

# 子宮内膜の代謝に対する性ホルモンの意義

## Significances of Sex Hormone Concerning the Endometrial Metabolism

東北大学医学部産科婦人科学教室（主任 九嶋勝司教授）

研究生 佐藤 信夫 Nobuo SATO

### 第1章 緒言

Sex hormone の作用機序の究明は内分泌学者の一大関心事である。然るに今まで sex hormone の作用機序を解明するための実験で2～3の人を除く殆んどのは hormone 感受臓器（以下 receptor と略）以外の大脳、肝臓、腎臓、筋肉等を酵素材料としている。sex hormone の作用機序を解明するためには当然 sex hormone に対し最も感受性の高い生殖器を使用すべきであるのにこの点が看過されている。又生体が性機能を営むためには、sex hormone の分泌と、sex hormone に反応する臓器の機能が問題となると考える。従つて性機能異常疾患には、sex hormone の分泌異常がある場合と、sex hormone 分泌に異常がなくとも receptor の機能に異常がある場合とがある訳である。然るに従来 receptor の機能異常に対しては殆んどかえりみられなかつた。扱て私は receptor である子宮内膜の代謝を測定し、sex hormone の作用機序の解明、更に sex hormone 作用をうける receptor の感受性異常疾患の解明を企図し以下の実験を行った。

### 第2章 実験材料並びに実験方法

#### 第1節 実験材料

実験材料は receptor として人子宮内膜、人子宮筋及び家兎子宮、対照に非 receptor として雌シロネズミの肝臓を使用した。

月経周期に伴う酸素消費量の変動及び組織内核酸の変化を染色により測定するためには、月経周期の規則的な婦人から子宮内膜搔爬術により採取した内膜を使用した。sex hormone による酸素消費量を測定する場合、核酸を化学的に定量する場合には内膜を多量必要とするので、膈上部切断或は単純全剔出した子宮から採取し実

験に供した。人子宮筋も前記手術により摘出した子宮より採取した。いずれの場合にも組織学的検査により月経周期を決定し、病的変化の無いもののみを使用した。家兎子宮は約 2.5kg 前後の成熟雌家兎を、シロネズミ肝臓は約 150g 前後の Wistar 系成熟雌シロネズミを断頭屠殺して得たものを使用した。

#### 第2節 実験方法

##### 第1項 酸素消費量測定法

実験装置は萱垣製作所製 Warburg 検圧計を、Warburg 用フラスコの容器恒数は水銀法で測定し、閉鎖液は Brodie 氏液を、組織浮遊液は pH 7.4 の Krebs Ringer-Phosphat（以下 K R P と略）を用いた。

組織細片（mince）の調製：採取せる材料を直ちに氷冷 0.9% KCl 液に入れて実験室に運び濾紙で充分血液と水分を除いてから torsion balance で約 100mg に分け（但し月経直後の内膜の場合は 30mg 前後の場合もある）鋏或は安全かみそりの刃を用いて mince とし、30分以内に実験するようにした。以下実験方法は化学の領域増刊号「ワールブルグ検圧計<sup>1)</sup>」に従つて行つた。次に簡単に述べると、実験温度 37°C、1本の manometer 及び flask 内に 0.5ml の酸素を 1 分間通気してガス腔を酸素で置換し、20分間空振盪して温度の平衡を得た後測定を開始し、1時間振盪後その酸素消費量を測定した。次いで組織を集め 100°C の乾燥器中で 1 時間乾燥し、torsion balance でその重量を測定し、組織呼吸の大小は Warburg の均質代謝係数を用いた。即ち

$$Q_{O_2} = \frac{\text{酸素消費量} (\mu l)}{\text{組織の乾燥重量} (mg) \times \text{時間} (st)}$$

尚副室には 20% KOH 液 0.2cc を濾紙にしみ込ませて入れ、発生する炭酸ガスを吸収した。

hormone は帝国臓器株式会社の estradiol 17  $\beta$ , est-ron, estriol, progesterone, testosterone propionate, cortisone, hydrocortisone を結晶浮遊液として用いた。

助酵素 (DPN=diphosphopyridin nucleotide, TPN=triphosphopyridin nucleotide, ATP=adenosin triphosphate), TCA cycle (tricarboxylic acid cycle) の各有機酸及び核酸は (RNA=ribonucleic acid) 東京化成工業株式会社製のものを溶液としていずれも *in vitro* に加えた。RNase (ribonuclease) は当教室吉崎が牛脾臓より精製したものを使用した。

### 第2項 子宮内膜組織中の核酸の化学的定量法

Schneider<sup>2)</sup> の原法で抽出, PNAは Mejsbaum<sup>3)</sup> の方法でDNAは Dische<sup>4)</sup> の方法で比色定量した。即ち採取せる子宮内膜は直ちに碎氷中で冷却し, 速かに torsion balance で秤量し, 20%の内膜 homogenate を作る。その homogenate 1 cc に10%氷冷  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  2.5ccを加えて氷冷しつゝ混合, 遠心分離する。上清を除き沈澱に再び10%氷冷  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  2.5ccを加えて懸濁し速かに遠心分離する。上清を除去し, 沈澱を1.0ccの水に懸濁, 4 ccの95% alcohol を混じり遠心分離する。沈澱を5 ccの純 alcohol に懸濁し再び遠心分離しその沈澱に alcohol-ether 混合液 (3:1) 5 ccに懸濁し, 沸石の薄片を入れ湯浴中で3分間沸騰せしめる。冷却後遠心分離して得た沈澱を同様操作して計3回抽出する。沈澱を1.2ccの冷水に懸濁し, 10%氷冷  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  1.3ccを混じり遠心分離する。次に沈澱に5%  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  5 ccを加え再び懸濁し90°C湯浴中で15分間加熱後冷却し遠心分離する。上清を除き沈澱に5%  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  2.5 ccを加えてよく混合してから遠心分離する。これ等の抽出液を合併し核酸割分とする。以上を図に示すと第1図の如くなる。

PNAは検体溶液1容 (2 cc) に試薬 (分析用 diphenylamin を1%の濃度に氷醋酸に溶し, その40ccに1.1

ccの濃硫酸を加えてよく混合する) 2容 (4 cc) を加えて沸騰湯浴中に入れ, 正確に5分後取り出し直ちに水道水で冷却し, 生じた紫青色を約10分後に, EPB- $\mu$  型日立光電分光光度計を用い 610m $\mu$  の波長で測定した。DNAは検体溶液1容 (1.5cc) に試薬 (分析用濃塩酸に10%  $\text{FeCl}_3$  水溶液を $1/100$ 容加え, 使用前この  $\text{FeCl}_3\text{-HCl}$  の液1 cc当り10mgの orcin を溶解し試薬とする) 1容 (1.5cc) を加え, 沸騰湯浴中で20分間加熱後直ちに水道水で冷却, 水で2倍にうすめ, 10分後前記光度計を用い波長 675m $\mu$  で測定し, 予め作製せるRNA, DNA (Merck 製核酸)の標準曲線より値を読みとる。値は組織 100mgあたりに換算して表わした。

