

月経周期中および去勢後における雌ニホンザル 下垂体中 LH の質的量的変動

愛媛大学医学部産科学婦人科学教室

浜田 雄行 杉並 洋 松浦 俊平

Qualitative and Quantitative Changes of Luteinizing Hormone (LH) in the Pituitary Glands of Female Japanese Monkeys (*Macaca Fuscata*) during the Menstrual Cycle and after Castration

Katsuyuki HAMADA, Hiroshi SUGINAMI and Shumpei MATSUURA
*Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,
Ehime University, Ehime*

概要 LH の生成分泌過程における分子修飾の各段階を解明するため、異なつた性ステロイド環境下での成熟雌ニホンザル下垂体中 LH の質的量的変動を比較検討した。卵胞期初期 3 頭、卵胞期後期 4 頭、黄体期中期 3 頭および去勢後のサル 3 頭を用い、各サルの下垂体 LH を pH range 3.5~10.0 の等電点電気泳動法 (IEF) により分画した。血中 estradiol (E_2)、血中 progesterone (P_4) は direct RIA kit により、また血中、下垂体中および各分画中の bioactive LH は in vitro bioassay 法により測定した。

排卵周辺期における E_2 peak と bioactive LH peak の同時性が 13 頭中 11 頭に認められた。黄体期中期における血中 E_2 の上昇は全く認められなかつた。下垂体 bioactive LH 含量 (IU/mg wet weight) は血中 E_2 と良く相関し ($R^2=0.974$)、卵胞期後期における増加が著明であつた ($p<0.01$)。IEF によりサル下垂体 bioactive LH は pI 値より A (9.31 ± 0.19)、B (8.88 ± 0.17)、C (8.36 ± 0.17)、D (7.92 ± 0.18)、E (7.32 ± 0.16) および F (酸性 LH) の六つの分子種に分画された。アルカリ性 LH の内主要な分子種は、卵胞期初期において B、C、D であり、卵胞期後期になると A 次いで B であり、黄体期中期では B 次いで C であつた。中性~酸性 LH 分子種は卵胞期初期および去勢後に多く認められた。

ニホンザル下垂体中の bioactive LH 含有量および各 LH 分子種の割合は異なつた性ステロイド環境において種々に変動することが認められた。IEF により分画される各 LH 分子種は下垂体における分子修飾の各段階を反映し、酸性 LH は未熟型、弱~中アルカリ性 LH は分泌型、強アルカリ性 LH は貯留型 LH であることが示唆された。

Synopsis The present study was designed to investigate qualitative and quantitative changes in luteinizing hormone (LH) in the pituitary glands of female Japanese monkeys (*Macaca fuscata*) during the menstrual cycle and after castration. The pituitary glands were removed from 10 intact cycling Japanese monkeys and 3 castrated ones: The former sacrificed in the early, late follicular phase, and mid luteal phase, and the latter 8 weeks after castration. All 13 pituitary glands were fractionated by isoelectrofocusing (IEF).

The mid cycle peaks of estradiol (E_2) and bioactive LH occurred simultaneously in 11 out of 13 monkeys. No animals showed luteal phase peaks in the plasma E_2 concentration. Bioactive LH content (IU/mg wet weight) in the pituitary gland was significantly correlated with plasma E_2 levels in the cycling monkeys ($R^2=0.974$) and it was the highest in monkeys in the late follicular phase. Bioactive LH in the pituitary gland was separated into 6 distinct species in terms of pI values by IEF; A (9.31 ± 0.19), B (8.88 ± 0.17), C (8.36 ± 0.17), D (7.92 ± 0.18), E (7.32 ± 0.16) and F (acidic LH). Among alkaline LH species, the most predominant ones were Fractions B, C and D in the early follicular phase, Fraction A followed by B in the late follicular phase and Fraction B followed by C in the mid luteal phase. The neutral and acidic LH (Fraction E and F) was increased more in the early follicular phase and in the castrates.

In conclusion, LH species separated by IEF may correspond to the stage of molecular maturation of pituitary LH. It is possible that acidic, alkaline, and high alkaline LH are newly synthesized, mature, and overmature LH, respectively.

