

尿中 HCG の生物学的特性に関する研究

— 特にわれわれの精製した HCG について —

第3編 精製した HCG の不活性化に関する研究

京都大学医学部婦人科学産科学教室(主任:西村敏雄教授)

余 語 郁 夫

概要 12,000 IU/mg の力価をもつ自家精製HCGを用いて, HCGの生物学的活性の不活性化について検討を試み次のような成績を得た.

1. HCGの生物学的活性は熱処理によつて著明な変化を受け, 特に 100°Cでは30分間で完全な不活性化が認められ, 37°C, 6時間の条件下においても30%以上の不活性化が認められた.
2. 6M尿素によつて37°C, 24時間の条件下ではHCGの著しい活性の低下がみられたが, 4°C, 24時間では不活性化はみられず, また1M尿素で37°C, 6時間の incubation によつてもほとんど不活化は認められなかった.
3. シアン酸はHCGの生物学的活性に大きな影響を及ぼすことを明らかにした.
4. RDEによつてHCGの完全な不活化を認め, HCGの活性発揮に対する糖部分の重要性を示唆した.
5. 尿素またはRDEが特異的にHCGのLH作用とかFSH作用に影響を及ぼすという所見は得られなかった.
6. キモトリプシンはHCGの活性をかなり低下させるが, 酵素分解後の透析によつて透析外液に活性部分が出現するという現象はみられなかった.
7. LAPあるいはCPaseはHCGの生物学的活性に対して何らの影響も及ぼさなかった. 最後に全編の総括を加えた.

緒 言

前編においてHCGは少なくともFSHとLHという2つの生物学的作用をもち, これらはDEA-ECクロマトグラフィーによつて分離され得ることを示したが, 今回は諸種の化学的負荷要因に対するHCGの生物学的活性の態度を精製HCGを用いて検討し, 最後に全編の総括を加えた.

実験材料ならびに方法

A. 実験材料

実験材料として HCG-NO 130を使用した. これは友田製薬株式会社より提供を受けた 2,100 IU/mg の粗HCGを別報小沢他(1968)の方法にしたがつて著者らが DEAE-C クロマトグラフィーおよびセファデックス G-100によつて精製したもので, 約12,000IU/mg の力価をもつもの

である.

B. 実験方法

1. 熱処理

HCG-NO 130の1mgを100mlの生理的食塩水に溶解してこれより10mlづつを分取し, 37°C 6時間, 50°C 6時間および 100°C30分間の3種類の異なつた条件下に incubation を試みた. 対照として10mlをとりこれを-20°Cのもとで生物学的検定の際まで凍結保存した.

2. 尿素処理 Visutakul et al (1966 a), Visutakul et al (1966 b)

HCG-NO 130の1mgを100mlの pH 7.0, 0.6 Mの燐酸緩衝液に溶解してこの半量を取り1M尿素溶液(和光純薬特級尿素)を調整し残りの半量を対照とした. 同様にHCGの6M尿素溶液

とその対照を調整し、1 M尿素溶液とその対照は37°Cのもとで6時間 incubate し、6 M尿素溶液とその対照は37°Cおよび4°Cのもとでそれぞれ24時間 incubation をおこなった。これらの検体は incubation 後 Cellulose Tube (Visking) で蒸留水に対して24時間4°Cのもとで透析した。

3. シアン酸カリウム Stark et al (1960)

HCG-NO 130の1 mgを100ml の pH 7.0, 0.6 M 磷酸緩衝液に溶解してこの半量を取り 0.1M KNC O 溶液(半井化学製特級)を調整し残りを対照とした。検体および対照は37°Cのもとで24時間 incubate したのち、Cellulose Tube で蒸留水に対して4°Cのもとで24時間透析した。

4. Receptor Destroying Enzyme Rafelson et al (1961) (以下RDEと略す。武田薬品工業製)

RDE 1 バイアル中にはコレラ菌異型 558株を液体培地で培養し菌体を遠心分離してその上清をさらに Saiz 濾過器で濾過した濾液4 ml 分を含むが、このうち0.2ml 分を本実験に使用した。すなわち2 mgの HCG-NO 130を pH 6.5, 0.01 M 磷酸緩衝液4 ml に溶解し、この中から2 ml をとりRDE 0.2ml を溶かして検体とし残り2 ml を対照とした。検体およびその対照は37°C, 24時間の incubation ののち Cellulose Tube で蒸留水に対して24時間4°Cのもとで透析した。

