

新しい IUD, uterine progesterone system (UPS) の作用機序に関する基礎的研究

Studies on Antifertility Effects of Uterine Progesterone System (UPS) in the Rabbit

新潟大学医学部産科婦人科学教室

布 川 修 Osamu NUNOKAWA 小 川 弘 良 Hiroyoshi OGAWA
王 正 貫 Masanuki OH 大 原 康 Yasushi OHARA
高 橋 威 Takeshi TAKAHASHI 竹 内 正 七 Shoshichi TAKEUCHI

山形大学医学部産科婦人科学教室

川 越 慎之助 Shinnosuke KAWAGOE 広 井 正 彦 Masahiko HIROI

概要 新しい IUD, uterine progesterone system (UPS) の作用機序について雌家兎を用いて基礎的検討を行つて以下の成績を得た。

UPS より放出される progesterone の内分泌環境に及ぼす影響を検討してみると、家兎交尾排卵実験では UPS 挿入家兎と対照との間には有意差をみとめなかつた。下垂体前葉刺激として合成 LH-RH 投与による排卵についてみたが、対照と比較して UPS 家兎で排卵の阻止はみとめられなかつた。HCG 過排卵についても、UPS 家兎で差はみとめられず、UPS による間脳、下垂体、卵巣系への影響はほとんどみとめられぬ成績を得られた。

精子透過性阻止について、UPS 家兎に交尾させ、家兎性管各部への精子数を算定してみると、有意に UPS 挿入側への精子透過性の阻止がみとめられた。

また、UPS-progesterone の代謝面を検討するために ^3H -UPS 挿入家兎について、経日的に体内各臓器、血中への溶出及び尿中への排泄動態を検討してみると、UPS 挿入1週間目頃に尿中排泄、体内各臓器への分布が高く、以後は次第に低下し、肝臓、腎臓などで比較的高値をしめしているが、内分泌臓器では減少が著明であつた。しかし、血中レベルは比較的一定値をしめしていた。

これらの成績から UPS の作用機序としては progesterone の局所的作用、精子透過性阻止などにもとめられるのではないかと推定される。

緒 言

昨今の社会問題をみるに公害、資源不足の問題が非常に大きな問題となつている。しかし、そのうらには世界的な人口増加をみのがすわけにはいかない。とくに衛生環境の改善とともに死亡率の低下による自然増は著しく、このままで増加するならば21世紀には65億の人間によつてしめられると推計されている。一方、各国でこの人口増加に対する研究はなされているが、周知の如く人口問題の背景にある経済力、政治力、宗教、教育など

複雑に修飾されて避妊に関する研究はつねに陽の目をみないか、等閑視される傾向にあつたことは過去の歴史をみれば明らかである。しかし、我国における1億以上の人口をかかえて衣・食・住は破裂状態にあり、それにとまらぬ公害問題は一次産業を持たぬ我国の必然的にたどる破滅への道といつて過言ではない。著者らは数年来、この問題にとりくみ、pill 及び mini-pill の基礎的臨床的研究を重ねてきたが、今回、新しい IUD uterine progesterone system (UPS) の作用機序について

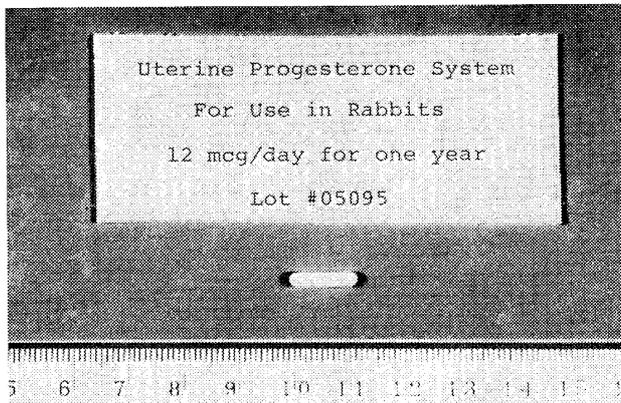
の基礎的検討を行って2, 3の知見を得たのでここに報告する。

実験方法及び実験材料

I 実験材料

1. 使用動物：成熟雌家兎，体重 2.5～3.0kg, 2週間以上独房に飼育し，実験に供する前に排卵のないのを確認した。
2. 動物実験用UPS：家兎子宮内装着用のUPSはAlza社の好意により，臨床で使用すると同じもので写真の如く，1.5cmの長さで ethy-

