

Title	Progestinの薬理学的研究第1報
Sub Title	Pharmacological researches on progestin action. [I]
Author	加藤, 礼子(Kato, Reiko) 木村, 都(Kimura, Miyako) 河田, 佳南(Kawada, Kana) 中村, 悦郎(Nakamura, Etsuro)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1969
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.14 (1969.) ,p.43- 51
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	原報
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000014-0043

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Progesterin の薬理学的研究 第1報*

加藤礼子, 木村 都, 河田佳南, 中村悦郎

Pharmacological Researches on Progesterin Action. [I]

Reiko KATO, Miyako KIMURA, Kana KAWADA and

Etsuro NAKAMURA

Using the normal or hypophysectomized rats and rabbits, the effect of progestins on the uterus and ovary, especially on the phosphate levels of the organs were examined.

No evidence of the changes in the fractions of the acid soluble-P. and DNA-P. were observed. Phospholipid-P fr., RNA-P. fr. and RNA-P./DNA-P showed some changes by some of these steroids.

The relationship between the effects and estrogenic or anabolic action was discussed.

近年, steroid hormone の研究の進展とともに, hormone 作用を有する多数の steroids の合成が可能となり, 黄体 hormone 様作用を有する化合物に於ても, 17- α methyl progesterone が Ehrenstein¹⁾ により, 19-norprogesterone が Plattner ら²⁾³⁾ により合成されたのを契機として広範な研究が行なわれ, より強力な黄体 hormone 様作用を示す誘導体の検討がなされている. しかし乍ら, これ等の steroids の作用の本態については必ずしも明らかでない.

今回, 私共は progesterone および合成 progestin の megestrol acetate, Δ^6 -retroprogesterone, ethinodiol diacetate 投与によるラット子宮あるいは家兎子宮内膜の核酸およびその他のリン酸化合物への影響について観察し, さらに卵巣内諸種リン酸化合物量, 子宮および卵巣内タンパク質量に及ぼす影響, 或は anabolic, androgenic activity との関連についても検討せんとした.

実 験 方 法

室温 24°C, 湿度 55% の空調室内で飼育した生後 60 日前後の S. D. 系雌性ラットおよび同一条件で飼育した体重 2.53 \pm 0.15kg の雌性家兎を用いた. ラットは腔脂垢像が 4 日間の正常性周期を示すもののみを選び実験を行なった.

薬物は progesterone (Pr. と略す, 以下同じ), megestrol acetate (MA), Δ^6 -retroprogesterone (RP), ethinodiol diacetate (EA) をラッカセイ油に溶解して用いた. ラットには間期より始め, 一性周期即ち, 4 日間に渡り毎日 1 回背部皮下に総量 1mg を注射し, 最後の注射から 24 時間目に断頭し, 子宮および卵巣を摘出し, Ultra-Turrax により homogenize した

* 本論文の一部要旨は第 42 回日本薬理学会総会に於て報告した.

1) Ehrenstein, M. : J. Org., 9, 435 (1944).

2) Plattner, P.A., Heusser, H., Herzig, P.T. : Helv., 32, 270 (1949).

3) Heusser, H., Engel, C.R., Herzig, P.T., Plattner, P.A. : Helv., 33, 2229 (1950).

後, Schmidt-Thannhauser 法⁴⁾で acid soluble phosphite (acid soluble-P.), phospholipid-P., RNA-P. および DNA-P. の 4 分割リン酸を抽出分離し, 当教室法⁵⁾にて湿性灰化後 Gomori の変法⁵⁾⁶⁾により定量した. 同時に各例共臓器蛋白量を Lowly 法⁷⁾により測定した. 以上の実験は, 投与期間中毎日 smear を鏡検し, 薬物投与により連続的に間期を示した子宮のみを用い, 対照には間期の子宮を用いた. 下垂体摘出は小山法⁸⁾により行ない, 術後 24 時間目より薬物投与を開始した.

家兔の例では, 各薬物の 1mg/kg を背部皮下に注射し, 4 時間後に屠殺し, 子宮内膜のみにつき, ラットの場合と同一方法で各リン酸分割を定量した.

