

性腺ステロイドの酵素作用に及ぼす影響

Influence of the Sexual Gland Steroid on the Fermentative Action

大阪逓信病院産婦人科(部長 足立春雄)

河 田 浩 Hiroshi KAWADA

(其の1) 琥珀酸脱水素酵素に及ぼす

Estrogens, Androgens, Progesterone 及び其の類似物質の作用

(本論文の要旨は第5回日本産科婦人科学會總會に於いて発表した)

目 次

第1章 緒 論

第2章 実験方法

- 1) 酵素材料
- 2) 基 質
- 3) 緩衝液
- 4) ステロイドホルモン
- 5) 酵素作用の測定

第3章 実験成績

I. 豫備実験

- 1) 基質濃度と酸素消費について
- 2) pHと酸素消費について
- 3) 酵素濃度と酸素消費について

II. 主実験

A. 酵素濃度の高い場合のホルモンの影響

- 1) estrogens
 - (イ)結晶浮游液
 - (ロ)結晶エタノール溶液
- 2) androgens
 - (イ)結晶浮游液
 - (ロ)結晶エタノール溶液

B. 酵素濃度の低い場合のホルモンの影響

- 1) estrogens
 - (イ)結晶浮游液
 - (ロ)結晶エタノール溶液
 - (ハ)合成 estrogen の水溶液
- 2) androgens
 - (イ)結晶浮游液

(ロ)結晶エタノール溶液

3) Progesterone

(イ)結晶浮游液

(ロ)結晶エタノール溶液

第4章 考 按

第5章 結 論

主要文献

第1章 緒 論

Ernest W. Page¹⁾は『婦人科学に關連した未解決の大きな問題の一つはホルモンの作用機序の解明であつて、この解決が得られない限り婦人科の内分泌學は科学に非ずして寧ろ藝術に屬する』と述べて居る。

ホルモンによる新陳代謝の實態、即ち所謂その生理作用は主として Shoot and see の生物學的觀察により、又ホルモン自體の代謝は其の中間代謝物を分離する事や部分合成により中間代謝物の類似物質を作りその生理作用の探究や incubation による實驗によつて探究されて居るものが多く、cytodynamic な面から見た動的な研究はまだ餘り普遍的に行われて居ない様である。

特に最近のホルモン作用に關する業績は、之が生体内の生化學的な過程の一つの regulator であるらしい事を暗示して居り、其の作用機序は恐らく、1) 生化學的過程に於ける觸媒、2) 滲透壓の變

化, 3) コロイド状態の調節等の機能に依るものであるとされて居るが, 就中第 1 の觸媒という考え方は廣く生体内の觸媒であると解されている酵素或は酵素系と極めて容易に關連され得るもので, ホルモンと酵素の關係に就ては既に 2, 3 の綜説も發表されて居る。

然し乍らホルモンが如何なる酵素或は, 酵素系にどの様な形で介入して其の生理作用を現わすのかに就ては, 今尙殆んど未知の分野であるといつても過言ではない。

最近 Stander¹¹⁾(’52) は *Pseudomonas* に依る Testosterone Propionate の酸化が Co-enzyme I (DPN) を必要とする脱水素酵素系中に入つて酸化される事を報告して居る他, 性腺ステロイドが酵素の作用機序に介入する事を直接證明した業績は見られないし, 又ホルモンの効果を酵素作用或は其の regulator として直接的に結びつけて説明し様という試みさえも, Meyer, McShan²⁰⁾(’46, ’50) 一派と Dirscherl, Höffermann⁹⁾(’52), Barnes¹⁾(’52), Stuermaer¹¹⁾(’52), Sawyer, Everett⁶⁾(’49), Dorfman⁸⁾(’52), 等によつて端緒についたばかりである。

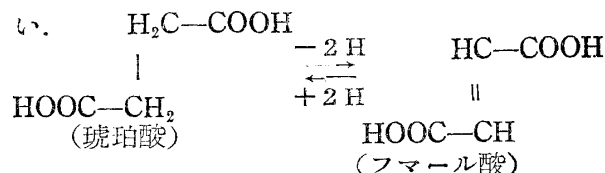
斯かる意味からステロイドの cytodynamic な特性に對して一つの解明を試み度く本實驗を企圖したのである。

但し此の様な實驗法に依つて最大の障礙となるものはステロイドホルモンが水に溶けないという點である。此の點で第 4 章で述べる如く微細の結晶浮游液を用いるか, 或は先ず豫め少量のエタノールに溶解したものを附加する事に依つて實驗を行つて見た。

此の目的の爲に最初にとりあげた酵素及び酵素系について先ず解説するならば次の如くである。即ち生体内の新陳代謝に於ける生化學的過程の最終段階として Krebs の TCA-cycle が存在する事は既に周知の事實であるがこの cycle は單に Energy 代謝に解糖作用の終末過程として介入するのみならず, 一部アミノ酸や脂肪の代謝にも關與して同化或は異化作用に結びつき最も廣く生活

