

て検討したもので, in vivo では以上のような現象がどの位の速さでおこるかは不明である。

262. ヒト絨毛栄養膜の含鉄顆粒の意義について

(産業医大) 浜崎 勲重, 岡村 靖

目的: 現在われわれは, 絨毛栄養膜の形態分化と絨毛結合組織の毛細血管の分化との関連性を解明するため, ヒト胎盤絨毛膜絨毛を経時的に電子顕微鏡で観察している。今回, 妊娠初期の栄養膜に含鉄顆粒が一過性に出現することが注目されたので, その形態学的所見を報告し, 同顆粒の意義について考察を試みた。

方法: ヒト胎盤(4~19週)の絨毛膜絨毛をカコデレート緩衝2.5%グルタルアルデヒドと同緩衝2%四酸化オズミウムで2重固定し, アセトン脱水, エポン包埋の試料を光顕および電顕で観察した。また, 無染色の超薄切片をX線微量元素装置を装備した分析電顕で絨毛の鉄局在を検索した。

成績: 妊娠4~5週栄養膜合胞体層のGolgi装置は, 0.4~1.5 μ m径大小不同の電子密な顆粒を盛んに産生する。同顆粒が合胞体層遊離面から開口分泌する像は現在まで得られていない。更に, 同顆粒はその濃縮過程においてmyelin-figure様の層板構造を内包するようになる。X線微量元素分析を行つた結果, これらの層板構造に鉄局在が証明された。また, 同方法で栄養膜から絨毛結合組織に放出された脂肪滴, およびHofbauer細胞が貪食した脂肪滴にも鉄局在ピークが見られた。

独創点: 同顆粒を合胞体層からのホルモン様分泌顆粒と断ずるには形状が大小不同であり, またその開口分泌像が得られないことから疑問が残る。一つの推論としてはこれらは一次ライソゾームとして, 絨毛結合組織内の毛細血管が未発達の時期に合胞体層が取り込んだ鉄を含めた種々の物質代謝, 貯蔵に関与していることが考えられる。

質問 (順天堂大) 多和田哲雄

Golgi装置が産生する鉄含有顆粒において鉄はどのような形で存在しているのか。フェリチン? ヘモジデリン? 鉄染色はしているか。

回答, 追加 (産業医大) 浜崎 勲重

ゴルジ由来顆粒内の鉄の形態としてフェリチン, ヘモジデリンか否かはわからなかつた。

追加 合胞体層内大型型空胞に関しては免疫電顕にてホルモン分泌顆粒か否か検討を行つている。

質問 (順天堂大) 古谷 博

先生が初期絨毛に鉄を証明していたが, これはヘム

鉄まで合成されたものと考えているのか。われわれは, transferrinの存在は認めているが。

263. ヒト妊娠初期絨毛のプロゲステロン結合蛋白の質的検討

(高知医大) 浅井 政房, 福永 寿則

相良 祐輔, 武田 佳彦

目的: 妊娠初期絨毛がプロゲステロン(P)の標的組織である証明は十分されていない。そこで妊娠初期絨毛のプロゲステロン結合蛋白の存在について検討し, さらに子宮内膜のプロゲステロンレセプター(PR)との質的差異を比較検討した。

方法: 妊娠中絶時に得た妊娠初期絨毛の細胞質を 3 H-R5020と, 0℃で2時間又は24時間インキュベートし複合体を作製し, デキストラン炭末法や蔗糖密度遠沈法で検討した。さらにこの複合体を, 子宮PRのクロマチン結合能を上昇させ活性型にすると同様の方法で活性処理を行ない, ATP-columnや等電点電気泳動(IEF)によつて, 活性化の変化を検討した。また細胞質中の内因性P濃度は高速液体クロマトグラフィーにて測定した。

成績: 妊娠初期絨毛は, 最大結合部位107.5fmol/mg protein, 解離定数 13.3×10^{-9} M程度のプロゲステロン結合蛋白を有していた。その沈降定数は, 低塩類バッファーのもとで4Sであり, 活性化処理によつてもこれは変化しなかつた。 3 H-R5020蛋白複合体は活性化処理前にすでにATP結合能を持っていた。これは活性化処理後もほとんど上昇しなかつた。またこれらのIEFパターンをみると活性化処理前のものは, 子宮内膜PRのそれと違い, すでにpI 5.3及びpI 6.0付近の2つのピークをもっており, 活性化処理後, pI 5.3付近のピークの軽度の上昇がみられたのみであつた。これらの事は, 絨毛のプロゲステロン結合蛋白は活性化処理前からすでに活性型である可能性を示している。

独創点: 妊娠初期絨毛のプロゲステロン結合蛋白の存在を初めて明らかにした。またこれの物理化学性質に子宮内膜のPRとは差異がみられる事を示唆した。

質問 (東京大) 佐藤 和雄

① ある細胞で産生されるホルモンのreceptorがそれ自身に存在するとの生物学的意義について教えていただきたい。癌細胞で考えられているautocrine regulationのanalogyと考えてよいのか。

