

排卵調節における Prostaglandins と性ステロイドの に関する実験的研究

京都大学医学部婦人科学産科学教室 (主任: 西村敏雄教授)

研究生 木 下 康

Experimental Studies on the Relationship between Prostaglandins and Sex Steroids in the Control of Ovulation

Yasushi KINOSHITA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Kyoto University, Kyoto
 (Director: Prof. Toshio Nishimura)

概要 排卵の成立には prostaglandins (PG) と性ステロイドがそれぞれ必要であることが、これまで別個に検討されてきたが、排卵機構に関与する両者の相互関係については全く知られていない。この点を明らかにするため、妊馬血清性ゴナドトロピン (PMS) とヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) の順次投与で排卵誘起をした幼若ラットに、PG の生合成阻害剤である indomethacin (IM) を hCG と同時に投与して排卵を抑制した場合、末梢血中 progesterone (P), testosterone (T), estradiol-17 β (E₂) の変動を検討し、次の結果を得た。

1) IM の投与量を増すにつれて平均排卵数は用量反応的に減少し、90 μ g 投与で最低に達し、以後3,600 μ g まで増量しても不変であった。2) hCG 投与後 P, T, E₂ 値の経時的変動をみると、3種のステロイドとも急激に上昇し、3時間目に最高値に達したが、排卵過程の前半期である6時間目までに急激に減少した。3) 排卵抑制最少有効量の IM (90 μ g) を投与した場合、P, T では排卵過程前半期の急激な増加が全く消失したのに対し、E₂ では対照群と同様の初期上昇が認められた。4) 種々の量の IM を投与した場合、18時間後の P, T, E₂ 値は対照群のそれに比して有意の変化を示さなかった。3時間後の P, T 値はそれぞれ18, 36 μ g 投与群まで急激に減少し、以後 P は緩徐に減少して3,600 μ g で最低に達したが T は殆ど不変であった。E₂ は180 μ g まで不変で360 μ g 以上で軽度の有意な減少を示した。5) PMS+hCG 処置を施した垂摘ラットでは14.6 $\pm$ 5.6の排卵を認め、hCG 投与後3時間目で P, T, E₂ とも著増した。IM (90 μ g) 投与では排卵数は0となり、かつ3時間後の P, T の増加は完全に抑制され非垂摘ラットでの成績が再現された。以上の成績は IM が卵巣レベルで P および T の産生を抑制することにより排卵が抑制されるものと解釈された。そして IM が PG 生合成阻害剤であることから、PG が排卵過程前半期において卵巣のステロイド産生を促進することが、卵胞破裂へと導く1つの作用機序であることが強く示唆された。

Synopsis With the aid of indomethacin (IM) the relationship between prostaglandins (PGs) and sex steroids in the regulation of ovulation was studied in immature rats treated sequentially with pregnant mare serum gonadotropin (PMS) followed by human chorionic gonadotropin (hCG). Plasma concentrations of progesterone (P), testosterone (T) and estradiol (E₂) were measured by radioimmunoassays.

Plasma concentrations of P, T and E₂ increased acutely and temporarily with peak levels 3 h following hCG. Concurrent injection via the tail vein of IM with hCG reduced dose-dependently the mean number of ova shed, being accompanied by a graded decrease in plasma concentrations of P and T, but not of E₂, 3 h following hCG. The minimum effective dose (90 μ g) that blocked ovulation completely in intact rats abolished the acute increase of P and T 3 h after hCG and inhibited subsequent ovulation in hypophysectomized immature rats. These facts suggest that PGs may act on ovulation by stimulating ovarian steroidogenesis in the preovulatory process.

Key words: Prostaglandins • Indomethacin • Sex steroids • Ovulation • Radioimmunoassay

緒 言

排卵の成立に prostaglandins (PG) が関与していることは、今日一般に認められている。その

根拠として、卵胞中の PG 濃度が、卵胞破裂に向かつて上昇することがラット (LeMaire et al., 1975)⁹⁾ やウサギ (LeMaire et al., 1973)¹⁰⁾ で

観察されること、また PG 生合成阻害剤である indomethacin (IM) によつて、排卵が抑制されること (Armstrong et al., 1972)³⁾ などの事実があげられている。この場合 PG の作用部位は、間脳下垂体レベル (Orczyk et al., 1971)¹⁷⁾ である可能性もあるが、主として卵巢への直接作用であるとの見方が妥当であろう (Armstrong et al., 1974⁴⁾; Sato et al., 1974¹⁹⁾).

しかし卵巢レベルにおける PG の作用機序は複雑で、おそらくは多面的であり、その全貌が明らかにされるには至っていない。卵巢の収縮性におよぼす影響は (Virutamasesen et al., 1972²²⁾; Diaz-Infante et al., 1974⁶⁾; Okamura et al., 1974¹⁶⁾; Hamada et al., 1976⁸⁾), 作用機序の重要な一面を示すものであろう。事実 IM は、卵胞の黄体化やステロイド生合成を阻害することなく、排卵の物理的プロセスのみを阻害する結果、排卵を抑制すると考えられてきた (O'Grady et al., 1972¹⁵⁾; Greenwich et al., 1972⁷⁾).

