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1編 前立腺組織における Testosterone 代謝, 特に 5 α -Reduction を中心とした分子生物学的解明

志	田	圭	三
島	崎		淳
浦	野	悦	郎
栗	原		寛
高	橋	溥	朋
古	谷	信	雄
田	谷	元	祐

群馬大学医学部泌尿器科教室

STUDIES ON MECHANISMS OF THE ACTION OF ANDROGENS ON PROSTATE: (1ST REPORT) REDUCTION AND ITS ROLE ON THE ACTION OF TESTOSTERONE TO PROSTATE:

Keizo Shida, Jun Shimazaki, Etsuro Urano, Hiroshi Kurihara, Hirotomo
Takahashi, Nobuo Furuya and Motosuke Taya
Department of Urology, School of Medicine, Gunma University, Maebashi

Testosterone metabolism in rat ventral prostate was investigated *in vitro* and the following results were obtained.

1. The rat ventral prostate showed metabolic conversion of 5 α -reduction and 17 β -ol-dehydrogenation from testosterone, and the former reaction seemed to be more potent than the latter.
2. The activity of 5 α -reductase was observed in nuclear fraction and, in lesser amount, in microsomal fraction. The reaction was accelerated by addition of NADPH.
3. The activity of 5 α -reductase in ventral prostate increased gradually after birth and reached a maximum level in about 14 weeks. After that, the activity showed a declining tendency on aging. Castration decreased the activity of 5 α -reductase, while testosterone administration to castrated rats restored the activity of the enzyme.
4. Testosterone was promptly transferred from the medium to prostatic tissues *in vitro*. About a half of incorporated testosterone was identified as 5 α -dihydro-testosterone. In the nucleus, only 1% of whole incorporated steroid was demonstrated, however, analysis of the steroids in the nucleus showed that almost all of the materials was 5 α -dihydro-testosterone.

1. 緒 言

雌性々機能ないし雄性副性器を論ずるに当り, アンドロゲン作用機序の解明は欠くことのできない重要事項である。しかしながら, エストロゲンとことなり, アンドロゲンについては, 従来から研究も少なく, 作用機序

の本態は, 長い間神秘のベールにつつまれたままであった⁴⁵⁾。

エストロゲンについては, 標的臓器における摂取, 保持並びに爾後の核酸代謝に関する研究がすすめられ, 細胞内にとりこまれた estradiol-17 β が特殊蛋白レセプター

との結合を介し、代謝されることなく、長時間細胞内にとどまり核酸合成に関与していることが明らかにされている¹⁷⁾。

アンドロゲンはエストロゲンにくらべ、分泌生成量のはるかに多く、かつ体液中濃度も高いにもかかわらず、標的臓器における摂取・保持が小である。この事実から、アンドロゲンでは、エストロゲンとことなつた作用機序の存在することが考えられる。著者らはtestosteroneが標的臓器にとりこまれた後代謝されることに生理的意義が存在するとの見解のもとに、1965年以来、前立腺におけるtestosterone代謝を中心に仕事をすすめてきた。そして、testosterone→5 α -dihydrotestosteroneの代謝がアンドロゲン作用機序の本態に重要な役割を演じていること、換言すれば、testosteroneはpre-hormoneであり、5 α -dihydrotestosteroneに代謝されて始めてホルモン効果を発揮するものであることを明らかにした^{44) 47) 48) 50) 51) ~ 58)}。

本研究は、現在なお、進展の途上にあり、未完成なものであるが、アンドロゲン作用機序分子生物学的解明にいささかなりとも、寄与し得たので、その概要について報告する次第である。

II. 前立腺における Testosterone とりこみ(in vivo) についての実験

A. 実験目的

性ステロイドが標的臓器に作用する第1階程の現象として、当該臓器へのとりこみが挙げられる。in vivoにtestosteroneを与えた時、前立腺にどの程度の摂取・保持がみられるかを調らべ、子宮内膜におけるestradiol-17 β 摂取・保持との比較検討を行なうため本実験を行なつた。

B. 実験方法並びに試料

去勢雄ラット腹腔内に³H-testosteroneを投与。時間経過に従い血液並びに肝、腎、筋、前立腺腹葉をとり、各々臓器内にとりこまれている放射活性を液体シンチレーション・カウンターにて計測を行なつた。実験方法の細目は次の如くである。

(1) 動物

本実験をふくめ、以下すべての実験において、Wistar系雄ラットを使用した。恒温環境下、標準固形飼料にて飼育。適時、断頭、汚血後必要臓器をとり検索に供した。前立腺腹葉等の小臓器については数頭分を合して1サンプルとし、爾後の操作を行なつた。

なお、本実験では、体重250～300gの成熟ラットを

使用、去勢後3日目に実験に供した。

(2) 試料作製

Testosterone-1,2-³H(比活性42.3 C/mM, New England Nuclear, Corp.)をエタノール加生理的食塩水に溶解、1頭当り50 μ C(約0.8 m μ moles)を腹腔内注射にて投与。20分、40分、60分、2時間、8時間後に殺し、前立腺腹葉、肝、腎、腹直筋並びに血液サンプル採取。各々50mg、2サンプル以上をとり検体とした。

(3) 試薬

本実験をふくめ以後すべての実験において、標識ステロイドはすべてペーパー・クロマトにて精製後使用。なお、一般試薬は成書の条件のものを用いた。

(4) 測定

採取せる組織片並びに血液は乾燥後少量の過塩素酸および過酸化水素を加え、加温処理を行ない、その後セルソルブを適量添加、PPO含有トルエン系にて放射活性を液体シンチレーション・カウンターを用いて測定。大部分の測定においては、測定後既知量のトルエン-³Hを加えて(Quenchingを補正した)以下の実験にあつては、液体シンチレーション・カウンターによる測定条件等の記載は省略)。

C. 実験成績

血液では腹腔内投与後1時間値をピークとし、爾後漸減の傾向を示している。肝、腎等代謝ないし排泄に関与する臓器は高い放射活性を示すが、筋では全経過を通じ、その放射活性は血漿のそれよりはるかに下廻り、摂取ないし保持の殆んどみとめられないことを示している。これに対し、前立腺では、20分後既に血漿の1.5倍の値を示し、その後急カーブをえがいて増加。2時間でピークとなり、血漿の2倍値に達している。その後徐々に放射活性は低下するが、8時間後でもなお血漿の3倍近くの値を維持している。以上のデータは、さきに報告されたTveter & Attramadal (1968)⁶³⁾の成績にほぼ符合するものであり、ラット前立腺腹葉がin vivoに与えられたtestosterone-³Hを選択的に摂取・保持する能力を有することを示すものである。(図1)

(D) 小括

エストロゲンについては既にJensen & Jacobson (1962)²⁴⁾の詳細にわたる研究がありestradiol-17 β が子宮内膜に多量に摂取され、かつ、長時間に亘り保持されることが確認されている。すなわち、彼等の報告によると、標識estradiol-17 β 腹腔内投与時、子宮内膜における放射活性は急速な増加を示す。ピークは90分後で血漿

