



Title	家兔胎盤の $3\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenaseを中心としたSteroid hormone生合成能について
Author(s)	山根, 源太郎
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29700">https://hdl.handle.net/11094/29700</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	山 根 源 太 郎 やま ね げん た ろう
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1659 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	家兔胎盤の $3\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase を中心と した Steroid hormone 生合成能について
論文審査委員	(主査) 教 授 岡 野 錦 弥 (副査) 教 授 足 高 善 雄 教 授 吉 田 博

## 論 文 内 容 の 要 旨

## 〔目 的〕

本教室においてこれまで妊娠家兔卵巣の progesterone の分泌及びその産生について研究を続けて来た。一方家兔における妊娠時の Steroid hormone の産生臓器の一つと予想される胎盤については内外に多くの研究を見ない。又特に Steroid hormone 生合成に重要な役割を演んずる  $3\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase (以下  $3\beta$ -ol dehydrogenase) の活性を biochemical にも histochemical にも家兔において証明した報告はみられない。そこで家兔胎盤の Steroid hormone 生合成能を調べ、特に  $3\beta$ -ol dehydrogenase の活性を詳細に検索した。

## 〔方法並びに成績〕

この実験に使用した家兔胎盤はいずれも妊娠20日前後のものである。

## 1) Progesterone 生合成について

1g の家兔胎盤を胎児側、母体側に分け slice し  $20\mu\text{C}/2m\mu$  moles の  $^3\text{H}$ -Pregnenolone を substrate とし、夫々に DPN  $8\mu$  moles を加えたものと加えないもの計4種類を作製し、 $37^\circ\text{C}$  1時間、P.H. 7.4, 0.1M Krebs Ringer phosphate buffer 5ml 中で Incubate した。Incubation 後に Progesterone,  $20\alpha$ -OH- $\Delta^4$ -Pregnene-3-one ( $20\alpha$ -GH-P),  $20\beta$ -OH- $\Delta^4$ -Pregnene-3-one ( $20\beta$ -OH-P) の標準品を Carrier として加えエーテルで抽出した。抽出後吸着剤に Amberlite IRC-50 を使用して、溶出液の組成の異なる三種類の column chromatography を用い Progesterone,  $20\alpha$ -OH-P,  $20\beta$ -OH-P を分離した。この時  $20\alpha$ -OH-P 及び  $20\beta$ -OH-P の紫外吸収存在部位には radioactive な物質は存在しなかった。Progesterone については radioactivity と紫外吸収の peak の一致していることを確かめた。次いで再結晶法によってこれが Progesterone であることを同定した。即ち得られた Progesterone 分面にさらに標準 Progesterone 約 10mg を加えきわめて少量のメタノール中で加熱融解

させ、これを  $-20^{\circ}\text{C}$  の Freezer 中に放置し、再び生じた結晶の specific activity と残りの溶媒 (mother liquor) の specific activity を求めた。さらに残存した結晶は溶媒の種類を変えて、同様のことをくり返し、結晶の specific activity と mother liquor の specific activity が同一であることを証明した。この結果 progesterone は  $0.5\% \sim 5\%$  生合成されていることが証明出来た。

#### (2) 他の Steroid hormone の生合成について

さらに他の Steroid hormone 生合成能を知るため胎盤 2g slice, DPN, TPNH 存在下に P.H. 7.4, 0.1M Krebs Ringer phosphate buffer 10ml 中で  $37^{\circ}\text{C}$ , 1.5 時間 Incubate した。Incubation 後 Cortisol, Corticosterone, Estradiol- $17\beta$ , Estrone, DHEA, Androstenedione の標準品 200r を加え (1)と同様の方法により同定を試みたが全て同定出来ず、その成生率は  $0.001\%$  以下であった。

#### (3) 妊娠家兎子宮静脈血中の Progesterone 測定

妊娠家兎子宮静脈より 180~200ml の血液を採取し、標準  $^3\text{H}$ -Progesterone を加えエーテル抽出後 EtOH :  $\text{H}_2\text{O} = 3 : 2$  の column chromatography を用い、radioactive な peak と一致する部に紫外吸収の peak のみられることにより証明しようとしたが、紫外吸収の peak は見られず、静脈血中の Progesterone は証明出来ず  $2\mu\text{g}/100\text{ml}$  以下であった。一方卵巣静脈では  $25 \sim 30\mu\text{g}/100\text{ml}$  であった。

