Fetal Thyrotropin

Seiichi MIZUSAWA

Department of Obstetrics and Gynecology Kobe Medical College, Kobe, Japan

(Director : Professor Yasuo Ueda M.D.)

For the purpose of studying the thyrotropin of the fetal pituitary gland, the following estimations have been investigated: namely, TSH production in the placental tissue, TSH variations in the fetal pituitary gland during pregnancy, passage of the placental TSH, shifting of TSH in the fetal pituitary gland and blood TSH in the newborn infant.

(1) For the placental TSH extraction, Bates's percolation method seemed to be the most reliable. It was found that when TSH estimation was tried of the placental tissue with the above method, the active TSH like substance found in naturally expelled placenta was 1.7 ± 0.4 mU/100g which was no more different than that of the tissue removed in cesarian section.

In considering TSH quantity found in the residual blood volume of the placenta and that of maternal blood, it has been found that the placental TSH content did not exceed that of the residual blood. Hence, TSH is hardly secreted from the placental tissue.

(2) With white mouse experiment, TSH of the pregnant pituitary was found to be markedly increased compared with that of non-pregnant period. Therefore, it is possible to assume the increased TSH in blood during pregnancy is not attributable to placental source but rather due to heightened secretion of TSH in the pituitary gland.

(3) With white mouse, the experiment showed that TSH failed to pass the placental tissue.

(4) It was possible to detect TSH in the anterior lobe of the pituitary of the human fetus from the 8th week of fetal life, and that the lobulation of the thyroid gland is about completed in the 23-24th week, but beginning from the latter part of the 6th gestation month and during the early week of the 7th gestation month TSH content seemed to have rapidly increased.

(5) PAS positive granules seemed to appear in the anterior lobe of pituitary gland by the early week of 7th gestation month and which became more marked thereon.

(6) TSH active substance value in fetal blood was found to be 4.2 ± 1.3 mU/100 ml. It is considered that the fetal pituitary-thyroid system is engaged in an independent secretory function from that of the maternal organ.

(The present paper was read by Yasuo Ueda, M.D., Professor of Obstetrics and Gynecology before The 36th Annual Meeting of Japan Endocrinological Society, and it was published in full in the Endocrinologia Japonica, Vol. 11, No. 1, 1964)

(pp. 69~81)

胎児甲状腺刺激ホルモンに関する研究

神戸医科大学産科婦人科学教室 (指導 植田安雄教授)

水 沢 精 一

(昭和40年10月17日受付)

緒 言

胎生期の内分泌環境については最近漸く明らかにされつつあるが尚不明の点が多い。殊に脳下垂体甲状腺系を取扱った文献は極めて少ない。

胎児の甲状腺は胎令7ヶ月で分葉化が完成し、分泌機能を有するまでに发育しているがこの甲状腺の发育分化には当然甲状腺刺激ホルモン(以下TSHと略す。)が関与するものと考えなければならない。このTSHが、母体性か、胎盤性か、或いは胎児そのもののTSHであるかは現在の所、明らかでない。胎児TSHが胎盤性であるとするれば、胎盤でTSHが分泌されるのであるか、又そのTSHが母体性であるとするれば母体TSHが胎盤を通過せねばならない。この糖蛋白ホルモンの一つであるTSHは、果して胎盤を通過するか否か。更にこのTSHが胎児性であるとするれば、胎児脳下垂体のTSH分泌機構は形態学的乃至は機能的にみて如何なる状態にあるか等の諸点を検討せねばならない。上述の如き考えから私はこの問題の解明を試み、今日の処確証の得られていない胎盤でのTSHの分泌に関し、又今日迄に全く報告を見ない胎児のTSH分泌機構について、新知見を得たので茲に報告する。

第1章 胎盤内 TSH に関する実験

ま え が き

母体と胎児との間に介在する胎盤は物質代謝の面で重要な役割を果している一方、内分泌学的にも複雑な機能を営み種々のホルモンの産生源であることは衆知の事実である。しかしTSHが胎盤内で産生されるかどうかと云う問題についての研究は殆んどなく胎盤内TSHについては今日なお定説がない。そこで私はこの問題を解明するために、実験の順序として先ず胎盤からのTSHの抽出法について検討し、その結果にもとづいて胎盤内のTSH生物学的活性の測定を行なった。

実験材料並びに方法

実験材料としては、本院産科で取扱った分娩例より得た正常満期娩出及び帝王切開時胎盤を使用した。胎盤からのTSHの抽出法としては、Bates氏 percolation method¹⁾, alcohol 4倍量沈澱法²⁾, Cohn cold alcohol fractionation 法³⁾を採用してこれら3者の適否を比較検討した。