の20倍前後の値に達し、6時間後にあつてもなお血漿の10倍以上の値を示している。

前項で示す如く、前立腺においても標識 testosterone の明らかなとりこみがみられるが、estradiol に対する子宮内膜のそれと比較するとき、その摂取・保持ははるかにおとつている⁴⁸⁾。

Ⅲ. ラット前立腺腹葉における Testosterone 代謝 (in vitro) についての実験

A. 実験目的

前項の実験にて、in vivo に投与された testosterone がラット前立腺腹葉に選択的にとりこまれることが明らかにされた。とりこまれた testosterone が生理効果を発揮するに当り、子宮内膜における estradiol-17 β のように、代謝されることなく前立腺組織内にとどまっているものであるか、或いはまた、作用過程において特異の代謝をうけるものであるかを検討する目的で、代謝実験がなされた。

B. 実験方法並びに試料

Medium に前立腺腹葉組織と標識 testosterone を加えて in vitro incubation 施行。一定時間後に medium からステロイド抽出。クロマト操作にてステロイドを分離し、加えられた testosterone が前立腺組織によつてどのようなステロイドに代謝されたかを検討した。

(1) 動物並びに試料作製

体重 200～250 g 成熟雄ラットを使用。前立腺腹葉を鋭にて細切し、0.25M sucrose を加え、glass-homogenizer にてホモジネート作製。対比のため、ラット精囊、背筋、腎並びに雑犬前立腺、手術時にえられたヒト前立腺組織についても同様の処置を行ない、実験に供した。

(2) 培養

Nicotinamide 30 mM, sod. fumarate 2.5mM, グルコース 2 mg/ml をふくむ Krebs-Ringer phosphate 液 10 ml に組織 1 g, testosterone-4-¹⁴C (比活性 29.2 mc/mM, 第一化学並びに Radiochemical Centre, England) 1 μ C (34.3m μ moles) 添加, 37°C, O₂ phase, 毎分 120 回持続振盪の条件で 3 時間培養。

(3) ステロイド抽出

Medium はエタノールで除蛋白後 CH₂Cl₂ 抽出。Na₂HCO₃ 液および蒸留水にて洗浄後蒸発乾涸。カラムクロマト (Goldzieherら, 1961)¹⁶⁾ 操作後, Iigroin-propylene-glycol (Savard)⁴⁰⁾ 並びに Bush の A,B⁷⁾ システムにて Whatman No1 上に展開。strip-feeder scanner にて放射活性を検出し、その部位よりメタノール抽出を行な

い、gas flow counter にて放射活性を計量。なお一部の実験に於ては数回再結晶操作をくりかえし比活性が一定になる時点で計算した。

同定はペーパー・クロマト上の R_f (アセチル化等の操作をふくめ) 並びに isotope dilution method によつ

図1 成熟雄ラット各臓器における Testosterone のとりこみ-去勢後3日, testosterone-³H (50 μ C) 腹腔内投後の各臓器における放射活性の経時変化

図2 ラット各臓器 (前立腺腹葉・精囊・筋・腎), ヒト及びビヌ前立腺の in vitro incubation における Testosterone-¹⁴C 代謝パターンの比較—ペーパー・クロマトグラム (Bush B) の放射活性スキャンニング

備考: 培養条件は表1に同じ

- I ... origin に近い未同定ステロイド
- II ... 未代謝 testosterone
- III ... 5 α -dihydro-testosterone
- IV ... androst-4-ene-3, 17-dione
- V ... 5 α -androstane-3, 17-dione
- VI ... solvent front に近い未同定ステロイド

表1 前立腺 in vitro incubation における Testosterone-¹⁴C の代謝—各種動物間の比較

	例数	代謝産物 (c.p.m.)		
		5 α -dihydro-testosterone	androst-4-ene-3, 17-dione	5 α -andro-stane-3, 17-dione
ラット	3	216,274	27,370	33,440
ヒト	2	69,886	35,518	21,599
イヌ	4	15,598	29,738	(—)

備考：細切組織 1 g (ラットでは 0.5 g), testosterone-¹⁴C 1 μ C (34.3 μ moles) を nicotinamide 30 mM, sod. fumarate 2.5 mM, グルコース 2 mg/ml. 含有 Krebs-Ringer phosphate 10 ml に加え, 37°C, O₂ phase, 毎分120回持続振盪条件にて3時間培養. CH₂Cl₂ 抽出, ペーパー・クロマト後 gas flow counter にて計測.

たが、一部については微量赤外分光分析をも併用した。

C. 実験成績

ラット前立腺サンプルではペーパー・クロマト上5コの放射活性のピークがみられた。同定の結果 origin に近いピークⅡは未代謝の testosterone, ピークⅢは 5 α -dihydro-testosterone, ピークⅣは androst-4-ene-3, 17-dione, ピークⅤは, androstane-3, 17-dione と確認された (origin に一致するピークⅠ, front に近いピークⅥは今回検索の対象としなかつた)

細切組織, ホモジネートともに代謝については同一パターンであり, 代謝生成物としては 5 α -dihydro-testosterone が大部分をしめ, androst-4-ene-3, 17-dione は僅かであった。精嚢に於ても活性はややおとるが前立腺と同様な代謝パターンがみられた。これに対し, 筋, 腎にあつては, androst-4-ene-3, 17-dione への代謝が大部分をしめ, 5 α -dihydro-testosterone への代謝はきわめて僅かであった(図2)。

なお, ヒトではやや活性はおとるがラット同様のパターンがみられた。また犬でも, 5 α -dihydro-testosterone への代謝がみられるがラット, ヒトに比較するとこの転換率ははるかに低いことが観察された(表1)。

(C) 小括

ラット前立腺腹葉に testosterone を加え, in vitro incubation を行なうとき, testosterone→5 α -dihydro-testosterone の代謝が顕著にみとめられた。精嚢に於ても同様であり, ヒト前立腺を用いても同様の代謝がみられたことは, 男性ホルモン作用標的臓器に於ては, testoste-

rone→5 α -dihydro-testosterone への代謝が重要な生理的意義をもっていることを示すものである。これに対し, 腎, 筋では testosterone→androst-4-ene-3, 17-dione への代謝がみられた。蛋白同化作用出現とこの代謝との間には何か重要な関連性が存在するものと考えられる⁵¹⁾⁵²⁾。

IV. ラット前立腺腹葉における Testosterone-5 α -Reduction の内分泌環境による変動についての実験

A. 実験目的

前立腺腹葉は副性器のなかでもアンドロゲン依存性の最も高い標的臓器であり, その形態像並びに分泌機能は, 体内アンドロゲン活性の消長に応じ忠実な変動を示すものとされている。前項の実験において, testosterone が前立腺組織により 5 α -dihydro-testosterone への代謝をうけることが明らかにされた。この 5 α -reduction なる代謝過程が前立腺におけるホルモン効果発現に関係ありとするならば, 当然の事態として, 体内アンドロゲン活性の消長に応じ, 他の生理機能と同様にこの 5 α -reductase 活性も消長を示さなければならない。これについての検討を行なうべく本実験を施行した。