### 第3項 組織内核酸の染色法

methylgreen pyronin 染色法<sup>5)</sup>で染色した。即ち採取子宮内膜を直ちに Carnoy 氏液に入れ3時間固定し, 3~4  $\mu$  paraffin 切片を脱パラしてから Unna Pappenheim の methylgreen pyronin 混合液中で25~30分間染色し, 水洗後 alcohol で脱水, 封入した。RNAは淡赤色, DNAは青緑色に着色する。尚対照実験として Brachet<sup>5)</sup> 法により RNase を恒温槽を用いて65°C, 1時間作用させ, 淡赤色の消失したものののみRNAとした。

## 第3章 実験成績

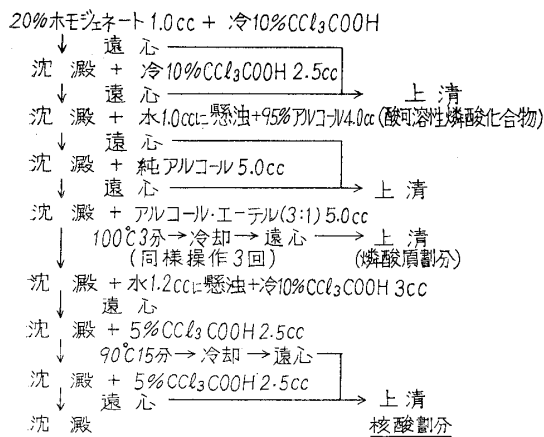
### 第1第 子宮内膜代謝に及ぼす sex hormone 作用

#### 第1項 月経周期による酸素消費量の変動

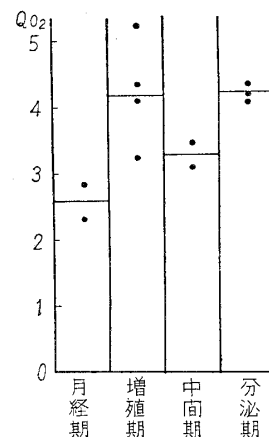
正常月経周期を有する婦人の子宮内膜を, 組織学的所見から月経期, 増殖期, 中間期, 分泌期に分けて各期について Warburg 物質代謝係数(以下  $Q_{O_2}$  と略)を比較すると第2図の如く, 月経期, 中間期は低く, 増殖期, 分泌期では高く, 明らかに周期による変動を認めた。

#### 第2項 各種 hormone の子宮内膜 $Q_{O_2}$ に及ぼす影響

第1図 組織内核酸抽出法 (Schneider 氏原法)

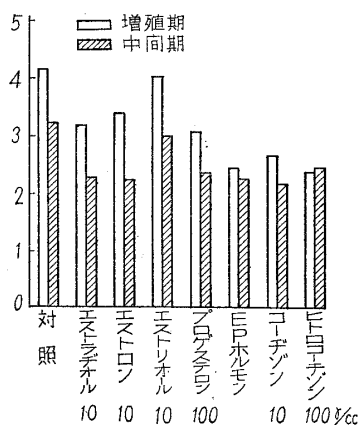


第2図 月経周期に於ける内膜の  $Q_{O_2}$



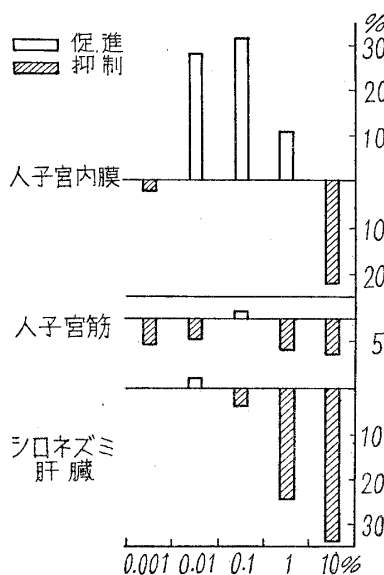
増殖期, 中間期の内膜に estradiol 10 $\gamma$ , estron 10 $\gamma$ , estriol 10 $\gamma$ , progesterone 100 $\gamma$ , EP hormone (estradiol 10 $\gamma$ , progesterone 100 $\gamma$ ), cortison 10 $\gamma$ , hydrocortison 10 $\gamma$ を suspension として加えて Qo<sub>2</sub> の変化をみると第3図の如く, hormone を加えない対照に比して estriol では 3.8%, 6.5%の抑制, 他は20~44%抑制された。

第3図 各種ホルモンの人子宮内膜 Qo<sub>2</sub> に与える影響



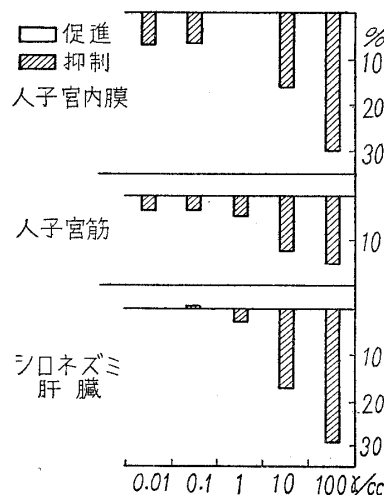
第3項 sex hormone の各組織 Qo<sub>2</sub> に及ぼす影響 receptor である人子宮内膜, 人子宮筋及び receptor でないシロネズミ肝臓 Qo<sub>2</sub> に対する estradiol, progesterone, testosterone の影響を比較してみると第4図の