5. α -キモトリプシン Adams-Mayne et al (1964)

HCG-NO 130の1 mgを pH 8.2, 0.04 M ホウ酸緩衝液10ml に溶解したのちにこれを2分して1つは検体に他方は対照とした。検体には基質：酵素比を50：1としてキモトリプシン(Sigma 社製3回結晶製剤)を加えた。検体および対照ともに37°C, 24時間の incubation ののち直ちに氷酢酸で pH 3.5として酵素反応を停止せしめた。これを蒸留水30ml に対して Cellulose Tube で24時間透析しその透析内液および外液ともに生物学的検定をおこなった。

6. ロイシンアミノペプチダーゼ Hills et al (1957), (LAP と略す。Sigma社製, DFP)

HCG-NO 130の2 mgを pH 8.5, 0.005M 塩化マグネシウム-0.005M トリス 緩衝液2 ml に溶解し、このうちから1 ml をとり基質：酵素比100：1の割合でLAPを加え残りの1 ml は対照とした。検体および対照ともに37°C, 24時間の incubation の後氷酢酸によつて pH 4.0とし酵素反応を停止せしめ、これを蒸留水に対して Cellulose Tube で24時間, 4°Cのもとで透析した。

7. カルボキシンペプチダーゼ Imura et al (1967), (CPase と略す。Worthington 社製, DFP)

HCG-NO 130の2 mgを1% NaHCO₃ 2 ml に溶解しこのうち半量を検体として基質：酵素比50：1の割合でCPaseを加え残りを対照とした。検体および対照は37°C, 24時間の incubation の後氷酢酸によつて pH 4.0として酵素反応を停止せしめた。これを蒸留水に対して Cellulose Tube で4°C, 24時間透析をおこなった。

以上の検体およびそれらの対照はすべて検定の際まで-20°Cのもとで凍結保存した。

8. 生物学的検定法

ラット卵巣重量法によつて生物学的活性を測定した。1検体5匹のラットを使用し、1日1回、1 ml の検体を皮下注射し初回注射時より96時間後に開腹した。標準HCGとしては帝国臓器製薬株式会社より提供を受けた5,427 IU/mg のHCGを使い、生物学的活性の算出はGaddum (1953)の方法によつた。なお、一部 Steelman-Pohley 法およびラット精囊腺重量法を試みたが、その方法については第1編を参照されたい。

実験成績

表1はHCGの生物学的活性に対する温度変化の影響をみたものである。これによると100°C, 30分間の熱処理により活性は完全に失われ、37°C, 6時間の処理によつても約30%の活性の低下が認められた。これらの成績からHCGの生物学的活性は熱に弱いといえる。

HCGに対する尿素の影響を検討した結果を示した表2によると、1 M尿素で6時間処理しても生物学的活性の低下はみられないが、37°Cのもと

表1 Stability of HCG to heat treatments.
Hormone is incubated in 6 hours

Treatment	I.U.	Residual activity (%)
Untreated	62	100
37°C	43	69
50°C	21	34
100°C	0	0

表2 Effects of urea and cyanate on activity of HCG

Treatment	Duration (hour)	Temperature (°C)	I.U.	Residual activity (%)
Buffer	6	37	50	100
1 M urea in buffer	6	37	48	96
Buffer	24	4	66	100
6 M urea in buffer	24	4	52	79
Buffer	24	37	56	100
6 M urea in buffer	24	37	3	5
Buffer	24	37	50	100
0.1 M KNCO in buffer	24	37	0	0

で6 M尿素により24時間 incubate するとその活性はほとんど消失した。ところが同じ6 M尿素によっても4°Cのもとでは著しい不活性化はおこらないようである。これらのことからHCGに対して尿素が影響をおよぼす際には尿素の濃度、温度あるいは反応時間などが大きな因子となるといえる。また尿素溶液中に生ずるといわれるシアン酸によつてHCGの活性が変化するか否かをみてみたところ0.1 M KNCOによつて完全な失活をみた。