他方当教室では、排卵刺激後、卵巢でその産生が急増する progesterone (P) や androgen が、その後の卵胞破裂に必須であることを証明している (Mori et al., 1977¹²⁾; Mori et al., 1977¹³⁾). これら性ステロイドの作用機序もいまだ不明といわざるを得ないし PG との相関も明らかでない。

最近 PG が in vitro でステロイド生合成を促進することが報告されていることから (Speroff et al., 1970²⁰⁾; Marsh et al., 1974¹¹⁾), 卵胞破裂に必須のステロイド生合成の調節を通して、PG が卵胞破裂に関与している可能性は高い。本研究では、IM の排卵抑制効果を性ステロイド産生におよぼす影響から検討することによりこの可能性を追求し、有意義な知見を得たので報告する。

実験材料と方法

1. 実験動物とその処置

実験動物としては、これまで当研究室で誘発排卵実験に用いてきた幼若ラットを使用した (Mori et al., 1977¹²⁾). Wistar 系幼若雌ラット (体重 30~40g) に生後22日齢の朝、5 国際単位 (IU) の妊馬血清性ゴナドトロピン (PMS) を背部皮下

に注射し、56時間後に10IU のヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)を尾静脈より注射して排卵を誘起した。また実験目的により生後20日目に下垂体摘除を施した同系同日齢の幼若ラットも併用した。動物は14時間照明の空調飼育室にて、充分な固形飼料 (オリエンタル酵母工業 K.K.) と水の給与の下に飼育した。

indomethacin (1-[p-chlorobenzoyl]-5-methoxy-2-methylindole-3-acetic acid, 以下 IM と略, 日本メルク万有株式会社) 処置を異にする次の4種の実験を行なったが、IM は0.01M 炭酸ナトリウム溶液 (pH 9.3) に溶解し、その0.1ml 中に所要量を含むようあらかじめ調製した。

実験 I では、IM の投与量と排卵反応との用量反応関係を検討する目的から、下垂体非摘除ラットを用い、1匹当たり1.8, 3.6, 9.0, 18, 36, 90, 180, 360, 900, 1,800および3,600 μ g の IM を hCG と同時に静注した場合の排卵数を算定した。剖検時 (hCG 投与後18時間目) 心臓穿刺で採血、血漿を分離し、性ステロイド測定用サンプルとして-20°Cに凍結保存した。

実験 II では、排卵抑制に必要な IM の最少有効量を、hCG と同時に単回投与した場合、性ステロイド生合成機能におよぼす影響を経時的に検討することを目的とした。実験 I の成績から排卵抑制の最少有効量は90 μ g と判定されたので、下垂体非摘除ラットを用い、hCG と同時に90 μ g の IM を投与し、投与直前ならびに投与後1, 2, 3, 6, 9, 12, 18時間後の血漿を採取した。IM を投与しない対照群についても同一の時点で剖検し採血した。

実験 III では、実験 II の結果から hCG 投与後ピークに達することが明らかになった3時間目の性ステロイド濃度が、hCG と同時に投与する IM を増量するにつれ如何なる影響を受けるかを検討した。その理由は、IM の影響を hCG 投与後18時間目のステロイド濃度から判定することは不適当であることが、実験 II の結果から判明したためである。

実験 IV では、IM が性機能系のどの部位に作用

しているかを知る目的から下垂体摘除ラットを用いた。排卵反応については hCG と同時に $90\mu\text{g}$ の IM を投与し、18時間後の排卵数を算定し、IM 非投与の対照群と比較した。また性ステロイド合成機能については、hCG と同時に $90\mu\text{g}$ の IM を投与し、3時間後の末梢血中性ステロイド濃度を測定し、IM 非投与の対照群と比較した。

3時間後の末梢血を採取した理由は、hCG 注射後この時点で末梢血中各種ステロイド濃度がピークに達することを、実験Ⅱの結果から知り得たためである。

2. 排卵数の算定方法

動物を軽いエーテル麻酔下で開腹し、両側卵管および子宮を露出させ、それらを一塊として損傷せぬように摘出し時計皿に移す。つぎに両側卵管を子宮角から切り離し、スライドグラス上に載せ、生理食塩水を数滴加えたのち、もう一枚のスライドグラスで覆う。カバーグラスを軽く抑えながら実体顕微鏡 (Olympus, SZ-II 型) 下に観察すると、卵管膨大部の卵は明瞭に確認できる。hCG 投与後18時間前後では、排出された卵のほとんどは卵管膨大部に留まっているが、念のため子宮内卵も算定した。pontamine sky blue の原液1滴を約50ml の生理食塩水に加え、約3ml を子宮腔断端から加圧注入し、卵管端から逆流する液を時計皿上に集める。青色に染まつた卵があれば、これを明瞭に実体顕微鏡下に観察できる。