Key words: LH • Pituitary gland • Isoelectrofocusing • Japanese monkey

緒 言

黄体化ホルモン (luteinizing hormone: LH) は分子量, 糖含有量, 生物活性, 免疫活性の差異など種々の生物物理化学的な多様性を持つ糖蛋白ホルモンである。その分子荷電状態については, 等電点電気泳動法 (IEF) により等電点 (pI) の異なつた複数の分子種が存在することが, ヒト¹⁾, ラット²⁾, サル⁴⁾について報告されている。血中に分泌されるヒトおよびサルの LH 分子種は中アルカリ性 LH が大部分を占め, また生物活性と免疫活性の比 (B/I ratio) もこの中アルカリ性 LH が最も高い⁴⁾¹¹⁾。この中アルカリ性 LH は分泌型あるいは成熟型 LH 分子種であることが示唆されている¹⁾。一方, 強アルカリ性 LH は卵胞期後期の婦人血中に多く, これは過熟型 LH であることが示唆されている¹⁾。しかしながら, これらの成績はあくまで血中に分泌された LH 分子種をもとにしたものであり, 下垂体における分子修飾を直接的に反映したものとはいえない。

各 LH 分子種は pI 値および B/I ratio の差のみならず, 血中からの半減期も異なつている¹⁾。半減期の長い LH 分子種は半減期の短い LH 分子種より血中においては相対的に多くみなされる可能性がある。また, 生合成された直後の未熟型の LH 分子種は血中に分泌されにくい可能性がある。したがつて, 今回は直接的に下垂体における LH の生合成から分泌に至るまでの分子修飾の各段階を解明するため, 性ステロイド環境の異なる卵胞期初期, 卵胞期後期, 黄体期中期および去勢後において各 LH 分子種の下垂体における質的量的変動を IEF を用いて比較検討した。

実験材料および方法

野生に生息している性成熟期雌ニホンザル (*Macaca fuscata*) を捕獲した。捕獲後6カ月以上経過し, 正常月経周期を有するものを実験に用いた。サルの体重は 6.7 ± 1.1 (4.8~8.6) kg であつた。サルを個々のケージに収容し, 室温24°C, 湿度60%, 一日12時間人工照明のもとで飼育した。飼料としてサル用固形飼料 (オリエンタル酵母), 野菜, 水道水を自由に与えた。

雌ニホンザルは極めて明確な生殖機能の季節的

変動を示し, 月経は毎年9~10月より始まり4~5月まで毎月出現し6~8月の間はほとんど認められない²⁾。したがつて, 9月より月経を観察し2周期連続的に月経が出現する雌ザル26頭を選び実験に用いた。その月経周期は 27.5 ± 7.8 日 (n=52) であつた。3周期目の第1日目よりケタラル麻酔下 (20mg/kg, im) で連日採血を行い血中 estradiol (E₂), progesterone (P₄), bioactive LH を測定した。血中 E₂, P₄, bioactive LH の daily profile から第3周期目において正常排卵周期を示したものは26頭中13頭のサルであつた。この13頭のサルについて第4周期目にも同様に採血を行い, 卵胞期初期 (Days 3~4) 3頭, 卵胞期後期 (Days 10~13) 4頭, 黄体期中期 (preovulatory LH surge から7~8日後) 3頭, および去勢後8週経験した3頭よりそれぞれの下垂体をネンブター麻酔下に摘出した。摘出した下垂体は重量を測定した後, それぞれ2mlの蒸留水中でホモジェナイズした。各ホモジェネートは40,000G, 60分, 4°Cにて遠沈し不溶性物質を除いた。得られたホモジェネート上清は IEF 分離そして bioactive LH の測定まで-70°Cにて凍結保存した。

カラム等電点電気泳動法 (IEF): 計13頭の下垂体ホモジェネート上清1mlを IEF の試料とした。LKB electrofocusing column #8100-1 (110 ml capacity, LKB Produkter AB, Bromma, Sweden) および, carrier ampholites として Ampholine pH 3.5~10 (LKB Produkter) を用い Ampholine-シヨ糖密度勾配を作成し, 4°C, 700 V, 3W の条件下に48時間の通電 (LKB, D.C. Power supply 3371E) を行いサル bioactive LH を分画した⁴⁾¹¹⁾。なお marker protein として用いたウマ心臓ミオグロブリン (Type III, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.) の pI 値は 7.98 ± 0.10 (n=13) であつた。

E₂, P₄ の radioimmunoassay (RIA): 血中 E₂, P₄ の測定には direct RIA kit (CIS 社製) を用いた²⁾。E₂ キットの intra-および inter-assay coefficient of variation はそれぞれ2.2%, 6.7% であり, P₄ キットにおいては1.9%, 6.7% であつ

た。

LH の in vitro bioassay : 血中, 下垂体中および各 IEF 分画中のサル bioactive LH はマウス testis Leydig 細胞における LH 依存性テストステロン合成能を指標とする in vitro bioassay 法により測定した²⁾⁴⁾。マウスは LH 依存性テストステロン合成能に優れた 7~9 週齢の C-57 黒系雄マウスを用いた²⁾⁴⁾。この assay の感度は 6.25~12.5 μ IU/tube, 精度 (λ) は 0.02~0.05 であり, assay 間の quality control として用いた post menopausal plasma (PMP) 値は 145.0 \pm 26.0 mIU/ml (Mean \pm S.D., n=49) であつた。