第4図 エストラジオールの各組織 Qo<sub>2</sub> に及ぼす影響の比較

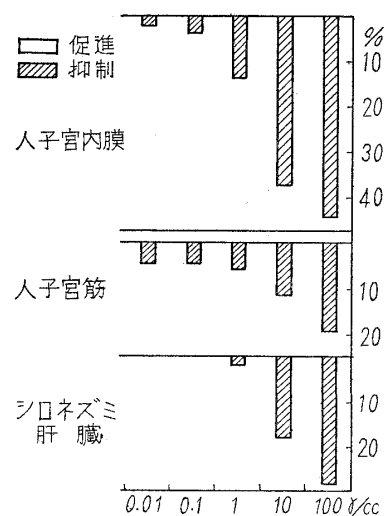


如く, estradiol 0.001 $\gamma$ /cc(以下 hormone 量は 1 cc 中の量を示す) では内膜, 筋ともに有意の差はなく, 0.01 $\gamma$  では内膜のみ中等度に促進するが, 筋, 肝では影響はなかった. 0.1 $\gamma$  では内膜のみ高度に促進し, 他は影響はなかった. 1 $\gamma$  では内膜は軽度に促進, 筋は影響なく, 肝では中等度に抑制された. 10 $\gamma$  では内膜は中等度に, 筋は極めて軽度に, 肝は高度に抑制された. progesterone については第5図の如くで0.01 $\gamma$  では内膜及び筋は殆んど影響なく, 0.1 $\gamma$  及び1 $\gamma$  では3者いずれも影響なく, 10 $\gamma$  ではいずれも軽度に抑制され, 100 $\gamma$  では内膜, 肝は中等度抑制, 筋は軽度に抑制された. testosterone では第6図の如くで0.01 $\gamma$  では内膜, 筋とも有意の差はなく, 0.1 $\gamma$  では3者とも之亦有意の差はなかった. 1

第5図 プロゲステロンの各組織 Qo<sub>2</sub> に及ぼす影響の比較



第6図 テストステロンの各組織 Qo<sub>2</sub> に及ぼす影響の比較

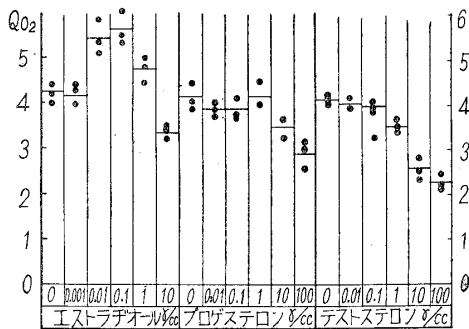


γでは内膜は軽度に抑制, 他は影響なく, 10γでは内膜は高度に他は軽度に抑制された. 100γでは内膜は極めて高度に, 筋は中等度に, 肝は高度に抑制された.

第4項 sex hormone の濃度差が組織 Q<sub>o2</sub> に及ぼす影響

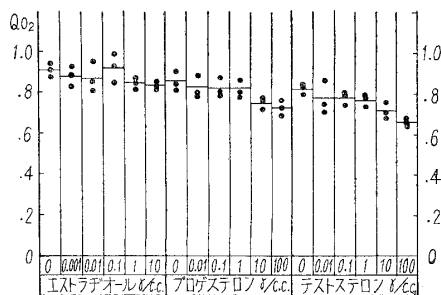
子宮内膜 Q<sub>o2</sub> に対する sex hormone の影響について見ると第7図の如く, estradiol は 0.001γでは対照に比して差がなく, 0.01γ, 0.1γでは明らかに促進され, 10γではむしろ抑制された. progesterone では0.01γ, 0.1γ及び1γでは対照と比較して殆んど差がなく, 10γ, 100γになると明らかに抑制された. testosterone では0.01γ, 0.1γでは対照と比して差はなく, 1γではやゝ抑制され, 10γ, 100γでは著明に抑制された.

第7図 性ホルモンの濃度差による内膜 Q<sub>o2</sub> に及ぼす影響

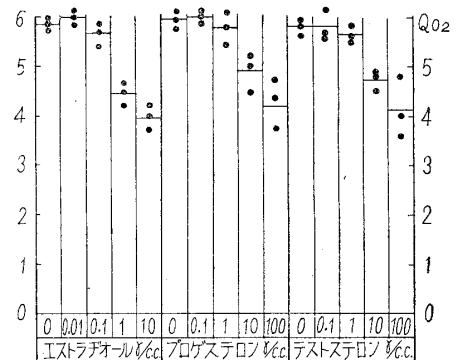


子宮筋 Q<sub>o2</sub> に対する sex hormone の影響については第8図の如くて, estradiol では各濃度に於ける Q<sub>o2</sub> は対照と比較して差はなかつた. progesterone, testosterone では0.01~1γで影響なく, 10~100γでは軽度に抑制された. シロネズミ肝の Q<sub>o2</sub> に対する sex hormone の影響については第9図の如く, estradiol 0.01~0.1γで影響なく, 1~10γでは中等度に抑制され

第8図 性ホルモンの濃度差による子宮筋 Q<sub>o2</sub> に及ぼす影響



第9図 性ホルモンの濃度差によるシロネズミ肝 Q<sub>o2</sub> に及ぼす影響



た. progesterone, testosterone については0.1~1γでは影響なく, 10γでは軽度に, 100γでは中等度に抑制された.

第5項 TCA cycle の各有機酸を基質とした場合の人子宮内膜 Q<sub>o2</sub> 及び estradiol の影響

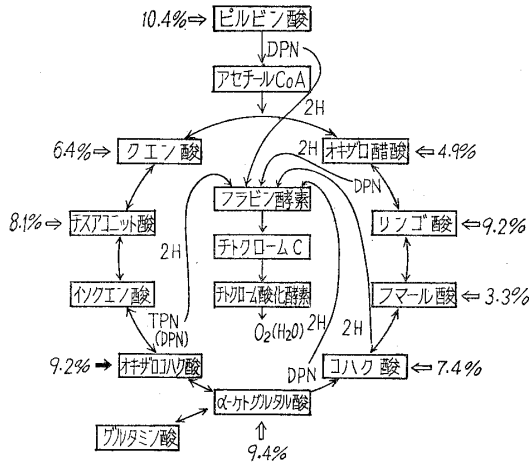
基質として isocitric acid 以外の TCA cycle の各有機酸を加えて incubate すると第1表及び第10図の如くて, 対照に比して8~12%の範囲で Q<sub>o2</sub> は増加した. これ等の有機酸に estradiol 0.1γを加えると oxalsuccinic acid を除いて Q<sub>o2</sub> は更に2.4~10.4%増加した. 特に pyruvic acid, cisaconic acid, ketoglutaric acid, malic acid 等は明らかに促進的であり, succinic acid では促進は明らかでなかつた.