3. progesterone, testosterone, および estradiol- 17β の測定

本研究においては、P, T および E_2 の3種の性ステロイドを測定対象とした。測定法は神戸川¹⁾、牧野²⁾の記載した Radioimmunoassay (RIA) に準じたが、そのあらましは図1に示した通りである。末梢血漿中におけるこれら3種のステロイド濃度にはかなりの開きがあるので、同一血漿試料から0.1ml をP測定用に、0.5または1.0ml をTと E_2 同時測定用に分割した。なお用いた有機溶媒はすべて市販 (和光純薬または半井化学製) の特級のものを使用した。

図1 Outline of procedures for RIA of steroids

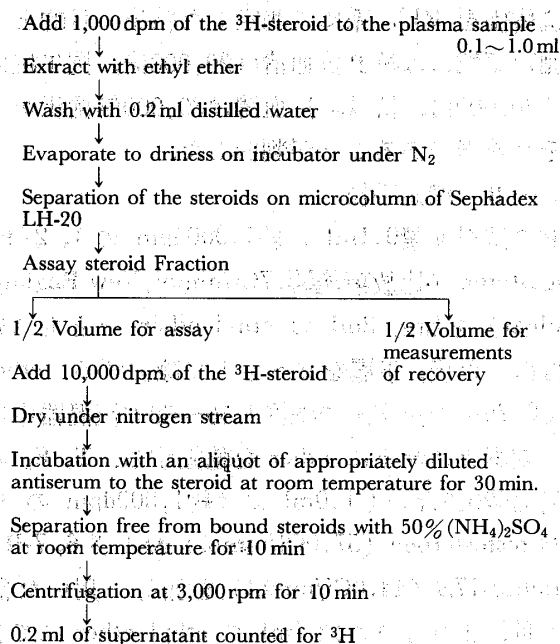


表1 Cross-reactivity of antisera to progesterone, testosterone and estradiol- 17β with various steroids

Compounds	Anti-P	Anti-T	Anti- E_2
Progesterone	100*	0.065	<0.08
Pregnenolone	1.46	<0.009	<0.08
20 α -hydroxy progesterone	6.73		
17 α -hydroxy progesterone	0.89	0.017	<0.08
Testosterone	0.17	100	0.29
Androstenedione	0.15	2.24	0.44
5 α -dihydrotestosterone		13.5	
Dehydroepiandrosterone	<0.06	0.017	<0.08
Estrone	<0.06	<0.009	3.20
Estradiol- 17β	<0.06	<0.009	100
Estriol	<0.06	<0.009	<1.77
Cholesterol	<0.06		<0.08

* Figures are expressed in %

3-1 A 抗血清の検定

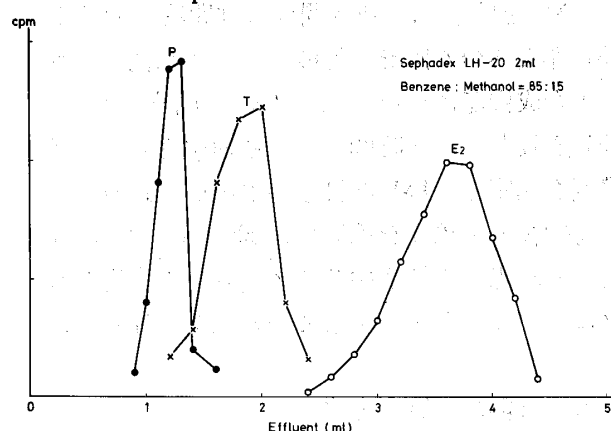
抗ステロイド抗血清はすべて帝国臓器株式会社から購入した。抗P抗血清は progesterone-3-carboxymethyloxime を牛血清アルブミン (BSA) と結合させて抗原とし、ウサギを免疫して作られたものである。同様に抗T, 抗 E_2 抗血清は testosterone-11-hemisaccinate-BSA, estradiol-6-carboxymethyloxime-BSA をそれぞれ抗原としたものである。これら抗血清の交叉反応性は表1に示した如くで、それぞれの性ステロイドに極めて高い特

異性を有するものであると判断された。それぞれの抗体価を RIA 系にて測定した結果、目的とする測定領域には抗 P 抗血清は20,000倍、抗 T 抗血清は20,000倍、抗 E₂ 抗血清は30,000倍希釈がそれぞれ適当であることが判明した。

