG を proteolytic enzyme などで処理されたのでしょうか。

(pro, or pre. pro hCG→authentic hCG の可能性について)

答弁 (長崎大) 今村 定臣

1. a) 未だ検討していない。

b) 各種グリコシダーゼによる糖の除去等の実験はこれからの課題と考えている。

u-hCG 31.2%に比べ p-hCG は20%程度であり、特にシアル酸含量が少ないがこのことが生物活性が低い大きな原因と考える。

proteolytic enzyme による処理はプロホルモンであるかどうかの検討に際して最も重要な問題と思い、早速着手したい。

質問 (徳島大) 奈賀 修

大分子 hCG は絨毛の hCG 系蛋白の何%を占めていますか？

大分子 hCG の hCG サブユニットとの抗原性の交叉は、いわゆる highly purified hCG と異つていますか？

答弁 (長崎大) 今村 定臣

1. big hCG が全 hCG 系の何%を占めるかについての検討は行なっていない。ただ、最初のアセトンパウダー10g よりの big hCG の収量は5~10mg である。

2. p-hCG と u-hCG の抗原性は全く異なるものではないが、一致しない部も多い。

質問 (大阪市立大) 友田 昭二

p-hCG を2つの subunit に分けられてますが、

i) これらの subunit と hCG- α , hCG- β との cross-reaction はありましたか。

ii) これらの subunit は再合成が可能でしたでしょうか。

答弁 (長崎大) 今村 定臣

1. P-hCG の各サブユニットと u-hCG の α および β サブユニットとの交叉性については検討していないが、構成アミノ酸から推定すると小サブユニットの方が hCG- α 大サブユニットが hCG- β に近いものと考えている。

2. 再合成は0.1M Sodium phosphate buffer 中で、incubate することにより可能である。

147. 排卵機序における卵胞内への卵子遊離現象について

(和歌山県立医大) 馬淵 義也, 中山 崇

(北海道大) 一戸喜兵衛

近年排卵現象にあづかる視床下部—下垂体系の生理は著しく詳細とされたが、一方卵巣局所における卵放出機構に関しては未開の域が広い。ことに排卵孔から卵子が放出されるためにはこれに先立つて、排卵孔構築が進行するとともに、放射冠に固く抱着された卵子 (cumulus oocyte complex) が卵丘顆粒膜細胞 (G-cell) 群から開放され、卵胞内に浮遊することが不可欠であるが、この現象に関する報告はない。今回この卵子をとりまく放射冠が、接続する卵丘 G-cell 群との結合から如何にして解離するかを、25~30日齢の雌幼若 Wistar-Imamichi 系ラットに FSH (PMS 20IU) 投与後48時間後に LH (HCG 25IU) 投与する Roulands の方法に従って排卵誘発を行いつつ、経時的に内分泌的背景とともに光顕、電顕により組織形態上から観察した。

その結果① 卵丘 G-cell 間には基本的にはきわめて弱い単純隣接によつて結合している。② FSH 投与後48時間までは細胞表面には多数の microvilli がみられ、隣接、G-cell 内に嵌入結合する大小の細胞質突起 (annular nexus) の出現、成長をみ、結合は中間結合の形をとっている。③ FSH につづく LH 投与4時間後にはじめて G-cell 間の結合解離がみられ始める。経時的に細胞膜間や annular nexus の接合部に分泌物の貯溜が進行し、細胞間隙が押し広げられる。さらに4時間もすれば annular nexus が退縮、抜去するとともに細胞解離が進行し、cumulus oocyte complex は卵丘 G-cell 群から開放され、卵胞内に浮遊し始める。④ FSH につづく LH を投与せずに72時間まで観察したが、G-cell の細胞膜間や annular nexus の解離はみられず、cumulus oocyte complex の卵胞内への遊離現象も全くみられなかった。

以上ラット卵巣の卵胞において、FSH につづいて LH が作用すると、卵丘 G-cell 間の結合の解離がおこり、放射冠につつまれた卵子が、卵胞内に浮遊することがわかった。

質問 (京都大) 岡村 均

Nexus は機械的結合様式としての他に、機能的結合として細胞間の情報伝達に重要な役割を果していると考え