

氏名（本籍）	川 鱈 市 郎（京都府）
学 位 の 種 類	博 士（医学）
学位授与番号	乙 第 884 号
学位授与日付	平成 5 年 12 月 15 日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	女性生殖生理における estriol 結合部位の生物学的意義
審 査 委 員	（主査）教授 玉 舎 輝 彦 （副査）教授 野 澤 義 則 教授 安 田 圭 吾

論 文 内 容 の 要 旨

目 的

エストロゲンの女性生殖生理におよぼす作用は大であり、そのうちエストラジオール（ E_2 ）は生体内で最強であり、増殖性が強い。しかし、エストリオール（ E_3 ）は弱く両者では標的組織や生物学的効果も異なっている。したがって、いわゆるエストロゲンの作用部位であるエストロゲン受容体が単一ではなく、 E_2 と E_3 に独立した結合部位が存在する可能性があり、またその特徴を明らかにした。

研究方法

1) 未熟雌ウサギに E_2 もしくは E_3 を毎日一定期間皮下注射した。また抗エストロゲン剤であるダナゾールや酢酸メドロキシプロゲステロン（MPA）は E_2 とともに、未熟雌ウサギに5日間もしくは10日間皮下注射した。ウサギ子宮を取り出しホモゲナイズした後、これを800XG、さらに193,400XGにて遠心分離し、この上清をサイトソール分画とした。800XG沈査をKCl液でホモゲナイズし、さらに193,400XGで遠心分離し、その上清を核KCl抽出分画とした。193,400XG沈査は、緩衝液を加えてホモゲナイズし懸濁液を得、核KCl非抽出分画とした。下垂体を数匹のウサギから得て、同様に試料を作成した。臨床検体は湿重量1gで、当大学附属病院で患者から手術治療時に摘出されたもので、患者から使用許可を得たものである。

2) 子宮サイトソール分画と $[^3H]$ - E_2 もしくは $[^3H]$ - E_3 との結合を E_2 、 E_3 、ethynyl-estradiol（ EE_2 ）、diethylstilbestrol（DES）で、どの程度阻害できるかでエストロゲン結合特異性を検討した。サイトソール分画を1.8nM $[^3H]$ - E_2 もしくは $[^3H]$ - E_3 と1～10000倍量の E_2 、 EE_2 、DESなどとインキュベートし、結合していないリガンドをチャーコール処理し、上清の結合型の $[^3H]$ - E_2 もしくは $[^3H]$ - E_3 の放射活性を測定した。結果をなんら阻害物質が存在ときに比べて、どの程度阻害されたかでエストロゲンとの親和性を表現した。

3) 試料を0.2～5.4nM $[^3H]$ - E_2 もしくは $[^3H]$ - E_3 と200倍量のdihydrotestosterone（DHT）を加えるだけで、もしくはさらに200倍量の E_2 、 E_3 を加えてインキュベートした。試料の結合型の放射活性を測定し、これより飽和曲線を描き、Scatchard plot解析により解離定数および最大結合部位数を算出した。総最大結合部位数はサイトソール分画、核KCl抽出分画、核KCl非抽出分画の最大結合部位数の和とした。

4) サイトソール分画と0.2～5.4nM $[^3H]$ - E_2 もしくは $[^3H]$ - E_3 と200倍量のDHTだけで、もしくはさらに50 nM抗エストロゲン剤であるクロミフェンまたはタモキシフェンを加えて、インキュベートした。試料の結合型の放射活性を測定し、飽和曲線を描き、double reciprocal解析により阻害形式および阻害定数を算出した。

5) 推計学的処理はNewman-Keuls test, regression analysis, S-tuden's t-testで行った。

結 果

1) ウサギ子宮に E_2 や E_3 と特異的に結合する部位（ E_2R 、 E_3R ）が存在し、 E_2R や E_3R の誘導には E_3 に比べて E_2 の方が効果的である。

2) 抗エストロゲン剤であるクロミフェンやタモキシフェンは、いわゆるエストロゲン受容体に結合して作用をおよぼすものと考えられている。 E_3 は E_2 作用に結抗する場合がある。クロミフェンは E_2R にくらべて E_3R に

約倍の親和性がある。また子宮では E_2R 優位で、下垂体では E_3R が優位に存在する。したがって、視床下部－下垂体系では抗エストロゲン剤が E_3R を介して効果を発現しうる可能性が考えられる。

3) エストロゲンによって増殖する子宮内膜症の治療剤であるダナゾールやMPAは、エストロゲンに誘導される子宮の発育を阻害する。これらのステロイドの抗エストロゲン作用は、いわゆるエストロゲン受容体との関連が低いとされている。ダナゾールは大量ではウサギの子宮重量および E_2R や E_3R の濃度を減少させる。ダナゾールはMPAと異なって、 E_3R に親和性を示すため E_3R を介して抗エストロゲン作用している可能性もある。

4) ヒト女性生殖器や子宮内膜癌はエストロゲンと依存性発育をする場合があり、子宮内膜癌には E_3R が高濃度出現しているので、抗エストロゲン作用と関連して E_3R を介した調節機構が存在すると考えられる。

以上の成績より、エストロゲンである E_2 や E_3 は生物的作用（効果）を異にし、それぞれ個有の受容体（ E_2R , E_3R ）を有し、 E_2 で誘導される。排卵誘発剤である抗エストロゲン剤（クロミフェン、タモキシフェン）は視床下部－下垂体系の E_3R を介して、抗子宮内膜症剤（ダナゾール）は異所性子宮内膜の E_3R を介して主にしかも特徴的にそれぞれ作用し、子宮内膜癌でも、 E_3R を介して抗腫瘍作用が存在する可能性をしめした。

論文審査の結果の要旨

申請者、川鏑市郎はエストロゲンである E_2 , E_3 の固有の受容体が存在することを証明し、その生物学的意義を明らかにした。本研究の成果は、エストロゲンの生物学を理解するのに少なからず貢献するものである。

〔主論文公表誌〕

女性生殖生理における estriol 結合部位の生物学的意義

岐阜大医紀 41(4): 679～691, 1993