

卵巢周期による卵巢ステロイド代謝像の相違

昭和大学医学部産科婦人科学教室

清水 篤 平戸久美子 日高 輝幸
矢内原 巧 中山 徹也

Difference of Steroidogenesis in Human Ovary at Different Stage of Cycle

Atsushi SHIMIZU, Kumiko HIRATO, Teruyuki HIDAKA,
Takumi YANAIHARA and Tetsuya NAKAYAMA

Department of Obstetrics and Gynecology, Showa University School of Medicine, Tokyo

概要 正常成熟期婦人の卵巢におけるステロイド代謝動態を明らかにするため、卵胞期と黄体期とに分けて、末梢血、卵巢静脈血、卵巢組織中の各種ステロイド濃度の radioimmunoassay (RIA) 法による測定、並びに卵巢組織の 3β -hydroxysteroid dehydrogenase (3β -HSD) 活性を *in vitro* での Δ^5 ステロイドより Δ^4 ステロイドへの転換率から測定した。測定したステロイドは、pregnenolone (P_5), 17α -OH- P_5 , dehydroepiandrosterone (DHA), androst-5-ene- $3\beta,17\beta$ -diol (AD), progesterone (P_4), 17α -OH- P_4 , androst-4-ene- $3,17$ -dione (Δ^4A), testosterone (T) の8種である。

1) 卵巢静脈血中と末梢静脈血中ステロイド値の比較：卵巢静脈血中では、末梢血に比し、卵胞期、黄体期ともに、上記8種ステロイドはいずれも有意に高く、卵巢でこれらが産生されている事が示唆された。

2) 卵巢静脈血中ステロイド値の卵胞期と黄体期での比較：黄体期卵巢静脈血中の P_5 , P_4 , 17α -OH- P_4 , DHA, Δ^4A , T の各値は卵胞期に比して有意に高値であつて、黄体期でのこれらのステロイドの分泌亢進が示唆された。 17α -OH- P_5 , AD 値には黄体期、卵胞期の間に差を認めなかつた。

3) 卵巢組織中ステロイド値：黄体組織中の P_5 , 17α -OH- P_5 , DHA, P_4 , 17α -OH- P_4 , T 値は卵胞組織に比し有意に高値であつた。

4) 卵巢組織中ステロイド値と卵巢静脈血中ステロイド値との関係：卵巢組織中ステロイド値は、卵巢静脈血中ステロイド値とは必ずしも平行せず、増減の割合も一致しない。

5) 3β -HSD 活性：i) 黄体組織の 3β -HSD 活性は P_5 , 17α -OH- P_5 , DHA, AD いずれの基質に対しても卵胞組織に比しては著しく高い。ii) 卵胞組織中の 3β -HSD 活性は比較的低い、基質特異性があり、 P_5 に対する活性を100%とすると、 17α -OH- P_5 に対しては171.4%と有意に高く、一方 DHA に対しては52.7%と有意に低値であつた。

以上により、黄体期では Δ^4 ステロイドの産生の著増が確かめられたが、これには Δ^5 系各ステロイドに対応する 3β -HSD 活性の顕著な上昇とともに、 Δ^5 系経路の活発化による本酵素の基質となる Δ^5 系各ステロイド生成能の亢進が大きな役割を果していることが示唆された。

Synopsis This experiment was undertaken to compare the steroidogenesis in human ovary at different stage of the cycle. Fifteen subjects, 8 in follicular, 7 in luteal phase were selected for this study. On hysterectomy, both ovarian and peripheral venous blood were collected simultaneously and follicle or corpus luteum were obtained. Steroid levels including pregnenolone (P_5), 17α -OH- P_5 , DHA, androstenediol (AD), progesterone (P_4), 17α -OH- P_4 , androstenedione (Δ^4A) and testosterone (T) were measured by radioimmunoassay. Tissue were homogenized and incubated with labeled P_5 , 17α -OH- P_5 , DHA and AD in the presence of NAD at 37°C. As gas phase, CO was used. Metabolites were extracted and separated by TLC. 3β -hydroxysteroid dehydrogenase (3β -HSD) activity was expressed as the amounts of Δ^4 -steroid formed from corresponding Δ^5 substrate.

The levels of P_5 , P_4 , 17α -OH- P_4 , DHA, Δ^4A , T in the ovarian vein and the concentration of P_5 , 17α -OH- P_5 , DHA, P_4 , 17α -OH- P_4 , T in the ovarian tissue obtained in luteal phase were significantly higher than that

in follicular phase. These results suggested that the Δ^5 pathway seem to be active in corpus luteum. In follicular phase, highest concentration of 17α -OH- P_5 among Δ^5 in ovarian vein and 17α -OH- P_4 among Δ^4 -steroid in ovarian vein and tissue was noticed.

