Experimental Study on Offspring of Wistar Strain Rats Treated with Antithyroid Medication (Methiocil) for Successive Generations

By

Hajime ARAI

Department of Pathology, School of Medicine, Kyoto University (Director : Prof. Kôzô Okamoto)

A total of 10 Wistar rats, 5 females and 5 males, 90 days of age, were given intramuscular injections of methiocil in a daily dose of 7.5 mg/100 g for 3 days, and subsequently 10 mg/100 g for 32 days.

Examinations, morphological and physiological, on functions of the thyroid of the animals exposed to methiocil, revealed that the standard procedures of methiocil administration mentioned above could result in hypofunction of the thyroid.

Male and female Wistar rats treated with methiocil in the standard fashion were mated to obtain F₁ animals (offspring).

These F₁ animals, when 90 days old, were also treated with methiocil in the standard fashion, and were mated to obtain F₂ animals (Second generation offspring). F₃ and F₄ animals (successive generations) were obtained also by the same procedures.

Measurements of the body weight, serum PBI, total cholesterol and I¹³¹ uptake, and histological and histometrical studies on the thyroid gland and other endocrine organs were performed in 17, 14, 14, and 11 cases of the F₁, F₂, F₃ and F₄ animals, respectively, and in 37 cases of normal rats.

The results obtained illustrate that a progressively increasing hypofunction of the thyroid gland could be induced in offspring rats treated with methiocil for successive generations.

On Excretion of 17-KS and Uropepsin of Rabbits and Wistar Rats Born from Diabetic Parents for Successive Generations and on Effect of Alloxanization on the Excretion

By

Nobuko ISHIZAKI

Department of Pathology, School of Medicine, Kyoto University (Director : Prof. Kôzô Okamoto)

Measurement of a total of 17-KS and its fractions excreted in the urine was made on the rabbits obtained from the diabetic parents by successive mating for seven or eight generations. Some of these rabbits were under the examination 50 to 365 days after an additional treatment with alloxan was employed. The following results were demonstrated, comparing with the data from control rabbits with or without alloxanization.

a) In the rabbits born from the sicked parents an increase in amount of 17-KS and II, III, VI, VII fractions were observed. The increase became more apparent with the successive mating generations and it was very marked in after the fourth generation in which spontaneous diabetes developed.

b) Amounts of 17-KS and its II, III, VI, VII fractions in the intact rabbits became under the normal levels when diabetes developed after administration of alloxan.

c) Amounts of 17-KS and its II, III, VI, VII fractions excreted in the urine in the rabbits born from the sicked parents up to the second generation showed a decrease after alloxan administration, which were larger than those excreted in the urine of the alloxanized control rabbits and which were smaller than those of normal rabbits. However, in the rabbits from the sicked parents from the third to the fifth generations of the successive mating, a decrease in amounts of 17-KS and its II, III, VI, VII fractions was resulted from alloxanization, remaining at the level above normal ranges.

Measurement of a total amounts of 17-KS and its fractions, FGS and uropepsin were made on the following animals (1) the first group, Wistar rats with spontaneous diabetes in both sexes born from the spontaneous diabetic parents, at definite intervals of time from the weanling age to approximately 120 days of age. (2) the second group, some of the male rats of the first group, exposed to alloxanization when the animals showed negative urine sugar. The following results were obtained, comparing with the data from normal rats with or without alloxanization.

a) In Wistar rats of the first group, larger amounts of 17-KS and its II, III, VI, VII fractions, FGS and uropepsin were excreted in the urine than those in the normal rats during a full course of maturation and aging since weanling age.

b) In normal rats with alloxanization, an increase in amount of the metabolites mentioned herein observed 10 days after the treatment was followed by a persistent decrease.

c) The male rats in the second group, alloxanization also resulted in a temporary increase in the urinary amounts, subsequently followed by a decrease, continuing for at least 3 months, amounts in the decreasing stages still being remained in over normal ranges.

The following conclusions may be obtained from the results mentioned above :

1) In the offspring rabbits and Wistar rats born from diabetic parents, the hyperfunction of the adrenal cortex can be observed, the degree of which being gradually more apparent with successive mating generations.

2) The hypofunction of the adrenal cortex can be developed in the animals when rabbits and Wistar rats were became diabetic by application of alloxan.

3) The offspring animals born from the diabetic parents, when alloxanization is employed, show various function states, from hyper- to hypo-function to less extent, corresponding to the generation number of the successive mating.

歴代実験的糖尿病子孫ウサギおよび Wistar 系シロネズミの尿中ケトステロイド、ウロペプシンの排泄状態ならびにアロキサン投与による影響について

京都大学医学部病理学教室（指導 岡本耕造教授）

石 崎 延 子

（本論文の要旨は第33回日本内分泌学会総会において発表した）

第1章 緒 言

最近副腎皮質より糖質代謝に密接な関係のあるグルココルチコイドが分泌されることが明らかにされ、糖尿病と副腎皮質機能との関係について注目されるようになった。そして人体糖尿病のさいの尿中ケトステロイドやコルチコイド排泄状態について多くの報告¹⁹⁾²⁰⁾²²⁾³⁵⁾³⁶⁾³⁸⁾⁶⁴⁾⁶⁵⁾⁷¹⁾⁷⁷⁾⁷⁸⁾がなされるにいたつた。しかしその結果は必ずしも一致をみていない。これは糖尿病の病型の差、二次的变化、発症時期の相違などの要素が関係しているためではなからうかと考えられる。これらの点を明らかにするには当然実験的糖尿病動物についてその副腎皮質機能を精細に研究することが必要となつてくるのである。しかし糖尿病の発症には先天性因子が重要な1因子をなしているものと考えられ、岡本⁵⁹⁾の構想にもあるように後天性発症因子によつて、また先天性発症因子によつて発症をみる場合のほか、さらに先天性糖尿病素因に後天性発症因子が加わつて発症をみる場合も少くないものと考えられる。したがつて脾臓摘出や、アロキサン等による脾ラ氏島傷害により発症した従来の実験的糖尿病動物の知見のみでは、人体糖尿病のさいの副腎皮質機能の解明に充分でないものと考えられる。

すでに岡本ら²⁰⁾⁴⁴⁾⁴⁷⁾⁴⁸⁾⁴⁹⁾⁵⁰⁾⁵¹⁾⁵²⁾⁵⁵⁾⁵⁶⁾⁵⁸⁾⁶⁵⁾はウサギおよび Wistar 系シロネズミに実験的に糖尿病を発症させ、一か月以上糖尿病を持続させた後交配して仔を生ませ、その仔にこれをくり返し、歴代にわたり糖尿病を発症させた子孫動物について研究した結果、これらの子孫動物では脾ラ氏島β細胞の減数、縮小などの発育障碍、脳下垂体、副腎皮質等の一定の病理学的変化など糖尿病素因の生成があり、しかもそれが累代性に増強してゆき、ついに糖尿病を自然発症することをみた。そしてこの実験的先天性糖尿病動物の病理学的所見が人体糖尿病の所見に非常に近いことを報告している。さらにそのウサギの副腎皮質を病理学的に研究した笹野ら⁶⁶⁾、福留²¹⁾は機能亢進像を報告し、そして鈴木⁶⁷⁾はこれらのウサギの尿中17-KS総量が対照正常ウサギより増量を示すことから副腎皮質の機能亢進を推定し、すすんで赤沢¹⁾は17-KS総量の増量のほか、そのⅡ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ分割、17-OHCS、ウロペプシンの増量を報告した。すなわちこれらのウサギで糖尿病未発症時期から糖尿病自然発症時にかけて副腎皮質機能は亢進し、アロキサン糖尿病ウサギや正常ウサギにくらべてケトステロイド代謝を異にしていると結論している。

上述のように現在までアロキサン糖尿病ウサギまたは実験的先天性糖尿病ウサギを用いて副腎皮質機能その他に関する諸種の研究が行われてきたのであるが、しかし先天性糖尿病素因に後天性因子が加わつて発症をみた糖尿病動物に関してはぜんぜん研究がみられない。それで私は糖尿病素因を累代的に増強してゆく歴代糖尿病子孫ウサギまたは Wistar 系シロネズミを用い、これにアロキサンを投与して糖尿病を発症させ、発症後のケトステロイド代謝の変化を追究し、また下垂体副腎系の機能を間接的に示すとされている尿中ウロペプシンの測定を行つて、これを正常および正常動物にアロキサン糖尿病を発症させたさい、ならびに実験的先天性糖尿病動物の成績と比較検討することとした次第である。

第2章 歴代両親実験的糖尿病子孫ウサギにアロキサン糖尿病を 発症させたさいの尿中17-KS総量および分割について

第1節 研究材料

1) 対照正常ウサギ

教室で妊娠分娩させて得た正常ウサギおよび生後日数の明らかなウサギを業者より購入し一定期間教室で飼育したものをを用い、生後150日以後の体重2.5~3.5kgの成熟雄ウサギ9匹、雌ウサギ6匹を研究の対照とした。

2) 歴代両親実験的糖尿病子孫ウサギと実験的先天性糖尿病子孫ウサギ

歴代両親実験的糖尿病子孫ウサギ(f で示す)は次のようにして作製した。正常成熟雄、雌ウサギにアロキサン (Eastman Kodak 製 Alloxan monohydrate を使用した。以下ウサギでは同様試薬を使用)を100mg/kg 静脈内に投与して糖尿病を発症させ、その雄2、雌2をとり1ヵ月以上尿糖顕著陽性(卅)(尿糖の判定には Benedict 氏試薬²⁹⁾を用い、試薬3ccに尿6滴を加えて加温し、煮沸後なお2分間加熱し、放置冷却後次の基準によつて判定した。液が青色で沈澱のない場合(一)、液が青緑色で沈澱のない場合(±)、液が青緑色で沈澱が黄緑色の場合(+), 液が緑色で沈澱が黄褐色の場合(++), 液が緑色で沈澱が赤褐色の場合(卅), 液が無色で沈澱が赤色となる場合(卅))を持続した後交配してその仔 f_1 を得(系図1参照), その生後120日以上経た後、これら雄2、雌1にアロキサン85mg/kgを静脈内に投与し糖尿病持続1ヵ月以上して交配して f_2 を得、 f_2 の雄、雌各2にアロキサンを80mg/kg 静脈内に投与し、糖尿病持続1ヵ月以上して交配し f_3 を得た。

f_4 は小関³⁰⁾の作製した4代 p-(Hydroxyphenylazo)-8-hydroxyquinoline 糖尿病子孫ウサギを使用した。なおこの f_4 のうち一部のウサギは糖尿病を自然発症し、しかもそうとう長期間それを持続した。

これら f_1 ~ f_4 ウサギのうち生後150日以後のもので体重2.5kg以上のものを私の研究に使用したが、そのうちわけは次のようである。 f_1 雄は AF103, AF108 の2匹で雌は AF101, AF102, AF104, AF105 の4匹である。 f_2 雄は AF203, AF204 の2匹で雌は AF201, AF202, AF205 の3匹。 f_3 は雄AF301の1匹、 f_4 は小関の作製した雌11464, 11467の2匹である。

次に実験的先天性糖尿病子孫ウサギ(F で示す)は井関³⁰⁾の作製したものを使用した。井関は上述の小関の作製した4代子孫ウサギの糖尿病を自然発症したものを F_1 とし、なお他の4代子孫ウサギで糖尿病を発症しないか、発症してもこれを持続しなかつたものにさらにアロキサンを投与し糖尿病持続1ヵ月以上してその雄、雌を交配して仔を生ませそれを F_1 とし、これら F_1 で糖尿病を自然発症した雄、雌を糖尿病持続1ヵ月以上して交配して生まれた仔を F_2 とし、さらに同様に F_3 、 F_4 を得た。これら F_1 ~ F_4 の作製状態は系図1に示したが、それらのうち生後150日以後で体重2.5kg以上のものを私の研究に使用した。すなわち F_1 雄は11552, 11572, 11576の3匹と雌は11551, 11555, 11562の3匹で、 F_2 雌は80019, 80020の2匹、 F_3 雄は90031, 90035の2匹で雌は90032, 90033, 90034の3匹、 F_4 雄は100002, 100004の2匹と雌100008である。それぞれ尿糖が(卅)以上(卅)を少くとも30日以上150日位持続したときその尿について測定を行った。

3) アロキサン糖尿病ウサギ

正常成熟雄、雌ウサギにアロキサン100mg/kgを静脈内に投与し糖尿病を発症させ尿糖顕著陽性を50日以上100日間持続した雄4匹と雌3匹を比較的短期のものとして使用し、さらに6ヵ月以上1年あまりにおよぶ尿糖顕著陽性を持続した雄3匹、雌5匹を長期のものとして用いた。

4) 歴代両親実験的糖尿病子孫ウサギおよび実験的先天性糖尿病子孫ウサギの非発症時にアロキサン糖尿病を発症させた場合

これらの動物は全部成熟後にそれぞれアロキサンを85mg/kgないし60mg/kgを静脈内に投与し、糖尿病を発症させ、尿糖顕著陽性が少くとも50日以上1年位の間持続したものを研究材料とした(系図1参照)。すなわち f_1 ウサギはアロキサン85mg/kgを投与した雄 AF107, AF109と、雌 AF106, AF110の各2匹ずつ、

系図 1 実験的先天性糖尿病子孫ウサギ系図

f_2 はアロキサン80mg/kgを投与した雄 AF206, AF207の2匹と雌 AF208, AF209の2匹, f_3 はアロキサン65mg/kgを投与した雄 AF303, AF304の2匹, f_4 はアロキサン60mg/kgを投与した雌11464, 11467の2匹である。

実験的先天性糖尿病ウサギではその F_1 , F_2 の糖尿病非発症動物または糖尿病自然発症後の非発症時期にアロキサン60mg/kgを静脈内に投与した雄の11556, 11564, 11573の3匹と雌の11565, 11568, 11574, 11575の4匹, F_3 雄の80009, 80014の2匹を用い, それぞれの尿について研究した。

