

ヒト胎児肺組織による C₁₉ STEROID の AROMATIZATION 活性に関する研究

川崎医科大学 産婦人科学教室

(主任: 小川重男教授)

杉 山 守

(昭和59年6月30日受付)

Aromatization of C₁₉ Steroid by Human Fetal Lung Tissue

Mamoru Sugiyama

Department of Obstetrics and Gynecology
Kawasaki Medical School

(Accepted on June 30, 1984)

卵巣から分泌される *estrogen* は主として *estradiol* で, *estrone* は末梢組織で生合成されることは現在一般に認められている. それらの末梢組織としてはヒト肝, 毛嚢, 脂肪組織, ヒト胎児脳があげられているが, その他の部の *estrogen* 生合成とその詳細な生成機序は不明である.

ヒト胎児肺組織により, C₁₉ steroid が aromatization を受けることについて検索し, 下記の結果が得られた.

(1) ヒト胎児肺組織由来とされる WI-38 培養株細胞の培養液中に, 対照としたヒト卵巣 embryonal carcinoma 由来の培養株細胞の培養液中より, radioimmunoassay により *estrone* の有意の高値が, *estradiol*, *estriol* の値に差はないことが得られた.

(2) 川崎医科大学衛生学教室植木助教授により樹立, 維持されているヒト胎児肺由来 HEL-53 培養株細胞を ¹⁴C-androstenedione を基質として incubate し, 生成物を培養液より抽出, 数回のクロマトグラフィーにより純化を行い, 再結晶法にて *estrone* が 0.81% の転換率で生合成されることを確認した.

(3) 合法的人工妊娠中絶により患者の同意を得て得られた妊娠 16 週 2 日のヒト胎児肺組織を, ¹⁴C-androstenedione を基質として incubate し, クロマトグラム上 *estradiol* と近似の R_f を示す生成物を得, *estradiol* として再結晶を行ったが, 操作中に放射能が喪失し, 結果としてその生成物が *estradiol* でないことが確認された.

(4) 妊娠 19 週 5 日の合法的人工妊娠中絶により, 患者の同意を得て得られたヒト胎児肺組織につき下記の 4 種の incubation を行った. ① ¹⁴C-androstenedione を基質として肺組織, ② ¹⁴C-testosterone と肺組織, ③ ¹⁴C-androstenedione と腎組織, ④ ¹⁴C-

androstenedione と腓腹筋。その結果 ①においては **estrone**, **estriol** の生合成をそれぞれ 0.15%, 0.04% の転換率で同定し, ②においては **estrone** 生合成を 0.26% の転換率で同定した。③④においては **estrone** 生合成はみられなかった。

(5) HEL-53 培養株細胞を ^{14}C -cholesterol を基質として incubation したが, **estrogen** の生合成は認められなかった。

(6) HEL-53 培養株細胞を新生児臍帯血中値に近い培養液 ml 当たり 20.3 ng の **estrone**, 3.86 ng の **estradiol** を加え, ^{14}C -androstenedione を基質として incubate したが, **estrogen** の生合成は認められなかった。

上述の検索結果より *in vitro* でヒト胎児肺組織は **androstenedione**, **testosterone** より **estrone** を生合成する **aromatization** 活性を有することが認められ, また **estriol** 生合成の酵素活性も有することも示唆された。しかし, この **aromatization** 活性の *in vivo* における意義については不明で, 今後さらに検索されるべきであると考え。

It is generally accepted that the estrogen secreted from the ovary is mainly estradiol, and that estrone is biosynthesized in peripheral tissue such as liver, hair follicles, adipose tissue and fetal brain. Other sites of estrone biosynthesis and the detailed mechanism of its biosynthesis remain obscure.

The aromatization of C_{19} steroid by human fetal tissue was studied. A higher value of estrone was found by radioimmunoassay in the culture medium of cell line stemmed from fetal lung tissue (WI-38) than that from human ovarian embryonal carcinoma, but the values of estradiol and estriol did not differ from the control. After incubation of cell line stemmed from human fetal lung tissue HEL-53 with ^{14}C - Δ^4 -androstenedione as the substrate, estrone was identified to be synthesized at the conversion rate of 0.81% by recrystallization. Human fetal lung tissue obtained by legal artificial abortion with the patient's consent (pregnancy, 16 weeks 2 days) was incubated with ^{14}C - Δ^4 -androstenedione. The radioactivity of a product having on Rf similar to estradiol was last in repeated recrystallization, and thus the product was confirmed not to be estradiol. With other human fetal tissues (pregnancy 19 weeks 5 days), 4 incubations were carried out: (1) fetal lung tissue with ^{14}C - Δ^4 -androstenedione, (2) fetal lung tissue with ^{14}C -testosterone, (3) fetal kidney with ^{14}C -androstenedione, and (4) fetal gastrocnemius muscle with ^{14}C -androstenedione. In (1), estrone and estriol were identified with conversion rates of 0.15% and 0.04%, respectively. In (2), estrone was identified with a conversion rate of 0.26%. No estrogen biosynthesis was confirmed in (3) and (4).