3β -HSD activity was lower in follicle than that in corpus luteum. Substrate specificity was noticed in 3β -HSD in follicle and it was found that 17α -OH- P_5 seemed to be the most potent substrate for the enzyme.

The difference of steroidogenesis between follicular and luteal phase was demonstrated in human ovary.

Key words: Ovary • Steroidogenesis • 3β -HSD • Ovarian vein • Steroid content

緒 言

卵巣は卵胞の発育, 排卵, 黄体形成, 退行という周期性を有し, その構成内分泌細胞にも周期的な変化がみられるため, ステロイド産生動態像は副腎, 胎盤, 睪丸などの他の内分泌臓器よりも複雑である。

従来の卵巣におけるステロイド代謝の研究としては, 末梢静脈血と卵巣静脈血中ステロイドの含量の比較や標識物質を用いた *in vitro* の代謝実験等が個々別々に行なわれてきた。

今回我々は同一症例について, 末梢及び卵巣静脈血中並びに卵巣組織中のステロイドホルモン値とともに, 卵巣組織中の 3β -HSD活性を卵胞期と黄体期とに分けてそれぞれ測定し, 卵巣ステロイド代謝像の周期的動態を検討した。

実験方法

I. 実験材料

排卵性周期を有する30歳から50歳(平均43.9歳)の子宮筋腫合併婦人15例(卵胞期8例, 黄体期7例)を対象とした。開腹手術時に, 卵胞又は黄体を有する側の卵巣静脈中にエラストー針21ゲージを挿入し, 卵巣, 卵管の子宮側はあらかじめペアン鉗子で鉗挟して子宮側からの流入血流を遮断したのち採血し, 同時に末梢静脈からも採血した。採血後卵巣より卵胞又は黄体組織を採取した。卵胞期及び黄体期の区分は子宮内膜像と基礎体温表とによった。

II. ホルモン測定法

1) 標準物質

[$7\text{-}^3\text{H}$ (N)] - P_5 (S.A. 17.2Ci/m mol), [1, 2, 6, $7\text{-}^3\text{H}$ (N)] - P_4 (S.A. 90.0Ci/m mol), [$7\text{-}^3\text{H}$ (N)] - 17α -OH- P_5 (S.A. 14.1Ci/m mol), [1, 2- ^3H (N)] - 17α -OH- P_4 (S.A. 40.4Ci/m mol), [1, 2- ^3H (N)] -DHA (S.A. 58.6Ci/m mol), [1, 2- ^3H (N)] - Δ^4 A (S.A. 60.0Ci/m mol) [$7\alpha\text{-}^3\text{H}$

(N)] -T (S.A. 12.4Ci/m mol) はあらかじめ, Sephadex LH-20column によつて純化して使用した。なお[1, 2- ^3H (N)]-AD は, [1, 2- ^3H (N)]-DHA を NaBH_4 により還元して作製した¹⁵⁾。

2) 抽出, 分離, 測定

採血した血液は, 遠心分離により血清成分を分離し, 卵巣組織は卵胞液を27ゲージ針を用いて排除したのち, 0.25 M sucrose 液中でホモジナイトした。血清及び組織ホモジネートは, 図1のごとく4系統においてエチルエーテルにて抽出し, benzen : methanol = 95 : 5を液相とした Sephadex LH-20column chromatography により (DHA + AD) 分画及び (Δ^4 A + T) 分画を分離し, 同様に benzen : methanol = 90 : 10の液相にて (P_5 + 17α -OH- P_5) 分画及び (P_4 + 17α -OH- P_4) 分

図1 Procedure for simultaneous measurement of steroids

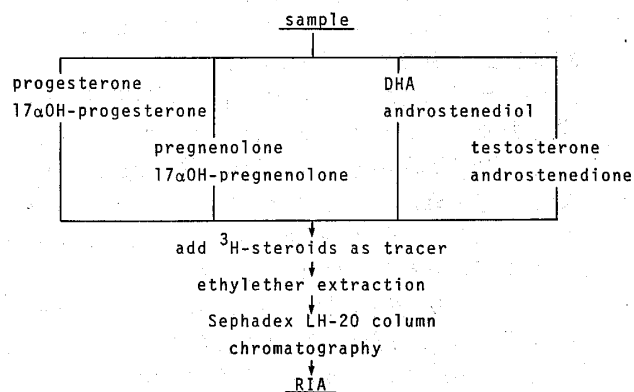


表1 Steroids measured and antibodies used

Steroids	Antiserum against
Progesterone	Progesterone-3-CMO-BSA
Pregnenolone	Pregnenolone-3-succ-BSA
17α OH-Progesterone	17α OH-Progesterone-3-CMO-BSA
17α OH-Pregnenolone	17α OH-Pregnenolone-7-CMO-BSA
Androstenedione	Androstenedione-11 α -succ-BSA
DHA	DHA-11 α -succ-BSA
Testosterone	Testosterone-11 α -succ-BSA
Androstenediol	Androstenediol-11 α -succinoyloxy-BSA

