

ラット生殖器系におけるプロスタグランジン F_{2α} 代謝の 調節機構およびその内分泌生理・薬理的意義

田村和広*, 向後博司**

1. 研究の背景

プロスタグランジン (PG) 発見の発端となった生殖生理領域でのヒト精液による子宮片の収縮・弛緩作用の観察から早くも 70 年となる。この間、PG の生理的並びに病態生理学的役割の解明が進み、循環器系、消化器系、免疫系、神経系などあらゆる生体機能に必須の役割を持つことが明らかとなった。また、最初の PG 関連医薬品も産婦人科領域から発展・開発され、その後種々の領域において PG 関連の医薬品が臨床的に応用されるようになった(1)。PG は極めて微量で強力かつ多彩な生理作用を示し、生殖器系においては排卵、黄体形成と退縮、受精、着床、妊娠、分娩等に必須の役割が示されている(2)。これらの生理機能は非常に巧妙に制御されており各組織で生理作用を發揮

する PG の量的・質的な違いも当然、多様である。生体内で PG は必要に応じて産生・分泌され、作用発現後は速やかに分解される。従って、PG 代謝、つまり産生系と異化系のバランスを考慮することは PG の正確な作用を把握する上で非常に重要である。1975 年以前の我々の研究室(男子部・薬理学教室)においては、主としてエストロゲン (E₂) の作用発現における脂質、特にリン脂質の役割について研究を行っていたが、PG 前駆体がリン脂質であることから E₂ 作用と PG (特にプライマリー PG である PGF_{2α}, PGE₂ に着目して) の関連性に関する研究へと進展した。研究を開始した当時 (1980 年前後) はホスホリパーゼ A₂ やシクロオキシゲナーゼによる PG の合成経路のみが注目されていたのであるが (図 1)、私共は PG

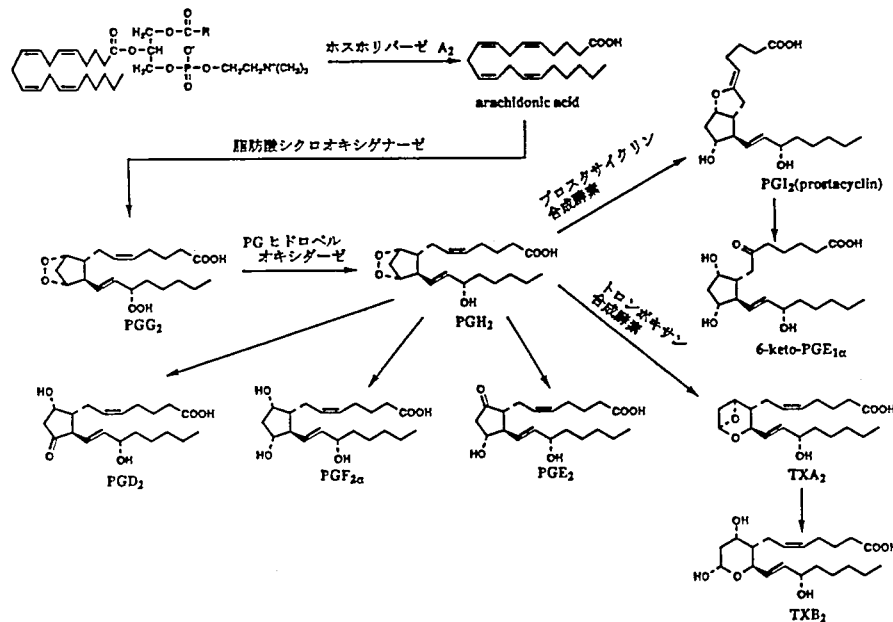


図 1. リン脂質からの各プロスタグランジンへの合成経路

リン脂質(ホスファチジルコリン)にホスホリパーゼ A₂ が作用して細胞膜からアラキドン酸が遊離され、アラキドン酸カスケードが開始する。

* 第 2 薬理学教室・助手 ** 第 2 薬理学教室・教授

$F_{2\alpha}$ の異化経路を含めた代謝調節を検討してきた。その研究のなかで、卵巣においては $PGF_{2\alpha}$ から生理活性の低い及び活性を示さない2つの代謝産物を経て、生理活性を有する 13,14 dihydro- $PGF_{2\alpha}$ (13,14 H_2 - $PGF_{2\alpha}$) が生成されることを私共が最初に見出し報告した(3)。また、この生成能が下垂体からの黄体刺激ホルモン (Luteinizing hormone) 分泌の良好な指標となり(4)、さらに排卵現象と密接な関係にあることを示唆した(5)。本稿では、この生殖機能に重要な役割をもつ主要な PG である $PGF_{2\alpha}$ 及びその代謝産物である 13,14 H_2 - $PGF_{2\alpha}$ の雌性生殖臓器内での役割またその代謝系の調節機構に関して、さらにこれらの生殖内分泌系の PG 代謝産物の測定が薬物の作用機構の解明にも役立つという解析結果などについて、東京薬科大学・薬学部が生命科学部を創設し総合大学となつての第一号の東京薬科大学紀要出版を記念し、総説として寄稿させていただくことにした。

2. 子宮における $PGF_{2\alpha}$ 産生と異化に及ぼす卵巣ステロイドホルモンの作用

子宮内膜は周知のごとく性周期間あるいは妊娠により著明な形態変化を示す。子宮内膜は $PGF_{2\alpha}$ 、 PGE_2 産生能を有し、その分泌細胞は内膜腺上皮細胞及び間質細胞であることが知られている。ここで産生された PG の生理作用は生理的状态により異なるが、子宮収縮作用ばかりでなく子宮細胞の増殖と分化に影響を与えていると考えられる。しかし、未だにその詳細は明らかにはなっていない。子宮組織から PG が産生されることが着目されたのは月経血中の平滑筋収縮物質が PG と同定されてからのことである(6)。また、子宮で産生された $PGF_{2\alpha}$ は子宮卵巣静脈・卵巣動脈を介して卵巣へと移行し、黄体ホルモンの分泌を抑制する卵巣黄体の退縮因子として働くことが示唆された(7)。このことに関連して、我々もラット子宮管腔内へ微量(50ng)の $PGF_{2\alpha}$ を投与すると卵巣内ステロイド量、特にプロゲステロン (PRG) 量が著明に低下すること、また、子宮管腔内にインドメタシンを微量(200ng)投与することにより逆に卵巣ステロイド含

量が増加することを観察している。さらに、この $PGF_{2\alpha}$ の作用は卵管を結紮・切断すると半減することを示し、子宮内 PG の作用機序として卵管経由の経路の存在を証明した(8,9)。

