Testosteroneの代謝に及ぼす Anti-androgen の影響 (第II報) :

肝 Testosterone 5 α -, 5 β -Reductaseに及ぼす
各種薬物の効果とその調節因子について

↓ 帝国臓器製薬株式会社薬理研究部 ↓
田 中 節 子, 本 間 誠次郎, 神 戸 川 明

The Effects of Anti-androgenic Agents
on Metabolism of Testosterone: (II) Effects of Various Drugs
on Hepatic Testosterone 5 α - and 5 β -Reductase and its Regulating Factor

Setuko TANAKA, Seijiro HONMA and Akira KAMBEGAWA

The administration of chlormadinone acetate or estradiol benzoate to male rats causes a significant fall in plasma testosterone levels and an increase in the activity of hepatic testosterone A ring reduction. The metabolism of testosterone-4-¹⁴C was studied in the microsomal fraction and 105,000 $\times$ g supernatant fraction of the livers of normal male and hypophysectomized male rats that had been treated with chlormadinone acetate, estradiol benzoate, phenobarbital, or 3-methylcholanthrene.

100 mg/kg of chlormadinone acetate or 1 mg/kg of estradiol benzoate was administered to separate groups of male rats daily for 5 weeks and 9 days, respectively. The conversion of testosterone to 5 α -dihydrotestosterone in the hepatic microsome was increased approximately 2–3 times by the treatment of chlormadinone acetate or estradiol benzoate. However, the 5 β -reductase in 105,000 $\times$ g supernatant was little influenced by chlormadinone acetate and estradiol benzoate. When estradiol benzoate was administered to hypophysectomized male rats, 5 α -reductase activity was not induced. These findings indicate an essential role of the pituitary gland in the regulation of Δ^4 -5 α -reductase. On the other hand, when phenobarbital or 3-methylcholanthrene, inducer of the drug oxidizing enzymes in the liver, was administered to normal and hypophysectomized rats, there was a substantial depression of 5 α -reductase activity without any effects on 5 β -reductase. However, the microsome caused a 50% increase in aniline hydroxylation activity. The results showed that phenobarbital not only enhanced the oxidative drug metabolism in the liver as expected but also decreased hepatic Δ^4 -5 α -reductase activity to increase the ratio of 5 β /5 α -metabolites formed from testosterone-4-¹⁴C. Further, to test whether or not chlormadinone acetate induces the formation of the 5 α -reduced derivative of progesterone in the hepatic microsome, we studied the conversion of progesterone-4-¹⁴C to 5 α -dihydroprogesterone in vitro.

The hepatic microsome, which was bubbled through CO gas for 2 min, gave 5 α -dihydroprogesterone as the major metabolite of progesterone-4-¹⁴C. And the conversion of progesterone to 5 α -dihydroprogesterone was also enhanced approximately 3 times by the treatment of chlormadinone acetate (100 mg/kg) for 5 weeks.

The hepatic 5 α -reductase induced by chlormadinone acetate was able to hydrogenate not only testosterone, but also C₂₁- Δ^4 -3-oxosteroid such as progesterone. Based on these results, we discussed a regulation system of hepatic testosterone-5 α -reduction.

緒 言

Chlormadinone acetate を含め各種合成ゲスターゲン剤をヒトならびラットに大量投与すると血中 testosterone が著明に低下することは数多くの研究者により報告されており,^{3), 7), 17), 22), 26)} この低下の要因は精巣での testosterone 生合成の抑制と肝での testosterone の還元的代謝亢進に基づく^{1), 8), 15), 21)}と報告されている。そこで今回, testosterone の還元的代謝に関与する Δ^5 -5 α -reductase と Δ^5 -5 β -reductase に注目し, chlormadinone acetate がどのような機序で reductase を誘導したかについて検討すると同時に, Δ^5 -5 α -, Δ^5 -5 β -reductase の調節機序について estradiol benzoate や薬物代謝誘導剤を用いて明らかにしたので報告する。