3-B 測定手技

P の試料血漿0.1ml に約1,000dpm の 1, 2-³H-progesterone (比放射能55.7Ci/mmol, New England Nuclear) を加え 2ml の ethyl ether とともに充分振盪した後、下層をピペットで除去する。ether 層を0.2ml の蒸留水で洗浄し50~60°C恒温器中にて、窒素ガス流下に ether を乾固する。T, E₂ の試料血漿0.5ないし1.0ml には約1,000dpm の 1, 2-³H-testosterone (57.0Ci/mmol) および 6, 7-³H-estradiol-17 β (44.0Ci/mmol) を加え、用いた試料の量により4または7ml の ethyl ether にて P と同様の操作で抽出する。ツベルクリン用注射筒に 2ml の Sephadex LH-20 (Pharmacia Fine Chemicals) を充填して micro column を作成し、先に ether で抽出した試料を0.2ml の展開液 Benzene : Methanol (85 : 15) にて吸着させる。Sephadex LH-20の micro column を用い、上記展開液にて3種のステロイドを溶出した場合のパターンは図2に示した通りである。Pは1.0から1.4ml, T と E₂ はそれぞれ1.4から2.2ml, 3.0から4.2ml の溶出部位を採取し、その半量を回収率補正に、残りの半量を RIA に使用した。RIA 用試料には約10,000dpm の標識ステロイドを加え、窒素ガス流下に、80°C恒温器内で乾固した。抗 P および抗 T 抗血清は20,000倍に、抗 E₂ 抗血清は30,000倍に希釈し、先に乾固した検体に希釈抗血清0.25ml を加え、室温で30分静置した。標準曲線作成用として 0, 20, 50, 100, 200, 500, 1,000pg の標準ステロイド (帝国臓器) をとり、同様な操作を行なった。静置後、結合型と遊離型とを分離するため50w/v%の硫酸を0.25ml 加え、室温で10分放置、次いで3,000回転で10分間遠沈した。上清0.2ml をとり counting vial に移し、dioxane scintillator 10ml を加え液体シンチレーション計数器 (Nuclear Chicago, Mark II 型) にて放射能

図2 Elution pattern of progesterone (P), testosterone (T) and estradiol-17 β (E₂) on microcolumn of Sephadex LH-20



を計数した。

実験成績

1. 測定法の基礎的検討成績

A. 標準曲線

標準曲線は試料測定のと度作成した。縦軸に結合率を普通目盛で、横軸にステロイド量を対数目盛で表示した。P 測定系では0pg における結合率は84.1±1.5% (n=6), 500pg までの各点における標準偏差 (SD) は±1.5~±5.1%で、変動係数 (CV=SD×100/mean) は1.8~13.8%であった。T 測定系では 0pg における結合率は77.5±1.8% (n=6), 500pg までの各点における SD は±1.8~±4.4%, CV は2.3~16.1%であり、E₂ 測定系では 0pg において結合率は82.4±1.4% (n=6), 500pg までの各点における SD は±1.4~±3.0%, CV は1.7~12.6%であった。

B. Accuracy, Precision, Water blank と回収率

本測定法の accuracy を検討するため、蒸留水と幼若雌ラット血漿とにそれぞれ 0~500pg の P, T および E₂ の純品を加え、全測定操作を行ない、測定値を求めその結果を表2に示した。3種のステロイドとも20pg 以下では CV は一般に許容されている20%の限界を越えるが、20~500pg の範囲ではこの限界以下であるため、この範囲での測定値は accurate であるといえる。さらに本測定法の precision を検討するため、幼若雌ラットの同一血漿サンプル中に含まれる P,

表2 Accuracy of the method

Samples	Steroid added (pg)	Steroid quantified			Regression equation
		Mean (pg)	SD*	CV** (%)	
Progesterone in 0.1 ml of water	0	7.2	3.1	43.2	$Y = 1.03x + 4.47$
	20	27.4	5.1	18.6	
	50	58.3	7.8	13.4	
	100	102.6	8.3	8.2	
	200	206.4	18.9	9.2	
	500	521.0	45.8	8.8	
in 0.01 ml of plasma from an immature female rat	0	28.6	10.0	35.2	$Y = 1.0x + 3.1$
	20	52.4	7.0	13.4	
	50	76.8	8.9	11.6	
	100	134.2	16.2	12.1	
	200	230.6	22.6	9.8	
	500	533.8	57.7	10.8	
Testosterone in 0.1 ml of water	0	8.2	3.3	40.2	$Y = 1.0x + 8.4$
	20	27.4	5.0	18.2	
	50	60.1	6.3	10.5	
	100	109.2	10.7	9.8	
	200	206.7	17.7	8.6	
	500	508.8	27.4	5.4	
in 0.1 ml of plasma from an immature female rat	0	14.2	3.7	26.1	$Y = 1.01x + 13.95$
	20	35.4	6.9	19.5	
	50	62.8	10.2	16.3	
	100	115.4	22.0	19.1	
	200	214.7	39.9	18.6	
	500	520.1	63.4	12.2	
Estradiol-17 β in 0.25 ml of water	0	7.8	2.5	32.1	$Y = 1.01x + 9.2$
	20	26.9	3.9	14.5	
	50	59.7	7.4	12.4	
	100	108.6	9.5	8.7	
	200	218.1	15.7	7.2	
	500	512.6	50.2	9.8	
in 0.25 ml of plasma from an immature female rat	0	11.5	3.3	28.7	$Y = 1.02x + 12.2$
	20	33.2	6.1	18.4	
	50	60.8	9.7	16.0	
	100	114.9	14.8	12.9	
	200	221.2	36.9	16.7	
	500	519.0	88.7	17.1	

