



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | ラット卵巣内モノアミン酸化酵素（MAO）の組織化学的検討                                                                                                                    |
| Author(s)    | 吉本, 泰弘                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1987, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/35482">https://hdl.handle.net/11094/35482</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">大阪大学の博士論文について</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) | 吉                              | 本       | 泰  | 弘        |
| 学位の種類   | 医                              | 学       | 博  | 士        |
| 学位記番号   | 第                              | 7 5 4 5 | 号  |          |
| 学位授与の日付 | 昭和 62 年 2 月 13 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  | ラット卵巣内モノアミン酸化酵素 (MAO) の組織化学的検討 |         |    |          |
| 論文審査委員  | (主査)                           |         |    |          |
|         | 教授                             | 谷澤      | 修  |          |
|         | (副査)                           |         |    |          |
|         | 教授                             | 松本      | 圭史 | 教授 藤田 尚男 |

## 論文内容の要旨

### [目 的]

卵巣内には catecholamine や serotonin などの生理活性アミンの代謝酵素である monoamine oxidase (MAO) が存在し、排卵現象や性ステロイドホルモンの産生及び代謝に関与している事が示唆されている。そこでラットを用い、最近、我々が開発した MAO A, B 型共通基質 tyramine を使用する、より高感度で安定した coupled-peroxidation 法により、ラット卵巣内における MAO 活性の生理的意義の一端を、組織化学的方法により明らかにしようとした。

### [対象および方法]

動物は膣スミアで発情前期 (PE), 発情期 (E), 発情後期 (M), 及び発情間期 (D) の 4 日型の規則的な性周期を 3 周期以上確認しえた Wistar-Imamichi 系成熟雌ラットを使用した。各周期のラットを 14:00 に断頭屠殺後、直ちに卵巣を摘出し、生理食塩水にて血液を洗浄の後、固定群と無固定群を作成した。実験は定性的及び定量的実験より成り、後者では無固定群を用いた。固定群は 1% glutaraldehyde と 0.5% paraformaldehyde を含む 4℃ の 0.1M リン酸緩衝液 (PB, pH7.4) に 30 分間浸漬固定した後、15% 蔗糖を含む 0.1M PB に一晚浸漬し、一方無固定群は 15% 蔗糖を含む 0.1M PB に一晚浸漬した。翌日、各組織を -80℃ で急速冷結しクリオスタットにて 10μ 厚の切片を作製し、ゼラチンスライドガラスに直接貼布した後、0.005% diaminobenzidine, 0.1% horse radish peroxidase, 0.075% tyramine hydrochloride, 0.6% nickel ammonium sulfate, 0.065% sodium azide を含む 0.05M tris 塩酸緩衝液 (pH7.6) より成る incubation medium で 4℃, 48 時間反応、発色させた後、乾燥させた。次いで流水にて洗浄の後アルコールにて脱水し、エンタランにて包埋した。又、対照群では tyramine を除

いた液を用いた。次に卵巣内MAOの性質を分析するために、以下の2つの実験も行なった。

- 1) A型MAOの選択的阻害剤であるclorgylineおよびB型MAOの選択的阻害剤であるdeprenylの各々 $10^{-14}$ ~ $10^{-5}$  Mおよび $10^{-11}$ ~ $10^{-4}$  Mの濃度で15分間前処置後、前述の反応を行った阻害剤実験。
- 2) tyramine, A型MAOの基質であるseuotonin及びB型MAOの基質である $\beta$ -phenylethylamineの各々 $10^{-5}$ ~ $10^{-1}$  Mの濃度での基質特異性の実験である。MAO活性はCarl Zeissのmicroscope photometerにより600nmにおける吸光度をO.D.として測定した。

#### [成 績]

- 1) MAO活性の局在および強度：MAO反応による産物はblue-blackの沈澱物として認められ、黄体、間質腺および血管壁に存在したが、卵胞には認められなかった。また、その活性は黄体が最強であり、各黄体間に強度差がみられた。ラット黄体はその形態及び黄体内への結合織や血管の侵入の程度にしたがって、排卵後3世代に分類することができるが、MAO活性は第一世代の黄体にはみられなかったが、第2世代のE期に出現しPE期に向かって漸増した後、更に第3世代になって急増した。しかし第3世代以降、黄体は萎縮し間質腺と区別できなかった。一方、血管壁には周期の各時期ともMAO活性が認められたが、PE期が最強であった。
- 2) MAOの性質：阻害剤の実験では黄体でclorgylineで前処置した場合、MAO活性は $10^{-5}$  Mまでは影響を受けなかったが、 $10^{-5}$  Mより抑制され始め $10^{-5}$  M以上では完全に抑制、その阻害曲線は単純S字型であった。一方deprenylで前処置した場合にもその阻害曲線は同様であったが、clorgylineに比し抑制に高濃度を要した。一方基質特異性の実験ではserotoninを基質とした場合、tyramineと同様の活性を認めたが、 $\beta$ -phenylethylamineを基質とした場合は、最強の活性を示す第3世代のPE期黄体でも弱い活性しか認められなかった。血管壁のMAOは、serotoninを基質とした際には認められず、 $\beta$ -phenylethylamineでは明らかに認められた。

#### [総 括]

- 1) 新しい組織化学的方法により、ラット卵巣内にMAO活性が存在し、黄体、間質腺および血管壁に局在することを明らかにした。
- 2) 黄体の活性はその世代を経るにつれて、段階的に増強することを吸光度を測定することにより定量的に証明した。
- 3) 選択的阻害剤および基質特異性の実験から、ラット卵巣にはA及びB型MAOが存在し、黄体ではA型MAOが優位であり、血管壁にはB型MAOのみが存在することを初めて明らかにした。
- 4) 黄体のMAO活性は、これまでに報告された黄体における $20\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase活性の動きと極めて平行しているが、 $\Delta^5-3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenaseの動きとは無関係であることから、MAOは生理活性アミンの調節を介してprogesterone代謝過程と密接な関係を有することが示唆された。
- 5) 血管壁にもMAO活性が存在するが4日周期で変化し、発情前期に最強となることから、活性アミンが排卵に向かって液性情報の一つである可能性が示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、著者らが新しく開発した共役過酸化反応法を用い、ラット卵巢内におけるモノアミン酸化酵素(MAO)の分布、性質及び変動を調べたものである。

本研究により卵胞及び第一世代の黄体は陰性であるのに対し、第二、第三と黄体の世代を経るに従い酵素活性が出現、増加すること及び血管壁に存在する酵素活性は性周期に伴って変動し、発情前期に最も高いことが明らかとなった。更に黄体と血管壁に存在する酵素は性質を異にし、各々A型およびB型であった。

これらの事実は本酵素ないし、その基質である生理活性アミンが卵巢におけるステロイド代謝や排卵の機構に関与することを、強く示唆するものである。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。