After incubation of the HEL-53 cell line with ^{14}C -cholesterol as the substrate, no biosynthesis of estrogen was identified.

The HEL-53 cell line was incubated with 20.3 ng/ml of unlabeled estrone and of 3.86 ng/ml of estradiol, the concentrations in neonatal umbilical vein, and with ^{14}C -androstenedione as the substrate, but no biosynthesis of estrogen was identified.

It was concluded that human fetal lung tissue has in vitro aromatization activity for the biosynthesis of estrone from Δ^4 -androstenedione and testosterone. The enzyme activity to biosynthesize estriol was suggested. However, the biological significance of the aromatization in vivo has to be further investigated.

Key Words ① Fetal lung ② Estrone biosynthesis ③ Extragonadal aromatization

はじめに

現在一般にヒト卵巣より分泌される estrogen は, testosterone より生合成された estradiol が主で, estrone はそのかなりの部分が性腺以外の末梢で androstenedione より生合成されると考えられており, その末梢組織としては, ヒト成人肝組織,¹⁾ ヒト毛嚢組織,²⁾ 皮下脂肪組織,^{3,4)} ヒト胎児脳⁵⁾ などがあげられている. しかし, その他の臓器での estrone の生合成や, その機序については不明の点が多い. 著者は, ヒト胎児肺組織に, androstenedione (以下 A と略) および testosterone (以下 T と略) の aromatization 活性が見られることを認めたので報告する.

検索材料および方法

1) 検索材料

ヒト胎児肺組織由来とされる WI-38 培養株は, FLOW Lab USA より購入.

川崎医科大学衛生学教室植木絢子助教授により樹立, 維持されているヒト胎児肺組織由来 HEL-53 培養株.

合法的に人工妊娠中絶で, 患者の同意を得て得られた妊娠16週2日, 19週5日の胎児肺, 腎臓, 膵臓.

2) 薬品

検索に用いた有機溶媒は, すべて和光純薬の特級を用いた.

非標識 steroid は, Sigma Chem. Co. より購入.

標識 steroid [4-¹⁴C]-androstenedione (比

放射能, 57 mCi/mmol), [4-¹⁴C]-cholesterol (比放射活性, 57 mCi/mmol), [4-¹⁴C]-testosterone (比放射能, 53.5 mCi/mmol) は, Amersham Radiochemical Centre (Buckinghamshire) より購入.

3) 検索方法

(1) WI-38 培養株の培養液中の steroid 測定
WI-38 培養株細胞を Eagle の minimum essential medium (MEM) に 20% 牛胎仔血清を加え, TD 瓶にて培養, 培養 72 時間後の培養液を採取し, radioimmunoassay により estrone (以下 E₁ と略), estradiol (以下 E₂ と略), estriol (以下 E₃ と略) を測定した.

(2) HEL-53 培養株細胞を前記と同様 MEM 培養液に, 121°C 15 分で滅菌した ¹⁴C-A 261.9 nmol (15 μCi) を基質として加えて TD 瓶内で, 37°C, 振盪し 72 時間培養し, 72 時間後に ethyl acetate を加え反応を停止させ, その生成 steroid につき Fig. 1 に従って抽出, 純化同定した. すなわち ethyl acetate にて抽出し, それに非標識 E₁, E₂, E₃ それぞれ 500 μg を carrier として加え, ethyl acetate で抽出し, ligroin, methanol で分配し detating を行い, つづいて phenolic fraction を抽出し, 薄層クロマトグラフィー, (benzen: ethyl acetate = 3:2), (cyclohexan: ethyl acetate = 8:5) 2 回に続いてペーパークロマトグラフィー (isooctane: toluen: methanol: water = 25:75:80:20) を行い, さらに薄層クロマトグラフィー (chloroform: ethyl acetate: methanol = 50:20:1) を行って純化した. これに非標識 steroid 10mg~15mg を加え, Axelrod ら⁶⁾