A) 胎盤からの TSH 抽出法

i) Bates 氏 percolation method

自然娩出された胎盤を直ちに卵膜および臍帯を除き、その表面の血液をガーゼでふき去った後、胎盤の重量を測定し、胎盤をミキサーで泥状とした後、凍結乾燥を行ない乾燥粉末を採取する。此胎盤粉末に同等量の hyflosupercel を加え、それに500mlの80% ethanol-2% NaCl を加えてよく攪拌した後遠沈し、その上澄液を除き、沈澱物に500mlの76% ethanol-2% NaCl を加えてよく攪拌後再び遠沈前回と同じく上澄液を除き、沈澱物を56% ethanol-7% NaCl 250mlを加え前2回の場合より長時間、即ち30分間攪拌した後遠沈し、その上澄液を viskin 膜で24時間冷水流水透析を行ない、透析後凍結乾燥を行なつて最終物質を得た。

ii) alcohol 4倍量沈澱法

自然娩出された直後の胎盤の卵膜及び臍帯を除き、表面の血液をガーゼでとりさり、胎盤の重量を測定

し、その50gの胎盤を細切し4℃でこれに2% NaCl水200mlを加えミキサーで泥状として30分間攪拌、その後遠沈を行なう。得られた上澄液に4℃以下の条件下で4倍量の99.5% alcoholを徐々に加え24時間冷室に保存しその後再び遠沈を行ない、沈渣物は99.5% alcoholで数回洗滌を行なつた後 etherで乾燥し、この様にして得られた乾燥粉末に2% NaCl水100mlを加え4℃で1時間よく攪拌した後、遠沈し、上澄液を採取しその沈澱物に更にもう一度上記の操作を行ない、得た上澄液を上記のものと併せて24時間冷水流水透析した後凍結乾燥して最終物質を得た。

iii) Cohn cold alcohol fractionation

自然娩出された胎盤を i) ii) と同様に処理し、50gに2% NaCl水120mlを加え30分間攪拌、その後遠沈し上澄液に同量の99.5% alcoholを加え遠沈、更にその上澄液に99.5% alcoholを alcohol濃度65%になる様に加える。再び遠沈し、その上澄液に75%濃度になる様に alcoholを加えて、24時間冷室に放置し遠沈を行なう。得られた沈渣物は凍結乾燥を行なつて乾燥粉末を得る。

B) TSH 活性の bioassay 法

TSHの検定には主として教室の岸本⁴⁾の発表した初生雛を用いる Bates氏改良心内投与法を用い、一部は Mckenzie-野口氏法⁵⁾に依つた。

実 験 成 績

i) 各種抽出法の回収成績の検討

3種の抽出法による回収実験には自然娩出された胎盤に米国Standard Reference Thyrotropin 3錠(0.074 IU/mgを含む)を添加して、その回収率を求めたが成績は(Table 1)に示すごとく percolation method では

Table 1. Recovery Ratio of Added TSH in Placenta

Method	Percolation method	Four fold cold alcohol fractionation	Cohn cold alcohol fractionation
R. Ratio (%)	84.7	75.0	1.1

84.7%と最高の値を示し、alcohol 4倍量沈澱法では75.0%であり Cohn cold alcohol fractionation は僅か1.1%であつた。

Table 2. TSH Contents in Placenta

No. of Case	Bioassay Placenta	Bates's method		Mckenzie's method	
		of Normal delivery	of Caesarian section	of Normal delivery	of Caesarian section
1		1.1	0.9	0.9	1.1
2		1.3	1.3	1.1	1.1
3		1.6	1.4	1.5	1.9
4		1.6	1.4	1.9	1.4
5		1.7	1.5	2.1	
6		1.9	2.0		
7		2.0	2.0		
8		2.0			
9		2.1			
10		2.2			
Mean values mU/100g $\pm$ SD'		1.7 $\pm$ 0.34	1.6 $\pm$ 0.4	1.5 $\pm$ 0.4	1.4 $\pm$ 0.2

SD*: Standard Deviation

ii) 胎盤中 TSH 値

自然娩出された胎盤中に含まれる TSH を上記の Bates percolation method で抽出し, chick assay 法で検定した処 (Table 2) のごとくで内在性 TSH は極めて微量で胎盤100g当り $1.7 \pm 0.3 \text{ mU}$ であった。

更により一層新鮮な胎盤即ち帝王切開で取り出した胎盤についても同様の実験を行なつたが, TSH 活性値は $1.6 \pm 0.4 \text{ mU}/100\text{g}$ で, 両者の胎盤内 TSH 値には有意の差はみられなかつた。更に同様にして抽出した抽出物を McKenzie-野口氏法で検定したが, その値は (Table 2) に示すごとく自然娩出胎盤で $1.5 \pm 0.4 \text{ mU}/100\text{g}$, 帝王切開胎盤で $1.4 \pm 0.2 \text{ mU}/100\text{g}$ で chick assay 法の場合とほぼ同様な値を得た。

