シバヤギにおける PGF_{2α} 投与後の末梢血中 PGF 群濃度 および P 濃度の動態

田中幹郎*・田浦保穂・佐々木伸雄・山内 亮**

(東京大学農学部 現所属: *山口大学農学部 **日本獣医畜産大学)

プロスタグランジン (PG) は代謝速度が非常に速い局所ホルモンであり、肺循環を一度経る間にその 90% 以上が不活化されるといわれている¹⁾。

ウシの臨床面における PGF_{2α} の応用は主として発情同期化²⁾、黄体遺残症の治療³⁾、分娩誘起⁴⁾など、黄体退化作用を目的とするものであるが、血行動態⁵⁻⁷⁾に関しては、必ずしも十分検討されておらず、不明の点も多い。

一方、日本在来種であるシバヤギは小型で扱い易く、かつ通年発情を示すため、最近ウシの実験モデルとして用いられている⁸⁾。本実験においては、性周期あるいは妊娠期のシバヤギに対して、PGF_{2α} を投与し、その血中動態および投与後のプロゲステロン (P) 濃度の動態を検討した。

材料と方法

実験には、東京大学農学部附属牧場にて繁殖・飼育された雌シバヤギ 5 頭を用い、1 頭は 2 回の実験に供したため、のべ 6 頭を 3 頭づつ 2 群に分け、PGF_{2α} の筋肉内投与群、および静脈内投与群とした。

表 1 に両群のシバヤギの概要を示した。筋肉内投与群の W-14 は約 2 才、未経産で開腹によって卵巢發育不全と判定されたものである。その後 PMS 1,000 IU を 2 回投与し、その 3 カ月後に本実験に供したが、その間発情徴候は現われなかった。B-33 は 4 才、6 産で、供試時

に妊娠 90 日目であった。R-42 も 4 才、6 産で同じく妊娠 95 日目であった。

一方、静脈内投与群 3 頭のうち、W-14 は筋肉内投与実験に用いたシバヤギと同一のものであり、筋肉内投与実験後 1 カ月を経過して本実験に用いたが、その時までには発情徴候は認められなかった。B-21 は 3 才、2 産で、実験前に少なくとも 3 回正常な 21 日の発情周期を繰り返しており、次回発情予定日の 4 日前に本実験に供した。B-50 は 3 才、1 産で、実験前少なくとも 3 回正常な発情を繰り返しており、発情開始後 3 日目に本実験に供した。

これらの 2 群に対し、PGF_{2α} (パナセラン、富士薬品工業株式会社) 3 mg を筋肉内投与群には臀筋内へ、静脈内投与群は頸静脈へ投与した。末梢血中 PGF 群濃度および P 濃度測定用の血液は筋肉内投与群では投与前 24 時間、1 時間、投与直後 (0 分)、10 分、20 分、40 分、80 分、3 時間、5 時間、10 時間、24 時間、および 48 時間に採取した。また、静脈内投与群における採血は、投与前 1 時間、投与直後 (0 分)、1 分、2 分、5 分、10 分、15 分、20 分、25 分、30 分、45 分、1 時間、2 時間、4 時間、16 時間、および 48 時間に行った。採血は、PGF_{2α} の投与に用いた頸静脈と反対側の頸静脈内に、予め留置したポリエチレン製のカテーテル (アーガイル社製、血管留置用カテーテル、18G、長さ 30 cm) を通して行った。また、採取血液はヘパリン加血とし、採取後直ちに 2,500 rpm 20 分遠心分離して血漿を分離し、-20°C で保存した。

PGF 群濃度の測定は著者らがすでに報告した方法⁹⁾に従い、血漿 10 ml から PGF 群を抽出、分離した後、RIA で行った。また、P 濃度の測定は、百目鬼らの方法¹⁰⁾に順じ、RIA で行った。

結 果

1. PGF_{2α} 3 mg の筋肉内投与群 3 頭における、末梢血中 PGF 群および P 濃度の動態はそれぞれ図 1, 2, 3 に

Changes of PGFs and progesterone levels in peripheral plasma of the shiba-goats after administration of PGF_{2α}.

TANAKA, Mikio*, Yasuho TAURA, Nobuo SASAKI & Makoto YAMAUCHI** (Department of Veterinary Surgery and Obstetrics, Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Present address: *Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Yamaguchi-shi, Yamaguchi 735, **Nippon Veterinary and Zootechnical College, Musashino-shi, Tokyo 180)

Japan. J. Anim. Reprod., 29 (4), 1983.