現象に直結したものであると思つたからである。尙この cycle 中に含まれる主な酵素としては 1) チトクロームと結びつく琥珀酸脱水素酵素, DPN (Co-enzyme I) と共軛したリンゴ酸脱水素酵素, TPN (Co-enzyme II) と共軛したイソクエン酸脱水素酵素, 2) 或る種の色素蛋白系の酵素, 3) チトクローム系の一部をなすチトクローム酸化酵素等の多數のものが存在するが, この中最も檢壓的に大きな變化を示すものを求めて, 一應この cycle を代表し得るとすれば, 之に就て實驗を行うのが便利であると考え, 之等の酵素源として家兎肝臟ホモゲネートを用いた場合, 一定の條件下に於て斷然琥珀酸脱水素酵素に酸素消費の多い事が判明したので, この酵素系に就て實驗を進めた次第である。

さて琥珀酸脱水素酵素は, 脱水素酵素に屬する酵素の中で最もよく知られて居る酵素であつて, 其の分布も甚だ廣く動植物は勿論細菌等殆んど凡ての生物中に存在すると言われて居る。この酵素は次式に示す様に琥珀酸を酸化してフマル酸に變化さすものである事は, 改めて記載する迄もない。



此の酵素の發見は比較的早く, 1909年 Thunberg によつて初めて報告され, 其の後 Szent-Györgyi (’24), Axelrod (’42) 等數多くの學者の報告を見るが未だ結晶状には得られて居ない。

第 2 章 實驗方法

1) 酵素材料

酵素材料としては體重 1.5~2.0kg の家兎肝臟ホモゲネートを用いた。即ち家兎を麻酔を施す事なく開腹し切除又は摘出した肝臟を生理的食鹽水で洗滌した後秤量し, 同量の $\frac{1}{15}$ M の燐酸緩衝液を加え硝子製ホモゲナイザーを用いて 5 分間 homogenize し, 使用に際して適宜緩衝液で稀釋した。尙燐酸緩衝液で稀釋した酵素液は 5°C の氷室内

昭和29年10月1日

河 田

1935—25

に貯藏すると夏期では約5日間、冬期では約1週間酵素作用を保持した。

2) 基 質

石津製薬の琥珀酸を用い使用に際し蒸留水に溶解、1NのNaOHで中和、pH 7.0に補正した。

3) 緩衝液

$1/15$ M の磷酸緩衝液を用いた。この酵素の至適pHは38°Cでは8.7 (Ohlsson, '21)と言われて居るが磷酸緩衝液が蛋白の變性を防ぐのに最も良い事及びこの酵素の測定にはこの緩衝液が最も適當であるという報告も少く無いので之を用いて豫備實驗を行つたが、pH 7.0前後でも充分酵素作用を示す事及び琥珀酸脱水素酵素が弱アルカリ性に於て水に溶ける事を勘考して緩衝作用の強いpH 7.2のものを用いた。

4) ステロイドホルモン

帝國臓器株式會社に依つて供與された製品を用いた。結晶浮游液は Estrone benzoate, Estradiol benzoate, Testosterone Propionate, Methyl, Androstenediol 及び Progesterone 等を用い、この際ホルモンを含まない對照としては結晶浮游液の溶媒を用いた事は言うまでもない。

尙結晶のエタノール溶液としては、Estrone, Estradiol, Testosterone, Methyl Androstenediol Progesterone 及び合成エストロゲンである4,4'

-diacetoxy- $\alpha\beta$ -diethyl bibenzyl 等を用い、この際には溶媒として用いた95%エタノールを對照として使用した。尙この合成エストロゲンのナトリウム鹽は水に可溶性であるので蒸留水に溶解して用い、この場合は蒸留水を對照とした。

5) 酵素作用の測定

Warburg の檢壓計を用い、この際の constant は37°C, O₂では1.10~1.48の範圍で實驗を実施した。主室には酵素液1.4mlと上記各種のホルモン溶液0.1mlを入れ、側室には基質の水溶液 0.5mlを入れ全量2.0mlとした。

測定に際し基質の代りに蒸留水を側室に入れたものを用いて酵素液の endogenous の酸素消費を測定した事は勿論であり、又實驗ごとにその溶媒を對照として之等とホルモンを添加したものの酸素消費を毎20分に3回にわたつて測定し比較した。

第3章 實驗成績

I. 豫備實驗

1) 基質濃度と酸素消費について

基質の至適濃度を知る爲に0.2mg~5.0mg, Per 2 mlの各濃度について酸素消費をみた所第1表、第2表及び第1圖、第2圖の如き成績を得た。即ち基質濃度の増加につれて酸素消費は増加するが之には反應時間も大いに關與する事が認められ