統計学的処理 : 得られた成績は, student's t-test, 回帰分析, Scheffe の方法による multiple comparison, 一元配置分散分析, 二元配置分散分析, 三元配置分散分析を用いて統計学的処理を行った。危険率 0.05 以下のものを有意と判定した。

実験結果

1) 血中 bioactive LH, E₂, P₄ の daily profile

実験に用いた正常排卵周期を有する成熟雌ニホンザル 13 頭 13 周期における血中 bioactive LH, E₂, P₄ の daily profile を図 1 に示した。すなわち, 下垂体摘出あるいは卵巣摘出に先行する月経周期において, bioactive LH peak の認められた日を day 0 として各 cycle date における血中 bioactive LH, E₂, P₄ の平均値および標準偏差を示している。Day 0 における bioactive LH の値は 449 \pm 236 mIU/ml であつた。血中 E₂ は, 卵胞期初期では著明な変動を示さず 57.3 \pm 32.9 pg/ml であつたが bioactive LH peak の 4 日前より増加し始め, bioactive LH peak の日には 270 \pm 136 pg/ml に達した。個々のサルについて検討すると, 13 頭中 11 頭では E₂ peak と bioactive LH peak の日が一致していたが, 他の 2 頭の E₂ peak はそれぞれ bioactive LH peak の 1 日前と 1 日後であつた。血中 E₂ は bioactive LH peak の 1 日後に急激に減少し, 2 日後以降はほぼ卵胞期初期の値まで低下した。血中 P₄ は卵胞期では 0.8 \pm 0.6 ng/ml と低値であるが, bioactive LH peak に一致して上昇し始め, 5~6 日後には 5.1 \pm 1.6 ng/ml に達した。さらに, 5~6 日間の plateau の後再び低下

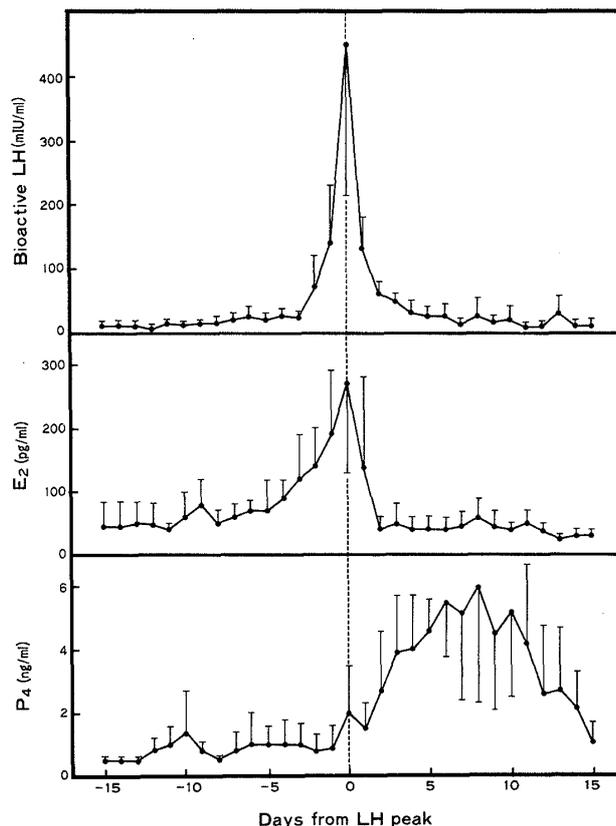


図 1 正常排卵周期を有する成熟雌ニホンザル 13 頭 13 周期における血中 bioactive LH, E₂, P₄ の daily profile

し, 月経に移行した。

2) 各周期および去勢後における下垂体中 bioactive LH 含量と血中 E₂, P₄ との関係

下垂体摘出時の体重, 血中 E₂, P₄, bioactive LH, 下垂体重量, および下垂体 bioactive LH 含量を表 1 に示した。血中 E₂ は卵胞期後期で最も高く ($p < 0.01$), 去勢後では測定感度以下であつた。下垂体摘出時における血中 bioactive LH は卵胞期初期, 卵胞期後期, 黄体期後期の各時期において一定値をとり, 去勢後では有意に高値を示した ($p < 0.01$)。下垂体 bioactive LH 含量 (IU/gland) は卵胞期後期における増加が著明であり ($p < 0.05$), また単位重量当りの bioactive LH 含量 (IU/mg wet weight) も卵胞期後期に増加 ($p < 0.01$) していた。

月経周期中に摘出した下垂体に関して, その bioactive LH 含量 (IU/gland) および単位重量当りの bioactive LH 含量 (IU/mg wet weight) に