写真1



lenvinyl acetate copolymer の膜で progesterone をつつみ，この膜の透過性を利用して12mcg/day 長期間にわたって一定の量が溶出するように作製されたものである。

3. 合成 LH-RH：持田製薬提供の LH-RH を使用し，100 μ g/A のものである。
4. HCG：帝国臓器提供の Gonadotropin 1,000 iu/A を使用した。
5. ^3H -UPS：同じUPSであるが ^3H -progesterone がつつまれているもので体内分布，排泄などUPSの代謝面を検討するためのもので，この ^3H -UPS は specific activity が21.4 μ Ci/mg, total activity 0.66 mCi, ^3H -release rate 1.25 μ Ci/day cold progesterone release rate 12.6 μ g/day cold progesterone content 9.6mg のように作製されたものである。

II 実験方法

2週間以上，独房に飼育した成熟雌家兎を開腹し，排卵のないのを確認したのちに左側子宮，下

半分に小切開を加えてUPSを挿入し，UPSの一端を絹糸（無菌）で固定し，子宮壁にも同時に固定して閉腹し，創の治癒をみとどけて3週間後に実験に供した。

1. 間脳，視床下部に及ぼす UPS-progesterone の影響を検討するために UPS- 挿入家兎（以後 UPS- 家兎と略す）と元気な雄家兎とを同居させ，交尾所見確認後，24時間後に開腹して平均排卵卵胞数，排卵率を算定した。なお，対照には無処置家兎の交尾排卵と比較した。

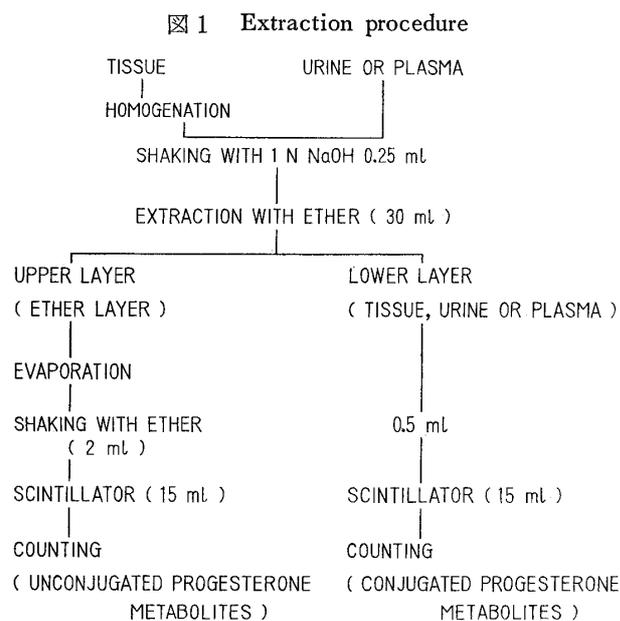
2. 下垂体前葉への UPS-progesterone の影響をみるために UPS- 家兎に合成 LH-RH 200 μ g 静注し，24時間後に開腹して同様に平均排卵卵胞数，排卵率について検討した。

なお，投与する LH-RH の量的検討をするために，LH-RH 0, 5, 10, 50, 100, 200 μ g 500 μ g と次第に増量して排卵率を検討して 200 μ g と決定した。

3. 卵巣への UPS-progesterone の影響を検討するためにHCG誘発，家兎過剰排卵実験を行った。即ち，UPS- 家兎に HCG 100iu 静注し，24時間後に排卵率，平均排卵卵胞数を算定した。投与するHCG量を決定するために無処置家兎にHCGを10, 25, 75, 100 iu 投与して一番反応した 100 iu に決定した。

4. UPS-progesterone の子宮頸管への精子透過性をみるために UPS- 家兎と元気な雄家兎とを同居させ，推定交尾12時間後に屠殺し，子宮，腔をふくめて摘出し，周囲脂肪組織をとりぞいたのちに腔，左右子宮と切半し，さらに切半した子宮を上・下に2分して生理的食塩水で十分洗い流し，遠心後に血球計算盤上で精子数を算定した。

