

# マウス子宮腺筋症に与える黄体ホルモン効果

岡部 瞳<sup>1</sup>, 鈴木敏恵<sup>2</sup>, 工藤秀機<sup>2</sup>, 鉢村和章<sup>2</sup>, 左雨秀治<sup>3</sup>, 坂本 忍<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 順天堂大学 産科婦人科

<sup>2</sup> 文京学院大学 保健医療技術学部 臨床検査学科

<sup>3</sup> 東京医科歯科大学 難治疾患研究所

## 要旨

近年、子宮内膜症の増加が問題となってきた。症状としては、月経困難症が強く、下腹部痛、腰痛、性交痛、排便痛などを訴える。その20～70%に不妊症を合併する。治療法としては、妊孕性温存の必要性のある場合が多く、保存的手術も行われるが、対症療法としての鎮痛剤投与、プロゲステロン療法、経口避妊薬ピルを使用する偽妊娠療法、男性ホルモン骨格を持つダナゾール療法、性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）アナログを使用する偽閉経療法、漢方療法などが一般的に行われている。最近、子宮内膜症の新しい内分泌療法として、低用量ピルと新しいプロゲステン製剤ジェノゲストが注目されている。

そこで今回、子宮腺筋症（子宮筋層内子宮内膜症）自然発生マウスであるSHN系未経産マウスを用いて、子宮腺筋症に与える黄体ホルモン作用の影響について検討した。子宮が慢性的に黄体ホルモン作用物質に暴露されると、デ・ノボ経路のDNA合成が抑制され、子宮腺筋症の発生が抑えられた。

今回の実験結果から、子宮内膜症に対する低用量ピルと新しいプロゲステン製剤ジェノゲストの治療効果が期待される。

## キーワード

子宮内膜症, 低用量ピル, 黄体ホルモン作用, マウス子宮腺筋症, DNA合成

## 緒言

近年、食生活を含む生活習慣の変化、ダイオキシンをはじめとする環境ホルモンの影響からか、子宮内膜症の増加が問題となってきた。軽症も含めると成人女性の一割前後とも言われている。病因論としては、体腔上皮化生説が最も古く、経血逆流、分娩・中絶・帝切などに起因する子宮内膜移植説が現在のところ最も有力である。その他にも、化生説と移植説を合わせた誘導説、リンパ行性・血行性転移説、免疫学的異常説などもある。いずれにしても、子宮内膜（類似）組織の異所性増殖を指し、子宮筋層内に存在するものを子宮腺筋症、それ以外の骨盤内腔に存在するものを子宮内膜症と呼んでいる。

症状としては、月経困難症（生理痛）が強く、下腹部痛、腰痛、性交痛、排便痛などを訴える。その20～70%に不

妊症を合併するので、婦人科的な問題ばかりではなく、家族的にも産科的にも大きな問題となっている。

治療法としては、妊孕性温存の必要性のある場合が多く、保存的手術も行われるが、種々の薬物療法も行われている。対症療法としての鎮痛剤投与、プロゲステロン療法、経口避妊薬ピルを使用する偽妊娠療法、男性ホルモン骨格を持つダナゾール療法、性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）アナログを使用する偽閉経療法、漢方療法などが一般的に行われている。

最近、低用量ピル、オーソ M-21（持田製薬）と同じ配合剤、ルナベル（ノーベル、富士製薬工業）が、子宮内膜症に伴う月経困難症に対して保険適応となった。低用量ピルが保険適応となったのは本剤が初めてである。本剤はノルエチステロン 1 mg とエチニルエストラジオール 35  $\mu$ g の配合錠であり、主にノルエチステロンの黄体ホルモン作用が、

子宮内膜の増殖を抑制し、下垂体前葉のLH、FSH分泌を抑制し、卵胞発育・排卵を抑制し、月経困難症を改善すると言われている。また、不正出血、悪心、頭痛、希発月経、上腹部痛、乳房不快感、過多月経、血栓症などの副作用も報告されている。

また、新しいプロゲステン製剤であるディナゲスト(ジェノゲスト：持田製薬)が出現した。プロゲステンは、黄体ホルモン作用と男性ホルモン作用を有する合成ゲスターゲン製剤であるが、このジェノゲスト(17 $\alpha$ -cyano- methyl-17 $\beta$ -hydroxy-estra-4,9-dien-3-one)は、19-ノルプロゲステンと黄体ホルモン誘導体の性格を持ち、子宮内膜に対して強い黄体ホルモン作用を示す。排卵抑制作用を有し、他のプロゲステンとは異なり、今まで副作用の原因となっていた男性ホルモン作用は示さず、抗男性ホルモン作用を有する。臨床的には、子宮内膜症に伴う月経困難症の改善効果が認められている。