② 最近cytosol steroid receptorはnucleus receptorのartifactであるとの成績が報告されているが, その点についてはいかがか。

回答 (高知医大) 浅井 政房

① 自己の分泌するホルモンに対するレセプターの存在は、卵巣などでも報告されており、生理的状态においても可能性が考えられる。そこで絨毛に対するプロゲステロンの直接作用の可能性について検討したものである。

② 細胞質レセプターを、デキストランチャコール法などで、量的に測定するだけでは、その生物学的作用を表現する事は困難である。そこで、核クロマチン結合能を有する活性型プロゲステロンレセプターであるか否かといった、レセプターの質的検討が必要であり、今回も、これらの検討を合わせ行つたものである。

質問 (順天堂大) 古谷 博
プロゲステロン結合蛋白の存在に性差はあるか。

回答 (高知医大) 浅井 政房
性差による検討は今回は行っていない。

264. hCG ならび hPL 遺伝子の Methylation と遺伝子制御機構に関する研究

(神戸大)

房 正規, 保科 眞, 望月 眞人

目的：正常妊婦血中の hCG は妊娠初期にピークを示すが hPL は末期に向い増加し、両者は全く対照的な動態を示す。したがって、この両者の遺伝子は当然異なつた制御を受けていると考えられる。そこで、現在遺伝子制御の中心的役割を担つていると考えられる DNA Cytosine 塩基の Methylation (メチル化) に着目し、妊娠の進行に伴う各々の遺伝子の変化を観察することにより、その制御機構を明らかにせんとした。

方法：妊娠初期ならびに末期絨毛より、phenol choroform 法で DNA を抽出しこれら DNA をメチル化感受性制限酵素 (Hha I, Hpa II) ならびにメチル化非感受性制限酵素 (Msp I) で消失し、Agarose Gel 電気泳動後、Southern Blot 法で Filter に移行した。次に³²P 標識相補性 DNA (hCG α -, hCG β -, hPL-cDNA) と hybridization させ、各々の遺伝子のメチル化の程度を検討した。

成績：hCG α 遺伝子の Hpa II 消化で初期 DNA は 10kb を示すのに対し、末期 DNA は 20kb であり、hCG α 近傍の Hpa II 認識部位が末期ではよりメチル化されていた。さらに、Msp I 消化でこのバンドは 4 つに分離されることより、初期 DNA でもすでにメチル化が生じており、さらに、初期 DNA と末期 DNA とで差が認められることから、妊娠初期から末期にかけて hCG α 遺伝子の reorganization が生じている可能

性が示唆された。更に hCG β の遺伝子ならびに hPL 遺伝子でも初期から末期にかけてメチル化は進行していることが明らかとなつた。

独創点：hCG (α , β), hPL の各々の遺伝子近傍で妊娠初期から末期にかけてメチル化が進んでいることを、分子生物学的手法により初めて明らかにし、遺伝子制御との関係を論じた。更に、DNA 全体のメチル化の程度を分析する為、現在、High Performance Liquid Chromatography による DNA の分析中である。

質問 (順天堂大) 古谷 博

妊娠初期と末期(後半期)の胎盤から出る hCG は質的にちがうものとお考えか。

回答 (神戸大) 房 正規

遺伝子の Methylation が進行すると、その遺伝子の発現は抑制される報告が多い。今回は妊娠の進行に伴ない対照的な動態を示す hCG, hPL 遺伝子の Methylation と発現されるホルモンの量的関係について検討した。質的变化については、糖鎖構造等、興味深い点が多いと思われる。

265. messenger RNA の検出によるヒト胎盤および絨毛性腫瘍における renin, angiotensinogen の合成 (京都大)

伊原 由幸, 泰井 俊造, 森 崇英

renin-angiotensin (R-A) 系は全身的な血圧や電解質の調節に重要であるが、近年脳など腎臓以外の組織にも独立した R-A 系が存在することが判明しその局所的役割が注目されている。

胎盤においても従来より renin の存在が示唆されてきたが胎盤自身における renin の合成の証明は必ずしも明確ではなかつた。今回我々は renin 及び angiotensinogen の messenger RNA (mRNA) を検出することにより胎盤における R-A 系の合成を直接的に検討したので報告する。

方法：正常妊娠各時期及び妊娠中毒症の胎盤と胎状奇胎より guanidine-thiocyanate 法で RNA を抽出、oLigo dT cellulose カラムにて poly (A) RNA とした後、ヒト renin 又は angiotensinogen の相補的 DNA (cDNA) との間の hybridization の有無と強度を autoradiography で判定した。

成績：① renin mRNA は正常胎盤の絨毛部及び胎状奇胎に認められた。②正常絨毛における renin mRNA 濃度は妊娠初期に高く、週数と共に減少する。また胎状奇胎では初期絨毛より更に高かつた。③一方胎盤全体での renin mRNA の含有量は妊娠初期に低