表1 各雌ニホンザルの屠殺時における体重, 血中 E₂, P₄, bioactive LH, 下垂体重量, 下垂体 bioactive LH 含量 (*: p<0.05のものを有意と判定した, N.D.: not detectable)

Phase	Monkey No.	Days of cycle	Body weight (kg)	Plasma E ₂ (pg/ml)	Plasma P ₄ (ng/ml)	Plasma LH (mIU/ml)	Pituitary Wt. (mg)	Pituitary LH content	
								IU/gland	IU/mg wet weight
Early follicular phase	85-0430-2	4	7.3	18	0.5	34	100	960	9.6
	83-0216-7	3	4.8	42	1.3	36	98	606	6.2
	85-0426-14	4	6.8	17	0.5	39	140	1,151	8.2
	Mean±S.D.	3.7±0.6	6.3±1.3	26±14	0.8±0.5	36±3	113±24	906±277	8.0±1.7
Late follicular phase	84-1206-4	10	6.4	134	1.2	18	121	4,674	38.6
	82-1230-8	13	7.4	116	0.8	36	128	3,909	30.5
	85-0316-13	12	6.4	221	0.9	43	105	7,977	76.2
	86-0228-66	13	5.9	242	1.5	45	182	14,793	81.3
	Mean±S.D.	12.0±1.4	6.5±0.6	178±63*	1.1±0.3	36±12	134±29	7,838±4,961*	56.6±25.8*
Mid luteal phase	85-0430-15	Days after LH peak 8	8.6	42	9.0	4	119	941	7.9
	86-0418-56	7	6.8	41	6.3	58	177	1,302	7.4
	86-0425-70	8	7.2	38	7.8	36	106	1,046	9.9
	Mean±S.D.	7.7±0.6	7.5±0.9	32±15	7.7±1.4*	33±27	134±38	1,096±186	8.4±1.3
After castration	82-0420-1	Weeks after castration 8	4.2	N.D.	N.D.	408	46	141	3.1
	82-0622-9	8	5.4	N.D.	N.D.	351	70	365	5.2
	85-0621-1	8	7.9	N.D.	N.D.	234	224	1,948	8.7
	Mean±S.D.		5.8±1.9			331±89*	113±97	818±985	5.7±2.8

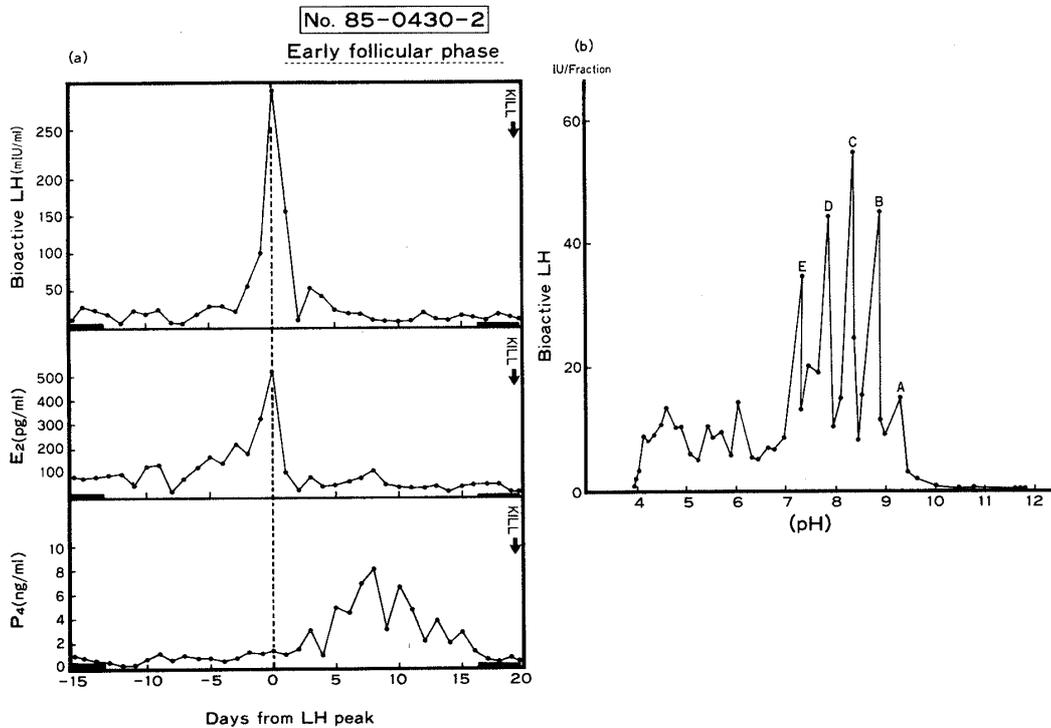


図2 卵胞期初期に屠殺したサル (No. 85-0430-2) の血中における E₂, P₄, bioactive LH の daily profile と下垂体中における bioactive LH の IEF profile

