ラット精巣テストステロンレベルに及ぼす prostaglandin D₂の効果

東京薬科大学 実習教育研究室

山 田 健 二

The Effect of Prostaglandin D₂ on Rat Testicular Testosterone Levels

Kenji YAMADA

Laboratory for Pharmaceutical Education,
Tokyo College of Pharmacy, Hachioji,
Tokyo, Japan

In vivo effects of prostaglandin D₂ (PGD₂) on rat testicular testosterone levels were studied. Testosterone levels were determined by HPLC after 6 hours of PGD₂ and of hCG. The testosterone levels were decreased by dose of 500 μ g/rat intraperitoneal injection. Testis testosterone levels were subsequently decreased by intratesticular injection with PGD₂ (1.0 μ g) into the right testis. The left testis received vehicle alone for control. The increase in testosterone levels induced by hCG (50, 100 and 500 unit/rat s.c.) were also inhibited by intraperitoneal injection of 500 μ g of PGD₂. On the other hand, intratesticular injection of hCG (0.01, 0.1 and 1.0 unit/testis) caused an increase in testosterone levels according to dose of hCG. The increase in testosterone levels by hCG was inhibited by simultaneous injection of PGD₂ (1.0 μ g/testis). These results suggest that PGD₂ may play an inhibitory action on LH action in androgen synthesis in the rat testis.

緒 言

プロスタグランジン (prostaglandin : PG) の生殖機能に果たす役割に関する研究は, 雌性動物の卵巣機能や子宮収縮について数多くの報告がなされ, すでに一部臨床の場で使用されている¹⁾²⁾⁹⁾¹¹⁾。一方, 雄性動物の精巣アンドロジェン代謝に及ぼす役割についての報告は比較的少ない³⁾⁸⁾。

以前の研究でラット精巣テストステロンレベルに対し PGF_{2 α} は作用を及ぼさないが PGE₂にはテストステロンレベルを低下させる作用があることを報告した¹⁵⁾。今回, 化学的には PGE₂の9位のケトン基と11位の水酸基が入れ変わった形の PGD₂を用いてラット精巣テストステロンレベルに及ぼす効果と外から投与した hCG の作用に対する PGD₂の効果との関連性について実験を行ったので報告する。

材料および方法

1. 実験動物

生後8～9週令のWistar系雄性ラットを埼玉実験動物より購入し一定の予備飼育を行った後実験に用いた。

2. 試薬

PGD₂はSigma社製を購入しアルコール溶液(10mg/ml)とした。使用にあたっては0.9%食塩水で希釈しアルコール最終濃度は0.1%とした。hCGは帝国臓器製Gonatropin(1000単位/ml)を用いた。

3. PGD₂の投与

1) 全身投与

PGD₂ 5, 50および500 μ gを各々ラット腹腔内に投与した。6時間後に断頭し精巢を摘出した。対照群には溶媒のみを投与した。

2) 精巢内投与

ラットの右側精巢内にPGD₂を0.1, 0.5および1.0 μ g/0.1ml投与した。6時間後に断頭し精巢を摘出した。なお左側精巢には0.1mlの溶媒のみを投与し対照とした。

3) hCG および PGD₂の併用投与

i) hCG 全身投与

50, 100および500単位を背部皮下に投与した。

ii) hCG 精巢内投与

0.01, 0.1および1.0単位を右側精巢に直接投与した。左側には食塩水を投与し対照とした。

iii) PGD₂併用投与

hCG 全身投与の場合にはPGD₂500 μ gをhCG 背部皮下投与直後に腹腔内に投与した。精巢内投与ではPGD₂1.0 μ gをhCG 溶液に混ぜて直接投与した。精巢の摘出は6時間後に行った。なお薬物の投与は午前9時とし断頭精巢摘出は午後3時とした。

4. 精巢中テストステロンの定量

精巢からのテストステロンの抽出、分離微量定量はすでに報告した高速液体クロマトグラフィー法を用いて行った¹⁴⁾。

5. 統計処理

得られた測定値の有意差検定はStudent t-testにより行った。

結 果

1. 精巢テストステロンレベルに対するPGD₂の作用

PGD₂ 5, 50および500 μ gを背部皮下に投与した6時間後の精巢中テストステロンレベルは5および50 μ g投与群では減少傾向を示したが有意な減少ではなかった。500 μ gの投与では対照群98.2 $\pm$ 7.46ng/gが25.4 $\pm$ 6.42ng/gと有意に減少した(Fig. 1 A)。