考 按

臓器乃至は血中からの TSH 抽出法としては以前は種々雑多な方法が用いられたが, TSH の生化学的性状が解明されるに従つて整理され, 酸性 medium での抽出法は適当でないとされている⁹⁾。私は此点を考慮して Bates 氏 percolation method と alcohol 4 倍量沈澱法, 更に Cohn cold alcohol fractionation の三つを採んだ。3 者の回収実験の結果を比較すると (Table 1) にみられる様に percolation method で 84%, alcohol 4 倍量沈澱法で 75% であったが, Cohn cold alcohol fractionation 法では, 僅かに 1.1% であった。Cohn cold alcohol fractionation 法の場合添加した TSH が胎盤中の多量の粗蛋白と共に最初から共沈してしまうために回収率が低くなるものと考えられるが, これに反して前 2 者は回収率も比較的高く, 操作も簡便である点からみて胎盤より TSH を抽出するに適した方法であると考えられる。所で胎盤で TSH が産生されるか, どうかと云う問題に関する文献は殆んどみられないが 1955 年赤須らは Loeser 法及び Ciereszko 法⁷⁾で胎盤を処理して TSH を抽出, その収得量は前者では 350g の胎盤から 315mg, 又後者の方法からは胎盤 500g から 61.2mg の凍結乾燥物質を採取し, 幼若モルモットを用いる Junkmann-Schöller 法⁸⁾で測定し, Loeser 法で得たものを, 3 及び 5 mg 3 日間連続投与したものに著明な甲状腺の刺激像を認め, Ciereszko 法で得たもの 1.0mg に於いても著明な刺激像を呈することを認めた⁹⁾。この様な結果から胎盤内には TSH の存在することを確認し, 妊娠時の甲状腺の機能亢進は胎盤内 TSH の分泌によるものと報告しているが, 此等の抽出法は何れも強い酸性下で行なわれるものであり, TSH は酸性 medium では速かに破壊されると云う教室の望月⁹⁾の研究結果からみて適当ではない。又その bioassay 法にも難点がある。更に 1958 年島貫¹⁰⁾は胎盤より TSH 様物質を抽出し, 家兎を検定動物として用い 10g の胎盤に約 13m JSU の活性を認めたと報告しているが, その抽出法についての記載がなく家兎は従来の文献からみて TSH の検定動物としては適当でないとされている。又 1963 年には Bates 氏¹¹⁾らは胎状奇胎組織から percolation method で TSH 様作用物質の抽出を行ない初生維皮下投用法でその活性を検討した結果, 胎状奇胎組織内で TSH は産生される事を報告しているが, 正常胎盤についてはふれていない。正常胎盤を用いた私の実験結果では自然娩出の胎盤中に含まれる内在性 TSH は極めて微量で (Table 2) にみられる様に胎盤 100g 当り $1.7 \pm 0.3 \text{ mU}$ であった。

一方 1953 年 Sulmann¹²⁾ 及び Bergmann¹³⁾ は胎盤より gonadotropin 及び ACTH 様物質を抽出する際には胎盤中に含まれる酵素の作用を除外するために娩出後 30 分以内に迅速に抽出操作を行なうべきであると記載しているが, この報告にもとづいて帝王切開でとり出した新鮮な胎盤から直ちに TSH 様物質の抽出を行ないその活性を測定した処, TSH 活性は胎盤 100g 当り $1.6 \pm 0.4 \text{ mU}$ であると云う結果を得た。この値は自然娩出の胎盤の場合と略々等しい。即ち自然娩出, 帝王切開何れの胎盤の場合でも微量の TSH 活性を検出したにすぎなかつた。併しながら胎盤中に存在する各種ホルモンを論ずる場合には常に胎盤中に含有される血液量即ちその血液中に存在するホルモン量を考慮せねばならない。処で Salhanick¹⁴⁾によると胎盤中には重量比にして約 10% の血液が含まれていると報告しているが, 私が Crosby の Cyanomethemoglobin 法¹⁵⁾で胎盤内に残存する血液量を測定した処 15~30% と云う結果を得た。

胎盤 100g 中の TSH 値は $1.7 \pm 0.4 \text{ mU}$ である事はすでに上述したが, この含有 TSH 値はその胎盤に残存する血液量とその中に含有される血中 TSH 値を考慮して検討しなければならない。処で妊婦血中 TSH 値に関しては, 教室の岸本⁴⁾, 石上の報告によれば $11.1 \pm 4.8 \text{ mU}/100\text{ml}$ である。

上述の胎盤内残存血液中の TSH 値と上述の胎盤内 TSH 値を比較検討してみると、胎盤より検出した TSH 値はその胎盤中に残存する血液中の TSH 活性値の域を出ていない。

この様な結果からみて少なくとも胎盤内で TSH が分泌されているものとは考えられない。

ま と め

胎盤からの TSH 抽出法として Bates 氏 percolation method, alcohol 4 倍量沈澱法, Cohn cold alcohol fractionation を比較検討したが、その回収率は Bates 氏 percolation method が三者の中で一番よく、84.7 % であった。そこでこの Bates 氏抽出法を用い自然娩出された胎盤から TSH の抽出を行ないその活性を検討した処、胎盤100g 当り TSH 様活性は $1.7 \pm 0.4 \text{ mU}/100\text{g}$ で、帝王切開より得た胎盤でもその値に大差は認めなかつた。胎盤内ホルモン値はその胎盤中に含有される血液の血中ホルモン値を考慮しなければならない。胎盤内に15~30% 含有されている血液中の TSH 値を計算してみると私が胎盤から検出した TSH 値は胎盤内に残存する血液中の TSH 値の域を出ず、この結果から考えて少なくとも胎盤で TSH が分泌されるとは考えられない。