Table 1. Experimental goats

Treatment	No.	Age	Partus	Status
im injection of PGF _{2α}	W-14	?	0	Ovarian hypoplasia
	B-33	4	6	Pregnancy (90 days)
	R-42	4	6	Pregnancy (95 days)
iv injection of PGF _{2α}	W-14	?	0	Ovarian hypoplasia
	B-21	3	2	Late luteal phase
	B-50	3	1	3 days after onset of estrus

Fig. 1. PGFs and P levels in peripheral plasma after im injection of PGF_{2α}. Fig. 2. PGFs and P levels in peripheral plasma after im injection of PGF_{2α}.

示した。

PGF 群濃度は、PGF_{2α} の投与後急激に上昇し、20 分で、W-14 は 9 ng/ml、B-33 は 16.7 ng/ml、R-42 は 7.7 ng/ml のピークを示したが、その後は急速に低下し

て 5 時間後までにはほぼ前値へ復した。

非妊娠の W-14 において処置後の PGF 群濃度は、10 時間、24 時間、48 時間後にいずれも処置前とほぼ同濃度の 100 pg/ml 以下を示したが、妊娠していた B-33、

Fig. 3. PGFs and P levels in peripheral plasma after im injection of $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Fig. 4. PGFs and P levels in peripheral plasma after iv injection of $\text{PGF}_{2\alpha}$.

R-42 の 2 頭においては、10 時間後に最低値を示した後 24 時間、48 時間と時間の経過に伴って徐々に濃度を増す傾向が認められ、48 時間後にはそれぞれ 1.1 ng/ml および 1.4 ng/ml を示した。これらの 2 頭は処置後 2 日目に流産し、B-33 は 5 頭、R-42 は 3 頭の胎仔がそれぞれ確認された。なお、B-33 は、流産後外陰部からの出血が異常に多く、また、血小板数が $8,000 \text{ 個/mm}^3$ であり、TEG 所見からも血液凝固不全が疑われた。翌日になって死亡したため、剖検した結果、子宮は腫大し、部分的壊死とガスの貯溜が認められた。また、腎臓の点状出血、左心室内膜、大網膜および脳室の出血が認められたことから、血小板減少を伴う血液凝固不全、たとえば DIC (disseminated intravascular coagulation) の発生が示唆された。

R-42 においても、流産後外陰部からのわずかな出血が続く、軽度の貧血が認められたものの、血小板数に異常は認められなかった。この例では、抗生物質、止血剤、子宮収縮剤の投与により 1 週間後には元気、食欲とも正常に復した。

一方、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 筋注後の P 濃度の変動に関しては、W-14 において処置前に 0.6 ng/ml と非常に低く、黄体の発育のきわめて乏しいことが示され、開腹による卵巣発育不全の所見を裏付けるものであった。また、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与により多少の変動は見られたものの、全般的には大きな変動は認められなかった (図 1)。他の 2 頭は、妊娠中期であり、処置時には 5 ng/ml と高濃度を示した。処置直後はいずれも一過性に P 濃度は上昇したが、その後短時間のうちに処置前の濃度以下に低下した。以後数時間

Fig. 5. PGFs and P levels in peripheral plasma after iv injection of $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Fig. 6. PGFs and P levels in peripheral plasma after iv injection of $\text{PGF}_{2\alpha}$.

を経て再び上昇してピークを形成したが、その後は徐々に低下を続け、48 時間前後で流産が認められた。

2. $\text{PGF}_{2\alpha}$ 3 mg の静脈内投与群 3 頭における、末梢血中 PGF 群および P 濃度の動態はそれぞれ図 4, 5, 6 に示した。

W-14 においては、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 処置後 1 分、2 分および 48 時間の採血が行えなかったが、3 頭のいずれも血中 PGF 群濃度は投与後急激に上昇し、5 分以内に最高値 (W-14: 58 ng/ml, B-21: 48 ng/ml, B-50: 少なくとも 100 ng/ml) に達し、その後急速に低下した。PGF 群濃度のピークが少なくとも 100 ng/ml の高濃度を示した

B-50 においては 30 分後、他の 2 頭は 20 分後に 5 ng/ml 以下に下降した。その後 PGF 群濃度は徐々に低下し、約 2 時間後には投与前値に復した。

一方 P 濃度に関しては、卵巣発育不全の W-14 において、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与後多少の変動はみられたが、全般的には筋肉内投与の場合と同様に大きな変動は認められなかった (図 4)。発情予定日の 4 日前に処置した B-21 においては、処置後 P 濃度は急激な上昇を示した。すなわち、10 分後に処置前値の約 4 倍に達し、次いで急激に低下した後、2 時間で再び軽度のピークを形成し、以後緩やかに低下した。発情後 3 日で、黄体が未だ十分に発達して

