

氏 名 (本籍)	ほし 星	あい 合	ひろし 昊
学 位 の 種 類	医	学	博 士
学 位 記 番 号	医	第	1092 号
学 位 授 与 年 月 日	昭 和 53 年 2 月 22 日		
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当		
最 終 学 歴	昭 和 46 年 3 月 東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業		
学 位 論 文 題 目	妊 娠 ・ 産 褥 経 過 に お け る ラ ッ ト 乳 腺 の 細 胞 質 エ ス ト ロ ゲ ン レ セ プ タ ー の 変 動 に 関 す る 研 究		

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 鈴 木 雅 洲 教 授 吉 永 馨
教 授 鈴 木 泰 三

論文内容要旨

乳汁分泌機序に関与すると言われるホルモンは、prolactin・estrogenを始め極めて多種に及ぶ。しかし、それらのホルモンは生理的に乳汁分泌機序に影響を与えるが、乳腺を標的器官として作用するのか、feedback機序を介して乳腺に直接作用するホルモンの血中濃度を変化させることにより作用するのかは余り明確ではなかった。一方、ホルモンの作用機序に関する研究は1960年代後半よりホルモンレセプター概念が確立され、子宮のエストロゲンレセプターを始め種々の器官でホルモンレセプターが証明されている。乳腺においても、prolactin・growth hormone・human placental lactogenなどのいわゆる催乳ホルモン、estrogen, glucocorticoidのレセプターが証明されている。そこで本実験は乳汁分泌に抑制的に作用するestrogenの細胞質レセプターの最大結合部位数が、妊娠および産褥経過、授乳の有無、薬剤投与などによりどのように変動するかを検討し、さらに数種のステロイドホルモンと乳腺のエストロゲンレセプターが結合するか否か、血中プロラクチン濃度と最大結合部位数の関連なども検討し、乳汁分泌機序の一担の解明を試みた。

実験方法

Wistar系雌ラットの妊娠10日目、妊娠20日目、分娩当日、産褥5日目授乳群および非授乳群、産褥10日目授乳および非授乳群、分娩当日に去勢した産褥10日目授乳群（去勢群）、分娩当日および5日目にestrogen・benzoate各1mg投与した群（E₂投与群）、testosterone・propionate各1mg投与した群（T投与群）、CB 154各0.6mg投与した群（CB 154投与群）の合計11群の乳腺について実験した。ラットを断頭屠殺し採血した後、乳腺を摘出し、1.5 mM EDTAを含む0.01 M Tris - HCl Buffer・pH 7.4でHomogenizeし、1000×G、15分遠心して粗な沈澱を落とし、上清を105000×G、90分間遠心して得られた上清をBinding fractionとした。Binding fractionと³H-estradiol（0.044～1.2 nM）とを反応させ、さらに非標識estradiolと競合させて抑制された量をSpecific Bindingとするexchange assayをおこなった。Specific Bindingと³H-estradiolとのDose-Response CurveおよびScatchard plotを描き、最大結合部位数と解離定数を算出した。

結 果

- ① 本実験で使用したBinding Fractionにはエストロゲンレセプターが存在し、解離定数は $3.1 \pm 1.9 \times 10^{-10} M$ であった。結合反応は15分ですでに現われ、60分で飽和した。
- ② 乳腺の細胞質エストロゲンレセプターの最大結合部位数は妊娠・産褥経過で変動した。
 - 1) 妊娠経過中は $2.5 \sim 3.8 \text{ pM}/\text{mg} \cdot \text{protein}$ (以下は略す)で著明な変動はないが、分娩後は当日ですでに7.6と有意に上昇した。
 - 2) 産褥に授乳させると、5日目では8.0で分娩当日と差はないが、10日目では58.9と約7~8倍の有意な上昇を見た。
- ③ 乳腺の細胞質エストロゲンレセプターの最大結合部位数を産褥の授乳群と非授乳群で比較した。産褥5日目非授乳群は3.6、産褥10日目非授乳群は3.2と妊娠経過中と同様の低値を示した。授乳群と比較すると産褥5日目では $1/3$ 、産褥10日目では $1/15$ と減少していた。
- ④ ホルモン負荷による乳腺の細胞質エストロゲンレセプターの最大結合部位数の変動を検討した。 E_2 投与群は本実験法では定量できない程減少していた。去勢群は10.0、投与群は9.3、CB 154投与群は10.4であった。この結果を無処置の産褥10日目授乳群と比較すると、 E_2 投与群以外の3群は約3倍の高値であった。
- ⑤ *in Vitro*でProgesterone, Testosterone, cortisolを各々競合させ、 3H -estradiolとの結合反応に影響するか否かを検討した。しかし、いずれもレセプターサイトでの拮抗反応を証明することはできなかった。
- ⑥ 乳腺の細胞質エストロゲンレセプターの最大結合部位数の変動要因を検討する一つの指標として、血清prolactin値との一次相関の有無を調べた。各群のSampleのうち血清prolactinを測定できた32匹で試みたが一次相関は認められなかった。

