

た。直径0.3mmの卵胞で、はじめてG6PDH活性が内莖膜細胞層に認められたが、 $3\beta$ -HSD活性は認められなかった。この時期にMAO活性は顆粒膜細胞層のみに認められた。直径0.5~1mmの卵胞になると内莖膜細胞層にG6PDHとともに、 $3\beta$ -HSD活性が認められはじめ、さらに直径1~3mmの卵胞では両酵素活性とも全例に認められ、MAO活性は内莖膜細胞層のみに認められた。従って直径1mm前後の卵胞になると、ステロイド産生が始まると推察された。以後卵胞成熟とともにこの活性は同じ部位に認められた。これが排卵直前の直径20mmの卵胞になると、その顆粒膜細胞層にも黄体ホルモンの産生に応ずるG6PDH、 $3\beta$ -HSD、MAO活性が検出されるようになった。一方閉鎖過程にある卵胞では、内莖膜細胞層における各酵素活性は低下しており、顆粒膜細胞層には活性はみられなかった。

独創点：ヒト卵胞を用いて酵素組織化学的方法で、ステロイド産生に参与する各酵素活性の発現部位、時期を形態学的に証明するとともに、ステロイド産生にMAOが関連することを示唆した。

#### 61. 妊娠家兎卵巣の Glucose-6-phosphate dehydrogenase

(東邦大) 石川 孝, 伊藤 元博  
(同・生化学) 天野 久夫

1) 目的：Glucose-6-phosphate dehydrogenase と 6-phosphogluconic dehydrogenase はリボース五磷酸の産生

と steroid 合成に  $\text{NADPH}_2$  の供給を行なう Pentose cycle の鍵酵素である。従来卵巣におけるこれらの酵素の分離精製には種々の問題があり、酵素学的には解明されていない点が多い。従ってこの二つの酵素の分離精製方法の確立は今後卵巣における核酸合成、steroid 合成の研究に大きく貢献するものと思われる。この様な見地から上記酵素の分離精製方法を探究した。

2) 方法：妊娠家兎卵巣を材料として、0.1M Tris-HCl Buffer, pH 7.6, 5mM EDTA, 1mM メルカプトエタノール溶液でホモジナイズし、12,000g, 20分間冷却遠心して得た上清を2', 5' ADP-Sepharose 4B による Affinity chromatography に吸着させ、前記 Buffer に 0.1mM NADP 溶液, 5mM NADP 溶液を加え、それぞれで段階的に溶出させ、G, 6-PDH と 6-PGDH を分画採取した。採取した G-6-PDH については Polyacrylamid gel disc 電気泳動を行った。

3) 結果：カラム No. 83~96の間に最初の上清に比べて蛋白当りで約530倍に精製された G-6-PDH が採取され、カラム No. 114~132の間に 6-PGDH が採取された。G-6-PDH を PAG disc 電気泳動すると4本の帯に分離された。

4) 独創点： $\text{NADP}^+$  依存の 2', 5' ADP-Sepharose 4B による Affinity chromatography を用いて家兎卵巣における精製された G-6-PDH と 6-PGDH を得ることに成功した。

## 第8群 内分泌〔I〕中枢—基礎 (62~69)

### 62. Estrogen の Gonadotropin 放出に対する Positive Feed-back Mechanism: 下垂体レベルでの発現機序に関する実験的解析

(自治医大) 荒木 重雄, 近沢幸嗣郎  
小沼 誠一, 玉田 太朗

目的：排卵期の gonadotropin (G) surge 発現には estradiol ( $\text{E}_2$ ) を中心とする ovarian signal が重要な役割を演ずることは既に報告したが、今回はその下垂体レベルでの発現機序を解明しようと次の実験を行なった。

方法：卵胞期婦人14名に  $\text{E}_2$  を  $500\mu\text{g}/24\text{h}$  で66時間にわたり持続静注し人工的に G surge を発現させた。  $\text{E}_2$  投与中の各時期に10又は  $100\mu\text{g}$  の Gn-RH を投与し下垂体の反応性の経時的变化をみた。他の15名の婦人に同様

の  $\text{E}_2$  の持続投与を行い同時に Gn-RH 2.5又は  $5\mu\text{g}/\text{h}$  で持続静注を行った。実験中3時間毎の血中 G,  $\text{E}_2$  を測定した。

成績：①  $\text{E}_2$  投与開始後約36時間は Gn-RH に対する下垂体の反応性は抑制された。②  $\text{E}_2$  による G surge 発現の時期が近づくにつれ下垂体の反応性は著明に増した。③  $\text{E}_2$  による G surge 発現前に Gn-RH 投与を反復し下垂体からの G 放出を起すと本来の  $\text{E}_2$  による G surge 発現は遅延した。④  $\text{E}_2$  とともに少量の Gn-RH を投与すると G surge 発現までの時間は短縮した。⑤ 以上の結果はまず  $\text{E}_2$  の存在下で低レベルの Gn-RH は下垂体内で G 合成又は蓄積機構に刺激的に作用し最終的に下垂体の Gn-RH に対する反応性を亢進し爆発的 G