いないと思われる時期に処置した B-50 においては、処置後 P 濃度は上昇したものの、B-21 に比べ低く、かつそのピークは 1 時間にわたって持続した。処置後 2 時間で B-21 と同様に第 2 のピークを示したのち 16 時間後まで徐々に低下した。しかし、48 時間後には再び軽度の上昇が認められた。

考 察

STELLFLUG ら⁷⁾は、ウシにおいて $\text{PGF}_{2\alpha}$ を筋肉内に投与した場合、 PGF 群濃度は 10 分以内に最高値に達し、90 分以内にものレベルに復すと報告している。今回の実験で用いたシバヤギにおいては、 PGF 群濃度がピークを示すのは処置後 20 分と、ウシに比較してやや遅く、またその後の動態も処置後 90 分までは急激な低下を示すものの、処置前値に復すには約 5 時間を要することが認められた。

一方、静脈内投与群において、末梢血中 PGF 群濃度の最高値は、筋肉内投与群の約 10 倍に達するが、その低下は非常に速く、30 分以内には 5 ng/ml 以下に低下した。しかし、処置前値への回復には筋注群と同様、ウシで報告されている 15 分以内とは異なり、2 時間を要した。これらのことから、シバヤギにおいては肺における代謝速度がウシよりも遅いことが示唆された。一方、STELLFLUG ら¹²⁾によれば、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の投与量の違いによっても $\text{PGF}_{2\alpha}$ の代謝時間に差のあることが認められており、今後シバヤギにおいても投与量を変化させて検討する必要があると思われる。

外因性 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の黄体に対する退行作用は、妊娠黄体に対しても強力で、 3 mg 1 回の筋肉内投与により、急激な P 分泌低下を引き起こし、2 日後に流産を生じさせた。

$\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与後、P 濃度は低下したが、その過程で 2 度のピークを形成した。第 1 のピークは、筋肉内投与群で処置後 20 分までに、静脈内投与群で 10 分までに認められ、その後急激に低下した。第 2 のピークは、筋肉内投与群で処置後 3~4 時間、静脈内投与群で 2 時間後に認められた。しかし第 1 のピークは、頻回採血を行わなかった例で認められない場合があった。この第 1 のピークに対し、STELLFLUG ら¹¹⁾、SPEROFF ら¹²⁾は $\text{PGF}_{2\alpha}$ の黄体細胞における P の合成刺激をその理由として推測した。一方、OKAMURA ら¹³⁾は、ヒト黄体外鞘中に存在する平滑筋が $\text{PGF}_{2\alpha}$ により顕著に収縮することを認めているが、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与直後の P 濃度上昇は非常に速いことから、シバヤギにおいては、この平滑筋収縮に伴う黄体

中の P の放出によるものではないかと考えられた。

第 1 のピークは、持続することなく短時間で低下したが、これに関しては THORBURN ら¹⁴⁾の示した $\text{PGF}_{2\alpha}$ の局所的な血管収縮作用によるものと考えられた。

さらに第 2 のピークに関しては STELLFLUG ら¹¹⁾が $\text{PGF}_{2\alpha}$ の投与 2~3 時間後に血中 LH 濃度の上昇を認め、第 2 のピークをこれによるものと推測しており、今回シバヤギの例もほぼ同様の理由によると思われる。

一方、筋肉内投与群の妊娠中期のシバヤギ 2 頭において、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与の 2 日後に流産が引き起こされた。この 2 例における処置後 48 時間の末梢血中 PGF 群濃度は、処置前および処置後 24 時間のそれらより高いことが認められた。この処置後 48 時間の PGF 群濃度の上昇は、外因性の $\text{PGF}_{2\alpha}$ によるものではなく、なんらかの要因により分泌された内因性の $\text{PGF}_{2\alpha}$ によるものと考えられ、流産との関連も考えられるが、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の投与により生じる黄体退行に伴って、エストラジオールの分泌が促進されることが認められており¹⁵⁾、今後オキシトシン、コーチゾルなどを含めてさらに検討を重ねる必要がある。

さて $\text{PGF}_{2\alpha}$ 処置による流産後、1 例は血小板減少を伴う血液凝固不全を呈して死亡した。PG の中には血小板に対し、凝集抑制作用^{16,17)}および凝集促進作用¹⁸⁾を示すものがあるが、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ にこのような血小板に対する作用は認められていない。したがって $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与後の流産時に認められた血小板減少性の出血傾向亢進は、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の直接作用ではなく、流産後に生じたなんらかの要因、例えば子宮の血行障害、細菌感染、組織の壊死およびそれに起因したショック状態が DIC を誘発した¹⁹⁾ものではないかと考えられた。

