

Title	Desoxycorticosterone投与後の血中黄体ホルモンの化学的検出について
Author(s)	荻田, 次弘
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28406
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	荻 田 次 弘 かり た つぎ ひろ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 210 号
学位授与の日付	昭 和 36 年 4 月 26 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 外 科 系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	Desoxycorticosterone 投与後の血中黄体 ホルモンの化学的検出について
	(主 査) (副 査)
論文審査委員	教 授 足 高 善 雄 教 授 須 田 正 巳 教 授 岡 野 錦 弥

論 文 内 容 の 要 旨

研究目的

Desoxycorticosterone (DOC) が副腎皮質において corticoid として Progesterone (Prog.) から生成されるのであろう事は既に培養実験で実証されている。

一方 Desoxycorticosterone acetate (DOCA) を生体に投与した場合、尿中に Pregnanediol (PG) が出現し、血中に Hooker-Forbes 活性が証明される事実から理論的には DOC→Prog→PG なる一つの代謝経路の存在も推定される。

既に教室の石塚・河田等は DOC 並びに DOCA の腎組織との large scale 培養実験において Prog. 結晶を抽出確認し、in vitro において DOC から Prog. への転換を証明したが、未だ in vivo においてかかる転換の事実は証明されていない。

著者はこの転換の事実を in vivo において実証せんとして DOC 及び DOCA 投与後の家兎血中黄体ホルモン活性物質について化学的検討を加えた。

研究方法

成熟雌性家兎を去勢或は肝部分切除後、夫々に Prog. 50mg, DOC-glucoside 50mg, DOCA 50mg, propylene glycol 3 ml (対照実験) を負荷してその血漿より steroids を抽出し、Ketonic 分画を得て Hinsberg 法により液体 chromatography で分画した。各分画は cyclohexane-propylene glycol 系下降法にて paper chromatography を行い、紫外線吸収陽性スポットについて以下述べる実験を試み検討を加えた。

- 1) ethanol 溶液の紫外外部吸収スペクトル
- 2) 濃硫酸溶液の吸収スペクトル
- 3) dinitrophenyl hydrazone 形成後の chloroform 溶液の吸収スペクトル

4) Hooker-Forbes 生物学的検定

研究成績

I) Progesterone 負荷実験

1) 成熟去勢家兔 3羽に各々 Prog.50mg 宛筋注し, 6時間後血漿の paper chromatography により Prog. を証明した。

2) 成熟去勢家兔 1羽に Prog. 50mg 静注し, 5分後血漿の paper chromatography により 3つの紫外線吸収陽性スポットを検出した。この中1つのスポットは paper chromatography で標準 Prog. と同一の mobility を示し, その ethanol 溶液, 濃硫酸溶液及び dinitrophenyl hydrazone の chloroform 溶液の吸収スペクトルはすべて標準 Prog. のそれ等と一致し, Hooker-Forbes 法を試み黄体ホルモン活性をもっていることを認めた。従って本物質は Prog. であることが知られる。対照実験では之ら何れのスポットも認めなかったため, Prog. 以外の他の2つのスポットはその代謝物と考えられる。

II) DOC-glucoside 負荷実験

成熟去勢肝部分切除家兔 3羽に各々 DOC-glucoside 50mg 宛静注し, 2例の実験に於て5分後血漿の paper chromatography にて5つの紫外線吸収陽性スポットを検出した。この中1つのスポットは

- ① paper chromatography で標準 Prog. と同一の mobility を示した。
- ② ethanol 溶液の紫外線吸収スペクトルは 240μ に最高吸収を示した。
- ③ 濃硫酸溶液の吸収スペクトルは 295μ に最高吸収を示した。
- ④ dinitrophenyl hydrazone の chloroform 溶液の吸収スペクトルは 380μ に最高吸収を認めた。
- ⑤ Hooker-Forbes 法では陽性を示し, その黄体ホルモン活性を現す最少量は ethanol 溶液の吸光度より算定して $0.0002\mu\text{g}$ であった。

従って本物質は Prog. であることが知られる。

又, 他の4つのスポットの中1つは標準 DOC と同一の mobility を示し, ethanol 及び濃硫酸溶液の吸収スペクトルも標準DOC のそれ等と一致したので DOC と考えられる。

他の3つのスポットは paper chromatography では Prog., DOC とは明らかに mobility を異にし, 対照実験では何れのスポットも証明しなかったため DOC の代謝物と推定し得るが黄体ホルモン活性は認められなかった。

III) DOCA 負荷実験

前実験同様, 成熟去勢肝部分切除家兔 3羽に各々 DOCA 50mg 静注し, 2例の実験において5分後血漿の paper chromatography にて6つの紫外線吸収陽性スポットを検出した。この中3つのスポットは夫々DOC, DOCA, Prog. であることを証明し得た。

総括

去勢或は去勢肝部分切除家兔に Prog., DOC-glucoside 或は acetate 投与後, その血中より Prog. を化学的に証明した。

Plager & Samuels は牛副腎組織と Prog. との培養実験によって DOC を抽出したが, 逆に教室の石塚・河田等は DOC 及び DOCA を基質とした腎組織による培養実験によって DOC から Prog. への転

換を化学的に証明した。

著者は家兎に DOC 及び DOCA を投与して直接血中より Prog. を証明することが出来た。従って DOC から PG に到る遷元代謝経路が in vivo に於いても Prog. を経由するというこれまでの理論的な推定に化学的根拠を提供することができた。

論文の審査結果の要旨

Desoxycorticosterone (以下 DOC と略す) を生体に投与した場合、尿中に Pregnanediol (以下 PG と略す) が出現し血中には Hooker-Forbes 陽性物質が検出される事から、生体内では DOC から PG に至る中間代謝物として Progesterone (以下 Prog. と略す) の存在が推定されてきた。In vitro に於いて DOC から Prog. への転換に関する報告は見られるが、未だ in vivo に於いてこの転換を究明しようとした研究は見られない。著者は去勢家兎或は去勢肝部分剔除家兎に Prog. 或は Desoxycorticosterone acetate (以下 DOCA と略す), DOC-glucoside を投与してその血中より直接 Prog. を証明することにより、in vivo に於ける DOC から Prog. への転換の問題を解明しようとした。

即ちまず去勢家兎 3 羽に各々 Prog. 50mg 宛を筋注し、6 時間後の血漿中より Prog. を証明し、又去勢家兎 1 羽に Prog. 50mg を静注して 5 分後の血漿中より Paper chromatography で 3 つのステロイドを検出し、その中 1 つが Prog. であることを証明している。即ち本実験により著者が用いた実験方法で血中の Prog. のみならずその関連ステロイドの検出も可能であることを明らかにした。

次に去勢肝部分剔除家兎 3 羽に DOC-glucoside 50mg 宛静注し、5 分後の血漿中より paper chromatography で 5 つのステロイドを検出し、その中 1 つは DOC であり、1 つは Prog. であることを証明した。又去勢肝部分剔除家兎 3 羽に DOCA 50mg 宛静注して同様の実験を行い、5 分後血漿の Paper chromatography で 6 つのステロイドを分離し、DOC, DOCA の他に Prog. を検出した。

Prog. の確認は、paper chromatography, 紫外線吸収スペクトル (ethanol 及び硫酸溶液), dinitrophenyl hydrazone 作成後の chloroform 溶液の吸収スペクトル及び Hooker-Forbes test によったものである。

以上 DOC 投与後直接家兎血中から Prog. を証明した著者の成績は生体内に於いても DOC→Prog. →PG なる転換が起るといふこれ迄の推論に化学的根拠を与えたものである。