実験材料と実験方法

I. 実験材料

1. 動物：一定の明暗条件（明7:00～19:00, 暗19:00～7:00）, 恒温（22 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C）, 恒湿（55 $\pm$ 5%）下で飼育した生後6週令（体重200～230g）の成熟ウィスター系ラットを使用した。
2. 薬物：chlormadinone acetate（m.p. 212～214 $^{\circ}$, 帝国臓器）を Tween 80 で懸濁させ 10mg / 100g 体重 / ml（100mg/kg）になるように調整した。また, estradiol benzoate（帝国臓器）はナタネ油に溶解させ 100 μ g / 100g 体重 / 0.1ml（1mg/kg）に, phenobarbital は生理食塩水に溶解させ 7.5mg / 100g 体重 / 0.1ml（75mg/kg）及び 3-methylcholanthrene（3-MC）はナタネ油により 2.5mg / 100g 体重 / 0.1ml（25mg/kg）になるようにそれぞれ調整した。
3. 放射性物質：testosterone-4-¹⁴C（specific activity 53.3mCi/mM, The Radiochemical Centre）と progesterone-4-¹⁴C（specific activity 53.0mCi/mM, The Radiochemical Centre）は使用前に薄層クロマトグラフィーで精製したのち使用した。

II. 実験方法

1. 機器による測定

1) 放射能の測定：測定は Aloka LSC-651 型液体シンチレーションカウンターを用いて行ない, シンチレーターとして 1,4-Bis〔2-(5-phenyloxazolyl)] benzene (POPOP) 0.1g, 2,5-Di-phenyloxazole (DPO) 4g をトルエン 1l に溶解したものを使用した。なお, 計数効率 は外部線源法で求めた。

2) 薄層クロマトグラフィー (TLC)：クロマトグラムは 2.5 時間 140 $^{\circ}$ で活性にした silica gel HF 254 薄層板を用いた。

3) ガスクロマトグラフィー (GLC) : 機器は水素炎イオン化検出器を備えた島津 GC-4 BM 型ガスクロマトグラフィーを用いた。充填剤は 3% SE-30 (chromosorb W (AW-DMCS), 60-80 mesh) でガラスカラム 2 m に充填した。カラム, 格出器, インジェクション温度は各々 220°, 250°, 250° であった。キャリアガスとして N₂ ガスを流速 60 ml/min で用いた。

4) マススペクトロメトリー (MS) : 日立 RMU-6 E 型スペクトロメーターを用い, 次の条件下で測定した。イオン化電圧: 70 eV, イオン加速電圧: 1800 V, イオン化温度: 200°。

5) ガスクロマトグラフィー-マススペクトロメトリー (GS-MS) : 上記のマススペクトロメトリー測定と同じ条件下で行ない, キャリアガスとしてアルゴンガスを流速 60 ml/min で用いた。

2. 投与量と投与方法: 上記ラットを 1 群 6 匹とし, chlormadinone acetate 100 mg/kg を 5 週間連続経口投与した。このとき対照として一群に 2% Tween 80 を相当量同様な期間経口投与した。estradiol benzoate (1 mg/kg) は 9 日間皮下投与し, 対照として一群にナタネ油を同様に投与した。また phenobarbital (75 mg/kg) は 3 日間あるいは 7 日間腹腔内に, 3-MC は 3 日間皮下投与し対照として生理食塩水を同様に投与した。他方, 下垂体摘出ラットは上記ラットを Gays の方法^{2), 6)} に準じ, 耳介から下垂体を摘出し 4 日間飼育した後, 一群 6 匹とし estradiol benzoate (1 mg/kg) を 9 日間連続皮下投与, 及び phenobarbital (75 mg/kg) を 8 日間腹腔内投与し, 対照として同摘出ラットにナタネ油を同様に投与した。

3. 肝における testosterone および progesterone の代謝実験法

1) 肝ミクロゾームおよび上清によるインキュベーション: それぞれの期間薬物投与したラットを瀉血したのち, ただちに肝臓を摘出した。その肝は 1.5 倍量の medium [$\frac{M}{15}$ -phosphate buffer (PH 7.4) - 0.1 M MgCl₂ - 0.154 M KCl, 混合比 4 : 1 : 7] でホモゲネートし, 0°, 8,000 × g で 20 分遠心し, その上清をさらに 105,000 × g で 60 分超遠心し得られたミクロゾーム画分は同 medium 9 ml を加え, さらに 60 分超遠心し洗浄したミクロゾームを得た。得られたミクロゾーム画分に medium 6 ml を加えて酵素液とした。一方, 上清についても, さらに 105,000 × g で 60 分超遠心しその上清を酵素液とした。