以上の実験に使用したすべてのウサギは1匹宛飼育箱に入れ, オカラ, ムギ, ニンジン, 雑草を与え, 健康状態に留意した。冬季は室温に注意し, 絶えず20°C内外に保温し, また換気に注意した。夏は通風をよくし, できるだけ条件を一定にして飼育するようにした。また飼育箱は絶えず清潔にし感染, 下痢などをおこさぬように注意した。採尿は一定の採尿箱を使用し, 不純物の混入をさけ, しかも一定期間採尿箱で飼育して尿量が一定した時期に行つた。尿の変性を防ぐため一日分の採尿の後直ちに氷室に保存し, 48時間尿を集めてただちに測定操作を行つた。各動物については1週1回体重測定を行つた。

第2節 研究方法

1) ウサギ尿中17-KS総量ならびに分割測定法

鈴木⁶⁷⁾ならびに赤沢¹⁾がすでにウサギで行つたように尿中17-KS総量の測定を三宅, 扇谷の方法³⁹⁾に準じたDrekter法¹⁷⁾で粗製尿エキスを作り, PincusのMicro-Girards法⁶⁰⁾で非ケトン分割をのぞき, そのケトン分割についてPearson法⁵⁹⁾に従いZimmermann反応⁸⁰⁾⁸¹⁾を行い日立光光度計EPU-2型を用い530m μ で比色定量した。さらに分割については赤沢¹⁾の行つたようにPond⁶¹⁾, Edwards,¹⁸⁾ 大野⁵⁷⁾の方法に従つて, そのケトン分割についてLiquid Column Partition Chromatographyを行つた。

2) 統計学的検定

次の方法³⁸⁾で行つた。

$$t = \frac{x - y - a}{\sqrt{n_1 S_1^2 + n_2 S_2^2}} \quad \sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 - 2)}{n_1 + n_2}}$$

x , y は各母集団の平均値, n_1 , n_2 はそれぞれの例数, S_1 , S_2 はそれぞれの標準偏差を示す。 $a = 0$ とした時の t の値を上式から計算し, $p = 0.01$ にたいして t 分布表による t_0 の値をもとめ $t \geq t_0$ ならば有意の差があるとし, $t < t_0$ ならば有意の差がないとした。

第3節 研究成績 (第1, 2表, 第1, 2図参照)

第1項 無処置群の尿中17-KS総量ならびに分割

1) 対照正常ウサギ

17-KS総量: 48時間尿における正常成熟雄ウサギ9匹の平均値は 2.39 ± 0.172 mg, 雌ウサギ6匹の平均値は 2.25 ± 0.205 mgであつた。尿量と尿中17-KS値との間に一定の関係は認められなかつた。

尿中17-KS分割: 48時間尿における雄のⅣ+Ⅴ分割は排泄量の百分率, 絶体値でみると48.5%, 1.16 ± 0.061 mgで雌のそれは33.2%, 0.75 ± 0.089 mgであり, 雄が雌より大量のTestosterone, Etiocholanoloneを排泄している。Ⅵ分割では雌が20%, 0.45 ± 0.051 mgで雄の15%, 0.36 ± 0.037 mgより大で雌は11-oxy-17-KSの排泄が多い。

2) 歴代両親実験的糖尿病子孫ウサギ ($f_1 \sim f_4$)

尿中17-KS総量: 48時間尿について f_1 雄は 2.61 ± 0.076 mg, 雌は 2.40 ± 0.088 mg, f_2 雄は 2.76 ± 0.046 mg, 雌は 2.51 ± 0.058 mg, f_3 雄は 3.10 ± 0.110 mgと増加傾向を示し, f_4 雌では 4.54 ± 0.215 mgで対照正常ウサギのほぼ2倍に達している。

尿中17-KS分割: 第2表に示した通り $f_1 \sim f_3$ のⅡ, Ⅲ, Ⅵ, Ⅶ分割はごく軽度の増加傾向を示すが, f_1 雌のⅥ分割は正常対照値と統計的に有意の差を認めない。 f_4 雌では正常対照値にくらべⅡ, Ⅲ, Ⅵ, Ⅶ分割の増加が著しい。各世代の雄, 雌ともⅡ, Ⅲ, Ⅵ分割が累加的に増加する傾向がみられ, Ⅶ分割では f_4 雌ウサギ

歴代実験的糖尿病子孫ウサギおよび Wistar 系シロネズミの尿中ケトステロイド、
ウロペプシンの排泄状態ならびにアロキサン投与による影響について (石崎)

第1表 実験的先天性糖尿病子孫ウサギおよび正常ウサギにアロキサン糖尿病を
発症させたさいの尿中17-KS総量 A…アロキサン糖尿病発症

世 代		雄				雌			
		匹数	測 日 定 数	アロキサン投 与量 (mg/48時間)	17-KS 総 量 (mg/48時間)	匹数	測 日 定 数	アロキサン投 与量 (mg/48時間)	17-KS 総 量 (mg/48時間)
正 常		9	(30)		2.39 ± 0.172	6	(15)		2.25 ± 0.205
正常A	短期	4	(12)	100	1.40 ± 0.305	3	(9)	100	1.41 ± 0.197
	長期	3	(9)	100	1.27 ± 0.270	5	(15)	100	1.07 ± 0.305
f ₁	A	2	(6)		2.61 ± 0.076	4	(12)		2.40 ± 0.088
		2	(6)	85	1.37 ± 0.121	2	(6)	85	1.09 ± 0.093
f ₂	A	2	(6)		2.76 ± 0.046	3	(9)		2.51 ± 0.058
		2	(6)	80	1.63 ± 0.104	2	(6)	80	1.21 ± 0.114
f ₃	A	1	(5)		3.10 ± 0.110				
		2	(6)	65	2.64 ± 0.325				
f ₄	A					2	(6)		4.54 ± 0.215
						2	(6)	60	2.42 ± 0.182
F ₁	A	3	(6)		4.61 ± 0.245	3	(9)		4.61 ± 0.223
		5	(10)	60	2.62 ± 0.305	4	(12)	60	2.49 ± 0.241
F ₂	A	2	(6)	60	2.70 ± 0.263	2	(6)		3.40 ± 0.092
F ₃		2	(6)		4.88 ± 0.183	3	(6)		3.43 ± 0.186
F ₄		2	(6)		4.92 ± 0.129	1	(5)		3.82 ± 0.246

第1図 実験的先天性糖尿病子孫ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたさいの尿中17-KS総量

第2表 実験的先天性糖尿病子孫ウサギおよび正常ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたさいの尿中17-KS分割
A 雄ウサギ

世 代	17-KS 総 量 (mg/48 時 間)	17-KS分割 (48時間値)														
		Ⅰ		Ⅱ		Ⅲ		Ⅳ + Ⅴ		Ⅵ		ⅦA		Ⅷ		
		mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	
正 常	2.39 ±0.172	0.12 ±0.024	4.3	0.17 ±0.021	7.1	0.26 ±0.025	10.9	1.16 ±0.061	48.5	0.36 ±0.037	15.0	0.17 ±0.060	6.9	0.16 ±0.039	6.8	
正常A	短	1.40 ±0.305	0.09 ±0.025	6.4	0.15 ±0.067	10.5	0.20 ±0.056	14.8	0.57 ±0.109	41.0	0.18 ±0.027	13.0	0.09 ±0.023	6.8	0.10 ±0.038	7.5
	長	1.27 ±0.270	0.07 ±0.016	5.5	0.04 ±0.034	3.2	0.08 ±0.025	6.3	0.88 ±0.120	69.2	0.09 ±0.019	7.1	0.03 ±0.017	2.4	0.08 ±0.028	6.3
f ₁		2.61 ±0.076	0.07 ±0.050	2.9	0.31 ±0.044	12.0	0.33 ±0.060	12.7	1.15 ±0.055	44.4	0.42 ±0.012	15.0	0.26 ±0.011	9.9	0.07 ±0.013	2.2
	A	1.37 ±0.121	0.13 ±0.025	10.1	0.14 ±0.018	10.8	0.20 ±0.016	14.7	0.42 ±0.052	30.4	0.24 ±0.008	17.4	0.15 ±0.068	10.6	0.03 ±0.008	6.0
f ₂		2.76 ±0.046	0.11 ±0.035	4.0	0.34 ±0.031	12.4	0.37 ±0.038	13.5	1.75 ±0.027	41.8	0.42 ±0.030	15.2	0.28 ±0.017	9.9	0.09 ±0.016	3.2
	A	1.63 ±0.104	0.11 ±0.028	6.8	0.23 ±0.012	14.5	0.17 ±0.004	10.4	0.58 ±0.040	35.2	0.26 ±0.031	13.8	0.14 ±0.017	10.7	0.14 ±0.023	8.7
f ₃		3.10 ±0.110	0.12 ±0.016	3.3	0.36 ±0.014	11.7	0.38 ±0.018	12.3	1.18 ±0.032	38.4	0.62 ±0.021	20.0	0.25 ±0.015	8.3	0.19 ±0.011	6.0
	A	2.64 ±0.325	0.24 ±0.033	9.3	0.29 ±0.036	10.7	0.30 ±0.025	11.3	0.87 ±0.089	34.0	0.50 ±0.065	18.8	0.17 ±0.021	6.4	0.27 ±0.037	9.5
F ₁		4.61 ±0.245	0.09 ±0.007	2.0	0.70 ±0.044	15.3	0.74 ±0.040	15.9	0.77 ±0.026	16.5	1.08 ±0.097	23.2	1.02 ±0.117	22.5	0.21 ±0.050	4.6
	A	2.62 ±0.305	0.07 ±0.017	2.4	0.39 ±0.009	15.0	0.39 ±0.012	15.0	0.71 ±0.098	27.5	0.48 ±0.085	18.5	0.49 ±0.095	18.7	0.09 ±0.032	2.9
F ₂	A	2.70 ±0.263	0.09 ±0.012	3.2	0.45 ±0.041	16.0	0.42 ±0.048	15.5	0.59 ±0.064	22.0	0.48 ±0.052	17.8	0.49 ±0.045	18.0	0.19 ±0.019	7.0
F ₃		4.88 ±0.183	0.14 ±0.017	2.7	0.71 ±0.032	14.1	0.62 ±0.014	12.5	1.12 ±0.144	23.0	0.88 ±0.093	18.0	1.23 ±0.147	25.0	0.19 ±0.015	3.5
F ₄		4.92 ±0.129	0.13 ±0.007	2.8	0.64 ±0.019	13.0	0.62 ±0.022	12.7	1.17 ±0.089	24.0	1.12 ±0.128	23.0	1.04 ±0.147	20.5	0.20 ±0.019	4.0

B 雌ウサギ

正 常		2.25 ±0.205	0.10 ±0.042	4.4	0.16 ±0.025	7.0	0.38 ±0.040	16.9	0.75 ±0.089	33.2	0.45 ±0.051	20.0	0.15 ±0.028	6.6	0.27 ±0.039	12.0
正常A	短	1.41 ±0.197	0.12 ±0.056	8.4	0.16 ±0.062	11.3	0.16 ±0.037	11.5	0.62 ±0.092	44.0	0.14 ±0.042	9.3	0.07 ±0.065	5.3	0.14 ±0.046	6.0
	長	1.07 ±0.305	0.11 ±0.022	10.3	0.05 ±0.044	4.7	0.14 ±0.046	13.1	0.48 ±0.095	44.8	0.12 ±0.026	11.2	0.02 ±0.068	2.8	0.14 ±0.095	13.1
f ₁		2.40 ±0.088	0.11 ±0.033	4.5	0.27 ±0.029	11.1	0.42 ±0.018	17.3	0.75 ±0.020	31.3	0.46 ±0.015	18.9	0.24 ±0.013	10.7	0.15 ±0.021	6.2
	A	1.09 ±0.093	0.66 0.066	5.5	0.11 0.018	10.4	0.09 0.095	8.5	0.34 ±0.046	33.5	0.22 ±0.026	20.0	0.16 ±0.072	12.5	0.12 ±0.033	9.9
f ₂		2.54 ±0.058	0.09 ±0.084	3.6	0.30 ±0.021	11.9	0.44 ±0.031	17.5	0.75 ±0.019	29.5	0.52 ±0.036	20.7	0.28 ±0.022	11.0	0.16 0.040	5.8
	A	1.21 ±0.114	0.08 ±0.044	6.7	0.12 ±0.021	10.0	0.06 ±0.034	4.8	0.32 ±0.036	26.8	0.26 ±0.042	21.8	0.15 ±0.111	12.2	0.22 ±0.028	17.7
f ₄		4.54 ±0.215	0.15 ±0.019	3.4	0.70 ±0.025	15.4	0.68 ±0.037	14.9	0.74 ±0.026	15.5	1.10 ±0.042	24.2	0.97 ±0.075	21.7	0.20 ±0.071	4.9
	A	2.42 ±0.182	0.09 ±0.071	3.7	0.33 ±0.027	13.6	0.26 ±0.021	10.7	0.65 ±0.062	27.0	0.58 ±0.054	24.0	0.35 ±0.047	14.4	0.15 ±0.067	6.6
F ₁		4.61 ±0.223	0.11 ±0.042	2.4	0.69 ±0.054	14.9	0.54 ±0.037	11.7	0.80 ±0.042	17.3	1.21 ±0.075	26.3	1.03 ±0.091	22.4	0.23 ±0.081	5.0
	A	2.49 ±0.241	0.09 ±0.035	3.5	0.27 ±0.087	11.0	0.37 ±0.082	15.0	0.40 ±0.079	16.0	0.62 ±0.097	25.0	0.59 ±0.099	23.5	0.15 ±0.086	6.0
F ₂	A	3.40 ±0.092	0.10 ±0.044	2.8	0.56 ±0.028	16.3	0.50 ±0.036	12.9	0.70 ±0.025	20.8	0.64 ±0.065	18.7	0.72 ±0.098	23.0	0.18 ±0.072	5.5
F ₃		3.43 ±0.186	0.13 ±0.092	2.7	0.51 ±0.042	15.0	0.47 ±0.053	14.7	0.73 ±0.073	21.3	0.66 ±0.047	19.3	0.75 ±0.049	22.0	0.17 ±0.076	5.0
F ₄		3.82 ±0.246	0.08 ±0.086	2.2	0.52 ±0.043	13.6	0.55 ±0.039	14.3	0.80 ±0.055	21.1	0.76 ±0.035	19.8	0.89 ±0.052	23.3	0.22 ±0.048	5.7