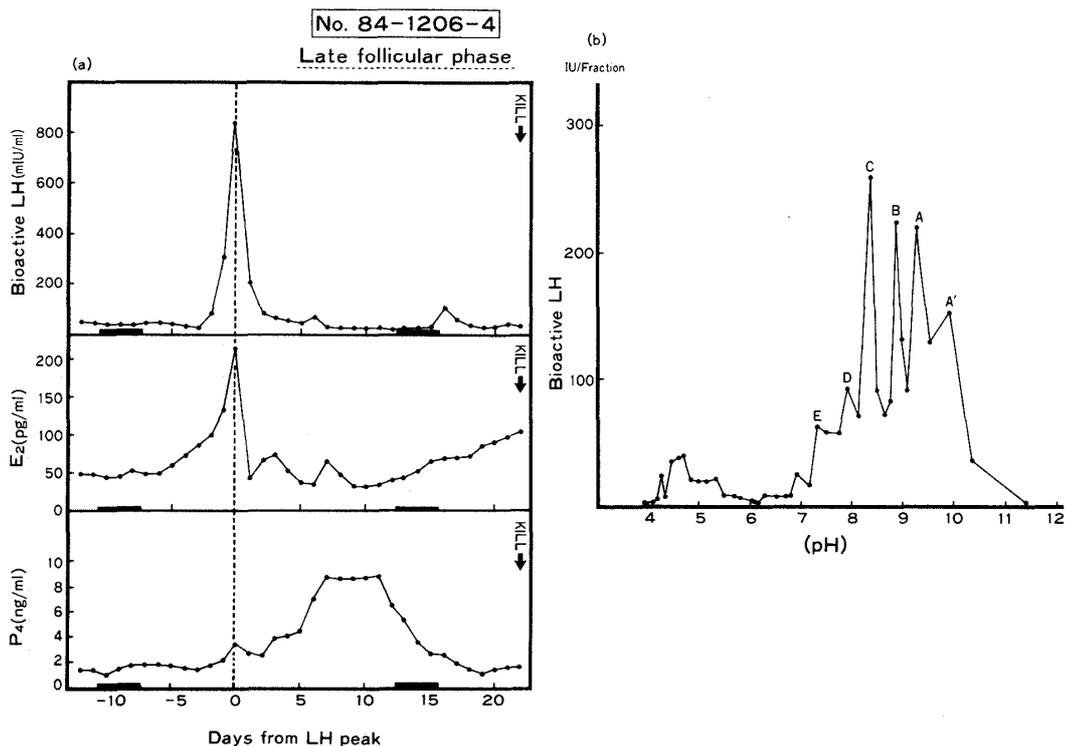


図3 卵胞期後期に屠殺したサル (No. 84-1206-4) の血中における E₂, P₄, bioactive LH の daily profile と下垂体中における bioactive LH の IEF profile