それぞれの酵素液 0.1 ml (ミクロゾームの場合 肝 10 mg に相当, 上清の場合 75 mg に相当) に NADPH 0.60 μM ならびに testosterone-4-¹⁴C あるいは progesterone-4-¹⁴C (いずれも 50 μg, 0.25 μCi) を加えて, medium で全量を 3 ml とし 37°, 60 分インキュベートしたのち 1 N HCl 0.5 ml で反応を停止させた。なお progesterone または phenobarbital 投与ラット肝を用い testosterone を基質にしたときは酵素液に CO を 2 分間通し酸化酵素を抑制した系を用いた。その反応液はクロロホルム 10 ml で 2 回抽出し, クロロホルム層は 5% 炭酸水素ナトリウム及び水で洗ったのち, 無水茫硝で脱水後溶媒は減圧下で留去した。

2) 肝における testosterone 代謝物の分離・同定・定量: ミクロゾームを用いた時の得られた抽出物の分離・同定は前報¹⁵⁾ に準じて行ない, 各代謝物の定量はラジオオートスキャンerにより得られた面積値から定量し蛋白 1 mg あたりの % として算出した。なお蛋白濃度の測定は Lowry²⁰⁾ の方法に準じた。また上清を用いた時の得られた抽出物は, 上記同様に抽出・分離したのちラジオオートスキャンerで放射能を検出し, Fig. 1 に示す画分 A に相当する箇所シリカゲルをかきとり, アセトン抽出を行なった。得られた抽出物は Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィー (C₆H₆: C₆H₁₂: MeOH, 7 : 2 : 1) で精製後 GC-MS で同定し, 定量はミクロゾームの実験と同様な方法で行なった。

Fig. 1. Typical scan of Thin-Layer Chromatogram of extract obtained from incubation of Testosterone-4- 14 C with rat liver supernatant.

Fig. 2. Pattern of extract of liver supernatant on Gas Chromatography-Mass spectra of 5 α - and 5 β -androstenediol, and peak I.

3) 肝における progesterone 代謝物の分離・同定・定量：得られた抽出物については 2)と同様に抽出・分離・精製したのち GC-MS で同定し，定量は 2)と同様に TLC で行なった。

4. アニリンの水酸化活性の測定

マイクロゾーム画分より得られた酵素液 1 ml に基質としてアニリン 465 μ g (1 μ M) 及び Glucose-6-phosphate (G-6-P) 15mg (57.6 μ M), G-6-P-dehydrogenase 4U, NADP 1.2mg (1.50 μ M) を加え，全量を 2.5 ml とし 37 $^{\circ}$ ，30 分インキュベート後 10% TCA 0.1 ml で反応を停止させた。その反応液に NaCl 1 g を加え，エーテル 20 ml で抽出しエーテル層を 1% phenol (in 0.1 N NaOH) 4 ml で振とうし，1 時間放置したのち水層を 650 nm の吸光度で測定した。

実験結果

I. 肝上清における testosterone 代謝物の同定

肝上清を用い testosterone とインキュベートするとただ 1 個の代謝物が得られ、その代謝物を GC-MS に付すと相対保持時間 (RT) 11.8 分で、標準品の 5 α -androstanediol (RT=12.9), 5 β -androstanediol (RT=11.8) の MS パターンを比較することにより 5 β -androstanediol であることが判明した。(Fig. 2)

II. 各薬物投与による肝の testosterone 代謝への影響

1. 肝ミクロゾームでの testosterone の代謝

Chlormadinone acetate 100mg/kg を 5 週間経口投与、及び estradiol benzoate 1mg/kg を 9 日間皮下投与したときの還元代謝産物の産生量を Table 1 に、またコントロールを 100% としたときの各代謝産物の比率を Fig. 3 に示した。この図と表に見られるように chlormadinone acetate の投与は Δ -3-keto が還元されて生成した 5 α -androstanediol 体の産生量をコントロールに比して約 3.5 倍、また 4 位のみ還元された 5 α -DHT 体の産生も約 3.0 倍の増加をきたした。この 5 α -reductase の誘導は Fig. 4 に示した如く chlormadinone acetate の投与量に依存して観察された。Estradiol benzoate についても chlormadinone acetate と同じく androstanediol は約 3.4 倍、5 α -DHT は約 3.7 倍の増加がそれぞれ観察された。他方、oxygenase 活性として 2 α -hydroxylase を測定すると、chlormadinone acetate 投与でコントロールの約 1/4 倍、estrogen 投与で約 1/5 倍へ抑制された。