B. 実験方法並びに試料

本実験においては, 前立腺腹葉分泌機能のうちアンドロゲン活性に最も忠実なる指標とされているクエン酸含有量をとりあげた。まず, 幼若から老令に至る過程において, 前立腺組織内のクエン酸含有量, 5 α -reductase 活性がどのような変動を示すかを検討。ついで, 去勢並びに去勢後 testosterone 投与による変動についても検討を重ねた。なお, 5 α -reductase 活性測定は前項実験の in vitro incubation の操作を用いた。

(1) 動物並びに試料作製

加齢実験にあつては, 生後4～5週を immature, 13週を young adult, 28週を adult, 50週以上を aged とした。去勢実験は生後14～15週の young adult を用い, 去勢後7日から, testosterone 投与を行なつた。testosterone は油溶 testosterone propionate (1 mg/0.1 ml) を用い, young adult では連日 2 mg, aged では3 mg, 皮下注射投与を行なつた。適時, 前立腺腹葉をとり出し数頭分を合して1サンプルとし, 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) を加え, teflon-glass homogenizer を用いてホモジネート作製。

(2) Testosterone 代謝率の測定

Tris-HCl 300 μ moles, Na⁺ 366 μ moles, K⁺ 9 μ moles, Mg⁺⁺ 6 μ moles, nicotinamide 90 μ moles, fumarate 6 μ moles, NADPH 1 mg をふくむ medium 6 ml に testosterone-

表2 ラット前立腺腹葉における Testosterone の 5α -reduction, 17β -ol-dehydrogenation rate率並びにクエン酸含有量の加齢による変動

出生後週数	実験頭数*	体 重 g (平均)	前立腺腹葉 mg/100 g 体重 (平均)	testosterone 代謝		クエン酸 μ g/前 立腺/100 g 体重
				5α -reduction $m\mu$ moles/g/hr.**	17β -ol-dehydro- genation $m\mu$ moles/g/hr.**	
4~5	15	91.4	33.8	3.43	0.40	15.2
13	6	303.5	144.0	5.22	0.56	102.3
28	5	343.4	125.0	3.16	0.39	69.4
52	4	421.7	93.6	2.22	0.50	12.7

備考：* 測定のため一括してホモジネートを行うために使用した頭数

** サンプル2回測定の平均値。

代謝率は基質として加えられた testosterone から培養1時間後に生じた 5α -dihydro-testosterone 並びに androst-4-ene-3, 17-dione の量(組織g当り換算量)を示す。

クエン酸量は前立腺腹葉1コ内の含有量を示すが、前立腺重量が条件により変動を示すので体重 100 g 当りの補正を行った。

Tris-HCl 300 μ moles, Na⁺ 366 μ moles, K⁺ 9 μ moles, Mg⁺⁺ 6 μ moles, nicotinamide 90 μ moles, fumarate 6 μ moles, NADPH 1mg をふくむ medium 6ml. に testosterone-¹⁴C 0.3 μ C (10m μ moles), 原組織 300mg相当前立腺腹葉ホモジネートを加え, 37°C, air phase, 毎分 120回持続振盪の条件下で1時間 incubate. 酢酸エチル抽出, ペーパー, クロマト後, 液体シンチレーションカウンターにて計測。

4-¹⁴C(比活性29.2 mC/mM, 第一化学) 0.3 μ C (10m μ moles) 並びに原組織 300mg相当量のホモジネートを加え, air phase, 37°C, 毎分 120回持続振盪条件下で1時間培養。

実験Ⅱに従いステロイド抽出・分離・精製し(但し抽出は酢酸エチル使用),生成した 5α -dihydro-testosterone, androst-4-ene-3, 17-dione の放射活性を液体シンチレーション・カウンターにて計測。¹⁴C-基質の各ステロイドへの代謝 μ mole 数を以て 5α -reduction, 17β -ol-dehydrogenation rate とした。

(3) クエン酸含有量測定

組織内クエン酸量は Speck らの方法 (1946)⁶²⁾ によって測定。

C. 実験成績

(1) 加齢による変化。

前立腺腹葉重量(体重 100 g 当り)は成熟とともに増加し13週令(young adult)で最高を示す。爾後加齢とともに漸減の傾向を示している。分泌機能の指標とされているクエン酸量については、この加齢による変動傾向がより顕著にみとめられた。 5α -reduction rate に於てもほぼ同様の現象が観察されたが、 17β -ol-dehydrogenation ではその反応率も低く、かつ加齢による変化は全くみられなかった。(表2)

(2) 老令ラットにおける testosterone 投与の影響。

生後14カ月の老令ラットでは、 5α -reduction rate 並びにクエン酸含有量は明らかな減少を示している。これに対し、testosterone propionate 3 mg 7日間連日投与を行なうとき、両者ともに増加し、adult ないし young adult の水準に達した。なお、 17β -ol-dehydrogenation は全く影響を示さなかつた(表3)。

(3) 去勢ラットにおける testosterone 投与の影響。

成熟ラット(生後14~15週)を去勢するとき、術後1週にして 5α -reduction 並びにクエン酸含有量ともに顕著な低下をみる。これに対し testosterone propionate 3 mg 連日投与するとき、両者とも順調な回復を示すが、その回復過程には相違がみられている。すなわち、 5α -reduction rate は2日後では軽度の増加をみるのみであるが4日後に至ると急激に増加、ピークに達し、旧値を上廻る値を示している。

これに対し、クエン酸量は2, 4, 7日と順調ではあるが増加は緩徐で、7日に至つても旧値には達していない。なお 17β -ol-dehydrogenation rate については全く変化がみられなかつた(表4)。

D. 小括

本実験に於いて、ラット前立腺腹葉における testoste-

表3 老令ラット前立腺腹葉における Testosterone 5 α -reduction, 17 β -ol-dehydrogenation rate 並びにクエン酸含有量に及ぼす testosterone 投与の影響

	実験 頭数	体 重 g (平均)	前立腺腹葉 mg/100 g 体重 (平均)	testosterone 代謝 m μ moles/g/hr.		クエン酸 μ g/前 立腺/100 g 体重
				5 α -reduction	17 β -ol-dehydro- genation	
無処置対照	4	414	105	1.47	0.68	18.4
testosterone	4	440	197	6.60	0.53	66.5

備考：生後14ヵ月ラット。油溶 testosterone propionate 3mg, 7日間皮下注射。
その他の実験条件は表2に同じ。

表4 成熟ラット前立腺腹葉における Testosterone 5 α -reduction, 17 β -ol-dehydrogenation rate 及びクエン酸量に及ぼす去勢並びに testosterone 投与の影響