また, 去勢雄性 weanling rat を用い anabolic activity⁹⁾ および androgenic activity を比較し, その関連性について検討した.

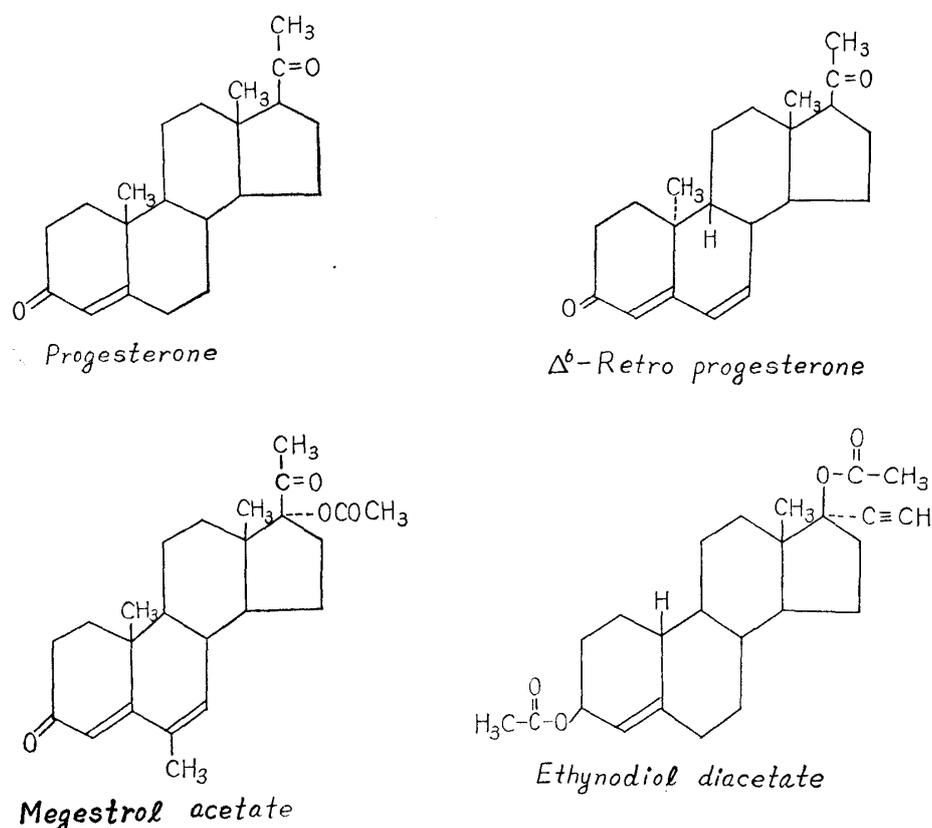


Fig. 1

4) Schmidt, G. and Thannhauser, S.J. : J.Biol. Chem., **161**, 83 (1945).

5) 中村悦郎ら : 共立薬科大学研究年報, **11**, 47 (1966).

6) Gomori, G. : J.Lab. Clin. Med., **27**, 955 (1942).

7) Lowly, O.H., Rosebrough, N. J., Farr, A.L. and Randall, R.L. : J.Biol. Chem., **193**, 265 (1951).

8) 小山良修 : 児科雑誌, **351**, 35 (1929).

9) Hershberger, L.G., Shipley, E.G. and Meyer, R.K. : Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **83**, 175 (1953).

実 験 結 果

I. 正常および脳下垂体摘出ラットの子宮内リン酸化合物への影響

正常ならびに下垂体摘出ラットの筋層および内膜を含む子宮全層について観察した。

1) Acid soluble-P. Fraction:

正常ラット群の場合には何れの steroids でも著明な変化は認められなかった。下垂体摘出群の場合には Pr. 投与で有意な減少を来たしたがその他の progestin では軽度の減少傾向を示すに過ぎなかった (Table 1)。