表2 Cross reaction

Steroids	Anti-serum (%)							
	DHA	Δ^4 A	AD	T	P ₅	17P ₅	P ₄	17P ₄
DHA	100	<0.10	3.10	<0.10	1.03	1.43	<0.10	<0.10
Androstenedione (Δ^4 A)	3.30	100	1.35	1.15	0.98	0.33	1.38	0.12
Androstenediol (AD)	0.98	<0.10	100	0.48	0.73	1.25	<0.10	<0.10
Testosterone (T)	0.68	<0.10	2.38	100	0.90	0.45	<0.10	<0.10
Pregnenolone (P ₅)	0.88	<0.10	2.60	0.25	100	0.37	<0.10	<0.10
17 α OH-Pregnenolone (17P ₅)	0.95	<0.10	8.25	<0.10	0.45	100	<0.10	<0.10
Progesterone (P ₄)	<0.10	0.15	<0.10	0.17	1.46	<0.10	100	0.89
17 α OH-Progesterone (17P ₄)	<0.10	0.25	<0.10	<0.10	0.52	<0.10	7.85	100

表3 Accuracy

(n=5)

Steroids	Recovery (%) Mean $\pm$ S.D.	Intra assay (C.V.%)	Inter assay (C.V.%)
DHA	97.12 $\pm$ 0.90	2.77	4.50
Androstenedione	99.80 $\pm$ 4.97	5.49	9.32
Androstenediol	98.40 $\pm$ 2.07	5.31	5.57
Testosterone	93.66 $\pm$ 2.70	2.84	3.30
Pregnenolone	98.20 $\pm$ 7.95	4.20	3.90
17 α OH-Pregnenolone	97.50 $\pm$ 5.76	6.68	6.51
Progesterone	98.20 $\pm$ 4.09	4.16	5.16
17 α OH-Progesterone	88.74 $\pm$ 3.30	3.72	6.10

画を分離した。各分画は、表1に示すごとく、それぞれのステロイドに特異的抗体を用いたRIA¹⁾に供した。各ステロイド測定に使用した抗体の他ステロイドとの交差反応を表2に示したが、いずれの抗体も特異性の高いものである。

3) 測定法の精度

チャコール処理した血清に既知量の各標準ステロイドを加えて回収率並びに intra assay 及び inter assay の co-efficient of variation (CV) を検した成績は表3に示すごとくで、いずれも満足すべきものであつた。

III. 酵素活性測定法

1) 標準物質

[4-¹⁴C]-P₅ (S.A. 55.7mCi/m mol), [4-¹⁴C]-17 α -OH-P₅ (S.A. 60.0mCi/m mol), [4-¹⁴C]-DHA (S.A. 57.5mCi/m mol) はあらかじめ薄層クロマトグラフィー (TLC) によつて純化して使用した。なお、[4-¹⁴C] AD は、[4-¹⁴C]-DHA (S.A. 57.5mCi/m mol) を NaBH₄ により還元し作製した¹⁵⁾。

2) 卵巣組織培養実験

卵胞期5例と黄体期5例のそれぞれ卵胞あるいは黄体を mince にし、5倍量の0.25M sucrose を加えてホモジナイズして酵素源とした。このホモジネート25mg wet weight/flask を用い、4種の放射性 Δ^5 ステロイド (P₅, 17 α -OH-P₅, DHA, AD) の各々0.05 μ Ci/5ng/flask をそれぞれ基質として添加し、CO ガス下、37°C、30分間培養した⁴⁾。反応は5ml のジクロロメタンを加えて停止させると同時に遊離型ステロイドを抽出し、benzen : methanol=90 : 10システムによる TLC で代謝物の分離を行ない、各々の基質に対応する Δ^4 -keto-steroid の生成量から、3 β -HSD 活性を求めた。TLC 上の放射性代謝物の検出には、オートラジオグラフを使用した。ステロイドの同定は、各放射性代謝物の一部に約10mg の標準ステロイド結晶を加えての再結晶法により、Axelrod et al.³⁾の方法と規準に従つて行なつた。