A…アロキサン糖尿病発症；短…糖尿病短期持続；長…糖尿病長期持続

第2図 実験的先天性糖尿病子孫ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたさいの尿中17-KS分割

が著増を示しその他は軽度の増加を示す。

3) 実験的先天性糖尿病子孫ウサギ (F₁~F₄)

尿中17-KS総量： F_1 , F_2 , F_3 , F_4 の各世代の糖尿病自然発症ウサギでは対照正常ウサギにくらべさらに著明な17-KS総量の増加がみられる。48時間尿における17-KS総量は F_1 雄 4.61 ± 0.245 mg, 雌 4.61 ± 0.223 mg, F_2 雌は 3.40 ± 0.092 mg, F_3 雄 4.88 ± 0.183 mg, 雌は 3.43 ± 0.186 mg, F_4 雄 4.92 ± 0.129 mg, 雌は 3.82 ± 0.246 mgであった。いずれも正常値の1.5～2倍の増量を示した。

尿中17-KS分劃：第2表に示したように F_1 , F_2 , F_3 , F_4 ともⅡ, Ⅲ, Ⅵ, Ⅶ分劃の百分率および絶体値の増加がみられる。

第2項 アロキサン投与群の尿中17-KS総量ならびに分劃

1) 正常ウサギにアロキサン糖尿病を発症させた場合

尿中17-KS総量：アロキサン糖尿病発症後50日から100日位の比較的短期間のものの48時間尿については雄 1.40 ± 0.305 mg, 雌 1.41 ± 0.197 mgである。6カ月以上の長期アロキサン糖尿病を持続したものの雄 1.27 ± 0.270 mg, 雌 1.07 ± 0.305 mgである。アロキサンを投与しない正常値と比較して、いずれも著明な減少を示し、その差は統計的に有意である。また糖尿病持続期間の短期のものと長期のものの差は雄では認められないが、雌では認められる。

尿中17-KS分劃：50日から100日間位糖尿病持続の比較的短期間のものの雄, 雌ともⅡ分劃が正常範囲にとどまる以外はⅥ, Ⅶ分劃の減少が著しく正常値とは統計的に有意の差があり、なお長期のものも同様である。アロキサン糖尿病発症後の時間的な差については雌のⅥ分劃において相互間に有意の差がない以外全分劃において長期のものが低下を示している。

2) 歴代両親実験的糖尿病子孫ウサギにアロキサン糖尿病を発症させた場合.

尿中17-KS総量：48時間尿について f_1 ウサギのアロキサン糖尿病の雄平均 1.37 ± 0.121 mg, 雌平均 1.09 ± 0.093 mgでいずれもアロキサンを投与しないものより著しく減少し、正常ウサギにアロキサン糖尿病を発症させた場合と比較し、その長期のものと統計的に雌では有意の差はなく、雄は有意の差を示して増加している。 f_2 ウサギのアロキサン糖尿病の雄平均 1.63 ± 0.104 mg, 雌平均 1.21 ± 0.114 mgで、無処置のものにくらべ明らかな減少がみられるが、正常ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたものより雄, 雌とも統計的に有意の差を示し増加している。また f_1 ウサギのアロキサン糖尿病の場合より有意の差を示して増加している。 f_3 ウサギのアロキサン糖尿病の雄平均 2.64 ± 0.325 mgで無処置の f_3 ウサギより減少し、統計的に有意の差がある。また正常ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたものより2倍の増加を示し、その値は正常値よりも増加し統計的に有意の差がある。 f_4 ウサギのアロキサン糖尿病の雌平均 2.42 ± 0.182 mgであり、無処置の f_4 ウサギにくらべて著しい減少をみる。しかし正常ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたものの値の2倍を示している。またその値は正常値よりも軽度増加しているが、統計的に有意の差はない。

尿中17-KS分劃：各世代とも無処置のものにくらべ全分劃が減少しているが、 f_1 , f_2 , f_3 の雄, 雌ともⅦ分劃ではその値が正常値に近く統計的に有意の差がない。また正常ウサギのアロキサン糖尿病を長期間持続した場合と比較すると歴代両親実験的糖尿病子孫ウサギのアロキサン糖尿病の場合になおⅥ, Ⅶ分劃の増加がみられ、統計的に有意の差がある。

3) 実験的先天性糖尿病子孫ウサギの糖尿病非発症時にアロキサン糖尿病を発症させた場合

尿中17-KS総量：48時間尿について F_1 ウサギのアロキサン糖尿病雄平均 2.62 ± 0.305 mg, 雌平均 2.49 ± 0.241 mgでいずれも無処置のものにくらべて著しく減少している。 F_2 ウサギのアロキサン糖尿病雄平均 2.70 ± 0.263 mgであるが、この F_2 ウサギ雄の無処置動物は概当するものがなく比較できないが F_2 雌, F_1 , F_3 等の無処置のものに値にくらべ減少している。 F_1 ウサギのアロキサン糖尿病の場合、無処置の F_1 ウサギと統計的に有意の差を示して低下している。その値は正常値より軽度増加を示すが統計的に有意の差はない。

尿中17-KS分劃： F_1 ウサギのアロキサン糖尿病の場合無処置のものより全分劃の著しい減少を示すが、正常ウサギのアロキサン糖尿病の場合および歴代両親実験的糖尿病子孫ウサギのアロキサン糖尿病の場合にくらべⅡ, Ⅲ, Ⅵ, Ⅶ分劃が明らかに増量している。正常値にくらべると雌のⅢ分劃がやや減少し統計的に有意の差がない以外一般にⅡ, Ⅲ, Ⅵ, Ⅶ分劃が増加し、Ⅳ+Ⅴ分劃は減少している。 F_2 雄ウサギのアロキサ

ン糖尿病の場合は無処置の概当するウサギがなく比較できないが F_1 と同じ傾向をもっている。

第3章 実験的先天性糖尿病 Wistar 系シロネズミおよびこれらにアロキサン 糖尿病を発症させたさいの尿中17-KS総量ならびに分割, FGS, ウロ ペプシンについて

第1節 研究材料

1) 対照正常ネズミ

対照正常ネズミとしては平均体重370g位の成熟雄と250~300g位の雌の Wistar 系シロネズミの各20匹ずつを使用した。さらに正常無処置成熟 Wistar 系シロネズミ雄、雌を交配し仔を生ませ雄、雌各15匹ずつを得、これを飼育して成長時の観察を行った。

2) 実験的先天性糖尿病子孫ネズミ

岡本ら⁵⁵⁾⁵⁶⁾により作製された歴代雄アロキサン糖尿病 F_1 Wistar 系シロネズミで糖尿病を自然発症した雄

系図2 実験的先天性糖尿病子孫 Wistar 系シロネズミ系図

721, 722, 雌711, 714を用い2組の交配を行つて雄852, 854, 855, 856, 860の5匹と雌851, 853, 857, 858, 859, 861の6匹の合計11匹の仔を得、さらにその仔同志5組の交配により雄903, 904, 909, 910, 911の5匹と雌900, 901, 902, 905, 906, 907, 908, 912, 913の9匹の合計14匹の仔を得た。その雌906と山本⁷⁹⁾の得た糖尿病自然発症雄ネズミ1357(雄, 雌アロキサン糖尿病子孫F₂同志の交配による仔)とを交配して雄1001, 1004, 1005, 1006の4匹と雌1002, 1003, 1007の3匹の合計7匹の仔を得、その雌1003, 1007と山本が1347と同じようにして作製した糖尿病自然発症雄1346と交配して雄1008, 1010, 1012, 1014, 1016, 1018, 1020の7匹と雌1009, 1011, 1013, 1015, 1017, 1019, 1021, 1022の8匹の合計15匹の仔を得た。これらの交配は常に糖尿病持続1ヵ月以上して行われた。その系譜は系図2に示した。以上の子孫動物中早く死亡した2匹を除いた雄20匹と雌24匹を実験に供した。なおこれらのうち雄903, 904, 909, 910, 911, 1001, 1004, 1006, 1008, 1010, 1012, 1014, 1016, 1018, 1020の15匹と雌900, 901, 902, 905, 906, 907, 908, 912, 913, 1009, 1011, 1013, 1015, 1017, 1019, 1021の16匹は離乳後より成熟までの間研究に供された。これらの動物は全例生後60日前後より尿糖(+)-(++) (尿糖判定基準は前のウサギのところで記述した), 70日前後より(++)(+++を約10日~40日間持続し, この間を糖尿病自然発症時期とし, 以後は断続的に不定期の糖尿をもらした。またこれらのネズミの体重は成熟雄20匹平均 390 ± 36.0 g, 雌24匹平均 272 ± 25.5 gであつた。これらの仔ネズミの生後30日の体重は対照ネズミにくらべて大きかつた。

3) アロキサン糖尿病ネズミ

正常成熟 Wistar 系シロネズミにアロキサン(Alloxan monohydrate 第一製薬製を使用した。以下ネズミは同様試薬を使用) 200mg/kg を腹腔内に注射し, 糖尿病を発症したものを供試した。まず平均体重 350g の雄ネズミ20匹にアロキサンを投与した。投与10日後には半数が死亡し, 残る10匹の平均体重は 270g で, 30日後には5匹に減りその平均体重は 230g , 50日後5匹の平均体重は 220g であつた。なおその他同様に平均体重 350g の雄20匹と平均体重 270g の雌20匹にアロキサン糖尿病を発症させて3ヵ月以上の長期間糖尿病を持続した平均体重 210g の雄6匹と平均体重 185g の雌5匹について測定を行つた。

4) 実験的先天性糖尿病子孫雄ネズミの糖尿病非発症時にアロキサン糖尿病を発症させた場合

2)に述べたネズミのうち生後120日以上経過して, しかも一過性の糖尿病自然発症をみた後尿糖が(-)になつた雄909, 910, 911, 1004, 1006, 1008, 1010, 1012, 1014, 1016, 1018の11匹にアロキサンを $150\text{mg} \sim 180\text{mg/kg}$ 腹腔内に注射しアロキサン糖尿病を発症させて実験に供した。全例尿糖(++)(+++を持続した。これらのネズミの投与前平均体重は 375g であつたが, 投与10日後には 350g , 30日後には 320g , 50日後には 330g で投与前より減少した。

以上のネズミは室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $50 \pm 10\%$ と環境を一定にした動物飼育室において金属製飼育籠を用い, 小麦, 小魚, 白色野菜の一定量を与えて飼育した。仔ネズミは生後21日に母ネズミから離し, 40日頃まで仔ネズミ同志一緒に育て, その後は同性同志2匹ずつに分けて飼育した。各ネズミは生後30日より体重測定を開始し, 10日目毎に測定を行つた。採尿時にはネズミの健康状態に注意し, 尿に食物残渣, 糞等の入らぬよう二重網底の漏斗付き金属性採尿籠を用い, その1つあてに成熟後は1匹ずつ, 仔ネズミは2, 3匹ずつ一緒に入れた。飲料水が落ちないように吸水管のガラス孔の大きさに注意した。自然の状態で採尿を行うためネズミを一定時日採尿籠で飼育し, 新しい環境になれてから採尿した。尿中ホルモンの変性を防ぐため24時間採尿後ただちに氷室に入れ, 24時間, 48時間または4日間採尿終了後ただちに測定操作を行つた。

第2節 研究方法

1) ネズミ尿中17-KS総量測定法

方法は48時間尿につきウサギの場合と同様三宅, 扇谷の方法³⁹⁾に従い Drecker 法¹⁷⁾に準じて粗製尿エキスを作つた。またネズミ尿の Zimmermann 反応を与える呈色干渉物質の除去²³⁾⁴¹⁾に注意して Pincus の Micro-Girards法⁶⁰⁾を用い非ケトン分劃を除き, そのケトン分劃について Pearson 法⁵⁹⁾に従つて Zimmermann 反応⁸⁹⁾を行い日立分光光度計 EPU-2型を用い $530\text{m}\mu$ で比色定量した。

2) ネズミ尿中17-KS分劃測定法

ネズミは尿量が少く、粘液様物質や Zimmermann 反応を与える呈色干渉物質が多く、そのわりに 17-KS 排泄量が少いため従来は 17-KS 分割の測定は行われていない。

私は実験動物の採尿にとくに注意し数匹分尿を 24 時間毎に氷室に保存 4 日間採尿後、前記の方法を用いてケトン分割を得、Pond⁶¹⁾, Edwards¹⁸⁾, 大野⁶⁷⁾の方法により Liquid Column Partition Chromatography を行いウサギの場合と同様に数匹分 4 日間尿について測定を行い、1 匹 48 時間値を算定した。

3) ネズミの尿中 Formaldehydogenic steroid (FGS) 測定法

Bush ら⁷⁾⁸⁾⁹⁾²⁸⁾²⁹⁾は副腎皮質から分泌される グルココルチコイドは動物により差異があり、ネズミではコルチコステロンが多く、ハイドロコチゾンは少いかまたはないと報告した。ネズミのコルチコイドは 17-KS 測定法のみでは不十分であり、17-OHCS 測定法⁶³⁾では測定できない²⁸⁾⁶⁹⁾。それで私は Burs-stein⁶⁾がモルモットで行った Daughaday 変法にもとづき村中⁴²⁾⁴³⁾がネズミで行った方法を参考にして FGS の測定を行つたのである。その方法は次のようである。

24 時間尿に塩化ナトリウムを飽和沈澱するまで加えて後 50% 硫酸で pH1.0 に調整し、クロロホルム 20 cc と 10 cc で 2 回抽出し、そのクロロホルムを 0.2 容の 1/10N 苛性ソーダで 2 回、蒸留水で 1 回洗滌し、その洗滌液も各回クロロホルム 10 cc で逆抽出し、全クロロホルムを硫酸ソーダで脱水、濾過し 40°C で減圧乾固する。乾燥残渣はベンゼン 1 cc で溶かし、ピペットで 10 cc 共栓付遠心管にうつし、容器を 1 cc と 0.5 cc のベンゼンで洗い同様にうつし、蒸留水 5 cc を加えて、強振、遠心分離するとコルチコイドは水分割にうつる。水分割の 4 cc を円型フラスコにとり (盲検として蒸留水 4 cc を用意し以後同様の操作を行う)。0.03M 過沃度酸カリの 0.025M 硫酸溶液 0.5 cc を加え室温に放置、45 分後 3% 塩化第一錫塩酸溶液 (毎回新調) 0.5 cc を加えて酸化を停止する。蒸留水 0.5 cc, 3 M 硫酸 0.5 cc を加えて全量を 6 cc とし、15 cc 目盛共栓付遠心管に 4 cc のクロモトロープ酸硫酸溶液 (クロモトロープ酸 (1,8-Dihydroxynaphthalene sulfonic acid 住友化学製) 150mg を前記の 3% 塩化第一錫塩酸溶液 2 cc に溶解し、冷却しながら濃硫酸を加え全量を 50 cc にする。毎回新調) 中へ