Table 1. The conversion of testosterone to the several metabolites by the microsome or supernatant of liver from rats treated with chlormadinone acetate (CMA) or E₂ benzoate.

	product	5 weeks		9 days	
		control ¹	CMA	control ²	E ₂ benzoate
microsome	5 α -A diol	1.97 $\pm$ 0.26	6.86 $\pm$ 0.74**	3.19 $\pm$ 0.21	10.78 $\pm$ 0.70**
	5 α -DHT	3.35 $\pm$ 0.28	9.99 $\pm$ 2.22*	4.88 $\pm$ 0.67	17.86 $\pm$ 1.94**
	2 α -hydroxy T	8.63 $\pm$ 1.27	1.96 $\pm$ 0.32**	7.0 $\pm$ 0.50	1.25 $\pm$ 0.15**
supernatant	5 β -A diol	5.74 $\pm$ 0.34	7.05 $\pm$ 0.53	9.37 $\pm$ 0.93	8.25 $\pm$ 0.88

The rats were pretreated as follows.

Control¹: 1% Tween 80 (2 ml/day) was given orally for 5 weeks.

Control²: Rape oil (0.1 ml/100 g) was injected sc for 9 days.

CMA: Suspension of CMA (10 mg/100 g/ml) in the 1% Tween 80 was given orally for 5 weeks.

E₂ benzoate: Solution of E₂ benzoate (100 μ g/100 g/0.1 ml) dissolved in the rape oil was injected sc for 9 days. Testosterone-4-¹⁴C (50 μ g, 0.25 μ Ci) was incubated with rats liver in the presence of NADPH (0.60 μ M). The yields of products are expressed in the percentage of the precursor per milligram of protein. The value (means $\pm$ SE) listed are the means of 6 rats. Significantly different from mean of control group, *P<0.05, **P<0.001

Fig. 3. Activities of hepatic 5α- and 5β-Reductase in rat treated with CMA or Estradiol benzoate (E₂B).

Fig. 4. The relationship between dose of CMA and hepatic 5α-Reductase.

Phenobarbital 75mg/kgを3日間腹腔内投与または3-MC 25mg/kgを3日間皮下投与したラット肝のtestosteroneの還元および酸化代謝物の産生量とアニリンの水酸化能についてそれぞれ測定した値をTable 2, Fig. 5に示した。この結果, phenobarbital投与はアニリンの水酸化とtestosteroneの酸化的代謝を亢進させたが, 逆にtestosteroneの還元的代謝において5α-androstanediolと5α-DHTの生成を約50%, 74%それぞれ抑制した。3-MCについてもphenobarbitalと同様にandrostanediolは約40%, 5α-DHTは約56%の抑制が認められた。

2. 肝上清でのtestosteroneの代謝

Δ-5β-reductase活性を測定するために1と同様にchlormadinone acetate及びestradiol benzoate, phenobarbital等で同期間同用量で処理したラット肝上清を用いたときのそれぞれの還元代謝物の産生量をTable 1, 2, Fig. 3, 5に示した。この結果いずれの薬物投与においても上清における5β-androstandiolの生成はコントロールと差がなかった。

Table 2. The conversion of testosterone to the several metabolites by the microsome or supernatant of liver from rats treated with phenobarbital or 3-methylcholanthrene.

	product	control	phenobarbital	3-methylcholanthrene
microsome	5 α -A diol	0.75 $\pm$ 0.13	0.38 $\pm$ 0.03*	0.45 $\pm$ 0.04*
	5 α -DHT	1.64 $\pm$ 0.35	0.43 $\pm$ 0.05**	0.72 $\pm$ 0.07**
	16 α -hydroxy T	1.29 $\pm$ 0.21	2.16 $\pm$ 0.16*	1.26 $\pm$ 0.09
	aniline hydroxylation	0.50 $\pm$ 0.04	0.79 $\pm$ 0.08*	-
supernatant	5 β -A diol	5.74 $\pm$ 0.34	6.59 $\pm$ 0.74	-

The rats were pretreated as follows.

Control: Rape oil (0.1 ml/100 g) was injected sc for 3 days.

Phenobarbital: Solution of phenobarbital (75 μ g/100 g/0.1 ml) dissolved in the saline was injected ip for 3 days.