第6項 月経周期に於ける人子宮内膜核酸の化学的定量

第1表 TCA cycle の各有機酸を基質とした場合の人子宮内膜 Q<sub>o2</sub> 及びエストラチオール 0.1γ/cc の影響

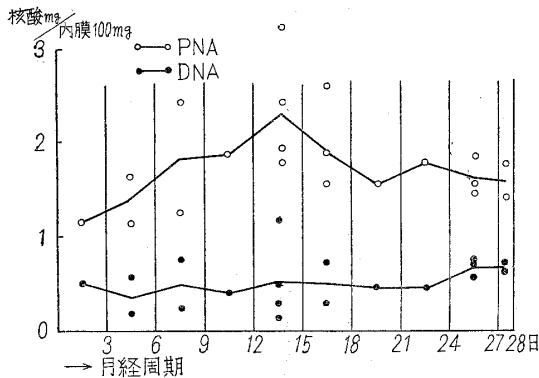
基質種類	対照	基質添加		基質+エストラチオール添加	
	Q <sub>o2</sub>	Q <sub>o2</sub>	対照Q <sub>o2</sub> に対する増加率	Q <sub>o2</sub>	対照Q <sub>o2</sub> に対する増加率
ピルビン酸	4.50	5.02	11.6%	5.64	25.3%
クエン酸	4.35	4.70	8.0%	5.00	14.9%
アソコ酸	4.11	4.56	10.9%	4.93	20.0%
アコニ酸	4.05	4.36	7.7%	4.14	2.2%
イソクワリ酸	4.28	4.87	11.5%	5.33	24.5%
コハク酸	4.38	4.80	9.6%	4.92	12.3%
フマル酸	4.40	4.81	9.3%	4.97	13.0%
リンゴ酸	4.17	4.57	9.9%	4.99	19.6%
オキサロ酢酸	4.35	4.71	8.3%	4.94	11.0%

第10図 TCA cycle の各有機酸を基質とした場合の子宮内膜  $Q_{O_2}$  及びエストラジオール 0.1  $\gamma$ /cc の影響



月経正常な健康婦人20名について月経周期の任意の日に子宮内膜を採取し、その内膜のPNA, RNAを上述の方法で抽出定量し、3日毎に区分し、各区分毎の、PNA, DNA量 (mg/子宮内膜 100mg) を示せば第11図の如くなる。即ちPNAについてみると月経第6~9日目頃より次第に増量し、第12~15日目頃最大となり、15~18日目にやゝ減少し、それ以後は殆んど変化しなかつた。DNAについては月経周期を通じて量的変動は認めなかつた。

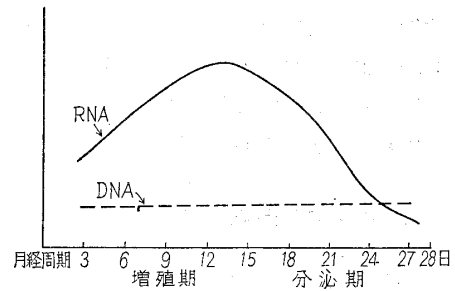
第11図 月経周期に於ける子宮内膜核酸の化学的定量



第7項 月経周期に於ける子宮内膜核酸の組織化学的検出

正常月経を有する婦人より採取した子宮内膜を前記染色法により染色し、RNA, DNAを組織学的所見から月経周期を追ってその量的変動を示せば第12図の如くなる。即ちRNAは増殖期から中間期にかけて増量し、その後分泌期には急速に細胞内のRNAは減少した。こ

第12図 月経周期に於ける子宮内膜核酸の組織化学的検出



の分泌期に於けるRNA量は化学的定量的場合と趣を異にした。DNA量は増殖期、分泌期を通じて変化なく、化学的定量的の場合と一致した。細胞内の分布をみると、増殖期の子宮内膜腺細胞の原形質内ではほぼ均一に染色され、増殖期が進むにつれて次第に染色度が増し、それが分泌期になると腺細胞原形質の腺腔に近い部分に集り、分泌期には一部腺腔内にも認められた。但し腺細胞核中のRNAには周期的変化を認めなかつた。

第8項 家兎子宮 $Q_{O_2}$ に及ぼすRNase及びestradiolの影響

RNase液に家兎子宮細片を入れ、室温に一定時間(この場合は25°C, 1時間, 30分及び15分)作用させてから取り出し、濾紙で充分RNaseを除き、Warburg検圧計で $Q_{O_2}$ を測定した。対照は同じ家兎子宮細片を同じ温度で同じ時間KRP液中加入し、次いで $Q_{O_2}$ を測定した。実験結果は第2表の如く、1時間及び30分間RNaseに作用させたものでは $Q_{O_2}$ はきわめて低く、15分間RNaseに作用させたものでは対照に比し $1/3$ の値を示した。estradiol 0.1  $\gamma$ 添加の影響は1時間及び30分間作用させた例では認められず、15分間作用させた例では中等度促

第2表 家兎子宮 $Q_{O_2}$ に及ぼすリボヌクレアーゼ及びエストラジオール 0.1  $\gamma$ /ccの影響

リボヌクレアーゼ作用時間	対照	リボヌクレアーゼ	リボヌクレアーゼ+エストラジオール
60分	2.47	0.04	0.10
30分	3.06	0.16	0.18
	3.12	0.19	0.14
15分	3.64	1.39	1.69

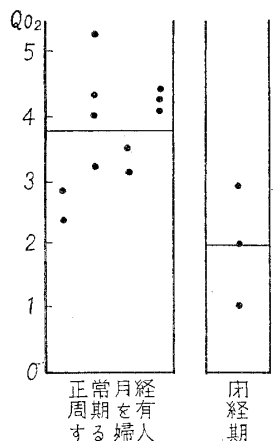
進した。

第2節 receptorに異常ある場合の $Q_{O_2}$ , 核酸及び之にhormoneを作用させた場合 $Q_{O_2}$ の変化

第1項 閉経後子宮内膜の $Q_{O_2}$ 及び核酸量

閉経期婦人3名の子宮内膜  $Q_{O_2}$  は第13図の如く、平均2.02で正常月経周期を有する婦人の平均3.79に比べると約46.7%低下していた。その子宮内膜の核酸を定量すると第3表の如く、DNAはあまり差はないが、PNAは低下していた。二次的無月経婦人も同様にDNAはあまり変らなかつたが、PNAは明らかに低下していた。

第13図 閉経後子宮内膜  $Q_{O_2}$



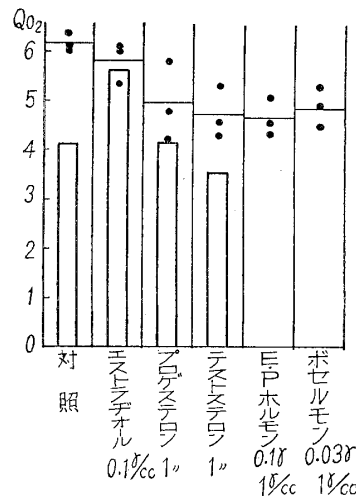
第3表 閉経後婦人・無月経婦人の子宮内膜核酸 (核酸量mg/内膜 100mg)