Hadd²⁶⁾の蒸溜装置を用いてガス小火焰で全量 8 cc まで蒸溜する。遠心管に共栓をし 30 分沸騰浴後室温で冷却、

第 3 表 正常成熟およびアロキサン糖尿病ネズミの尿中 17-KS 総量ならびに分割, FGS, ウロペプシン排泄値

ネズミ種類	性別	17-KS 総量		17-KS 分割 1 匹平均 (48 時間値) 測定回数 (10)										FGS		ウロペプシン (1 匹平均 (48 時間))	
		匹数	1 匹平均 (48 時間) (μg/48 時間) (測定回数)	I	II	III	IV	+ V	VI	VII	VIII	1 匹平均 (μg/24 時間) (測定回数)	匹数 (測定回数)	1 匹平均 (μg/24 時間) (測定回数)	匹数 (測定回数)	蛋白分解能 (単位)	凝乳能 (mg)
				μg	%	μg	%	μg	%	μg	%	μg	%	μg	%		
正 常	♂	20 (10)	46.8 ± 3.82	3.5 ± 0.66	7.5 ± 0.89	6.1 ± 0.89	13.0 ± 0.26	6.8 ± 0.26	16.1 ± 0.57	34.5 ± 0.18	10.1 ± 0.18	21.5 ± 0.28	3.0 ± 0.18	1.2 ± 0.18	2.5 ± 0.20	21.5 ± 2.81	20 (60)
	♀	20 (10)	34.5 ± 4.14	1.5 ± 0.29	4.3 ± 0.43	2.5 ± 0.43	7.5 ± 0.51	2.6 ± 0.51	7.5 ± 0.94	28.2 ± 0.95	8.4 ± 0.95	6.0 ± 0.69	3.7 ± 0.46	10.8 ± 0.46	19.9 ± 3.32	20 (60)	0.40 ± 0.19
アロキサン糖尿病	♂	6 (10)	24.7 ± 9.32	2.8 ± 0.56	11.2 ± 0.89	2.4 ± 0.89	9.7 ± 0.25	3.1 ± 0.25	12.5 ± 0.37	9.8 ± 0.37	2.8 ± 0.12	11.7 ± 0.41	1.3 ± 0.41	5.3 ± 0.41	2.5 ± 0.86	13.2 ± 3.99	6 (18)
	♀	5 (10)	24.9 ± 10.25	2.7 ± 0.95	11.0 ± 0.60	1.5 ± 0.60	6.0 ± 0.57	1.4 ± 0.57	5.8 ± 0.35	8.9 ± 0.35	3.4 ± 0.25	13.5 ± 0.59	3.7 ± 0.59	15.0 ± 0.59	3.3 ± 0.54	17.0 ± 2.64	5 (15)
アロキサン糖尿病以上																24.0 ± 9.8	0.20 ± 0.23
																21.0 ± 10.0	0.20 ± 0.14

第4表 正常ネズミ生後日数別尿中17-KS総量, FGS, ウロペプシン
排泄値および体重 (♂♀15匹平均値)

生後日数	性別	体重 (g)	17-KS総量		FGS		ウロペプシン (48時間)			
			測定回数	(μg/48時間)	測定回数	(μg/24時間)	蛋白分解能		凝乳能	
							測定回数	(単位)	測定回数	(mg)
30	♂	46±5.5	3	14	3	4.9	6	13±1.2	4	0.10
	♀	45±6.3		(8~9)		2.7~6.1	4	10±1.3	5	0.09±0.262
40	♂	84±6.1	3	20	3	5.8 3.4~6.6	7	24±1.6	7	0.20±0.013
	♀	85±4.6		15~26		5.7 4.9~6.9	6	18±1.5	8	0.17±0.013
50	♂	107±5.8	4	29 24~35	15	12.0±2.86				
	♀	100±5.0	4	26 20~28	15	15.2±4.54				
60	♂	123±8.3	4	34 24~52	15	13.2±2.83	8	28±1.1	9	0.26±0.014
	♀	115±3.0	4	28 21~40	15	12.6±2.82	10	21±1.2	9	0.20±0.021
70	♂	185±14.0	4	42 32~52	15	15.4±2.01	10	35±2.1	10	0.30±0.031
	♀	160±5.7	4	31 26~45	15	13.6±2.76	10	30±1.4	10	0.34±0.013
80	♂	200±11.1	4	45 41~58	15	19.6±2.08	15	39±2.2	15	0.42±0.011
	♀	180±5.7	4	32 28~40	15	14.3±2.76	15	36±2.6	15	0.44±0.025
90	♂	230±16.0	4	43 32~58	15	18.6±3.98	10	44±1.3	8	0.40±0.021
	♀	195±10.0	4	32 26~41	15	18.2±2.29	10	41±3.2	11	0.39±0.027
100	♂	255±11.7	4	47 28~50	15	20.2±4.54	20	46±2.4	20	0.41±0.030
	♀	205±8.4	4	35 23~42	15	19.8±4.12	20	40±1.6	20	0.36±0.023

日立分光光度計 EPU-2型を用い510, 570, 630mμで30分以内に盲検に対してよみ, 最高吸光度が570mμであることを確かめてコルチコステロンで作成した標準曲線にあわせてμgを求め1日の尿量より算定した。回収率は84~91%であつた。測定値と尿量, 体重に一定の関係は認められなかつた。過沃度酸はアルコール基を有する化合物に反応してフォルムアルデヒドを発生する。そして私は糖尿病の尿について測定を行う必要がある。糖の干渉について検討した。その結果, 私の行つた方法ではブドウ糖5%以下の添加ではほとんど干渉しないことを知つた。

4) ネズミ尿中ウロペプシン測定法

ウサギについて赤沢¹⁾が行つたと同様の試薬を用い, 次のA, Bの2方法で48時間尿について測定を行つた。

A 蛋白分解能測定法 (ヘモグロビン法) Anson & Mirsky⁴⁾ の Gray 変法²⁴⁾²⁵⁾に準じて赤沢¹⁾⁵⁴⁾がウサギについて行つた方法に従つた。

B 凝乳能測定法

West の方法⁷⁶⁾にもとづき福住²¹⁾が行つたスキムミルクを用いペプシンで牛乳を凝固させる能力を応用して測定した。

5) 統計学的検定

前述のウサギの研究成績の判定のさいと同様の方法²³⁾で行つた。

第3節 研究成績

第1項 無処置群の尿中17-KS総量ならびに分割,
FGS, ウロペプシン

1) 対照正常ネズミ

尿中17-KS総量：正常成熟ネズミの測定結果は第3表に示した。48時間尿における雄20匹平均値は $46.8 \pm 3.82 \mu\text{g}$, 雌20匹の平均値は $34.5 \pm 4.14 \mu\text{g}$ であった。成長時の測定結果は第4表、第6図に示した通りである。すなわち雄、雌15匹ずつの48時間尿で測定し、その平均値をみるに生後50日で性差がみられ、80日で成熟時の値を示す。

尿中17-KS分割：正常ネズミで得た測定結果は第3表にみるようにクロマトグラムにおいて雄、雌とも8分割に分れ、各分割のクロマトグラム上の位置は人間における報告や¹⁸⁾⁵⁷⁾⁶¹⁾、赤沢¹⁾のウサギの報告と大体同一場所に Zimmermann 反応物質の排泄がある。正常ネズミ48時間尿における各分割の百分率、絶対値はⅣ+Ⅴ分割が雄は34.5%, $16.1 \pm 0.57 \mu\text{g}$, 雌28.2%, $9.7 \pm 0.94 \mu\text{g}$ で、雄が高く、Ⅶ分割では雄は6.5%, $3.0 \pm 0.28 \mu\text{g}$, 雌17.5%, $6.0 \pm 0.69 \mu\text{g}$ で雌が高い。

尿中FGS：正常成熟ネズミの24時間尿について雄20匹平均値 $21.5 \pm 2.81 \mu\text{g}$, 雌20匹平均値 $19.9 \pm 3.32 \mu\text{g}$ で雄、雌間に統計的に有意の差はない。また生後30日より成長時の測定結果は第4表、第6図に示した通り成長にともないぜんじ増加し80日頃には成熟時の値を示す。

尿中ウロペプシン：正常成熟ネズミ48時間尿について雄、雌20匹ずつの平均値は蛋白分解能法では雄 46.0 ± 11.5 単位, 雌 36.0 ± 14.0 単位で雄、雌間に有意の差はない。凝乳能法では雄 $0.41 \pm 0.10 \text{mg}$, 雌 $0.40 \pm 0.19 \text{mg}$ でやはり両者の間に有意の差はない。成長期の測定結果は第4表に示した通り生後80日で成熟時の値を示している。

2) 実験的先天性糖尿病子孫ネズミ

尿中17-KS総量：実験的先天性糖尿病子孫成熟ネズミの測定結果は第5表、第3図に示した。48時間尿について雄18匹の平均値は $65.4 \pm 11.87 \mu\text{g}$, 雌20匹の平均値は $54.0 \pm 10.54 \mu\text{g}$ で対照正常ネズミにくらべて増加しており、統計的に有意の差がある。成長時の測定結果は第6表、第6図に示した通りで、糖尿病自然発症前の幼若未発症時期の生後50日では、48時間尿について雄 $47.2 \pm 7.18 \mu\text{g}$, 雌 $43.6 \pm 9.26 \mu\text{g}$ で対照正常ネズミより高値を示し、成長するに従って増加している。自然発症のみられる70日前後では正常値

第5表 実験的先天性糖尿病ネズミおよびこれにアロキサン糖尿病を発症させたさいの
尿中17-KS総量ならびに分割, FGS, ウロペプシンの排泄値

ネズミ種類	性別	17-KS総量		17-KS分割, 1匹平均(48時間尿)測定回数(6)												FGS		ウロペプシン		1匹平均 (48時間)		
		匹数 (6)	1匹平均 ($\mu\text{g}/48$ 時間) 測定回数	I		II		III		IV+V		VI		VII		VIII		匹数 (24)	1匹平均 ($\mu\text{g}/24$ 時間) 測定回数	蛋白分解能 (単位) 測定回数	凝乳能 (mg) 測定回数	
				μg	%	μg	%	μg	%	μg	%	μg	%	μg	%	μg	%					
実験的先天性糖尿病	♂	18	65.4 ± 11.87	2.2 ± 0.90	3.3 ± 0.63	8.9 ± 0.63	13.7 ± 0.56	9.8 ± 0.99	15.0 ± 0.93	13.3 ± 0.96	20.3 ± 0.96	14.4 ± 0.91	22.0 ± 0.91	14.7 ± 1.32	22.5 ± 1.31	2.1 ± 1.31	3.2 ± 1.31	18 (24)	29.0 ± 6.32	18 (24)	826 ± 45	8.9 ± 3.11
	♀	20	54.0 ± 10.54	2.3 ± 0.76	4.2 ± 0.56	5.6 ± 0.56	10.3 ± 0.56	7.0 ± 0.93	13.0 ± 0.93	10.5 ± 0.96	19.5 ± 0.96	12.4 ± 0.91	23.0 ± 0.91	12.7 ± 1.32	23.6 ± 1.31	3.5 ± 1.31	6.4 ± 1.31	23 (23)	27.7 ± 6.32	23 (69)	830 ± 35	8.5 ± 2.94
アロキサン糖尿病発症	♂	11	39.3 ± 8.86	4.7 ± 0.46	8.0 ± 1.67	7.6 ± 1.67	12.9 ± 1.67	7.8 ± 1.13	13.2 ± 1.13	13.5 ± 2.51	22.8 ± 2.51	11.6 ± 1.75	19.6 ± 1.75	10.4 ± 1.06	17.5 ± 1.06	3.5 ± 0.81	6.0 ± 0.81	11 (11)	26.4 ± 3.73	11 (33)	230 ± 24	2.2 ± 0.39

第6表 実験の先天性糖尿病ネズミ生後日数別尿中17-KS総量, FGS,
ウロペプシン排泄値および体重 (♂15匹, ♀16匹平均値)

生後 日数	性 別	体 重 (g)	17-KS総量		FGS		ウロペプシン (48時間)	
			測定 回数	($\mu\text{g}/48\text{時間測}$)	測定 回数	($\mu\text{g}/24\text{時間}$)	測定 回数	× 倍 数
30	♂	71±14.3			6	8.4±2.63	4	$\times 3$ $\times 2\sim 5$
	♀	66±13.7					5	$\times 2$ $\times 2\sim 3$
40	♂	103±27.4			6	10.7±4.24	6	$\times 12$ $\times 3\sim 16$
	♀	99±13.8						$\times 16$ $\times 9\sim 19$
50	♂	154±28.3	6	47.2±7.18	15	16.6±3.64		
	♀	146±21.2	6	43.6±9.26	16	13.9±3.32		
60	♂	208±32.2	6	50.1±11.97	15	17.2±3.51	10	$\times 21$ $\times 18\sim 24$
	♀	181±14.1	6	45.8±5.96	16	22.9±3.56	10	$\times 19$ $\times 14\sim 22$
70	♂	252±39.6	6	57.1±4.84	15	33.3±3.61	15	$\times 20$ $\times 14\sim 23$
	♀	214±24.8	6	47.6±5.41	16	24.7±3.94	15	$\times 18$ $\times 14\sim 20$
80	♂	275±33.2	6	59.0±3.24	15	34.9±3.78	14	$\times 20$ $\times 16\sim 23$
	♀	231±22.6	6	51.0±6.76	16	32.8±3.00	15	$\times 22$ $\times 19\sim 24$
90	♂	315±31.1	6	65.7±6.47	15	29.6±3.23	15	$\times 19$ $\times 15\sim 24$
	♀	251±22.7	6	54.0±7.89	16	31.3±5.94	15	$\times 20$ $\times 18\sim 23$
100	♂	327±32.5	6	65.7±4.64	15	30.2±4.47	20	$\times 21$ $\times 19\sim 23$
	♀	257±21.7	6	57.4±6.51	16	27.4±6.56	20	$\times 23$ $\times 20\sim 24$