LAPおよび CPase によつてHCGの生物学的活性の低下はほとんど認められなかつたが、RDEでは活性は全く消失した(表3)。

α -キモトリプシンでHCGを酵素分解の後透析することによつて透析内外液に活性の変化がみられるか否かを検討したところ、透析内液におい

表3 Treatment of HCG with RDE, with LAP and with CPase. Hormone is incubated at 37°C in 24 hours

Treatment	I.U.	Residual activity (%)
Buffer	146	100
RDE in buffer	0	0
Buffer	56	100
LAP in buffer	55	98
Buffer	55	100
CPase	54	98

ては著明な活性の低下が認められ、透析外液にはラット卵巢重量法では全く活性を認めることはできなかった(表4)。

表5によると6 M尿素あるいはRDEで incubation をおこなつたのちHCGの生物学的活性を Steelman-Pohley 法およびラット精囊腺重量法で

表4 Treatment of HCG with α -chymotrypsin. Hormone is incubated at 37°C in 24 hours

Materials	I.U.	Residual activity (%)
Internal dialysate		
Control	105	100
After treatment	26	25
External dialysate		
Control	0	0
After treatment	0	0

表5 Stability of HCG to urea and RDE incubations as measured by the Steelman-Pohley method and the Seminal vesicle weight method

Treatment	Ovarian weight (mg)	Seminal vesicle weight (mg)
Buffer	35.6 $\pm$ 1.2*	22.4 $\pm$ 1.9*
6 M urea in buffer	30.2 $\pm$ 1.4	13.9 $\pm$ 1.1
Buffer	36.2 $\pm$ 2.7	23.8 $\pm$ 3.9
RDE in buffer	31.6 $\pm$ 3.1	9.6 $\pm$ 0.9
No treatment	31.6 $\pm$ 0.8	14.0 $\pm$ 1.8

* Mean $\pm$ standard error

検定した結果いずれの方法によつても活性は検出されなかつた。

考案ならびに小括

熱処理によりHCGの生物学的活性が失われやすいことは広く知られているが Bischoff (1946), Wide (1962), 今回の著者の実験によつてもこれを裏付ける成績を得た。

尿素によつてヒツジ下垂体性ゴナドトロピンのLH活性が失われることを Ellis (1961) が報告したが、その後 Loraine 一派が尿素とゴナドトロピン活性との関連について詳細な検討をしている Schmidt-Elmendorf et al (1962), Visutakul et al (1966 a), Visutakul et al (1966 b). それによると種々のゴナドトロピンのLH活性はFSH活性に比し尿素により不活化されやすいが、FSHもまた全く活性低下がおこらないわけではないという。HCGのLH作用も一定濃度以上の尿素によつて著しい活性の低下をきたすが、また低濃度の尿素によつても多少の活性の低下がみられるのは尿素溶液中に生ずるシアン酸の影響によるのであるともいわれている。最近尿素による検討を下垂体FSHについてはAmir et al (1966)が、HCGについては Connell (1966) がおこなっているがやはり両者ともに活性の低下を認めている。著者の成績においても大体諸家のそれと一致しているが、低濃度の尿素で不活化が認められなかつたこと、シアン酸によつて著明な活性の低下が認められたことは検討を要する問題であろう。

RDEはシアール酸を他の糖と結合させている α -ケト酸結合を切断する neuraminidase であり Gottshalk (1957), Whitten et al (1948) がHCGとか下垂体性ゴナドトロピンに作用させそれらの生物学的活性の低下を認めて以来多くの報告がゴナドトロピンの活性におよぼすRDEの作用について明らかにしてきたが、それらによるとRDEはヒツジのFSH, Gottshalk et al (1960), ヒト下垂体性FSH, Amin et al (1966), HMG, Got et al (1960), Got et al (1961), HCG, Butt et al (1957), Schumacher et al (1960) の生物学的活性を消失せしめるが、ヒツジLHの活性に