第2章 妊娠時脳下垂体内 TSH に関する実験

ま え が き

妊娠時には血中 TSH 値は正常時に比して少々増量している事は教室の岸本、石上¹⁶⁾が報告している。前章で胎盤で TSH 分泌が行なわれない事を明らかにしたが、この妊娠時血中 TSH 値の増量が如何なる臓器に由来するものであるかは興味ある問題である。そこで私はこの問題を検討するために妊娠白鼠及び非妊娠白鼠の脳下垂体内 TSH の動態について研究を行なつた。

実験材料並びに方法

実験動物は妊娠、及び非妊娠成熟白鼠各群10匹宛を使用、特に妊娠白鼠は分娩近くのものを選んだ。各群の白鼠の脳下垂体を直ちに摘出し、10匹分宛 pool して、2%食塩水3ml で homogenate し、更に99.5% alcohol を3ml 加え、alcohol 濃度50%とし、1000回転/1分間で10分間遠沈を行ない、更に alcohol 濃度が80%になる様にその上澄液に99.5% alcohol 3ml を加え、24時間4℃冷室に静置し、次いで3000回転/1分間で遠沈した後、その沈澱物を乾燥しこれを更に DEAE column chromatography (Tris Buffer pH7.6) で精製した。この様にして得られた各 fraction を夫々凍結乾燥しこれを試料として用いた。

試料は2分し、初生雛心内投与法で TSH 活性を測定し、同時に Mouse 子宮重量法で Gonadotropin 活性を測定した。

実 験 成 績

Fig.1, Table 3 に示す如く、妊娠白鼠の脳下垂体内 TSH 含有量は、第1回30mU/mg、第2回12.6mU/mg、第3回12mU/mg で平均値は18.2mU/mg で非妊娠成熟白鼠の場合は第1回1.2mU/mg、第2回0.9mU/mg、第3回1.0mU/mg で平均値は1.0mU/mg であった。一方脳下垂体内 Gonadotropin 含有量は TSH のそれとは反対に非妊娠成熟白鼠で第1回9.6mg、第2回9.8mg、第3回9.6mg、平均値6.66mg と高値を示し、妊娠白鼠では各々5.1mg、4.5mg、4.8mg、平均4.8mg と低値を示していた。

考 按

Fig.1 にみられる如く妊娠時の白鼠脳下垂体内 TSH 含有量は非妊娠時の場合と比較して著しく増加しており、一方 gonadotropin 含有量は TSH の場合とは反対に非妊娠時に高く、妊娠時には非妊娠時のそれと比較して著減している。この様な実験成績からみて妊婦血中 TSH が正常婦人血中 TSH より増量している

Fig. 1. TSH-activity and Gonadotropin activity in the Pituitary Gland of Non-pregnant and Pregnant Rat

Tab 3. Thyrotropic and Gonadotropic Potency in Pituitary Gland of Pregnant and non Pregnant Rat

No. of group	Pregnant		non Pregnant	
	TSH (mU/mg)	G (mg)	TSH (mU/mg)	G (mg)
1	30.0	5.1	1.2	9.6
2	12.6	4.5	0.9	8.8
3	12.0	4.8	1	9.6
Mean values	18.2	4.8	1.03	9.99

Each Group : 10 Rats

事理由は、これらが胎盤に由来するものでなく、脳下垂体に由来するものである事を暗示するものであり、第1章に記載したごとく胎盤内で TSH が産生されない事を確認したものと思われる。又 TSH と gonadotropin とは生化学的性状が近似しているが、妊娠時に於ける両者の分泌機構は全く相反するものと思われる。

ま と め

白鼠を用いた動物実験の結果脳下垂体内 TSH は非妊娠時のそれに比し、妊娠時は著しく増加しているが、一方 gonadotropin は全く反対で非妊娠時に高く、妊娠時では非妊娠に比して著減している。

第3章 TSH の胎盤通性についての実験

ま え が き

教室の小林¹⁷⁾の報告によれば胎児甲状腺は胎令8ヶ月に略々完成し、分泌機能を有する迄に发育している。この胎生期の甲状腺の发育に母体 TSH が関与しているか否かは TSH が胎盤を通過するか否かにかかっている。そこで私は実験的に TSH の胎盤通過性について検討した。

実験材料並びに方法

体重約200gの妊娠白鼠を使用し、妊娠第15日目から白鼠の脊部皮下に市販 TSH 製剤である Schering 社の Pretiron を 0.1IU/1日 7日間、1.0IU/1日 2日間、5IU/1日 1日間をそれぞれ投与した後、胎仔を取り出し、その甲状腺を剔出して10%ホルマリン固定後、ヘマトキシリンエオジン染色を行ない外来投与 TSH の甲状腺に及ぼす影響を組織学的に検討した。

実験成績

(附図2)は TSH 製剤である Pretiron 非投与群の胎仔甲状腺組織像であり、(附図3, 4, 5)は Pretiron を投与した胎仔甲状腺組織像であるが、濾胞構造特にその分化度並びに上皮細胞の性状について詳細に検討した結果 Pretiron 非投与群と投与群との間に著しい差異を認めなかつた。即ち TSH 投与による影響を全く認めることが出来なかつた。