3) 放射能の測定

Counting vial 中に資料と10ml のシンチレー

表4 Steroid levels in ovarian and peripheral vein

	Follicular phase		Luteal phase	
	PV	OV	PV	OV
Pregnenolone	3.11±0.13(8)	9.18±1.17(8)	6.35±0.76(7)	56.60±18.05(7)
17 α -OH-Pregnenolone	10.06±1.58(8)	21.10±1.78(8)	11.84±1.72(7)	17.75±1.43(7)
DHA	6.99±0.48(8)	13.79±1.15(8)	8.57±1.13(7)	19.11±1.72(7)
Androstenediol	1.07±0.21(8)	3.81±1.16(8)	1.28±0.14(6)	3.36±0.36(7)
Progesterone	1.84±0.35(7)	5.00±1.16(6)	4.70±0.46(6)	206.86±72.54(5)
17 α -OH-Progesterone	2.12±0.30(8)	10.94±2.68(8)	4.31±0.82(7)	110.36±40.14(7)
Androstenedione	2.06±0.23(7)	5.24±1.13(6)	2.84±0.89(6)	13.75±3.34(5)
Testosterone	0.91±0.12(7)	2.67±0.30(8)	1.10±0.12(6)	11.97±1.31(6)

mean±S.E. ng/ml ()=n

ター(4gr. PPO, 100mg POPOP/1,000ml toluen)を入れ、液体シンチレーションカウンター (Aloka, LSC-651 Liquid Scintillation Counter) で放射能を測定した。

実験成績

I. 血中並びに卵巣組織中のホルモン値

1) 卵巣静脈と末梢静脈の血中ステロイド値の比較 (表4, 図2, 3)

(i) 両血中ステロイド値の比較

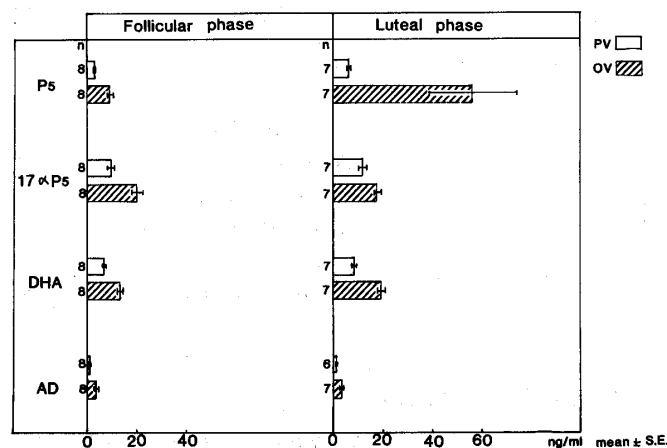
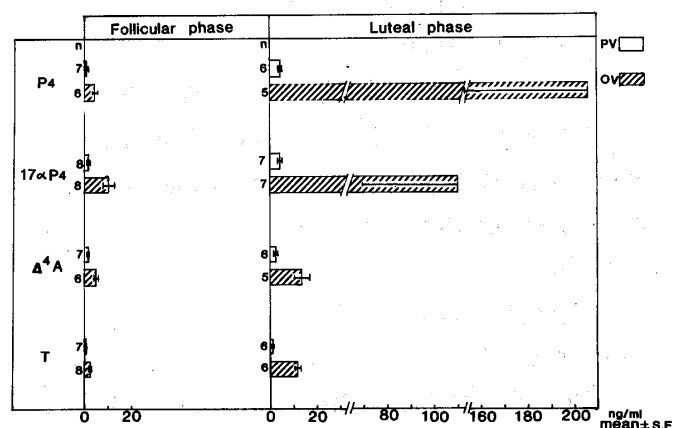
卵巣静脈血中のステロイド値は末梢血中と比べ、卵胞期及び黄体期ともに、測定したすべてのステロイド、即ち Δ^5 系の P_5 , 17 α -OH- P_5 , DHA, AD 並びに Δ^4 系の P_4 , 17 α -OH- P_4 , Δ^4 A, T のいずれも有意に高値を示し、各々のステロイドが卵巣で生成されている事が示唆された。

(ii) 黄体期と卵胞期との卵巣静脈血中値の比較

卵巣静脈血中値を卵胞期と黄体期とで比較すると黄体期の方が有意に高値なのは、 Δ^5 系の P_5 及び DHA (P_5 は約 6 倍, DHA は 1.5 倍), Δ^4 系の P_4 , 17 α -OH- P_4 , Δ^4 A 及び T (P_4 は 20 倍, 17 α -OH- P_4 は 10 倍, Δ^4 A は 2 倍, T は 4 倍) で, 17 α -OH- P_5 と AD とには時期による差はない。なお、末梢血中で黄体期で高値を示したのは P_5 (約 2 倍), P_4 (約 2.5 倍) 及び 17 α -OH- P_4 (約 2 倍) の 3 ステロイドであつた。