相澤ら(1961年)は、卵巣摘出又は未成熟ラットの子宮においてリン脂質代謝が *in vitro*, *in vivo* での E_2 処置により高進することを報告した(10)。この代謝高進作用は非常に感受性が高く、初期の E_2 作用の鋭敏な指標となるものである。その後、PGの前駆体が不飽和脂肪酸であることが解明されたことや、また $PGF_{2\alpha}$ 含量は発情前期に最高値を示し、卵巣ステロイドレベルもその時期にピークを示すことから子宮での $PGF_{2\alpha}$ 産生に卵巣ステロイドが影響を及ぼしていることが予想された。 E_2 の作用メカニズムを知る手がかりを得る上においても E_2 の子宮内 PG 動態に対する作用の検討が当時急務だった。卵巣を摘出したラットに E_2 を単回投与し、子宮内 PG 代謝をみると子宮内 $PGF_{2\alpha}$ と PGE_2 含量は投与後6時間以内に増加していたが、子宮における 3H ラベルのアラキドン酸から PG への変換は同時間では変化がなかった(図2)(11)。しかし、 3H ラベルの PG は E_2 投与後6時間以内に増加していた。これらの結果は、 E_2 による PG 合成の高進はリン脂質代謝の高進により起きたことを示している。 $PGF_{2\alpha}$ 合成に引き続き、 $PGF_{2\alpha}$ 異化についても同様に、卵巣摘出ラットの子宮を用いて検討した。子宮での $PGF_{2\alpha}$ 異化は図3に示すように $PGF_{2\alpha} \rightarrow 15Keto PGF_{2\alpha} \rightarrow 13,14 dihydro-15Keto PGF_{2\alpha}$ の順に代謝される。即ち、先ず $PGF_{2\alpha}$ は 15-Hydroxy PG dehydrogenase ($PGDH[EC.1.1.1.141]$) により代謝を受け、15Keto $PGF_{2\alpha}$ (15K- $PGF_{2\alpha}$) となり生理活性の低下を来し、次いで Δ^{13} -PG reductase により 13-14 位の二重結合が還元飽和され、生理活性のない 13,14 dihydro-15 Keto $PGF_{2\alpha}$ (15KD- $PGF_{2\alpha}$) に不可逆的に代謝される。図4に示すようにこの異化についても合成系と同様に E_2 と PRG 各々単独処置で高進されまた両者のホルモンの併用処置によりこの効果は増強される(12)。しかし、aの実験で用いている E_2 の用量は高用量であり、cに示した E_2 (1 μg) の

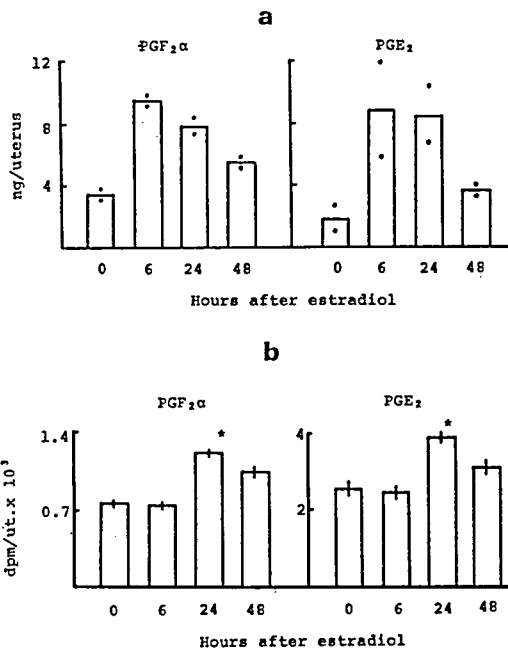


図2. ラット子宮内 PG 含量(a)と ³H ラベルのアラキドン酸からの PGF_{2α} と PGE₂ への取り込み(b)に対するエストラジオールの効果

(a: 各点は6匹の動物から得られた平均値である。b: カラムは5匹の動物から得られた平均値とSEを示す。★p<0.05: 0時間の対照群との有意差)

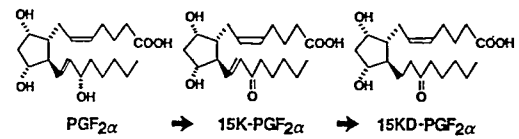


図3. ラット子宮における PGF_{2α} 異化代謝経路

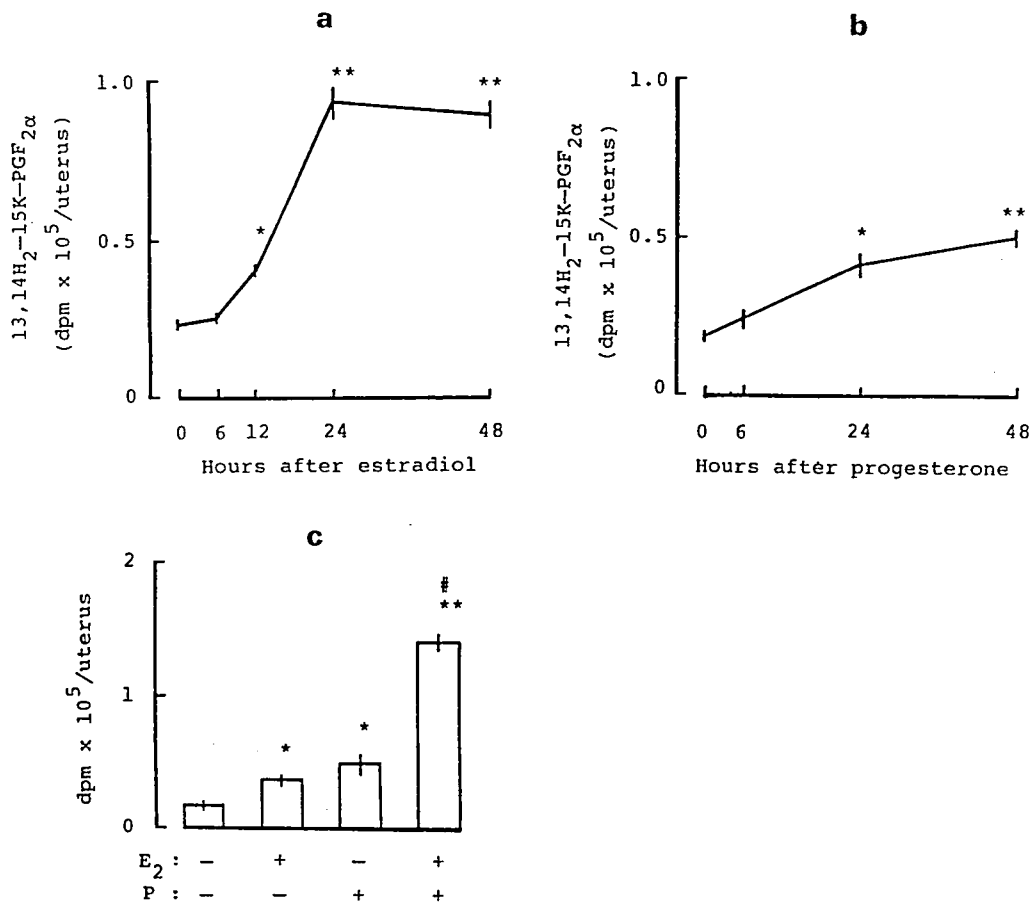


図4. ラット子宮における PGF_{2α} の 15KD-PGF_{2α} への異化代謝に対するエストラジオール (E₂) (a) とプロゲステロン (PRG) (b) の効果とその併用効果 (c)

