Actions of Androgen in Target in Tissues; The Effects of
Testosterone on Nucleic acid Synthesis and Relationship
Between the action and Testosterone Metabolism

K. SHIDA and J. SHIMAZAKI

Department of Urology, School of Medicine Gunma University, Maebashi

Many works on actions of androgen to rat ventral prostate demonstrated that testosterone increased RNA and protein synthesis promptly after administration of testosterone. Before RNA synthesis was increased by testosterone, the fluctuation of ATP was noticed in ventral prostate. Increase of DNA synthesis needed the lag time after testosterone injection, and this increase was temporary.

Rat ventral prostate possessed 5 α -reductase and 17-hydroxysteroid dehydrogenase of testosterone. The rate of 5 α -reduction of testosterone was influenced by endogenous and exogenous testosterone level, but the rate of 17-dehydrogenation of testosterone was constant in various experimental conditions (Endocrinol. Jap. 16, 453, 1969). The localization of 5 α -reductase of testosterone was investigated by different centrifugation. Microsomal fraction contained about half of the content of RNA and more than half of the whole ATPase activity, however, the activity of 5 α -reductase was appeared in some part. This results suggested some relationship between the presence of 5 α -reductase and nuclear constituents.

The activity of 5 α -reductase was found in human skin, and activity in scrotal skin was higher than that in abdominal part. This results suggested the importance of the role of 5 α -reduction of testosterone in the hormonal action. (See pp. 613~617)

シンポジウム I ホルモンの作用機序

1 ステロイド・核酸代謝の見地からみた アンドロゲンの作用機序の解明

群馬大学医学部泌尿器科教室

志 田 圭 三, 島 崎 淳

Estrogen の作用機序に関しては receptor の存在を初めとし、数多くの知見が発表されている。これに対して、androgen については近年迄殆んどみるべきものがなかった。1965年著者らは androgen の標的器官において 5α -reduction という特異のステロイド代謝がみられ、その結果生じた dihydro-testosterone (androstane-17 β -ol-3-one, 以下 d-T. と略記) が最も potent な androgen であり、これが核クロマチンに作用して核酸合成を促進するという見解を発表した。一方、欧米においては Williams-Ashman らを始めとし、核酸新合成に関する研究が次々に発表されており、androgen の作用機序に関する検討もようやく緒に着いたという状態である。本稿においては、著者らの仕事を中心に、内外の報告をまじえ、androgen 作用機序についての研究の現状を紹介する。

Testosterone の細胞内摂取

前立腺は去勢により萎縮し、androgen 投与により容易に恢復を示し、その形態並びに機能は、androgen 活性に応じ忠実に可逆性の変動を示している。以下のデータは androgen 依存性の最も高いラット前立腺腫瘍を対象とし、これに対する testosterone (以下 T. と略記) の効果について検討されたものである。

作用機序の第1階程として T. の前立腺への摂取がみられなければならない。去勢ラットに ^3H -T. を投与する時、前立腺においては、少なくとも5～6時間かなり高い放射活性の維持が観察されるが、勿論ラットに ^3H -estradiol を投与した場合子宮等にみられる摂取に比較するとはるかに低いものではある¹⁵⁾。estrogen に於ては既にこれと強い結合を示す特殊蛋白である receptor の存在が確認されているのに対し、androgen に於ては、receptor の存在がようやく検討されようとしている事実と符合し、両者の間に摂取を初めとし、作用機序に相違のある事が考えられる⁴⁾⁷⁾¹¹⁾。

細胞呼吸機構

摂取にひきつづきおこる第2階程として nucleo-

Fig. 1 Distribution of radioactivity in various tissues of male rat castrated 3 days prior to intramuscular injection of $50\mu\text{C}$ testosterone-1,2- ^3H

tide の変動が観察される。NAD, NADH にははつきりとした変化はみられぬが, T. 投与後1時間に於て ATP の一過性下降がみられている。NMN adenyltransferase 活性も変化を示すが, その増強は T. 投与後24時間から顕著となるものであり, さきの ATP の下降を NAD 増加に結びつけて考える事は反応時間のづれからして困難である⁵⁾。

Actinomycin D 投与によって次項の核酸合成は抑制をうけるが, ATP の変動は全く影響されず, しかも T. 投与後1時間にして増加がみられる事からして, 現在の処, 唯一の初期反応と考えられている。文献上 T. 投与後 *in vitro* incubation 時の組織 O₂ 消費亢進が短時間におこる事が知られている。この反応は, T. 投与後 10~30 時間にしてみとめられるもので, しかも時間的にはミトコンドリアの増加と一致している。むしろ, 次項の核酸合成に続発する変化と考えて差支えないようである。

Fig. 2 Early effects of testosterone on ATP, NAD and NADH levels in rat ventral prostate.

