

日本産科婦人科学会雑誌 24巻1号 7~13頁 1972年(昭47) 1月

Ethynodiol diacetate (SC-11800) の雌ラットの性周期 および下垂体内 Gonadotropin 含有量に及ぼす影響

Effects of Ethynodiol Diacetate (SC-11800) on the Estrous Cycle and
Pituitary Gonadotropin Contents in the Female Rat

東北大学医学部産科婦人科学教室

鈴木 雅 洲 Masakuni SUZUKI

新潟大学医学部産科婦人科学教室

広井 正彦 Masahiko HIROI

永松幹一郎 Mikiichiro NAGAMATSU

高橋 威 Takeshi TAKAHASHI

大竹 四郎 Shiro OHTAKE

布川 修 Osamu NUNOKAWA

寺島 隆夫 Takao TERAJIMA

川越慎之助 Shinnosuke KAWAGOE

概要 合成 gestagens として知られている ethynodiol diacetate (SC-11800) の作用機序を知るために、成熟雌ラットに種々の量の S C を投与し、性周期および下垂体内 gonadotropin 含有量を測定し、あわせて他の性 steroids, とくに, progesterone, estradiol benzoate, testosterone propionate の作用と比較検討した。

正常性周期においては下垂体 gonadotropin は周期的に変動する。とくに F S H, L H は発情前期に, prolactin は発情期にそれぞれ最高値を示した。

しかし, S C を投与すると 0.01mg/day のとき少量では性周期に変化を示さないが, 0.5mg/day, 1.0 mg/day のごとく投与量を増加するにつれ持続間期を示し, 下垂体 L H の著明な低下を認めた。

一方, progesterone, estradiol benzoate, testosterone propionate を投与すると, progesterone と testosterone 投与では持続間期を示し, estradiol は持続発情を示すようになる。これらの下垂体 gonadotropin 含有量は S C 投与時と著明に異なることにより, S C はこれらの steroids と作用機転に相異することが推察出来る。

緒 言

ここ数年来、経口的に内服して強力な黄体ホルモン作用を有する gestagens が数多く見出され、産婦人科の日常診療に用いられて来ている。

中でも ethynodiol diacetate (SC-11800, 以下 S C と略す) はその強力な黄体ホルモン作用により、産婦人科疾患に対して黄体ホルモン補充療法などに用いられているが、さらにこの薬剤の強力な黄体ホルモン作用により排卵抑制効果により経口避妊薬として用いられすぐれた臨床報告がなされて来ている。

最近になりこれらの経口避妊薬の副作用を減ず

るために、排卵抑制を行わずに避妊効果をあげる方法が試みられて来ている。著者らはすでに S C の雌ラットの性行動および妊孕性の面より S C のいわゆる Mini-pill としての可能性を示唆したが、ここでは S C の雌ラットの性周期に及ぼす影響と、下垂体内 gonadotropin 含有量より、この薬剤の作用機転を考察したので報告する。

実験材料および実験方法

体重 150g 以上の Wistar 系成熟雌ラット 176 匹を使用した。実験にさきだち、あらかじめ2週間、午前9~10時に膣スミアを観察し、規則正しい性周期を示すもののみを用いた。

SC, progesterone, estradiol benzoate, testosterone propionate をそれぞれゴマ油にて溶解させ, 1日1回, 連続21日間, 雌ラットの頸部より背部にかけて, 皮下に 0.1ml づつ注射した. 投与期間中にも同様に腔スミアを採取観察した. 最終投与の翌日, すなわち投与開始後22日目に断頭屠殺し, 直ちに下垂体を摘出し, 前葉のみをとり出した後に秤量し prolactin 測定に際してはメノー製の乳鉢にてすりつぶし, 下垂体1個に対して生食 0.4mlの割合にて溶解した. LH, FSHの測定に際しては, 下垂体前葉を冷却アセトン液中にプールし, 24時間後に acetone 液を交換し, 1-2日後にとり出して濾紙上にて乾燥し, さらにデシケーター中にて乾燥保存した. 測定の直前にメノー製の乳鉢にて細片し, 生理食塩水にて 3 mg/ml になるようにホモジェネートを作製した.