Table 1 Progestin and Phosphate Levels of Rat Uterus

Steroid	Acid sol.-P.	Phospho-lipid-P.	RNA-P.	DNA-P.	RNA/DNA
Normal Rat, Control	254.68±27.09	31.03± 3.99	126.11±31.03	202.46±60.09	0.64±0.06
Progesterone	259.69± 5.61	42.60±17.60	95.91±14.29	195.92±20.41	0.50±0.08
Megestrol acetate	246.15±13.94	45.19±22.36	154.81±14.42	199.03±65.38	0.85±0.20
Ethinodiol diacetate	238.32±22.89	88.64±29.72*	197.66±13.08*	201.87±10.75	0.98±0.03*
Hypoxed Rat, Control	293.96±67.17	61.39± 9.58	100.00±25.28	192.08±30.94	0.56±0.24
Progesterone	148.33±20.83*	29.17± 2.46*	88.75±14.58	187.50±20.00	0.52±0.10
Megestrol acetate	201.32±25.99	70.04±25.29	130.84± 7.93	236.56± 2.64	0.55±0.04
Retroprog.	194.94±19.41	52.11± 3.38	112.24± 3.80	265.40± 3.80	0.42±0.01
Ethinodiol diacetate	213.57±43.89	72.85±13.12*	185.52±13.12*	218.55±17.19	0.85±0.02

mg/100g dry tissue weight ±S.D

Total doses of 1mg of each compound were given subcutaneously once a day for 4 days

* Significant (P<0.05)

2) Phospholipid-P. Fraction:

正常群ではいずれの steroids でも増加の傾向を示し、特に EA では有意な増加を認めた。下垂体摘出群では EA のみが有意な増加を惹起したが、Pr. では逆に有意な減少を示した。

3) RNA-P. Fraction:

正常群および下垂体摘出群ともに EA 投与で有意な増加を示したが、その他の steroids では有意な変化は認められなかった。

4) DNA-P. Fraction:

正常群、下垂体摘出群ともに何れの steroids によっても有意な変化は生じなかった。

5) RNA-P./DNA-P.:

正常群では、EA 投与により有意な増加が認められ、下垂体摘出群では EA の投与時のみ少々増加の傾向が認められたが有意な変化ではなかった。

II. 家兎子宮内膜リン酸化合物への影響

Pr. および上記の諸種 progestin を投与した場合の家兎子宮内膜リン酸化合物に及ぼす影響を観察した。Pr. を背部皮下に1回のみ注射した時の RNA-P./DNA-P. の経時的変化は、Fig. 2 に示すように Pr. 投与後4時間目に於て最低値をとることを認めたので、以後の本実験は総て

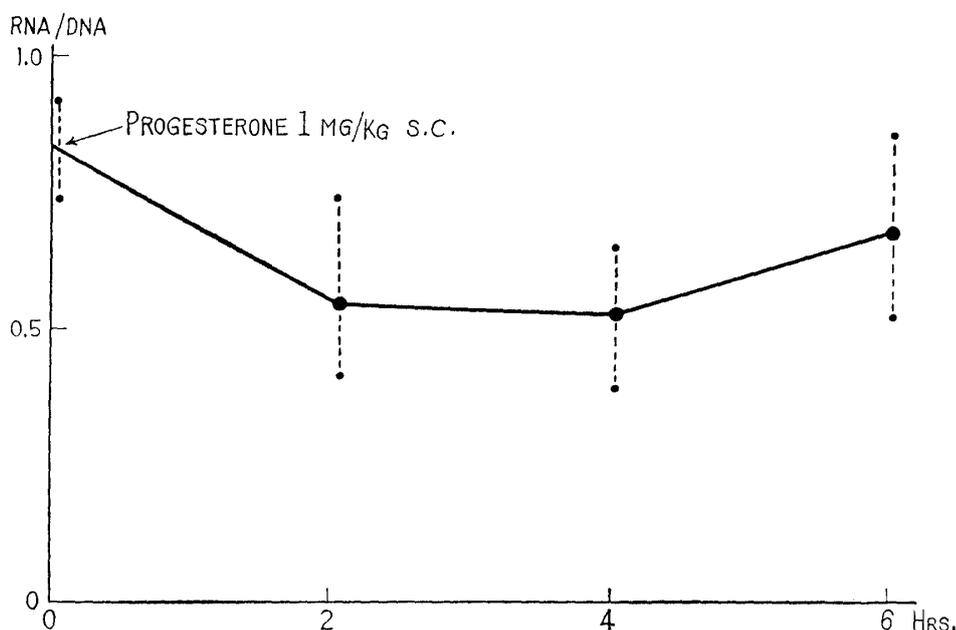


Fig. 2 Effect of Progesterone on RNA/DNA RATIO of Rabbit Endometrium

注射後4時間目に観察し比較した。

1) Acid soluble-P. Fraction :