3-methylcholanthrene: Solution of 3-methylcholanthrene (25 μ g/100 g/0.1 ml) dissolved in the rape oil was injected sc 3 days. Testosterone-4-¹⁴C (50 μ g, 0.25 μ Ci) was incubated with rat liver in the presence of NADPH (0.60 μ M). The yields of products are expressed in the percentage of the precursor per milligram of protein.

Aniline hydroxylation is expressed in μ g of p-hydroxyaniline per milligram of protein. The value (means $\pm$ SE) listed are the means of 6 rats.

Significantly different from mean of control group, *P<0.05, **P<0.01

Fig. 5. Hepatic enzyme activities in rat treated with Estradiol-benzoate (E₂B) or Phenobarbital (Phenobar.).

Table 3. The conversion of testosterone to the several metabolites by the microsome or supernatant of liver from the hypophysectomized rats treated with E₂ benzoate or phenobarbital.

	product	Normal	Hypox. rat		
			control	E ₂ benzoate	phenobarbital
microsome	2 α -OH T	7.0 $\pm$ 0.50	3.03 $\pm$ 0.18	2.64 $\pm$ 0.37	5.10 $\pm$ 0.58**
	5 α -A diol	5.19 $\pm$ 0.21	9.66 $\pm$ 3.10	9.61 $\pm$ 1.64	n.d.
	5 α -DHT	4.88 $\pm$ 0.67	4.43 $\pm$ 1.53	4.03 $\pm$ 0.94	n.d.
	aniline hydroxylation	0.03 $\pm$ 0.00	0.04 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.01*
	5 β -A diol	9.37 $\pm$ 0.93	8.42 $\pm$ 0.33	9.29 $\pm$ 1.09	10.25 $\pm$ 0.74*

The rats were pretreated as follows.

Control: Rape oil (0.1 ml/100 g) was injected sc for 9 days.

E₂ benzoate: Solution of E₂ benzoate (100 μ g/100 g/0.1 ml) dissolved in the rape oil was injected sc for 9 days.

Phenobarbital: Solution of phenobarbital (75 μ g/100 g/0.1 ml) dissolved in the saline was injected ip for 8 days. Testosterone-4-¹⁴C (50 μ g, 0.25 μ Ci) was incubated with rat liver in the presence of NADPH (0.60 μ M).

The yields of products are expressed in percentage of the precursor per milligram of protein. Aniline hydroxylation is expressed in μ g of p-hydroxylaniline per milligram of protein. The value (means $\pm$ SE) listed are means of 6 rats.

Significantly different from mean of control group, *P<0.05, **P<0.01

III. 下垂体摘出ラット肝における testosterone の代謝

1. 各薬物投与による肝ミクロゾームと上清における testosterone の代謝

Estrogen, chlormadinone acetate 投与による Δ -5 α -reductase の誘発機序を解明する目的で, estradiol benzoate 及び phenobarbital を下垂体摘出ラットにそれぞれ9日間皮下投与, 8日間腹腔内投与したときの還元代謝物の割合とコントロールに対する比率及びアニリンの水酸化活性について Table 3, 及び Fig. 6 に示した。この結果, 正常ラットでは estradiol benzoate 投与により明らかに還元的代謝亢進がみられたが, 下垂体摘出ラットにおいては対照群とほぼ同じで還元酵素の誘導はほとんど生じなかったことから下垂体に還元的代謝調節因子の存在が強く示唆された。一方, 下垂体摘出ラットと正常ラットに phenobarbital を投与するとアニリンの水酸化活性はいずれも同程度認められたが, 5 α -reductase の著明な抑制も観察された。他方, 5 β -reductase 活性においては下垂体摘出動物に estrogen を投与しても対照群とほとんど差はなかったが, phenobarbital 投与では約24%の増加であった。

IV. 各種薬物投与による肝の progesterone 代謝への影響

CO を2分間バルブした肝ミクロゾームを用いて progesterone とインキュベートすると3つの代謝物が得られ, 還元体と推定される A 画分を GC-MS に付すと, 相対保持時間11.2分に認められたピークIIIは MS スペクトルより 5 α -pregnane-3,20-dione であることが判明した。(Fig. 7) ついで chlormadinone acetate 100mg/kg 5週間投与したラット肝ミクロゾームを用いて 5 α -pregnane-3,20-dione の生成を検討した結果, 対照群での産生量は 0.45 $\pm$ 0.06%/mg protein で chlormadinone acetate 投与群は 1.38 $\pm$ 0.27%/mg protein と約3倍の亢進が認められた。このことは progesterone も testosterone と同様に 5 α -reductase の基質になることを示している。

Fig. 6. Effect of treatment with Estradiol benzoate (E₂B) or Phenobarbital (Phenobar.) on hepatic enzyme activities in hypophysectomized rat.