FSHの測定は Steelman-Pohley (1953) 法 Parlow (1964) 変法にて行なつた. すなわち, 23日令体重30~40gの Wistar 系幼若雌ラットを用いた. *in vitro* にて FSH標準物質(NIH-FSH-S₄) 50 μ g と 150 μ g または 50 μ g と 100 μ g とを HCG (gonadotropin-帝臓) 50IU と混じ, 下垂体ホモジェネートにも同様に HCG 50 IU を加え, 1回の注射量 0.5ml になるよう生理食塩水にて稀釈した. 午前9時と午後5時の1日2回, 3日間交互に大腿筋を通して皮下に出し, 漏出を防ぐようにして皮下に注射した. 初回注射より72時間後に両側卵巢を摘出し, 周囲組織を除去し濾紙上に軽圧して水分をとり, 直ちに torsion balance にて 0.1mgまで正確に重量を測定した. なお, 力価は

Bliss の法により換算した.

LHの測定には Parlow (1958) の卵巢アスコルビン酸(OAA)減少法 Mindline Bulter(1937)変法を用いた. すなわち, 生後24~26日令の Wistar 系幼若ラットを用い, PMS (serotropin 帝臓) 100 IUを前処置として与え, 64時間後に HCG 50 IUを注射し, HCG注射後7日目に左側の卵巢を摘出し, 卵巢重量を torsion balance にて秤量した. その後直ちに 2.5%メタリン酸液10ml と共にガラス homogenizer にてすりつぶし, その濾液中の OAA を日立製分光光度計 515m μ にて測定した. アスコルビン酸量は卵巢 100mg に対する量に換算し, 検体投与後の減少率より LHを測定した.

prolactinの測定は Nicoll (1967) 法によつた. すなわち, ハトの嚙嚢腺直上の左側皮内に検体 0.1ml を注射し, 右側は対照として生理的食塩水を注射した. 第1, 2日とも午前9時と午後4時の合計4回注射し, 第3日目の午後3時にハトを斬首屠殺し, 嚙嚢を直ちに摘出し, 吸引装置上に拡げ反応部の粘膜上皮をけづり 110°Cの乾燥器に24時間放置し, 乾燥重量を秤量した. prolactinの測定としては対照を引いた乾燥重量の増加をもつてした.

実験成績

1. 正常性周期における下垂体 gonadotropin 含有量

雌ラットの正常性周期における下垂体 gonadotropin 含有量は表1のごとく, FSHとLHは発情前期に, prolactinはむしろ発情期に最も多く,

表1 Pituitary gonadotropin contents during normal estrous cycles in the female rat.

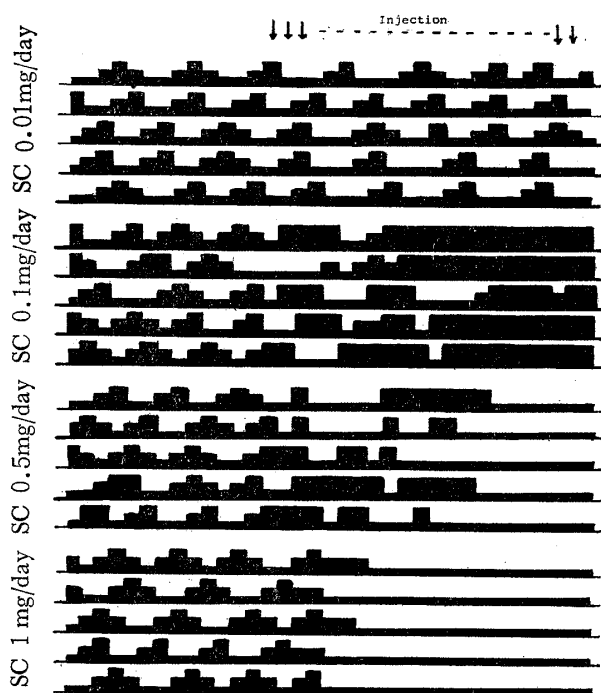
Cycle	Total rats used	FSH (ug/pit.)	LH (ug/pit.)	Prolactin (mu/pit.)
Diestrus	7	117.81 $\pm$ 4.60 *	9.45 $\pm$ 2.10	142.38 $\pm$ 3.30
Proestrus	6	134.82 $\pm$ 8.31	21.42 $\pm$ 4.20	200.34 $\pm$ 3.56
Estrus	8	108.99 $\pm$ 5.10	5.67 $\pm$ 2.11	513.45 $\pm$ 15.26
Metestrus	5	111.51 $\pm$ 5.00	11.97 $\pm$ 2.10	134.19 $\pm$ 5.48