の1.4倍を示す。

尿中17-KS分割：第5表，第4図に示す通り正常ネズミにくらべて雄，雌ともⅡ，Ⅲ，Ⅵ，Ⅶ分割が増加している。Ⅶ分割の増加は雄，雌とも著しい。成長時の測定結果は第7表，第5図に示すようにすでに生後50～60日でⅡ，Ⅲ，Ⅵ，Ⅶ分割の増加がみられた。

尿中 FGS：雄18匹の24時間尿についての平均値 $29.0 \pm 3.86 \mu\text{g}$ ，雌23匹の平均値は $27.7 \pm 6.32 \mu\text{g}$ で正常ネズミにくらべて増加しており，統計的に有意の差がある。しかし雄，雌間に有意の差はない。成長時の測定結果は第6図にみるように生後30日よりすでに正常ネズミより高く，70日から80日頃に最高値を示し，その後も高い値を持続している。

尿中ウロペプシン：雄18匹，雌23匹の48時間尿についての平均値は蛋白分解能法では雄 826 ± 45 単位，雌 830 ± 35 単位，凝乳能法では雄 $8.9 \pm 3.11 \text{mg}$ ，雌 $8.5 \pm 2.94 \text{mg}$ でやはり雄，雌間に統計的に差はない。両方法によつて得た測定結果はいずれも正常値にくらべて明らかに増加している。成長時の測定結果は離乳時より正常ネズミの2～3倍の値を示し，60日頃から急激な増加を来し以後高値を持続している。この成長時の測定結果は17-KS総量，FGS値等とはほぼ平行している。

第2項 アロキサン投与群の尿中17-KS総量ならびに分割，FGS，ウロペプシン

1) 正常ネズミにアロキサン糖尿病を発症させた場合

尿中17-KS総量：正常成熟雄ネズミにアロキサン糖尿病を発症させたさいの測定結果は第8表に示したよ

歴代実験的糖尿病子孫ウサギおよび Wistar 系シロネズミの尿中ケトステロイド、
ウロペプシンの排泄状態ならびにアロキサン投与による影響について (石崎)

第3図 正常ネズミと実験的先天性糖尿病ネズミおよびこれにアロキサン

糖尿病を発症させたさいの尿中17-KS総量, FGS

うに投与10日後に著増し, 30日後には投与前値を示し, 50日後には正常値以下に低下し統計的に有意の差がある。第3表, 第3図に3ヵ月以上アロキサン糖尿病を持続した雄6匹, 雌5匹の測定結果を示した。48時間尿についての平均値は雄 $24.7 \pm 9.32 \mu\text{g}$, 雌 $24.9 \pm 10.25 \mu\text{g}$ で正常値以下に減少している。

尿中17-KS分割: 第7図に示すようにアロキサン投与10日後にⅡ, Ⅲ分割の増加がみられ, 50日後にはⅡ, Ⅲ, Ⅵ, Ⅶ分割が減少している。第4図に示すようにさらに3ヵ月以上糖尿病を持続したものは全分割の減少がみられる。

尿中 FGS: アロキサン投与10日後に増加し, 30日後もなお投与前値より高く, 50日後には投与前値と統計的に有意の差がなく減少を示す。さらに3ヵ月以上の長期間アロキサン糖尿病を持続した雄6匹, 雌5匹の24時間尿における平均値は雄 $13.2 \pm 3.99 \mu\text{g}$, 雌 $17.0 \pm 2.64 \mu\text{g}$ でいずれも明らかに正常値以下に減少している。

尿中ウロペプシン: 両測定法でアロキサン投与10日後に一過性の増加を示し, 50日後には著しく減少し正常値以下になる。なお3ヵ月以上長期間アロキサン糖尿病を持続するものの雄, 雌とも正常値の1/2の値を示している。

2) 実験的先天性糖尿病子孫ネズミの糖尿病非発症時にアロキサン糖尿病を発症させた場合

尿中17-KS総量: 実験的先天性糖尿病雄ネズミ11匹にアロキサン糖尿病を発症させたさいの測定結果は第

第4図 正常ネズミと実験的先天性糖尿病ネズミおよびこれに
アロキサン糖尿病を発症させた際の尿中17-KS分割

5表, 第8表に示した通りである。第5表のように投与10日後に増加を示し, 30日後に投与前値となり, 50日後には $57.4 \pm 9.97 \mu\text{g}/48$ 時間でさきの無処置の場合より減少し統計的に有意の差がある。なお正常値にくらべて高値を示す。

尿中17-KS分割: アロキサン投与10日後にⅡ, Ⅲ分割が増加し, 投与50日後ではⅢ, Ⅵ, Ⅶ分割の百分率が投与前値より減少し, 絶体値はⅡ, Ⅲ, Ⅳ+Ⅴ, Ⅵ, Ⅶの各分割で減少がみられるがやはり正常値より高い。

尿中 FGS: アロキサン投与10日後に投与前の2倍に増加し, 30日後には投与前値になり統計的に有意の差はない。50日後では明らかに減少を示すが正常値より高い値で統計的に有意の差がある。

歴代実験的糖尿病子孫ウサギおよび Wistar 系シロネズミの尿中ケトステロイド、ウロペプシンの排泄状態ならびにアロキサン投与による影響について (石崎)

第5図 正常ネズミおよび実験的先天性糖尿病ネズミ生後日数別尿中17-KS分劃

尿中ウロペプシン：アロキサン投与10日後には同様に一過性の増加がみられ、その後減少してゆくが投与50日後では正常値よりなお高く、しかも投与前値より減少している。

第4章 考 按

岡本らが得た歴代実験的糖尿病子孫動物には豚ラ氏島の發育障礙が認められ、累代的にこの障礙の程度が増強されてついに糖尿病の自然発症をみる。そしてこれらの動物では脳下垂体にも一定の変化がみとめられるが、ことに副腎皮質において特長ある機能亢進の組織像が報告⁶⁶⁾されている。またこれらウサギの尿中17-KS総量が対照正常ウサギより増量を示し¹⁾⁵²⁾⁶⁷⁾、また17-KS総量ならびにⅡ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ分劃の増加、

第7表 正常ネズミおよび実験的先天性糖尿病ネズミ生後日数別尿中17-KS総量ならびに分割

生後日数	ネズミ種類	匹数 (測定回数)	性別	17-KS総量 1匹平均 ($\mu\text{g}/48\text{時間}$)	17-KS分割, 1匹平均(48時間値)測定回数(3回)													
					I		II		III		IV + V		VI		VII		VIII	
					μg	%	μg	%	μg	%	μg	%	μg	%	%	%	μg	%
50 60	正 常	15 (3)	♂ ♀	29.1 26.4	1.3 1.8	4.6 7.0	3.7 2.0	12.7 7.7	5.4 2.0	16.6 7.7	9.0 7.2	31.0 28.0	6.0 5.1	20.7 19.5	2.2 4.6	7.6 17.5	1.4 3.3	4.8 12.6
	糖尿病	15 (3)	♂ ♀	48.2 43.9	2.4 4.6	5.0 10.5	8.1 4.6	16.9 10.5	7.3 4.2	15.2 9.5	9.7 11.0	20.0 25.0	10.2 8.8	21.5 20.0	8.9 7.7	18.5 17.5	1.6 3.0	2.9 7.0
70 80	正 常	15 (3)	♂ ♀	42.3 31.8	3.1 1.1	7.5 3.5	5.1 2.0	12.0 6.5	6.0 2.1	14.0 6.9	14.5 8.3	34.5 26.9	9.1 7.0	22.0 22.6	3.0 4.8	7.2 15.6	1.2 5.7	2.8 18.0
	糖尿病	15 (3)	♂ ♀	54.2 47.9	1.4 1.2	2.5 2.5	7.1 5.0	13.0 10.5	8.2 6.5	15.0 13.5	12.1 10.3	22.4 21.5	11.7 12.4	21.6 26.0	11.9 11.5	22.0 24.0	1.8 1.4	3.5 3.0
100 110	正 常	15 (3)	♂ ♀	45.7 34.5	3.6 1.1	7.5 3.3	5.8 2.4	12.7 6.9	6.4 2.7	14.0 7.5	16.0 9.7	35.0 28.0	10.3 7.6	22.5 22.0	3.1 5.9	6.8 17.5	0.7 5.0	1.5 14.8
	糖尿病	15 (3)	♂ ♀	64.4 57.5	2.0 1.3	3.2 2.2	10.0 4.2	15.3 7.3	10.4 8.0	16.2 13.8	13.0 13.1	20.3 22.8	13.8 14.5	21.5 25.2	11.8 11.5	18.4 20.0	3.4 3.7	5.1 6.5

第6図 正常ネズミおよび実験的先天性糖尿病ネズミ生後日数別尿中17-KS総量, FGS, ウロペプシン排泄値および体重

17-OHCS, ウロペプシンが増加していること¹⁾⁵⁴⁾⁵⁵⁾からこれらのウサギがアロキサン糖尿病ウサギとことなり副腎皮質機能亢進のあるものと推定されている。そして私は種々の程度に先天性糖尿病素因をもつ歴代両親実験的糖尿病子孫ウサギおよび Wistar 系シロネズミにアロキサン糖尿病を発症させ、その尿中17-KS総量ならびに分割を測定し、ネズミではさらに FGS, ウロペプシンの測定をも行つて正常およびアロキサン糖尿病発症動物ならびに実験的先天性糖尿病動物の結果と比較して一定の成績を得た。次にこれら成績について若干の考按を加えたいと考える。

第8表 正常および実験的先天性糖尿病雄ネズミにアロキサン糖尿病を発症させたさいの
尿中17-KS総量ならびに分割, FGS, ウロペプシン排泄値

ネズミ種類	17-KS総量		17-KS分割, 1匹平均(48時間値)測定回数(5)												FGS		ウロペプシン		能乳凝 (mg)		
	処置後日数	1匹平均 (μ g/48時間) 測定回数	I		II		III		IV+V		VI		VII		VIII		匹数	1匹平均 (μ g/24時間) 測定回数		匹数	1匹平均 (μ g/24時間) 測定回数
			μ g	%	μ g	%	μ g	%	μ g	%	μ g	%	μ g	%	μ g	%					
正 常 A	投前	20	47.2	3.5	7.5	5.9	12.7	6.6	14.0	16.5	35.0	10.6	22.5	3.2	6.8	0.7	20	23.1	20	46 $\pm$ 11.5	0.41 $\pm$ 0.10
	与	(5)	$\pm$ 4.82	$\pm$ 0.42	$\pm$ 0.50	$\pm$ 0.50	$\pm$ 0.50	$\pm$ 0.50	$\pm$ 0.58	$\pm$ 0.58	$\pm$ 1.83	$\pm$ 2.5	$\pm$ 0.28	$\pm$ 0.18	$\pm$ 0.18	$\pm$ 0.18	(20)	$\pm$ 3.62	(20)		
	10	10	60.7	3.2	5.3	12.7	21.0	17.7	29.2	13.2	21.7	7.4	12.2	3.0	4.9	3.5	10	75.6	10	186 $\pm$ 18.1	1.80 $\pm$ 0.21
		(5)	$\pm$ 20.01	$\pm$ 0.24	$\pm$ 2.31	$\pm$ 2.31	$\pm$ 3.44	$\pm$ 3.44	$\pm$ 1.54	$\pm$ 1.54	$\pm$ 1.76	$\pm$ 1.76	$\pm$ 0.22	$\pm$ 0.22	$\pm$ 0.87	$\pm$ 0.87	(10)	$\pm$ 13.22	(10)		
	30	5	44.3	3.6	8.0	7.6	17.3	9.5	21.5	14.2	32.0	5.2	11.8	2.0	4.6	2.1	5	37.1	5	68 $\pm$ 7.3	0.60 $\pm$ 0.17
	(5)	$\pm$ 15.23	$\pm$ 0.50	$\pm$ 0.31	$\pm$ 0.31	$\pm$ 1.26	$\pm$ 1.26	$\pm$ 1.32	$\pm$ 1.32	$\pm$ 1.05	$\pm$ 1.05	$\pm$ 0.67	$\pm$ 0.67	$\pm$ 0.81	$\pm$ 0.81	(5)	$\pm$ 12.76	(5)			
	50	5	30.4	3.2	10.5	3.5	11.6	3.8	12.6	14.4	47.3	3.1	10.3	1.2	4.0	1.0	5	20.2	5	19 $\pm$ 1.5	0.22 $\pm$ 0.04
	(5)	$\pm$ 9.45	$\pm$ 0.43	$\pm$ 0.78	$\pm$ 0.78	$\pm$ 0.76	$\pm$ 0.76	$\pm$ 3.31	$\pm$ 3.31	$\pm$ 0.63	$\pm$ 0.63	$\pm$ 0.20	$\pm$ 0.20	$\pm$ 0.28	$\pm$ 0.28	(5)	$\pm$ 7.94	(5)			
雌性先天性糖尿病の尿糖	投前	10	70.8	2.0	2.8	9.4	13.2	10.3	14.6	14.5	20.5	15.7	22.2	16.6	23.4	2.3	11	29.7	11	826 $\pm$ 45	8.91 $\pm$ 3.09
	与	(5)	$\pm$ 7.43	$\pm$ 0.60	$\pm$ 1.65	$\pm$ 1.65	$\pm$ 1.43	$\pm$ 1.43	$\pm$ 2.42	$\pm$ 2.42	$\pm$ 1.95	$\pm$ 1.95	$\pm$ 3.38	$\pm$ 3.38	$\pm$ 0.13	$\pm$ 0.13	(11)	$\pm$ 2.34	(11)		
	10	10	87.6	3.8	4.3	14.7	16.8	16.8	19.2	18.0	20.6	15.8	18.0	15.3	3.2	3.7	11	58.6	11	980 $\pm$ 65	9.56 $\pm$ 5.01
		(5)	$\pm$ 4.96	$\pm$ 0.56	$\pm$ 1.43	$\pm$ 1.43	$\pm$ 1.87	$\pm$ 1.87	$\pm$ 1.96	$\pm$ 1.96	$\pm$ 1.54	$\pm$ 1.54	$\pm$ 1.05	$\pm$ 1.05	$\pm$ 0.96	$\pm$ 0.96	(11)	$\pm$ 14.85	(11)		
	30	10	63.5	4.6	7.2	10.3	16.3	10.0	15.8	14.5	22.8	11.1	17.5	9.8	3.2	3.7	11	31.8	11	540 $\pm$ 50	5.10 $\pm$ 0.49
	(5)	$\pm$ 5.74	$\pm$ 0.21	$\pm$ 1.32	$\pm$ 1.32	$\pm$ 1.25	$\pm$ 1.25	$\pm$ 1.53	$\pm$ 1.53	$\pm$ 1.05	$\pm$ 1.05	$\pm$ 0.93	$\pm$ 0.93	$\pm$ 0.96	$\pm$ 0.96	(11)	$\pm$ 6.08	(11)			
先天性糖尿病の尿糖	10	57.4	4.6	8.2	8.2	14.2	7.3	12.8	13.5	23.5	10.3	18.0	9.5	16.5	4.0	7.0	11	26.4	11	230 $\pm$ 24	2.20 $\pm$ 0.32
	(5)	$\pm$ 9.97	$\pm$ 0.33	$\pm$ 1.82	$\pm$ 1.82	$\pm$ 1.43	$\pm$ 1.43	$\pm$ 1.19	$\pm$ 1.19	$\pm$ 1.25	$\pm$ 1.25	$\pm$ 1.06	$\pm$ 1.06	$\pm$ 0.38	$\pm$ 0.38	(11)	$\pm$ 11.69	(11)			