(a) 卵巣摘出動物に E₂ (10 μg/rat, s.c.) 投与後の経時変化。各点は平均値±SE (n=5) を示す。★p<0.01, ★★p<0.001: 0時間の対照群との有意差を示す。(b) 卵巣摘出動物に PRG (1 mg/rat, s.c.) 投与後の経日変化。各点は平均値±SE (n=5) を示す。(c) 卵巣摘出動物に E₂ (1 μg/rat) と PRG (1 mg/rat) を3日間投与し、24時間後に異化代謝能を測定した。★p<0.01, ★★p<0.001: 無処置群との有意差を示す。# p<0.001: PRG 投与群との有意差を示す。

生理学的な用量ではその単独での促進効果は弱い。よって、子宮でのPGF_{2α}異化はE₂とPRG両者によって相乗的に促進的に調節されるが、PRGの方が重要であると思われる。子宮内膜中PGF_{2α}とPGE₂産生能は増殖期に比較して分泌期に高く(約3倍程度)、特に月経前期に最大となることが報告されている(13)。このことは、両ホルモンが生理的にPGF_{2α}産生を刺激していることを示唆している。さらに、このような性周期間における酵素活性の差異を示す報告として、子宮内膜のPGDH活性がPRGにより強く制御されていることを示した報告もある(14)。子宮内膜組織では月経期が開始する約1日前に組織学的に血液のうっ滞と血栓の形成が起こるが、引き続き子宮らせん動脈の血管の収縮と壊死が起こり内膜機能層は剥離して脱落する。この血流の変化と動脈の攣縮にPGF_{2α}をはじめとするPGが関与し、子宮内膜組織の虚血を誘発させるらしい。さらに、月経血中に高濃度に存在するPGF_{2α}は子宮筋層に働き、子宮筋を収縮させて止血にも関与すると推察される。

3. 卵巣内PGF_{2α}異化代謝系の特異性

我々は、卵巣におけるPGF_{2α}異化系は子宮とは大

きく違うことを見出した(1980年)(3)。卵巣組織ではPGF_{2α}が不活性な15KD-PGF_{2α}に異化された後さらに代謝を受け、15位のKetone基が還元された結果、生理活性の強い13,14H₂-PGF_{2α}が生成される(図5)。卵巣においてはこの生成能が他の臓器と比べ非常

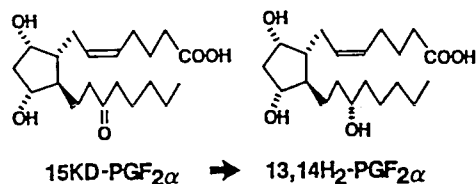


図5. ラット卵巣における15KD-PGF_{2α}から13,14H₂-PGF_{2α}

に高い。ラット卵巣ホモジネート中でPGF_{2α}は図6のAに示すように13,14H₂-PGF_{2α}が代謝生成される。しかし、右の図Bの子宮ホモジネート中にはそれは検出できない。このような臓器における主要代謝産物の違いは他の臓器でもみられ、HoultとMoore(15)は兎腎臓においてPGF_{2α}がPGE₂に直接転換されることを示しており、Le-Phuc-ThuyとCarpenter(16)はラット精巣においてPGE₂がPGE₂-9-Keto reductaseによりPGF_{2α}に変化することを示している。また、ラット腎では15KD-PGF_{2α}は15KD-PGE₂に置

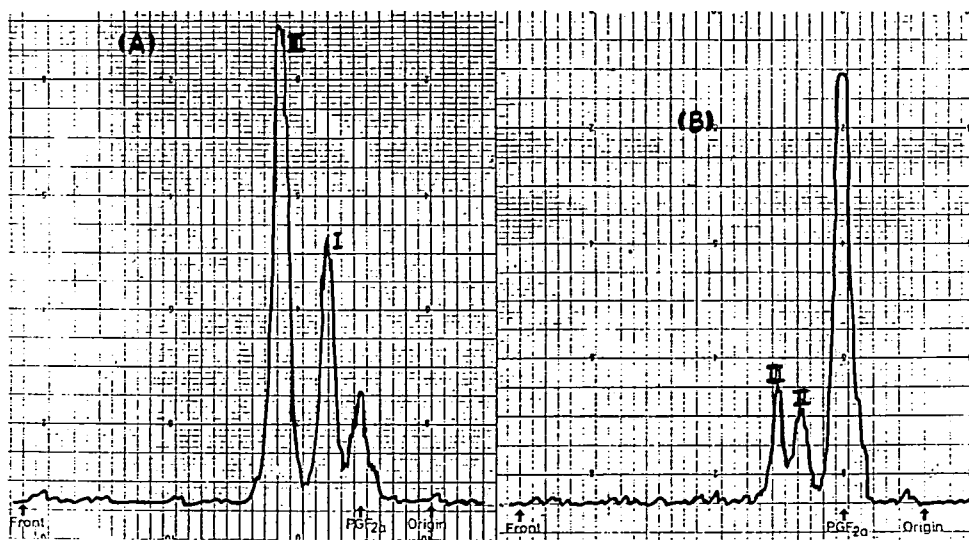


図6. ラット卵巣ホモジネート(A)と子宮ホモジネート(B)中における³H-PGF_{2α}からの異なる代謝産物薄層クロマトグラフィーによる同定

組織ホモジネートと共に0.4 μCiの³H-PGF_{2α}を95% O₂-5% CO₂存在下37℃にてNADを含むバッファー中でインキュベートした。卵巣ホモジネートと子宮ホモジネートとのインキュベート時間は各々15分と30分。I = 13,14H₂-PGF_{2α}(Rf 0.26), II = 15K-PGF_{2α}(Rf 0.31), III = 15KD-PGF_{2α}(Rf 0.36)

換される(17)。この卵巣 13,14H₂-PGF_{2α} 生成酵素については後に、カルボニル還元酵素 (carbonyl reductase: CR) としてラット卵巣可溶性画分から分離・同定が行なわれた(18)。分子量 33kDa の本酵素は、現在までに報告されている CR の一般的特性を有しているが、他のカルボニル化合物よりも PG に高い親和性を示し (Km 値は既知の 15-OH PGDH 等の PG 代謝酵素とほぼ同じ)、15KD-PGF_{2α} の 15Keto 基の還元のみならず、PGE₂ から PGF_{2α} への変換能も有する。13,14H₂-PGF_{2α} の生理活性の詳細は純品の必要量の入手が困難であったため明確にはなっていない。