考 按

TSH は人の口腔粘膜及びモルモットの膣粘膜を透過すると云われるが、1949年 Crepax¹⁸⁾ 及び 1955年に

Fig. 2. Histological Picture of Normal Rat Fetal Thyroid

Fig. 3. Histological Picture of Rat Fetal Thyroid Injected TSH 0.1IU/day for 7 days

Fig. 4. Histological Picture of Rat Fetal Thyroid Injected TSH 1.0IU/day for 2 days

Fig. 5. Histological Picture of Rat Fetal Thyroid Injected TSH 5.0IU/day for 1 day

Nikitovitch & Knobil¹⁹⁾ らは妊娠動物に夫々 TSH を投与しても胎児甲状腺は肥大せず、その他に形態学的にも TSH 投与の影響を認めなかつたと報告している。1959年に Knobil²⁰⁾ は TSH が胎盤を通過しないと報告している。又 1952 年 Peterson²¹⁾ によれば妊娠中に甲状腺を剔除した白鼠に TSH を投与してもその脳下垂体は重量においても対照との差をみとめず、又その胎児甲状腺の組織像も投与 TSH の影響を証明することが出来なかつたと報告している。処が一方 PTU を投与すると胎仔白鼠の甲状腺並びに下垂体が肥大する事を認め、また PTU と同時に thyroxin を投与すれば、この肥大は阻止され、他方 thyroxin のみの投与で胎児甲状腺及び脳下垂体はその発育が阻止されると述べている。この様な研究報告からみて、PTU 及び thyroxin は白鼠の胎盤を通過するものと考えられる。従来物質の胎盤通過性はその物質の分子量によるとされ、分子量 600~1000 以上のは通過し難く、蛋白系物質についていえば、アミノ酸及び Polypeptide は通過するが蛋白体は通過しないとされている。糖蛋白ホルモンである TSH の分子量は教室の望月²²⁾の研究によれば 20000 である。従つて理論的にも TSH そのものは胎盤を通過しがたいと考えられる。私の今回の妊娠白鼠に TSH を投与した成績からみて TSH 非投与群と TSH 投与群との間には胎児甲状腺組織像に何らの差も認めなかつた事からみて TSH は胎盤を通過しないものと考えられる。従つて胎生期の甲状腺の発育には母体の TSH は関与しないものとする。

ま と め

TSH 製剤投与群と非投与群との間で、胎児甲状腺の組織像にその差を認めず、従つて TSH は胎盤を通過しないものと考えられる。この結果から胎生期の甲状腺の発育には母体の TSH が関与しないと考えられる。

第4章 人胎児脳下垂体内 TSH についての実験

まえがき

前章までに検討した結果、胎児甲状腺の発育に母体の血中 TSH 及び胎盤が関与しないと云う結果を得た。従つて胎生期の甲状腺の発育は胎児自身の脳下垂体内 TSH の支配によるものと考えなければならない。そこで私は胎令を追つて胎児脳下垂体内 TSH の量的推移を定性的に測定し、その分泌機構を組織化学的に検討した。

第1項 胎児脳下垂体内 TSH 含有量の測定

実験材料並びに方法

材料としては神戸医大産婦人科外来及び入院患者のうち、甲状腺疾患を有しない患者で妊娠中絶を行なつた際に得た胎児の脳下垂体を用いた。脳下垂体は摘出後一部を組織学的検索にあて、残りについては附属物を出来る丈取除き直ちに torsion balance で秤量し、TSH を抽出した。その抽出法は第1章で記載した Bates 氏 percolation method を用いた。なお死後5時間以上経過した胎児はこの実験より除き、胎児の胎令はすべて胎児の crown rump length を測定し、最終月経を考慮に入れて決定した。

実験成績

胎児脳下垂体内の TSH 活性は Fig. 6 Table 4 に示すごとく胎令8週の第1, 2例で始めて検出が可能と

Fig. 6. TSH Contents in the Fetal Pituitary Gland

なりその値は 2.15mU/mg で、胎令 9~12 週の胎児 3 例では 2.93mU/mg、胎令 13~18 週の胎児 5 例では 4.4~4.9mU/mg とやや増加がみられ平均 4.62mU/mg の値を得た。胎令 19~22 週即ち胎令 6 ヶ月の胎児 5 例では脳下垂体前葉の TSH 含有量は平均 6.44 mU/mg と前記胎令に比しその TSH 含有量も増加するが、更に胎令 23 週即ち胎令 7 ヶ月初期より胎令 25 週の胎児 5 例の平均値は 8.2mU/mg で急増し、脳下垂体重量においても、それ以前よりも急激な増加がみられる。次に胎令 8 ヶ月の胎児 3 例の平均値は 9.6~13.5mU/mg で、更に胎令 10 ヶ月の 4 例の平均値は 15.9~19.4mU/mg で最高の値を得た。

第2項 胎児脳下垂体内 TSH の組織学的検討

実験材料並びに方法

実験材料は上記の TSH 測定に用いた胎児の脳下垂体の一部をあてた。摘出後直ちに Susa 及び Bouin 氏液で固定を施し、パラフィン包埋後 4 μ 切片を作成した。染色には hematoxylin-eosin, Azan, Gomori, CHP 及び PAS 染色を行なつた。