は影響をおよぼさないという。著者の成績からも明らかなように、HCGの生物学的活性がRDEによつて全く消失するということは活性部分と糖部分とに重大な関連性を推想させる。

キモトリプシンによるゴナドトロピンの不活化をLHについてChow et al (1939)が、HCGについてAbramowitz et al (1939)が報告しているが、著者の成績はBourrillon et al (1959)のそれと同様に完全にHCGの活性を消失せしめることはできなかつた。一方Amir et al (1966)によればキモトリプシンによつてFSHは不活化されないという。佐藤 (1960) は胎盤組織中のHCGをペプシン分解したのちイオン交換クロマトグラフィーで得た分画Ⅲを透析することにより透析内外液ともに生物学的活性を認め、Blobel (1966) もまたこれと類似した所見を得た。著者はこのような知見がキモトリプシンによつてもみられるかどうかを検討するため、HCGをキモトリプシンで分解これを透析し透析内外液の生物学的活性を検索してみたが、活性を内液にのみ認め外液にはまったく認めることができなかった。

LAPおよびCPaseはインシュリンを代表とするポリペプチドのN末端あるいはC末端構造の分析に用いられてきたがHills et al (1957), Lens (1947), ゴナドトロピンの分野においてはその純品が得られない現在では末端構造についての統一的な見解はない。Schumacher et al (1960)はHCGの生物学的活性に対するLAP, CPaseの作用をみた結果何らの活性の変化も認めなかつたが、Got et al (1960)やAdams-Mayne et al (1964)によるとHMGあるいはヒツジLHでは著明な活性の低下を認めている。ACTHの生物学的活性部分はN末端に、免疫学的活性部分はC末端にあるといわれているが、Imura et al (1965), Imura et al (1967)生物学的活性をみた著者の成績においても免疫学的に検索をおこなつた小沢 (1968)および伊藤 (1968)の成績においてもLAPあるいはCPaseによるHCGの不活化は全くみられなかつた。

全編の総括ならびに考案

今回著者はHCGの複雑多岐の性格を特に生物

学的活性を中心として澱粉ブロック電気泳動法, DEAE-C クロマトグラフィーあるいは諸酵素添加などの種々の不活性化手段を用いて検討した。

澱粉ブロック電気泳動法および DEAE-C クロマトグラフィーによつて 2~4 個の HCG の活性のピークを認めたが, このことにより HCG は少なくとも 2 つ以上の生物学的活性部分から成ることが推察される。このような HCG が数個の成分から成る可能性を初めて示唆した Raacke et al (1954) は HCG の澱粉ブロック電気泳動で等電点のやや異なる生物学的活性をもつ 2 つの分画を得たという。松島(1956)もまたハイフロスーパーセルクロマトグラフィーおよび濾紙電気泳動によつて活性をもつ 2 つの分画を認めているが, 宮本(1968)は絨毛組織中の HCG について澱粉ブロック電気泳動で著者とほぼ同様の結果を得ている。一方佐藤(1960)および Blobel (1966) は HCG をトリプシン分解後透析し, 透析外液に生物学的活性を認め, 菊谷他 (1965) はダウエックスによつて HCG から分離した分子量 6,000 ほどの物質にゴナドトロピン活性があることを報告している。また協同研究者高木(1968)がセファデックス G-100 によつて HCG の分子量の推定を試み, HCG は分子量 36,000 前後と 100,000 前後の 2 つの物質の集合体であることを示唆しているのは興味深い。Bourrillon et al (1956) は電気泳動により粗 HCG では活性部分が広範囲の蛋白分画に拡がるが, 精製段階が進むと活性部分は一定の蛋白分画に限定されてくるといつているが, 著者および宮本 (1968) の成績ではこれらの活性部分が分離され得る可能性が示唆されている。またゴナドトロピンの過剰投与によつてみかけ上卵巢重量や子宮重量のピークが数個認められることがあるので, 動物の標的器官が linear に反応する範囲に HCG の投与量を調整することが重要であるが, 著者の実験においてはこの点を特に十分に留意した。