精巢内に直接PGD₂を0.1, 0.5, 1.0 μ gと投与した6時間後では対照精巢テストステロンレベル92.9 $\pm$ 9.88ng/gが0.1 μ g投与群で94.9 $\pm$ 4.21ng/g, 0.5 μ g投与群で対照95.4 $\pm$ 7.64ng/gが85.1 $\pm$ 7.57ng/gそして1.0 μ g投与群で対照90.8 $\pm$ 8.84ng/gが23.0 $\pm$ 3.15ng/gと有意に減少していた(Fig. 1 B)。

Fig. 1A, B. Effect of PGD₂ on rat testicular testosterone levels

Testicular testosterone levels were determined 6 hr after PGD₂. Data are presented in mean $\pm$ S.E. (n=5~8).

□ Vehicle, ▨ PGD₂ **P<0.01 vs vehicle

Fig. 2A, B. Effect of PGD₂ on hCG-induced testosterone production in rat testis

Testosterone levels were determined 6 hr after injection. Data are presented in mean $\pm$ S.E. (n=5~7).

□ hCG, ▨ hCG+PGD₂ **P<0.01 vs vehicle alone

◆P<0.05, ◆◆P<0.01 vs vehicle or hCG injection

2. 精巣テストステロンレベルに対する hCG の作用とこれに及ぼす PGD₂ の効果

ラット精巣テストステロンレベルに対する hCG の作用とこれに及ぼす PGD₂ の効果を投与後 6 時間で検討した結果を Fig. 2 A, 2 B に示した。

hCG50, 100, 500単位背部皮下投与は投与単位の増加にともなって著明に精巣テストステロンレベルを増加させた。このhCGの作用に対して同時に投与したPGD₂ (500 μ g/rat) は明らかにhCGのテストステロン増加作用を抑制していることが分かった (Fig. 2 A)。次にhCG, PGD₂を精巣内に直接投与した時の結果をFig. 2 Bに示す。精巣内にhCGの0.01, 0.1, 1.0単位を直接投与したところ単位の増加に従ってテストステロンレベルは上昇した。この増加に対してPGD₂1.0 μ g/testisの同時投与は明らかにテストステロンの増加を抑制していることが分かった。

考 察

プロスタグランジンの雌性動物生殖機能に果たす役割についての報告は枚挙にいとまがなく現在臨床応用されていることは衆知の事実である。反面雄性動物の生殖機能との関連を研究した報告は雌性動物に比べると比較的少ない。

PGD₂は、現在脳内⁴⁾¹²⁾に高濃度に存在することから主に睡眠⁵⁾との関係、また抗癌作用¹⁰⁾を持ち得ていることから癌治療の方面でも研究が行なわれている。一方、下垂体からの性腺刺激ホルモンの分泌に対する作用ではLHの分泌を雄性正常および去勢ラットともに分泌を増加させるとする報告¹³⁾とこれを抑制するという報告⁶⁾があり成績がかならずしも一致していない。今回行った研究ではラット精巣アンドロジェン代謝に対してPGD₂がいかなる関わりを持つのか特にLHの作用の強いhCGとの関連を中心に実験を行ったところhCG, PGD₂の全身投与によって、まず精巣テストステロンレベルのhCGによる増加がPGD₂ (500 μ g/rat) により著明に抑制されたこと、次いで両者の精巣内直接投与によっても明らかにhCGによるテストステロン増加が抑制され、テストステロンレベルが有意に減少することからhCGのアンドロジェン生合成促進効果を抑制していることが分かった。このことはhCGが精巣において作用を発現する際、adenylate cyclase および17 α -hydroxylaseなどのアンドロジェン生合成を促進する酵素系に対してPGD₂が抑制的に働いたことを意味しているものと思われ越原ら⁷⁾のいうDNA生合成をPGD₂が直接抑制するという報告とも関係あるものと思われる。

一方アンドロジェン生合成に対して精巣血流量の増減も重要な因子の一つと考えられる。データとしては示さなかったが精巣血流量の変化を間接的に知るためにラットの腹腔内に投与したエバンスブルーの精巣への移動率で調べたところhCG投与で色素の移動も増加したがこの増加はPGD₂では抑制されなかった。従って精巣を栄養する血流量を減少させることによるテストステロン生合成の抑制とは関係なくPGD₂はLHの精巣内アンドロジェン生合成促進作用を抑制する方向で働くプロスタグランジンの一つであると考えられた。