実験成績

胎児脳下垂体の組織学的検討では Table 5 に示すごとく、胎令 5 ヶ月の胎児脳下垂体前葉組織は索状構造を呈し、前葉細胞は α 細胞、γ 細胞は認められるが、β 細胞は不明瞭で PAS, Gomori 陽性細胞はない。

胎令 6 ヶ月に於いても間質結合組織はまだやや多く、偽小胞と網状構造とが混在しており、α 細胞、β 細胞、γ 細胞の 3 種の細胞が胎令 5 ヶ月に比して識別可能となる。CHP 染色でも同様である。又 PAS 染色で PAS

Table 4. Variation of TSH Contents in the Fetal Pituitary Gland

No. of Case	Gestation month	Fetal week (W)	Weight (gr)	Height (cm)	CRL (cm)	Weight of pituitary gland (mg)	TSH in pituitary gland(mU) Weight of pituitary gland (mU)	TSH in total pituitary gland (gr)
1	3	8	13.4	4.3	3.2	1.0	2.2	2.2
2	3	8	13.0	4.0	3.0	1.2	2.1	2.5
3	3	9	15.0	4.9	3.7	1.4	2.3	3.2
4	4	12	43	12.7	9.0	1.7	3.4	5.8
5	4	12	47	16.2	9.4	1.9	3.1	5.9
6	4	15	61	17.9	11.52	3.4	4.9	16.7
7	4	15	58	17.5	11.0	3.1	4.5	14.0
8	5	16	90	16.6	12.1	4.9	4.6	22.5
9	5	16	92	18.4	12.0	6.4	4.7	30.0
10	5	18	144	24	17.0	9.6	4.4	42.2
11	6	20	500	28.0	18.0	18.4	5.6	103.0
12	6	20	506	27.0	16.2	21.4	6.7	143.3
13	6	20	550	30	20.4	19.3	6.1	117.3
14	6	21	610	31	24.6	20.4	6.9	140.7
15	6	22	643	32.6	22.9	27.4	6.9	189.0
16	6	23	736	31.4	23.0	28.0	6.8	190.0
17	7	24	820	33.5	23	30.0	8.9	267.0
18	7	25	1000	36	24.9	29.4	8.9	261.7
19	7	25	1176	37	26.4	32.1	8.4	269.6
20	7	27	1641	37.9	27.9	39.4	10.0	394.0
21	8	28	1920	39.4	20.4	45.5	9.6	436.9
22	8	29	2110	39.4	27.9	48.1	13.5	649.3
23	8	30	2400	41.6	30.3	56.1	12.4	695.6
24	N B	•	3074	52.1	37.5	116.0	15.9	1844.4
25	〃		2960	51.6	36.9	114.2	17.4	1987.0
26	〃		2764	47.6	34.1	119.6	19.4	2320.2
27	〃		1940	49.1	34.2	110.6	18.6	2057.1

Table 5. Histological Findings of Fetal Pituitary Gland

Gestation month	Azan			PAS positive cell	CHP			Gomori positive cell
	α	β	γ		α	β	γ	
V	++	±	+++	—	++	±	+++	—
VI	++	+	+++	±	++	+	+++	+
VII	++	++	+++	+	++	+	+++	+
VIII	++	++	+++	+	++	++	+++	+
IX	++	++	+++	++	++	++	+++	++
X	++	++	+++	++	++	++	+++	++

— none + scantling ++ moderate +++ multuitde

陽性細胞が現われている。網状構造は胎令7ヶ月になると不明瞭となり、 α 細胞、 β 細胞、 γ 細胞の分化は更に進み、その胞体も増大し、その識別は容易であると同時に Gomori 陽性細胞も出現する。胎令8ヶ月になると β 細胞の増数が目立ち、 β 細胞のもつ特有な形態がさらに明瞭となり、脳下垂体前葉の分化が一応完成するものと思われる。

胎令9ヶ月(Fig. 7)10ヶ月に於いても各種細胞の構成はほぼ同様であり、細胞数の増数と個々の大きさが

Fig. 7. Fetal Pituitary Gland of 9th Gestation Month (by Gomori Stain)

Fig. 7. Fetal Pituitary Gland of 9th Gestation Month (by H.E. Stain)