年齢	無月経期間	診断	DNA	PNA
50	閉経後1年	更年期障碍	0.654	1.080
50	閉経後7年	子宮腔部癌	0.465	0.877
26	5年間無月経	二次的無月経	0.694	0.627

第2項 機能性出血子宮内膜  $Q_{O_2}$

臨牀的に一定期間無月経があり、肉眼的に肥厚した子宮内膜で組織学的に増殖期内膜像から出血を認めたものに sex hormone を加えて incubate したものと、正常子宮内膜に sex hormone を加えた場合を比較すると第14図の如くである、機能性出血子宮内膜  $Q_{O_2}$  は平均6.16で正常子宮内膜  $Q_{O_2}$  の約50%高い値を示した。この機能性出血子宮の内膜に estradiol 0.1 $\gamma$ を加えて incubate しても  $Q_{O_2}$  は促進せず、正常内膜の場合と明らかに作用態度が異つていた。progesterone は機能性出血内膜  $Q_{O_2}$  に対しては中等度に抑制するが、正常子宮内膜  $Q_{O_2}$  には殆んど影響を与えなかつた。testosterone は夫々中等度、軽度の抑制で機能性出血内膜に対する抑制度が強かつた。EP hormone, Bothermon ではどちらも中等度に抑制した。

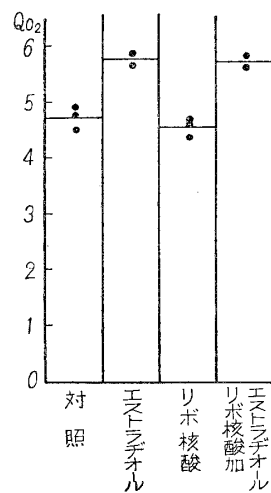
第14図 機能性出血子宮内膜  $Q_{O_2}$  及び正常子宮内膜  $Q_{O_2}$  に及ぼすホルモンの影響の比較



第3項 家兎子宮  $Q_{O_2}$  に及ぼすRNA加 estradiol の影響

家兎子宮にRNA 500 $\gamma$ /ccを加えて incubate した場合の  $Q_{O_2}$  は第15図の如く、対照と差はなかつた。次にRNAに estradiol 0.1 $\gamma$ を加えて incubate した場合も estradiol 0.1 $\gamma$ 単独の場合に比較して差がなかつた。

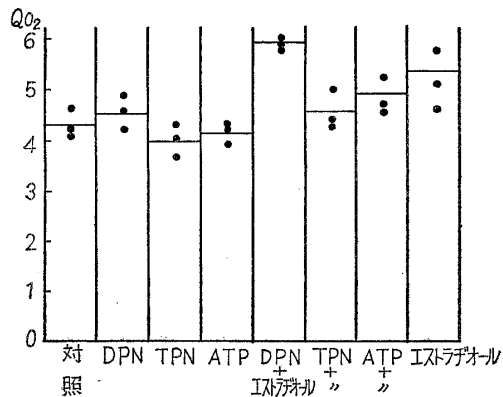
第15図 家兎子宮  $Q_{O_2}$  に及ぼすリボ核酸 (500 $\gamma$ /cc) 加エストラジオール (0.1 $\gamma$ /cc) の影響



第4項 助酵素加 estradiol の子宮内膜  $Q_{O_2}$  に及ぼす影響

DPN (0.75 $\mu$ m), TPN (0.75 $\mu$ m), ATP (2.5 $\mu$ m) を各々単独に添加した場合は第16図の如く、対照に比べて有意の差はなかつた。estradiol 0.1 $\gamma$ にDPN, TPN, ATPを夫々添加した場合は estradiol 単

第16図 助酵素及びエストラジオール0.1 $\gamma$ /cc  
の子宮内膜に及ぼす影響



独の場合に比し TPN, ATP はやゝ QO<sub>2</sub> 値は低いが, DPN の場合は軽度促進された。

#### 第4章 総括並びに考按

hormone についての現在の関心は, hormone の合成の機転と hormone の代謝及び hormone の作用機序にあると言える。特に hormone の作用機転を知るとは sex hormone 分泌異常乃至受容臓器の感受性異常による疾患の治療上役立つものと思われる。去熱シロネズミ子宮が estrogen で肥大することは Aschheim and Gesenius<sup>6)</sup>, Khayyal and Scott<sup>7)</sup>, Kerly<sup>8)</sup>, Burger and Kuntz<sup>9)</sup>, Robert and Szego<sup>10)</sup> 等により, 又これ等子宮の QO<sub>2</sub> が性周期により変動することは Khayyal and Scott<sup>11)12)</sup>, Kerly<sup>13)</sup> 等によつて報ぜられた。しかしこれを否定する人もある (Adler<sup>14)</sup>, Dryfuss<sup>15)</sup>)。人子宮内膜については Hagerman and Villee<sup>16)17)</sup> その他の人達が QO<sub>2</sub> をはじめ他の物質代謝でも性周期の間で変動を示すことを認め, これを子宮に作用する血中の hormone 量と関係があるものと考えた。

hormone の各種臓器の QO<sub>2</sub> に対する影響についての研究は極めて多くの人々の実験報告がある。しかしその実験成績は区々であり全く相反する場合も少なくない。in vitro で行うこのような実験は実験条件, 即ち臓器感受性の差, hormone 濃度, 作用時間その他によるものの差で, 1つ1つの実験条件や実験結果を検討することが in vivo の実験とあいまつて生体の hormone 作用を解明するに役立つものと思われる。

非 receptor である肝, 脳等の QO<sub>2</sub> に対する hormone の影響についてしらべた人は多いが, 人子宮内膜に対する hormone 作用を実験した人は少い。estrogen では Hagerman and Villee<sup>16)~19)</sup> の 1953 年以後の研究及び

Stermer and Stine<sup>20)</sup> の研究, progesterone では Burger and Kuntz<sup>21)</sup> の実験があるのみで, testosterone についての報告はみあたらない。

私ははじめ正常月経周期を有する婦人子宮内膜の QO<sub>2</sub> を Warburg 検圧計で測定してみ, 月経周期に伴つて明らかに変動することを認めた。即ち, 月経期には低く, 増殖期と分泌期に夫々高い値を示し, 中間期には稍々低下した。この 4 者間の差は推計学的に分散分析法で 5% の危険率で有意であつた。かかる性周期による QO<sub>2</sub> の変動は sex hormone の変動に支配されると考え次の実験を行つた。