黄体ホルモンは、生体内において主に卵巣で、コレステロールから代謝されて女性ホルモンのエストロゲンにいたるステロイド代謝の中間代謝産物の一つであり(図1)、妊娠、分娩には最も重要なホルモンの一つでもある。また、エストロゲン作用を受けて増殖相にある子宮内膜を、排卵後に黄体ホルモン作用が分泌相に移行させることは、細胞回転の上で、黄体ホルモン作用は増殖期の細胞を機能分化の方向へ向かわせるものと考えられる。チミジル酸合成酵素(TS: EC 2.1.1.45)およびチミジンキナーゼ(TK: EC 2.7.1.21)は、それぞれピリミジン代謝のデ・ノボ経路およびサルベージ経路に位置するDNA合成律速酵素であり、増殖の盛んな細胞でその酵素活性の増加していることが知られている<sup>1-5)</sup>。そこで今回、子宮腺筋症自然発生マウスであるSHN系未経産マウスを用いて、マウス子宮腺筋症(内性子宮内膜症)に与える黄体ホルモン作用の影響をTS、TK活性のレベルで検討した。

## 材料および方法

実験には、子宮腺筋症自然発生マウスである71日齢のSHN系未経産マウス(東京大学理学部動物学・守隆夫教授御提供)を用い、14匹ずつの3群に分けた。東京医科歯科大学実験動物施設内において、実験期間中は採光、温度、湿度は一定に保たれ、実験動物用普通飼料(CE-2, CLEA, 東京)および水道水は自由摂取とした。実験計画および動物取扱いは、東京医科歯科大学実験動物取り扱い規約および指針に従った。普通飼料(CE-2)のみの正常対照群、同じ飼料(CE-2)に結合型エストロゲン(E: 1.875

mg/kg 飼料：プレマリン、アサヒ化学工業、東京)を混合したE投与群、さらに、酢酸メドロキシプロゲステロン(P: 7.5 mg/kg 飼料：プロベラ、日本アップジョン、東京)も混合したEP投与群を作製し、230日間自由摂取させた。もし、20~30gのマウスが一日2~3gの飼料を摂取すると、EとPはそれぞれ0.19 mgおよび0.75 mg摂取することになることが推測される。300日齢にて頸椎脱臼により屠殺し、子宮を摘出して左子宮角を-80℃で凍結保存した。残りの右子宮角は、Bouin液で固定され、パラフィン包埋後、7 $\mu$ m連続切片にはHE染色が施された。凍結保存子宮のTS、TK活性は、Dunlapら<sup>2)</sup>の方法、Taylorら<sup>1)</sup>の方法に準じて測定され、pmol/mg protein/minuteで表した。

統計処理には、one-way analysis of variance (ANOVA)およびunpaired t-testが用いられ、p < 0.05をもって有意差ありとした。

## 結果

子宮腺筋症自然発生マウスであるSHN系雌マウスを用い、71日齢から230日間、EおよびEPを飼料に混合して摂取させ、300日齢での子宮への影響を表1に示した。マウス子宮腺筋症は図2に示すように、子宮筋内外層間の間質層内へ子宮内膜細胞が侵入して行く様子が認められ、子宮筋外層直下まで侵入してくると、肉眼的にも粒状空胞の存在が認められ、子宮の変形が認められる。

E単独投与では、子宮腺筋症発生に影響を与えなかったが、EP同時投与群では、子宮腺筋症発生は認められなかった(図3)(p < 0.01)。DNA合成系酵素TS、TK活性について検討すると、TK活性はどの群においても差が認められなかった。一方、TS活性はEP同時投与により他の群の60~70%にまで抑制されていた(p < 0.01)。

以上より、慢性的P影響下では、デ・ノボ経路のDNA合成が阻害され、子宮腺筋症の発生が抑制された。

## 考察

子宮内膜症に伴う月経困難症では、下腹部痛、腰痛が主たる症状であるが、ダグラス窩に進展した症例では、性交痛、排便痛、時として下痢などの直腸刺激症状を訴え、また、頭痛、悪心、嘔吐、微熱、うつ症状を訴えることもある。