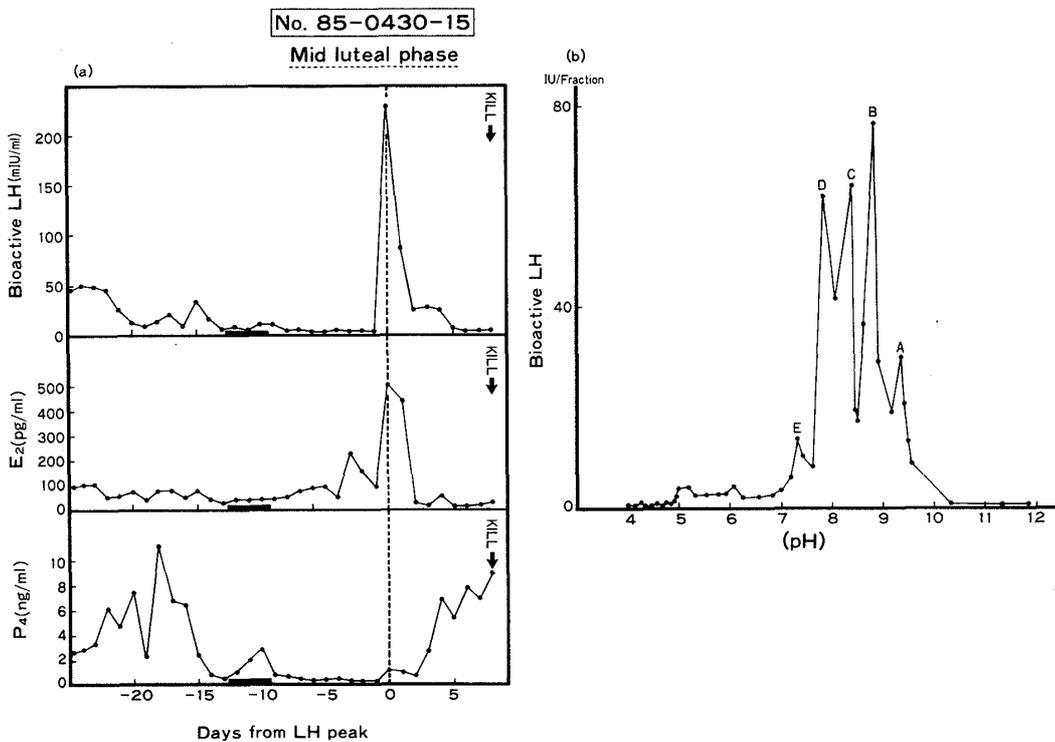


図4 黄体期中期に屠殺したサル (No. 85-0430-15) の血中における E₂, P₄, bioactive LH の daily profile と下垂体中における bioactive LH の IEF profile

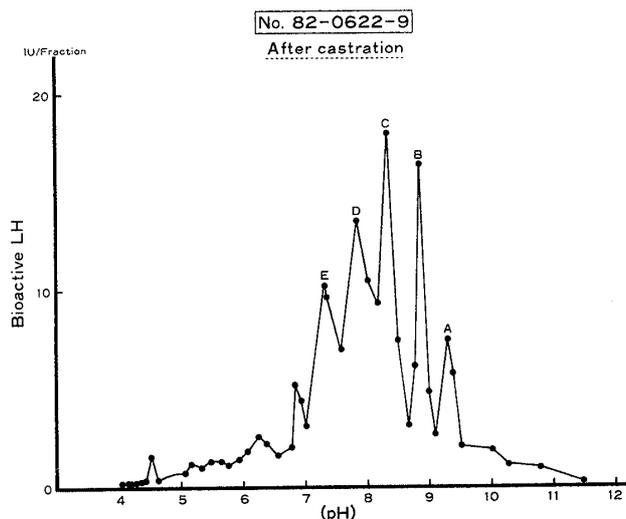


図5 去勢後に屠殺したサル (No. 82-0622-9) の下垂体中における bioactive LH の IEF profile

対する血中 E_2 と血中 P_4 の単回帰式を算出した。下垂体 bioactive LH 含量および単位重量当りの bioactive LH 含量と血中 E_2 との間には正の相関が認められたが、血中 P_4 との間には相関は認められなかった。また、その相関は単位重量当りの bioactive LH 含量 ($R^2=0.974$) において下垂体 bioactive LH 含量 ($R^2=0.870$) におけるよりさらに密接であった。

3) 各周期における bioactive LH の等電点電気泳動パターン

下垂体中 bioactive LH は IEF により等電点 (pI) の異なつた複数の分子種に分画された (図2~5)。それぞれの pI 値は A (9.31 ± 0.19), B (8.88 ± 0.17), C (8.36 ± 0.17), D (7.92 ± 0.18), E (7.32 ± 0.16), (Mean \pm S.D., $n=13$) であつた。さらに、酸性域 (F) にも LH の生物活性を認めたが、酸性 LH は明確な peak を形成しなかつた。また、卵胞期後期には A よりもさらに高い pI 値を有する LH 分子種 A' (9.89 ± 0.36) が認められた。

LH 分子種の月経周期および去勢後の変動を比較検討する目的で、各 IEF 分画を pH 領域 A (9.00以上), B (8.99~8.50), C (8.49~8.00), D (7.99~7.50), E (7.49~7.00), F (6.99以下) の6分画に分け、全体に占める各々の割合を求めた (図6)。まず、明確な peak を形成する LH 分子種、すなわちアルカリ性 LH の変動を検討し

Monkey (phase)	Fraction (pH range)	Fraction (pH range)					
		F (~6.99)	E (~7.49)	D (~7.99)	C (~8.49)	B (~8.99)	A (9.00~)
Early follicular phase	85-0430-2	10	15	20	25	15	5
	83-0216-7	10	15	20	25	15	5
	85-0426-14	10	15	20	25	15	5
Late follicular phase	84-1206-4	10	15	20	25	15	5
	82-1230-8	10	15	20	25	15	5
	85-0316-13	10	15	20	25	15	5
	86-0228-66	10	15	20	25	15	5
Mid luteal phase	85-0430-15	10	15	20	25	15	5
	86-0418-56	10	15	20	25	15	5
	86-0425-70	10	15	20	25	15	5
After castration	82-0420-1	10	15	20	25	15	5
	82-0622-9	10	15	20	25	15	5
	85-0621-1	10	15	20	25	15	5