#### (4) $3\beta$ -ol dehydrogenase の組織化学的検索

L. W. Wattenberg の方法により家兎胎盤の  $3\beta$ -ol dehydrogenase の活性を histochemical に調べたが全く認められなかった。同時に染色した卵巣間質腺には活性がみられた。

#### (5) 胎盤及び卵巣の $3\beta$ -ol dehydrogenase 活性の比較

以上のごとく  $2\text{m}\mu\text{ moles}/5\text{ml}$  の低濃度の  $^3\text{H}$ -Pregnenolone を、1g の家兎胎盤 slice と incubation して  $0.5\% \sim 5\%$  の Progesterone を証明することにより、 $3\beta$ -ol dehydrogenase 活性を証明した。しかし文献では組織化学的及び比較的高濃度の基質を使用した生化学的実験で家兎胎盤には  $3\beta$ -ol dehydrogenase が存在しないと報告されている。従って胎盤の  $3\beta$ -ol dehydrogenase の活性を卵巣と比較するため次の実験を行なった。妊娠家兎卵巣の黄体、間質夫々 3mg, 胎盤 3mg 及び 90 mg を homogenate し DPN 1mg 存在下に  $1\mu\text{c}/10\text{m}\mu\text{ moles}$  の  $^3\text{H}$ -Pregnenolone を substrate とし P.H. 7.4, 0.1M Krebs Ringer phosphate buffer 中で 10分及び 20分 Incubate した。生成された Progesterone はエーテル抽出後 paper chromatography で分離し、再結晶法により純化し、その Progesterone 生成率を持って  $3\beta$ -ol dehydrogenase の活性とした。その際、生成された Progesterone 量はほぼ時間と比例して増加した。その結果は黄体  $10200\text{m}\mu\text{ moles}/\text{g}/\text{h}$ , 間質  $1600\text{m}\mu\text{ moles}/\text{g}/\text{h}$ , 胎盤  $50 \sim 250\text{m}\mu\text{ moles}/\text{g}/\text{h}$  で家兎胎盤の  $3\beta$ -ol dehydrogenase の活性は卵巣の  $1/50 \sim 1/100$  と考えられる。

#### 〔総括〕

(1) 家兎胎盤は  $3\beta$ -ol dehydrogenase 活性を有する。しかしその活性は卵巣の  $1/50 \sim 1/100$  と考えられる。又 histochemical には家兎胎盤の  $3\beta$ -ol dehydrogenase の活性は認められず、妊娠家兎子宮静脈血中にも Progesterone は証明出来なかった。従って妊娠家兎における胎盤性 Progesterone 分泌は極めて微量であると考えられ、家兎胎盤の  $3\beta$ -ol dehydrogenase の意義は更に検索さ

- れるべきである。又 DHEA を substrate にして biochemical に家兎胎盤には  $3\beta$ -ol dehydrogenase の活性は認められないと報告されている (Eric Bloh, et al. 1966年)。これは前述のように家兎胎盤の  $3\beta$ -ol dehydrogenase の活性がきわめて低いために生じたものと思われる。
- (2) 家兎胎盤は Pregnenolone より  $20\alpha$ -OH-P,  $20\beta$ -OH-P, Cortisol, Corticosterone, Estradiol- $17\beta$ , DHEA, Androstenedione を生合成しない。

#### 論文の審査結果の要旨

Pregnenolone より progesterone を生合成することを明かにして、家兎には  $3\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase の活性を有することを始めて証明した。しかしその活性は妊娠家兎卵巢の 1/50~1/100 である。又組織化学的には家兎胎盤にはその活性は認められず、妊娠家兎子宮静脈血中にも progesterone は証明出来なかった。又家兎胎盤は pregnenolone より  $C_{19}$ -steroids, estrogens, corticoids を生合成しない。