* SD=standard deviation, ** CV=coefficient of variation

Number of each determination: 4

X=steroid added, Y=steroid quantified

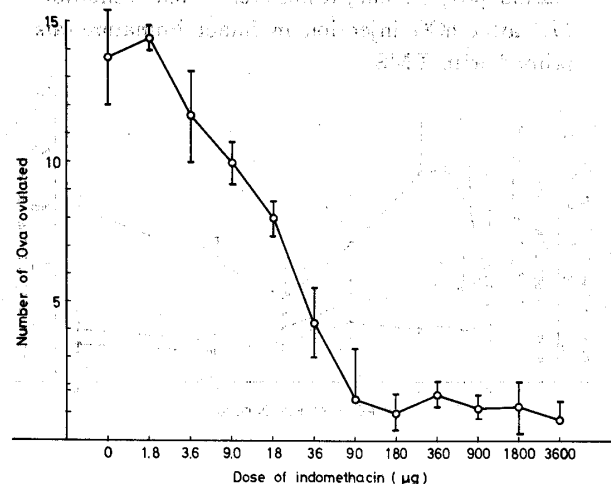
T, E₂ を同時にあるいは繰り返し測定し、級内 (intra-assay) および級間 (inter-assay) 変動係数を求めた。その結果は表3に示した。いずれも CV 20%以内であり precision の上からも本測定

法は信頼し得ることが知られた。また最高8pg 程度の water blank 値も生ずることから、20pg 以下の測定値が得られたときには原試料の使用量を適宜増加して再測定した。また本法による P, T, E₂ の回収率は表示した如く満足すべきものであった。

2. IM の排卵抑制効果

hCG と同時に IM を1.8 μ g から3,600 μ g まで段階的に増量して投与した時の平均排卵数は図3に示した通りである。IM を投与しない対照群では平均排卵数は13.9 $\pm$ 1.3 (mean $\pm$ SD) であった

図3 Effects of increasing dose of indomethacin on ovulation



が、1.8~90 μ g の範囲では用量反応的に平均排卵数は減少し、90 μ g 投与群では排卵数は1.6 $\pm$ 1.7と最低に達し、以後3,600 μ g 投与群までこのレベルにとどまっていた。

3. 排卵過程における末梢血中性ステロイドの経時的変動と、これにおよぼす IM の影響

hCG 投与後末梢血中ステロイドの経時的動態を図4に示した。3種のステロイドとも hCG 投与

表3 Reliability of the method

Steroid	Precision			Water blank (pg)		Overall recovery (%)	
	n	Intra-assay (%)	Inter-assay (%)	n	Mean $\pm$ SD	n	Mean $\pm$ SD
Progesterone	6	11.38	14.90	10	7.24 $\pm$ 2.7	12	82.6 $\pm$ 12.5
Testosterone	5	8.71	12.21	10	7.71 $\pm$ 3.2	12	76.7 $\pm$ 13.3
Estradiol-17 β	6	9.38	12.80	10	7.68 $\pm$ 2.8	12	68.2 $\pm$ 10.8

図4 Changes in plasma concentrations of progesterone, testosterone and estradiol-17 β after hCG injection in intact immature rats primed with PMS

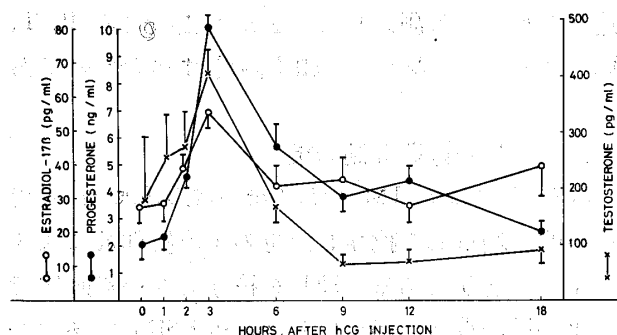
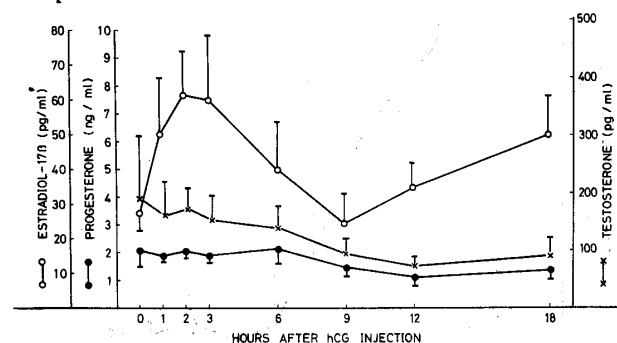


図5 Effects of 90 μ g per rat of indomethacin on plasma progesterone, testosterone and estradiol-17 β after hCG injection in intact immature rats primed with PMS