子宮内膜症の治療には、男性ホルモン骨格を持つダナゾールも使われる。私共も、ダナゾールによりマウス子宮腺筋症を抑制し<sup>6)</sup>、ラット子宮内膜<sup>7)</sup>と前立腺<sup>8)</sup>のDNA合成を抑制することを報告した。また、GnRHアゴ

表 1 SHN マウス子宮腺筋症発生数, および子宮チミジル酸合成酵素 (TS) とチミジンキナーゼ (TK) 活性 (pmol/mg protein/minute)

	対照群 (n=14)	E 投与群 (n=14)	EP 投与群 (n=14)
子宮腺筋症発生	5/14	6/14	0/14**
TS 活性	32.4 ± 1.9	28.0 ± 2.7	19.6 ± 2.5** <sup>a</sup>
TK 活性	1.10 ± 0.14	0.94 ± 0.07	0.81 ± 0.11

Mean ± SEM (n = 14)

E: 結合型エストロゲン, P: 酢酸メドロキシprogステロン

TS: thymidylate synthase, TK: thymidine kinase

\*\* 対照群に対して p < 0.01 で有意差あり.

<sup>a</sup>E 投与群に対して p < 0.05 で有意差あり.

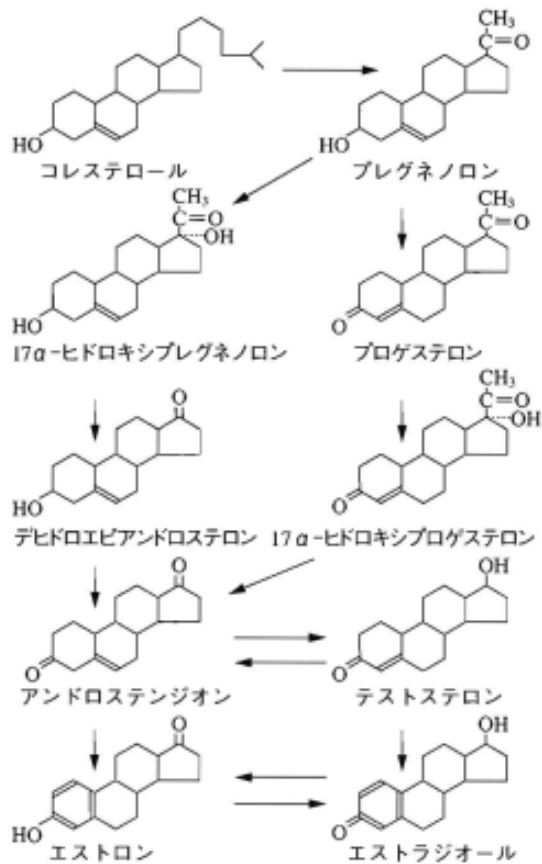


図 1 性ステロイド代謝マップ

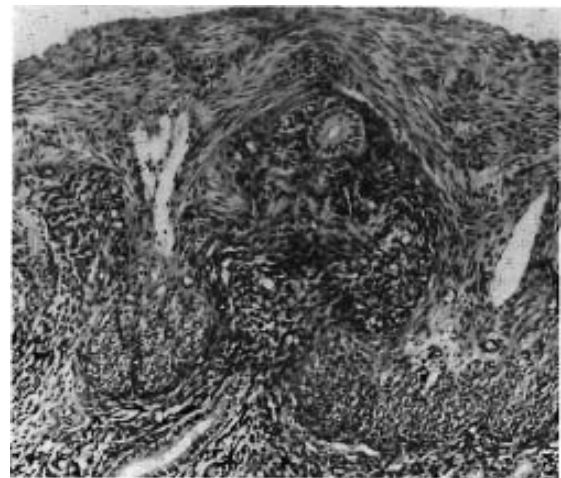


図 2 無処置および E 単独負荷 SHN マウス子宮  
子宮筋内外層間の間質層内へ子宮内膜細胞の侵入 (子宮腺筋症発生) が認められる.