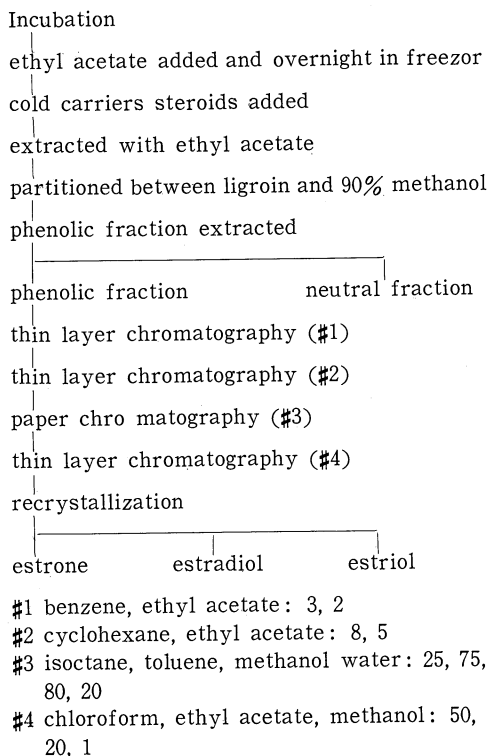


Fig. 1. Method of Steroids Analysis

の方法に従い aceone, pentane 系にて再結晶を行い、放射化学的均質性の判定は連続2回の再結晶において結晶の比放射能が±5%以内であるか、最終回の再結晶において結晶と母液の比放射能が±5%以内にあることにより生成 steroid の同定を行った。生成 steroid の全生成量は、Collins ら⁷⁾の計算方式に従い、全過程での steroid 回収率を、加えた非標識 steroid の呈色反応による回収率と再結晶による purity より補正した。呈色反応は Brown⁸⁾の Quinol 硫酸法に従い 515 nm にて吸光度測定した。

以下すべての検索にも同様であるが、基質の標識 steroid は使用直前にペーパー、薄層クロマトグラフィーを1回づつ行い純化して使用した。

(3) ヒト胎児臓器は、特定な疾患を有さず、優性保護法上経済的理由の適応で人工妊娠中絶を受けて娩出されたヒト胎児で、第1例は妊娠

16週2日の女子胎児、第2例妊娠19週5日の女子胎児につき、娩出後第1例では肺 1610 mg, 第2例では肺 500 mg, 600 mg 腎 700 mg, 腓腹筋 600 mg を剔出し、4°C 生理的食塩水で水洗し、細切し、Krebs-Ringer phosphate buffer 4 ml を用い、これに直ちに基質を加え、37°C 1時間、空気中で incubation し、1時間後 ethyl acetate を加えて反応を停止し、氷室で12時間静置し、その後 E₁, E₂, E₃ の非標識 steroid 500 μg ずつ carrier として加え前記(2)と同様の操作で抽出、純化、再結晶法にて生成 steroid を同定した。加えた基質は第1例 ¹⁴C-A 174.6 nmol (10 μCi), 第2例は肺 ¹⁴C-A 150 nmol (8.55 μCi), 肺 ¹⁴C-T 150 nmol (8.025 μCi), 腎、腓腹筋それぞれ ¹⁴C-T 150 nmol であった。

(4) ヒト胎児肺組織に cholesterol(以下 Cho と略) から estrogen 生合成能を有するか否かを検する目的で、(2)と同様の条件で HEL-53 培養株の培養液に ¹⁴C-Cho 200 nmol (10.4 μCi) を加え 37°C 72時間 incubation し、steroid を検索した。

(5) in vivo の条件に近似させる目的で、新生児臍血中に含まれる E₁, E₂ が培養液中に存在する様に培養液 ml 当たり E₁ 20.3 ng, E₂ 3.86 ng を加え、(2)と同様の条件下で HEL-53 株を使用し、¹⁴C-A 200 nmol (10.7 μCi) を基質として incubation し、生成 steroid を検索した。

検 索 結 果

1) WI-38 培養株培養液中の E₁, E₂, E₃ 生成。TD 瓶にて MEM に 20% 牛胎仔血清を加え、72時間培養した培養液中の E₁, E₂, E₃ を radio-immunoassay で測定し得られた値は、それぞれ E₁ 47.8 pg/ml, E₂ 10 pg/ml 以下, E₃ 10 pg/ml 以下で、対照として使用したヒト卵巣 embryonal carcinoma 由来株 AS II 培養株の培養液中の E₁ 10 pg/ml 以下, E₂ 10.6 pg/ml, E₃ 10 pg/ml 以下より E₁ 値は有意に高値であった (Table 1)。

Table 1. Estrogens Values in the Mediums of Cell Lines WI-38, AS II

| | estrone | (pg/ml medium) | |
|--|---------|----------------|---------|
| | | estradiol | estriol |
| WI-38 (human fetal lung cell) | 47.8 | <10 | <10 |
| AS II (human ovarian embryonal carcinoma) | <10 | 10.6 | <10 |

* Determination by radioimmunoassay
 * Medium: Eagle's M EM+20% calf serum

2) HEL-53 培養株細胞による ¹⁴C-A の aromatization 活性.