しかし、我々は、13,14H₂-PGF_{2α} は PGF_{2α} と同程度の子宮及び胃底部平滑筋収縮能を有すること(未発表)や卵巣内での³H-ラベルのプロゲネロンの PRG 及び E₂ への変換を促進する作用を持つことを明らかにしている(19)。加えて、次の4に述べるように排卵過程における役割も示唆されている。Bydgerman らは *in vivo* での妊娠女性の子宮収縮が 13,14H₂-PGF_{2α} で投与で高進することを観察している(20)。もし 13,14 H₂-PGF_{2α} に PGF_{2α} にはない作用があるとすると代謝産物の作用の選択性という点で興味を持たれる。また、さらに興味あることに、Espey らは Differential display にてラットの排卵時に特異的に発現される遺伝子をいくつか分離しその最も頻度の高いものの1つが CR であったことを 1997 年の Society for the Study of Reproduction (米国生殖生理学会・第 30 回年会) にて報告している(21)。

4. 卵巣における 13,14-dihydro-PGF_{2α} 生成の制御ホルモンとその排卵過程における意義

卵巣内 13,14H₂-PGF_{2α} 生成は性腺刺激ホルモン [ゴナドトロピン: Follicle stimulating hormone (FSH), Luteinizing hormone (LH)] で刺激され、卵巣ステロイドホルモンにより抑制的な調節を受ける。このことは、下垂体摘出又は子宮摘出動物に主に FSH 作用を持つ equine CG (eCG: pregnant mare serum gonadotropin: PMSG) 及び LH 作用を持つ human CG (hCG) 投与により確認された(4)。特に、

hCG に対しては感受性が高くその生成能が上昇し、その作用後 9-12 時間でピークとなる(22)。図 7 には

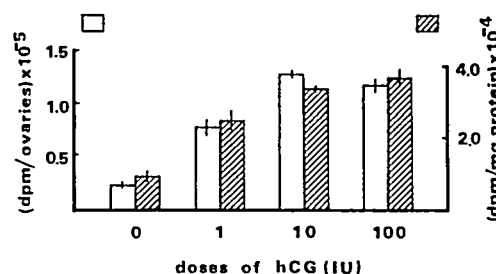


図 7. 未成熟ラット卵巣内での 15KD-PGF_{2α} からの 13,14H₂-PGF_{2α} 生成に対する hCG の用量依存的効果

26 日令の動物に 5IU の eCG を皮下投与し、24 時間後に各用量の hCG を腹腔内投与した。hCG 投与後 9 時間後にて代謝能を測定した。各カラムは 3-6 匹の動物から得られた平均値 ± SE を示す。

13,14H₂-PGF_{2α} 生成の hCG に対する用量依存性を示した。クロルプロマジン (CPZ)、レセルピン、ハロペリドールをはじめとする向精神薬の過剰投与は古くからゴナドトロピン放出の抑制に基づく性機能障害を招くことが知られている。CPZ を発情前期に投与するとその投与時間の違いにより翌日の発情期の卵巣内 13,14H₂-PGF_{2α} 生成能が変化する(図 8)。この変化は、

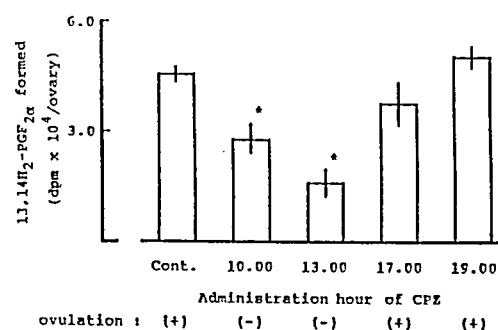


図 8. 成熟ラット卵巣内 13,14H₂-PGF_{2α} 生成と排卵に対するクロルプロマジン (CPZ) の抑制効果の投与時間による変動

発情前期の各時刻で 4 mg/kg の CPZ を皮下に単回投与した。13,14H₂-PGF_{2α} 生成能は翌日の発情期 (午前 10 時) に測定した。排卵は発情期早朝に卵管を摘出し卵の有無を観察した。

★p < 0.01: 対照群 (Cont.) との有意差を示す。

ラット下垂体からの LH の放出に必要な視床下部での神経的刺激が発情前期の午後 2 時から 4 時の間に起こるため (この時間帯を critical period と呼んでいる)

であることが明らかとなった。そのため、critical period 前に CPZ を投与された動物においては 13,14 H_2 -PGF_{2α} 生成は対照群と比べて有意に抑制され（その生成量の抑制は LH 分泌の抑制の割合に依存する）、排卵も抑制された(23)。この CPZ による 13,14 H_2 -PGF_{2α} 生成の抑制は、視床下部からの LH 放出ホルモン(LHRH) 抑制を介する LH 分泌の障害である。なお CPZ には下垂体からのプロラクチン分泌を刺激する作用もあるが、この場合、プロラクチンが 13,14 H_2 -PGF_{2α} 生成と排卵に影響を与えている可能性は低い(24)。

哺乳動物において個体発生の初発段階ともいえる排卵現象は、卵胞の発育過程に伴い卵胞から大量に生成分泌されたエストロゲンの正のフィードバック作用を介した下垂体前葉からの大量のゴナドトロピン放出(LH サージと呼ぶ)に依存して起こる。排卵は LH サージ開始からヒトでは約 30 時間、ラットでは約 10 時間で惹起される。Cole(1936年)は腫が開口する以前の未成熟ラットに PMSG を単回投与すると排卵が誘起できることを最初に報告した(25)。その後、PMSG 投与によるこの初排卵は PMSG 投与後 2 日目の午後に、成熟動物と同様な視床下部の興奮に続く下垂体からの LH サージが引き金となって起こることが明らかにされた。図 9 に示すように 26 日令の午前

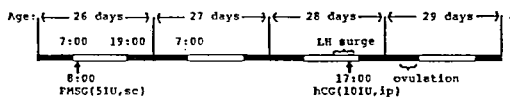


図 9. 未成熟ラットの初排卵誘起モデル
26 日令の午前に eCG(PMSG)を投与すると 28 日令の午後に内因性 LH サージが誘発され、29 日令午前に 10 個前後の排卵(正常排卵数)がみられる。

5IU の eCG(PMSG) を投与すると、28 日令の午後 5 時頃 LH サージが起き、29 日令早朝(2-5 時)に成熟動物と同じ数の排卵が起こる。なお、この初排卵前の血中卵巣ステロイド濃度の変動は成熟ラットの発情前期の変動とほとんど同じである(26)。このように、PMSG 前処置した未成熟ラットの実験モデルは、排卵機能において成熟ラットと同様に考えられるだけで