第1表 10% homogenate, pH 7.2, 37°C

反應時間	基 質 (Per 2 ml.) 單 位 mg.								
	0.2	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0	5.0
20分	52	82	116	142	165	172	194	201	204
40分	68	107	150	192	207	231	256	278	293
60分	71	118	165	214	242	272	312	378	409

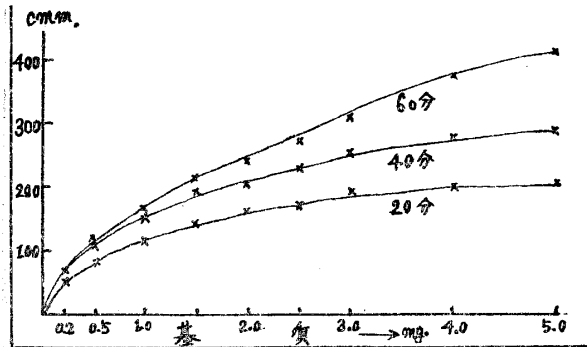
酸素消費 (單位 cmm.)

第2表 5% homogenate, pH 7.2, 37°C

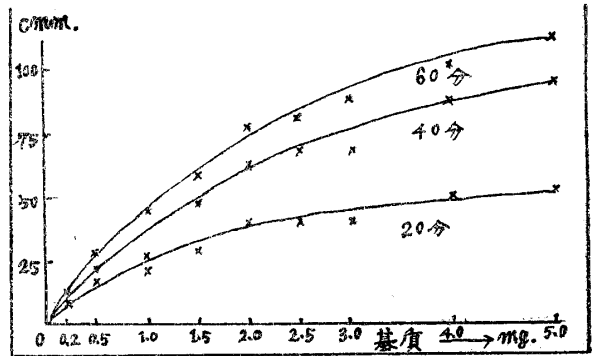
反應時間	基 質 (Per 2 ml.) 單 位 mg.								
	0.2	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0	5.0
20分	7	14	21	28	38	38	38	50	52
40分	11	23	26	48	62	66	64	89	94
60分	13	27	44	58	77	75	81	98	113

酸素消費 (單位 cmm.)

第1圖 10% homogenate, pH 7.2, 37°C



第2圖 5% homogenate, pH 7.2, 37°C



第3表 5% homogenate, 琥珀酸 $1 \times 10^{-2}M$, 37°C

		Soerensen Phosphate Buffer (pH)								
反應時間		5.4	5.8	6.2	6.6	7.0	7.2	7.4	7.8	8.0
20分		0	9	25	41	45	60	59	71	81
40分		23	36	67	92	102	113	118	131	138
60分		39	56	95	126	139	154	146	164	160

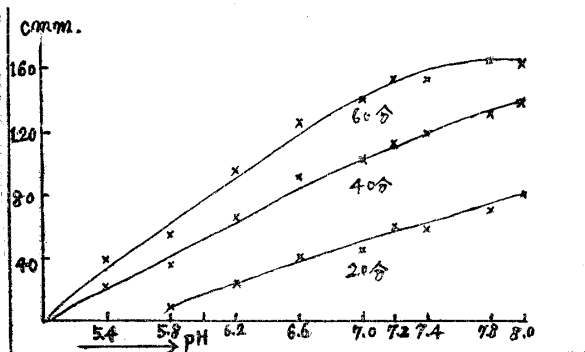
酸素消費 (單位 cmm)

第4表 琥珀酸 $1 \times 10^{-2}M$, pH 7.2, 37°C

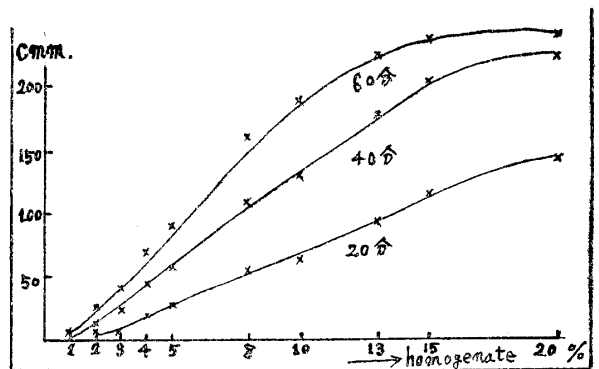
		(%) Percentage of homogenate									
反應時間		1	2	3	4	5	8	10	13	15	20
20分		0	4	5	19	25	55	65	95	117	145
40分		1	12	22	44	57	110	133	177	204	224
60分		6	23	42	70	91	161	190	224	241	246
80分		10	31	55	88	117	195	216	246	246	251

酸素消費 (單位 cmm)