Pr. でラット子宮全層の場合とは逆に少々増加の傾向を示したが、有意な差ではなかった。他の progestin では総ての場合に全く変化は認められなかった (Table 2)。

2) Phospholipid-P. Fraction :

Pr., RP, および EA で増加の傾向が認められたが、各群3例であった為有意な変化とは云え

Table 2 Progesterin and Phosphate Levels of Rabbit Organs

Steroid	Acid sol.-P.	Phospho-lipid-P.	RNA-P.	DNA-P.	RNA/DNA
Uterus Control	379.17 ± 61.90	100.6 ± 14.88	305.36 ± 16.07	377.38 ± 47.62	0.82 ± 0.09
Progesterone	463.76 ± 20.81	138.93 ± 18.12	244.30 ± 78.52	461.07 ± 27.52	0.52 ± 0.14
Megestrol acetate	332.32 ± 43.29	101.22 ± 3.84	404.88 ± 28.66	354.88 ± 4.88	1.14 ± 0.1
Retroprog.	392.53 ± 20.69	129.31 ± 22.99	327.01 ± 6.90	449.43 ± 23.56	0.73 ± 0.03
Ethinodiol diacetate	382.09 ± 129.82	140.49 ± 3.68	336.81 ± 27.61	390.18 ± 45.40	0.87 ± 0.11
Ovary Control	377.25 ± 18.52	138.10 ± 61.38	199.47 ± 26.45	255.56 ± 65.61	0.82 ± 0.13
Progesterone	356.94 ± 23.44	139.23 ± 50.74	168.90 ± 11.96	229.67 ± 13.88	0.74 ± 0.01
Megestrol acetate	408.42 ± 99.47	127.37 ± 8.42	183.68 ± 13.68	300.53 ± 37.89	0.62 ± 0.03
Retroprog.	351.48 ± 25.44	141.42 ± 14.20	216.57 ± 10.06	317.75 ± 25.44	0.68 ± 0.04
Ethinodiol diacetate	379.65 ± 30.23	155.23	205.81 ± 16.86	294.77 ± 27.91	0.71 ± 0.09

mg/100g dry tissue weight ± S.D

One mg/Kg was given subcutaneously

Four hrs After single injection

なかった。

3) RNA-P. Fraction :

ラットの子宮全層の場合と同様に Pr. で減少し, その他の steroids では増加の傾向を示したが有意性は証明出来なかった。

4) DNA-P. Fraction :

何れの steroids でも有意な変化は認められなかった。

5) RNA-P./DNA-P. :

家兎子宮内膜のみについて RNA-P./DNA-P. を観察した結果, Pr. で減少し, MA で少々高値が得られたが有意性は認められなかった。

III. ラット並びに家兎卵巣内諸種リン酸化合物に及ぼす影響

前述の実験と同一条件, 同一方法で正常或は下垂体摘出ラットおよび家兎の卵巣内諸種リン酸化合物に及ぼす progestin の影響について観察した (Table 2, 3).