A...アロキサン糖尿病発症

(I) ウサギの研究成績について

正常成熟ウサギの尿中17-KS総量について私の得た測定値は同じ方法で測定した鈴木⁶⁷⁾, 赤沢¹⁾の得た値とはほぼ同じであった。ウサギ尿中17-KS値も人間での報告¹⁵⁾¹⁶⁾と同様に雄が雌より高値を示した。これは尿中17-KSが雄では辜丸と副腎皮質に由来し、雌では副腎皮質にのみ由来するためと考えられる。そして17-KS分割については私も赤沢¹⁾と同様に8分割のクロマトグラムを得、その各分割の得た位置は赤沢も述べているように Edwards¹⁸⁾, 大野⁵⁷⁾らが各17-KSの純結晶および人体尿中17-KS分割で得た位置と一致しているの、ウサギの尿中ケトステロイド代謝が人体と類似しているという赤沢¹⁾の考えは妥当なものであろう。

a) 歴代実験的糖尿病子孫ウサギ

世代の浅い糖尿病子孫ウサギでは豚¹⁾氏の発育障害は軽度で先天性糖尿病素因の程度は弱く糖尿病を自然発症するに至らないが、その尿中17-KSは軽度の増加を示し、代を累ねるにつれて増加の度が強くなる。そしてその17-KS分割像も、代を累ねるにつれⅡ, Ⅲ分割, ついでⅥ, Ⅶ分割がぜんじ増加の傾向を示してくる。さらに世代がすすんで糖尿病を自然発症するに至つたウサギ, すなわち実験的先天性糖尿病ウサギでは尿中17-KS総量, そのⅡ, Ⅲ, Ⅵ, Ⅶ分割の増加は最も顕著である。これらの成績は赤沢¹⁾の報告とよく一致している。さらに赤沢¹⁾はこのようウサギにおいてウロペプシンの増加をも認め、笹野⁶⁸⁾は副腎皮質の束状層を主体とする皮質各層に好酸性粗大顆粒をもつ充実性肥大細胞をみ、さらに深層網状層, 傍髄層に

およぶとともに著明な皮質面積の増大を伴うと報告している。これらの所見とあわせ考え、このようなウサギの尿中17-KS総量, 分割の増加像はその副腎皮質の機能亢進を示すものと考えられる。

第7図 正常雄ネズミおよび実験的先天性糖尿病雄ネズミにアロキサン糖尿病を発症させたさいの尿中17-KS分劃

b) 歴代実験的糖尿病子孫ウサギにアロキサン糖尿病を発症させた場合

先天性糖尿病素因を種々の程度に有するウサギにアロキサン糖尿病を発症させたさいのケトステロイド代謝を追究するために、歴代両親実験的糖尿病子孫ウサギや糖尿病を自然発症する程先天性糖尿病素因を濃厚に有するウサギの糖尿病非発症時期にアロキサン糖尿病を発症させたウサギについて尿中17-KS総量ならびに分劃をしらべ、その測定結果を上述のこれらのウサギの無処置の結果および正常ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたさいの結果と比較してみた。

まず正常成熟ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたさいのケトステロイド排泄状態はすでに赤沢¹⁾が17-KS総量は発症7日~14日後の間に最高値を示し、30日後にはほぼ発症前値となり200日後、300日後には減

少を示し、その分割も各分割が正常値以下に減少し、とくにⅥ、Ⅶ分割の減少が著明であると報告している。私もアロキサン糖尿病発症50日以後のものについて測定を行い同様の結果をえた。次に歴代実験的糖尿病子孫ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたさいのケトステロイド排泄状態はアロキサン投与の影響をうけ、17-KS総量は無処置群にくらべて各世代とも減少しており、その値は世代の浅いものは正常値以下に、世代のすすんだ糖尿病の自然発症をみる世代のものは、正常値より高い値を示している。分割像もⅡ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ分割が無処置群にくらべ減少を示すが、正常値よりも高値である。正常ウサギのアロキサン糖尿病の場合とくらべると、17-KS総量ならびに全分割が高く、その差は先天性糖尿病素因を濃厚に有する世代のすすんだウサギほど大きく、すなわちアロキサン糖尿病発症による影響が少くなっている。上記のように実験的糖尿病子孫ウサギでみられたケトステロイド排泄増加は副腎皮質機能亢進によると考えられるが、これらのウサギにアロキサン投与という外的な糖尿病発症要素が加わって糖尿病を発症した場合、副腎皮質機能が障碍され、ケトステロイド排泄状態はアロキサン糖尿病発症前の特長を残してさまざまな値を示すものと理解される。

(Ⅱ) Wistar 系シロネズミの研究成績について

ネズミの尿中17-KS測定については安藤ら²³⁾は一般に粘液様物質が多く Zimmermann 反応を与える Chromogen, いわゆる非ケトン分割が多く、17-KSの排泄量は少く、非ケトン分割の中性分割に対する百分率が40~75%の高率を示すと報告し、そして Girard 分析が必要であると述べている。私はネズミの尿中17-KS総量の測定にさいし、48時間尿を用い30%の塩酸を加えて80°Cで30分間加水分解を行つた。Girard 分析を行つて非ケトン分割を除き、分離したケトン分割は8N苛性カリと1%の meta-Dinitrobenzeneで Zimmermann 反応を行つた。このさいネズミの飼育条件を一定にし環境の変化によると考えられる条件を少なくするようにつとめた。正常成熟ネズミの48時間尿における雄20匹平均値は $46.8 \pm 3.82 \mu\text{g}$ 、雌20匹平均値 $34.5 \pm 4.14 \mu\text{g}$ で雄が高く、統計的に有意の差がある。これは人間およびウサギで考えられているように雄は副腎由来のステロイドの他、性腺由来のステロイドが関与するためと考えられる。従来の報告では Girard 分析を行わずに、Del Greco ら¹⁸⁾は雌ネズミで $198 \pm 7.2 \mu\text{g}/24\text{時間}$ 、Bucchus⁵⁾ は $137 \pm 7 \mu\text{g}/24\text{時間}$ と報告している。また Girard 分析を行つて Danford ら¹¹⁾は雄ネズミで $30 \mu\text{g}/24\text{時間}$ と報告しているが、発色にさいし2.5N苛性カリと2%の meta-Dinitrobenzene を用いている。安藤²³⁾は塩酸20%、80°C、30分間の加水分解が最適とし、Girard 分析を行い、発色は5N苛性カリ、25°C、110分が安全であると述べている。そして雄 $32.5 \sim 39.7 \mu\text{g}/24\text{時間}$ 、雌 $32.6 \sim 20 \mu\text{g}/24\text{時間}$ と報告しやはり雄が雌より高い。これは私の測定結果よりやや高い値である。

ネズミ尿中17-KS分割についてはクロマトグラムにおいて雄、雌ともほぼ8分割に分れ、各分割のクロマトグラム上の位置は人間における Pond⁶¹⁾、Edwards¹⁸⁾、大野⁵⁷⁾らの報告や、ウサギにおける赤沢¹⁾の報告と大体同一場所に Zimmermann 反応物質の排泄があつた。各17-KSの純粋結晶の同定からそのⅡ、Ⅲ分割は β -17-KS と考えられる。Ⅵ、Ⅶ分割についてみると、人間の場合ヒドロコルチゾンの代謝産物とされているが¹⁸⁾、ネズミではヒドロコルチゾンの代謝が明らかでないが Bush⁷⁾、⁸⁾、²⁸⁾、²⁹⁾、⁶⁹⁾ はネズミの副腎静脈血から主にコルチコステロンと 11-oxy-17-KS を証明し、McCarthy³⁷⁾ は 17-Hydroxycorticosterone とコルチコステロンを血中より測定しているのやはりネズミのⅥ、Ⅶ分割は副腎由来のものであろうと考える。Ⅳ+Ⅴ分割についてみるに人間ではⅣ分割は Androsterone、Ⅴ分割は Etiocholanolone と考えられており¹⁸⁾、ウサギおよびネズミでは両者の分離は不鮮明なので両者をⅣ+Ⅴ分割としているが、正常ネズミの雄が雌よりこの分割が高いのはウサギ、人間の場合のように性腺由来のステロイドが排泄されてくるためであろう。

次にネズミの FGS について考えてみることにする。Bush⁷⁾、⁸⁾、²⁸⁾、²⁹⁾ は副腎皮質より分泌されるグルココルチコイドは動物により差異があり、ネズミではコルチコステロンが多く、ヒドロコルチゾンは少いか、またはないと報告した。ヒドロコルチゾンは特異の呈色反応を示す Porter-Silber 反応⁶²⁾で測定できるが C-17位にOH基をもたないコルチコステロンの測定には適当でなく、また安藤²³⁾が指摘しているようにネズミ尿中17-KS測定にさいし非ケトン分割が多く、副腎皮質機能を知るにこれだけでは充分とはいえないと考

える。Talbot ら⁷⁰⁾ は Zimmermann 反応で測定できない Girard 分析で得た非ケトン分割から過沃度酸化により17-KSになるステロイドをみつけた。また過沃度酸化でC-17位の側鎖が分解しフオルムアルデヒドを生ずる。このことからその形成されたフオルムアルデヒドの定量を行い Corcoran¹⁰⁾, Loewenstein³⁴⁾, Daughaday¹²⁾らが人間のコルチコイドの測定に応用した。Daughaday¹²⁾ が行つたこのような FGS の測定法を Burstein⁶⁾が動物に応用し、モルモットに ACTH を投与しその尿中コルチコイドの消長を測定し、Halama²⁷⁾ は寒冷ストレスによりモルモットの尿中 FGS の値から副腎皮質機能を研究している。村中⁴²⁾⁴³⁾はネズミに応用して、ACTH の投与によりその値が増加し、副腎摘出により減少することから副腎皮質機能をよく表示するとのべ、雄ネズミで $25.23 \pm 5.44 \mu\text{g}/24\text{時間}$ と報告している。私は村中の方法を参考にして正常成熟ネズミの24時間尿について雄20匹平均値 $21.5 \pm 2.81 \mu\text{g}$ 、雌20匹の平均値 $19.9 \pm 3.32 \mu\text{g}$ という村中と大差のない値を得た。雄、雌間に統計的に有意の差はなかつた。従来報告では Kalant³¹⁾ は雄ネズミで Daughaday 法¹²⁾を用いて $8.8 \sim 14.4 \mu\text{g}/24\text{時間}$ 、Del Greco ら¹⁴⁾は雌ネズミで Corcoran の方法¹⁰⁾により $11.2 \pm 3.7 \mu\text{g}/24\text{時間}$ と私よりやや低い値を報告している。

ネズミの成長時の測定結果は生後80日位まで増加をみ、その後は大体一定した値を得ている。植手⁷⁴⁾は成人における FGS 値は男女間に性差はなく、年齢別の排泄値は1才より15才まで一定の増加を示し、思春期以後は略一定の値を保つと述べ、私のネズミの成績とよく似ている。三宅⁴⁰⁾は FGS 値と17-KS値との間に必ずしも密接な並行関係はないと述べているが、私の成績でも第6図にみるようにきれいな並行関係はみられない。

尿中ウロペプシンの測定については Gray²⁵⁾、竹腰⁷²⁾、田多井⁷³⁾らの報告があり、竹腰はネズミの下垂体、副腎を摘出すると尿中ウロペプシンが低下し、コーチゾンを与えると増量すると述べているからネズミのウロペプシンも間接的な副腎皮質機能の指標になると考えられる。

a) 実験的先天性糖尿病ネズミ

尿中17-KS総量は糖尿病未発症幼若時よりすでに正常ネズミにくらべて増量を示し、発症時に高く2倍値を示し、成熟後も高値を持続している。そして尿中17-KS分割は副腎由来とされるⅡ、Ⅲ、ⅥことにⅦ分割が対照正常ネズミにくらべ増加が著しい。これは糖尿病未発症幼若時よりみられ、成熟後は顕著である。さらに尿中 FGS は生後30日の幼若時よりすでに対照正常ネズミより増加しており、糖尿病の自然発症をみる70日頃は正常値の2倍となり、以後もなお高値を持続する。尿中ウロペプシンも前述の17-KS値、FGS値の増加、副腎由来とされる分割の増加等に並行して正常値にくらべ著しい増加がみられた。