検索方法 (2) に述べた方法条件で incubation を行い, Fig. 1 に示した方法に従い生成 steroid を抽出純化し, クロマトグラフ上 E₁ の R_f に相当する放射性生成物を得, 再結晶法で同定を行い, その生成 steroid が E₁ であることを確認した. E₂ 生成は見られなかった. 再結晶による最終回 2 回の結晶の比放射能は, **Table 3**

のごとくであった. 生成 E₁ の substrate に対する conversion rate は, 0.81% であった (**Table 2**).

3) ヒト胎児 (第 1 例) 肺と ¹⁴C-A との incubation では抽出, 純化の過程でクロマトグラフ上 E₂ と近似の R_f を有する steroid 生成が見られ, E₂ を想定して, 再結晶を行ったところ, その過程に放射能が完全に喪失され, この生成 steroid が E₂ でなかったことが証明された.

4) ヒト胎児 (第 2 例) につき検索 (a) 肺 500 mg 例では ¹⁴C-A 150 nmol を基質とし, (b) では肺 600 mg に ¹⁴C-T 150 nmol を基質として, 検索方法 (3) の項で述べたと同様の方法で 1 時間 incubation し, 生成 steroid を検索した. (a) において ¹⁴C-A を基質とした場合は E₁, E₃ の生成が, 再結晶法により同定されたが, E₂ 生成は認められなかった. そして E₁,

Table 2. Aromatization of Androstenedione and Testosterone by Human Fetal Lung

| cell-line or tissue | substrate | products estrone | (%conversion rate) | |
|---|----------------------------------|----------------------|--------------------|-------------------------|
| | | | estradiol | estriol |
| HEL-53 | androstenedione 261.9 n moles | 2.12 n moles (0.81%) | n. d. | n. d. |
| human fetal lung case I 1610 mg | androstenedione 174.6 n moles | n. d. | n. d. | n. d. |
| human fetal lung case II (a) 500 mg | androstenedione 150 n moles | 0.23 n moles (0.15%) | n. d. | 0.06 n moles (0.04%) |
| human fetal lung case II (B) 600 mg | testosterone 150 n moles | 0.39 n moles (0.26%) | n. d. | n. d. |

n. d.: not detected

Table 3. Specific Activity of the Crystals Biosynthesized From C₁₉ Steroids

| cell-line or tissue | steroid biosynthesized | substrate | specific activity | |
|---------------------------|------------------------|---------------------------------|-------------------|------|
| | | | n-1 | n |
| HEL-53 | estrone | ¹⁴ C-androstenedione | 140 | 138 |
| human fetal lung (case 2) | estrone | ¹⁴ C-androstenedione | 113 | 111 |
| | estriol | ¹⁴ C-androstenedione | 43.2 | 42.7 |
| human fetal lung (case 2) | | ¹⁴ C-testosterone | 223 | 220 |

E_3 生成の基質に対する conversion rate はそれぞれ0.15%, 0.04%であった (Table 2). この場合の E_1 , E_3 の最終回2回の結晶の比放射能は Table 3 に示した. b) において $^{14}\text{C-T}$ を基質とした場合は, E_1 生成をみたが E_2 , E_3 の生成はみられず, その基質に対する conversion rate は, 0.26%であった (Table 2). この場合の E_1 の最終回2回の結晶の比放射能は Table 3 に示した. またヒト胎児腎 600 mg 腓腹筋 400 mg を $^{14}\text{C-A}$ を基質とした培養では, E_1 , E_2 , E_3 のいずれの生成もみられなかった.

5) HEL-53 培養株細胞を $^{14}\text{C-cho}$ を加えた20% 牛胎仔血清を含む Eagle MEM 培養液で incubation した成績.

(2) で示したと全く同様の操作で incubation を行い抽出, 純化し生成 steroid を検索したが, E_1 , E_2 , E_3 のいずれの生合成も認められなかった.

6) HEL-53 培養株細胞を $^{14}\text{C-A}$, 非標識 steroid E_1 , E_2 をそれぞれ培養液中で 20.3 ng/ml, 3.86 ng/ml になるように加えて行った incubation の成績.