第3圖 5% homogenate 琥珀酸 $1 \times 10^{-2}M$ 37°C



第4圖 琥珀酸 $1 \times 10^{-2}M$ 37°C pH 7.2



た。依つて主実験には 3 mg/2 ml, 及び 5 mg/2 ml の 2 つの濃度を用いる事にした。

2) pH と酸素消費について

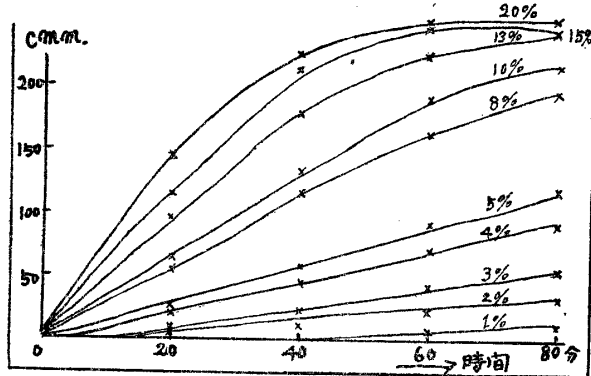
同一条件の下でも pH の變化に依つて酵素活性が異なる事は當然であるが、琥珀酸脱水素酵素の作

用し得る pH の範圍は比較的廣い様であつて其の至適 pH は勿論温度により變化するが Ohlsson が馬筋肉より得た酵素では 8.3~9.1 と報告して居る。私が用い得る範圍の pH に就て酸素消費の變化を測定した所では第3表、第3圖の如き成績を得た。

昭和29年10月1日

河 田

1337-27

第5圖 琥珀酸 $1 \times 10^{-2}M$, pH 7.2, 37°C

即ちpH 5.4~8.0に到るまで略々直線的に酸素消費の増加を認めた。依つて私は緩衝作用の比較的強いと思われるpH 7.2のものを主実験に選擇した。

3) 酵素濃度と酸素消費について

次に基質, pH, 温度を一定にした時に酵素液の濃度を變えて酸素消費がどの様に變化するかを知るべく homogonate の1%乃至20%の各濃度について實驗を行つた所第4表, 第4圖の如き成績を得た。即ち酵素濃度が高ければ酸素消費は増加するが13%~15%以上になると略々同様となる。故に主実験に際しては主として5%, 20%の2つの濃度について測定を行つた。

4) 酸素消費の時間的變化について

反應が平衡に達する迄の時間は基質濃度, 酵素濃度, pH, 温度等により變化する事は言うまでもないが私は基質濃度, 温度, pHを一定にして唯酵素濃度を變化させて實驗を行い, 第4表の成績の如く酸素消費の時間的變化を觀察した所, 第5圖の如き曲線を得た。即ち酵素濃度13%以上では60分で平衡に達する様で5%以下の濃度では時間と酸素消費との間には少くとも80分間内では略々直線關係が成立する事を認めた。

II. 主實驗

A. 酵素濃度の高い場合のホルモンの影響

1) estrogens

(イ) 結晶浮游液

20%ホモゲネートを用いて estrogen の結晶浮游液を用いて行つた實驗では夫々第5表, 第6表

の如き成績を得た。即ち Estrone benzoate が反應の初期に稍々阻害の傾向がある外, 他の結晶浮游液による阻害又は活性化は認められない。

第5表 Estrone benzoate (琥珀酸 $2 \times 10^{-2}M$)

反應時間	對照	$0.67 \times 10^{-5}M$	$0.67 \times 10^{-4}M$	$0.67 \times 10^{-3}M$
20分	123	90	111	112
40分	260	228	248	248
60分	353	312	340	335

酸素消費 (單位 cmm)

第6表 Estradiol benzoate (琥珀酸 $2 \times 10^{-2}M$)

反應時間	對照	$1.34 \times 10^{-5}M$	$0.67 \times 10^{-4}M$	$0.67 \times 10^{-3}M$
20分	123	126	136	122
40分	260	261	276	261
60分	353	358	375	357

酸素消費 (單位 cmm)

(ロ) 結晶エタノール溶液

10%ホモゲネートを用い estrogens の結晶を95%エタノールに溶解せしめて用いた實驗では第7表の如き成績を得た。即ちこの場合も何等の影響も認めない。

第7表 Estrone, Estradiol (琥珀酸 $2 \times 10^{-2}M$)

反應時間	對照	Estrone $2 \times 10^{-4}M$	Estradiol $2 \times 10^{-4}M$
20分	79	86	72
40分	194	174	179
60分	272	274	262

酸素消費 (單位 cmm)

2) androgens

(イ) 結晶浮游液

20%ホモゲネートを用い androgens の結晶浮游液を用いた實驗の成績は第8表, 第9表に示す如く何等の影響も認めない。

第8表 Testosterone propionate (琥珀酸 $2 \times 10^{-2}M$)