以上の結果から実験的先天性糖尿病ネズミの副腎皮質機能は亢進していると推定される。そしてこの所見はさきに真山⁴⁴⁾が Wistar 系シロネズミの歴代雄雌アロキサン糖尿病子孫ネズミの副腎皮質束状層と網状層面積の増加を述べ、斎藤⁶⁵⁾はこれらの幼若ネズミの副腎皮質面積の増加を述べていることと一致するものと考えられる。

b) 実験的先天性糖尿病ネズミにアロキサン糖尿病を発症させた場合

尿中17-KS総量はアロキサン投与後に一過性に増量する。すなわち実験的先天性糖尿病ネズミでも正常ネズミでも、投与10日後に増加がみられ、30日後、50日後と減少している。しかし実験的先天性糖尿病ネズミのアロキサン投与による17-KS値の変動は、正常ネズミにアロキサン糖尿病を発症させたいとことなり投与50日後も、その値は正常値より高く、後者は正常値以下に低下する。

尿中17-KS分割はアロキサン投与10日後にⅡ、Ⅲ、Ⅳ+Ⅴ分割の増加がみられ、以後ぜんじ各分割の値は減少してゆくが、正常ネズミにアロキサン糖尿病を発症させたいとことなり、副腎由来と考えられるⅡ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ分割は対照正常値よりなお高い。

以上の結果は前述のウサギで得た成績とよく一致している。

尿中 FGS は実験的先天性糖尿病ネズミのアロキサン糖尿病発症のさいは、アロキサン投与10日後に投与前の2倍に増加し、30日後にやや高く、50日後では減少している。その値はつねに正常値より高い。正常ネズミにアロキサン糖尿病を発症させたいは、投与10日後に投与前値の3倍となり、30日後の値は1.6倍に

減少し、50日後には投与前値を示している。さらに長期間糖尿病を持続したものでは正常値以下に減少している。Kalant⁽¹¹⁾は雄ネズミにアロキサン 200mg/kg を腹腔内に投与して糖尿病を発症させ3週間から4週間後に尿中 FGS を Daughaday 法⁽¹²⁾で測定してその増加を報告している。その投与前値に対する増加の割合が多いが測定にさいし糖が干渉している可能性が考えられる。中尾ら⁽⁴⁵⁾および植手⁽⁷⁵⁾はクロロホルム抽出のさいアルカリ液で洗滌することによりブドウ糖等の非特異的な干渉物質が除きうると報告しており、私はこれを行つて上述の結果を得たのである。

尿中ウロペプシンは上述の17-KS値、FGS値等の結果と大体並行しており、実験的先天性糖尿病ネズミのアロキサン糖尿病発症のさいは、アロキサン投与10日後に一過性の増加をきたし、以後ぜんじ減少するが正常ネズミのアロキサン糖尿病のさいとことなり50日後の場合も正常値以下にはならない。

以上の結果は実験的先天性糖尿病ネズミがアロキサン投与前の先天性素因としての副腎皮質機能亢進の特長を残し、アロキサンによる影響が少いことを示している。

(Ⅲ) 実験的糖尿病子孫ウサギと Wistar 系シロネズミの成績の比較について

前述のように私は歴代実験的糖尿病子孫ウサギならびに実験的先天性糖尿病子孫ウサギの尿中17-KS値は正常ウサギにくらべて幼若時より増加し、とくに成熟後は高値を示し、またその17-KS分割像において、Ⅱ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ分割が増加する成績を得た。一方実験的先天性糖尿病ネズミの17-KS総量ならびに分割についてもウサギの場合と全く同様で、幼若未発症時よりすでに対照正常ネズミより総量の増加ならびに副腎由来と考えられる分割の増加をみ、糖尿病自然発症時には最も高くその後も正常値より高い値を示した。そして赤沢⁽¹⁾はこのようなウサギで17-OHCS、ウロペプシンの増加を述べているが、私はネズミで尿中 FGS、ウロペプシンの測定を行い、いずれも正常ネズミの値より著明な増加を認めた。そして上述の笹野ら⁽⁶⁶⁾のこれらウサギの副腎皮質組織像に関する研究や真山⁽⁴⁴⁾、斎藤⁽⁶⁵⁾らの糖尿病子孫ネズミの副腎皮質に関する研究はやはり副腎皮質の機能亢進を裏付けている。

次にこれらの動物にアロキサンを投与したさいの影響についてみるに、赤沢⁽¹⁾は正常ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたい17-KS総量、分割、17-OHCS、ウロペプシンは一時的増加の後正常値以下に減少すると報告し、私も17-KS総量、分割について同様の成績を得た。そしてこれは今回私の行つたアロキサン糖尿病ネズミの17-KS総量、分割、FGS、ウロペプシンの成績ともよく一致している。

実験的糖尿病子孫ウサギのアロキサン糖尿病のさい50日以上、長期間糖尿病を持続したさいは各世代いずれも無処置動物の値より17-KS値、Ⅱ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ分割の減少を認めた。また実験的先天性糖尿病雄ネズミのアロキサン糖尿病発症のさいも全く同様に投与10日後に一時的な17-KS値、FGS値、ウロペプシンの増加とⅡ、Ⅲ分割の増加をきたすが、以後ぜんじ低下像を示した。したがって生来副腎皮質機能亢進を有するこれらの動物にアロキサン糖尿病を発症させたさいは発症前値にくらべ17-KS値、FGS値、ウロペプシン等の値は減少し、17-KS分割も副腎由来とされている分割の増加の程度が減じてくるのであるが、しかもなお発症前の特長あるケトステロイド代謝の像を種々の程度に保つことを認めた次第である。

(Ⅳ) 実験的糖尿病ウサギならびに Wistar 系シロネズミの研究成績と人体糖尿病のさいの副腎皮質機能

私の研究成績は、(a) 正常ウサギならびにネズミにアロキサンを投与したさいは、投与後一時的に17-KS総量、Ⅱ、Ⅲ分割、ネズミの尿中 FGS、ウロペプシンの増加の後、減少してゆき糖尿病を長期間持続するものではすべて正常値以下に減少し、副腎皮質機能は低下する。(b) 実験的糖尿病子孫ウサギならびにネズミでは、17-KS総量、Ⅱ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ分割、ネズミの尿中 FGS、ウロペプシンが、正常動物にくらべて世代のすすんだもの程幼若時よりすでに高く、成熟後はなお高値を示し、副腎皮質機能は亢進している。(c) このような副腎皮質機能亢進を有する子孫動物にアロキサンを投与して糖尿病を発症させたさいは、正常動物のアロキサン糖尿病の場合と同様に一時的に各測定値は増加するが後にはアロキサン投与前より減少し、しかも世代のすすんだものは正常値よりつねに高い。以上のようにひとしく糖尿病動物でありながらその発症機転の相違により、またその糖尿病持続期間等の相違によつてその副腎皮質機能は亢進を示すもの、低下を示すもの、その中間でいろいろの像を示すもの等いろいろであることをみたのである。次に人体糖尿病のさいのステロイド代謝に関する報告をみるに、White⁽⁷⁷⁾は先天性糖尿病と推定される小児糖尿病では発症期前後

で17-KSの著増があることを報告し、川合³²⁾、鈴木⁶⁸⁾は成人の糖尿病のさい17-KSのⅥ、Ⅶ分割が増加すると報告し、Miller³⁸⁾、Forbes²⁰⁾は17-KSの減少を、Talbot⁷¹⁾、McArthur³⁵⁾³⁶⁾、Wolf⁷⁸⁾、Field¹⁹⁾らはそれぞれコルチコイドや FGS 値の減少を、さらに大野⁵⁷⁾は29例の17-KS値をしらべ正常値18例、低値7例、やや高値4例と報告している。斉藤⁶⁴⁾は病型により17-KS値は増加または減少し、まはⅢ、Ⅵ、Ⅶ分割が増加するものと報告している状態であつて、要するにその成績はいろいろである。人体糖尿病のさいのステロイド代謝状態を考えるさい、当然二次的病変の合併等を考慮に入れるべきものであろうが、さらに私の動物実験の成績から按じてその発症にどれだけ先天性糖尿病素因が関与しているかによつても大きく左右されるものであろうと考えるのである。

第5章 総括ならびに結論

(1) 4代両親実験的糖尿病子孫ウサギならびにその子孫で糖尿病を自然発症したウサギの雄12匹、雌18匹とこれらの糖尿病非発症ウサギにアロキサン糖尿病を発症させた雄13匹、雌10匹の尿中17-KSならびに分割を測定し、正常ウサギ雄9匹、雌6匹ならびにアロキサン糖尿病ウサギ雄7匹、雌8匹の測定値と比較し次の結果を得た。

a) 4代両親実験的糖尿病子孫ウサギでは尿中17-KS総量の累代的増加を示し、そのⅡ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ分割が代を累ねる毎に次第に増加し、糖尿病の自然発症をみたウサギ(4代子孫およびその子孫)では17-KS総量は正常値の1.5~2倍に増加し、そのⅡ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ分割の著明な増加を示す。

b) 正常ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたさいの尿中17-KS総量は正常値以下に低下し、長期間糖尿病を持続するものではことに著しい。

c) 歴代両親実験的糖尿病子孫ウサギのアロキサン糖尿病発症のさいの17-KS総量は各世代のアロキサンを投与していないときにくらべて著明な減少を示すが、しかし正常ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたものより増加し、しかも世代がすすむ程増加している。その値は正常値に比較してはじめの世代では著しく減少しているが、後の世代では正常値より軽度の増加を示す。17-KS分割は各世代ともアロキサンを投与しないものにくらべ、全分割の減少がみられるが、正常ウサギにアロキサン糖尿病を発症させたさいよりはじめの世代ではⅢ、Ⅳ+Ⅴ分割以外の分割は高く、世代がすすむ程そのⅡ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ分割の増加の傾向がみられる。

d) 実験的先天性糖尿病子孫ウサギの糖尿病非発症時にアロキサン糖尿病を発症させたさいの17-KS総量は同じ世代の無処置のものより減少しているが正常値より増加している。17-KSのⅡ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ分割はやはり無処置のものより減少しているが、なお正常値より増加している。

(2) 実験的先天性糖尿病 Wistar 系シロネズミ雄20匹、雌24匹と、この雄ネズミ11匹にアロキサン糖尿病を発症させたさいの尿中17-KS総量、分割、FGS、ウロペプシンの測定値を正常ネズミ雄、雌各20匹とアロキサン糖尿病ネズミ雄16匹、雌5匹の結果と比較し次の結果を得た。

a) 実験的先天性糖尿病ネズミは対照正常ネズミより17-KS総量、FGS値、ウロペプシンは高く、17-KSのⅡ、Ⅲ、ⅥことにⅦ分割の増加を示す。しかも糖尿病自然発症前の幼若期より対照正常ネズミの値より高く、生後70日から80日頃に最高値を示しその後もその値を維持する。

b) 正常ネズミにアロキサン糖尿病を発症させたさいはアロキサン投与後10日頃に17-KS総量、FGS値、ウロペプシンは一過性に増加し、Ⅱ、Ⅲ分割も増加するが、投与50日以後では各測定値は投与前値より減少を示す。

c) 実験的先天性糖尿病雄ネズミにアロキサン糖尿病を発症させたさいはアロキサン投与後10日頃に正常ネズミのアロキサン投与の場合と同じように一過性に各測定値が増加を示し、以後減少を来すが投与50日以後では投与前値よりすべて低下する。しかしいずれも正常値より高値をたもつ、なお17-KS分割は投与後10日頃に全分割の増加をみ、以後減少を来すがⅡ、Ⅲ、Ⅶ分割は正常値より高値を示す。

(3) 以上の結果から次のように結論する。

1772 歴代実験的糖尿病子孫ウサギおよび Wistar 系シロネズミの尿中ケトステロイド、
ウロペプシンの排泄状態ならびにアロキサン投与による影響について (石崎)

- a) 実験的糖尿病子孫ウサギ, Wistar 系シロネズミの副腎皮質機能は累代的に亢進する.
- b) 正常ウサギならびに Wistar 系シロネズミにアロキサン糖尿病を発症させたさいは副腎皮質機能の低下を示す.
- c) 実験的糖尿病子孫ウサギならびに Wistar 系シロネズミにアロキサン糖尿病を発症させたさいは, 副腎皮質機能亢進像と低下像の中間のいろいろの像を示す.

附記 本研究に対し種々の御教示をたまわつた赤沢好温博士, FGS測定法を御教示下さつた村中日出夫博士に深甚の謝意を表します.