増加したに過ぎず、胎令8ヶ月との間には何等の組織学的な差は認められない。

考 按

人胎児脳下垂体前葉の内分泌機能を組織発生学的方面から観察した報告に1940年 Romies²³⁾が広汎な系統的研究から C.R.L. 88mm の胎児においてすでに脳下垂体に永久的腺様構造を認めたと報告して以来1953年 Pearse²⁴⁾は胎令8週の胎児脳下垂体前葉に PAS 陽性顆粒を認め、更に胎令12週では mucoid protein の活動的分泌を認め、14週の胎児では均等性の colloid となり、19週胎児では mucoid 細胞の小さな成人型のもので、散在しているのを認めたと述べている。1958年太田²⁵⁾は胎令15週胎児に永久的構造が完成され胎令8ヶ月に殆んどが完成し、新生児脳下垂体所見に一致すると述べている。又脳下垂体前葉の各種 trophic hormone の分泌細胞の発現時期について1951年 Purves & Griesbach²⁶⁾らは Gomori A-F 陽性の thyrotrophs は胎令3ヶ月末頃より、PAS 陽性細胞の gonadotrophs は胎令6ヶ月以後に、成長ホルモン分泌細胞は胎令4ヶ月中頃の胎児脳下垂体前葉に出現し、機能を開始するものと述べているが、私の成績においては、上記の通り胎令7ヶ月で PAS 陽性細胞の検出がはじめて可能であった。次に TSH の存在については、小国²⁷⁾らは胎令5ヶ月以後の脳下垂体が海狗甲状腺刺激効果並びに I^{131} 摂取能の変動を来すことから胎児脳下垂体が TSH 様作用を示す事を定性的に報告している。

また Kemp, & Smith²⁸⁾は妊娠中期の豚胎仔の脳下垂体がオタマジャクシに変態を起させる作用を有している事から判断して、胎仔脳下垂体に TSH が存在すると報告している。又1955年 Petronic²⁹⁾は体長4.5から9.5cmまでのそれぞれの白鼠胎仔の脳下垂体を成熟白鼠の甲状腺に移植し、4.5cmのものを移植した場合には甲状腺に変化なく、8.0~8.5cmの胎仔のものでは著しい変化がみられることより、後者では甲状腺刺激能が認められたと報告している。以上の様な諸家の研究報告からみて、胎児脳下垂体で TSH がすでに分泌されているとみるべきである。

一方私の得た成績では胎令8週より TSH の検出が可能となり、胎令15週より20週までの含有量は少々増加しているが、胎令23~24週即ち6ヶ月末期より7ヶ月初期に於いては胎児脳下垂体前葉の TSH 含有量は以前よりも急激な増加を認めた。この時期には組織化学的に Gomori 陽性細胞 PAS 陽性顆粒細胞の増加する事を認め、胎児の甲状腺もこの時期から分業化が始まり、この時期以降の甲状腺組織は成人のそれと同じ組織学的所見を呈すると云う事から考えて、胎児甲状腺の分化発育には胎児の脳下垂体内 TSH が密接な

関係にあると考えられる。

以上の様な実験結果からみて、胎児甲状腺は已に胎令12週頃より胎児自身の脳下垂体内 TSH の支配をうけ胎生末期には脳下垂体甲状腺系はすでにほぼ完成されているものと推察される。

ま と め

人胎児脳下垂体前葉 TSH は胎令8週より検出可能となり、それ以降では少々増加するが胎令23~24週即ち甲状腺の分葉がほぼ完成する胎令6ヶ月末より7ヶ月初期に急に TSH の含有量が増し、更に脳下垂体前葉内に PAS 陽性顆粒が此時期以後に著明に出現することからみて、胎児甲状腺の分化発育には胎児脳下垂体内 TSH が重要な役割を演ずるものと考えられる。

第5章 新生児血中 TSH についての実験

ま え が き

胎児脳下垂体内 TSH は胎令8週より測定可能となり、甲状腺の分葉がほぼ完成する胎令6ヶ月末より7ヶ月初期に急激に下垂体内 TSH 含有量が増加するが、組織化学的にもこの時期以後にPAS陽性顆粒の著明な出現がみられることからして胎児の甲状腺の発育には胎児脳下垂体内 TSH が重要な役割をしめることが明らかである。この様に胎児脳下垂体内ですでに TSH が分泌されるものとすれば、その血中には当然 TSH が含有されている筈である。そこで私は分娩直後の新生児に於いて、どの程度の血中 TSH 値を示すものかを検討した。

実験材料並びに方法

実験材料としては、神戸医大産婦人科に於ける分娩直後の新生児を使用し、分娩直後の臍帯動脈より採血するか、満期死産児の場合には心臓穿刺により血液 20~40ml

Table 6. TSH Contents in Sera

Question month	* Pregnant	No. of Cause	◦ Normal woman	◦ Normal man	New-born
III	3	1	6	5	5
	6	2	8	5	4
	8	3	9	6	4
IV	7	4	9	6	4
	5	5	12	6	5
	8	6	13	7	7
V	9	7	14	8	5
	10	8		8	4
	14	9		9	4
VI	8	10		10	3
	8	11		16	6
	13	12			2
VII	9	13			5
	14	14			6
	16	15			3
VIII	14	16			4
	9	17			3
IX	14	18			2
	6	19			
	9	20			
X	13	21			
	24	22			
	8	23			
	17	24			
	19	25			
	18	26			
		27			
	11.1 ± 4.8	Mean value	10 ± 2.6	8 ± 3.1	4.2 ± 1.3

(mU/100ml ± S.D')

SD : Standard Deviation

◦ was Reported by Kishimoto

* was Reported by Ishigami

を採取した。又血液は遠沈し得た血漿は凍結乾燥して粉末とし percolation method で TSH 抽出を行なった。最終産物は透析後凍結乾燥し、白色の粉末とし、生理食塩水 0.2ml に溶解して、TSH 活性測定に用いた。TSH 活性は chick assay 法によった。

