

Title	妊娠家兔卵巣のProgestin分泌に関する研究
Author(s)	遠藤, 廣
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29683
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	遠藤 廣
	えん どう ひろし
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1629 号
学位授与の日付	昭和 44 年 3 月 28 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	妊娠家兔卵巢の Progesterin 分泌に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 岡野 錦弥 (副査) 教授 足高 善雄 教授 吉田 博

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

妊娠家兔卵巢が Progesterone と 4^{α} -Pregn-20 α -ol-3-one (以下 20 α -P. と略) とを分泌する事実についてはすでに知見がある。組織化学的方法では Progetin 産生に関係の深い 3 β -ol-dehydrogenase の活性は妊娠極期家兔卵巢の間質腺で高く黄体では低いことが知られている。本研究では第一に間質腺と黄体とに於ける 3 β -ol-dehydrogenase の活性を生化学方法で検索し、第二に Progesterone と 20 α -P. とが妊娠家兔卵巢のいずれの構成々分から分泌されるのかについて検索を IN VITRO 及び IN VIVO の条件下で追求した。

〔方法ならびに成績〕

- 1) 間質腺と黄体との 3 β -ol-dehydrogenase の活性を生化学的方法で検索した。まず妊娠家兔(妊娠第20日)を空気栓塞で殺し、ただちに卵巢を取り出し、黄体と間質腺とを分離した。ついで各々を homogenate となし、1つの Incubation flask に wet tissue 35mg 相当の homogenate を入れた。さらに 200 μ g の Pregnenolone と 3mg の DPN を各々加え、0.1M Phosphate Buffer PH7.4 で final を 3.15cc とした。黄体と間質腺とについて、4つずつの検体を以上のごとくにして用意し、37°C の恒温槽中で30分間 Incubation した。ついで medium 中の Progesterin をエーテル抽出、分配後に減圧乾固し 3cc のエタノールに溶かして紫外部 240m μ の吸収で測定し、最後に allen の補正式を適用した。その結果は、間質腺では $235.3 \pm 28.3 \mu\text{g}/100\text{mg}/\text{hour}$ で、黄体では $116.3 \pm 3.9 \mu\text{g}/100\text{mg}/\text{hour}$ となった。すなわち、間質腺の 3 β -ol-dehydrogenase 活性は黄体のそののほぼ 2 倍となり、組織学的方法による成績とよく一致した。
- 2) 次に間質腺と黄体の Progesterin 産生態度を IN VITRO で検索した。この場合は、それぞれの組織由来の Progesterone と 20 α -P. の産生を検索するのが目的であるので、Substrate と助酵素

は使用しなかった。妊娠第20日前後の家兎を空気栓塞で殺し、ただちに開腹し、卵巣を取り出す。黄体と間質腺を分離し、両者を Slice とする。これを 0.1M の Krebs-Ringer Phosphate Bicarbonate Buffer PH7.4 の medium に入れて、final を 5cc とし、37°C の恒温槽中で 2 時間 Incubation を行なった。次いで全内容を homogenate とし、脱蛋白、エーテル抽出、及び分配を行なった。そののち、部分的にエステル化された amberlite IRC-50 を吸着剤とし、EtoH : H₂O = 3 : 2 の溶液を固定相及び移動相とする関、松本、虎頭の Column Chromatography で、Progesterone と 20 α -P. とを分画し、紫外部 240m μ の吸収で定量を行なった。6 例にわたって行なわれた本実験の結果は、次の通りであった。すなわち間質腺では、20 α -P. は $1.98 \pm 0.42 \mu\text{g}/100\text{mg}$ で Progesterone は 2.19 ± 0.52 であった。一方黄体では、20 α -P. は 1.37 ± 0.40 で Progesterone は 1.76 ± 0.51 となった。従ってこの 2 つの Steroid hormone 産生についての組織特異性が、この実験では明らかとならなかった。そこでさらにこの問題を IN VIVO で追求した。