家兎卵巣においては, いずれも著明な変化が認められなかったがラットにおいては若干の変化があった。

Table 3 Progesterone and Phosphate Levels of rat Ovary

Steroid	Acid sol.-P.	Phospho-lipid-P.	RNA-P.	DNA-P.	RNA/DNA
Normal Rat, Control	274.26 ± 16.88	55.57 ± 24.05	173.00 ± 31.65	190.30 ± 9.28	0.91 ± 0.22
Progesterone	358.78 ± 13.47	41.88	171.02 ± 6.12	195.92 ± 13.06	0.87 ± 0.03
Megestrol acetate	219.92 ± 36.58	75.51 ± 46.55	295.28 ± 21.14	193.09 ± 17.07	1.07 ± 0.13
Retroprog.	266.38 ± 38.30	—	197.02 ± 20.00	129.79 ± 35.74*	1.53 ± 0.25
Ethinodiol diacetate	342.59 ± 22.69	138.47 ± 18.06	241.20 ± 25.46	231.02 ± 15.28	1.04 ± 0.04
Hypoxed Rat, Control	490.94 ± 100.0	161.42 ± 30.31	131.89 ± 21.65	238.58 ± 71.26	0.62 ± 0.09
Progesterone	335.34 ± 56.63	105.62 ± 36.94	212.05 ± 24.50*	255.02 ± 42.97	0.86 ± 0.20
Megestrol acetate	265.71 ± 35.10*	77.14 ± 50.61	197.55 ± 9.39*	291.84 ± 70.20	0.72 ± 0.16
Retroprog.	254.89 ± 39.47	101.50 ± 3.38	212.78 ± 12.78*	260.90 ± 8.65	0.81 ± 0.02
Ethinodiol diacetate	311.52 ± 53.91*	124.69 ± 3.70	187.24 ± 16.46	252.26 ± 20.58	0.75 ± 0.13

mg/100g dry tissue weight ± S.D.

Total doses of each compound were given subcutaneously once a day for 4 days

* Significant (P < 0.05)

1) Acid soluble-P. Fraction :

正常ラット群では何れの場合も著しい変化は認められなかった。脳下垂体を摘出すると, この Fration には増加の傾向が認められるが, MA および EA では略々摘出前の値に留まり, 有意な差を示した。

2) Phospholipid-P. Fraction :

正常, 下垂体摘出ラットの何れでも progestin により有意な変化は認められなかった。

3) RNA-P. Fraction :

正常ラット群の卵巣では MA EA は有意ではないが増加の傾向を, 脳下垂体摘出ラットでは

何れの steroids 投与も増加の傾向をじ特に Pr., MA, RP により有意な増加を惹起した。

4) DNA-P. Fraction :

正常ラットの場合に RP で有意な減少を示したが、他の steroids ではほとんど変化は生じなかった。脳下垂体摘出ラットでは何れの progestine でも全く変化は認められなかった。

5) RNA-P/DNA-P :

RP. 投与正常ラット群のみは少々高値を示したが、その他の正常、或は脳下垂体摘出ラット群、および正常家兎群の何れに於ても、何れの progostin でも影響は認められなかった。

IV. 水分、蛋白質含量に及ぼす影響

Table 4 は乾燥重量と湿潤含量との比を示したものである。ラット子宮に於ては対照に比し、何れの progestin でも略々 5%以内の変動に留まり有意な差は認められなかった。家兎子宮でも progesterone で少々乾燥重量の減少の傾向をみたが有意な変化は認められなかった。

蛋白質含有量は Table 5 に示すように正常ラットでは増加の傾向があり、Pr., MA では有意な増加を認めた。下垂体摘出ラットでは変化が認められなかった。

Fig. 4 Ratio of Dry-weight to Wet-weight of Endometrium and Ovary in Rabbit

Steroid	Uterus	Ovary
Control	0.168±0.023	0.189±0.013
Progesterone	0.149±0.030	0.209±0.035
Megestrol acetate	0.164±0.0004	0.190±0.002
Retroprog.	0.174±0.020	0.169±0.004
Ethinodiol diacetate	0.163±0.008	0.172±0.002

Four hrs after single injection. Average of three cases. One mg/Kg was given hypodermally.

Table 5 Progestine and Protein Contents of Rat Uterus and Ovary (mg/1g wet tissue weight ±S.D)

Steroid	Uterus	Ovary	
Normal Rat	Control	121.9± 6.3	295.9±18.3
	Progest.	142.2±13.4*	284.0±21.7
	Megestrol acetate	141.1± 8.8*	316.1±29.8
	Retroprog.	133.6± 8.8	334.8± 8.4*
	Ethinodiol diacetate	130.0±16.1	317.1± 6.1
Hypoxed Rat	Control	181.5±15.3	321.2±62.0
	Progest.	199.5±11.5	317.8±17.1
	Megestrol acetate	164.6± 6.9	299.7±10.8
	Retroprog.	192.3±26.8	310.2±13.6
	Ethinodiol diacetate	160.7± 9.6	304.7±28.9