2) 卵巣組織中ステロイド値と卵巣静脈血中値との関係

組織中ステロイド値を卵胞組織と黄体組織とに分けて表5, 図4に示したが、黄体組織の方が有意に高値を示したのは、 Δ^5 系の P_5 (3 倍), 17 α -

図2 Δ^5 steroid levels in ovarian and peripheral vein図3 Δ^4 steroid levels in ovarian and peripheral vein

OH- P_5 (5 倍), DHA (2 倍), Δ^4 系では P_4 (6 倍), 17 α -OH- P_4 (20 倍), T (6 倍) の各ステロイドであつた。

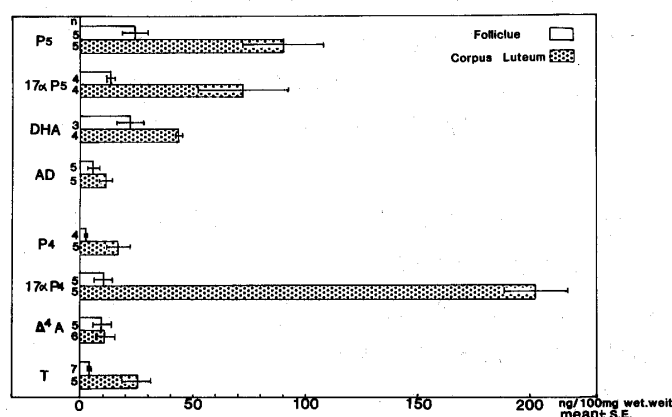
卵巣静脈中ステロイド値と組織中ステロイド値はいずれも卵胞期に比べ黄体期では増大するが

表5 Steroid levels in ovarian tissue

	Follicle	Corpus Luteum
Pregnenolone	24.58±5.72(5)	90.42±17.88(5)
17 α -OH-Pregnenolone	13.72±1.78(4)	72.14±20.68(4)
DHA	22.17±6.07(5)	43.73± 1.38(4)
Androstenediol	5.80±2.88(5)	11.29± 2.79(5)
Progesterone	2.83±0.88(4)	16.84± 5.43(5)
17 α -OH-Progesterone	10.51±4.09(5)	202.73±14.10(5)
Androstenedione	9.73±3.91(5)	10.93± 4.15(6)
Testosterone	4.00±0.65(7)	25.09± 6.40(5)

()=n, mean±S.E. ng/100mg wet weight

図4 Steroid concentrations in ovarian tissue



(P₅, P₄, 17 α -OH-P₄, DHA, T など), 卵巣静脈血と組織中の卵胞期から黄体期での増加率を比較すると, P₅は卵巣静脈値が6.2倍に対し組織値が3.7倍, P₄も卵巣静脈値が41.4倍に対し組織値が6.0倍でいずれも卵巣静脈値の増加の方が著しかった(特にP₄).

一方17 α -OH-P₄は卵巣静脈値が10.1倍に対し組織値が19.3倍, Tも卵巣静脈値が4.5倍に対し, 組織値が6.3倍に増加しており, 組織値の増加が血

中値のそれより大きく, DHA では卵巣静脈値が1.4倍に対し組織値は2.0倍で, 両者の増加率の差は比較的小であつた. なお, Δ^4 A については卵胞期に比し黄体期では卵巣静脈血中値は有意に高いが, 組織中値には有意差を認めず, また17 α -OH-P₅では卵巣静脈血中値は卵胞期と黄体期で差はないが, 組織中値は黄体中では有意に増加しており, この2つのステロイド(Δ^4 A と17 α -OH-P₅)では卵巣静脈血中と組織中値との間には平行関係は認められなかつた. 以上の成績は, 黄体期には各種のステロイドの黄体内での生成が亢進することは確かであるが, 組織中の生成率の亢進度と比べての卵巣静脈血中への放出, 分泌の亢進度(比較的分泌能と略す)はステロイドの種類によりかなり異なり, 特にP₄の比較的分泌能が他に比べて高まることを示唆している.

3) 3 β -HSD 活性

本代謝実験においては, 気相としてCO gasを用いてhydroxylationを抑制したため, 代謝物としては基質の Δ^5 ステロイドに対応する各々の Δ^4 ステロイドの生成のみが認められた(P₅ではP₄, 17 α -OH-P₅では17 α -OH-P₄, DHAは Δ^4 A, ADではTのみ). なお, 生成代謝物としての各々の Δ^4 ステロイド同定の再結晶法による成績は表6に示すごとくで, 各々その生成を確認した. 本実験で用いた基質の量は組織中の各ステロイド含量の250—1,000倍量の大量であるため, 本測定法では内因性ステロイドによる影響は無視できると考えられる.