なく、一定時間に安定した排卵を多くの動物で誘発できることや古い黄体の影響を考慮する必要がないことから生殖内分泌の研究に広く用いられている。従って、eCG 前処置ラットの初排卵過程を排卵機構の研究モデルとして使用できる。排卵機構について、以前は卵胞内圧の上昇により卵胞壁が破裂すると考えられていたが Rondell の報告(27)によると排卵過程での内圧の上昇は確認できなかった。排卵の詳細な機構は未だに不明であるが、近年このような物理的な機序とは別に、ホルモンなどにより調節される生化学的な変化に重点がおかれてこの機構が検討されている。ゴナドトロピンサージ後に卵胞内 PG 合成の上昇が起こることが知られているが(28)、著者らもこの排卵誘発モデルを用いて卵巣内 PGF_{2α} 含量が排卵前日の午後 11 時から午前 2 時にかけて最大(午後 5 時の約 3 倍)になり以後急速に減少することを観察している。また、PG の合成阻害が排卵を阻害すること(29)やグラフ卵胞内への抗 PG 抗体の注入で排卵が抑制されたという報告(30)などにより、排卵前の卵胞内 PG の増加は排卵にとって不可欠であると考えられる。先に述べたように、排卵性ゴナドトロピンが PGF_{2α} から 13,14 H_2 -PGF_{2α} への変換を促進することから、本代謝産物の排卵過程における役割について検討を行った。図 10 は 26 日令で正常排卵を誘起する量の eCG を処置し

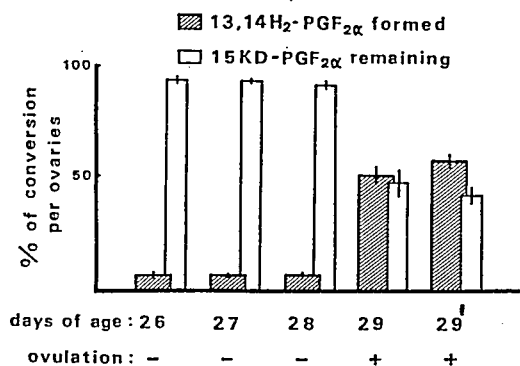


図 10. eCG 処置未成熟ラットの卵巣内 15KD-PGF_{2α} からの 13,14H₂-PGF_{2α} 生成能の変化
26 日令の午前 8 時に 5 IU の eCG を皮下投与した。
: 28 日令午後 5 時に 10 IU の hCG を腹腔内投与した動物。各カラムは 4 匹の動物から得られた平均値 ± SE を示す。

た26日令のラットの卵巣内 13,14H₂-PGF_{2α} 生成の経日変化を示す。少なくとも eCG 投与後 48 時間まではその生成能には影響がない。その後の検討により LH サージ後 3 時間で上昇が始まり 9 時間後の排卵直前(午前 2 時)に最大に達することが判った。さらに、卵巣内 13,14H₂-PGF_{2α} 生成能は、グラフ卵胞とそれ以外の組織にも存在し排卵直前のグラフ卵胞(午前 2 時)において極めて高い比活性が認められた(図 11)(5)。しかし、排卵後 13,14H₂-PGF_{2α} 生成能は、急速に低下し、成熟黄体はゴナドトロピンに全く応答しない(図 12)(31)。成熟ラット卵巣の免疫染色では、13,

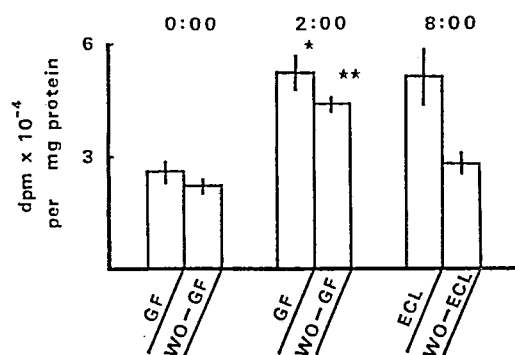


図 11. 排卵前後での卵巣構成組織での 13,14H₂-PGF_{2α} 産生能
WO: 全卵巣, GF: グラフ卵胞, ECL: 新生黄体。各カラムは 4-5 匹の動物から得られた平均値 ± SE を示す。★p < 0.01, ★★p < 0.001: 29 日令午前 0 時のレベルとの有意差。排卵は 2 時では観察されないが 8 時においては確認される。

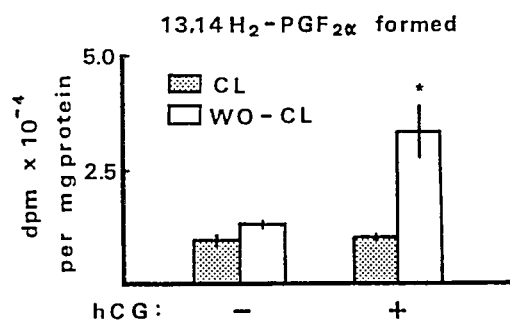


図 12. 初排卵後 4 日目における黄体 (CL) と黄体以外の卵巣組織 (WO-CL) の 13,14H₂-PGF_{2α} 生成能と hCG に対する反応性
各カラムは 6-7 匹の動物から得られた平均値 ± SE を示す。★p < 0.01: hCG(-) 群との有意差を示す。

14H₂-PGF_{2α} 生成酵素は卵胞壁の莢膜 (Theca cells:

TC) 及び間質細胞に局在しており、顆粒膜細胞 (Granulosa cells: GC) にはそのシグナルは確認されていない(32)。このことは排卵時に卵胞で増加する活性は卵胞の TC に由来するものであることを示している。

一方、排卵前の卵胞内での PG の増加は特に GC で著しいことが報告されている。したがって、多くの 13,14H₂-PGF_{2α} は GC からの PGF_{2α} の供給を受けて TC において生成されると考えられる。排卵における PG 類の作用について、Espey らは確証は示していないが、PG 類特に PGF_{2α} は卵胞壁基底部の収縮性を増加させることによって卵胞の破裂を起こすことを提案している(33)。事実、ヒト卵胞壁には平滑筋が存在し、薬物・電気刺激により収縮する(34)。また、卵胞破裂に関与すると考えられる卵胞壁基底部の毛細血管での血流変化、即ち毛細血管の拡張・透過性高進そして頂部での血流低下・血栓形成に PGE, PGI₂, TXA₂ などが関与するといわれている。さらに重要な因子として排卵酵素の活性化がある。PGF_{2α} が黄体組織においてリソゾーム酵素の放出を起こすことができるという報告(35) から、PG 産生の増加は最終的には卵胞の脆弱化、粗造化に必要なタンパク分解酵素の活性化をもたらす卵胞壁を破裂させるらしいという考え方が多くの研究者により支持されるに至った。しかし、PGF_{2α} がタンパク分解酵素であるコラゲナーゼやプラスミノゲンアグチベーターなどの酵素の合成とその活性に影響するの否かについては一致した見解に至っていない。PGF_{2α} は線維芽細胞内の cyclic-AMP 産生やコラゲナーゼ活性を刺激することや PGF_{2α} がコラゲナーゼを有する白血球、マクロファージ内で産生されるという知見(36) [近年、卵巣に常在する白血球は排卵機能に密接に関与しているという報告が散見される(37)]から考えると、血球系細胞を含めた卵巣細胞で産生された PGF_{2α} はこれらの蛋白分解酵素作用発現に重要な役割をもつかもしれない。このような卵胞壁の収縮と蛋白分解酵素活性の制御を介して排卵を調節しているという PGF_{2α} での知見に対し、13,14H₂-PGF_{2α} の果たしている役割は非常に興味もたれる課題である。