Fig. 7. Pattern of extract of liver microsome on Gas Chromatography-Mass spectra of 5α- and 5β-dihydroprogesterone, and peak I.

考 察

Chlormadinone acetateやmedroxyprogesterone acetateなどをラットに投与すると肝 testosterone Δ-5α-reductaseが著明に誘導され、その誘導機序は副腎や性腺摘出でも認められることから副腎や性腺を介さないで作用したと報告されている^{1), 5)}。しかし、chlormadinone acetateを下垂体摘出ラットに投与するとほとんどΔ-5α-reductaseの誘導を生じないことからestrogenと同様にchlormadinone acetateは下垂体を介して肝のステロイド代謝酵素に影響したと思われる。

testosteroneは主に肝上清に存在するΔ-5β-reductaseによってetiocholanoloneへ、一方ミクロゾームのΔ-5α-reductaseによりandrosterone系へ代謝される経路がよく知られている¹⁰⁾。

chlormadinone acetate や estrogen を投与すると特異的にミクロゾームの Δ^4 -5 α -reductase のみが誘導され、5 β -reductase に何ら影響を及ぼさないことから、同じ還元酵素であっても代謝調節部位がお互いに異なることが判明した。特に下垂体摘出ラットに chlormadinone acetate や estrogen を投与すると 5 α -reductase の誘導が生じないことからこれら両ステロイドホルモンは直接肝に作用したのではなく間脳-下垂体系を介して作用したことを示している。近年、この 5 α -reductase の機序について estrogen を用いかなり研究されているが、必ずしも意見の一致が得られず、その因子は prolactin であると Gharof らが^{19, 24)} 報告しているが Gustaffson ら^{9), 12)} は testosterone の代謝における性差を認め、特にこの 5 α -reductase の調節因子が下垂体に存在する新たな物質即ち feminizing factor^{10), 11)} としていることからこの 5 α -reductase の調節については部位が明確にされたが、その因子の存在については不明である。しかし、estrogen や cyproterone acetate 投与で血中 prolactin 量が増大する^{13), 16)} ことから肝 5 α -reductase と prolactin の関係は誠に興味深い。

他方、この Δ^4 -5 α -reductase の誘発は testosterone のみならず progesterone や corticoid についてもまったく同様に認められることから特異性が少なく、また DHA や pregnenolone などの Δ^5 -steroid などは 5 α -reductase の基質にならないことなども Tamaoki ら²³⁾ により報告されている。しかし、5 β -reductase は chlormadinone acetate や estrogen 投与によりほとんど影響されないこと、また phenobarbital を下垂体摘出ラットに投与しても誘導されることなどから専ら 5 β -reductase は肝臓内で代謝調節されていることが示唆された。またこの Δ^4 -5 α -reductase の調節については肝のみならず卵巣や前立腺、副腎でも認められ、卵巣での調節因子は LH であることが明らかにされた。⁴⁾ しかし、前立腺については肝の代謝調節とは逆に estrogen によって 5 α -DHT の産生が著明に抑制されることから anti-androgen 作用メカニズムの一つと考えられておるが²⁵⁾、その調節因子については現在不明である。また副腎内でも新たに 5 α -reductase の調節機構が研究され、その調節因子は prolactin または growth hormone であると報告されている²⁷⁾。これらいずれの臓器においても 5 α -reductase の生理的役割はステロイドホルモンの生合成や蛋白合成などの調節と関連づけられるが、肝における 5 α -reductase の調節は単に、代謝、排泄などの一般的な役割でなく、より積極的に生理作用を伴っているのではないかと推察される。Kurtz ら¹⁸⁾ は肝 5 α -DHT が著明に肝の α_2 U-globulin の産生を刺激すると報告していることなどから肝の 5 α -reductase の調節と蛋白同化作用や他の生理作用との関連が注目され、今後その解明が待たれる次第である。