Adult male Sprague-Dawley strain. Orchietomy was performed 2 weeks before the intramuscular injection of 150 μ g of testosterone (aqueous suspension).

RNA 並びに蛋白新合成

Nucleotide の変化にひきつづき RNA 新合成が観察される。³²P 摂取を指標とすると, T. 投与後1時間にして僅かながら RNA 新合成促進がみられ, 3 時間, 6 時間と次第に増加の一途をたどつてゆく。

Fig. 3 Effects of testosterone administration on prostatic weight, DNA and RNA. Adult male Sprague-Dawley strain. On 7th day after castration, daily subcutaneous injections of 2mg of testosterone propionate (in oil) were initiated.

核内 RNA 量には変化はみられず, T. 投与後大きな増加を示すものは細胞質内の r-RNA 並びに s-RNA である. とくに r-RNA の増加が著しく, 塩基組成に於て, C+G rich のものが増加している⁶⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾.

RNA 合成に関する RNA polymerase は当然上記 RNA の増加と同一の傾向を示し, T. 投与後1時間にして活性の上昇がみられ, 爾後次第に増強し, 12時間後に最高に達している.

DNA の複製

RNA 合成に引きつづき, 36~48時間の lag-time をおいた後 DNA polymerase 活性は軽度の上昇をきたす. その後急激に上昇, 4日をピークとして爾後次第に下降するが, 7~10日後に於ても尚軽度の活性上昇状態が維持されている. DNA 量増加も DNA polymerase 活性上昇とはほぼ同傾向を示し, 2日後に軽度増加, 3~4日と顕著な増加を示す. しかしながらその後増加率は次第に減少し, 9~10日以後は polymerase 活性のかなり維持されているにもかかわらず, 全く増加を認めない.

Fig. 4 Effects of testosterone administration on prostatic DNA, DNA polymerase activity and incorporation of thymidine into DNA.

以上の記載は多量の T. を1回のみ投与した場合にみられる RNA, DNA の変動である. 連日 T. 投与を行なう時, RNA はますます増加の一途をたどつてゆく. これに対して, DNA, DNA polymerase 活性は1回投与時とはほぼ同一の消長経過を示す. かかる奇異な現象は, 正常細胞に於て, 増殖をコントロールする機構が存在する事を消長するものと考えられる⁶⁾.

ステロイド代謝

Estrogen の血中濃度は androgen のそれに比較するとはるかに低い. それにもかかわらず, 投与された estradiol が標的器官細胞内で代謝される事なく, 長時間保持されている. これに対して, 血中濃度の多い

androgen の標的器官に於ける保持, 摂取がよいことからして, androgen の場合は, 標的器官内で代謝される事, そのものが作用効果発現に結びつくという想定が生じてくる. 著者らは, このような見解のもとに T. の標的器官に於ける代謝について検討を行ない次の成果をえている¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾.

① T. は in vitro に於いて前立腺組織によりすみやかに代謝され, 多量の d-T. と少量の androst-4-ene-3, 17-dione (以下 Δ^4 -dione と略記) を生ずる. これに関与する酵素系としてそれぞれ 5 α -reductase, 17 β -ol-dehydrogenase が考えられる.

② 5 α -reductase は顆粒部分 (主に核) にあり, 補酵素として DPNH generating system を必要とし, その活性は生体内 androgen 活性乃至前立腺機能の消長と同一の推移を示している. これに対して, 17 β -ol-dehydrogenase は活性も低く, 体内 androgen 活性とは関係なく, 殆んど変動がみられていない.

③ 5 α -reductase は T. 投与により活性増強をみるが, この誘導現象は actinomycin D, cycloheximide 等核酸・蛋白合成阻剤併用にて一部抑制をうけるのみである.

以上の成果からして, 次の推論が下された. *体循環を介して前立腺に摂取された T. は, まづ核を中心とする顆粒部分において 5 α -reductase の働きをうけ d-T. にかわる. この d-T. が核クロマチンに作用して RNA, DNA 新合成に関与する”.

最近, 著者らの推論を肯定するが如き報告が 2, 3 みられている. Losnitzki らは前立腺の組織培養において, T. 添加時には上皮細胞の肥大, 分泌亢進像がみられるが, 増殖像は高濃度でも殆んど認められない. これに対して, d-T. 添加では微量でも肥大・分泌亢進とならんで, 増殖がおこっている事を報告している²⁾.