5. 卵巣内 13,14H₂-PGF_{2α} 生成に及ぼす非ステロイド性抗炎症薬（インドメタシン、アスピリン）とメラトニンの作用とそれらの薬物の排卵阻害機序

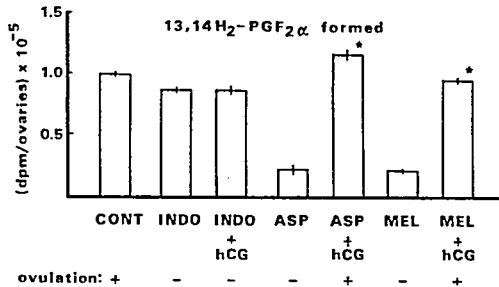


図 13. 卵巣内 13,14H₂-PGF_{2α} 生成能と排卵に対するインドメタシン、アスピリン、メラトニンの作用と hCG 効果

インドメタシン (INDO: 1.5 mg/rat), アスピリン (ASP: 700 mg/rat) 又はメラトニン (MEL: 1.5 mg/rat × 5回) を 28 日令に皮下投与した。hCG (10 IU, i.p.) は同日、午後 5 時に行った。29 日令 8 時に排卵の確認と測定を行った。★p < 0.01: ASP 又は MEL 単独投与群との有意差。Ovulation +; 排卵数が対照群と同じだったことを示す。Ovulation -; 排卵が完全に阻害されたことを示す。

図 13 は、初排卵誘発モデルを用いた非ステロイド性抗炎症薬のインドメタシン、アスピリンおよび、松果体ホルモンのメラトニンによる初排卵と卵巣内 13,14H₂-PGF_{2α} 生成に対する影響を検討し、両薬物の作用様式の違いを示した結果である (22)。26 日令未熟ラットに eCG を注射し、2 日後 (28 日令) の午後 1 時に各薬物を単回投与 (メラトニンのみは 5 回投与) すると全ての投与群で 29 日令の早朝に起こる排卵が抑制された。しかしながら、アスピリンとメラトニンで見られるような 13,14H₂-PGF_{2α} 生成能の顕著な阻害はインドメタシンでは認められなかった。このことはインドメタシン投与群では LH が分泌されていることを意味する。しかし、インドメタシン投与群では hCG を投与してもアスピリンとメラトニン投与群で見られたような排卵の回復が観察されなかった。このことから、アスピリンとメラトニンの排卵抑制効果は CPZ と同様に中枢作用による抗ゴナドトロピン作用を介しているものであるが、インドメタシン投与群においては、少なくとも排卵誘起レベルのサージが起き

ていたにもかかわらず排卵が抑制されたことを意味している。よって、インドメタシンの排卵阻害効果は下垂体レベルよりも主に卵巣レベルでの直接的な影響を介していることが明らかにされた。このように、ある薬物が卵巣組織に強く作用して排卵を阻害する場合には hCG を投与しても排卵は回復されないが、抗ゴナドトロピン作用だけの場合は hCG の投与により回復効果が発現する。従って、この異なる作用様式を 13,14H₂-PGF_{2α} を測定することで明確にかつ容易に区別できることが明らかになった。

6. 排卵と生殖臓器内 PGF_{2α} 代謝に及ぼすダナゾールの作用とその作用機序

ダナゾールは、17α-エチニルテストステロンの isoxazol 誘導体であり、婦人科領域において主に子宮内膜が異所性に浸潤・増殖するために発症する子宮内膜症の薬物療法に広く用いられる薬物の 1 つである。

なお、最近、この子宮内膜症はエストロゲン様作用を有する環境ホルモンの影響で多発している可能性が示されている。ダナゾールの治療効果の作用機序は現在、完全には理解されていないが、従来からの下垂体前葉からのゴナドトロピン分泌抑制という機序に加えてヒトの細胞を用いて検討したいくつかの研究からダナゾールの子宮内膜への直接作用が示唆されている。また、本薬物は性腺のステロイド産生酵素活性を阻害することや血漿蛋白へのステロイドの結合を抑制することなどが報告されており、ダナゾールの薬理作用についてはゴナドトロピンの分泌抑制作用のみでは説明できず不明な点が残されている。そこで、初排卵誘発モデルを用いて初排卵、並びに卵巣内 PGF_{2α} 代謝に対するダナゾールの作用を検討し、ダナゾールの作用メカニズムを考察した。ダナゾールの用量と投与回数を変えて投与した結果、表 1 のようにダナゾール (750 mg/kg) を 5 日間、経口投与すると完全に排卵が阻害された。この群においては明らかな 13,14H₂-PGF_{2α} 生成能の抑制と排卵直前の時刻 29 日午前 0 時での PGF_{2α} レベルの低下が確認された (38) と共に、28 日令午後 5 時のゴナドトロピンサージ (FSH, LH 両者とも)

Treatment (mg/kg × days)	Ovulating rats / rats examined	No. of oocytes in ovulating rats *
Intact ^b	0/3	0
Control	8/8	11 ± 0.6
Danazol 250 × 3	4/4	9 ± 1.4
Danazol 750 × 3	3/4	7 ± 1.4
Danazol 1500 × 3	2/2	9 (10, 8)
Danazol 500 × 5	3/3	8 ± 1.2
Danazol 750 × 5	0/9	0

* Values are means ± S.E.M. ^b PMSG non-treated rats.