5. UPS-progesterone の体内での代謝面をみるために ^3H -UPS-progesterone を家兎に挿入し，尿中への ^3H の排泄状態を検討し，血中及び体内各臓器内へのとりこみをみるために挿入7日後，14日後，21日後，90日後に屠殺し，全採血を行った。測定臓器としては大脳，脳下垂体前葉，肝臓，腎臓，副腎，卵巣，子宮，腔，脾臓，血中などの ^3H を測定した。



尿中 ^3H 測定には尿 0.5ml にトルエンシンチレーターを直接加えて count を行い、各臓器内の ^3H 測定には図1の如き操作を行って測定を行った。

実験成績

1. 家兔交尾排卵に及ぼす UPS の影響

対照家兔6匹、UPS-家兔5匹で交尾誘発排卵を比較検討すると表1の如くであった。すなわち

表1 Ovulation rate in female rabbits after copulation

	No. of Rabbits	Ovulated rabbits	Mean No. of rupt. follicles	Mean No. rupt. and haemorrh. follicles	Ovulation rate (%)
control	6	6	5.5	7.1	100
UPS	5	5	4.8	6.2	100

表2 Ovulation in female rabbits after intravenous injection of synthetic LH-RH administration

LH-RH (μg)	No. rabbits	Ovulated rabbits	Mean No. of ruptured follicles	Mean No. rupt. and haemorrh. follicles	Ovulation rate (%)
control	5	0	0	0	0
5	5	0	0	0	0
10	5	2	5.0	5.1	40
50	6	3	3.2	4.4	50
100	6	4	3.5	4.0	80
200	5	5	3.3	4.2	100
500	5	5	3.0	4.0	100
UPS+200	5	5	2.4	4.4	100

排卵率はいずれも 100%であり、排卵卵胞数、出血卵胞数などにも実験群との間には差のないことがわかった。

2. 合成 LH-RH 誘発排卵に及ぼす UPS の影響

LH-RH 誘発排卵への UPS-progesterone の影響をみるために、まず投与する LH-RH 量を検討すると LH-RH 5 μg では排卵せず、10 μg 静注にて40%、50 μg で50%、100 μg で80%、200 μg 、500 μg と増量すると 100%の排卵率をしめした。しかし、平均排卵卵胞数、平均出血卵胞数などは投与量が増加しても増加することはなかった。そこで LH-RH 100 μg として UPS-家兔に静注してみると表2の如くであった。使用家兔は5匹で全例に排卵をみとめ、対照にくらべて排卵数、出血卵胞数などに差がなかった。

3. HCG 過排卵に及ぼす UPS の影響

家兔における HCG 誘発過排卵現象はよく知られているが、UPS-progesterone によつて家兔卵巣レベルにどのように影響するかをみると表3のごとくであった。すなわち、投与 HCG 量を増加させると排卵率は次第に増加し、75 IU 投与群では 100%の排卵をしめした。また平均排卵卵胞

表3 Ovulation rate after intravenous administration of HCG in female rabbits

Dose of HCG (μ g)	Total rabbits	Ovulated rabbits	Ovulation rate (%)	Ovulation		Mean No. of rupt. and haemorrh. follicles	
				total	mean	total	mean
control	7	0	0	0	0	0	0
10	7	0	0	0	0	10	2.5 \pm 0.2
25	7	6	85.7	22	3.6 \pm 0.3	43	6.1 \pm 0.5
50	7	6	85.7	26	4.3 \pm 0.5	86	12.1 \pm 1.3
75	7	7	100.0	38	5.4 \pm 0.4	114	16.2 \pm 1.0
100	7	7	100.0	48	6.8 \pm 0.5	124	17.7 \pm 0.4
UPS+100	5	5	100.0	25	5.0 \pm 0.6	82	16.4 \pm 1.4

数, 出血卵胞数も dose response をしめして増加し, 平均排卵数 6.8 \pm 0.5, 出血卵胞も加えると 17.7 \pm 0.4個であつた。

UPS- 家兎に HCG 100 IU 投与すると排卵率 100% 平均排卵卵胞数 5.0 \pm 0.6, 出血卵胞も加えると 16.4 \pm 1.4個で対照と比較しても差がないことがわかつた。

4. 子宮頸管部の精子透過性に及ぼす UPS の影響

推定交尾12時間後に UPS- 家兎を屠殺して腔, 子宮上下半分に切半し, UPS 挿入側, 非挿入側の各部分の精子数を算定すると表4の如くであつた。対照家兎に於ては各部分に良好な精子透過性をみとめたが, UPS- 家兎に於ては UPS 挿入側の上半分(卵管側)では極端に精子の透過性の低下していることがわかつた。反対側では比較的良好的な透過性をみとめ, 対照家兎と差がみとめられ