3] まず妊娠第20日前後の家兎をネムタール麻酔下に開腹し、1側の卵巣静脈中にカテーテルをそう入する。30分ないし1時間程で約 50~80cc の卵巣静脈血を得て、これを対称とする。ついで同側卵巣の全黄体を外科的に摘出し、クリップで機械的に止血する。そののち前述のカテーテルから流出する静脈血をやはり 50~80cc 採取した。なおこの際に他側の卵巣にはなんらの処置も行なわなかった。採取した卵巣静脈血を脱イオン水で溶血し、エーテル抽出、分配後に既述の column chromatography で Progesterone と 20 α -P. を分画し、紫外部 240m μ で定量を行なった。

黄体摘出前の卵巣静脈血 50ml に 20 α -P. は $29.4 \pm 8.09 \mu\text{g}$ で Progesterone は、 $12.3 \pm 1.28 \mu\text{g}$ が含有されていた。黄体摘出術後の静脈血 50ml に 20 α -P. は $22.0 \pm 6.06 \mu\text{g}$ 含有され、これは control の約 75% であった。一方 Progesterone は、全く消失した。なお Progesterone と Δ^4 -Pregn-20 α -ol-3-one との同定は次のごとくにして行なった。Column の吸着剤は全て amberlite IRC-50 である。

[Progesterone]

各試料に C¹⁴-Progesterone (3 $\mu\text{g}/0.2\mu\text{c}$) を加え、以下の Chromatography により、Specific radioactivity が Constant であることを証明した。

1. Column chromatography EtoH : H₂O = 3 : 2
2. Column chromatography EtoH : Benzene : Cyclohexane : H₂O = 50 : 300 : 350 : 2.3
3. acetylation
4. Column chromatography EtoH : Benzene : Cyclohexane : H₂O = 25 : 50 : 255 : 1

[Δ^4 -Pregn-20 α -ol-3-one]

まず standard の C¹⁴-Progesterone を家兎卵巣と共に Incubation を行ない C¹⁴- Δ^4 -Pregn-20 α -ol-3-one を作った。C¹⁴- Δ^4 -Pregn-20 α -ol-3-one に Standard の Δ^4 -Pregn-20 α -ol-3-one を加え異なる溶媒で 3 回 Crystallization を行ない、Constant specific activity を確認した。この C¹⁴- Δ^4 -Pregn-20 α -ol-3-one を使用して以下の Chromatography を行なった。

1. Column chromatography EtoH : Benzene : Cyclohexane : H₂O = 25 : 50 : 255 : 1
2. Column chromatography EtoH : Benzene : Cyclohexane : H₂O = 50 : 300 : 350 : 2.3

3. acetylation

4. Column chromatography EtOH : Benzene : Cyclohexane : H₂O = 25 : 50 : 255 : 1

以上3回の Column chromatography で Specific activity が一定であった。

〔総括〕

妊娠極期家兎卵巣静脈血中には Δ^4 -Preg-20 α -ol-3-one と Progesterone とが検出される。このうち Progesterone は主として黄体から分泌される。なお間質腺では 3β -ol-dehydrogenase により, Progesterone が生合成されるが, これは更に還元されて Δ^4 -Preg-20 α -ol-3-one (Progesterone に比較すると生物学的活性ははるかに低い Steroid hormone) となり卵巣静脈血中に分泌されるものと推定される。

論文の審査結果の要旨

妊娠極期家兎卵巣静脈血中には Δ^4 -Preg-20 α -ol-3-one と Progesterone とが検出される。このうち Progesterone は主として黄体から分泌される。なお間質腺では 3β -ol-dehydrogenase により, Progesterone が生合成されるが, これは更に還元されて Δ^4 -Preg-20 α -ol-3-one (Progesterone に比較すると生物学的活性ははるかに低い Steroid hormone) となり卵巣静脈血中に分泌されるものと推定される。