(2) で示したと同様の操作で incubation を行い抽出, 純化し生成 steroid を検索したが, 標識 E_1 , E_2 生成は見られなかった.

考 察

ヒト体内における性腺外の estrogen 生合成については, 古くは West ら⁹⁾ (1956) が乳癌患者で去勢, 副腎剔除婦人に T を投与したところ, 投与前見られなかった estrogen の生成があることを報告しており, これが性腺外 estrogen 生成を示唆した初めての報告と考えられるが, その後 MacDonald ら¹⁰⁾ (1967) は正常男子, 女子に $^{14}\text{C-A}$, $^3\text{H-E}_1$ を投与し, 尿中での E_1 の $^{14}\text{C}/^3\text{H}$ より A より E_1 への conversion について検索し 卵巣剔除, 副腎剔除でもその値が同様のことから, これらの部以外の conversion を主張した. さらに続いてこれら C_{19} steroid の aromatization につき, ヒト臓器に

ついて, Naftolin ら⁵⁾ (1975) はヒト胎児視床下部, Schindler¹¹⁾ (1975) はヒト胎児大脳, Ryan ら¹²⁾ (1972) はヒト妊娠 first trimester 胎児脳で A より E_1 への conversion を証明, Schindler¹³⁾ (1972) はヒト脂肪細胞につき aromatization を in vitro で証明, George ら¹⁴⁾ (1978) はヒト胎児卵巣で A, T より E_1 , E_2 の生成を報告し, Edman ら⁴⁾ (1978) が in vivo で肥満者で A の E_1 への aromatization が高率であることを述べ, さらに in vitro でヒト脂肪組織につき Nimrod⁹⁾ (1975) はヒト腹壁, 乳房脂肪組織で C_{19} steroid の aromatization を報告し, Schweikert²⁾ (1975) はヒト毛嚢を A を基質として in cubate し E_1 生合成を認め, また Smuk ら¹⁾ (1977) はヒト成人肝組織ホモジネイトで, A を基質とした場合 E_1 , E_2 が認められたとし, E_2 の生成は肝における 17β -hydroxysteroid dehydrogenase 活性が関与しているのであろうとしている. また Schindler¹¹⁾ が double isotope 法により, ヒト胎児で上記臓器の他に肝, 副腎, 肺, 胸腺, 心, 皮フ, 腸管で aromatization がみられたとしている. C_{19} steroid の性腺外 aromatization の部位は上記の如く種々論じられているが, ヒト胎児肺における aromatization については, Schindler がその存在を報告しているが, その検索法は double isotope 法によるものであり, その詳細には殆どふれていないのが現状である. 著者はヒト胎児肺による A および T の aromatization 活性について, ヒト肺由来細胞株 WI-38 培養液内 E_1 の対照に比しての有意な高値, HEL-53 培養株細胞とヒト胎児肺組織につき A を基質とした incubation で E_1 の生成を認めることができた.

A 以外の precursor よりの aromatization については, L. de Thibault de Boesinghe ら¹⁵⁾ (1974) は, 乳癌組織で T より E_1 , E_2 生成, Mancuso ら¹⁶⁾ (1965) は, ヒト胎児肝灌流で T より E_2 生成をみたが, DHA では aromatization はみられなかったとし, Conicks ら¹⁷⁾ (1977) は, 19 -hydroxy-A は A より E_1 への

intermediate であるとし、Wu ら¹⁸⁾ (1970) は、胎児胃腸で DHA より E₁ sulfate, 肝で E₂ sulfate, E₃ sulfate の生合成, 胃腸, 肝, 皮フで free では E₃ のみ生合成したという。またヒト胎児視床下部で Naftolin ら⁹⁾ は、19 α -ethynyl-19-nor-T より E₁, E₂ の生成をみたと報告している。著者らの検索では、ヒト胎児肺組織 incubation で T より E₁ の生成がみられた。これにつき Naftolin ら (1975) がヒト胎児脳の in vitro incubation で、A より E₂ の生成をみたことから 17 β -oxido reductase があることを述べているが、それが aromatization の前か後かは不明としており、著者らの検索でもそれは不明であった。