表4 Change in sperm number in various section of female genital tract of rabbits after copulation

		control	side of UPS(+)	side of UPS(-)
vagina		2.2 \times 10 ⁶	3.5 \times 10 ⁶	
uterus	lower half	1.5 \times 10 ⁶	2.0 \times 10 ²	1.2 \times 10 ⁶
	upper half	0.45 \times 10 ⁶	10	0.05 \times 10 ⁶

なかつた。

5. UPS-progesterone の体内分布動態

UPS-progesterone の代謝面で検討するために ³H で標識された ³H-UPS を同様の手技にて左側子宮下半分に挿入固定し, 血中への溶出, 体内各臓器(脳, 下垂体前葉, 肝, 腎, 脾, 副腎, 卵巣, 子宮 -UPS (+) 側, (-) 側, 腔)への吸収の状態について挿入7日後, 14日後, 21日後, 90日後に屠殺して検討してみると表5の如くであ

表5 Distribution of ³H-progesterone in female rabbits after ³H-UPS insertion (dpm/g of tissue)

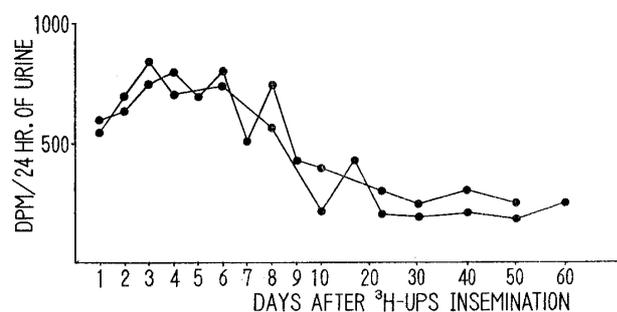
		after 7 days	after 14 days	after 21 days	after 90 days
Cereveral		1144.05	314.00	231.50	72.10
Pituitary		4713.50	1611.65	390.13	0
Liver		2057.30	1611.65	2783.30	1233.45
Kidney		3445.00	2597.80	2748.45	1650.85
Adrenal gland		1401.85	1273.30	1036.45	516.25
Spleen		1556.95	1670.40	558.15	117.00
Ovary (both)		2680.30	1125.80	1171.15	248.80
Uterus	UPS (+)	6366.45	3615.70	2475.25	1283.20
	UPS (-)	3666.90	2179.60	984.50	455.75
Vagina		3113.40	2473.55	1458.15	500.15
Blood (dpm/ml)		627.50	798.30	1176.60	904.00

つた。これでわかるように、挿入1週間目位では全身の広い部位に分布していることがわかる。日経つにつれて大脳、下垂体などは著明に低下し、90日目では count が不能になった。卵巣でも非常に低下してきているが、血中では1,000dpm/ml 前後で比較的一定であることがわかった。

6. 尿中 UPS-progesterone 排泄量の動態

^3H -UPS-家兎について隔離飼育し、尿と大便とを別個に採取し、経日的に尿中 ^3H -排泄量をしらべてみると図2の如くであった。すなわち挿入7

図2



THE EXCRETION OF ^3H -PROGESTERONE IN URINE OF FEMALE RABBITS

～8日目まで高値をしめすが、その後は減少し、ほぼ一定の排泄をしめすことがわかった。

考 案

本邦における戦後の社会混乱、経済破綻を最少限度にくいとめたものには人口増加問題の解決の果した役割は大きなものであり、家族計画、及び人工中絶の多かつたことは種々の問題をかかえながらも経済的な立ち直りに貢献したといえる。しかし、その後の受胎調節法について本邦に於ては何ら進歩したといえず、とくに IUD については太田の研究が世界的にも広く知られておりながら基礎的研究の方向づけもなされずに放置されてきた状態であった。しかし、現在の社会状況をみると資源不足、公害問題にひそむ世界的な人口増加は本邦だけに限られたものでないだけに全世界的な立場で研究しなければならない。避妊効果の面ばかりでなく、副作用がなく、使用が容易でしかも安価でなければならず、従来の方法をみても一長一短があることは周知のことである。経口避妊薬 pill についても副作用の面から estrogen