反應時間	對照	$0.74 \times 10^{-5}M$	$0.74 \times 10^{-4}M$	$0.37 \times 10^{-3}M$
20分	123	130	118	117
40分	260	261	249	242
60分	353	363	335	342

酸素消費 (單位 cmm)

第9表 Methyl Androstenediol (琥珀酸 $2 \times 10^{-2}M$)

反應時間	對照	$2 \times 10^{-5}M$	$2 \times 10^{-4}M$	$1 \times 10^{-3}M$
20分	123	114	126	128
40分	260	249	242	268
60分	353	337	360	360

酸素消費 (單位 cmm)

(ロ) 結晶エタノール溶液

10%ホモゲネートを用いて androgens の結晶を95%エタノールに溶解せしめて行つた実験の成績は第10表に示す如く影響を認めない。

第10表 Testosterone, Methyl Androstenediol (琥珀酸 $2 \times 10^{-2}M$)

反應時間	對 照	Testosterone $2 \times 10^{-4}M$	M.A.S $2 \times 10^{-4}M$
20 分	79	88	86
40 分	194	196	198
60 分	272	263	273

酵素消費 (單位 cmm)

B. 酵素濃度の低い場合のホルモンの影響

1) estrogens

(イ) 結晶浮游液

5%ホモゲネートを用い、且つ基質濃度も少しく低くしてホルモンの $10^{-4}M$ の濃度で影響をみた所第11表の如き成績を得た。即ちホルモンによる阻害又は活性化は認められない。

第11表 Estradiol benzoate (琥珀酸 $1.27 \times 10^{-2}M$)

反應時間	對 照	$1.35 \times 10^{-4}M$
20 分	18	15
40 分	45	47
60 分	80	76

酵素消費 (單位 cmm)

(ロ) 結晶エタノール溶液

高濃度の場合と同様に estrogens の結晶を95%エタノールに溶解せしめて其の影響をみた所、第12表、第6圖の如き成績を得た。

第12表 Estrone $2 \times 10^{-4}M$ Estradiol $2 \times 10^{-4}M$
4,4'-diacetoxy- α,β -diethyl-bibenzyll
 $1.34 \times 10^{-4}M$ (琥珀酸 $1.27 \times 10^{-2}M$)

反應時間	Estrone	Estradiol	Synthetic estrogen	對 照
20 分	0	1	0	0
40 分	9	16	4	14
60 分	12	20	7	21

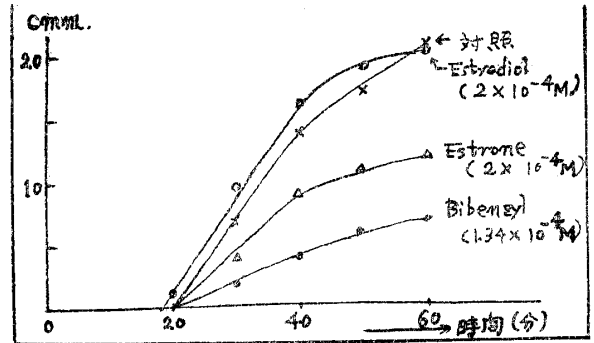
酵素消費 (單位 cmm)

即ちこの場合は60分値で Estrone が約43%, 合成 estrogen である 4,4'-diacetoxy- α,β -diethyl-bibenzyll が約69%酵素作用を阻止して居るのが認められる。

(ハ) 合成 estrogen の水溶液

4,4'-diacetoxy- α,β -diethyl-bibenzyll のナトリウム鹽は水に可溶性であるから、この結晶を蒸溜

第6圖 琥珀酸 $1.27 \times 10^{-2}M$
5% homogenate pH 7.2, 37°C



水に溶解せしめて酵素作用に及ぼす影響を観察した所、其の成績は第13表の如く影響はない。

第13表 合成 estrogen (琥珀酸 $1.27 \times 10^{-2}M$)

反應時間	$1.33 \times 10^{-4}M$	$1.33 \times 10^{-5}M$	對 照
20 分	33	34	36
40 分	79	79	82
60 分	118	116	124

酵素消費 (單位 cmm)

2) androgens

(イ) 結晶浮游液

5%ホモゲネートを用いた際の androgens の結晶浮游液の影響は第14表の如く影響はない。

第14表 Testosterone Propionate $0.7 \times 10^{-4}M$
Methyl Androstenediol $2 \times 10^{-4}M$
(琥珀酸 $1.27 \times 10^{-2}M$)

反應時間	對 照	Test. prop.	M.A.S.
20 分	18	18	16
40 分	45	50	48
60 分	80	75	72

酵素消費 (單位 cmm)