子宮内膜に対し一定濃度の各種 hormone (estradiol 10 $\gamma$ , estrone 10 $\gamma$ , estriol 10 $\gamma$ , progesterone 10 $\gamma$ , EP hormone, cortison 10 $\gamma$ , hydrocortison 10 $\gamma$ ) を加えて incubate すると EP hormone > hydrocortison > cortison > progesterone > estradiol > estrone の順で抑制が強かつた。比較的不活代謝形の estriol は 10 $\gamma$  の多量でも子宮内膜 QO<sub>2</sub> に影響を及ぼさず, receptor である子宮内膜に対してその代謝には余り関係のないことを証明した。かかる 10 $\gamma$  或は 100 $\gamma$  は生理量より見ると多量であり, そのため抑制作用を示したのであると考え, 次に濃度を変えて実験を行つてみた。

hormone 濃度を 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 $\gamma$  の 6 段階に分けその hormone 作用を検討してみると, estradiol では子宮内膜に於いては極微量では作用を示さず 0.01~1 $\gamma$  では促進され, 更に 10 $\gamma$  以上になると却つて抑制された。progesterone では 0.01~1 $\gamma$  では作用せず, 10~100 $\gamma$  では抑制された。testosterone の影響は progesterone の場合と似た作用を示すが progesterone の場合よりも更に低濃度でもすでに抑制作用を示し, 濃度が増すとともに強く抑制した。この様に estradiol の場合には濃度により無効量, 促進量, 抑制量とがあり, 之は thyroxin についての山本<sup>22)</sup> 等の二相性作用と符合する。今回の実験で progesterone, testosterone については二相性作用は認められなかつたが, これは hormone の性質の相違によるものであろう。estradiol の子宮内膜 QO<sub>2</sub> の最も促進する時の量は 0.01~0.1 $\gamma$  で人体血中の生理的 hormone 量はこの範囲内に含まれる。progesterone, testosterone の血中生理量と思われる 1 $\gamma$  では夫々子宮内膜 QO<sub>2</sub> に無作用, 軽度の抑制作用を示した。実際にも estradiol では子宮内膜の増殖が起り内膜が厚くなるが, progesterone や testosterone では内膜の増殖が起らない。estradiol のみ著明

な酸素消費の増加がみられ、他の 2 hormone ではこの現象がないのは内膜の増殖に多くの energy を必要とするためであろう。

estrogen や progesterone がシロネズミや廿日ネズミの子宮（筋肉、内膜）の  $Q_{O_2}$  に著明な影響を及ぼすことは Aschheim and Gesenius, Khayyal and Scott, Burger and Kuntz 等によりすでに述べられている。即ち estrogen は促進的に、progesterone は 60~100% で抑制的であると言っている。子宮筋と子宮内膜はかなり生理作用を異にするので、私は筋と内膜の  $Q_{O_2}$  を別々に測定した。人子宮筋に対する sex hormone の影響は、estradiol では子宮内膜に比し各濃度とも明らかに影響は少ない。progesterone, testosterone でも影響は少く、1% 以下では作用を示さず、10% 以上で軽度抑制のみである。この様に子宮筋  $Q_{O_2}$  は内膜程強く hormone の影響をうけないが、これは内膜が子宮筋に比し sex hormone の影響を著しく受ける生理的事実と一致する。

肝臓の  $Q_{O_2}$  と hormone との関係についても多くの発表がある (Eisenberg<sup>23)</sup>, Hayano<sup>24)</sup>, Dirscherl<sup>25)</sup>, Smith<sup>26)</sup>, Dirscherl and Hauptman<sup>27)</sup> 等)。その結果は区々であるが多くの人は抑制的であるとした。その場合にすべて一致して実験に使用した hormone の量が生理量を越えた多量 (2 mg~10%) であった。1935年 Zondek は *in vitro* で、Heller<sup>28)</sup> は肝臓とともに hormone を incubate することにより Glass<sup>29)</sup> は *in vivo* で夫々肝臓の hormone 不活性作用について述べている。私の実験ではどの hormone も子宮筋や子宮内膜には作用を示す濃度で肝臓には影響を及ぼさず、一定濃度以上になると急に強く抑制的に働く。これらの点から考えても receptor の性質を有する生殖器では sex hormone が強い活性を示し、receptor の性質を有しない非生殖器では sex hormone の作用が認め難い生理的事実と私の  $Q_{O_2}$  の実験成績とはよく一致した。

これは receptor と非 receptor では存在する酵素系の種類或は量がちがっており(鈴木<sup>20)</sup>) hormone により組織の反応態度が異なるためであろう。

更に子宮内膜の反応を分析して考えるために、内膜に TCA cycle の各段階の有機酸を加えて  $Q_{O_2}$  を測定した。TCA cycle は糖の最終酸化過程であるが、脂肪やアミノ酸の一部もこの過程を通り酸化されると言われている。この際加えた物質を基質、内膜をこれに作用する複合酵素系と考えた。この TCA cycle の各有機酸を基質とした場合にはすべての例が 8~12% の範囲で子宮内膜  $Q_{O_2}$  が増加し、estradiol 0.1% を加えると oxalsuccinic acid のみが 9.2% 抑制を示した。又その酸化反応に助酵素を必要としない succinic acid では影響をうけ

ないこと及び助酵素 DPN を必要とする pyruvic acid, ketoglutaric acid, malic acid は estradiol の作用を受け促進されることなどから、estradiol の作用点はこれ等の共通経路である chitochrom C 或は chitochrom 酸化酵素系 (McSchan and Meyer<sup>31)</sup>) でなく助酵素 DPN に関係ある脱水素反応であると思われる。もし chitochrom C や chitochrom 酸化酵素系に estrogen が働くとすれば、どの基質でも同じ程度に estrogen で促進されるはずである。この私の実験結果は Eisenberg や Guidary<sup>32)</sup> の説と似ているが、シロネズミ脳或は肝臓を使用した彼等の実験結果は、子宮内膜に於ける本実験の結果と反対で、助酵素 DPN, TPN に hormone が働き抑制作用を呈するのだと述べている。この点は前に述べた如く、その hormone に対して特異に働く酵素系をもっている receptor の内膜を使用すべきであり、彼等は receptor を使用せず、その上生理量よりはるかに高濃度の hormone を使用していることから、彼等の実験結果は hormone の生理的な作用機転を論ずるには不適當である。Villev 等<sup>18)19)</sup> は estrogen と DPN を作用させると estrogen により DPN が著明に還元されることから、estrogen の作用機転は DPN との結合にありと説明した。この反応が estrogen の作用機転を完全に説明し得るかどうかは別問題として、私のこの結果と比較するとき誠に興味深く感じた。estradiol が DPN と結合して働く場合、DPN の還元が促進されるという考え方の他に、estradiol 自身が酸化される場合も考えられるがこの点はたしかめなかつた。