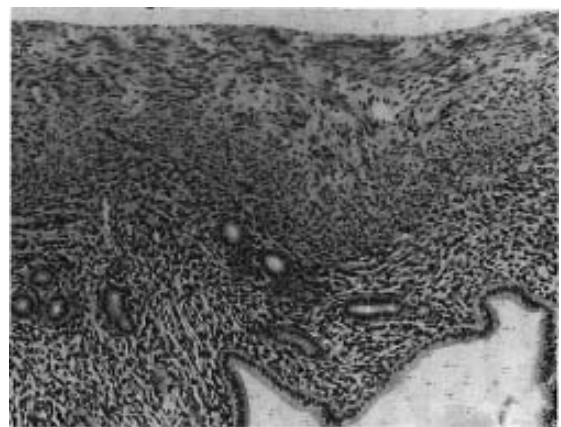


図 3 EP 負荷 SHN マウス子宮  
子宮腺筋症の発生が認められず.

ニストによる子宮筋腫治療の実際<sup>9)</sup>, その副作用としての骨量減少に対する治療モデルなどを提供した<sup>10, 11)</sup>. 保存的維持療法として, 臨床<sup>9, 12)</sup> と基礎<sup>13)</sup> の面から, 漢方薬桂枝茯苓丸の有効性を証明した.

最近, 子宮内膜症の新しい内分泌療法として, 低用量ピルとプロゲステン製剤ジェノゲストが注目されている. Vercellini らは, 低用量ピルと GnRH アゴニスト製剤, プロゲステン製剤を比較して, その治療効果は同等であるとしている<sup>14-16)</sup>. Harada らは, 低用量ピル・ルナベルによる治療を4ヵ月間行い, 月経痛, 慢性骨盤痛, 他覚的所見の顕著な改善効果を認めている<sup>17)</sup>. Cosson ら<sup>18)</sup> と, Harada ら<sup>19)</sup> は, ジェノゲストによる治療効果は GnRH アゴニストと同等であると報告している. いずれにしても, 子宮内膜に対する黄体ホルモン効果が, その決め手になっているようである.

そこで今回, マウス子宮腺筋症に与える黄体ホルモン作用の影響について検討した結果, 子宮が慢性的に黄体ホルモン作用物質に暴露されていると, デ・ノボ経路の DNA 合成が抑制され, 子宮腺筋症の発生が阻害された.

低用量ピルに含まれるエストロゲンは, 子宮の黄体ホルモン受容体を活性化させて黄体ホルモン作用を増強させ, ジェノゲストはその強い黄体ホルモン作用が, 直接子宮内膜に効果をもたらすものと考えられる. いずれにしても, 今回の実験結果からは, 子宮内膜症に対する低用量ピルと新しいプロゲステン製剤ジェノゲストの治療効果が期待される.

## 文献

- 1) Taylor AT, Stafford MA, Jones OW. Properties of thymidine kinase partially purified from human fetal and adult tissue. *J Biol Chem* 1972; 247: 1930-1935.
- 2) Dunlap RB, Harding NGL, Huennekens FM. Thymidylate synthetase from amethopterin-resistant *Lactobacillus casei*. *Biochemistry* 1971; 10: 88-97.
- 3) Sakamoto S, Iwama T, Ebuchi M, et al. Increased activities of thymidine kinase isozymes in human mammary tumours. *Br J Surg* 1986; 73: 272-273.
- 4) Sakamoto S, Kuwa K, Tsukada K, Sagara T, Kasahara N, Okamoto R. Relative activities of thymidylate synthetase and thymidine kinase in 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinomas in rats. *Carcinogenesis* 1987; 8: 405-408.
- 5) Okayasu I, Ohkusa T, Kajiura K, Kanno J, Sakamoto S. Promotion of colo-rectal neoplasia in experimental murine ulcerative colitis. *Gut* 1996; 39: 87-92.
- 6) Singtripop T, Mori T, Sakamoto S, Sassa S, Park M-K, Kawashima S. Suppression of the development of uterine adenomyosis by danazol treatment in mice. *Life Sci* 1992; 51: 1119-1125.
- 7) Suzuki S, Sakamoto S, Kudo H, et al. Effects of danazol on endometrial DNA synthesis in rats. *Steroids* 1993; 58: 551-553.
- 8) Sakamoto S, Mori T, Sawaki K, et al. Effects of danazol on DNA synthesis in rat prostate. *The Prostate* 1993; 22: 119-124.
- 9) Sakamoto S, Mitamura T, Iwasawa M, et al. Conservative management for perimenopausal women with uterine leiomyomas using Chinese herbal medicines and synthetic analogs of gonadotropin-releasing hormone. *in vivo* 1998; 12: 333-338.
- 10) Sakamoto S, Sassa S, Mitamura T, et al. Prevention of osteopenia induced with a gonadotropin-releasing hormone agonist in rats. *Calcif Tissue Int* 1999; 65: 152-155.
- 11) Sakamoto S, Sassa S, Kudo H, Suzuki S, Mitamura T, Shinoda H. Preventive effects of a herbal medicine on bone loss in rats treated with a GnRH agonist. 2000; 143: 139-142.
- 12) 坂本 忍, 酒巻義人, 中沢幸夫, 川崎 徹, 笠原典之, 岡本良平. 桂枝茯苓丸による子宮筋腫・子宮内膜症の治療. *産婦人科の世界* 1986; 38 (12) : 1247-1249.
- 13) Mori T, Sakamoto S, Singtripop T, Park M-K, Kato T, Kawashima S, Nagasawa H. Suppression of spontaneous development of uterine adenomyosis by a Chinese herbal medicine, Keishi-bukuryo-gan, in mice. *Planta Medica* 1993; 59: 308-311.
- 14) Vercellini P, Trespidi L, Colombo A, Vendola N, Marchini M, Crosignani PG. A gonadotropin-releasing hormone agonist versus a low-dose oral contraceptive for pelvic pain associated with endometriosis. *Fertil Steril* 1993; 60: 75-79.
- 15) Vercellini P, De Giorgi O, Mosconi P, Stellato G, Vicentini S, Crosignani PG. Cyproterone acetate versus a continuous monophasic oral contraceptive in the treatment of recurrent pelvic pain after conservative surgery for symptomatic endometriosis. *Fertile Steril* 2002; 77: 52-61.