Total doses of 1mg of each compound were given subcutaneously once a day for 4 days

* Significant (P<0.05)

Table 6 Anabolic Action and Others

(mg/100g body weight \pm S.D)

Steroid	Organ	Levator ani	Kidney	Seminal Vesicle	Prostate	Preputial Gl.
Control		23.9 \pm 2.6	951.3 \pm 30.6	11.3 \pm 3.8	13.4 \pm 3.1	19.1 \pm 7.6
Progesterone		25.8 \pm 6.9	878.1 \pm 63.5	13.1 \pm 2.7	14.3 \pm 5.7	18.5 \pm 7.9
Megestrol acetate		27.8 \pm 4.5	993.7 \pm 58.6	13.7 \pm 2.1	14.2 \pm 2.5	22.5 \pm 10.0
Retroprog.		28.1 \pm 2.4	904.0 \pm 29.3	7.5 \pm 2.9	12.0 \pm 1.3	10.0 \pm 1.4
Ethynodiol Diacetate		31.1 \pm 2.9*	962.9 \pm 73.7	17.9 \pm 2.5*	24.2 \pm 7.6*	26.1 \pm 2.1

* Significant ($p < 0.05$)

Total dose of 1.5mg was injected once a day for 6 days in castrated weanling rat (S-D strain)

V. Androgenic および Anabolic activity :

本実験に用いた progestin につき androgenic, anabolic activity の程度を比較観察した。特に EA で有意な androgenic および anabolic action が認められた (Table 6)。

考 察

子宮および子宮内膜への影響については、acid-soluble-P fraction では Borell¹⁰⁾ は estrogen 或は estrogen 投与後 progesterone 投与をした場合子宮内膜でこの fraction が増加することを報告している。私共のラット子宮全層を用いた観察では正常群には著明な変化は認められなかったが、下垂体摘出群ではいずれの progestin でもやや減少し、特に Pr. で有意に減少した。この事は下垂体摘出による endogenous の estrogen の減少に起因するものと考えられる。家兎を用いた子宮内膜のみの観察では、この量 (1mg/kg) の単一注射では有意な変化は認められなかった。

Phospholipid-P. fraction では、Aizawa & Mueller¹¹⁾ らの報告にみるように estrogen による phospholipid の phosphorylation 促進作用が知られている。Progesterone においても Borell¹²⁾ は estrogen に比べ早期に phosphorylation を亢進すると報告している。しかしながら、progesterone による影響については実験方法、条件に問題もあり、いまだ明かでない。本実験においては、正常ラットではいずれの progestin でも増加の傾向を示し、下垂体摘出ラットでは EA で有意な増加が認められたが、Pr. では逆に有意に減少した。この fraction は estrogen priming の状態に強く影響され EA は estrogenic action を有するとされており、(本実験においても下垂体摘出ラットの子宮重量の平均は control 75 mg/100 g B. W. に対して EA 157 mg/100 g B. W. と有意な増加を来たした。) phospholipid-P. の増加はこのことと関係を有すると考えられる。この増加の傾向は家兎子宮内膜においてもみられた。

RNA-P. についてはらは、Odelblad¹³⁾、Borell らは progesterone で早期に ³²p の incorporation が増すとし、Brody ら¹⁴⁾ は逆に抑制的に作用すると報告している。本実験では正常、下

10) Borell, U. : Act. obst. gyn. scand., **32**, 170 (1953).11) Aizawa, Y. and Mueller, G.C. : J. Biol. Chem., **236**, 381 (1961).12) Borell, U. : Act. Endocrinol., **9**, 141 (1952).13) Odelblad, E. et al. : Act. Endocrinol., **11**, 311 (1952).14) Brody, S. and Westman, A. : Act. Endocrinol., **27**, 493 (1958).