表 1. eCG で誘発した排卵に対するダナゾールの効果
26 日令の午前 8 時に 5 IU の eCG を皮下投与した。ダナゾールは 3 日間 (26~28 日令の間) 又は 5 日間 (24~28 日令の間), 1 日 1 回 12 時に経口投与した。29 日令の午前 8 時に排卵数を確認した。

は完全に抑制され, また E₂ と PRG 両レベルとも著明に抑制された (図 14) (39)。本実験で 28 日令午後 5 時に hCG を投与すると翌朝に排卵が認められる。以上の結果から, ダナゾール 750 mg/kg 投与による排卵阻害はゴナドトロピンの遊離阻害に起因することが明らかとなった。しかしながら, ダナゾールによる排卵阻害効果が認められた用量は臨床用量と比べて高用量であった。このことは, 薬物投与期間や腸管からの吸収率を含め種差を考慮しなければならないが, ゴナドトロピン遊離に対するダナゾールの効果は非常に弱いことを意味するのかもしれない。また, これらの一連の研究においてダナゾールの中枢作用と共に卵巣にも直接抑制作用をもつことが示された。なぜならば, ダナゾール誘導の排卵阻害は hCG 投与により回復されたものの, その排卵数は対照群又は選択的な中枢抑制作用を持つ CPZ と hCG の併用投与群よりも少ないからである。さらに, ダナゾールにより抑制された卵巣内 PGF_{2α} レベルは hCG を投与しても対照群レベルにまでに完全には上昇しなかった(38)。このことはダナゾールが卵胞の発育・成熟並びに LH サージを誘起するために必要な排卵前の卵巣 ステロイドの分泌上昇 (エストロゲンの正のフィードバック機構) を抑制する可能性を示す。もしそうであるならばダナゾールの抗ゴナドトロピン効果は部分的にせよ卵巣組織に対する作用を介していることになる。そこで, 次に排卵を阻害しない用量での末梢作用を調べてみた。前述したように eCG の作用を介して分泌される E₂ により刺激的影響を受ける子宮重量と子宮内 PGF_{2α} 異化酵

素活性を測定することで検討した。子宮内の PGF_{2α} 異化酵素活性は PGF_{2α} から 15KD-PGF_{2α} の生成能を測定することにより求めた。排卵を阻害しない用量のダナゾールを連続投与した後に子宮を摘出し, 測定した子宮重量と 15KD-PGF_{2α} 生成能は, eCG 単独投与群でのレベルと比べ明らかに抑制されていた (表 2) (39)。この結果は, ダナゾールが抗ゴナドトロピン作用を示さない用量でも末梢作用を有することを示した。したがって, ダナゾールの治療効果の発現には中枢作

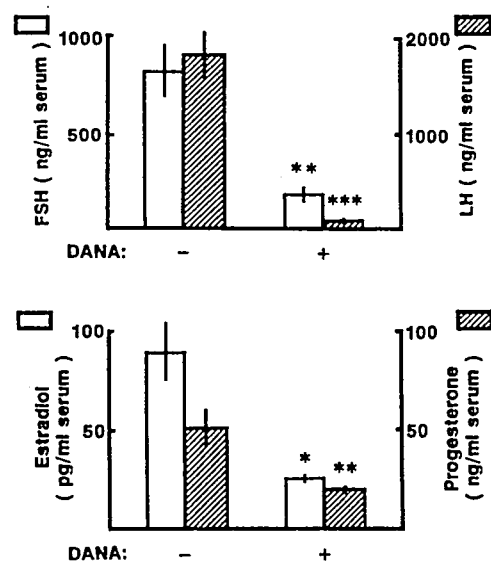


図 14. 排卵阻害用量のダナゾールを投与した場合のゴナドトロピン(FSH, LH)と卵巣ステロイド(E₂, PRG)レベルの変化
26 日令午前 8 時に 5 IU の eCG を皮下投与した。ダナゾール(DANA: 750 mg/kg) は 24~28 日令まで 5 日間, 1 日 1 回 12 時に経口投与した。LH サージが起こる 28 日令午後 5 時に腹部大動脈から血液を採取した。
* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001: DANA 無処置群との有意差。

	Uterine weight (mg)	Formation of 15KD-PGF _{2α}	
		(× 10 ⁴ dpm /uterus)	(× 10 ⁴ dpm /100 mg uterus)
Control	184 ± 7.7	5.2 ± 0.44	2.8 ± 0.12
Danazol	134 ± 8.5 ^b	3.5 ± 0.34 ^a	2.6 ± 0.16

^a P < 0.01 and ^b P < 0.001; significantly different from control.

表 2. 排卵を阻害しない用量のダナゾールの子宮重量と PGF_{2α} 異化代謝能に及ぼす影響
ダナゾール (DANA: 500 mg/kg) を 24~27 日令まで 4 日間, 1 日 1 回 12 時に経口投与した。子宮は 28 日令の午前 11 時に摘出した。各値は 7~8 匹の動物から得られた平均 ± SE を示す。

用のみならず末梢作用の果たす役割が大きいと推察されるのである。

7. おわりに

ここで紹介した研究内容は、1973年から1992年の間に行われたものであり、第64回日本薬理学会総会(1991年、神戸)のシンポジウムで発表したものを含む。子宮と卵巣の生理にPGF_{2α}のみならず13,14H₂-PGF_{2α}が深く関与した、その調節制御にゴナドトロピンと卵巣ステロイドが密接に関与している事実、さらに生理活性を示さない子宮内15KD-PGF_{2α}と生理活性を有する卵巣内13,14H₂-PGF_{2α}を測定することにより、生殖臓器に作用する薬物の作用機序の解明に寄与することは、以上述べたように明白なこととなった。つまり本研究においては個体レベルでの検討実験を中心にその産生と異化に卵巣ステロイドや下垂体ホルモンが重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。近年、薬理学分野でのPG研究もピークを超え、PGを含めたオートコイド全般の研究は下火となっているのが現状であるが、未だにその作用本態と生理的調節の機序は十分には解明されていない。PGの消化器系・循環器系疾患分野などでの臨床開発が行われる一方で、その作用の制御やシグナル伝達、調節機序などを含めた全体像の解明にわれわれは分子レベルでの基礎的な知見をさらに多く知る必要がある。今後の研究の成果が一層待たれるところである。

ここで述べた研究は以下の方々の協力のもとで行った成果である。

恩師の東京薬科大学・相澤義雄元教授、同大学・山田健二助教授、藤永製薬・竹内久米司博士、東京農工大学・農学部・獣医学科・笹本修司前教授、田谷一善教授、渡辺元助教授に感謝いたします。

また、研究当時職員・大学院生・卒論生であった方々、稲津教久元助手、清水(旧姓、加藤)洋子修士、飯田博之修士、高崎浩太郎修士、谷田部順子修士、金刺(旧姓、本木)ひとみ氏、西川みゆき氏に感謝いたします。

文献

1. 室田誠逸編 現代化学増刊1.プロスタグランディンと病態 東京化学同人(1984)
2. 佐藤和雄, 木下勝之, 坂元正一 産婦人科・プロスタグランディンの新しい展開 現代医療社(1984)
3. Aizawa Y, Inazu N, and Kogo H. Catabolism of prostaglandin F_{2α} in rat ovary: Differences between ovarian and uterine tissues. Prostaglandins 20, 95 (1980)
4. Inazu N, Kogo H, and Aizawa Y. Stimulation of the formation of 13,14-dihydroprostaglandin F_{2α} by gonadotropin in rat ovary. Biochem. Biophys. Acta 750, 98 (1983)
5. Kogo H, Tamura K, Satoh T, Taya K, and Sasamoto S. Relationship between the production capacity of ovarian 13,14-dihydroprostaglandin F₂-α and the process of ovulation in immature female rats pretreated with gonadotropin. Prostagl. Leukotr. Med. 37, 177 (1989)
6. Pickles VR A plain muscle stimulant in the menstrual fluid. Nature, Lond. 180, 1198 (1957)
7. Horton EW, and Poyser NL. Uterine luteolytic hormone: a physiological role for prostaglandin F₂ α. Physiol. Rev. 56, 595 (1976)
8. 高橋正樹, 相澤義雄 ラット卵巣ステロイド含量に及ぼす子宮内PGF_{2α}の作用 日薬理誌 76, 93 (1980)
9. Takahashi M, Kogo H, and Aizawa Y. Effect of intra-uterine administration of indomethacin on ovarian steroids. Japan. J. Pharmacol. 29, 684 (1979)
10. Aizawa Y, and Mueller GC. The effect in vivo and in vitro of estrogen on lipid