を出来るだけ減らして progesterone だけで十分避妊効果があることがわかり mini-pill として出現してきた。この mini-pill は間脳、下垂体、卵巣系の機能をみだすことなく、したがって排卵抑制のないものでより副作用の面で改善されてきている。著者らも合成 gestagen である ethynodiol diacetate を用いて基礎的にも臨床面でもここ数年来検討を加えて、明らかに progesterone のみで避妊効果のあることを実証してきた。

この progesterone の systemic route の投与による避妊効果をさらに少量の progesterone で同様の効果を期待すべく局所的投与で研究されるようになってきた。著者らは Alza 社で開発された ethylvinyl acetate copolymer の膜で progesterone をつつみ、その膜の透過性を利用して子宮内に挿入された progesterone が一定期間、一定量が溶出し、吸収されるという新しい IUD, uterine progesterone system (UPS) の作用機序について基礎的検討を行つてみた。臨床面での UPS は T 字状をしており、その軸に progesterone が入れているが、基礎実験用に作製された UPS は写真の如くで progesterone 放出率は 12mcg/day で全身投与によつて避妊効果あがる量と比較すると非常に少量である。しかし、progesterone が常時吸収されるという点ではその副作用の面でも慎重にならざるを得ない。したがって、今回の家兎実験については、内分泌環境の調節機構を障害しないかどうかについて検討し、その作用機序についても検討したのであるが、まず、性中枢への影響をみると、家兎では交尾が排卵に必要な中枢神経系への刺激となり、性腺刺激ホルモンの分泌を誘発し、排卵を起すようになることは Walton (1929)ら、Hill (1935) らの実験で明らかであるが、UPS-挿入家兎に同様の交尾実験を行つてみたのであるが、対照と差がないことがわかった。これは UPS より放出される progesterone がほとんど中枢へ影響していないのではないかと考えられる。

また、下垂体前葉機能に対する feed-back 機構にこの UPS-progesterone がどのように影響をもた

らすかをみるためにSchally (1972)らにより抽出、合成に成功した排卵ホルモン放出因子(LH-RH)をUPS-家兎に200 μ g 静注して排卵率、平均排卵卵胞数について対照と比較検討したが、ほとんど差がないことがわかった。LH-RHによる家兎排卵実験についてみると、Amoss (1972)らはLH-RH 1 ng 静注で全例排卵誘発したとし、広井(1974)らのsystemic routeよりLH-RH投与及び下垂体前葉内注入実験によるLH-RHの量的検討を行っているが、Yanaiharu (1973)らはLH-RHを投与する場合estrogen primingで排卵率は高くなり、progesterone 6 mgのprimingで排卵は完全に阻止されると報告している。これらのことをみてもUPS-progesteroneの下垂体前葉への抑制はほとんどないと考えられる。

UPS-progesteroneの卵巣への抑制の有無を検討するために、家兎におけるHCG過排卵現象からみると、投与するHCGを増量するにつれて排卵率、排卵卵胞数、出血卵胞数などはdose responseをもつて増加して過剰排卵がみられるが、HCG 100 IU+UPS家兎でもやはり過排卵現象がみられる。このことはUPS-progesteroneの家兎卵巣への抑制効果がみとめられないと推定されるものである。

mini-pillの作用機序の主たるものに子宮頸管粘液の性状の変化による精子透過性の阻止作用あるいは子宮内膜の変化などに求める説が有力であり、著者(1973)らの実験成績でもラットであるが、著明に精子の透過性の低下する事実を報告したが、ヒトに於てもAref (1973)らが種々のmini-pillを投与して精子の透過性を検討し、対照と比較して精子の透過性の低下、不動化が著明で、子宮内膜の組織検査でも非定型的な内膜像を呈し、その卵巣所見をみると64%に正常の黄体をみとめ、50%にfollicular cyste一部に黄体化のあるものと、そうでないものなどがあり、その作用機序はやはり精子の透過性の阻止によるものではないかと報告している。家兎についてUPS挿入側と非挿入側とで推定交尾12時間後について検討してみると、UPS挿入側で著明な精子透