		実験 頭数	体 重 g (平均)	前立腺腹葉 mg/100 g 体重 (平均)	testosterone 代謝 m μ moles/g/hr.		クエン酸 μ g/ 前立腺/100 g 体 重
					5 α -reduction	17 β -ol-dehydro- genation	
対 照	去勢前	6	301.4	111.2	5.21	0.42	101.5
	去勢後 7 日	8	302.1	28.7	0.95	0.40	10.2
去勢後7日 よりT投与	2日間 投与後	8	303.7	40.7	1.75	0.34	13.5
	4日間 投与後	7	304.2	59.4	7.82	0.37	28.0
	7日間 投与後	6	306.0	105.0	6.55	0.38	69.0

備考：生後14～15週のラット。去勢後油溶 testosterone propionate 2mg, 2～7日
間皮下注射。その他の実験条件は表2に同じ。

rone-5 α -reductionが体内アンドロゲン活性に応じて変動を示すこと、換言すれば、前立腺機能にとって重要な代謝現象であることが確認された。これに対して 17 β -ol-dehydrogenation はこれらのホルモン環境 に対しては全く不応性で、かつその反応性も極めて低いことから前立腺機能自体と密接な関連をもたぬ代謝であることが推定された⁴⁷⁾⁵⁴⁾。

V. Testosterone-5 α -Reductase の細胞内局在につ
いての実験

A. 実験目的
前2項の実験によつて、testosterone→5 α -dihydro-testosterone の代謝が前立腺機能と密接な関係にあることが確認された。しかしながら、この代謝過程がホルモン作用効果発現にどのような役割を演じているかを明らかにするためには、まず第1に当該代謝に関与する酵素系の細胞内局在を確認することが必要である。本実験はこの検討のために施行されたものである。

B. 実験方法並びに試料

前立腺腹葉ホモジネートを超遠心分離にて、核、ミトコンドリア、ミクロゾーム並びに可溶性の4分画に分け、各々について、in vitro incubation 実験を行ない、5 α -reductase 活性測定を行なつた。

(1) 動物並びに試料作製

本実験には体重 300～400gの成熟ラットを使用。前立腺腹葉をとり出し数頭分を合して1サンプルとし、1.15% KCl (pH 7.4) を加え teflon-glass homogenizer を用いてホモジネート作製後下記条件にて各細胞成分の分画を行なつた。

粗核分画：—ホモジネート後 700×g, 10分回転、沈渣を3回洗浄したものを以て粗核分画とした。

ミトコンドリア分画：—上記操作にて得られた全上清につき 8,000×g, 15分回転操作を2回施行。その沈渣を以てミトコンドリア分画とした。

ミクロゾーム分画：—ミトコンドリア分画を除いた上

清について $105,000 \times g$, 60分回転操作を行ない, 沈渣をミクロゾーム分画, 上清を可溶性分画とした。

精製核: — Chauveau らの法 (1956)⁸⁾ に従い粗核分画を $2.4M$ sucrose— $0.5 mM$, $MgCl_2$ 液に懸濁後 swing bucket type roter 内にて $60,000 \times g$, 60分回転操作を行ない, 得られた沈渣を精製核とした。

(2) Testosterone- 5α -reduction rate の測定

上記各分画につき, 前項 (IV) の実験方式にならい 5α -reduction 等測定を行なった。但し, 精製核分画については次の簡易改良法を採用した。

原組織 300mg相当の核分画懸濁に, Tris-HCl (pH 7.2) $100 \mu moles$, NADPH $1 mg$, testosterone- $4-^{14}C$ $0.2 \mu C$ (約 $7 m\mu moles$) を加え $2 ml$ として incubation 施行。なお, testosterone 溶液が $3 \times 10^{-6} M$ になるよう調製を行なった。

Incubate 後, $200 \mu g$ の 5α -dihydro-testosterone を加え, 酢酸エチルにて抽出。飽和重曹水, 蒸溜水にて洗浄後蒸発乾涸。薄層板 (Eastman chromatogram No. 6060) を用いクロロフォルム: エーテル (9:1, V/V) にて展開。 5α -dihydro-testosterone 相当部位をメタノールで抽出, 液体シンチレーション・カウンターで計測を行なった。

(3) その他の分析法

核酸は Hutchinson らの方法²⁰⁾にて抽出後, Schneider の方法⁴¹⁾にて比色定量を行なった。また ATP-ase は Kieley の方法²⁹⁾にて測定を行なった。

C. 実験成績

DNA, RNA, ATPase 活性並びに, testosterone- 5α -reduction 活性の細胞下各分画における分布状態は図3の如くである。

DNA は核にのみ存在し, Mg^{++} 依存性 ATPase はミクロゾームに局在しており, (Ahmed & Williams-Ashman, 1969)¹⁾, RNA は略々半分が γ -RNA 由来でミクロゾーム分画にみとめられるという (Harding & Samuels, 1961)¹⁸⁾ 報告をもとにし, 上記のデータを検討してみると, 次のように考えることができる。

“ミトコンドリア分画にはかなりのミクロゾーム混入がみらるているが, 核分画ではミクロゾーム混入は僅かである。しかも核の他分画への混入は殆んどみられない。したがって, testosterone $\rightarrow 5\alpha$ -dihydro-testosterone 代謝に関与する酵素, 5α -reductase の70%前後は核に局在し, ミクロゾーム, ミトコンドリアにも一部存在している”

図3 ラット前立腺腹葉における核酸量, ATPase 活性並びに testosterone- 5α -reductase 活性の細胞内分布

備考: 成熟ラット前立腺腹葉ホモジネートを超遠心分離にて核, ミクロゾーム, ミトコンドリア, 溶性各分画にわけ, 各々につきDNA, RNA量, ATPase 活性, 5α -reductase 活性を測定。精製核以外の分画における 5α -reductase 活性測定は表2の方法に従って測定。精製核分画については, 原組織 300mg相当量分画, NADPH $1 mg$, testosterone- ^{14}C $7 m\mu moles$ を Tris-HCl buffer に加え, $2 ml$ とし, $37^\circ C$, air phase, 60分 incubate. 酢酸エチル抽出, 薄層クロマト分離後, 液体シンチレーション・カウンターにて計測。

また, 核分画を精製するとき, DNA 量は67.5%に減少するが, 5α -reduction 活性も61.4%に減少をみており, 両者とも操作による損失は平行を保つていた。この事実は核分画の 5α -reductase 活性が他分画の混入によるものでないことを証明するものである。

D. 小括

Testosterone $\rightarrow 5\alpha$ -dihydro-testosterone 代謝に関与する酵素すなわち 5α -reductase の大部分は核に局在している。一部はミクロゾームに存在している。このほか, ミトコンドリアにもその活性が僅かながらみとめられたが, 操作上, ミクロゾーム混入も考えられ, 再検討の必要がある²⁷⁾。

VI. Testosterone および 5 α -Dihydro-testosterone のラット前立腺腹葉へのとりこみ (*in vitro*) についての実験

A. 実験目的

前記3項の実験において, testosterone-5 α -reduction が前立腺機能と密接な関連をもつ代謝過程であること, ならびに, これに関与する 5 α -reductase が核を中心とする細胞内顆粒成分に局在していることが明らかにされた. この 5 α -reduction が testosterone 投与時にみられるホルモン効果発現に直接関与するならば, “testosterone の細胞内にとりこみ $\rightarrow$ testosterone-5 α -reduction $\rightarrow$ 5 α -dihydro-testosterone の核内へのとりこみ”という一連の過程が認められなければならない. この構想を確認するため本実験を行なった.