後急激に上昇しはじめ、3時間目に最高値に達し、以後6時間目までに急激に減少した。以後18時間目まで著明な変動は認められなかったが、 E_2 はやや増加傾向を示した。さらに排卵抑制をもたらす最少有効量のIM (90 μ g)がこのようなステロイド動態にどのような影響をおよぼすかを検討した成績を図5に示した。PおよびTに関しては、対照群ラットで認められた一過性の急激な増加と減少が全く消失し、hCG投与から18時間後に至るまで平坦なカーブを描いて消長した。これに対し E_2 は対照群で認めたと同様の初期上昇を認め、9時間後に最低に達したあと、18時間目には対照群におけると同様再び増加傾向を示した。

4. hCG投与後3、18時間後の性ステロイドレベルにおよぼすIMの影響

つぎに排卵反応観察時点(hCG投与後18時間

図6 Changes in plasma concentrations of progesterone, testosterone and estradiol-17 β 18h after injection of increasing dose of indomethacin simultaneously with hCG

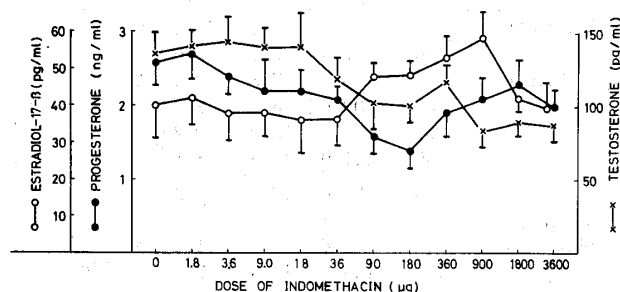
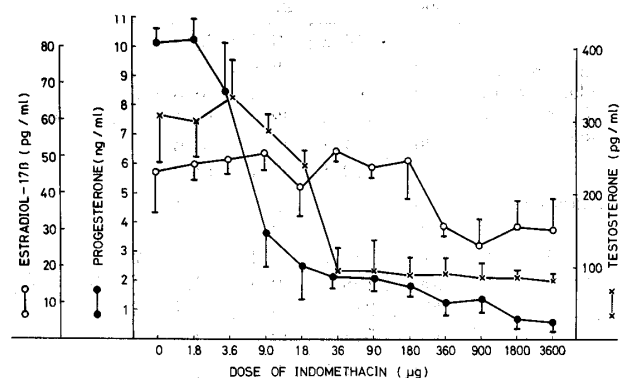


図7 Changes in plasma concentrations of progesterone, testosterone and estradiol-17 β 3h after injection of increasing dose of indomethacin simultaneously with hCG



目)における血漿P, T, E_2 の測定値を図6に示した。投与量の増加とともに、P値は徐々に減少し、180 μ g投与群では最低値 1.4 ± 0.2 ng/mlに達し、対照群の値 2.6 ± 0.3 ng/mlに比して有意($p < 0.01$)に減少していた。しかしIMをさらに増加するにつれてむしろ上昇傾向を認めた。これに対し E_2 は1.8~36 μ gの少量投与では低値を、90 μ g以上の多量投与では高値を示した。またT値はP値に近い変動を示したがP値ほど明瞭ではなかった。以上を要約すると、有意の減少を認めた場合もあるが、これら3種の性ステロイドのうちのいずれも、IMの投与量に対し、明らかな相関をもつて変動したものはなかった。

つぎに3時間後のP, T, E_2 値におよぼすIMの影響を検討した成績を図7に示した。P値は18 μ g投与群まで急激に減少し、以後緩徐に減少

表4 Ovulatory responses and plasma steroid levels in hypophysectomized immature rats

Treatment	Ovulatory response		Plasma steroid levels*		
	Proportion of rats ovulating	Ova (mean±SD)	Progesterone (ng/ml) (mean±SD)	Testosterone (pg/ml) (mean±SD)	Estradiol-17 β (pg/ml) (mean±SD)
PMS	0/5	0	0.6±0.1	97±13	19±7
PMS+hCG	5/5	14.6±5.2	3.8±1.2	310±46	33±6
PMS+hCG+indomethacin	0/5	0	0.7±0.2	106±26	32±4

* Samples were drawn 3 hours after hCG injection

して3,600 μ g 投与群で最低に達した。T値は36 μ g 投与群まで急激に減少し、これより多量の投与群ではほとんど不変であった。これに対しE₂値は180 μ g 投与群までは不変であったが、360 μ g以上の投与群では軽度のしかし有意 ($p<0.001$) の減少を示した。

5. 下垂体摘除ラットにおける検討成績

下垂体摘除ラットを用いた場合、IMの排卵ならびに3種のステロイド値におよぼす影響に関する検討成績は表4に示した通りである。垂摘ラットにおいても平均14.6の排卵が認められたと同時に、hCG投与後3時間目の血中P、T、E₂ともに著増した。90 μ gのIM投与によつて、排卵数が0になるとともにP、Tの増加が完全に抑制された。しかしE₂値の増加は抑制されなかつた。これらの結果は、非垂摘ラットにおける検討成績が垂摘ラットでも再現できることを示している。