3 β -HSD 活性(代謝物の生成量で示す)を表7に示した. 黄体の3 β -HSD 活性は卵胞に比べ, す

表6 Successive recrystallization of steroids

Substrate	Pregnenolone	17 α -OH-Pregnenolone	DHA	Androstenediol
Product	Progesterone	17 α -OH-Progesterone	Androstenedione	Testosterone
Original	1,041	1,003	1,338	1,052
X-1	899	990	1,136	1,147
X-2	857	1,009	1,146	1,125
X-3	832	1,019	1,091	1,151
ML-3	834	1,013	1,135	1,134

Numbers are specific activities expressed as dpm/mg.

表7 3β -HSD activities in human follicular and corpus luteum (n=5)

3 β -HSD toward	Follicle mean $\pm$ S.E.	Corpus Luteum mean $\pm$ S.E.
Pregnenolone	3.33 $\pm$ 0.94	35.06 $\pm$ 2.42
17 α -OH-Pregnenolone	5.41 $\pm$ 1.74	30.06 $\pm$ 1.93
DHA	1.90 $\pm$ 0.76	33.77 $\pm$ 2.28
Androstenediol	4.10 $\pm$ 1.91	34.06 $\pm$ 2.04

n moles products/100mg wet weight

すべての基質に対して増大している (5.6倍~17.8倍)。又卵胞での 3β -HSD 活性は一般に低いことと共に、基質により活性の程度がやや異なり、 P_5 を基質とした場合を100%とすると、17 α -OH- P_5 を基質とした場合は171.4%と有意に高く、又DHAを基質とした場合は、52.7%と有意に低く、 3β -HSD 活性に基質特異性の存することが示唆された。一方黄体の 3β -HSD 活性はすべての基質に対して同程度に著増しており、基質特異性は認められなかつた。

考 察

I. 卵巣静脈血と末梢血中のステロイド値の比較

卵巣静脈血中と末梢血中の遊離型ステロイドを比較した報告は多くみられ、Mikhail et al.¹¹⁾は黄体期において P_4 , 17 α -OH- P_4 , 20 α -OH- P_4 , Δ^4 Aが末梢静脈血より卵巣静脈血中に多いことから、これらのステロイドが卵巣で生成されているとし、そのほか estradiol (E_2)²⁾⁸⁾及び Δ^4 A⁸⁾が卵胞期及び黄体期ともに末梢血より卵巣静脈血中で高値を示す事が報告されている。また、Jang et al.⁵⁾は末梢血と卵巣静脈血との比較から estrone(E_1), E_2 , Δ^4 A, P_4 , T, DHA が卵巣より分泌されること、又卵胞あるいは黄体のある側の卵巣静脈血中値を対側と比較して、 E_1 , E_2 , Δ^4 A, P_4 は高値であることを報告している。

17 α -OH- P_5 に関しては、近年 Kasuga⁷⁾は正常婦人卵胞期の卵巣静脈血中の方が、末梢血中より明らかに高いと報じている。

今回我々は卵胞あるいは黄体を認めた側の卵巣静脈血中の非抱合型の P_5 , 17 α -OH- P_5 , DHA, AD, P_4 , 17 α -OH- P_4 , Δ^4 A, T の8種のステロイド値を末梢静脈血中と比較し、これらのステロイ

ドは卵胞期・黄体期ともに卵巣静脈血中の方が高いことから、これらが卵巣で生成されていることを示した。特に、卵胞期における P_5 , AD, 黄体期における P_5 , 17 α -OH- P_5 , AD が卵巣静脈血中で末梢血より高いことは新知見である。

II. 卵巣静脈血中値の卵胞期と黄体期の比較

卵巣静脈中ステロイド値を卵胞期と黄体期とで比較した報告は少なく、Lloyd et al.⁸⁾は、17 α -OH- P_4 が卵胞期よりも黄体期で高い事を報じている。一方、Kalliala et al.⁶⁾はDHA, androsterone, AD, epiandrosterone, P_5 , 5-pregnene-3 β , 20 α -diol, 5-pregnene-3 β , 17 α , 20 α -triol 等の抱合型中性ステロイドを卵巣静脈血と末梢血で比較したが差を認めなかつたとし、卵巣静脈からのステロイド分泌は主に遊離型の形でなされていることを示唆している。

我々の研究では、卵胞期に比べて黄体期で有意に高値を示す遊離型ステロイドは P_5 のほか Δ^4 系の P_4 , 17 α -OH- P_4 , Δ^4 A, T のステロイドであり、黄体期では Δ^4 経路の各ステロイドの生成と分泌が著増する事が示された。

