

Title	慢性エストロゲン刺激下ラットにおけるクロミフェンサイトレートの下垂体エストロゲンレセプターへの影響
Author(s)	堤, 博久
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33749
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"〉 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	つつみ 堤	ひろ 博	ひさ 久
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	6 2 2 6	号
学位授与の日付	昭和 58 年 12 月 1 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当		
学位論文題目	慢性エストロゲン刺激下ラットにおけるクロミフェンサイトレートの 下垂体エストロゲンレセプターへの影響		
論文審査委員	(主査) 教授 倉智 敬一		
	(副査) 教授 坂本 幸哉 教授 松本 圭史		

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

排卵誘発剤として広く臨床的に応用されているクロミフェンサイトレート (CL) は、間脳-下垂体系においてエストロゲンレセプター (ER) を介して抗エストロゲン剤として作用を発揮するものと考えられている。また CL を含む抗エストロゲン剤の作用機作についても、細胞質 ER の再生障害、核内における抗エストロゲン剤-ER 複合体の異常保留あるいはエストロゲンと抗エストロゲン剤ではアクセプターサイトが異なる等の種々の報告が今迄になされているが、いまだに一致した見解は得られていない。またこれ迄の数多くの *in vivo* における成績は、エストロゲン非存在下の実験動物を用いておこなわれているが、CL が排卵誘発剤として用いられる場合に、エストロゲン活性を有する症例にのみ有効であることから、本研究では、去勢ラットのみでなく、慢性エストロゲン刺激下のラットに CL を投与して、下垂体 ER の動態および下垂体の反応性を検討し、 17β -estradiol (E_2) 投与時のそれと比較することにより、CL の作用機作の一端を明らかにしようと試みた。

(方法ならびに成績)

実験には生後 8 週齢、体重 200 g の Wistar 系成熟雌ラットを去勢して用い、慢性エストロゲン刺激は、去勢後に 10% の E_2 を含む 10 mg の cholesterol ペレットを皮下に移植することにより行った。ペレット移植 7 日後に E_2 5 μ g または CL 200 μ g を腹腔内に 1 回投与した。各実験群とも 5 匹の下垂体を 2.5 ml の TEM (10 mM Tris, 1.5 mM EDTA, 2 mM mercaptoethanol, pH 7.4) buffer でホモゲナイズしたのち、核分画と細胞質分画を分離採取した。核は buffer にて洗浄した後に、細胞質は 0.2 ml の 5% charcoal-0.05% dextran と 15 分間 incubate したのちに ER の測定に供した。なお ER の測

定は $5 \text{ nM} (^3\text{H})\text{-E}_2$ を用い、核は 35°C 1 時間、細胞質は 25°C 2 時間の incubation による exchange assay で測定した。核、細胞質とも ER 濃度は下垂体 10 mg あたりの fmole で表示した。断頭採血して得られた血清中の LH と PRL は 2 抗体法 radioimmunoassay で測定した。

- ① 去勢ラット下垂体 ER の解離定数 (Kd), 最大結合部位数 (MBS) を Scatchard plot にて分析すると $1.7 \times 10^{-10} \text{ M}$, $70 \text{ fmole/mg protein}$ であった。なお同時に行った視床下部 ER の Kd は $2.8 \times 10^{-10} \text{ M}$ となり、下垂体と同じく高親和性を示したが、MBS は $9.6 \text{ fmole/mg protein}$ と極めて低値であった。
- ② エストロゲンの慢性刺激によって下垂体重量は $10.8 \pm 0.5 \text{ mg}$ から $15.3 \pm 1.1 \text{ mg}$ と有意に増加し、血中 PRL 値の上昇、血中 LH 値の低下も有意であった。なおこの条件下で CL $200 \mu\text{g}$ を投与したところ、4 8 時間後に下垂体重量は、 $10.4 \pm 1.3 \text{ mg}$ と有意に減少した。
- ③ エストロゲンによる慢性刺激 7 日後の下垂体 ER は $65 \pm 7 \text{ fmole}$ であり、去勢時の $81 \pm 5 \text{ fmole}$ と有意な差はなく、ER は約 40% が核内に、60% が細胞質に分布した。この条件下で $5 \mu\text{g}$ の E_2 を腹腔内に投与すると、1 時間で核 ER は 25 ± 2 から $37 \pm 4 \text{ fmole}$ と有意に上昇したが、4 時間後には $25 \pm 3 \text{ fmole}$ と前値に復した。一方細胞質 ER も 1 時間後には 40 ± 6 から $17 \pm 1 \text{ fmole}$ と下降したが 4 時間後には $29 \pm 5 \text{ fmole}$ となり、去勢時に E_2 を投与した場合と全く異なる動態を示した。
- ④ エストロゲンによる慢性刺激 7 日後に CL $200 \mu\text{g}$ を腹腔内投与すると、細胞質 ER は徐々に減少し、4 時間後には $4 \pm 0.3 \text{ fmole}$ となり、一方核 ER は $62 \pm 5 \text{ fmole}$ と著しく上昇し、これらの値は CL 投与 2 4 時間後まで持続した。またこの核 ER の上昇は、同一条件下で E_2 $5 \mu\text{g}$ 投与後 1 時間における上昇に比して有意に高値を示した。なお E_2 慢性刺激下における CL 投与後の ER の動態は去勢時の CL 投与と同様のパターンを示した。

(総括)

エストロゲンによる慢性刺激をおこなったラットに CL を投与すると、下垂体重量が有意に低下したので CL は下垂体において抗エストロゲンとして作用することを明らかにした。また CL 投与後の下垂体 ER の動態は、エストロゲンによる慢性刺激下に E_2 を投与した場合とは全く異なり、核内 ER が異常高値を持続し細胞質 ER は低値を維持するということを見出した。このことからクロミフェンと E_2 では下垂体細胞における核内のアクセプターサイトが異なる可能性が強く示唆された。

論文の審査結果の要旨

本論文は、去勢ならびにエストロゲン慢性刺激ラットに clomiphene (CL) または estradiol- 17β (E_2) を投与して、その後の下垂体の反応性とエストロゲンレセプター (ER) の動態を比較検討することにより CL の作用機序を明らかにしようとしたものである。その結果、エストロゲン刺激によって増加した下垂体重量を CL は有意に低下させることから、下垂体において CL は抗エストロゲン作用を発揮することを初めて明らかにした。また、CL 投与後の ER の動態は E_2 投与後の場合とは違なり、去勢時とエストロゲン慢性刺激下と、全く同様であることから、CL と E_2 とでは下垂体における核内

のアクセプターサイトが異なる可能性を強く示唆した。これらの成績はCLの下垂体における作用の新知見と言えよう。