文 献

- 1) 赤沢好温: 正常ならびに実験的先天性糖尿病ウサギの尿中17-KS総量ならびに分割, 17-OHCS, ウロペプシンについて, 日内分泌誌, **35**, 776~849, 昭34.
- 2) 安藤晴弘, 広瀬欣一: ラットの尿中17-KSの測定について, 日内分泌誌, **33**, 900~904, 昭33.
- 3) 安藤晴弘: 小動物における17-Ketosteroids, 内分泌と代謝, **2**, 233~236, 昭34.
- 4) Anson, M.L. & Mirsky, A.E.: The estimation of pepsin with hemoglobin, J. Gener. Physiol., **16**, 59~63, 1933.
- 5) Bucchus, H. & Heiffer, M.H.: Urinary corticosteroids and 17-ketosteroids in adrenalectomized female rats treated with cortisone and ascorbic acid, Am. J. Physiol., **173**, 33~36, 1955.
- 6) Burstein, S.: The guinea pig as a laboratory animal for corticoid excretion studies: Modification of the formaldehydogenic method, Endocrinology, **50**, 412~418, 1952.
- 7) Bush, I.E.: Paper-chromatographic study of the secretion of the adrenal cortex in various mammalian species, J. Physiol., **115**, 12~13, 1951.
- 8) Bush, I.E.: Species differences in adrenocortical secretion, J. Endocr., **9**, 95~100, 1953.
- 9) Bush, I.E.: Recent work on the secretion of the adrenal cortex, Schw. Med. Wsch., **85**, 645~648, 1955.
- 10) Corcoran, A.C. & Page, I.H.: Methods for the chemical determination of corticosteroids in urine and plasma, J. Lab. & Clin. Med., **33**, 1326~1333, 1948.
- 11) Danford, P.A. & Danford, H.G.: Influence of sodium chloride deficiency upon urine volume and 17-ketosteroid excretion in the rat, Am. J. Physiol., **14**, 690~694, 1951.
- 12) Daughaday, W.H., Jaff, H. & Roffert, H.W.: Chemical assay for "cortin", determination of formaldehyde liberated on oxidation with periodic acid, J. Clin. Endocr., **8**, 166~174, 1948.
- 13) Del Greco, F., Masson, G.M.C. & Corcoran, A.C.: Effects of C₁₇-hydroxy-steroids on urinary 17-ketosteroids in the rat, Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., **80**, 354~357, 1952.
- 14) Del Greco, F., Masson, G.M.C. & Corcoran, A.C.: Effects of corticosteroids on urinary formaldehydogenic corticoids and 17-ketosteroids in normal and subtotally hepatectomized rats, Endocrinology, **52**, 474~483, 1953.
- 15) Dingemanse, E., Huis in't Velt, L.G. & Hartogh-Katz, S.L.: Clinical method for the chromatographic-colorimetric determination of urinary 17-ketosteroids. II. Normal adults, J. Clin. Endocr. & Met., **12**, 66~85, 1952.
- 16) Dingemanse, E., Huis in't Velt, L.G. & de Laat, B.M.: Chemical method for the chromatographic colorimetric determination of urinary 17-ketosteroids, Clin. Endocr., **6**, 535~548, 1946.
- 17) Dreker, I.J., Pearson, S., Bartzak, E. & McGavak, T.H.: A rapid method for determination of total urinary 17-ketosteroids, J. Clin. Endocr., **7**, 795~800, 1947.
- 18) Edwards, R.W.H.: The determination of adrenocortical steroids and their metabolites, 53, Dennis Dobson, London, 1954.
- 19) Field, J.B. & Marble, A.: Diminished adrenal cortical function in diabetes as shown in eosinophil response to stress of surgery, Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., **77**, 195~198, 1951.
- 20) Forbes, A.P., Donaldson, E.C., Reifstein, E.C. & Albright, F.Jr.: The effect of trauma and disease on the urinary 17-ketosteroid excretion in man, J. Clin. Endocr., **7**, 264~288, 1947.
- 21) 福住一三, 赤沢好温, 川合一良: ウロペプシンに関する知見補遺, 内科宝函, **3**, 720~728, 昭31.
- 22) 福留金一郎: 4代および5代アロキサン糖尿病両親から生れたウサギにおける自然発症性糖尿病の経過と諸内分泌臓器の病理組織学的所見,

- 東北医誌, 55, 468~485, 昭32. 23) 藤井暢三: 生化学実験法, 定性編, 3版, 56, 南山堂, 東京, 昭17. 24) Gray, S.J., Ramsey, C., Reifstein, R.W. & Benson, J.A.: The significance of hormonal factors in the pathogenesis of peptic ulcer, *Gastroenter.*, 29, 156~172, 1953. 25) Gray, S.J. & Ramsey, C.: Adrenal influence upon stomach and gastric responses to stress, *Recent Prog. Horm. Res.*, XIII, 583~617, Academic Press, New York, 1957. 26) Hadd, H.E. & Perloff, W.H.: A simplified distilling head for the measurement of corticosteroids by the formaldehydogenic method, *J. Clin. Endocr. & Met.*, 16, 138~140, 1956. 27) Halama, A.K.: The determination of formaldehydogenic corticoids in guinea pig urine, *Endocrinology*, 57, 641~645, 1955. 28) Hoffmann, F.G.: The in vitro hydroxylation of 21-carbon steroids by rat adrenal glands, *Endocrinology*, 60, 382~389, 1956. 29) Holzbauer, M.: The corticosterone content of rat adrenal under different experimental conditions, *J. Physiol.*, 139, 294~305, 1957. 30) 井関満夫: 実験的先天性糖尿病ウサギ($F_1 \sim F_4$)の経過ならびに諸内分泌臓器の病理学的研究, 日内分泌誌, 36, 1169~1211, 昭35. 31) Kalant, N.: Adrenal function in alloxan diabetes, *Am. J. Physiol.*, 82, 503~506, 1955. 32) 川合一良: 尿17-ケトステロイド分割に関する臨床的研究, 北野紀要, 4, 254~281, 昭34. 33) 河田竜夫: 統計学概論, 改訂版, 101, 文耀社, 東京, 昭26. 34) Lowenstein, B.E., Corcoran, A.C. & Page, I.H.: Determination of corticosteroid in urine, *Endocrinology*, 39, 82, 1946. 35) McArthur, J.W., Sprague, R.G. & Masson, H.L.: The urinary excretion of corticosteroids in diabetic acidosis, *J. Clin. Endocr.*, 10, 307~312, 1950. 36) McArthur, J.W., Chao, D.H.C., MacLachlan, E.A., Morrill, M.F., Campbell, A.M., Wood, M.D., Zygmuntowicz, A., Goets, F.C. & Sveinsson, S.L.: A metabolic study of a diabetic patient. The effect of variation in the dosage of insulin upon adrenal cortical activity and upon water electrolyte and nitrogen excretion, *J. Clin. Invest.*, 31, 592~597, 1952. 37) McCarthy, J.L., Corley, R.C. & Zarrow, M.X.: Effect of goitrogens on adrenal gland of the rat, *Am. J. Physiol.*, 197, 693~698, 1959. 38) Miller, S. & Mason, H.L.: The excretion of 17-KS by diabetes, *J. Clin. Endocr.*, 5, 220~225, 1945. 39) 三宅 儀, 扇谷正彦: ちんめるまん反応の応用, 日内分泌誌, 26, 122~132, 昭25. 40) 三宅 儀: Formaldehydogenic corticoids 測定と臨床, 最新医学, 6, 765~770, 昭26. 41) 三宅 儀: 副腎皮質機能検査批判, 最新医学, 15, 1280~1287, 昭32. 42) 村中日出夫, 説田 武: 白鼠および2, 3実験動物の尿中 Corticoids, 特に Formaldehydogenic corticoids について, 日内分泌誌, 34, 303~304, 昭33. 43) Muranaka, H.: Studies on the urinary formaldehydogenic steroids in albino rats under various experimental conditions, *Acta Scholae Med. Univ. in Kyoto*, in press. 44) 真山 進: 歴代雌雄アロキサン糖尿病および歴代雌雄アロキサン糖尿病発症防止シロネズミ(Wistar系)より生れたシロネズミの諸臓器細胞ならびに組織の計測的研究, 東北医誌, 57, 1~23, 昭33. 45) 中尾 健, 稲葉 稔: Marrianの所謂尿中“Formaldehyd retaining substance”に関する研究, 日内分泌誌, 32, 128~129, 昭31. 46) 那 須聰: 実験的糖尿病ウサギならびにその子孫ウサギの副腎および下垂体の計測的組織学的研究, 神戸紀要, 8, 67~91, 昭31. 47) 岡本耕造: 糖尿病の実験的研究, 日病理学会誌, 41(総会号), 27~43, 昭27. 48) 岡本耕造, 関 東源, 福留金一郎, 藤木竜也, 小松欣一郎: 正常ウサギ, 糖尿病ウサギのラ氏島ならびに累代糖尿病ウサギの子孫のラ氏島の計測的研究, 日病理学会誌, 42, (総会号), 54~56, 昭28. 49) 岡本耕造, 福留金一郎: 4代または5代糖尿病を発症させた雌雄ウサギより生れたウサギ(F_4 , F_5 ウサギ)における糖尿病の自然発症について, 日病理学会誌, 43, (総会号), 187~192, 昭29. 50) 岡本耕造, 福留金一郎, 的場直矢, 入江一彦, 菅原 仁, 小関 要, 真山 進, 中嶋 賢, 南部四郎, 高橋泰克: 歴代糖尿病動物の子孫動物におけるラ氏島の発育障碍, 糖尿病の自然発症及びその発生機転に関する研究, 日病理学会誌, 44, (総会号), 200~201, 昭30. 51) Okamoto, K.: Experimental pathology of diabetes mellitus(Report II). III. Studies on rabbits from ancestors diabetic for several successive generations, especially on spontaneous occurrence of diabetes in F_4 and F_5 rabbits, *Tohoku J. Exper. Med.*, 61,

- Suppl., III, 62~112, 1955. 52) 岡本耕造, 赤沢好温, 鈴木昭三: 歴代糖尿病子孫 F_4 ウサギの尿中ケトステロイドについて, 日内分泌誌, **33**, 278~279, 昭32. 53) 岡本耕造, 土屋 瑛, 南部四郎: 糖尿病自然発症ウサギの子孫に関する実験的研究. 雌雄糖尿病自然発症ウサギの子孫について, 東北医誌, **55**, 313~320, 昭32. 54) 岡本耕造, 翠川 修, 赤沢好温, 山本義明: 実験的先天性糖尿病動物の尿中17-KS, 17-OHCS およびウロペプシンについて, 糖尿病, **1**, 94~97, 昭33. 55) 岡本耕造: 実験的糖尿病の子孫に及ぼす影響. 日内分泌誌, **34**, 824~845, 昭33. 56) Okamoto, K., Midorikawa, O., Mayama, S., Tashima, E., Sato, T. & Yamamoto, Y.: On Wistar rats descended from ancestors diabetic for successive generations, especially, on their Langerhans islets and their spontaneous diabetization, Acta Scholae Med. Univ. in Kyoto, **36**, 245~272, 1960. 57) 大野文俊: 17-KSに関する臨床的知見補遺, 日内分泌誌, **31**, 337~367, 昭31. 58) 小関 要: 歴代両親 5-(p-Hydroxyphenylazo)-8-hydroxyquinoline 糖尿病ウサギより生れたウサギの組織計測学的研究および F_4 ウサギの糖尿病自然発症について, 東北医誌, **56**, 523~539, 昭32. 59) Pearson, S. & Glaccone, S.: A rapid modification of the Zimmermann test for ketosteroids, J. Clin. Endocr., **8**, 618~619, 1948. 60) Pincus, G. & Pearlman, W.H.: Fractionation of neutral urinary steroids, Endocrinology, **29**, 413~424, 1941. 61) Pond, M.H.: A microchromatographic method for the separation of certain fractions of 17-KS in human urine, The Lancet, **261**, 905~909, 1951. 62) Pond, M.H.: 17-Ketosteroid fractionation studies by a microchromatographic technique in endocrine disorders, J. Endocr., **10**, 202~211, 1954. 63) Porter, C.C. & Silber, R.H.: A qualitative colour reaction for cortisone and related 17, 21-dihydroxy-20-ketosteroids, J. Biol. Chem., **185**, 201~207, 1950. 64) 斎藤達雄, 村木忠雄, 佐々木博司, 植村 順: 血管障害合併糖尿病の尿中17-KS分割および17-OHCSについて, 糖尿病, **1**, 76~78, 昭33. 65) 斎藤二郎: 歴代アロキサン糖尿病シロネズミより生れた幼若シロネズミの内分泌諸臓器細胞, 組織などの計測的研究. 東北医誌, **57**, 703~732, 昭33. 66) 笹野伸昭, 鈴木昭三, 岡本豊三: 同胞に糖尿病自然発症をみた歴代糖尿病子孫ウサギの出生直後より発症前期にいたる副腎皮質の組織計測学的研究. 東北医誌, **60**, 594~611, 昭34. 67) 鈴木昭三: 正常ならびに歴代両親糖尿病子孫ウサギとくに F_4 ウサギの尿中17-KSについて, 東北医誌, **55**, 468~489, 昭32. 68) 鈴木幸三: 尿中17-KS分割と副腎皮質. 日内分泌誌, **34**, 768~793, 昭33. 69) Sweat, Max L. & Farrell, G.: Resolution and quantitative analysis of steroids in adrenal-vein blood, J. Clin. Endocr. & Met., **12**, 968, 1952. 70) Talbot, N.B. & Eitingon, I.V.: Urinarysteroids. Use of the periodic acid reaction in the measurement of non-ketonic steroids obtained after various types of hydrolysis, J. Biol. Chem., **154**, 605~617, 1944. 71) Talbot, N.B., Wood, M.S., Worcester, J., Christo, E., Campbell, A.M. & Zygmuntowicz, A.S.: Further observations on the urinary excretion of watersoluble corticosteroids by normal and abnormal subjects, J. Clin. Endocr., **11**, 1224~1238, 1951. 72) 竹腰昭道: ペプシノーゲン分泌に関する研究, 第6編. ペプシノーゲンにおよぼす脳下垂体および副腎摘出の影響, **48**, 42~45, 昭34. 73) 田多井吉之助, 広川章子: ウロペプシンの動態. 南江堂, 東京, 京都, 昭31. 74) 植手鉄男: 尿中コルチコイドに関する研究, 岐阜紀要, **2**, 462~468, 昭30. 75) 植手鉄男: 尿中コルチコイドに関する研究. ホルムアルデハイド発生コルチコステロイド測定の呈色干渉について, 岐阜紀要, **4**, 136~142, 昭31. 76) West, Ph.M., Ellis, F.W. & Scott, B.L.: A simplified method for determining the excretion rate of uropepsin, J. Lab. Clin. Med., **39**, 159~162, 1952. 77) White, P. & Pincus, G.: Heredity in diabetes. The treatment of diabetes mellitus, 8. ed., 769. Lea & Febiger, Philadelphia, 1947. 78) Wolf, S.M. & Pashkis, K.E.: Excretion of formaldehydogenic steroids in diabetes, Metabolism, **1**, 413~419, 1952. 79) 山本義明: 正常と糖尿病自然発症 Wistar 系シロネズミの子孫に関する実験的研究, 日内分泌誌, **36**, 1141~1168, 昭35. 80) Zimmermann, W.: Eine Farbreaktion der Sexualhormone und ihre Anwendung zur quantitative colorimetrische Bestimmung, Z. Physiol. Chemie, **233**, 257~264, 1935. 81) Zimmermann, W.: Colorimetrische Bestimmung der Keimdrüsenhormone, Z. Physiol. Chemie, **245**, 47~57, 1936.