C₁₉ steroid の aromatization による性腺外 E₁ 生成率は、in vitro の検索では Longcope ら¹⁹⁾ (1969) は、A より E₁ は男 1.35%, 女 0.74%, T より E₂ は男 0.39%, 女 0.15% とし、L. de Thibault de Boesinghe ら¹⁵⁾ (1974) は、乳癌組織で in vitro で T より E₁ への転換は 0.2~3.9%, E₂ へは 0.2~4.0% とし、MacDonald ら¹⁰⁾ (1967) は、A の E₁ への conversion rate は成人男子女子共に 1.3% であり、A の production rate/24 hrs が女子 3400 μ g 男子 1400 μ g であり、従って A より E への 24 時間の conversion は女子 44 μ g 男子 18 μ g であろうとしている。これは女子では全 E₁ 量の 25~50%, 男子では 10~25% に相当すると言う。更に Aiman ら²⁰⁾ (1977) は、正常閉経婦人では A より E₁ への conversion rate は 2.5% であり、T への conversion は 5% であるという。Schindler¹¹⁾ (1975) は、ヒト胎児大脳などにつき A から E₁ へ 0~50.935% の conversion を報告しているが臓器によりかなりの差異がある。Smuk ら¹⁾ (1977) は、ヒト成人肝の A より E₁ へは 0.09%, E₂ へは 0.13% としているが、この検索では回収率の補正が行われていない。

著者の検索では使用された WI-38 培養株は、ヒト胎児肺由来として確立されており、その培養液中には 20% の牛胎仔血清が含まれているが、その中の steroid 測定では対照に比し

て明らかに E₁ が高値であり、E₂ は測定されておらず、この cell line が TD 瓶内において E₁ を生成していると考えられる。その precursor としては牛胎仔血清に含まれる steroid が考えられる。

同様にヒト胎児肺組織由来とされる HEL-53 細胞株を TD 瓶中で、20% 牛胎仔血清と Eagle MEM 培養液で培養し、これに滅菌した ¹⁴C-A 261.9 nmol 加え incubation した検索では、¹⁴C-E₁ が 2.12 nmol 生成され、これは基質に対して 0.81% の転換率に相当した。以上より本検索では、ヒト胎児肺細胞株による E₁ の生成が確認され、その転換率は Smuk らのヒト成人肝組織の A の E₁ への転換率 0.09% に比べると高率であった。

次にヒト胎児肺組織そのものを使用して行った incubation 第 1 例の検索では ¹⁴C-A を基質として使用し、1 時間 Krebs Ringer phosphate buffer 4 ml を medium として行い、生成ステロイドを抽出純化する過程で、クロマトグラム上非標識 E₂ と同一の R_f を示す放射能ピーク部を再結晶を行ったところ、その過程で放射能が消失し E₂ でないことが確認され、第 2 例においては、検索 (a) では肺 500 mg 基質 ¹⁴C-A 150 nmol (8.55 μ Ci) 検索 (b) では肺 600 mg 基質 ¹⁴C-T 150 nmol (8.025 μ Ci) を使用して incubation を行ったが共に E₁ の生成がみられ、(a) では基質に対して転換率は 0.15%, (b) では 0.26% で E₂ はいずれも生成がみられなかった。これによりヒト胎児組織は、in vitro において A および T より E₁ を生合成する aromatase 活性を有することが認められ、T からも E₁ 生合成がみられたことは 17 β dehydrogenase 活性を有しているとも考えられた。また第 2 例では E₃ 生成が転換率 0.04% で認められた。このことは、E₁ より E₂ が生成し、また A より T を経て E₂ が生成したか、いずれかで E₂ が生成し、続いて 16 の hydroxylation を経て E₃ が生成したことおよび生成した E₂ が直ちに E₃ に転換したことを示唆するが、その詳細は今回の検索では不明であった。なお同時に行ったヒト胎児腎、腓腹筋

組織では A より E_1 の生成はなかった。

C_{21} steroid 或は cho からの性腺外 estrogen の生成についての報告はないが、著者の HEL-53 細胞株によって生成される E_1 が、cho より生成されたか否かを検索する目的で、TD 瓶培養液に ^{14}C -cho 200 nmol 加えて incubation した検索では、 E_1 の生成はなく、 ^{14}C -cho より estrogen 生合成を行う酵素活性は認められなかった。

C_{19} steroid の estrogen への conversion, aromatization 活性の活性度の制禦調節については、体重、年齢、性差、去勢～性腺機能、steroid 投与などが conversion rate へ影響を与えられている。体重、年齢の増加は conversion rate を増加させることを Macdonald ら²¹⁾ (1978), Longcope ら¹⁹⁾ (1971), Hemsell ら²²⁾ (1974), Rizkallah ら²³⁾ (1975) が報告し、Naftolin ら (1975) は動物実験で、conversion rate は雌性動物が雄性動物より大で、 E_1 の前投与をすると上昇し、上昇は雌性動物の方が高く、T の前投与で雌性動物では上昇したが雄性動物では影響がなく、progesterone の前投与では下降したとし、さらに antiandrogen 剤の前投与では、aromatization は強く抑制されたとし、androgen の中枢作用は antiandrogen で block されることから、androgen の中枢作用にとっては conversion された estrogen が重要な作用を有するとし、又去勢が上記 conversion rate を上昇させ、それは雌性動物の上昇の方が雄性動物のそれより大であるという。