(ロ) 結晶エタノール溶液

5%ホモゲネートを用い androgens の結晶を95%エタノールに溶解せしめたものゝ影響は第15表に示す如く阻害又は活性化は認めない。

第15表 Testosterone Methyl Androstenediol (琥珀酸 $1.27 \times 10^{-2}M$)

反應時間	對 照	Testosterone $2 \times 10^{-4}M$	M.A.S. $2 \times 10^{-4}M$
20 分	0	5	1
40 分	14	13	13
60 分	21	21	20

酵素消費 (單位 cmm)

3) Progesterone

(イ) 結晶浮游液

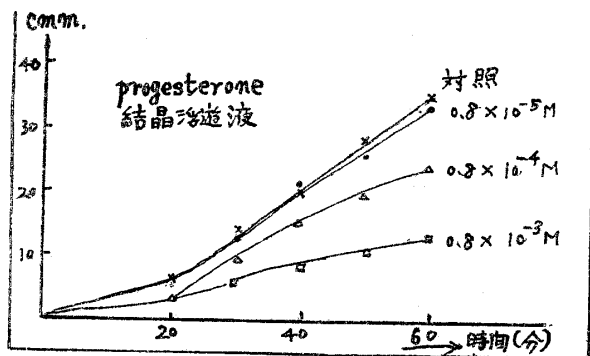
同様に5%ホモゲネートを用いてProgesteroneの結晶浮游液の影響をみた所、第16表、第7圖の如き成績を得た。

第16表 Progesterone (琥珀酸 $1.27 \times 10^{-2}M$)

反應時間	對照	$0.8 \times 10^{-5}M$	$0.8 \times 10^{-4}M$	$0.8 \times 10^{-3}M$
20分	6	5	3	3
40分	20	21	15	8
60分	35	33	24	13

酸素消費 (單位cmm)

第7圖 5% homogenate 琥珀酸 $1.27 \times 10^{-2}M$, pH, 7.2, 37°C



即ち Progesterone $0.8 \times 10^{-3}M$ では約62%, $0.8 \times 10^{-4}M$ では約31%夫々酵素作用を阻害したが、 $0.8 \times 10^{-5}M$ になると影響は認められない。

(ロ) 結晶エタノール溶液

Progesteroneの結晶をエタノールに溶解せしめてこの影響をみた所、第17表、第8圖の如き成績を得た。即ちこの場合も $0.33 \times 10^{-3}M$ では約30%, $0.33 \times 10^{-4}M$ では約15%の阻害が認められた。

第17表 Progesterone (琥珀酸 $1.27 \times 10^{-2}M$)

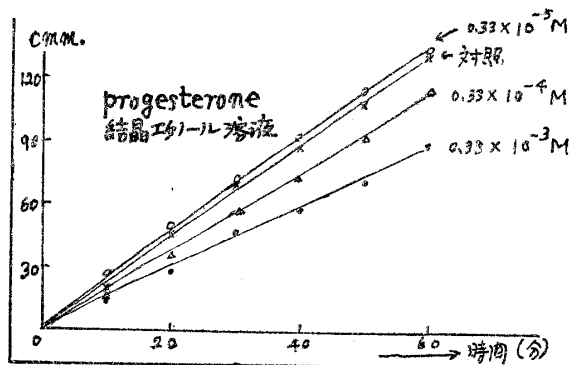
反應時間	對照	$0.33 \times 10^{-5}M$	$0.33 \times 10^{-4}M$	$0.33 \times 10^{-3}M$
20分	46	48	36	28
40分	88	90	73	59
60分	130	132	112	89

酸素消費 (單位 cmm)

第4章 考 按

ニコチン酸が生体内の2つの重要なCO-enzyme又サイアミンが焦性葡萄糖の脱炭酸反應にCO-enzymeとして不可欠の事、更に又D-アミノ酸酸化酵素の配合簇としてFAD(flavin-adeninedinucleotide)がある事、及びピリドキシンがチロジンの脱炭酸反應にCO-enzymeとして作用して居る事、更に又葉酸がプリン合成の際の炭素を供給す

第8圖 5% homogenate 琥珀酸 $1.27 \times 10^{-2}M$ pH 7.2, 37°C



る反應に於けるCO-enzymeとして作用して居るらしい事等が明かになり、又アスコルビン酸が生体内の酸化還元反應に於て水素を移送或は酸素給與體としての役目を演じて居る事等から、ビタミンと酵素との關係は近年益々明確にされるに到つた。即ちビタミンは生体内の酵素系の一部に直接に關與して居り、斯かる機序によつて其の生理作用を示すものである事が判り、従つて生體の新陳代謝過程に於てそれ等が占めるべき役割の全貌が殆んど解明されたと言つて過言でない。