しかし Δ^5 ステロイドのDHAが P_5 とともに卵胞期に比べて黄体期に高値を示すことは、この時期では Δ^5 経路のステロイド生成も存在することを示唆している。

III. 卵巣組織中のステロイド値と卵巣静脈血中値との比較

卵巣組織中のステロイド濃度を卵胞と黄体とにわけて測定した報告は少ない⁹⁾¹⁴⁾。我々が測定した卵巣組織中の P_5 , 17 α -OH- P_5 , DHA, AD, P_4 , 17 α -OH- P_4 , Δ^4 A, T の8種のステロイド値は、Mahesh et al.⁹⁾による Δ^4 A, Swanson et al.¹⁴⁾による P_4 , P_5 , Δ^4 A, T の黄体における卵巣組織中ステロイドの報告よりやや低めであつた。また、卵胞と黄体との比較では、 Δ^5 系の P_5 , 17 α -OH- P_5 , DHA などのステロイドが Δ^4 系の P_4 , 17 α -OH- P_4 , T と同様に黄体組織では有意に高値であつて、黄体中での Δ^5 系ステロイド生成経路の存在が示唆された。卵巣静脈中で卵胞期に比べ黄体期に有意に高値を示した Δ^5 系ステロイドは P_5 とDHAのみで、17 α -OH- P_5 とADには差がなかつ

たことの解釈としては、黄体組織中では Δ^5 系ステロイド生成経路も作動しているが、卵巢静脈中への分泌はステロイドにより異なることが考えられる。なお、 Δ^4 系ステロイドについても、卵胞期と黄体期での組織中と卵巢静脈血中値の増加割合はステロイドにより異なり、 P_4 では卵胞→黄体で組織中値は約6.0倍に増加するのに対し、卵巢静脈血中値は41.4倍と極めて顕著に増加しており、一方 17α -OH- P_4 は P_4 と逆で、卵巢静脈血中値は卵胞→黄体で10.1倍の増加に対し、組織中では19.3倍で、静脈血中への分泌よりも組織内での産生の亢進の方が著しいことが示唆された。卵巢での生成ステロイドの分泌に関しては、McNatty et al.¹⁰⁾は、顆粒膜細胞で生成されたステロイドは卵胞中に放出され、莢膜細胞で生成されたステロイドは卵巢静脈血中に放出すると報告している。今回の実験では、卵胞については卵胞液を除去した卵胞組織全体を使用しているため、卵胞組織での細胞構成の違いと卵胞内や血中へのステロイド分泌動向との関係を論ずることはできない。黄体組織については、黄体中で生成されるステロイドのうち、 Δ^4 系のステロイド特に P_4 は生成後速やかに卵巢静脈中に放出されるのに対し(17α -OH- P_4 のみは組織中に著増するが、血中の増加は組織中増量と比較すれば他のステロイドよりも小さい)、 Δ^5 系ステロイド(P_5 , 17α -OH- P_5 , DHA, AD)は組織内にとどまつて、 Δ^4 ステロイドの前駆物質として利用される可能性が大きいことが示唆された。

IV. 卵巢組織中の 3β -HSD 活性とステロイド濃度

近年 Sano et al.¹³⁾は、卵胞と黄体組織のステロイド生成酵素を検討し、これが卵巢周期によつて異なると報じている。今回のホモジネートを使つた 3β -HSD 活性の測定により、卵胞組織の本酵素活性には基質特異性があり、 17α -OH- P_5 を基質とした時に最も強く、DHA に対する活性は比較的低いことがはじめて示された。黄体では P_5 , 17α -OH- P_5 , DHA, AD のいずれの基質に対する 3β -HSD 活性も卵胞に比し5.6倍~17.8倍に著しく増大しているが、卵胞にみられた基質による差異(基質特異性)は認められなかつた。