それではこれらの活性分画はどのような特徴をもっているのでしょうか。著者はラット卵巢重量法, ラット精囊腺重量法および Steelman-Pohley 法の 3 種類の生物学的検定法の組み合わせと, 下

垂体摘出ラットに各分画を投与した場合の卵巢の組織学的所見から次のような知見を得た。すなわち澱粉ブロック電気泳動で認めた活性分画 a および b のうち a はラットの精囊腺重量を増加せしめる作用が強く, b は Steelman-Pohley 法によるラット卵巢重量を増加せしめる作用が強い。また DEAE-C クロマトグラフィーによつて認められた活性分画 A, A', B, C のうち A と A' は FSH 作用が強くみられ, B と C は LH 作用だけがみられ FSH 作用は認められないことが下垂体摘出ラット卵巢の組織学的所見から明らかとなつた。精製 HCG においても FSH, LH の両作用が認められたので RDE あるいは尿素を用いて一方の活性の不活性化を試みたが, このような選択的な不活性化には成功せず両活性ともにこれらの処理により消滅した。一方活性分画 a, b と活性分画 A, A', B, C との相互関係の検討を試み, A と b, B と a との間に大凡の関連性を認めた。また A と A', B と C との間には生物学的性格の相異を捉えることはできなかつたが, 同じ生物学的性格をもつていても化学的には異なることもあり得ると考えられる。しかし HCG に附着した carrier substance であるとか, クロマトグラフィーの過程で生じた HCG の変性体であるというような可能性も否定できない。HCG の LH 作用については広く認められてきた Claesson et al (1948) ところであるが, HCG の FSH 作用については, 議論が多く意見の一致をみていない。1937 年すでに Saxton et al (1937) は妊娠初期婦人尿に FSH 作用を認めたというが, Klebanow (1950) も組織学的検索からこれを示唆し, Lyon et al (1953) は妊娠初期 HCG 量が最高の時期の妊婦尿に下垂体摘出ラットの卵巢間質の修復作用の他に卵胞刺激作用も存在することを報告した。Isersky et al (1963) は HMG に対する抗血清が HMG と HCG の FSH 活性を中和し, HCG に対する抗血清が HCG 活性と HCG の FSH 活性を中和することから HCG に認められる FSH 因子は HMG に認められる FSH 因子と同様のものであるといつている。このような HCG の FSH 因子の下垂体由来説は Butt et al

(1957)も唱えているが、Albert et al (1960)は広範囲にわたるゴナドトロピンの投与量に対するラットの卵巢および子宮の反応パターンよりみたHCGの fingerprint を下垂体性ゴナドトロピンのそれと比較することによつてHCGは本質的にFSH作用をもつていと主張しているし、最近のBlobel(1966)の報告はこれを支持している。一方松島(1959)は尿中および組織中のHCGを下垂体摘出ラットに投与してそれらの睪丸あるいは卵巢の組織学的所見とか卵巢の反応性よりHCGのFSH作用を否定し、Diczfalusy et al (1961)もFSHは胎盤とか妊婦の下垂体からは分泌されないであろうという見解を述べている。今回著者が胎状奇胎患者尿中HCGより分離したFSH作用をもつた分画が胎盤性のものであるか下垂体性のものであるかは明確ではないが今後検討する必要がある。

妊娠初期および末期妊婦尿中HCG、胎状奇胎および絨毛上皮腫患者尿中HCGそれぞれに性格の相異があるか否かという問題は従来議論の多いところである。Lyon et al (1953)は妊娠初期妊婦尿にはFSH作用が認められるが、妊娠中期以降ではこれが認められないと報告し、最近の嶋田(1967)の報告はこれを支持しており、また宮本(1968)、植田他(1966)もそれぞれ電気泳動法、ゲル濾過法による検討から妊娠初期および胎状奇胎HCGでは妊娠末期や絨毛上皮腫HCGに比し、FSH作用が強いと主張している。Reisfeldらの一連の報告 Nadler et al (1961)、Reisfeld et al (1959)、Reisfeld et al (1961)は正常妊婦と絨毛上皮腫患者の血清蛋白分画とゴナドトロピン活性との関連性に相異があることを指摘し、また両者の尿中HCGの間の物理化学的性質の相異を示唆しているが、Sober et al (1958)は絨毛上皮腫患者血清と正常人血清のDEAE-Cクロマトグラフィーによるパターンの相異を報告、高木(1968)は尿中HCGのセファデックス G-100クロマトグラフィーの活性分画のパターンから絨毛上皮腫HCGの特異性を挙げている。一方HCGの反応曲線を比較して Hamburger (1965)、Bell et al (1967)は正常妊娠HCGと絨毛上皮腫

