

Title	家兔卵巣のSteroid Hormone, 主にprogesterinの分泌動態について
Author(s)	虎頭, 廉
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/29120">http://hdl.handle.net/11094/29120</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名・(本籍)	虎 頭 廉 こ とう きよし
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 1 5 5 号
学位授与の日付	昭 和 4 2 年 3 月 2 8 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 病 理 系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	家兎卵巣の Steroid Hormone, 主に progesterin の分泌動態について
論文審査委員	(主査) 教 授 岡 野 錦 弥 (副査) 教 授 足 高 善 雄 教 授 西 川 光 夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔研究目的〕

家兎を実験対象にして、機能と形態との関連を明らかにするために、その卵巣機能を直接に表現する卵巣静脈血中のsteroid hormone の分泌動態を新しい定量法で解明し、又この方法を用いて病理学的研究に応用される可能性を見い出さんとした。併せて、in vivo に於ける分泌の動態を in vitro に於ける酵素学的実験によって裏付ける為、以下の実験を行なった。

#### 〔方法ならびに成績〕

家兎卵巣静脈血採取法として Nembutal 麻酔下に於いて開腹し、Heparin 静注後 polyethylene (直径=0.8 mm) のカニューレを卵巣静脈に挿入固定し、卵巣静脈血を得ることが出来る。血中の steroid hormone を ether で抽出した後、中性分画及び Phenol 分画に分ち、中性分画は部分的にエステル化されたカルボン酸基を有するイオン交換樹脂の Amberlite IRC-50 を吸着剤に、EtOH と H<sub>2</sub>O (3:2 V/V) を溶離剤に使用する Column chromatography を開発して、測定し、Phenol 分画は、従来の一松本氏法の Column chromatography で測定した。

即ち column chromatography に於ける中性分画の elution pattern を定め、これによって 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone, androstenedione, 20 $\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one と progesterone が分離され、240m $\mu$  の紫外部吸収によって、定量が出来た。全操作の回収率は約 70%であった。この方法を用いると、1  $\mu$ g 以上の progesterin の分離定量が可能であることが証明された。

非妊家兎卵巣からの静脈血中には progesterin 及び estrogen は見い出されなかった。之に 250 単位の HCG を静脈内に投与すると、直ちに progesterin の分泌が起る。産生分泌される progesterin は progesterone と 20 $\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one であり、11 匹の家兎群では 100 ml 静脈血中にそれぞれ 26.8 $\pm$ 4.2  $\mu$ g, 338.6 $\pm$ 74.4  $\mu$ g 分泌された。その他の性 steroid は証明されなかった。

妊娠家兎の卵巣は定常的に progesterone 及び  $20\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one を分泌していることが証明された。妊娠中期に於いてはそれぞれ 100 ml 静脈血中 38  $\mu$ g, 39  $\mu$ g であり、両者はほぼ同量である。末期に於いては progesterone の分泌は減少した。Estrogen は、数例に於いて 0.2  $\mu$ g の Estrone と 0.1  $\mu$ g の Estradiol- $17\beta$  を見い出したが、 $17\alpha$ -OH-progesterone と androstenedione は見い出されず、あるとしても 1.0  $\mu$ g 以下と思える。

更に妊娠家兎を用い、卵巣静脈血中の progestin の動向を指標に、病理学的応用を試みた。之に HCG を投与すると直ちに  $20\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one のみ 5 倍量に増加を示し、progesterone は殆んど変らなかつた。Uran, SU 4885, 大量の Estrogen 投与によっては著変なく、Thyroxine 投与によっては progestin の増量を示すものが、二、三の例に見られた。

前述の如く家兎に於いては特に  $20\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one の分泌がかなりの濃度で見られることが判明し、その動きが注目されるので、in vitro の実験では  $20\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase の活性を測定し、又それに対する HCG の影響をみた。

実験方法は卵巣組織を homogenate して、20,000 $\times$ g で30分間遠沈、supernatant fraction を crude の enzyme として取り出し、substrate に progesterone- $C^{14}$ , coenzyme に TPNH-generating system を用いて pH 7.4 の phosphate buffer 中で 37°C, 15分間の incubation を行なった。抽出は ether で行ない、Heptane-Formamide system の paper chromatography で分離し、Actigraph により生成される  $20\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one- $C^{14}$  を測定し、その初速度より酵素活性を求めた。

その結果は、 $20\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase の活性を  $m\mu$ mole/mg/10 minutes で表わすと、非妊娠間質腺  $0.93 \pm 0.19$ , 妊娠間質腺  $4.09 \pm 0.41$ , 妊娠黄体  $0.38 \pm 0.14$  となり、妊娠間質腺が極めて高く黄体は最も低いことが分つた。in vivo で投与した HCG の  $20\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase の活性に対する影響は短時間では活性の上昇を見ず、長時間を要して上昇が見られた。

#### 〔総括〕

- 1) 部分的にエステル化されたカルボン酸基を有するイオン交換樹脂の Amberlite IRC-50 を吸着剤とし、EtOH と  $H_2O$  (3:2 V/V) を溶離剤に使用する column chromatography の system で、家兎卵巣静脈血中の 1  $\mu$ g 以上の progesterone と  $20\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one が、分離定量出来た。
- 2) 非妊娠家兎卵巣静脈血中には progestin は見い出されず、HCG を投与すると直ちに progesterone と  $20\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one の分泌が見られ、後者は前者の12倍量であった。
- 3) 妊娠家兎は定常的に progesterone と  $20\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one の両者を分泌し、特に中期ではその比は約1.0で、末期になると progesterone の分泌が減じる。
- 4) 妊娠家兎に HCG を投与すると、 $20\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one が増加し progesterone は不変である。
- 5) 家兎卵巣の  $20\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase の活性は、妊娠間質腺は高く、非妊娠間質腺、黄体の順に低い。

progesterone と  $20\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one の間の反応は可逆的なもので、生理的には合理的な反応の Shift があるのであるが、又そこには病理的現象の生ずる可能性があると思われる。ここに、主に生理的な家兎卵巣の steroid biosynthesis とその酵素学的解明を試みたのは、今後の病理学的研究へ

の出発点として意義があると思われる。

### 論文の審査結果の要旨

卵巣機能を解明する方法としては卵巣静脈血中の steroid hormone を測定することが最適理想的なものである。しかし現在までに報告されている血中 progestin の測定法は、操作の繁雑さと不純物の影響等により満足すべきものでないと思われる。著者が新たに考案した定量法はイオン交換樹脂 (Amberlite IRC-50) を吸着剤に使用する elution chromatography によるもので、抽出、溶出、測定にいたる手技が極めて簡単であるという利点を有し、この方法によると血中及び組織中の  $1 \mu\text{g}$  以上の progestin の分離定量が可能となるものである。

之を用いて家兎卵巣の機能と形態との関連性を追求すると家兎卵巣の間質腺は内分泌腺としての機能を有しており、in vivo で HCG が間質腺の progestin の産生分泌を促進し、又妊娠間質腺は黄体と共に多量の progestin の分泌を行なっていることが明らかになった。家兎で progesterone 以外に  $20\alpha$ -hydroxypregn-4-en-3-one の分泌が見られ、特に妊娠時は定常的に両者が分泌されていること、又妊娠間質腺に  $20\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase 活性が高値であることを見出した。更に本法によると、定常的な分泌状態に一連の外的操作を加えることによって卵巣内分泌に対する病的因子の影響を直接とらえることが可能になり、卵巣病理の研究に有用であることが確かめられた。

以上の点から、本論文は学位論文に値するに充分である。