



Title	ヒト胎盤における男性ホルモン受容体に関する研究
Author(s)	広田, 憲二
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32678
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	ひろ 田 憲 二
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 2 1 9 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	ヒト胎盤における男性ホルモン受容体に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 中川 八郎 (副査) 教 授 倉智 敬一 教 授 松本 圭史

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

ヒト胎盤の内分泌機能としてペプチドホルモン産生、ステロイドホルモンの代謝についてはよく知られているが、ホルモンの標的臓器としての機能についてはグルココルチコイド受容体の存在が示唆されている他ほとんど知られていない。われわれはアンドロゲン作用を分子レベルで解析するため、受容体の単離精製を試みるべく、種々の組織についてアンドロゲンの結合能を測定している過程で、ヒト胎盤に高い結合能のあることを見出した。そこで、ヒト胎盤におけるアンドロゲン結合能がアンドロゲン作用を発現するための特異的受容体 (androgen receptor, AR と略す) か否か、即ち胎盤がホルモン感受性臓器であるか否かを明らかにするため本研究をおこなった。

〔方 法〕

正常分娩後に得た胎盤 (妊娠39週～41週, 男女児共に各2名) を生理食塩水で灌流, 洗浄を行い, アンドロゲン受容体測定を妨げる母体, 胎児血をできるだけ除き (この操作で Hem 含量は非灌流胎盤の10%以下になることが確認された。) -70℃で保存した。一方血中においてテストステロン (T), ジヒドロテストステロン (DHT) に高親和性を示す性ステロイド結合蛋白 (SBP と略す) と比較するため分娩時に母体血と臍帯血を採取し, その血清を-20℃で保存した。AR の測定には [³H]-R1881 (methyltrienolone, AR とプロゲステロン受容体とは結合するが, SBP とは結合しない合成ステロイド) あるいは [³H]-T を用い, 可溶性画分あるいは精製された核とインキュベーションを行った後, 結合型と遊離型を dextran coated charcoal 法 (DCC 法) (可溶性画分について) あるいは glass microfiber filter 法 (核について) で行って分離した。ただし全結合量と非特異的結合量 (500倍量の

それぞれの非標識ステロイドの共存下で incubation した試料の結合量) との差を特異的結合量とした。AR の沈降定数の測定はグリセロール密度勾配法を用いた。この際 AR を安定させるためグリセロールに 4 nM の $[^3\text{H}]$ -R1881 を添加した。遠心終了後、一定量ずつ分画をおこない、各分画について DCC 法によって遊離ステロイドを除去した。インキュベーション中におこる基質の代謝を知るため反応終了後、試料を chloroform methanol (2:1) で抽出し、溶媒部分を silicagel 60F 254 の薄層クロマトグラフィーで分析した。なお展開用の溶媒には chloroform acetone (4:1) または benzene acetone (4:1) を用いた。

[結 果]

ヒト胎盤の可溶性画分では $[^3\text{H}]$ -R1881 との結合の Scatchard plots より解離定数は $1.4 \pm 0.4 \times 10^{-9}$ M, 結合容量は 277 ± 73 f mol/mg 蛋白の値が得られた。R1881 がプロゲステロン受容体と反応する可能性があるので合成プロゲステロンホルモンである $[^3\text{H}]$ -R5020 を用いて測定したところ、その結合容量は低く、僅かに 1.4 ± 0.5 f mol/mg 蛋白であった。 $[^3\text{H}]$ -R1881 と可溶性画分とを低イオン濃度緩衝液でホモジネートし、種々のイオン濃度の緩衝液でインキュベートした後グリセロール密度勾配法で分析すると、低イオン濃度で予めインキュベートしたものは 8 S, 高イオン濃度で予めインキュベートしたものは 8 S と 4.5 S の沈降定数が得られた。また、高イオン濃度緩衝液でインキュベーションとホモジネーションをおこなったものは 4.5 S を示した。500 倍量の非標識 R1881 または T をインキュベーションする際に添加すると放射能のピークは全く認められなくなった。熱 (37°C), トリプシン処理により失活したが、DNase, RNase によって影響を受けなかった。硫酸分画をおこなうと 20~40% 飽和で沈降した。以上の実験結果は R1881 結合蛋白質の諸性質がラット前立腺等の標的臓器でみられる AR のそれらとよく一致していることを示す。しかし、 $[^3\text{H}]$ -R1881 に対する競合効果は T の方が DHT, cyproterone acetate より強いいため、前立腺等について報告されている DHT よりむしろ T の方が内因性のステロイドと考えられる。 $[^3\text{H}]$ -T を用いた場合の解離定数は $3.2 \pm 0.7 \times 10^{-9}$ M であった。

ついで核中にも同様の受容体が存在するか否かを検討したところ同様の結果が得られた。 $[^3\text{H}]$ -T を使用して測定した解離定数は $1.5 \pm 0.5 \times 10^{-8}$ M であった。また核においても $[^3\text{H}]$ -T に対して R1881, androstenedione は強い競合を示したが、DHT, cyproterone acetate, progesterone, 17- β -estradiol は弱い競合を示すに過ぎなかった。

可溶性画分とのインキュベーション中 T は estrogen (E) に変換しそれが E receptor と反応する可能性があったのでステロイド代謝産物を分析したが R1881, T の変化は認められなかった。但し、DHT は約 10% が androstandiol に変換していた。

[総 括]

ヒト胎盤に男性ホルモン受容体の存在を示し、内因性のステロイドは DHT ではなく T であることを明らかにした。T は DHT に変換後男性化作用を示すとされているが、T そのものは同化作用を持つことが知られている。したがって胎盤は T の標的臓器であり、胎盤での T による同化作用が示唆された。妊娠とともに母体血中に T が増加することと胎盤の発育およびその維持に必要な同化作用との

関係は今後の研究にまつれる。

論文の審査結果の要旨

本論文は合成アンドロゲン，R1881の特性を生かしてヒト胎盤にアンドロゲン受容体の存在することを巧みに証明した。また，この受容体は細胞質，核の双方に存在し，そのいずれもが従来男性ホルモン作用発現の活性型とされてきたジヒドロテストステロンよりテストステロンに高い親和性を示すことを明かにした。この研究は胎盤がホルモンの産生，代謝器官であるばかりでなく，ステロイドホルモンの標的臓器であることを示したものであり，更にテストステロンのもつ同化作用の機構解明に手がかりを与えるものであるので意義は大きい。したがって，医学博士の学位論文として十分価値があると認められる。