* Mean $\pm$ S. E.

表2 Organ weights during normal estrous cycles in the female rat.

Cycle	No. of rat used	B.W. (g)	Pituitary (mg)	Thyroids (mg)	Ovaries (mg)	Adrenals (mg)	Uterus (mg)
Diestrus	7	176±6	6.2±0.3	11.3±0.2	48.0±3.2	52.2±2.3	270±9.7
Proestrus	6	174±6	6.5±0.4	12.0±0.3	53.9±5.0	51.7±1.9	282±21.3
Estrus	8	176±6	6.2±0.3	11.5±0.3	52.8±4.8	49.5±2.1	265±18.5
Metestrus	7	173±6	6.3±0.2	11.4±0.3	46.5±4.5	50.1±1.8	262±12.5

図1 Estrous cycles following injection of SC-11800. in the female rat.



周期的に変動する。とくに FSH は 17.3~21.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ の範囲に, LH は 0.9~3.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ の範囲に, prolactin は 21.3~81.5 mU/mg の範囲に変動する。

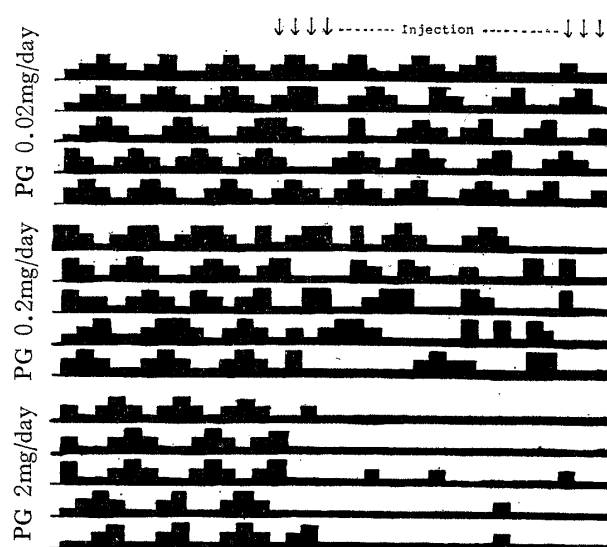
2. 正常性周期における内分泌臓器重量

雌ラットの内分泌臓器重量は表2のごとく各性周期中に著しい変動は示さないが, とくに子宮重量のみ発情前期に水腫状となり重量が増加することを認めた。

3. SC投与時の性周期

いろいろの量のSCを連日21日間投与すると, 0.01mg/day ではやや発情間期の出現が多くなるが著しい変化はない。しかし 0.1mg/day と投与

図2 Estrous cycles following injection of progesterone in the female rat.