考 案

排卵刺激の mediator として、PGが卵胞破裂に重要な役割を果していることは今日一般に認められている。その作用機序の全貌については必ずしも明らかにされていないが、PG生合成阻害剤であるIMで排卵を抑制した場合、形態的にみて卵胞の黄体化像が障害を受けることもなく、また末梢血中性ステロイド濃度も、対照と比べて有意の変動を示さないことから、排卵の物理的プロセスのみを阻害すると考えられて来た (O'Grady et al., 1972¹⁵; Grinwich et al., 1972⁷)。そしてこの物理的プロセスとしては、卵巣の収縮性があげられている (Virutamasen et al., 1972²²; Diaz-Infante et al., 1974⁶; Okamura et al., 1974¹⁶; Hamada et al., 1976⁹)。

IM投与の効果を、排卵反応におよぼす効果と性ステロイド値におよぼす効果の両面から比較検討すると、本研究で得られた検討成績は、PGの作用機序について従来考えられてきた上記機序のほかに有意な知見を提供している。まずIMの投与量を増加するにつれて、平均排卵数は用量反応的に減少し、90 μ gではほぼ完全な抑制をみた。他方hCG投与後3時間目にピークに達した血中P、T、E₂のうち、PとTはIM投与量の増量とともに用量反応的に減少し、排卵を抑制し得る最少有効量 (90 μ g) 以上のIMによつてhCGにより誘導されるべきPやTの初期上昇が完全に抑制された。IMがPG生合成阻害剤であることを考えれば、これらのステロイドの動きから、hCGに反応して産生されるPとTがPGの調節を受けているとの解釈は妥当であろう。しかし排卵反応との因果関係はどのように解釈すべきであろうか。排卵刺激によつてステロイド産生が急激に亢進することは、ウサギ卵胞 (Suzuki et al., 1977²¹)、ヒト卵胞 (Mori et al., 1978¹⁴) やラット卵巣 (Bauminger et al., 1977⁵) について証明されている。本研究で用いたラットの実験系についても、hCG投与後P、T、E₂ともに3時間後にピークを有する急激な血中濃度の上昇を示した。そして排卵刺激によつて、卵巣内にその産生が亢進する性ステロイドのうち、P (Mori et al., 1977¹²) やT (Mori et al., 1977¹³) を特異抗体で中和してやると、その後の排卵が抑制されるので、これらのステロイドが卵胞破裂に重要な役割を果していることは明白である。

以上のことからIMによる排卵抑制には、少なくともステロイド産生の抑制によつてもたらされ

たものが含まれていると考えなければならない。このように排卵調節における PG の役割のなかには、性ステロイド生合成機能の調節を介しての作用経路のあることが本研究の結果から指摘できよう。これまでこの作用経路が見逃されていた背景には、排卵刺激によつて誘導される性ステロイド生合成機能の亢進が一過性であるため、hCG と IM の投与後、連続測定によつて経時的変動を追跡しなければ IM 投与の効果が判明しなかつたことが挙げられよう。したがつて剖検時唯一点のみの測定によつて IM が性ステロイド生合成に影響を与えることなく排卵を阻害するとした従来の見解は、早計な結論といわざるを得ない。

性ステロイド生合成に対する PG のこのような調節作用については、以下の如きいくつかの特徴が指摘できる。まず性ステロイド濃度および排卵反応におよぼす IM の効果が、垂摘ラットでも再現されたことから、PG はおそらく卵巣レベルで作用しているであろう。つぎにこの PG 作用が排卵過程のどの時期に作用しているかである。hCG による誘起排卵の過程は、ラットではおよそ12~15時間であり (Rowlands, 1944¹⁸⁾、かつステロイド値のピークは6時間までには下降しているため、PG による調節作用は、排卵過程の前半に働いていると解してよいであろう。さらにラット卵胞内 PG 値は、卵胞破裂に向かつて急上昇するが、排卵過程の前半期ではまだ低値に留まっている (LeMaire et al., 1975⁹)。事実からすれば、おそらくは比較的低濃度の PG によつて調節されていると考えられる。このことは極めて少量の IM に反応して、血漿中 P や T が減少している事実からも首肯されよう。以上を要約すると、排卵の成立に必須の性ステロイド産生亢進は、排卵過程前半期に作用する比較的低濃度の PG によつて調節されているといえよう。

排卵の成立には、本研究で明らかにされた作用以外にも、これまで考えられてきた卵巣の収縮機構に対する作用との共同作用が必要であろうとの観点より、今後さらに詳細な実験的検討が望まれる。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜った西村敏雄教授に深甚なる謝意を表します。また終始直接の御指導を賜った森崇英講師に深謝致します。さらに RIA に関し御指導を賜った帝国臓器薬理研究部の神戸川明博士ならびに実験を補助して下さった河瀬祐美子嬢に深謝致します。本研究は京都大学医学部基礎放射能教室 RI 学生実習室研究室ならびに京都大学放射同位元素センターにて行われたもので、両施設の御協力に謝意を表します。