B. 実験方法並びに試料

Medium 中に前立腺腹葉組織並びに等量の ^{14}C -testosterone, ^3H -5 α -dihydro-testosterone を同時に加えて *in vitro* incubation 施行. 30分迄の経過において, 適時組織片をとり出し, ホモジネート作製後, 超遠心分離. 各細胞成分分画からステロイド抽出を行ない, testosterone, 5 α -dihydro-testosterone を分離計測した. すなわち, 時間経過に従い, testosterone 並びに 5 α -dihydro-testosterone がどのような形で細胞成分分画内にとりこまれているかを検討した.

(1) 動物並びに試料

体重 300~400 g 成熟ラットを使用. 前立腺腹葉をとり出し, 氷冷下, 鋏にて細切, 数頭分を合して1サンプルとした.

(2) 培養

10%仔牛血清含有 Eagle's minimum essential medium 10ml に細切組織 1 g, 標識ステロイド各々 0.1 μM の濃度に加え, 37°C, air phase, 1分間 120回持続振盪の条件下で培養. 標識ステロイドとしては testosterone-4- ^{14}C (比活性 58.2 mC/mM, Radiochemical Centre, England) ならびに 5 α -dihydro-testosterone-1,2,4,5- ^3H (比活性 4.08 C/mM, 第一化学) を用いた.

(3) ステロイド抽出

培養開始直後, 10分, 20分, 30分後に冷却処置にて反応を停止せしめ, 下記の如く, 全組織ならびに細胞成分分画についてステロイド抽出, 分離, 計測を行なった. 抽出は酢酸エチルを用い, ペーパー・クロマトにて分離を行なった ((IV) の実験参照). なお, 各サンプル

内の全ステロイド, testosterone, 5 α -dihydro-testosterone 量は液体シンチレーション・カウンターを用いての放射活性から算出した.

全細胞ホモジネート:—medium を永冷した 1 mM MgCl_2 含有 0.32 M sucrose 液にて洗浄. 沈渣に同液を加え teflon-glass homogenizer にてホモジナイズしたもので, これよりステロイド抽出.

細胞成分分画:—上記ホモジネートを超遠心分離にて, 可溶性, ミクロゾーム, ミトコンドリア, 核の各成分に分け ((IV) の実験参照), 各分画よりステロイド抽出.

精製核:—上記操作にて得られた核分画を 5 mM MgCl_2 , 0.5% tritonX100 (V/V) をふくむ 0.25M sucrose 液に懸濁, かるくホモジネートした後, 遠心分離 (Sadowski & Steiner, 1968)³⁹. 再度同操作施行後, 1.5 mM MgCl_2 含有 0.88M sucrose 液を加え, 4,000 $\times$ g, 8分間回転. 沈渣をさらに 0.5 mM MgCl_2 含有 2.4 M sucrose 液に懸濁して, swinging bucket type titor を用いて 60,000 $\times$ g, 40分間回転し, その沈渣を以て精製核としてステロイド抽出を行なった. なお, 精製操作により 40~50% の損失がみられており (DNA 量を指標として) 測定後補正を行なった.

C. 実験成績

(1) 細胞 (組織) 全体としての全ステロイドとりこみの経時的变化.

細胞内にとりこまれたステロイドを全量として観察すると, 培養開始直後に既に多量の存在が認められた. とくに, testosterone 由来の ^{14}C -標識ステロイドにおいて顕著であつた. その後, 増加は多少鈍化を示しているが, やはり 10, 20, 30分とそのとりこみは順調な増加傾向を示している. 増加率は ^{14}C -, ^3H -ともにほぼ同程度であり, したがって, $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ 比は経時的にほぼ一定の比率を示している (表5).

(2) 全細胞 (組織) 内にとりこまれたステロイドのうち 5 α -dihydro-testosterone として存在するものの経時的变化

細胞内にとりこまれたステロイドを分析し, 5 α -dihydro-testosterone としての存在の経時的变化を検討したところ, 次のような成績が得られた. testosterone- ^{14}C に由来した ^{14}C -標識 5 α -dihydro-testosterone は, 5 α -dihydro-testosterone- ^3H 由来のものより当初から量的にまさり, 経時的にも優位をつづけている. しかも, 全ステロイドの場合と同様, $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ 比は経時的にほぼ一

表5 5α-Dihydro-testosterone-³H 及び Testosterone-¹⁴C (等量) 添加ラット前立腺 in vitro incubation における前立腺組織へのステロイドのとりこみ (I) ³H-並びに ¹⁴C-標識全ステロイドとしてのとりこみの経時変化

培 養 時 間 (分)		0	10	20	30
μμ moles/g.tissue	³ H-標識ステロイド (とりこみ増加分)	31.2	74.8 (43.6)	79.5 (47.3)	88.9 (57.7)
	¹⁴ C-標識ステロイド (とりこみ増加分)	65.9	115.5 (49.6)	118.6 (52.7)	136.4 (70.5)
	³ H/ ¹⁴ C 比 (とりこみ増加分の ³ H/ ¹⁴ C比)		0.65 (0.88)	0.67 (0.90)	0.65 (0.82)

備考：10% 仔牛血清含有 Eagle's minimum essential medium 10 ml., 前立腺腹葉細切組織 1 g, 5α-dihydro-testosterone-³H 及び testosterone-¹⁴C 各0.1 μM の濃度にて incubate (37°C, air phase, 1 分間120回持続振盪条件下)
直後, 10分, 20分, 30分後において, 組織片をとりホモジネート後, 酢酸エチル抽出. 液体シンチレーション・カウンターにて測定せる放射活性から組織内にとりこまれたステロイド量を算出.

表6 5α-Dihydro-testosterone-³H 及び Testosterone-¹⁴C(等量) 添加ラット前立腺 in vitro incubation における前立腺組織内へのステロイドのとりこみ (Ⅱ) Dihydro-testosterone (³H-並びに ¹⁴C-標識) としてのとりこみの経時変化

培 養 時 間 (分)		0	10	20	30
5α-dihydro-testosterone μμ moles/g.tissue	³ H-標識 (とりこみ増加分)	26.3	35.4 (9.1)	39.1 (12.8)	43.5 (17.2)
	¹⁴ C-標識 (とりこみ増加分)	34.9	57.4 (22.5)	65.1 (30.2)	74.4 (39.5)
	³ H/ ¹⁴ C比 (とりこみ増加分の ³ H/ ¹⁴ C比)		0.62 (0.40)	0.60 (0.42)	0.58 (0.44)

備考：表5に準じ, incubation, ステロイド抽出後, クロマト分画にて 5α-dihydro-testosterone を分離. 5α-dihydro-testosterone-³H 由来のものと testosterone-¹⁴C 由来のものととの量的関係を算出.