然るに既に古よりビタミンと並び稱せられたホルモンの作用は、生物學的方面から漸次解明されては居るものゝ生化學的な作用機序に到つては未だ全く不明である。斯かる見解よりして數年前よりMeyer, McShan, Erway, Dares, Dirscherl, Höffermann, Barnes, Sawyer, Everett, Stuermaer, Dorfman 等によつて種々の酵素系とホルモンの關連性の探究が行われ始めた事は新しいホルモンの分野を開拓した意味で甚だ興味深いものがある。即ちMeyer, McShan²⁸⁾はダイコクネズミを用いて妊娠、分娩、授乳期及び下垂體摘除去勢等に際して黄體及び肝臟中の琥珀酸脱水素酵素、リンゴ酸脱水素酵素、Adenosinetriphosphatase, 酸性及びアルカリ性フォスファターゼ等の消長を觀察し、更にestrogens及び其の類似化合物が琥珀酸脱水素酵素及びリンゴ酸脱水素酵素等の酸化酵素に及ぼす影響を觀察して居る。彼等の報告によればダイコクネズミの肝臟ホモゲネート中の琥珀酸脱水素酵素に對しては合成estrogen-

ns (diethyl-Stilbestrol, hexestrol, dienstrol) は $1 \times 10^{-4}M$ で約 80% 其の作用を阻止し、 $2 \times 10^{-4}M$ では殆ど完全に酵素作用を阻止したと言う事である。又ダイコクネズミの脳、副腎、下垂體、黄體、腎臓、心臓等に存在する琥珀酸脱水素酵素も同様にこれらのホルモンで阻止され、又 1 つのフェノール基をもつ estrone も阻止作用を示すが、之が硫酸エステルとなつてフェノール基を失うと阻止作用はなくなり、且つ androgens にはこの阻止作用がない事及びリンゴ酸脱水素酵素に對しても琥珀酸脱水素酵素の際と略と同様の事が言え、フェノール基の數によつて阻止作用の程度も變つて來ると述べて居る。然して彼等はその阻止作用の本態が、同一濃度のフェノールが上述の如き阻止作用を示さない事、及びフェノール基をもたない或種の化合物が $1 \times 10^{-4}M$ で約 67% まで阻止を示す事から、單にフェノール基のみに依るものではないとして居る。

又 Dirscherl⁹⁾等も Testosterone, Testosterone Propionate, α -Oestradiol, DOCA, Progesterone Insulin 等が解糖作用をはじめ、脱炭酸酵素、カタラーゼ其の他數多くの酵素に及ぼす影響を觀察して居り彼等に依れば、脱炭酸酵素に對しては Testosterone Propionate は大量では阻止し少量では活性化するという興味深い成績を報告して居る。又 Sawyer, Everett⁵⁾¹⁰⁾は cholin esterase と estrogens, progesterone との關連性に就て報告し estrogen-level の上昇は nonspecific choline esterase の増加を來し、Progesterone では斯かる事は認められないと述べて居る。

又 Dorfman³⁾等は Desoxycorticosterone が D-アミノ酸酸化酵素, tyrosinase 等の作用を阻止し, glutaminase, carboxylase, trypsin 等の作用を促進し又 urease, アスコルビン酸酸化酵素, リパーゼ, transaminase 等に對しては一部分阻止すると報告して居る。

私も解糖作用に關與する酵素系に就て, estrogens, androgens, Progesterone の影響を觀察するべく家兎肝臟ホモゲネートを用いて, 葡萄糖, 乳酸, 焦性葡萄糖, 枸橼酸, 琥珀酸, フマル酸,

リンゴ酸等を基質として其の酸素消費を測定した所, 琥珀酸の酸化が最も著明に認められたので特に之について實驗を試みたのである。この様な實驗に際して最も困難な點はステロイドホルモンが水に難溶性であるという事實である。此の點については各研究者も夫々獨得の方法を考案している様で, Meyer McShan 等は少量の苛性ソーダ溶液に溶解して使用時に稀釋し, 又はエタノールに少量の苛性ソーダを添加したものに溶解したり, 又或種のホルモンは硫酸エステルとして水溶性の形にして實驗に用いて居る。

又 Dirscherl⁹⁾等はホルモンの極く微量を水に溶解したり, 又量の多い時は結晶浮游液の形で用いて居る。

Stander¹¹⁾等はホルモンを豫め 0.2cc の 70% エタノールに溶解せしめ, 之を 50cc の沸騰して居る蒸留水に加えて之を實驗に用いて居る。彼等に依ればこの操作によつて難溶性のステロイドも一時的に蒸留水中に過飽和となつて溶けるといふ事である。