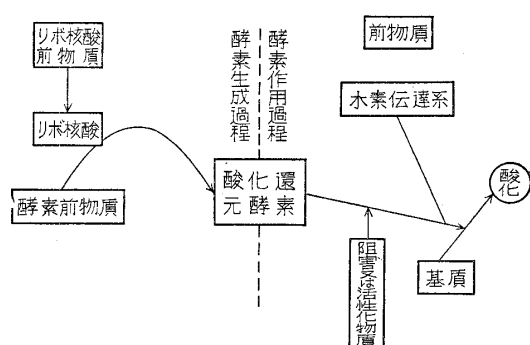
sex hormone の作用機転の説明が以上の実験だけで充分なし得ないので私は次の実験を試みた。hormone を与えて組織の生化学反応の増強を認めた場合を、I) 組織酵素の作用過程に hormone が作用した場合と、II) 組織の酵素生成過程に hormone が作用した場合とに 2 大別できる。I) の場合を更に細分して考えてみると、

(1) 酵素系に直接作用し酵素作用を阻害又は治性化する。(2) 酵素作用を阻害又は活性化しているものに作用する。(3) 水素伝達系に作用する場合等が考えられ、その内 (3) の助酵素系に対する hormone 作用について実験した結果は前に述べた通りである。II) については、

(1) 酵素系の一部に構成因子として関与する。(2) 酵素生成に作用する等の場合が考えられる。以上を図に示すと第 17 図の如くなる。そこで私は酵素生成に必要であるとされている RNA について実験を行い、子宮内膜の周期的変化によりいかに変動するかを検討した。

組織学的に RNA を検すると、子宮内膜細胞原形質内に増殖期初期に均一に現われ、排卵期頃最も多くなり、分泌期には次第に原形質内で腺腔に近い部分にのみ染色

第17図 予想されるホルモンの作用部位



され、一部腺腔内にも染色される。RNAを化学的に定量した場合にも染色の場合と同じく増殖期から排卵期にかけて増量するが、分泌期では染色の場合程減少しない。これは原形質内RNAは腺腔内に分泌されたRNAも同時に測定されるためではないかと思う。DNAは染色の場合も化学的測定の場合も性周期により変動がなかった。細胞核内小核中のRNA及び子宮内膜上皮細胞に存在するRNAは全周期を通じて殆んど変化を示さない。故にかかる増殖期に於ける子宮内膜核酸の増加はestrogenの作用による(土光<sup>33</sup>)ものと思われ、このことからsex hormoneはRNA増加により諸酵素生成を促すものである。

次にこの事実を別の面からみるため、内膜にRNA分解酵素のRNaseを作用させてincubateすると $Q_{O_2}$ は著明に減少した。この際これにestradiolを加えて同じ条件でincubateしても $Q_{O_2}$ の著明な上昇がみられなかった。故にRNaseにより或る程度RNAが破壊されるとestradiolの内膜に対する作用が現われなことがわかった。

次に立場をかえて、本研究の第2の問題であるreceptorの感受性に関する実験を行った。

更年期に於いて血中hormone量は正常婦人に比べて不安定であり、時期によりhormone量はいちじるしい差があり(Nieburg<sup>34</sup>, Zondek<sup>35</sup>, Whitehouse<sup>36</sup>, 九嶋<sup>37</sup>等)、内分泌機能の変化が起ることは既に明らかにされている。然るにreceptorの態度に関しては従来殆んど考慮されていなかった。私が更年期の子宮内膜の $Q_{O_2}$ を測定すると正常月経周期を有する婦人の子宮内膜 $Q_{O_2}$ に比べて明らかに低下していた。これはhormoneの多少とは関係なく、反応する内膜自身の組織学的な退化現象(藤井<sup>38</sup>)並びにそれに伴う代謝能の減弱のため充分反応し得ないと考えるのが妥当である。以上は生理的なreceptorの変化であるが機能性出血の子宮内膜は病的な現象である。かかる内膜の $Q_{O_2}$ は正常内膜の $Q_{O_2}$ に比べて約50%増加し、hormoneに対する反応のしかた

も差異を認めた。即ちestradiol 0.1 $\gamma$ を加えても $Q_{O_2}$ に変化なく、progesterone 1 $\gamma$ では正常内膜の $Q_{O_2}$ には影響を与えないが機能性出血内膜では中等度に抑制し、testosterone 1 $\gamma$ でも強く抑制された。hormoneの分泌の問題は別として、機能性出血の時は内膜(receptor)にも変化があることがわかった。この際Botherton、やEP hormoneでも、この内膜を中等度に抑制した。

この問題を更に詳細に検討するため次の実験を行った。正常膜内に助酵素DPN, TPN, ATP及び核酸(RNA)を添加してincubateしてみたが著変がなかった。本実験に更にestradiol 0.1 $\gamma$ を加えてincubateすると、DPNとestradiolを添加した場合のみ対照(estradiol単独添加)に比して $Q_{O_2}$ が増加した。この様にreceptorが助酵素を加えてestradiolに対する感受性を人工的に変化せしめ得たことはreceptorの性質を人工的に変化させたことになり、そのreceptorに対する治療という点からも興味ある問題を提示した。既に述べた如く、内膜はestradiolで核酸も $Q_{O_2}$ も増加した。然るにこの核酸添加実験で $Q_{O_2}$ が増加しないのは一見奇異に感ずるが、添加核酸は子宮内膜以外の臓器より精製されたもので、子宮内膜のRNAと異なる化学構造を有するものであるため作用が現われなかつたものであろう。

従来我々は臨床的に内分泌疾患を多く経験し、hormone量の多い少いを問題とし治療を行って来た。然るに細菌感染時不正性器出血があることや、生殖器結核の時子宮内膜が萎縮すること等receptorの疾患があることは確実であり、これら疾患の他にも酵素学的な或は物理化学的なreceptorの疾患の存在を考える必要があろう。

## 第5章 結 論

私は人子宮内膜の代謝測定により、sex hormoneの作用機転及びreceptorのhormone感受性に関する実験を行い次の結果を得た。

### I) 月経周期と物質代謝係数

子宮内膜の物質代謝係数(以下 $Q_{O_2}$ と略)は性周期により変動し、増殖期と分泌期には上昇、中間期には稍と低下し、月経期に最も低かつた。

### II) $Q_{O_2}$ と hormone

(1) 子宮内膜の $Q_{O_2}$ は大量のestradiol, estrone, testosterone, progesterone, EP hormone, cortison hydrocortisonで低下し, estriol大量添加(10 $\gamma$ /cc)で抑制作用は認められなかった。