著者の検索ではすべてが in vitro で行われたので、この点については不明であるが、ヒト胎児臍帯静脈血中 estrogen 値に相当する E_1 , E_2 を HEL-53 培養株培養液に加えた場合、付加しなかった場合は E_1 生成がみられたのに反し、 E_1 , E_2 いずれも生成がみられず、生成物による抑制を思わせる所見が得られた。しかし、この点については、Schwarzal ら (1973), Raddy ら²⁴⁾ (1973) が androgen aromatization は、product inhibition を受けない特長があると述べていることと相反する。この点は

今後の検索が必要であろう。

C_{19} steroid の性腺外 aromatization による E_1 生成、生成した E_1 の生物学的意義、aromatization の in vivo の制禦機構についてはなお不明の点が多く更に研究が進められるべきと考ええる。

結 論

1) ヒト胎児肺組織由来とされる WI-38 培養株の培養液中に E_1 が 47.8 pg/ml と認められ、対照としたヒト卵巣 embryonal carcinoma 株の培養液中の 10 pg/ml 以下より高値で、同培養株細胞が E_1 生合成能を有することが示唆された。

2) そこで同様ヒト胎児肺組織由来とされ、川崎医科大学で樹立維持されている HEL-53 株の培養液に ^{14}C -A を基質として incubate したが、 E_1 生成がみられ、その conversion rate は 0.18% であった。

3) ヒト胎児 (第 1 例 16 週 2 日) の肺と ^{14}C -A を基質として incubation を行ったが、純化の過程で E_2 とクロマトグラム上同様の Rf の生成物を得て、 E_2 と考えて再結晶を行ったが、再結晶中に放射能が消失し、 E_2 の生成のないことが確認された。

4) ヒト胎児 (第 2 例 19 週 5 日) ヒト胎児肺を 2 分し、一方に ^{14}C -A 他方に ^{14}C -T を基質として incubate し、前者で E_1 , E_3 が生成し、その conversion rate は 0.15%, 0.04% で、後者では E_1 のみが生成し、0.26% の conversion rate であった。

5) 同時に行った胎児腎、筋については、estrogen の生成はみられなかった。

6) HEL-53 培養株細胞の培養液に、 ^{14}C -cho を基質として加え incubate したが、estrogen 生成はみられなかった。

7) HEL-53 培養株細胞の培養液に、新生児臍帯血中濃度に従い ml 当たり E_1 20.3 ng, E_2 3.86 ng を加え、A を基質として incubation を行ったが、estrogen の生成はみられず、production inhibition の可能性が示唆された。

上記の検索結果より、ヒト胎児肺組織が *in vitro* で aromatization 活性を有することが証明された。しかし、肺における aromatization 能が *in vivo* では、どのように性腺外 aromatization に関与しているか、その生理学的意義、制御機構については、今後更に追求されるべき課題と考える。

本論文の要旨は、第30回日本産婦人科学会学術講演

会、第51回日本内分泌学会総会、第9回International Federation of Obstetrics and Gynecologyにて講演した。

稿を終るにあたり、HEL-53 培養株を提供され、培養の細部に亘って御指導いただいた本学衛生学教室植木絢子助教授に深く謝意を表し、本研究の細部にまで亘り直接御指導賜った川崎医科大学産婦人科学教室小川重男教授に深甚の感謝を捧げます。