図6 各 IEF 分画を pH 領域 A (9.00以上), B (8.99~8.50), C (8.49~8.00), D (7.99~7.50), E (7.49~7.00), F (6.99以下) の6分画に分けた際の全体に占める各分画の割合

た。卵胞期初期における主要な LH 分子種は B, C, D であつた。卵胞期後期では強アルカリ性 LH 分子種 A の占める割合が著明に高く ($p < 0.005$), 次いで分子種 B であつた。黄体期における主要分子種は B, 次いで C であつた。去勢動物下垂体中 LH 分子種の profile は卵胞期初期のそれと類似していた。一方、中性 LH (E) および酸性 LH (F) の占める割合は卵胞期初期および去勢後で多く、卵胞期後期および黄体期で少なかつた。これらの変動は推計学的に有意であつた。

考 察

ニホンザルの排卵周期における血中 E_2 および bioactive LH の daily profile は多少の相違点が

みられるもののヒトのそれと良く類似していた³⁾。相違点の一つは排卵周辺期における E₂ peak と LH peak の同時性である。ニホンザルにおいては13頭中11頭で両 peak の一致性が認められたのに対し、ヒトでは E₂ peak が LH peak に先行することが多い³⁾。第二の相違点は黄体期における E₂ の変動 pattern である。ヒトでみられる黄体期中期での血中 E₂ の上昇³⁾が、今回の実験では全く認められなかつた。これらニホンザルの成績は、アカゲザルの成績⁷⁾とほぼ一致している。

排卵期における bioactive LH, E₂, P₄ の相互関係はアカゲザルにおいて詳細に検討されている¹⁰⁾。この報告¹⁰⁾では bioactive LH surge の始まる6時間前に P₄ の上昇が始まり、6時間後に E₂ の peak がみられるというもので、P₄ は LH surge の開始を促進することが示唆されている。今回の研究においても Day 0 に P₄ の上昇が認められ、やはりニホンザルにおいても E₂ priming 下での P₄ 上昇が mid-cycle LH surge の発現に重要な意味を有することが示唆された。

Hotchkiss et al.⁷⁾ は卵胞期後期に血中 E₂ の上昇と共に血中 immunoreactive LH が低下する傾向を示すと報告しているが、今回の bioactive LH ではこのような変動は認められなかつた。今回われわれは bioactive LH を測定し、immunoreactive LH は測定しなかつたため明確な推論はできないものの、われわれの成績に Hotchkiss et al.⁷⁾ の成績を加味すると、卵胞期後期に LH の bioactivity と immunoreactivity の比 (B/I ratio) が上昇することが想定される。事実、他の動物において卵胞期後期で LH の B/I ratio の上昇が報告されている¹⁰⁾¹¹⁾。この時期には下垂体中 LH 含量が増加し、その増加は血中 E₂ の増加によつている(表1)。すなわち、E₂ の影響下に下垂体における LH の生合成の上昇あるいは下垂体からの LH 分泌の抑制などが起こり、よつて下垂体での LH 貯留が多くなつているものと思われる。LH の下垂体での長期間の貯留は LH の分子修飾の進行を意味する。LH 分子修飾の進行は、修飾を受けた LH 分子の B/I ratio および pI 値などに変化をもたらす。今回の IEF による分析によれば

卵胞期後期には下垂体中に強アルカリ性 LH の増加が著明であつた。したがつて、この強アルカリ性 LH は長期間貯留され分子修飾を受けた貯留型 LH 分子種であり、卵胞期後期にはより多く分泌されるものと思われる。事実、ニホンザル血中 LH 分子種の変動を正常月経周期において検討したわれわれの成績でも卵胞期後期に血中に強アルカリ性 LH 分子種の増加が認められた⁴⁾。

卵胞期後期の強アルカリ性 LH 分子種の増加を除けば、ニホンザル下垂体に含まれる LH 分子種の割合はいずれの月経周期においても良く類似していた。すなわち、主要な LH 分子種は中～弱アルカリ性に pI 値を有した。血中 LH 分子種の検討⁴⁾でもこれと同様の成績が得られている。これはヒトにおいても同様であり、さらにヒトの場合にはこれらの中～弱アルカリ性 LH 分子種において B/I ratio が最高であつた¹¹⁾。したがつて、これらの LH 分子種は血中 LH 分子種の検討の際に示唆されたごとく分泌型の LH であろう。一方、黄体期では一荷電の強い分子種 (B) が多かつた。黄体期では卵胞期と比較すると脈波状 LH 分泌の頻度は低い。このため生合成された LH 分子はより長く下垂体内に停滞し卵胞期におけるより長期間の分子修飾を受けるためであろう。