量を増加すると発情性周期は抑制されて持続間期を示しがちになり, 0.5mg/day, 1.0mg/day とさらに投与量を増加するにつれて持続間期を示した(図1)。

4. progesterone 投与時の性周期

progesterone は0.02mg/dayの投与では性周期にほとんど変化を与えないが, 0.2mg/day では性周期がややみだれ, 2mg/day の投与では完全なる持続間期を示した(図2)。

5. estradiol benzoate 投与と性周期

estradiol benzoate 0.1 $\mu\text{g}/\text{day}$, 10 $\mu\text{g}/\text{day}$ の投与では性周期にほとんど変化はないが, 100 $\mu\text{g}/\text{day}$ 以上の投与では持続発情を示した(図3)。

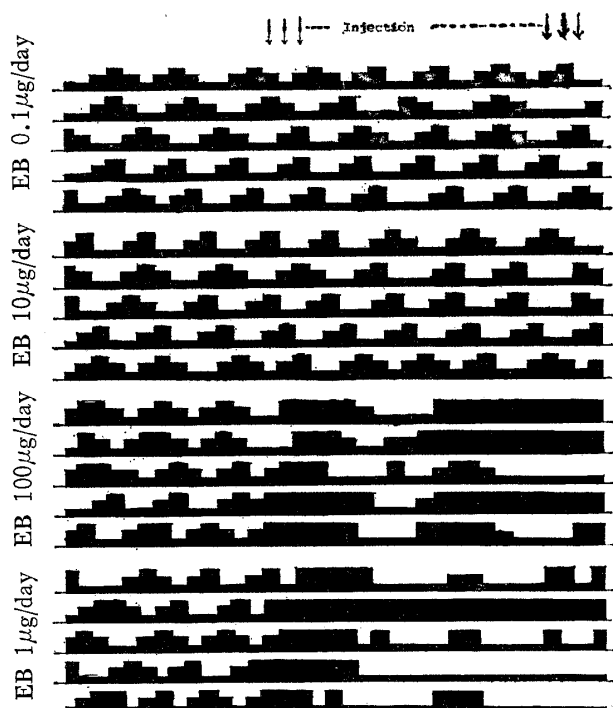
6. testosterone propionate 投与と性周期

testosterone propionate 0.01mg/day の投与では, 投与当初ではほとんど性周期はみだれないが,

表3 Gonadotropin contents of the anterior pituitary in female rats treated with steroids.