HCGとの間には相異はないと報告しており、また免疫学的にも松島(1966)、磯島他(1966)、Lewis et al (1964)はこれらの抗原性の間には差が認められないと主張している。これに反しSchwartz et al (1963)は絨毛上皮腫HCGに異形体の存在を示唆し、Hamashige et al (1966)も絨毛上皮腫HCGには正常妊娠HCGに認められた抗原基の一部を含まないものがあるといひ、協同研究者西村(1966)は絨毛組織の螢光像の所見から正常妊娠HCG、胎状奇胎HCGあるいは絨毛上皮腫HCGとの間に何らかの相異の存在を推定している。最近Wide et al(1967)は正常妊娠尿中HCGと胎状奇胎患者尿中HCGにおいてそれぞれの生物学的活性値と免疫学的活性値とをHCGの国際標準品を standard にして測定すると、正常妊婦尿中HCGでは生物学的活性値は免疫学的活性値より低値であるのにもかかわらず、胎状奇胎患者尿中HCGでは両方の活性値の間に解離が認められなかつたと報告し、正常妊娠HCGと胎状奇胎HCGとの相異を示唆している。著者のDEAE-Cクロマトグラフィーによる成績、宮本(1968)の電気泳動による成績もまた胎状奇胎HCGに特有といつてよいFSH作用の強い分画を認めたことは興味深い。著者の成績によると電気泳動では卵巢重量法によつて妊娠初期および胎状奇胎患者尿中HCGにおいて活性分画aが高く、妊娠末期および絨毛上皮腫患者尿中HCGにおいては活性分画bが高い。またDEAE-Cクロマトグラフィーの所見では妊娠初期および末期妊婦尿中HCGにおいては分画Bが高く、胎状奇胎および絨毛上皮腫患者尿中HCGにおいては分画Aが高い。このように各分画の活性の強さを比較する場合、各活性分画の specific activity とか、LH作用分画とFSH作用分画の proportion の変化といつたことが実はラット卵巢の反応性に対する重要な問題点となる。すなわち specific activity の低い蛋白が多量に溶出された分画のみかけ上の活性は大となること、動物の性腺におけるゴナドトロピンの反応性はLH作用とFSH作用との proportion によつて左右されるらしいと考えられること、またFSH作用とLH作用それぞ

れ別個では動物の性腺における反応性は異なっていると考えられていることなどから各分画の活性の量的比較にはさらに厳密な検討を必要とする。このように多くの問題点を含んではいるが、腫瘍性HCGと正常妊娠性HCGには何らかの点で相異が示唆され、今後この腫瘍の内分泌学的研究の上に重要な示唆を提供するものといつてよい。

最後にHCGの生物学的活性と免疫学的活性の問題に重ねて触れてみたい。協同研究者伊藤(1968)の成績によると電気泳動における生物学的活性分画bおよびクロマトグラフィーにおける生物学的活性分画Aに一致して唯一つの免疫学的活性分画がみられるという傾向が認められ、小沢(1968)、伊藤(1968)および著者の成績を比較検討すると一般にHCGの生物学的活性は免疫学的活性よりも種々の不活性化の手段により、より変化を受けやすいことが明らかとなり、これらの結果から免疫学的反応に関与するHCGの蛋白部分は生物学的活性基と異なつた構造上の部分からなることが推定される。また著者の認めたA分画は生物学的にFSH作用が強いが、このA分画に一致して免疫学的活性分画が認められたことはHCGとLHとの交叉反応という従来の知見 Goss et al (1964) と相反するもので今後の検討を必要としている。