去勢によつて E₂ による negative feedback 機構が解除され LH は血中に大量に分泌される。一方、下垂体中 bioactive LH 含量は去勢後も卵胞期初期あるいは黄体期と同等であつた。これは、去勢後では LH の生合成が活発に行われているものの分泌も昂進しているため下垂体内 LH 貯留が起こつていないことを示唆している。去勢後の下垂体中 LH 分子種の分布において特徴的なのは酸性 LH の増加である。ヒト¹¹⁾ およびニホンザル⁴⁾ において LH-RH の大量持続負荷は血中酸性 LH の増加をもたらす。LH-RH は gonadotroph において LH の分泌のみならず生合成も促進する⁹⁾。また、chase-labeling 法により生合成されて間もないラット LH は大きな分子量を有しており、分泌型あるいは成熟型の LH では分子量が小さいことが示されている⁹⁾。さらに、われわれはヒト酸性 LH は強アルカリ性 LH より分子量

の大きいことを報告した¹⁾。以上のごとく、去勢後に多く認められる酸性LHは生合成されて間もない precursor type あるいは未熟型のLHであることが推察される。

LH分子の荷電多様性については、ラットLHにおいてシアル酸含量の違いによることが明らかにされている⁶⁾。ラットLHをノイラミニダーゼ処理するとLHの荷電多様性が消失し、すべてのLH分子種のpI値が強アルカリ域に移動し一つの分子種となる。したがって、今回の研究でみられたサルLHの荷電多様性は、種差があるもののシアル酸が何らかの関係があるものと思われる。

今回得られた成績に先に報告した成績⁴⁾を加味して以下の結論が得られた。1) ニホンザルにおいて下垂体中LH含量は循環血液中のE₂量に影響され増減する。2) 下垂体中に含まれるLHは等電点の異なつた複数の分子種によつて構成されている。3) 酸性LHは未熟型、弱～中アルカリ性LHは分泌型、強アルカリ性LHは貯留型LHである。4) 各LH分子種の割合は各月経周期で異なつており、これは性ステロイドの影響によるものと思われる。

文 献

1. 浜田雄行, 内田博久, 矢野まり子, 杉並 洋, 中島 晃: サル下垂体LH subpopulationsの高速液クロによる分子量の決定。第57回日本内分泌学会総会抄録集, 58, 1984.
2. 浜田雄行, 杉並 洋, 松浦俊平: 交尾期における雌ニホンザル血中 estradiol, progesterone, LHの性周期変動。実験動物, 投稿中。
3. Dufau, M.L., Dulmanis, A., Catt, K.J. and Hudson, B.: Measurement of plasma estradiol-17 β by competition binding assay employing pregnancy plasma. J. Clin. Endocrinol. Metab., 30: 351, 1970.
4. Hamada, K. and Suginami, H.: Qualitative and quantitative changes in plasma luteinizing hormone (LH) under stimulation by intra-

- venous infusion of synthetic Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LHRH) in Japanese Monkeys (*Macaca fuscata*) as assessed by electrofocusing. Endocrinol. Japon., 30: 101, 1983.
5. Hattori, M., Sakamoto, K. and Wakabayashi, K.: The presence of LH components having different ratios of bioactivity to immunoreactivity in the rat pituitary glands. Endocrinol. Japon., 30: 289, 1983.
6. Hattori, M., Ozawa, K. and Wakabayashi, K.: Sialic acid is responsible for charge heterogeneity and the biological potency of rat lutropin. Biochem. Biophys. Res. Comm., 127: 501, 1985.
7. Hotchkiss, J., Atkinson, E. and Knobil, E.: Time course of serum estrogen and luteinizing hormone (LH) concentrations during the menstrual cycle of the rhesus monkey. Endocrinology, 89: 177, 1971.
8. Judd, S.J.: The neuroendocrinology of reproduction. In Clinical Reproductive Endocrinology (ed. R.P. Sherman), 1. Churchill Livingstone, New York, 1985.
9. Liu, T.C. and Jackson, G.L.: Big luteinizing hormone (BLH): Possible precursor of native LH (NLH) in anterior pituitary glands of rats. Biol. Reprod., 24: 380, 1981.
10. Schenken, R.S., Werlin, L.B., Williams, R.F., Prihoda, T.J. and Hodgen, G.D.: Periovulatory hormonal dynamics: Relationship of immunoassayable gonadotropins and ovarian steroids to the bioassayable luteinizing hormone surge in rhesus monkeys. J. Clin. Endocrinol. Metab., 60: 886, 1985.
11. Suginami, H., Yano, M., Hamada, K., Ito, T., Yano, K. and Matsuura, S.: Qualitative and quantitative differences in hLH species in the first and the second LH release induced by continuous stimulation with synthetic LHRH in normal menstrual cycle as assessed by electrofocusing. Endocrinol. Japon., 32: 583, 1985.

(No. 6477 昭63・11・8受付)