表7 5α-Dihydro-testosterone-³H 及び Testosterone-¹⁴C (等量) 添加ラット前立腺 in vitro incubation における細胞内各分画へのステロイドのとりこみ—incubation 30分後

	酢酸エチル抽出全ステロイド			5α-dihydro-testosterone			
	μμ moles/g.tissue		³ H/ ¹⁴ C	μμ moles/g.tissue		³ H/ ¹⁴ C	¹⁴ C/ ³ H+ ¹⁴ C
	³ H-標識	¹⁴ C-標識		³ H-標識	¹⁴ C-標識		
全 組 織	125.62	154.81	0.81	40.06	85.74	0.54	0.65
可 溶 性 分 画	30.91	40.16	0.77	14.16	22.02	0.64	0.61
ミトコンドリア+ミクロゾーム分画	27.14	30.23	0.91	8.36	14.73	0.57	0.64
核 分 画	30.52	28.02	1.09	10.53	20.00	0.53	0.66
精 製 核 分 画	0.32	0.60	0.54	0.26	0.43	0.61	0.62
(DNA 損失率から補正した精製核分画)	0.53	1.01	0.53	0.44	0.72	0.61	0.62
可溶性+ミトコンドリア+ミクロゾーム+核 (各分画合計)	88.57	98.41	0.90	33.05	56.74	0.58	0.63

備考：表5に準じ, 前立腺腹葉細切組織 1 g, 各標識ステロイド 0.1 μM の濃度にて incubate. 30分後, 超遠心分離を行い, 細胞内各分画 (原組織 1 g 相当) にとりこまれたステロイド量を計測

定の推移を示している (表 6)。

(3) 培養30分時において細胞成分各分画内に存在する全ステロイドならびに, 5α -dihydro-testosterone

^3H -標識或いは ^{14}C -標識ステロイド全体としてみると, ともに細胞内に均等の分布がみられている。ただ, 前々項の成績において示されたように ^{14}C -標識 (testosterone 由来) のステロイドが, ^3H -標識 (5α -dihydro-testosterone 由来) のそれを僅かに上廻っている (各分画合計値では, ^3H -標識 88.57, ^{14}C -標識 98.41 $\mu\text{mol}/\text{g}\cdot\text{tissue}$)。全ステロイドのうち, 5α -dihydro-testosterone のしめる比率は各分画とも一様に大きい。ことに, ^{14}C -標識においてこの傾向が著しかった (各分画合計値で, ^3H -標識全ステロイド 88.57 のうち, ^3H -標識— 5α -dihydro-testosterone は 33.05 $\mu\text{mol}/\text{g}\cdot\text{tissue}$ で37%, ^{14}C -標識全ステロイド 98.41 のうち, ^{14}C -標識— 5α -dihydro-testosterone は 56.74 $\mu\text{mol}/\text{g}\cdot\text{tissue}$ で58%の比率である)。

この事実は, testosterone が 5α -dihydro-testosterone にくらべ, より容易に細胞内にとりこまれること, 5α -dihydro-testosterone ではとりこまれた後, 細胞内で代謝をうけて一部が他のステロイドに転換するに對し, testosterone ではとりこまれた後, 5α -reductase によつて代謝をうけ, 大部分 5α -dihydro-testosterone の形で存在することを示すものと考えられる。

分画操作にあたり通常の操作では核分画にミクロゾームの混入がみられる (実験IV参照)。全ステロイド, 5α -dihydro-testosterone とりこみが核分画においても, 他分画と同程度に認められているのもこの混入が原因しているものと考えられる。真の核内へのとりこみを確認するため, 核分画を精製, 計測を行なつたところ, ^3H -標識全ステロイド0.53, ^{14}C -標識全ステロイド1.01, ^{14}C -標識 5α -dihydro-testosterone 0.44, ^{14}C -標識— 5α -dihydro-testosterone 0.72 ($\mu\text{mol}/\text{g}\cdot\text{tissue}$) の値がえられた。これを細胞内各分画合計の 88.57, 98.41, 33.05, 56.74 ($\mu\text{mol}/\text{g}\cdot\text{tissue}$) と対比すると, 僅かに1%前後に相当するにすぎない。核内にとりこまれたステロイド量は極めて僅かであるが, ^3H -標識, ^{14}C -標識を問わず, そのうちの70~80%が 5α -dihydro-testosterone でしめられており, 他分画における全ステロイド中 5α -dihydro-testosterone のしめる比率よりはるかに高い値を示している。

また, 5α -dihydro-testosterone の $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ 並びに $^{14}\text{C}/^3\text{H}+^{14}\text{C}$ 比を求めてみるに全細胞分画を通じほぼ一定で

あるという興味ぶかい事実が得られている。もとのステロイドの由来を問わず, 5α -dihydro-testosterone として細胞内に存在するものは同一の態度をとることを示すものと考えられる (表 7)。

(C) 小括

本実験は in vitro incubation 実験である。したがつて, 組織に物理的に付着しているステロイドを除去し, 真に細胞内にとりこまれたステロイドのみを測定する目的で洗滌操作が十分に行なわれた。この事実を一応承認し, 以上の実験成果を総合すると, 次のような推論を下すことができる。

1) 培養 medium 中のステロイド濃度が, ^3H -標識 5α -dihydro-testosterone, ^{14}C -標識 testosterone とともに 100 $\mu\text{mol}/\text{ml}$ であるに對し, 30分時の組織内濃度が ^3H -標識ステロイドで125.62, ^{14}C -標識ステロイドで 154.8 $\mu\text{mol}/\text{g}\cdot\text{tissue}$ であることからして, 両アンドロゲンともに選択的に前立腺細胞内にとりこまれたものと考えられる。

2) 細胞 (組織) 内ステロイド濃度の経時的变化から, 同じくアンドロゲンであつても, testosterone は 5α -dihydro-testosterone よりも選択的により多量に前立腺細胞内にとりこまれる。

3) 細胞内にとりこまれた 5α -dihydro-testosterone は一部代謝をうけ, 他のステロイドに変換する。これに對して, testosterone はとりこまれた後, 5α -reductase の作用をうけ大部分 5α -dihydro-testosterone にかえられる。したがつて testosterone の選択的摂取が 5α -dihydro-testosterone のそれより多いという事実と相まつて, 細胞内に存在する 5α -dihydro-testosterone の60%以上は testosterone 由来でしめられるという現象が生じてくる。

4) 原形質内には容易に, かつ多量のアンドロゲンがとりこまれる。しかしながら, 核内にはそのうちの1%前後の微量がとりこまれるにすぎない。しかも, そのうちの70~80%は 5α -dihydro-testosterone としての形である。

以上の現象からして, “testosterone の細胞内とりこみ $\rightarrow$ testosterone- 5α -reduction $\rightarrow$ 5α -dihydro-testosterone の核内へのとりこみ $\rightarrow$ 核酸合成促進” という過程が, 男性ホルモン効果発現の主要なルートであるとの推論が下される⁵⁶⁾。