以上の一連の実験成績により、黄体期には 3β -HSD 活性はいずれの基質に対しても同程度に著増していること、黄体組織中の Δ^5 系ステロイド濃度は Δ^4 系ステロイドと同様に卵胞期に比べて高値を示すこと、卵巢静脈血中 Δ^4 系ステロイド値は黄体期には著増するが、この時期には Δ^5 系の P_5 及びDHA 値も明らかに高値を示すことが明らかにされた。この成績は、黄体期には P_4 , 17α -OH- P_4 , Δ^4 A, T などの Δ^4 系ステロイドの生成が促進されること、並びにかかる Δ^4 系ステロイド生成亢進には Δ^5 系の生成経路も重要な役割を演じていること、即ち黄体組織での Δ^5 系生成経路の活発化とともに、この Δ^5 ステロイドがそれぞれ 3β -HSD の作用により対応する Δ^4 系ステロイドへ活発に転換される可能性を示唆され、黄体期に増加する Δ^4 系ステロイドの前駆物質としての Δ^5 系ステロイド産生増大の意義が強く暗示された。なお、卵胞期には 17α -OH- P_5 に対する 3β -HSD 活性が特に高いとの成績は、組織中の 17α -OH- P_5 に対応するステロイドの 17α -OH- P_4 値が他に比べて大きいこと、卵巢静脈血中値でも Δ^5 系では 17α -OH- P_5 値が最も高く、 Δ^4 系では 17α -OH- P_4 値が最も高いことと考え合わせると、この時期での卵巢での 17α -OH- P_5 より 17α -OH- P_4 への転換が高いことを暗示している。この成績は Pathwardhan et al.¹²⁾の P_5 から Δ^4 A への生成経路についての time study により、卵胞組織では Δ^5 系経路の重要性とともに、 17α -OH- P_5 より 17α -OH- P_4 への転換経路が大きな意味を持つことを示唆した成績とよく符合している。

本論文要旨は、第32回日本産科婦人科学会学術講演会(1980年、東京)にて発表した。

文 献

1. 牧野拓雄：性ステロイドホルモンの Radioimmunoassay. 日内泌誌, 49: 629, 1973.
2. Arai, K., Yanaihara, T. and Okinaga, S.: Response of ovarian steroid secretion to the intrinsic gonadotropin release caused by the administration of synthetic luteinizing hormone-releasing hormone. Am. J. Obstet. Gynecol., 123: 804, 1975.
3. Axelrod, L.R., Matthijssch, C., Goldzieher, J.W. and Pulliam, J.E.: Definitive identification of

- microquantities of radioactive steroid by recrystallization to constant specific activity. *Acta Endocrinol.*, 49: Suppl. 99: 30, 1965.
4. *Hirato, K., Yanaihara, T. and Nakayama, T.*: A study of Δ^5 - 3β -Hydroxysteroid dehydrogenase in human fetal adrenal glands. *Acta Endocrinol.*, in press.
 5. *Jang, F.H., Baird, D.T. and Molen, H.J.*: Ovarian secretion rates of oestrogens, androgens and progesterone in normal women and in women with persistent ovarian follicles. *Acta Endocrinol.*, 77: 575, 1974.
 6. *Kalliala, K., Laatikainen, T., Luukkainen, T. and Vihko, R.*: Neutral steroid sulfates in human ovarian vein blood. *J. Clin. Endocr.*, 30: 535, 1970.
 7. *Kasuga, Y.*: Ovarian steroidogenesis in Japanese patients with polycystic ovary syndrome. *Endocrinol., Japon*, 27: 541, 1980.
 8. *Lloyd, C.W., Lobotsky, J., Baird, D.T., McCracken, J.A., Weisz, J., Pupkin, M., Zanartu, J. and Puga, J.*: Concentration of unconjugated estrogens, androgens and gestagens in ovarian and peripheral venous plasma of women: The Normal Menstrual Cycle. *Endocr.*, 32: 155, 1971.
 9. *Mahesh, V.B. and Gleenblatt, R.B.*: Steroid secretions of the normal and polycystic ovary. *Rec. Progr. Hormone Res.*, 20: 341, 1964.
 10. *McNatty, K.P., Makris, A., Degrazia, C., Osaathanondh, R. and Ryan, K.J.*: The production of progesterone, androgens and estrogens by granulosa cells, thecal tissue, and stromal tissue from human ovaries in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 49: 687, 1979.
 11. *Mikhail, G., Zander, J. and Allen, W.M.*: Steroids in human ovarian vein blood. *J. Clin. Endocrinol.*, 23: 1267, 1963.
 12. *Pathwardhan, V.V. and Lanthier, A.*: The in vitro formation of androstenedione from C_{21} steroids by follicles isolated from human ovaries. *Acta. Endocrinol.*, 67: 698, 1971.
 13. *Sano, Y., Suzuki, K., Arai, K., Okinaga, S. and Tamaoki, B.*: Changes in enzyme activities related to steroidogenesis in human ovaries during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 52: 994, 1981.
 14. *Swanston, I.A., McNatty, K.P. and Baird, D. T.*: Concentration of prostaglandin $F_{2\alpha}$ and steroids in the human corpus luteum. *J. Endocr.*, 73: 115, 1977.
 15. *Yanaihara, T. and Troen, P.*: Studies of the human testis. 1. Biosynthetic pathways for androgen formation in human testicular tissue in vitro. *J. Clin. Endocr.*, 34: 783, 1972.

(No. 5025 昭57・1・12受付)