結 語

1. 正常妊娠初期および末期妊婦尿中HCG、胎状奇胎および絨毛上皮腫患者尿中HCGの澱粉ブロック電気泳動によつて生物学的活性分画a,bを認め、DEAE-Cクロマトグラフィーによつて生物学的活性分画A,B,Cを認めた。また胎状奇胎患者尿中HCGにおいてのみph 8.6, 0.005 Mトリス燐酸緩衝液を用いてDEAE-Cに吸着しない活性分画A'を得た。

2. a分画はラット精囊腺重量を増加させる作用が強く、b分画はSteelman-Pohley法によるラット卵巢重量を増加させる作用が強いという傾向が認められた。

3. AおよびA'分画はFSH作用をもち、BおよびC分画はLH作用をもつことを下垂体摘出

ラット卵巢の組織学的検索によつて実証した。

4. 正常妊娠初期および末期、胎状奇胎、絨毛上皮腫患者尿中HCGの各がもつa,bまたはA,A',B,Cの活性分画の量的比率が異なる可能性を示唆した。

5. われわれが精製した8,000 IU/mgのHCGにはDEAE-Cクロマトグラフィーによつて2つの、280mμにおける吸光度のピークと1つの著明な活性のピークが認められたが、下垂体摘出ラット卵巢の組織学的所見からはFSH作用、LH作用ともに存在することが示された。

6. われわれの精製した12,000 IU/mgのHCGの生物学的活性は、熱、尿素、シアン酸、RDEによつて著明な低下を来たしたが、α-キモトリプシンによつては完全な不活性化を受けず、またLA PおよびCPaseによつては全く変化が認められなかった。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜わつた恩師西村敏雄教授に深甚の謝意を捧げます、また終始御助言と御鞭撻を戴いた、神戸大学医学部東条伸平教授に深く感謝致します。なお試料の収集に御協力戴いた大阪北野病院産婦人科ならびに国立大阪病院産婦人科の各位、常に御助言を戴いた京都大学医学部医化学教室市山新氏、藤沢仁氏ならびに本教室員各位、HCG精製に関し御教示戴いた帝国臓器製薬KK研究部松島早苗博士、ラット下垂体摘出術に御協力を賜わつた塩野義研究所小林文彦博士、種々の薬剤を提供された帝国臓器製薬KK、友田製薬KK、三共製薬KK、持田製薬KKならびに武田薬品工業KKにあつく御礼申し上げます。

文 献

- 磯島晋三他(1966):産婦の世界, 18, 520.
- 伊藤聡美(1968):第20回産婦宿題報告(東条伸平).
- 松島早苗(1956):薬学雑誌, 76, 682.
- 松島早苗(1959):薬学雑誌, 79, 1536.
- 松島早苗(1966):日本内泌誌, 42, 497.
- 宮本海雄(1968):日本内泌誌, 43, 1187.
- 西村敏雄他(1966):産婦治療, 12, 326.
- 小沢 満(1968):第20回産婦宿題報告(東条伸平).
- 小沢 満他(1968):第20回産婦宿題報告(東条伸平).
- 佐藤 肇(1960):生化学, 32, 39.
- 嶋田久徳(1967):日産婦誌, 19, 15.