結 論

- (1) 正常ラットに chlormadinone acetate 100mg/kg を 5 週間または estradiol 3-benzoate 1mg/kg を 9 日間投与すると肝での testosterone から 5 α -DHT および androstanediol の変換を約 3~4 倍増加させた。しかし、105,000 $\times$ g 上清に存在する Δ^4 -5 β -reductase の活性においては両薬物投与ではほとんど変化なかった。これらのことから chlormadinone acetate および estradiol 3-benzoate は選択的に肝 5 α -reductase を誘導させた。
- (2) Chlormadinone acetate による肝 testosterone 5 α -reductase の誘導作用は 20mg/kg 以下ではほとんど認められず、50mg/kg で誘導傾向を示し 100mg/kg では有意に認めたことから chlormadinone acetate の用量依存性が見られた。
- (3) Estradiol 3-benzoate を下垂体摘出ラットに 9 日間投与してもほとんど 5 α -reductase 活性の増大が認められなかったことから estradiol 3-benzoate は肝に直接作用して 5 α -reductase を誘導

させたのではなくて下垂体を介して作用した。

(4) 肝薬物代謝酵素の代表的誘導剤である3-methylcholanthreneを投与した時、肝testosterone 5 α -reductaseは約 $\frac{1}{3}$ ～ $\frac{2}{3}$ まで抑制されたが5 β -reductaseにはなんら影響を与えず、ミクロゾームのアニリン水酸化活性のみを約1.6倍増加させた。また下垂体摘出ラットにphenobarbitalを投与しても正常ラットと同様に5 α -reductaseの抑制が認められた。

(5) COを2分通導した肝ミクロゾームを用いてprogesteroneとインキュベートするとただ1個の主代謝物すなわち5 α -dihydroxyprogesteroneの産生を認め、このものはchlormadinone acetate 100mg/kg 5週投与で3倍誘導された。

文 献

- 1) Altman, K., Gordon, G.G., Southren, A.L., Vittek, J. and Wilker, S.: Induction of hepatic testosterone A-ring reductase by medroxyprogesterone acetate. *Endocrinol.*, 90: 1252–1260, 1972.
- 2) Baetzner, P., Fehm, H.L., Voigt, K.H., Schleyer, M. and Pfeiffer, E.F.: Measurement of biological activity in various growth hormone preparation using a modified tibia test. *Acta Endocrinol.*, 70: 231–238, 1972.
- 3) Donald, R.A., Espiner, E.A., Cowles, R.J. and F azackerley, J.E.: The effect of cyproterone acetate on the plasma gonadotrophin response to gonadotrophin releasing hormone. *Acta Endocrinol.*, 81: 680–684, 1976.
- 4) Eckstein, B. and Lerner, N.: Changes in ovarian 5 α -steroid reductase and 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase activity produced by induction of first ovulation with gonadotropin: *Bioch. Biophys. Acta.*, 489: 143–149, 1977.
- 5) Frgačić-Čala, S., Kniewald, Z. and Milković, S.: The effects of ovariectomy and adrenalectomy on the 5 α -reduction of testosterone and corticosterone by female rat tissues in vitro. *J. Steroid Biochemistry*, 6: 1329–1332, 1975.
- 6) Gay, V.L.: A stereotaxic approach to transauricular hypophysectomy in the rat. *Endocrinol.*, 81: 1177–1179, 1967.
- 7) Gordon, G.G., Southren, A.L., Tochimoto, S., Olivo, J., Altman, K., Rand, J. and Lemberger, L.: Effect of medroxyprogesterone acetate (provera) on the metabolism and biological activity of testosterone. *J. Clin. Endocrinol.*, 30: 449–456, 1970.
- 8) Gordon, G.G., Altman, K., Southren, A.L. and Olivo, J.: Human hepatic testosterone A-ring reductase activity.: Effect of medroxyprogesterone acetate. *J. Clin. Endocrinol.*, 32: 457–461, 1971.
- 9) Gustafsson, J.-Å. and Stenberg, Å.: Masculinization of rat liver enzyme activities following hypophysectomy. *Endocrinol.*, 95: 891–896, 1974.
- 10) Gustafsson, J.-Å., Larsson, A., Skett, P. and Stenberg, Å.: Influence of a novel hypophyseal factor on steroid metabolism in cultured hypatoma cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 72, 4986–4990, 1975.
- 11) Gustafsson, J.-Å., Ingelman-Sundberg, M., Stenberg, Å. and Hökfelt, T.: Feminization of hepatic steroid metabolism in male rats following electrothermic lesion of the hypothalamus. *Endocrinol.*, 98: 922–926, 1976.
- 12) Gustafsson, J.-Å. and Stenberg, Å.: On the obligatory role of the hypophysis in sexual differentiation of hepatic metabolism in rats. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 73: 1462–1465, 1976.
- 13) Harper, M.E., Peeling, W.B., Cowley, T., Brownsey, B.G., Phillips, M.E.A., Greem, G., Fahmy, D.R. and Griffiths.