文 献

1. 神戸川明：エストロゲン。最新医学，30：790，1975。
2. 牧野拓雄：性ステロイドホルモンの Radioimmunoassay，日内分泌誌，49：629，1973。
3. Armstrong, D.T. and Grinwich, D.L.: Blockade of spontaneous and LH-induced ovulation in rats by indomethacin, an inhibitor of prostaglandin biosynthesis. Prostaglandins, 1: 21, 1972.
4. Armstrong, D.T., Grinwich, D.L., Moon, Y.S. and Zamecnik, J.: Inhibition of ovulation in rabbits by intrafollicular injection of indomethacin and prostaglandin F antiserum. Life Science, 14: 129, 1974.
5. Bauminger, S., Eckstein, B. and Lindner, H.R.: Changes in steroid concentration in the ovaries of immature rats treated with pregnant mare serum gonadotrophin and human chorionic gonadotrophin. J. Endocrinol., 75: 43, 1977.
6. Diaz-Infante, Jr. A., Wright, K.H. and Wallach, E.E.: Effects of indomethacin and prostaglandin $F_{2\alpha}$ on ovulation and ovarian contractility in the rabbit. Prostaglandins, 5: 567, 1974.
7. Grinwich, D.L., Kennedy, T.G. and Armstrong, D.T.: Dissociation of ovulatory and steroidogenic actions of luteinizing hormone in rabbits with indomethacin, an inhibitor of prostaglandin biosynthesis. Prostaglandins, 1: 89, 1972.
8. Hamada, Y., Bronson, R.A., Wright, K.H. and Wallach, E.E.: Ovulation in the perfused rabbit ovary: The influence of prostaglandins and prostaglandin inhibitors. Biol. Reprod., 17: 58, 1977.
9. LeMaire, W.J., Leidner, R. and Marsh, J.M.: Pre and post ovulatory changes in the concentration of prostaglandins in rat Graafian follicles. Prostaglandins, 9: 221, 1975.
10. LeMaire, W.J., Yang, N.S.T., Behrman, H.H. and Marsh, J.M.: Preovulatory changes in the concentration of prostaglandins in rabbit

- Graafian follicles. Prostaglandins, 3: 367, 1973.
11. Marsh, J.M. and LeMaire, W.J.: Cyclic AMP Accumulation and steroidogenesis in the human corpus luteum: Effect of gonadotropins and prostaglandins. J. Clin. Endocrinol. Metab., 38: 99, 1974.
 12. Mori, T., Suzuki, A., Nishimura, T. and Kambe-gawa, A.: Inhibition of ovulation in immature rats by anti-progesterone antiserum. J. Endocrinol., 73: 185, 1977.
 13. Mori, T., Suzuki, A., Nishimura, T. and Kambe-gawa, A.: Evidence for androgen participation in induced ovulation in immature rats. Endocrinology, 101: 623, 1977.
 14. Mori, T., Fujita, Y., Suzuki, A., Kinoshita, Y., Nishimura, T. and Kambe-gawa, A.: Functional and structural relationships in steroidogenesis in vitro by human ovarian follicles during maturation and ovulation. J. Clin. Endocrinol. Metab., 47: 955, 1978.
 15. O'Grady, J.P., Caldwell, B.V., Auletta, F.J. and Speroff, L.: The effects of an inhibitor of prostaglandin synthesis (indomethacin) on ovulation, pregnancy and pseudopregnancy in the rabbit. Prostaglandins, 1: 97, 1972.
 16. Okamura, H., Okazaki, T. and Nakajima, A.: Effects of neurotransmitters and prostaglandins on human ovarian contractility. Obstet. Gynecol., 44: 720, 1974.
 17. Orczyk, G.P. and Behrman, H.R.: Ovulation blockade by aspirin or indomethacin- In vivo evidence for a role of prostaglandin in gonadotropin secretion. Prostaglandins, 1: 3, 1971.
 18. Rowlands, I.W.: The production of ovulation in the immature rat. J. Endocrinol., 3: 384, 1944.
 19. Sato, T., Taya, K., Jyujō, T. and Igarashi, M.: Ovulation block by indomethacin, an inhibitor of prostaglandin synthesis: A study of its site of action in rats. J. Reprod. Fertil., 39: 33, 1974.
 20. Speroff, L. and Ramwell, P.W.: Prostaglandin stimulation of in vitro progesterone synthesis. J. Clin. Endocrinol. Metab., 30: 345, 1970.
 21. Suzuki, A., Mori, T. and Nishimura, T.: Changes in steroidogenesis by isolated rabbit ovarian follicles in vitro during the preovulatory interval with emphasis on active androgen production. Endocrinol. Jap., 24: 129, 1977.
 22. Virutamasen, P., Wright, K.H. and Wallach, E.E.: Effects of prostaglandins E_2 and F_{2a} on ovarian contractility in the rabbit. Fertil. Steril., 23: 675, 1972.

(No. 4557 昭54・6・11受付)