私は微細なホルモン結晶を少量アラビヤゴムを用いて生理的食鹽水中に浮游させた所謂結晶浮游液と, 結晶を 95% エタノールに溶解せしめた場合の 2 つの場合について實驗を行つた。estrogens, androgens の結晶浮游液が酵素濃度の變化には無關係に何等作用を示さない事は恐らく其の不溶性の爲に酵素分子と反應する事が出来なかつたのではなからうかとも考えられるが, 他方酵素濃度の低い場合に progesterone の結晶浮游液が著明な阻害を示したのは之で説明のつかない所である。

又結晶のエタノール溶液では $2 \times 10^{-4}M$ でも estradiol が阻止を示さないのにそれよりフェノール基の少い estrone が 43% の阻止を示したのも興味深く更に又合成 estrogen である 4,4'-dihydroxy- α, β -diethyl bibenzyl の兩端の OH をアセチル基で置換した diacetoxy-diethyl-bibenzyl が約 70% の阻害を示したのに對して, 其のナトリウム鹽に阻止作用のない事及びフェノール基をもたない progesterone のエタノール溶液も又約 30%

昭和29年10月1日

河 田

の阻止作用を示した事等も Meyer, 及び McShan の説と比較して甚だ興味深い。即ち以上の成績から見ると阻止作用とフェノール基との間には Meyer, McShan 等の言う様な関係は成立せずフェノール基は酵素阻害の本質的なものとは考えられない様である。

然し androgens (Testosterone, Testosterone Propionate, Methyl Androstenediol) が酵素作用を阻止しないという點に就ては Meyer, McShan 等の報告と完全に一致した。

第5章 結 論

1) 琥珀酸脱水素酵素に及ぼす estrogens, androgens, progesterone 及び其の類似物質の影響を檢壓法により觀察した。

2) 高い酵素濃度に於てはホルモンの結晶浮游液も、結晶のエタノール溶液も共に阻止又は活性化を示さなかつた。

3) 低い酵素濃度に於ては Progesterone の結晶浮游液では $0.8 \times 10^{-3}M$ では約62%, $0.8 \times 10^{-4}M$ では約31%の阻止が認められた外、他のホルモンの結晶浮游液では何等の影響も認められなかつた。又結晶のエタノール溶液では estrone が $2 \times 10^{-4}M$ で約43%, 合成 estrogen (4,4'-diacetoxy- α, β -diethyl-bibenzyl) が $1.34 \times 10^{-4}M$ で約69%, Progesterone が $0.33 \times 10^{-3}M$ では約30%, $0.33 \times$

$10^{-4}M$ では約15%酵素作用を阻止した。

4) androgens では阻止又は活性化は認められなかつた。

5) 尙 estrone, 合成estrogen, progesterone 等の阻止作用の機作に關しては解明に至らなかつた。

擧筆するに臨み大阪大學久保教授及び足立部長の御指導御校閲に深甚なる謝意を表します。尙本研究は日本電信電話公社研究費によつて行われた。

主要文献

- 1) Barnes, A.C.: Am. J. Obst. & Gynec., 63:326, 1952. —2) Daver, J.S., Meyer, R.K., McShan, W.H.: Endocr., 44, 1, 1949. —3) Dorfman, R.I., Hayano, M., Yamada, E.Y.: J. Biol. Chem., 186, 603, 1950. —4) Dirscherl, W., Hoefferman, H.: Biochem. Z., 322, 4, 1952. —5) Everett, J.W., Sawyer, C.H.: Endocr., 39, 323, 1949. —6) Hogeboom, G.H., Schneider, W.C.: J. Biol. Chem., 172, 619, 1948. —7) Lardy, H.A. Ed: RESPIRATORY ENZYME, 1950. —8) Meyer, R.K., McShan, W.H.: Recent Progress in Hormone Research, 5, 465~515, 1950. —9) Sumner, J.B. Ed: THE ENZYMES, Chemistry and Mechanism of Action, 1951~52. —10) Sawyer, C.H., Everett, J.W.: Endocr., 39, 307, 1949. —11) Stander, M.: J. Biol. Chem., 198, 397, 1952. —12) Stuermaer, V.M.: Am. J. Obst. & Gynec., 63, 359, 1952. —13) Umbreit, W.W., Ed: MANOMETRIC TECHNIQUE AND TISSUE METABOLISM, 1951.

(No. 253 昭29・3・2)受付

健 保 点 数 に 新 適 用

円形脱毛症 (多発性・悪性) 全身脱毛症に

1本で6つのホルモン含有 (3,000単位×5 (日局ゼラチン注射液1cc×5添付))

ネオ-プロセリン

(説明書送呈)

昭和薬品化工株式会社

東京都中央区宝町 (味の素ビル)

大阪出張所 北区樋上10(味の素ビル)
福岡出張所 福岡・蔵本17

更年期障害
精力減退
白なま
癢痕の軟化
異物の吸収
不妊症
不感症
發育不全
夜尿症
その他脳下垂体ホルモンの欠乏諸症