結 語

ラット精巣テストステロンレベルに対するhCGの作用とこれに及ぼすPGD₂の作用を研究し次の結果を得た。

- 1) 正常雄性ラットにPGD₂を用量段階的に投与すると500 μ g/rat皮下投与で精巣テストステロンレベルは有意に減少した。
- 2) 精巣に直接PGD₂を投与すると1.0 μ g投与で有意にテストステロンレベルが減少した。
- 3) hCG全身投与により増加するテストステロンレベルはPGD₂500 μ g全身投与によって抑制された。

4) hCG 精巣直接投与によって引き起こされるテストステロンレベルの増加は PGD₂ 1.0 μ g/testis の同時投与によって抑制された。

以上の結果より PGD₂ は hCG の持つアンドロジェン生合成促進効果に対して抑制作用を持ち得ていることが分かった。

謝辞

稿を終るに臨み、御指導、御助言を賜りました恩師元東京薬科大学相澤義雄教授に深謝いたします。尚、本論文の要旨は第73回日本薬理学会関東部会において発表した。

文 献

- 1) Fioretti, P., Fruzzetti, F., Ricci, C., Vettori, C., Sardi, A., Musatti, C., Gargiulo, T. and Melis, G.B.: Vaginal treatment with a prostaglandin F_{2 α} derivative (Alfaprostal) for inducing labor in pregnancy at term. *Prostaglandins*, 34: 927–937, 1987.
- 2) Gordon, Wright, A.P. and Elder, M.G.: The systemic absorption from the vagina of PGE₂ administered for induction of labour. *Prostaglandins*, 18: 153–160, 1979.
- 3) Grotjan, H.E., Heindel, J.J. and Steinberger, E.: Prostaglandin inhibition of testosterone production induced by luteinizing hormone, dibutyryl cyclic AMP or 3-isobutyl-1-methyl xanthine in dispersed rat testicular interstitial cells. *Steroids*, 32: 307–322, 1978.
- 4) Hiroshima, O., Hayashi, H., Ito, S. and Hayaishi, O.: Basal level of prostaglandin D₂ in rat brain by a solid-phase enzyme immunoassay. *Prostaglandins*, 32: 63–80, 1986.
- 5) Inoue, S., Honda, K., Komada, Y., Uchizono, K., Ueno, R. and Hayaishi, O.: Differential sleep-promoting effects of five sleep substances nocturnally infused in unrestrained rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 6240–6244, 1984.
- 6) Kinoshita, F., Nakai, Y., Katakami, H., Imura, H., Shimizu, T. and Hayaishi, O.: Suppressive effect of prostaglandin (PG)D₂ on pulsatile luteinizing hormone release in conscious castrated rats. *Endocrinology*, 110: 2207–2209, 1982.
- 7) Koshihara, Y. and Kawamura, M.: Inhibitory effect of prostaglandin D₂ on DNA synthesis in nuclei. *Prostaglandins Leukotrienes Med.*, 23: 253–265, 1986.
- 8) Madhubala, R. and Reddy, P.R.K.: Effect of prostaglandins on ornithine decarboxylase activity in the testis of immature rat. *Prostaglandins*, 20: 503–513, 1980.
- 9) Mellows, H.J., Sims, C.D. and Craft, I.L.: PGE₂ in tylose for induction of labour. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 70: 537–538, 1977.
- 10) 中川善雄, 鈴木憲三, 上田 聖, 平川公義, 西野輔翼: マウスグリオーマに対するプロスタグランジン D₂の効果。癌と化学療法。13: 2074–2081, 1986.
- 11) Shepherd, J., Pearce, J.M.O. and Simms, C.D.: Induction of labour using PGE₂ pessaries. *Br. Med. J.*, 2: 108–110, 1979.
- 12) Shimizu, T., Yamamoto, S. and Hayashi, O.: Purification and properties of prostaglandin D synthetase from rat brain. *J. Biol. Chem.*, 254: 5222–5228, 1979.
- 13) Wogensen, L. and Warberg, J.: Effect of prostaglandin D₂ on the release of luteinizing hormone and prolactin in castrated and intact male rats. *Acta Endocrinologica*, 112: 180–184, 1986.
- 14) Yamada, K. and Aizawa, Y.: A simple method for testosterone measurement by high-performance liquid chromatography-UV

spectrophotometer. J. Pharmacol. Methods, 10: 167–173, 1983. 15) Yamada, K., Ohkura, N. and Satoh, T.: Reduction of testicular testosterone levels in rats by prostaglandin E₂. Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol., 47: 153–156, 1985.

(受付日：'88. 6. 27)