(2) 種々な濃度のestradiolを添加すると、内膜に於いては、微量では $Q_{O_2}$ は変化せず生理的範囲内の少量で上昇し、大量で低下した。

(3) 種々の濃度の progesterone 添加では、少量で影響なく、大量で抑制した。testosterone では progesterone と似た影響を及ぼすが抑制度は更に強かった。

(4) 同様の実験をシロネズミ肝臓及び人子宮筋について行つたが、estradiol 生理量でも両臓器の  $Q_{O_2}$  は殆んど上昇しなかつた。

(5) progesterone, testosterone 生理量でも同様殆んど変化を示さなかつた。

以上から諸種 hormone のうち生理的用量で  $Q_{O_2}$  を促進するのは estradiol のみであり、又 estradiol によつて子宮内膜  $Q_{O_2}$  のみが著明に促進し、子宮筋、肝では殆んど変化しないことを知つた。

### III) 子宮内膜に対する estrogen の作用点

(1) TCA cycle の各有機酸を別々に基質として増加し内膜  $Q_{O_2}$  を測定するとほぼ同程度に促された。

(2) (1) の実験に estradiol を添加し測定すると、その酸化反応に DPN を必要とするような基質の  $Q_{O_2}$  のみが estradiol により促進されることは、DPN の還元を促進する物質と考えられた。

### IV) 子宮内膜の核酸

(1) 内膜の核酸を化学的に定量すると性周期による DNA の変動は著明でなく、RNA は増殖期に増加し、中間期に高く分泌期にやゝ少くなつた。

(2) 組織化学的検査によると内膜の腺上皮原形質の RNA は周期的変動を示し、内膜上皮細胞や核中の RNA は周期的変動を示さず、DNA も周期的変動を示さなかつた。

(3) RNase を作用させると家兎子宮  $Q_{O_2}$  は減少し、estrogen を添加しても  $Q_{O_2}$  の上昇は起らなかつた。以上より酸化還元系酵素生成に関係ある RNA と estrogen とは密接な関係にあると思われた。

### V) 子宮内膜の感受性異常

(1) 閉経期婦人の子宮内膜  $Q_{O_2}$  は成熟婦人に比し明らかに低かつた。機能性出血子宮内膜の  $Q_{O_2}$  は著しく上昇し、hormone を添加すると  $Q_{O_2}$  の上からは正常内膜と異つた反応を示した。故にこれらの場合には従来考えられた hormone 増減の他に receptor の態度にも変化があることが判明した。

(2) 子宮内膜  $Q_{O_2}$  は各種助酵素、核酸の添加

で変化がなく、これ等に estradiol を加える DPN 処理内膜のみ  $Q_{O_2}$  は著明に増強した。故に内膜に酵素学的処理を加えることにより receptor の感受性を人工的に変えることが可能である。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師九嶋教授に深甚なる謝意を表すると共に、種々の御教授を戴いた鈴木助教授に衷心より感謝の意を表します。

### 文 献

- 1) 「ワールブルグ検圧計」化学の領域増刊号, 昭29. — 2) Schneider, W.C.: J. Biol. Chem., 161: 293, 1945. — 3) Mejbaum, E.: Z. Physiol. Chem., 258: 117, 1939. — 4) Dische: Mikro., Chem., 2: 26, 1930. — 5) Brachet, J.: C. r. Soc. Biol., 133: 88, 1940. — 6) Aschheim, S. & H. Gesenius: Arch. Gynäk., 153: 434, 1933. — 7) Khayyal, M.A. & C.M. Scott: J. Physiol., 72: 13, 1931. — 8) Kerly, M.: Biochem. J., 34: 814, 1940. — 9) Burger, H. & W. Kuntz: Arch. Gynäk., 179: 672, 1951. — 10) Roberts, S. & C.M. Szego: J. Biol. Chem., 201: 21, 1953. — 11) Khayyal, M.A. & C.M. Scott: Quart. J. Exper. Physiol., 25: 77, 1935. — 12) Khayyal, M.A. & C.M. Scott: Quart. J. Exper. Physiol., 24: 249, 1934. — 13) Kerly, M.: Biochem. J., 31: 1544, 1937. — 14) Adler, M.: Arch. Gynäk., 141: 309, 1930. — 15) Dreyfuss, M.L.: Am. J. Cancer., 38: 511, 1940. — 16) Vilee, C.A. & D.D. Hagerman: J. Biol. Chem., 205: 873, 1953. — 17) Hagerman, D.D. & D.A. Vilee: Endocrinology, 53: 667, 1953. — 18) Hagerman, D.D. & C.A. Vilee: J. Biol. Chem., 203: 425, 1953. — 19) Vilee, C.A.: Gestation, 1956. — 20) Stuermer, V.M. & R.J. Stein: Am. J. Obst. & Gynec., 63: 359, 1952. — 21) Burger, H. & W. Kuntz: Arch. Gynäk., 179: 660, 1951. — 22) 山本清: 総合臨床, 5: 217, 1956. — 23) Eisenberg, E. et al.: Endocrinology, 45: 113, 1949. — 24) Hayano, M. et al.: Endocrinology, 46: 387, 1950. — 25) Dirscherl, W. & A. Veltein: Biochem. Z., 323: 408, 1952~1953. — 26) Smith, T.C. et al.: Amer. J. Physiol., 174: 247, 1953. — 27) Dirscherl, W. & K.H. Hauptman: Biochem. Z., 320: 199, 1950. — 28) Heller, C.G.: Endocrinology, 32: 64, 1943. — 29) Glass, S.J.: Endocrinology, 26: 590, 1940. — 30) 鈴木雅洲: 最新医学, 13: 2026, 1958. — 31) McShan, W.H., R.K. Meyer & W.F. Erway: Arch. Biochem., 15: 99, 1947. — 32) Guidary, M.A. et al.: Endocrinology, 50: 29, 1952. — 33) 土光文夫: 日産婦誌, 9: 811, 1957. — 34) Nieburgs, H.E.: J. Obst. & Gynec. Brit. Emp., 52: 435, 1945. — 35) Zondek, B.: Die Hormon u. Ovarium, 1935. — 36) Whitehouse: Canada, M.A.J., 29: 585, 1933. — 37) 九嶋勝司: 産婦人科選書19集. — 38) 藤井久吉: 臨床日本医学, 8: 826, 1939.

(No. 968 昭33・1・9 受付)