考 案

乳腺の細胞質エストロゲンレセプターの最大結合部位数は産褥の授乳経過により変動する。しかし乳汁分泌に抑制的に作用するestrogenのレセプターが産褥経過が増すと共にすなわち乳汁分泌機能が亢進すると増加した。この事実は授乳の有無による実験の結果で著明となった。すなわち授乳群が非授乳群よりも多かった。このことから乳汁分泌に促進的に作用する血清prolactinとの相関を検討したが、一次相関はなかった。現段階では、乳汁分泌機能が亢進するとエストロゲンレセプターも増加するものと考えられた。

審査結果の要旨

乳汁分泌機序におけるエストロゲンの役割を解明するために、乳腺の細胞質レセプターの最大結合部位数の変動を検討した研究である。

方法は、ウィスター系ラットの乳腺の 105000×G の上清を BINDING FRACTION とした。BINDING FRACTION と非標識エストラディオール 4℃ で 30 分間 PREINCUBATION し、その後 ³H-ESTRADIOL を加えて、4℃ で 60 分間 INCUBATION する EXCHANGE ASSAY により特異的結合能を求めた。得られた結果より用量反応曲線と SCATCHARD PLOT を描き、最大結合部位数と解離定数を算出した。

結果をまとめると、下記のごとくである。

- ① 乳腺の 105000×G の上清にはエストロゲンレセプターが存在し、解離定数は $3.1 \pm 1.9 \times 10^{-10} \text{M}$ であった。結合反応は 15 分で現われ、60 分で飽和に達した。
 - ② 乳腺の細胞質エストロゲンレセプターの最大結合部位数は、妊娠産褥経過で変動した。
 - i) 妊娠経過中は 2.5～3.8 P. MOL./MG. PROTEIN で著明な変動はないが、分娩後は当日ですでに 7.6 P. MOL./MG. PROTEIN と有意に上昇した。
 - ii) 産褥に授乳させると、5 日目では 8.0 P. MOL./MG. PROTEIN と分娩当日と差はないが、10 日目では 58.9 P. MOL./MG. PROTEIN と約 7～8 倍の著明な増加を見た。
 - ③ 乳腺の細胞質エストロゲンレセプターの最大結合部位数を、産褥の授乳と非授乳で比較した。産褥 5 日目では非授乳々腺は授乳々腺の 1/3、産褥 10 日目では約 1/15 に有意に減少した。しかし、両日の非授乳々腺の最大結合部位数は、共に妊娠経過中と類似の低値を示した。
 - ④ 分娩当日に去勢、または分娩当日および 5 日目に ESTRADIOL, TESTOSTERONE, CB-154 を投与し、産褥 10 日目に実験した。乳腺の最大結合部位数は、ESTRADIOL 投与群では定量できない程減少していたが、他の 3 群は同日の産褥授乳々腺の 1/5 に減少はしているが、同日の非授乳々腺の 2～3 倍であった。
 - ⑤ IN VITRO で TESTOSTERONE, PROGESTERONE, CORTISOL を添加し、拮抗反応の有無を見たが、いずれも拮抗を証明することはできなかった。
 - ⑥ 各実験結果の最大結合部位数と血清プロラクチン値の相関を見たが、一次相関はなかった
- 以上の研究は、妊娠・産褥経過を通して乳腺機能と比較しながら、エストロゲンレセプターの変動をみたところ、および種々の内分泌負荷を加えて同様の検討を加えたところに価値があり、学位を授与するに値するものと判定した。