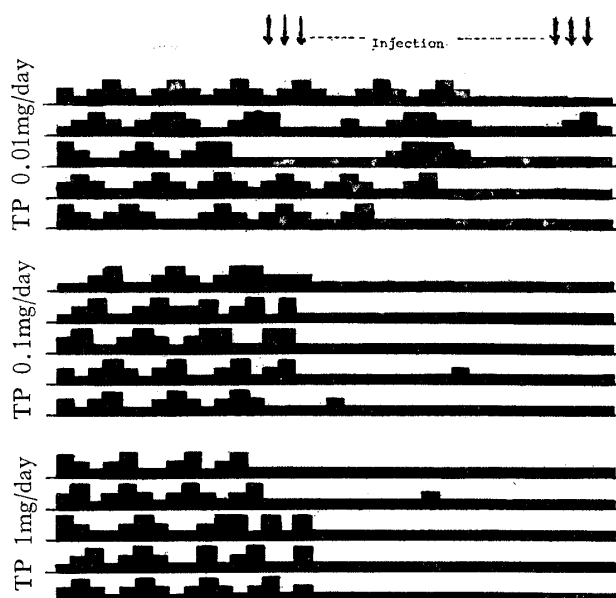
Gonadotropin contents		FSH		LH		Prolactin	
		Ovarian wt. (mg)	ug/pit.	OAAD (%)	ug/pit.	increase of crop sac dry weight (mg)	mU/pit.
Estrogen	1 μ g	42.2 $\pm$ 3.9	73.3 $\pm$ 9.1	30.0 $\pm$ 9.2	11.1 $\pm$ 3.1	15.8	189.3
	10 μ g	46.4 $\pm$ 3.7	95.3 $\pm$ 9.3	18.3 $\pm$ 5.4	6.8 $\pm$ 2.3	13.7	105.2
	100 μ g	52.60 $\pm$ 4.47	271.22 $\pm$ 33.	5.37 $\pm$ 3.83	2.29 $\pm$ 1.23	20.2	1030.7 $\pm$ 565.9
	1mg	49.0 $\pm$ 2.0	232.9 $\pm$ 11.4	7.2 $\pm$ 2.4	2.4 $\pm$ 0.8	10.4	31.7 $\pm$ 8.2
Progesterone	0.02mg	42.2 $\pm$ 3.30	96.9 $\pm$ 8.85	37.2 $\pm$ 4.6	7.4 $\pm$ 1.1		
	0.05mg	43.6 $\pm$ 3.8	100.5 $\pm$ 11.2	40.6 $\pm$ 5.6	10.9 $\pm$ 1.7		
	0.1mg	44.3 $\pm$ 0.7	100.7 $\pm$ 2.0	42.7 $\pm$ 2.8	10.7 $\pm$ 0.8		
	0.2mg	46.2 $\pm$ 4.4	118.0 $\pm$ 23.2	31.1 $\pm$ 2.0	10.5 $\pm$ 0.8	17.6	334.6 $\pm$ 73.7
	2.0mg	63.4 $\pm$ 4.9	132.7 $\pm$ 19.6	21.5 $\pm$ 4.8	6.3 $\pm$ 1.7	22.2	1137.
SC- 11800	0.01mg	43.5 $\pm$ 3.5	76.1 $\pm$ 3.7	17.4 $\pm$ 3.2	5.4 $\pm$ 1.8	16.2	211.8
	0.1mg	55.0 $\pm$ 5.3	190.9 $\pm$ 50.6	16.2 $\pm$ 1.7	4.93 $\pm$ 0.54	19.5	924.3 $\pm$ 537.2
	0.5mg	42.0 $\pm$ 3.6	144.6 $\pm$ 12.3	9.2 $\pm$ 0.2	2.22 $\pm$ 0.18	30.4	1120.5 $\pm$ 774.4
	1.0mg	47.5 $\pm$ 3.4	159.3 $\pm$ 15.6	9.3 $\pm$ 2.1	6.0 $\pm$ 2.5	19.8	580.6
TP	0.1mg	71.3 $\pm$ 3.3	192.8 $\pm$ 16.0	26.7 $\pm$ 2.4	6.0 $\pm$ 0.7		
	1.0mg	58.2 $\pm$ 3.0	152.7 $\pm$ 11.7	24.8 $\pm$ 2.5	5.9 $\pm$ 0.7		

図3 Estrous cycles following injection of estradiol benzoate in the female rat.



投与期間が長びくにつれて持続間期を示すようになる。しかし、さらに投与量を増加し、0.1mg/day, 1 mg/day の投与では投与まもなくより発情性周

図4 Estrous cycles following injection of testosterone propionate in the female rat.



期が抑制され、持続発情間期を示した(図4)。

7. Steroids 投与時の下垂体 gonadotropin 種々の steroids を21日間投与した時の下垂体 gonadotropin 含量は表3のごとくである。すなわち、estradiol benzoate はその投与量につれて下垂体 F S Hは著明に増加するが、L Hはむしろ減

図5 Body weight and organ weights of the female rats treated with SC 11800 for three weeks