- 16) Vercellini P, Pietropaolo G, De Giorgi O, Pasin R, Chiodini A, Crosignani PG. Treatment of symptomatic rectovaginal endometriosis with an estrogen-progestogen combination versus low-dose norethindrone acetate. *Fertil Steril* 2005; 84: 1375-1387.
- 17) Harada T, Momoeda M, Taketani Y, Hoshiai H, Terakawa N. Low-dose oral contraceptive pill for dysmenorrhea associated with endometriosis: a placebo-controlled, double-blind, randomized trial. *Fertil Steril* 2008; 90: 1583-1588.
- 18) Cosson M, Querleu D, Donnez J, et al. Dienogest is as effective as triptorelin in the treatment of endometriosis after laparoscopic surgery: results of a prospective, multicenter, randomized study. *Fertil Steril* 2002; 77: 684-692.
- 19) Harada T, Momoeda M, Taketani Y, et al. Dienogest is as effective as intranasal buserelin acetate for the relief of pain symptoms associated with endometriosis -- a randomized, double-blind, multicenter, controlled trial. *Fertil Steril* 2009; 91: 675-681.

## Progesterone Action is Effective on the Endometriosis?

Hitomi Okabe<sup>1</sup>, Satoe Suzuki<sup>2</sup>, Hideki Kudo<sup>2</sup>,  
Kazuaki Hachimura<sup>2</sup>, Shuji Sassa<sup>3</sup>, Shinobu Sakamoto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics & Gynecology, School of Medicine, Juntendo University

<sup>2</sup>Department of Clinical Laboratory Medicine, Faculty of Health Science, Technology,  
Bunkyo Gakuin University

<sup>3</sup>Medical Research Institute, Tokyo Medical & Dental University

### Abstract

Recently, for a treatment of dysmenorrheal with endometriosis, a low-dose oral contraceptive (norethisterone plus ethinylestradiol) and a new type progestin ( $17\alpha$ -cyano-methyl- $17\beta$ -hydroxy-estra-4,9-dien-3-one) have been used effectively. Progesterone action or progestomimetic action seem to show antiestrogenic action and cause differentiation of endometrial cells from the proliferative phase. In the present study, we investigated the effects of progesterone action on the uterine adenomyosis in mice. Thymidylate synthase and thymidine kinase are involved in de novo and salvage pathways for pyrimidine nucleotide synthesis, respectively. Long-term combined administration of conjugated estrogens and medroxy- progesterone acetate completely suppressed the development of uterine adenomyosis with a decrease in uterine thymidylate synthase activity in mice. Taken together, it is expected that progesterone action strongly inhibits DNA synthesis in the endometrial epithelium and/or endometrial cell-like cells in endometriosis.

**Key words** ——— endometriosis, adenomyosis, progesterone action, DNA synthesis

Bunkyo Journal of Health Science Technology vol.4: 7-12