- 高木良樹 (1968) : 第20回日産婦宿題報告 (東条伸平).
- 植田安雄他 (1966) : 産婦の世界, 18, 230.
- Abramowitz, A.A.* et al. (1939) : *Endocrinol.*, 25, 633.
- Adams-Mayne, M.* et al. (1964) : *Endocrinol.* 75, 333.
- Albert, A.* et al. (1960) : *J. Clin. Endocr. & Metabol.*, 20, 1225.
- Amir, S.M.* et al. (1966) : *Nature*, 209, 1092.
- Bell, E.T.* et al. (1967) : *J. Endocr.*, 37, xxxviii.
- Bischoff, F.* (1946) : *J. Biol. Chem.*, 165, 399.
- Blobel, R.* (1966) : *Über das Choriongonadotropin*, S. Karger, Basel.
- Bourrillon, R.* et al. (1956) : *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 38, 1165.
- Bourrillon, R.* et al. (1959) : *Acta endocr. (Kbh.)*, 31, 553.
- Brossmer, R.* et al. (1958) : *Klin. Wschr.*, 36, 925.
- Butt, W.R.* et al. (1957) : *J. Endocr.*, 16, 107.
- Chow, G.F.* et al. (1939) : *J. Endocr.*, 1, 440.
- Claesson, L.* et al. (1948) : *Acta endocr. (Kbh.)*, 1, 1.
- Connel, G.M.* (1966) : *Endocrinol.*, 79, 1159.
- Diczfalussy, E.* et al. (1961) : *Vitamins & Hormones*, 19, 229.
- Ellis, S.* (1961) : *Endocrinol.*, 68, 334.
- Gaddum, J.H.* (1953) : *J. Pharmacol.*, 6, 345.
- Goss, D.A.* et al. (1964) : *Endocrinol.*, 74, 83.
- Got, R.* et al. (1960) : *Experientia (Basel)*, 16, 495.
- Got, R.* et al. (1961) : *Nature*, 4760, 234.
- Gottshalk, A.* (1957) : *Biochim. Biophys. Acta*, 23, 645.
- Gottshalk, A.* et al. (1960) : *Biochim. Biophys. Acta*, 38, 183.
- Hamashige, S.* et al. (1966) : *J. Clin. Endocr. & Metab.*, 26, 651.
- Hamburger, C.* (1965) : *Gonadotropins* (ed. by Wolstenholme, G.E.W. & Knight, J.) 56, Churchill, London.
- Hills, R.L.* et al. (1957) : *J. Biol. Chem.*, 228, 557.
- Imura, H.* et al. (1965) : *J. Clin. Endocr. Metab.*, 25, 1361.
- Imura, H.* et al. (1967) : *J. Clin. Endocr. Metab.*, 27, 15.
- Iversky, C.* et al. (1963) : *J. Clin. Endocr. Metab.*, 23, 54.
- Kikutani, M.* et al. (1965) : *J. Biochem. Japan*, 57, 598.
- Klebanow, D.* (1950) : *Zbl. Gynak.*, 72, 977.
- Lens, J.* (1947) : *Biochim. Biophys. Acta*, 3, 367.
- Lewis, J.* et al. (1964) : *J. Clin. Endocr. Metab.*, 24, 197.
- Lyon, R.A.* et al. (1953) : *Endocrinol.*, 53, 674.
- Nadler, C.F.* et al. (1961) : *J. Lab. Clin. Med.*, 56, 258.
- Raacke, I.D.* et al. (1954) : *Acta endocr. (Kbh.)*, 17, 366.
- Rafelson, M.E.* et al. (1961) : *Biochim. Biophys. Acta*, 47, 407.
- Reisfeld, R.A.* et al. (1959) : *Arch. Biochem. Biophys.*, 81, 456.
- Reisfeld, R.A.* et al. (1961) : *Biochim. Biophys. Acta*, 43, 540.
- Saxton, J.* et al. (1937) : *Anat. Record*, 69, 261.
- Schmidt-Elmendorf, H.* et al. (1962) : *J. Endocr.*, 24, 153.
- Schumacher, G.* et al. (1960) : *Naturwissenschaften*, 47, 517.
- Schwartz, H.S.* et al. (1963) : *Cancer Research.*, 23, 1724.
- Sober, H.A.* et al. (1958) : *Federation Proc.*, 17, 1116.
- Stark, G.R.* et al. (1960) : *J. Biol. Chem.*, 235, 3177.
- Visuntakul, R.* et al. (1966 a) : *J. Endocr.*, 36, 15.
- Visuntakul, R.* et al. (1966 b) : *J. Endocr.*, 36, 23.
- Whitten, W.K.* (1965) : *Gonadotropine* (ed. by Apostolakis, M. et al.) 21, Thieme, Stuttgart.
- Wide, L.* (1962) : *Acta endocr. (Kbh.)*, Suppl. 70.
- Wide, L.* et al. (1967) : *Acta endocr. (Kbh.)*, 54, 105.

(No. 2147 昭44・5・13受付)