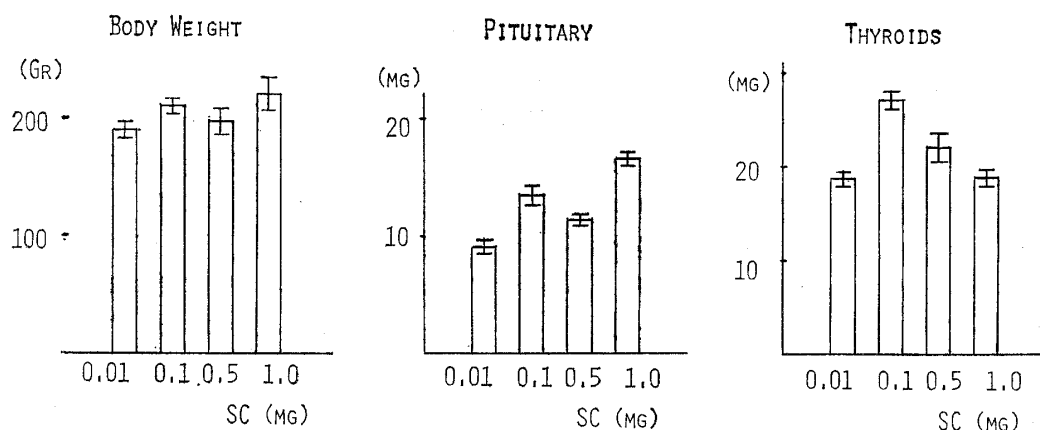
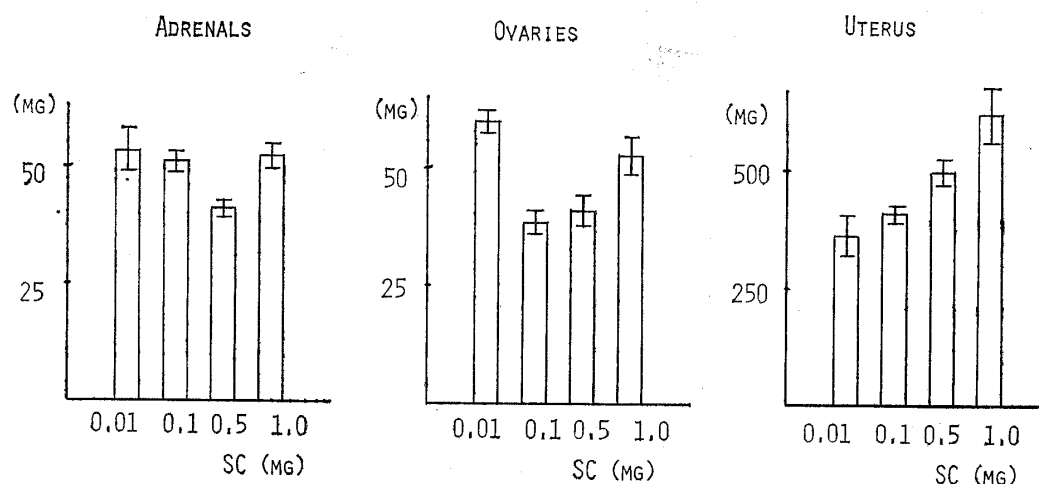


図6 Organ weights of the female rats treated with SC11800 for three weeks



少した. progesterone および testosterone 投与時ではF S Hは増加した. しかしS CはF S Hの増加は0.1mg/dayの方がより高く, LHもこの時に最高値を示した. prolactin もむしろ投与量につれて増加した.

8. 臓器重量

S C投与時の各臓器重量は図5, 6のごとく子宮重量のみ変化し, 他の臓器に変化はなかった.

考 按

19-norsteroids が Pincus et al. (1958) の経口避妊による広汎な実験以来注目され, 今日まで多くの薬剤が合成され, 経口避妊の目的でもかなり利用されて来ている.

一方, ethynodiol diacetateはその強力なgestagen作用により経口避妊の目的でも用いられている.

さらに近年, この薬剤がいわゆる Mini-pill としての効果を有するとの報告もあり, 著者らも前報にてその可能性を動物実験により確認した. 今回はその作用機序を推定するために, 種々のsteroidsを長期間投与し, その際の正常雌ラットの性周期の変化と下垂体 gonadotropin 含有量の変化を測定した.