- synthesis in the rat uterus. *J. Biol. Chem.* 236, 381 (1961)
11. Kogo H, Yamada K, and Aizawa Y. Effect of estradiol on prostaglandin metabolism in rat uterus. *Prostaglandins* 13, 785 (1980)
 12. Kogo H, Shimizu Y, and Aizawa Y. The effect of ovarian steroids on prostaglandin $F_{2\alpha}$ catabolism in ovariectomized rat uterus. *Prostagl. Leukotr. Med.* 14, 351 (1984)
 13. Ishihara O, Tsutsumi O, Mizuno M, Kinoshita K, and Satoh K. Metabolism of arachidonic acid and synthesis of prostanoids in human endometrium and decidua. *Prostagl. Leukotr. Med.* 24, 93 (1986)
 14. Casey ML, Hemsell DL, MacDonald PC, Johnston JM. NAD⁺-dependent 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase activity in human endometrium. *Prostaglandins* 19, 115 (1980)
 15. Hoult JRS, and Moore PK. Pathway of prostaglandin $F_{2\alpha}$ metabolism in mammalian kidneys. *Br. J. Pharmacol.* 61, 615 (1977)
 16. Le-Phuc-Thuy, and Carpenter. P. Prostaglandin E_2 -9-keto reductase of rat testis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 81, 322 (1978)
 17. Pace-Asciak C. Prostaglandin 9-hydroxydehydrogenase activity in the adult rat kidney. *J. Biol. Chem.* 250, 2789 (1975)
 18. Iwata N, Inazu N, and Satoh T. The purification and properties of NADPH-dependent carbonyl reductase from rat ovary. *J. Biochem.* 105, 556 (1989)
 19. Inazu N, Kogo H, and Aizawa Y. Effect of 13,14-dihydroprostaglandin $F_{2\alpha}$ on steroid biosynthesis in rat ovary. *Japan J. Pharmacol.* 31, 301 (1981)
 20. Bydgeman M, Green K, Topozada M, Wiquist N, and Bergstrom S. The influence of prostaglandin metabolites on the uterine response to PGF $_2\alpha$: A clinical and pharmacokinetic study. *Life Sci.* 14, 521 (1974)
 21. Detection of gene expression for a carbonyl reductase, for NGF-induced factor A, and for a line element associated with oxytocin during ovulation in the rat. *Biol. Reprod.* 56 Supplement I, Abstract 383 (1997)
 22. Tamura K, and Kogo H. The mode of action of indomethacin, aspirin and melatonin on the blockage of the first ovulation in immature rat pretreated with PMSG. *Japan. J. Pharmacol.* 50, 491 (1989)
 23. Kogo H, Iida H, Inazu N and Satoh T. Inhibition of the formation of 13,14-dihydroprostaglandin F_2 -alpha induced by chlorpromazine in rat ovary. *Prostagl. Leukotr. Med.* 22, 11 (1986)
 24. Kogo H, Iida H, Taya K, Sasamoto S, Inazu N, and Satoh T. Mode of action of chlorpromazine (CPZ) blockage on 13,14-dihydroprostaglandin F_2 -alpha formation in rat ovary. *Prostagl. Leukotr. Med.* 29, 153 (1987)
 25. Cole HH. On the biological properties of mare gonadotropin hormone. *Am. J. Anat.* 59, 299 (1936)
 26. Toorop AI, Meijs-Roelof HMA, Kramer P, and deGeef WJ. Ovarian steroid concentrations in rats approaching first ovulation. *J. Endocrinol.* 100, 281 (1984)
 27. Rondell P. Follicular pressure and distensibility in ovulation. *Am. J. Physiol.* 207, 590 (1964)
 28. LeMaire WJ, Leidner R, and Marsh JM. Pre and post ovulatory changes in the concentration of prostaglandins in rat graafian follicles. *Prostaglandins* 9, 221 (1975)

29. Armstrong DT, and Grinwich DL. Blockade of spontaneous and LH-induced ovulation in rat by indomethacin, an inhibitor of prostaglandin biosynthesis. *Prostaglandins* 1, 21 (1972)
30. Armstrong DT, and Grinwich DL, Moon YS, and Zamecnik J. Inhibition of ovulation in rabbits by intrafollicular injection of indomethacin and prostaglandin F antiserum. *Life Sci.* 14, 129 (1974)
31. Kogo H, Tamura K, Taya K, and Sasamoto S. Effect of hCG on the 13,14-dihydroprostaglandin F₂-alpha forming capacity of the ovary after ovulation in PMSG-primed immature female rats. *Prostagl. Leukotr. Essential Fatty Acids* 38, 55 (1989)
32. Iwata N, Inazu N, and Satoh T. Changes in rat ovarian carbonyl reductase activity and content during the estrus cycle, and localization. *Biol. Reprod.* 42, 161 (1990)
33. Espey LL. Ovarian contractility and its relationship to ovulation. A review, *Biol. Reprod.* 19, 540 (1978)
34. Okamura H, Okazaki T, and Nakajima A. Effects of electrical stimulation on human ovarian contractility. *Obstet. Gynecol.* 45, 557 (1975)
35. Kaley G, and Weiner R. Prostaglandin F₂α induces release of lysosomal hydrolase from luteinized rat ovarian slices. *Prostaglandins* 10, 685 (1975)
36. Glatt M, Pesker B, and Brune K. Leukocytes and prostaglandins in acute inflammation. *Experientia* 30, 1257 (1974)
37. Norman RJ, and Brännström M. White cells and the ovary-incidental invaders or essential effectors? *J. Endocrinol.* 140, 333 (1994)
38. Tamura K, Okamoto R, Takeo S, and Kogo H. Inhibition of the first ovulation and ovarian prostaglandin F_{2α} metabolism by danazol in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 202, 317 (1991)
39. Kogo H, Takasaki K, Yatabe Y, Nishikawa M, Takeo S, and Tamura K. Inhibitory and stimulatory actions of danazol in rat ovarian and uterine tissue. *Eur. J. Pharmacol.* 211, 69 (1992)