また, Liao, Wilson らは in vivo に T. を与えられた前立腺のステロイド分布を検討し, 核内に認められるものの大部分は d-T. であると報告している¹⁾³⁾.

これらの報告は再検討の余地があるにしても, 前立腺における potent な androgen は T. そのものでなく, 代謝された d-T. であるという推論には大きな誤りはないように考えられる.

(付)皮膚組織における 5 α -Reductase

皮膚は第 2 次性徴出現器官の一つであり, androgen 依存性が高い部位では当然 5 α -reductase の強い活性存在が考えられる. 4 症例について, 陰部と他部位との 5 α -reductase 活性を比較検討した.

17 β -ol-dehydrogenase は部位による差異は認められなかったが, 5 α -reductase 活性はいずれも陰部皮膚において高値を示した. この事実は, 副性器以外でも androgenic な生理効果出現には 5 α -reductase が関

Table 1. Activity of 5 α -reductase and 17 β -ol-dehydrogenase in human cutaneous tissues.

case		No 1. 12 yrs. ♂ (hermaphroditism)	No 2 25 yrs. ♂	No 3 30 yrs. ♂	No 4 38 yrs. ♂
5 α -reductase	scrotum		3.02	1.91	4.14
	glans	3.90			
	prepuce	6.50			
	mons pubis	5.40			
	lower abdomen	0.53	0.37	0.30	0.47
17 β -ol-dehydrogenase	scrotum		0.59	0.68	0.71
	glans	0.49			0.64
	prepuce				
	mons pubis	0.28			
	lower abdomen	0.31	0.44	0.41	0.59

Data are expressed as μ moles of testosterone converted per g of tissue per hour.

与している事を示すものである。14才の半陰陽症例は、睾丸性女性化症の疑いで紹介されてきたものである。陰部皮膚 5α -reductase 活性高値の所見と、乳房肥大がなく、陰核肥大がみられるという臨床所見と符合し、通常の男性半陰陽と診断されたものである。

残念ながら著者らは睾丸性男性化症について検討する機会がなかったが、最近 Wilson が本症では陰部皮膚でも 5α -reductase 活性が著しく低い事を報告している。従来、本症の発生病理に関し諸種の仮説が下されていたが、以上のデータから 5α -reductase の先天性欠亡を以て説明する事が妥当と考えられる¹⁶⁾。

文 献

- 1) ANDERSON, K.M. and S. LIAO : Nature, 219 : 277, (1968).
- 2) BAULIEU, E., I. LASNITZKI, and P. ROBET : Nature, 219 : 1155, (1968)
- 3) BRUCHOVSKY, N. and J.D. WILSON : J. Biol. Chem., 243 : 2012, (1968)
- 4) Ibid, 243 : 5953, (1968)
- 5) COFFEY, D.S., R.R. ICHINOSE, J. SHIMAZAKI and H.G. WILLIAMS-ASHMAN : Mol. Pharmacol., 4 : 580, (1968)
- 6) COFFEY, D.S., J. SHIMAZAKI and H.G. WILLIAMS-ASHMAN : Arch. Biochem. Biophys., 124 : 184, (1968)
- 7) FANG, S., K.M. ANDERSON and S. LIAO : J. Biol. Chem., 244 : 6584, (1969)
- 8) ITO, Y., H. YAMANAKA and K. SHIDA : Gunma J. Med. Sci., 15, 142, (1966)
- 9) LIAO, S. : J. Biol. Chem., 24 : 1236, (1965)
- 10) LIAO, S., R.W. BARTON and A.H. LIN : Endocrinol., 77 : 763, (1965)
- 11) MAINWARNING, W.I.P. : J. Endocr., 59 : 218, (1968)
- 12) SHIMAZAKI, J., H. KURIHARA, Y. ITO and K. SHIDA : Gunma J. Med. Sci., 14 : 313, 326. (1965)
- 13) SHIMAZAKI, J., I. MATSUSHITA, N. FURUYA, H. YAMANAKA and K. SHIDA : Endocrinol. japon., 16 : 453, (1969)
- 14) 志田 圭三, 島崎 淳, 松下 磐, 佐藤 仁, 富岡 進 : ホと臨床, 17 : 830, 昭44.
- 15) TVETER, K. and A. ATTRAMADAL : Acta. Endocrinol., 59 : 218, (1968)
- 16) WILSON, J.D. and J.D. WALKER : J. Clin. Invest., 48 : 371, (1969)