文 献

- 1) SmuK, M. and Schwers, J.: Arometization of androstenedione by human adult liver *in vitro*. J. Clin. Endocrinol. Metab. 45: 1009—1012, 1977
- 2) Schweikert, H. U., Milewich, L. and Wilson, J. D.: Aromatization of androstenedione by isolated human hairs. J. Clin. Endocrinol. Metab. 40: 413—417, 1975
- 3) Nimrod, A. and Ryan, K. J.: Aromatization of androgens by human abdominal and breast fat tissue. J. Clin. Endocrinol. Metab. 40: 367—372, 1975
- 4) Edman, C. D. and MacDonald, P. C.: Effect of obesity on conversion of plasma androstenedione to estrone in ovulatory and anovulatory young women. Am. J. Obstet. Gynecol. 130: 456—461, 1978
- 5) Naftolin, F., Ryan, K. J., Davis, I. J., Reddy, V. V., Flores, F., Petro, Z. and Kuhn, M.: The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues. Recent. Prog. Horm. Res. 31: 295—319, 1975
- 6) Axelrod, L. R., Matthijssen, C., Goldziehen J. W. and Pulliam, Y. E.: Definitive identification of microquantities of radioactive steroids by recrystallization to constant specific activity. Acta Endocrinol. Suppl. 99: 7—66, 1965
- 7) Collins, W. P., Mansfield, M. D., Bridges, C. E. and Sommerville, I. F.: Studies on steroid metabolism in human endometrial tissue. Biochem. J. 113: 399—407, 1969
- 8) Brown, J. B.: Some observations on the kober colour and fluorescence reactions of the natural oestrogens. J. Endocrinol. 8: 196—210, 1952
- 9) West, C. D., Damast, B. L., Sarro, S. D. and Pearson, O. H.: Conversion of testosterone to estrogens in castrated, adrenalectomized human females. J. Biol. Chem. 218: 409—418, 1956
- 10) MacDonald, P. C., Rombaut, R. P. and Siiteri, P. K.: Plasma precursors of estrogen. I. Extent of conversion of plasma Δ^4 -androstenedione to estrone in normal males and nonpregnant normal, castrate and adrenalectomized females. J. Clin. Endocrinol. Metab. 27: 1103—1111, 1967
- 11) Schindler, A. E.: Steroid metabolism of fetal tissues II conversion of an drostenedione to estrone. Am. J. Obstet. Gynecol. 123: 265—268, 1975
- 12) Ryan, K. J., Naftolin, F., Reddy, V., Flores, F. and Petro, Z.: Estrogen formation in the brain. Am. J. Obstet. Gynecol. 114: 454—460, 1972
- 13) Schindler, A. E., Ebert, A. and Friedrich, E.: Conversion of androstenedione to estrone by human fat tissue. J. Clin. Endocrinol. Metab. 35: 627—630, 1972
- 14) George, F. W. and Wilson, J. D.: Conversion of androgen to estrogen by the humand fetal ovary. J. Clin. Endocrinol. Metab. 47: 550—555, 1978

- 15) de Thibault de Boesinghe, L., Lacroix, E., Eechaute, W. and Leusen, I.: Oestrogen synthesis by human breast carcinomas. *Lancet* 1268, 1974
- 16) Mancuso, S., Dell'Acqua, S., Eriksson, G., Wiqvist, N. and Deczfasuly, E.: Aromatization of androstenedione and testosterone by the human fetus. *Steroids* 5: 183—197, 1965
- 17) Canick, J. A., Vaccaro, D. E., Ryan, K. J. and Leeman, S. E.: The aromatization of androgens by primary monolayer cultures of fetal rat hypothalamus. *Endocrinology* 100: 250—253, 1977
- 18) Wu, C., Archer, D. F., Flickinger, G. L. and Touchstone, J. C.: *In vitro* oestrogen biosynthesis in fetal organs of midpregnancy. *Acta. Endocrinol.* 65: 675—682, 1970
- 19) Longcope, C., Kato, T. and Horton, R.: Conversion of blood androgens to estrogens in normal adultmen and women. *J. Clin. Invest.* 48: 2191—2201, 1969
- 20) Aiman, J., Nalick, R. H., Jacobs, A., Porter, J. C., Edman, C. D., Vellios, F. and MacDonald, P. C.: The origin of androgen and estrogen in a virilized postmenopausal woman with bilateral benign cystic teratomas. *Obstet. Gynecol.* 49: 695—704, 1977
- 21) MacDonald, P. C., Edman, C. D., Hemsell, D. L., Porter, J. C. and Siiteri, P. K.: Effect of obesity on conversion of plasma androstenedione to estrone in postmenopausal women with and without endometrial cancer. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 130: 448—455, 1978
- 22) Hemsell, D. L., Grodin, J. M., Brenner, P. F., Siiteri, P. K., MacDonald, P. C.: Plasma precursors of estrogen. II. correlation of the extent of conversion of plasma androstenrdione to estrone with age. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 38: 476—479, 1974
- 23) Rizkallah, T. H., Tovell, H. M. M. and Kelly, G. W.: Production of estrone and fractional conversion of circulating androstenedione to estrone in women with endometrial carcinoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 40: 1045—1056, 1975
- 24) Rddy, V. V. R., Naftolin, F. and Ryan, K. J.: Aqomatization in the central nervous system of Rabbits: Effects of castration and hormon treatment. *Endocrinology* 92: 589—594, 1973