過性が阻止されていることがわかった。動物における精子透過性をみるにあたり、一番問題になるのがcountする精子の回収率の問題があるが、西村、真鍋(1968)らの報告をみても15~20%と非常にひくいことがいわれている。著者らの方法でもそれが一番問題になってくるが、少なくともUPS側の上半分には著明な精子の透過性が阻止されている。しかし、数が少くとも精子上昇がみとめられる事実はfertilizationにむすびつくはずであるが、contraceptive agentとしてSeshadri (1971)らはUPSを挿入して卵の回収を行つて卵割の状態を観察しているが、着床ばかりでなく、卵割の阻止などがみとめられ、progesteroneのlocal effectを主張している。

UPS-progesteroneの代謝面を検討するために、 3 H-progesteroneを同様に子宮内に挿入固定し、各臓器内への分布、血中濃度の動態、尿中排泄の動態についてみたのであるが、この種の報告はまだみられず、一番重要な間脳、下垂体、卵巣系の内分泌臓器間の分布動態をみると、挿入1週間後では広く分布しており、とくにこれら内分泌臓器へのとりこみがかなり高濃度であることがわかり、それに比べて肝臓、脾臓などはそれ程多くなく、腎臓には尿中排泄をみてもかなり高濃度である。しかし、14日後、21日後と各臓器内の減少の程度をみると、大脳、下垂体前葉などでは顕著に低下し、90日後にはほとんど下垂体前葉中ではcount出来ないことがわかる。一方、血中の 3 Hをみると1,000dpm/ml前後でほぼ一定の溶出状態が推定される所見であった。

尿中の排泄動態は挿入1週間位までは高い排泄量をしめすが、10日前後位からはほぼ一定になってくる。肝臓、腎臓における分布は日数を経てもそれ程著明な減少はなく、比較的一定であった。これらの事実をみると、ethylvinylacetatecopolymerの膜の透過は挿入直後から数日間に急激に溶出し、ほぼ1週間位で一定となり、以後はlocalのeffectを持つのではないかと推測されるとともに、間脳、下垂体、卵巣系の調節機能障害がおきるとすれば挿入1週間位であり、その後はほとんど

ど問題にならぬのではないかと推定される。

結 言

新しい IUD uterine progesterone system(UPS)の作用機序及び間脳,下垂体,卵巣系への ethylenvinyl acetate copolymer でつまれた progesterone の影響について家兎を用いて基礎的検討を行つた結果,UPSは間脳,下垂体,卵巣系にはほとんど影響せず,³H-UPSで代謝面から検討すると,若し影響するとしても挿入直後であると考えられ,また避妊効果についてみると UPS-progesterone の local effect としての精子透過性阻止作用,子宮内膜などへの局所的 progesterone の作用に求められるのではないかと推測される。

稿を終るにあたり大塚製薬開発部,及び徳島工場RIセンターの絶大なる御協力,Alza社より sample の提供を心から深謝致します。

文 献

- 広井正彦,布川 修,川越慎之助,佐藤芳昭,竹内正七(1972):日産婦誌,24,473.
 広井正彦,布川 修(1974):ホと臨,22,839.

- 西村敏雄,真鍋幸夫(1968):産婦治療,16,443.
 布川 修,川越慎之助,広井正彦,竹内正七(1973):日産婦誌,25,760.
 鈴木雅洲,広井正彦,永松幹一郎,高橋 威,大竹四郎,布川 修,寺島隆夫,川越慎之助(1971):日産婦誌,23,1151.
 鈴木雅洲,広井正彦,永松幹一郎,高橋 威,大竹四郎,布川 修,寺島隆夫,川越慎之助(1972):日産婦誌,24,7.
 Amoss, M., Blackwell, R. and Guillemin, R. (1927): J. Clin. Endocr., 34, 434.
 Aref, I., Hefnawi, F., Kandil, O. and Abdel Aziz M.T. (1973): Fertil. and Steril., 24, 578.
 Hill, R.T., Allen E. and Kramer T.C. (1935): Anat. Rec., 63, 239.
 Schally, A.V., Kastin, A.J. and Arimura, A. (1972): Am. J. Obst. and Gynec., 114, 423.
 Sehshadri, B., Gibor, Y. and Scommegna, A. (1971): Am. J. Obst. and Gynec., 109, 536.
 Walton, A. and Hammond, J. (1928): J. Exper. Biol., 6, 190.
 Yanaiharu, T., Sakurai, Y., Okinaga, S. and Arai, K. (1973): Am. J. Obst. and Gynec., 115, 855.
 (No. 2894 昭50・3・12受付)