$\text{PGF}_{2\alpha}$ の静脈内投与群においては、3 頭とも性周期の異なる時期に処置したが、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ に対する黄体の反応に差のあることが認められた。すなわち黄体の存在しないと考えられる W-14 においては、処置後の P 濃度にほとんど変化がみられなかった。一方黄体後期の B-21 においては、処置後 P 低下の前に一過性に顕著な P 濃度の上昇が認められたが、これが前述した黄体外鞘中の平滑筋収縮によるものと考えれば、黄体内に貯留している P 量の多いことを示すものと思われた。他方、発情開始後 3 日目黄体形成が完全でないと考えられる B-05 においては、処置後の P 濃度上昇は著明ではなく、黄体内に貯留された P 量が多くないことが推察された。また、第 2 の P のピーク以後 B-21 においては 48 時間まで徐々に低下してゆくのに反し、B-50 においては 16 時間後の

P 濃度に比較して 48 時間後の P 濃度が高くなっており、48 時間以降は検討していないため、必ずしも明らかではないが、この例では黄体は退行することなく再び発育する可能性を示すものと考えられる。このことは、この B-50 において次回の発情が前回の発情の 20 日後に認められ、性周期に変化のなかったことから裏付けられた。百目鬼²⁰⁾、中原³⁾、HENRICKS ら²¹⁾を初め多くの研究者が、PGF_{2α} 投与によるウシの性周期の同期化において同様のことを報告しており、PGF_{2α} は機能的な黄体に対しては、その退行作用は顕著であるが、発育過程の新生黄体に対しては、その作用を示さないか、あるいは一時的に退行作用は示しても PGF_{2α} の血中濃度が低下すると再び黄体は発育すると考えられた。

要 約

通年発情を示す日本在来種のシバヤギに対して PGF_{2α} 3 mg を筋肉内ならびに静脈内投与し、その末梢血中動態および投与後の末梢血中 P 濃度の動態を検討した。

1. 筋肉内投与群において PGF 群濃度は投与後急激に上昇し、20 分で最高値 (9 ng/ml, 16.7 ng/ml, 7.7 ng/ml) を示すが、その後は急速に低下して 5 時間後までにはもとの濃度に復した。いっぽう、静脈内投与群においては処置後急激に上昇し、5 分以内に最高値 (58 ng/ml, 48 ng/ml, 100 ng/ml) に達し、その後急速に低下するが、処置前の濃度に復するには約 2 時間を要した。これら 2 つの群における PGF 群濃度が処置前の濃度に復すに要する時間は、ウシにおける STELLFLUG らの報告に比較して多少長いことが認められたものの、シバヤギにおいても PGF_{2α} の代謝時間は非常に短いことが認められた。

2. PGF_{2α} の黄体に及ぼす影響に関しては、妊娠中期の黄体に対して、図 2, 3 で示す通り顕著な P 分泌の抑制が認められ、処置後 2 日目に流産を引き起こした。性周期の異なる時期、すなわち退行期の黄体と新生黄体とでは図 5, 6 に示す通り PGF_{2α} に対する感受性に差が認められ、黄体退行期には PGF_{2α} の処置により顕著な P 濃度の低下を示した。しかし黄体新生期には処置後一時的に P 濃度は低下するが再び上昇する傾向が認められ、しかも次回の発情が早まることなく正常な周期で発現した。このことからシバヤギの新生黄体は百目鬼²⁰⁾、中原³⁾、HENRICKS らがウシで認めていると同様に、PGF_{2α} に対する感受性が低いものと推定された。

3. PGF_{2α} 投与後の P 濃度の変化は、投与直後および

筋肉内投与群においては 4~5 時間後、静脈内投与群においては 2 時間後の 2 回、それぞれピークを形成することが認められた。第 1 のピークに関しては、OKAMURA らがヒト黄体で認めているように、PGF_{2α} が黄体外鞘中の平滑筋に作用しこれを収縮させる結果生じたと推察された。

(1983. 5. 15 受付)