S Cは無臭白色の結晶で油溶性であるがいろいろの作用を有すると報告されている. すなわち Elton (1961), Jones et al. (1966), 藤本ら(1966)は白色幼若雌家兎に数日間S Cを投与し, 子宮をとり出してから hematoxylin eosin 染色を行ない, 腺の増殖程度を McPhail scale で測定した. これによればS Cは progesterone 作用を有し, 投与量と反応との間に dose response の関係があると

いう。このように S C の progesterone 様作用は Clauberg 法や炭酸脱水素酵素反応でも確認されている。また、動物における子宮外傷による脱落膜形成作用は progesterone 活性を反応するといわれているが、藤本ら(1966)は雌マウスに S C 単独、SC+mestranol, mestranol を投与する3群にわけて検討したが、mestranol のみの投与では変化がないにもかかわらず S C のみに脱落膜形成作用が認められ、S C と mestranol の合剤でもその程度は同様であることより、S C が progesterone 様活性があることは明らかである。

このような S C は、また estrogen 様作用をも有している。すなわち藤本ら(1966)や徳田ら(1967)はマウス子宮重量法により S C の estrogen 様活性があると報告している。とくに徳田ら(1967)は去勢雌ラットを用いた Allen-Doisy 法でも S C 100 μ g 以上では腔スミアに角化細胞があらわれることより、estrogen 活性を有していることを認めている。

しかし、progesterone や estrogen と共に大量の S C を投与すると、anti-progesterone, anti-estrogen 作用を有しているといわれている。したがって S C の作用は生体内のホルモンの状態により種々の働きを示すと考えられる。

progesterone が家兎の交尾排卵を抑制することはすでに知られているが、藤本ら(1966)は家兎に経口的に S C を投与し、24時間後に雄と交尾しても排卵しないことを認めており、S C 1.0mg で40%, 3mg で60%, 10mg で80%に交尾排卵を抑制したとのべている。このように S C は自然排卵を抑制するが、正常性周期を有する雌ラットの性周期におよぼす影響に関する報告はない。

progesterone を正常性周期を有するラットに投与すると、偽妊娠がおこるといわれている。Everett (1963) は progesterone 2 mg, 5日間投与と10mg 1日間投与により偽妊娠を発現したと報告しており、Rothchild et al. (1963), 清家(1970)も種々の量の progesterone をいろいろの周期に投与して偽妊娠の発現率を測定している。著者らは S C 投与により偽妊娠の出現の有無については子

宮外傷などで測定しなかつたが、投与量が増加するにつれて正常排卵周期が抑制され、持続間期を示すようになることを見出したが、これは estrogen 投与時にはみられないことより、S C の progesterone 様効果によるものと思われる。

このように S C の作用をより明確にするために下垂体内の gonadotropin 含有量を測定した。

とくに progesterone を長期間投与すると持続間期を示し、下垂体前葉中の FSH, LH, prolactin に変化を認めるが、S C にも同様な作用が認められる。Drill (1963) は家兎に S C を投与すると、去勢後の下垂体 gonadotropin の蓄積が抑制されるのべている。S C 報告集によれば、成熟雌ラットを去勢した日より30日間毎日 S C を皮下投与し、31日目に屠殺して下垂体 LH を測定したが、下垂体1個あたりの LH 含有量は対照の74.8 μ g に比して S C 0.01mg/day では45~85, 0.05mg/day では40~70, 0.1mg/day では12~15 μ g, 0.5mg では5 μ g 以下と去勢による LH 増加を抑制する傾向を示している。

このように S C の去勢による下垂体 gonadotropin 増加抑制作用についてすでに報告があるが、正常性周期を有するラットに長期間投与して下垂体 FSH, LH, prolactin の3者を観察した報告はない。著者の成績によれば FSH は著明な変化はないが、LH は投与量が増加するにつれて減少し、むしろ prolactin はやや増加する傾向を認めた。この変化は progesterone を投与した時より著明に認められ、estrogen, testosterone 投与時と異つた反応を示すことより、S C が下垂体 gonadotropin 分泌に関与し、その作用も progesterone と異なるものと思われる。種々の合成 gestagen, とくに norethynodrel, norethindrone を投与すると下垂体内 gonadotropin 分泌を抑制し、このような前処置ラットに外的に gonadotropin を投与すると、卵巣に対する影響をブロックしないことより、これらの gestagen が卵巣レベルを介さず直接下垂体機能を抑制していると考えられており (Saunders, Drill(1958), Epstein, Kupperman, Cutler(1958)), S C もこれらの gestagen とほぼ同様な働きがあ