垂体摘出ラットともに減少の傾向がみられたが有意ではない。しかし EA のみは正常，下垂体摘出ラットのいずれでもこの fraction の増量を示した。家兎子宮内膜においても同様の傾向があった。この増加は，Brody¹⁴⁾，Mueller¹⁵⁾，Davis¹⁶⁾らの認めた estrogen による増加作用と同じく，この化合物が estrogen 作用を有しているためとも考えられる。

DNA-P. はいずれの場合も増減が著明でなかった。DNA は主として細胞核内に含まれ，細胞一個当りの DNA 量については一定であり，分裂時のみ増量し，他は代謝的にほとんど固定している。ラット子宮内 DNA 含量は性周期を通して一定であり，去勢後 progesterone あるいは estrogen 投与でも変化しない (Drasher¹⁷⁾)。

RNA-P./DNA-P. については，Pr. で子宮全層，子宮内膜ともにやや低値を得たが，他の progestin ではむしろやや高値を示す異なった傾向をみた。

本実験に用いた steroid の anabolic activity を Hershberger 法で観察した結果，特に EA で有意な androgenic, anabolic action が認められた。EA は先に述べたように estrogenic action を有すると同時に anabolic, androgenic action を有し，これが家兎子宮内膜の場合と異なり筋層をも含めたラット子宮全層を用いた観察で他の progestin より著明なリン酸 fraction の増加を来たした一因とも考える。

RNA の DNA に対する比は，蛋白質合成の indicator として意義づけられており (Allison¹⁸⁾)，estrogen が子宮蛋白含量の増大を来たす事は知られている。しかし progesterone 投与の影響についてはあまり明確でなく，estrogen の子宮内蛋白取り込みに対して拮抗的に作用する報告もみられる¹⁴⁾¹⁹⁾。本実験では正常群に蛋白増量を認めたが，下垂体摘出群ではほとんど変化がなかった。これら progestin による影響の詳細については，卵巣摘出動物を用いて研究中である。

卵巣への影響については，家兎では殆んど影響を認めなかった。正常群では各 fraction にはほとんど変化なく，下垂体摘出群に acid soluble-P. 減少，RNA-P. 増加作用を認めた。RP では正常ラットにおいて RNA-P./DNA-P. 及び蛋白質含量の有意な増加を来たし，これが下垂体摘出群では消失する事は興味深い。本実験では，上述の卵巣への変化が観察し得た事を述べるに留め，今後の progestin の下垂体・卵巣・および終局作用部位である子宮における機序に関する詳細な研究をまちたい。

総 括

Progesterone 及び合成の megestrol acetate, retroprogesterone, ethynodiol diacetate について，acidsoluble-P. phospholipid-P. RNA-P. DNA-P. 各 fraction への影響を，正常及び下垂体摘出ラットの子宮全層，家兎子宮内膜について観察し次のような結果を得た。

1) Acid soluble-P. は有意な変動を示さなかった。Phospholipid-P. は合成 progestin では増加の傾向があり，特に EA では正常，下垂体摘出ラットおよび家兎子宮内膜のいずれでも増加したが，Pr. のみは下垂体摘出ラットにおいて有意な減少を来たすという異なった傾向が認められた。RNA-P. は EA でいずれの場合も増加を認めたが他の progestin では殆んど変化が

15) Mueller, G.C. : J. Biol. Chem., **231**, 945 (1958).

16) Davis, J.S. and Meyer, R.K. : Endocrinol., **59**, 505 (1956).

17) Drasher, M.L. : J. Exptl. Zool., **119**, 333 (1952).

18) Allison, J.B. : Fed. proc., **22**, 1126 (1963).

19) Mueller, G.C. : J. Biol. Chem., **204**, 77 (1953).

ない。DNA-P. は著しい変化は認められなかった。RNA-P./DNA-P. は Pr. でやや低値を示し、他の progestin ではやや高値を示した。

これらの変化は、家兎子宮内膜での観察より、ラットを用いた筋層をも含む子宮全層で観察した場合に著明であった。

2) 本実験に使用した steroid 中 EA において著明な estrogenic, anabolic および androgenic activity が認められた。この事が他の progestin 特に progesterone とは異なった各リン酸 fraction の変動を来たしたと思われる。

3) 卵巣内諸種リン酸化合物への影響については、正常ラット及び家兎ではいずれの fraction もほとんど変化はない。しかしながら下垂体摘出ラットでは acid soluble-P. の減少、RNA-P. の増加が認められた。

4) 蛋白質含量の増加作用は anabolic action とも関係すると考える。