文 献

- 1) EERREIRA, S. H. & J. R. VANE: *Nature*, **216**, 868, 1967.
- 2) ROWSON, L. E. A., R. Tervit & A. BRAND: *J. Reprod. Fert.*, **29**, 145, 1972.
- 3) 中原(達): 日獣会誌, **29**, 51, 1976.
- 4) 中原(達)・百目鬼(郁)・金田(義)・加茂前(秀): 本誌, **21**, 135, 1975.
- 5) NANCARROW, C. D., J. BUCKMASTER, W. CHAMLEY, R. I. COX, I. A. CUMMING, L. CUMMINS, W. SCHNEIDER & G. D. THORBURN: *J. Reprod. Fert.*, **32**, 320, 1973.
- 6) FAIRCLOUGH, R. J., J. T. HUNTER & R. A. S. WELCH: *Prostaglandins*, **9**, 901, 1975.
- 7) STELLFLUG, J. N., T. M. LOUIS, H. D. HAFS & B. E. SEGUIN: *Prostaglandins*, **9**, 609, 1975.
- 8) KANO, Y., T. SAWASAKI & T. OYAMA: *Exp. Anim.*, **26**, 239, 1977.
- 9) 田中(幹)・田浦(保)・佐々木(伸)・山内(亮): 本誌, **29**, 140, 1983.
- 10) 百目鬼(郁)・中原(達)・山内(亮): 本誌, **20**, 95, 1974.
- 11) STELLFLUG, J. N., T. M. LOUIS, R. C. GOREWIT, W. D. OXENDER & H. D. HAFS: *Biol. Reprod.*, **17**, 535, 1977.
- 12) SPEROFF, L. & P. W. RAMWELL: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **30**, 345, 1970.
- 13) OKAMURA, H., T. OKAZAKI & A. NAKAJIMA: *Obstet. Gynec.*, **44**, 720, 1974.
- 14) THORBURN, G. D. & J. R. S. HALES: *Proc. Aust. Physiol. Pharm. Soc.*, **3**, 145, 1972.
- 15) HIXON, J. E. & W. HANSEL: *Biol. Reprod.*, **11**, 543, 1974.
- 16) KLOEZE, J.: *Prostaglandins*, Proceedings of the 2nd nobel symposium (BERGSTRÖM, S. & G. D. THORBURN, ed.) p. 241, Interscience, 1967.
- 17) MONCADA, S., R. GRYGLEWSKI, S. BUNTING & J. R. VANE: *Nature*, **263**, 663, 1976.
- 18) NAMBERG, M., J. SVENSSON, T. WAKABAYASHI & B. SAMUELSSON: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, **71**, 345, 1974.
- 19) 真木(正): 臨床病理, 臨時増刊特集第 32 号, 3, 1978.

- 20) 百目鬼(郁)・中原(達)・金田(義)・山内(亮): 本誌, 21, 89, 1975.
- 21) HENRICKS, D. M., J. T. LONG, J. R. HILL & J. F. DICKEY: *J. Reprod. Fert.*, 41, 113, 1974.

Summary

Concentrations of PGFs and progesterone in peripheral plasma of shiba-goats (small Japanese native goats with non-seasonal estrous cycles) injected with $\text{PGF}_{2\alpha}$ were determined by RIA. After intra-muscular injection of 3 mg $\text{PGF}_{2\alpha}$, plasma PGFs levels reached to the peak (9 ng/ml, 16.7 ng/ml, 7.7 ng/ml) at 20 min, post-injection, and then decreased rapidly. It took about 5 h for PGFs levels to resume the primary levels as shown in Figs. 1, 2 and 3.

On the other hand, after intra-venous injection of 3 mg $\text{PGF}_{2\alpha}$, plasma PGFs levels reached to the peak within 5 min and then decreased rapidly. It took about 2 h for PGFs levels to resume the primary levels (Figs. 4, 5 and 6). From these results, the metabolic time of $\text{PGF}_{2\alpha}$ in the shiba-goat was very short, though it was a little longer than that in cattle reported by STELLFLUG *et al.*

Luteolytic effect of $\text{PGF}_{2\alpha}$ was found to be very remarkable in pregnant goats (Figs. 2 and 3), both of which aborted 2 days after intra-muscular injection. In estrous cycles, however, sensitivity of corpus luteum to $\text{PGF}_{2\alpha}$ depended on the stage of the luteal phase. During late luteal phase, plasma progesterone levels decreased markedly after $\text{PGF}_{2\alpha}$ injection (Fig. 5). On the contrary, during early luteal phase (Day 3), progesterone levels decreased in just short period after injection, and increased again to initial levels (Fig. 6)

Two peaks were found in the plasma progesterone levels after $\text{PGF}_{2\alpha}$ injection. The first peak appeared shortly after injection and the second appeared 4-5 h later in intra-muscular injection group and 2 h later in intravenous injection group. The first peak might be caused by the contraction of capsules of the corpus luteum by direct action of $\text{PGF}_{2\alpha}$ as known in humans.