るものと思われる。

一方、このような事実は臨床的にも Stevens et al. (1965) により確かめられている。すなわち、婦人に S C 0.5, 1.0, 2.0mg を投与すると、排卵期にみられる L H の peak と、月経後にみられる F S H 上昇の peak を抑制したと報告している。とくに著者らが前報に報告したごとく、性周期も著明に変化せず、交尾も行なうが妊娠しない少量の S C 投与では、下垂体前葉の機能を著明に抑制しないことが判明した。

徳田ら (1967) は性周期の正しい雌ラットに S C 1 mg を30日間投与し、15日、30日、45日、60日にそれぞれ屠殺し、その24時間前に ^{32}P 2 μC を腹腔内に注射し、間脳下垂体などの ^{32}P uptake を relative specific activity にて検討したが、間脳下垂体での ^{32}P uptake は卵巢の重量の変化につれて低下することを認めた。このことは S C が間脳下垂体卵巢系に作用していることを示しているものである。しかし、Watanabe et al. (1968) が ^3H -label した S C を雌ラットに投与し、各臓器中へのとりこみを測定したが、とくに組織への選択性がなかつたと指摘しているように、如何なる機序で間脳下垂体卵巢系を抑制しているかが今後の問題といえよう。

S C はその estrogen 様あるいは progesterone 様作用により長期間投与すると当然臓器重量にも変化する。著者らの成績によれば子宮重量は S C の投与量に比して著明に増加したが卵巢重量はむしろ 0.1mg/day で低下することより、子宮重量増加は estrogenic な作用で説明出来るも、卵巢重量

はこれのみで説明出来ず、S C のもつ複雑な作用によるものと思われる。

本研究に御協力下さいました大日本製薬株式会社に感謝します。

文 献

- 藤本克郎 (1966): S C—11800, Mestranol および配合剤の内分泌学的研究, 大日本製薬編,
清家秀登 (1970): 日不妊会誌, 15: 143.
徳田源市, 村上 旭, 東山秀声, 溝口 直, 岩崎俊策, 小林仁也, 折野克彦 (1967): 日内分泌誌, 43: 905.
Drill, V.A. (1963): Excerpt. Med. Internat. Congress. Series No. 72, 427.
Elton, R.L. and Nutting, E.F. (1961): Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 107: 991.
Epstein, J.A., Kupperman, H.S. and Cutler, A. (1958): Ann. N.Y. Acad. Sci., 71: 560.
Everet, J.W. (1963): Nature, 198: 695.
Jones, R.C., Edgren, R.A. and Taylor, R.J. (1966): Steroids, 7: 551.
Mindlin, R.L. and Bulter, M. (1937): J. Biol. Chem. 122: 673.
Nicoll, C.S. (1967): Endocrinology, 80: 641.
Parlow, A.F. (1958): Fed. Proc., 17: 402.
Parlow, A.F. (1964): Endocrinology, 74: 138.
Pincus, G., Rock, J. and Garcia, C.R. (1958): Ann. N.Y. Acad. Sci., 71: 677.
Rothchild, I. and Schubert, R. (1963): Endocrinology 72: 969.
Saunders, F.J. and Drill, V.A. (1958): Ann. N.Y. Acad. Sci., 71: 516.
Steelman, S.L. and Pohley, F.M. (1953): Endocrinology, 53: 604.
Stevens, V.C., Vorys N., Besch, P.K. and Barry, R.D. (1965): Metabolism, 14: 327.
Watanabe, H., Saha, N.N. and Layne, D.S. (1968): Steroids, 11: 97.

(No. 2441 昭46・3・8 受付)