VII 総括並びに考按

A. Testosterone- 5α -Reduction

以上数項にわたり行なわれた実験成果をまとめてみると次の如くである。

1) アンドロゲンの標的臓器である前立腺は、*in vivo* に与えられた *testosterone* を選択的に摂取し、少なくとも5～6時間にわたって保持している。しかしながら、子宮内膜の *estradiol-17 β* のそれに比較するとき、その摂取・保持能ははるかに劣っている。

2) 前立腺組織 *in vitro* incubation 実験において、*testosterone* は核（おそらくは核膜？）並びにミクロソームに局在する *5 α -reductase* の働きによりすみやかに *5 α -dihydro-testosterone* に代謝される。核内にとりこまれたアンドロゲンの大部分（70～80%）は代謝の結果を生じた *5 α -dihydro-testosterone* であるが、その量は細胞内にとりこまれた *testosterone* の1～0.5%の微量にすぎない。

3) *Testosterone*→*5 α -dihydro-testosterone* の代謝に関与する *5 α -reductase* の内分泌環境における変動からして、当該酵素は前立腺の機能、換言すればアンドロゲン効果出現に重要な役割を演じていることが推定される。

Testosterone の摂取並びに代謝の全貌については改めて論ずるとしても、以上の成果から次の推論をひきだすことができる。

“*Testosterone* の前立腺に対するホルモン効果の出現に際しては、細胞内にとりこまれた後、*5 α -dihydro-testosterone* に代謝されることに生理的意義が存在する。別の表現を以てすれば、*testosterone* そのものは active ではなく、*5 α -dihydro-testosterone* となつて始めて核クロマチンに作用し、核酸合成を促進して生物学的効果をあらわすことができる。*testosterone* はホルモン前駆物質ともいべきもので、活性ホルモンは、*5 α -dihydro-testosterone* である”。

要すなわち、*testosterone* の前立腺に対する作用機序は、*estradiol-17 β* の子宮内膜に対するそれと全く異なる。ステロイドが代謝されて始めて生物学的活性を発揮するという当初の推論の妥当性が裏付けられてきた。

前立腺におけるアンドロゲン代謝の検討は *in vitro* では1954年頃から、*in vivo* では、1961年頃から多くの研究者により試みられていた^{2) 5) 13) 32) 68)}（著者らは1962年11月日本内分泌学会東部々総会で第1報を報告している）⁴⁴⁾。当初、標識ステロイドの比放射活性、分析手技等の関係で代謝の正鵠をつくることができなかったが、1963年頃から次第に代謝過程が明らかとなり、さらに

1965年頃には phospho-pyridine-nucleotid linked *4³-keto-C₁₉-steroid-5 α -reduction*, *3 α -hydroxy-C₁₉-steroid dehydrogenation-generation* 等の過程が、クローズ・アップされてきた（ステロイド代謝については Ofter (1968)³⁷⁾ の総説に詳しいので参照されたい）。

1965年、著者らは実験成果ならびに上記報告を参考にし、*testosterone-5 α -reductase* の過程が前立腺におけるホルモン作用機序の本態であることを提唱するに至つたのであるが^{51) 52)}、最近に至りこの見解の妥当性を肯定する成果が次々に発表されている。その一つは Anderson & Liao (1968)²⁾ および Brushovsky & Wilson (1968)⁵⁾ らの *in vivo testosterone* 投与時における前立腺核内 *5 α -dihydro-testosterone* 確認実験である。細胞質内には *5 α -dihydro-testosterone*, *testosterone*, *androsto-4-ene-3, 17-diol* 等諸種のアンドロゲンがみられている。核内にとりこまれるアンドロゲンは極めて僅かであるが、その大部分は *5 α -dihydro-testosterone* であるとの報告で、著者らの *in vitro* の実験成果と全く同一の結果であり、核クロマチンに作用するものが *5 α -dihydro-testosterone* であることを裏付けている。

もう一つは、Baulieu, Lasnitzki & Robel (1968)⁴⁾ によるアンドロゲン添加前立腺組織培養の成果である。medium に *testosterone* を加える時、中等量 ($17.5 \times 10^{-6} \text{M}$) では細胞の肥大・分泌像がみられるのみで、多量 ($35 \times 10^{-6} \text{M}$) に至りようやく増殖像が察観されている。これに対し、*5 α -dihydro-testosterone* の添加では少量 ($3.5 \times 10^{-6} \text{M}$) 添加ですでに増殖像まで出現している。組織培養の結果をそのまま生体内現象に適用することは理論の飛躍はあるにしても、有力な旁証として取り上げるべきものであろう。

第3の旁証は、精囊、精管、副睪丸等前立腺以外の雄性副性器における *testosterone-5 α -reduction* の確認成果である。さらに、包皮をはじめとする外陰皮膚等に豊富な *5 α -reductase* 活性がみとめられていることは *testosterone*→*5 α -dihydro-testosterone* の代謝過程がアンドロゲン標的臓器において男性ホルモン効果を発揮するために必要かくべからざるものであることを示している (Mainwaring, 1969³²⁾; 志田, ら, 1970^{40) 48) 50)}; Wilson & Gloyan, 1970⁶⁷⁾)。

前立腺におけるステロイド代謝についてはまだ検討すべき事項がのこされているが、*testosterone-5 α -reduction* が作用機序の本態であるとの見解には異論はなく、現在ではほぼ定説化している^{30) 67) 68)}。

B. アンドロゲン・レセプター

緒言の項で述べたように、子宮内膜においては estradiol-17 β と強い親和性をもつ特殊蛋白すなわちレセプターの存在が知られている。

細胞質内に存在する沈降常数 8 S のものと核内にみとめられる 4 S の 2 種の蛋白体で、estradiol-17 β の細胞内摂取・保持に当たり主要な役割を演じている。蛋白分子の大きさに関してはそれぞれ 9.5 S 並びに 5.0 S と報告者により多少の相違もみられているが、その存在並びに生理的役割については現在では定説となつてゐる。まず流血中の血清蛋白 (albumin, α -or β -lipoprotein, α -globulin 等諸説があり一致をみていない) と結合している estradiol-17 β は細胞膜を介して 8 S 蛋白にうけわたされる。8 S 蛋白と結合した estradiol-17 β は代謝されることなくそのまま核に向つて移動する。核膜に達すると 8 S 蛋白の低分子化がおこり 4 S 蛋白となる。estradiol-17 β はそのまま 4 S 蛋白に結合した状態で核内へ進入、クロマチン結合し核酸合成に参与するものと解されている^{17,27)}。

血漿と子宮内膜との estradiol-17 β 濃度比はほぼ 1 : 10 であること、細胞内で estradiol-17 β の代謝が全くみられぬこと、また、estradiol-17 β の細胞内残留が 10 数時間の長きにわたつてゐる事等を総合すると²⁹⁾、estradiol-17 β とレセプター蛋白との結合能がきわめて強固であることが推定される。換言すれば、子宮内膜は、estradiol-17 β を無駄なく、有効に利用しており、血漿中濃度が低くとも十分にホルモン効果をあらわすことができるものである。