- K: Plasma steroid and protein hormone concentrations in patients with prostatic carcinoma, before and during oestrogen therapy. *Acta Endocrinol.*, 81: 409–426, 1976.
- 14) Heftmann, E. and Mosetfig, E.: *Biochemistry of steroid*. Reinhold Publishing Corporation, New York, 1960, p143–145.
- 15) 本間誠次郎, 柚木節子, 飯塚和雄, 神戸川明, 志田圭三: Testosterone の代謝と生合成に及ぼす Antiandrogen の影響 (第I報): chlormadinone acetate 投与による肝での Testosterone の代謝調節と睪丸における生合成。日内誌, 53: 703–718, 1977.
- 16) 岩動孝一郎, 石田 肇, 細井康男, 阿曾佳郎: 前立腺癌患者に対する cyproterone acetate 治療による血中ホルモン値の変動についての検討。日内誌, 53: 605, 1977.
- 17) Kjeld, J.M., Puah, C.M., Kaufman, B., Loizou, S., Vlotides, J. and Joplin, G.F.: Suppression of serum testosterone concentrations in men by an oral contraceptive preparation. *Brit. Medical J.*, 2: 1261, 1977.
- 18) Kurtz, D.T., Sippel, A.E., Ansah-Yiadom, R. and Feigelson, P.: Effects of sex hormones on the level of the messenger RNA for the rat hepatic protein α 2U globulin. *J. Biol. Chem.*, 251: 3594–3598, 1976.
- 19) Lax, E.R., Ghraf, R., Schriefers, H., Herrmann, M. and Petutschnigk, D.: Regulation of the activities of the enzymes involved in the metabolism of steroid hormones in rat liver. *Acta Endocrinol.*, 82: 774–784, 1976.
- 20) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the forin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265–275, 1951.
- 21) Micheal, R.P., Plant, T.M. and Wilson, M.I.: Preliminary studies on the effects of cyproterone acetate on sexual activity and testicular function in adult male rhesus monkeys. *Advances in the Bioscience*, 10: 197–208, 1972.
- 22) 西村隆一, 穂坂正彦, 間宮紀治, 公平昭男, 今野 稔, 高井修道: 前立腺ガンの酢酸クロルマジノン療法に関する研究。(1)テストステロン動態への影響。日内誌, 50: 510, 1974.
- 23) Nozu, K. and Tamaoki, B.: Characteristics of the nuclear and microsomal steroid Δ^4 -5 α -hydrogenase of the rat prostate. *Acta Endocrinol.*, 76: 608–624, 1974.
- 24) Schriefers, Keck, E., Klein, S. and Schröder, E.: Die Funktion der Hypophyse und des Hypophysenhormones Prolactin für die Aufrechterhaltung der Sexualspezifität des Stoffwechsels von Testosteron und 5 α -Dihydrotestosteron in Rat enleberschnitten. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 356: 1535–1543, 1975.
- 25) 志田圭三, 島崎 淳, 浦野悦明, 栗原 寛, 高橋薄朋, 古屋信雄, 田谷元祐: アンドロゲンの前立腺に対する作用機序に関する研究。第3編、合成ゲスターゲン剤の抗アンドロゲン効果 (附) chlormadine acetate による前立腺肥大症治療。日尿会誌, 63: 109–138, 1972.
- 26) Vermeulen, A., Dhondt, M., Thiery, M. and Vandekerckhove, D.: Plasma sex steroid and gonadotropin levels in control and silastic vaginal medroxyprogesterone acetate-impregnated ring cycles. *Fertil. Steril.*, 27: 773–779, 1976.
- 27) Witorsch, R.J. and Edwards, J.T.: Comparison of effects of prolactin and growth hormone on adrenal 5 α -reductase in hypophysectomized rats. *Proc. Soci. Exp. Biol. and Medicin.*, 151: 689–693, 1976.