アンドロゲンのレセプターについては、エストロゲンのそれとことなり長い間解明のいとぐちさえつかみ得ない状態であつたが、ここ 2, 3 年来、Bruchovsky & Wilson (1968)⁶⁾、Mainwaring (1969)³²⁾、Fang, Anderson & Liao (1969)¹⁰⁾ によりようやく報告もみられるようになってきた(この項については Williams-Ashman & Reddi (1971)⁶⁸⁾ の総説に詳しいので参照されたい)。勿論レセプター蛋白の物理化学的性状については報告者によりかなりの差異がみられ、現在のところ確認の域には達していないが、アンドロゲン・レセプターの存在することには異論はないと考えられる。これらの報告者のうち、十分なる検討がなされ理論的にも興味のある成果を得ているのは Fang ら (1969)¹⁰⁾ の報告である。彼等の報告によれば細胞質並びに核内には 5 α -dihydro-testosterone と結合した特殊蛋白体が存在している。沈降常数

はそれぞれ 3.5 S 並びに 3.0 S である。核分画と 5 α -dihydro-testosterone を in vitro incubation するときには 5 α -dihydro-testosterone と結合した 3.0 S 蛋白を認めることができないが、核分画と同時に可溶性分画を混じて insubate すると 5 α -dihydro-testosterone と結合した 3.0 S 蛋白が確認されている。この事実から、細胞質内に 3.5 S レセプターがあり、これに 5 α -dihydro-testosterone が結合する。次いで 3.0 S と低分子化した後核内へ進入してゆくものであると考えられる。血漿中において testosterone の大部分は β -globulin とつよい結合をもつてゐるといわれているが²¹⁾、これと前立腺細胞内のレセプターとの受けわたしについては現在のところ明らかにはされていない。

C. アンドロゲンの前立腺に対する作用機序についての分子生物学的見解

Testosterone が 5 α -reductase により代謝され、5 α -dihydro-testosterone となつて初めて核クロマチンに働きホルモン効果が出現するという見解は、現在では殆んど異論もなく定説化しているが、1) 5 α -reductase の局在、2) testosterone $\rightarrow$ 5 α -dihydro-testosterone 以外の全ステロイド代謝過程、3) ステロイド代謝と核酸合成とのつながり、4) レセプターの確認、5) testosterone 以外のアンドロゲンにみられるホルモン効果出現等解明さるべき問題がいまなお山積している。

5 α -reductase の大部分が核にあり、一部ミクロゾームにも局在しているという事実については著者らを始め、多くの研究者により確認されている。しかしながら、当該酵素の抽出、純化はすべて不成功におわり、しかも、核膜破綻の目的で核分画を低調液にて処理するとき既に酵素活性の半減をみ、クロマチン沈渣に酵素活性が移行するという奇異なる現象がおこる (Shimazaki ら、1971⁵⁹⁾ ; Frederiksen & Wilson, 1971¹⁴⁾)。ステロイド代謝過程からしても核クロマチンにのみ 5 α -reductase が存在しているという事実は肯定することができない。核膜並びにこれに隣接するミクロゾームの膜成分に当該酵素が附着していると考えるのが妥当であり、今後再検討さるべきものであらう。

前立腺におけるステロイド代謝において、著者らは testosterone $\rightarrow$ 5 α -dihydro-testosterone 代謝過程のほかには 5 α -dihydro-testosterone $\rightarrow$ androstans-3 α , 17 β -diol の代謝を重要視している。これに関与する 3-keto-reductase は可溶時分画内に豊富に存在し、しかし内分泌環境に応じ殆んど変動を示さぬことから不活性化ないし排泄の過程

図4 Testosterone の前立腺に対する作用機序（ステロイド代謝の立場からみた模式図）（私案）

備考：β-G…β-globulin, R…アンドロゲン・レセプター（字の大きさは蛋白分子の大きさに比例）
 体液中のβ-globulinと結合している testosterone は細胞膜を介し、レセプター蛋白にうけわたされることにより細胞内にとりこまれる。レセプターと結合した testosterone は核に向って輸送される間に、核（核膜？）並びにミクロゾームに付着している 5α-reductase の作用をうけて 5α-dihydro-testosterone に代謝される。そして低分子化したレセプターとともに核内に入り、クロマチンに向って進んでゆく。クロマチンは depressor（ヒストン膜？）により被覆され、RNA polymerase は不活性の状態にあるが（1）、レセプター 5α-dihydro-testosterone 複合体が付着すると depressor 機構に破綻が生じ、RNA polymerase が活性化してくる。その結果、クロマチンへの効果により m-RNA, r-RNA 新合成がおこる（2）。レセプター 5α-dihydro-testosterone 複合体のクロマチンに対する親和性は弱く、作用後直ちに解離、遊離した 5α-dihydro-testosterone は細胞質内に送り出される。そして溶性分画中に存在する 3-keto-reductase の働きをうけ 5α-androstan-3α, 17β-diol となって体循環に放出される。

に参与しているものと考えている。細胞内にとりこまれた testosterone は 5α-reductase によりすみやかに代謝され、多量の 5α-dihydro-testosterone を生ずる。核内に進入してゆくのはごく一部で、あとの大部分は、3-keto-

reductase により代謝され androstane-3α, 17β-diol となつて細胞外に放出される。核クロマチンに働いた後不用となり細胞質内にもどつてきた 5α-dihydro-testosterone も同様の運命をたどるものである。この反応に於いて testosterone は競合阻害の効果を示しており、5α-reductase と 3-keto-reductase 両酵素とがあいともなつて、細胞内に於ける 5α-dihydro-testosterone 量の調節にあずかっているものと考えられる（この件に関しては別報で詳細に報告する予定）⁵⁷⁾。

以上の見解を総合すると、前立腺におけるアンドロゲンの作用機序は、図4の如くに解説することができる。卑見を混じえたもので将来の研究により訂正さるべきものであるが参考のためあえてここに提示する次第である。

VIII 結 語

前立腺組織における testosterone 摂取（in vivo）並びに代謝（in vitro）について検討を行ない、次の結果を得た。

1) in vivo に与えられた testosterone は前立腺細胞内に選択的に摂取・保持される。

2) 前立腺細胞内にとりこまれた testosterone は核並びにミクロゾームに局在する 5α-reductase の働きによりすみやかに 5α-dihydro-testosterone に代謝され、その一部が核内にとりこまれ保持される。

3) 前立腺における testosterone-5α-reduction は内分泌環境変動において前立腺機能に同調した消長を示す。

以上の成果から、次の見解を誘導、提示し、分子生物学的立場からアンドロゲン作用機序についての考察を行なつた。

4) Testosterone の前立腺に対する作用機序はステロイド代謝の立場からみて、estradiol-17β の子宮内膜に対するそれと全く異なつた機構である。

5) Testosterone はそのままの形で前立腺に作用するものではない。代謝され 5α-dihydro-testosterone となり始めて核クロマチンに働き、核酸合成を促進することによりホルモン効果をあらわすものである。

（文献は第Ⅲ編にまとめて記載する）

（1971年10月21日受付，特別掲載）