実験成績

新生児並びに死産児の TSH 値は、血漿100ml 中の TSH 値は Table 6 にみられる様に新生児と死産児との間には大差はみられず、いずれも $2 \sim 7 \text{ mU}$ ($4.2 \pm 1.3 \text{ mU}/100\text{ml}$) と低い値であつた。この値を教室の岸本並びに石上の報告した正常男子、 $8 \pm 3.1 \text{ mU}$ 、正常女子 $10 \pm 2.6 \text{ mU}$ 及び妊娠婦人 TSH 値 $11.1 \pm 4.8 \text{ mU}$ と比較するとこの新生児並びに死産児の血中 TSH の値は最も低い値を示している。

考 按

人血中 TSH 値を検定し得たと報告している研究者のうち、Bates ら³⁰⁾ は $0.5 \text{ mU}/\text{ml}$ 、Piotti³¹⁾ $0.5 \sim 0.05 \text{ mu}/\text{ml}$ 、と比較的高い値を報告しているが、一方鎮目ら³²⁾ は正常人血液 1 ml 中の TSH 0.06 mU 以下であると述べている。又 D'Angelo ら³³⁾ はオタマジャクシ甲状腺上皮細胞高法で $0.1 \text{ mU}/\text{ml}$ 、Adams & Purves³⁴⁾ は海蜃 I^{131} 放出法で 0.1 mU 、Mckenzie³⁵⁾ はマウス I^{131} 放出法で 0.025 mU 、De-Robertis⁶⁾ は海蜃コロイド滴法で 0.2 mU 、Bottari³⁷⁾ は海蜃甲状腺切片 I^{131} 摂取法で 0.01 mU 、Bakke³⁸⁾ は牛甲状腺切片重量 0.01 mU 、小倉は Bakke-小倉氏³⁹⁾ 法で $0.069 \pm 0.051 \text{ mU}/\text{ml}$ と報告している。又教室の岸本⁴⁾ も初生雛心内投与法で測定した正常人の TSH 値は $0.03 \sim 0.16 \text{ mU}/\text{ml}$ と報告しているが、上記はいずれも成熟正常男女についての血中 TSH 値であつて、教室の石上の報告した妊婦血中 TSH 値は $11.1 \pm 4.8 \text{ mU}/100\text{ml}$ で正常女子、正常男子いずれの場合よりも高値を示していた。処が新生児の血中 TSH を測定した文献はみあたらないが、私が Bates percolation method で TSH の抽出を行ない初生雛心内投与法で、その活性を検討した処、 $4.3 \pm 1.3 \text{ mU}/100\text{ml}$ で上記三者の間では、一番低値を示していた。

この様に新生児の血中にはすでに chick assay で測定されうるだけの TSH を含有しておりこの結果からみても胎児脳下垂体内ですでに TSH が分泌され、胎児の甲状腺の分化発育に胎児自身の脳下垂体内 TSH が関与していることを証明し得たと考えられる。

ま と め

胎児血中 TSH 活性値は $4.3 \pm 1.3 \text{ mU}/100\text{ml}$ で正常男女及び妊婦血中 TSH に比し、最低値を示すが生下時に血中に TSH の存在する事は、胎生期にすでに下垂体内で TSH が分泌されている事を確認するものと考ええる。

全章のまとめ

胎児脳下垂体内 TSH の問題を究明する目的で、胎盤での TSH 産生について、妊娠時脳下垂体内 TSH の変動、胎盤の TSH 通過性、胎児脳下垂体内 TSH の推移並びに新生児血中 TSH の測定と云う各項目について研究を行ない、次のような結果を得た。

先ず胎盤より TSH 抽出法として Bates 氏 percolation method, alcohol 4 倍量沈澱法, Cohn cold alcohol fractionation の三者を検討し、その回収率を見た所、中性で操作する Bates 氏 percolation method が 84% と最高値を示した。この結果より TSH を抽出するには、この percolation method によるのが最良の方法と考えられる。一方 1955 年赤須らは Loeser 法 Ciereszko 法で胎盤より TSH を抽出し、Junkmann-Schöller 法でその活性の存在を確認しているが、上記の如くその抽出法並びに測定法に不備な点がある。更に 1958 年島貫は胎盤より 10g 当り 13mJSU の活性を認めたと報告しているがその測定法に難点がある。1936 年 Bates 氏らは胎状奇胎の組織内で TSH は産生されると報告しているが、正常胎盤についてはふれていない。処で私の行なつた実験成績からみると、自然娩出の胎盤中に含まれる内在性 TSH 活性は胎盤 100g 当り

1.7±0.3mUであり、更に帝王切開で得た胎盤より検出した場合でも自然娩出時の値と大差なく、1.6±0.4 mU/100gであった。この様に胎盤内には微量の TSH 活性を検出したにすぎなかつた。併しながら胎盤中には多量の血液を含んでいるから、この残存血中 TSH を考慮しなければならない。Crosby の Cyanomethohemoglobin 法で胎盤内に残存する血液量を測定した処胎盤重量比15~30%と云う含有血液量を得た。これと血中 TSH 濃度とを考え合わせると上述の胎盤より検出した TSH 値はこの含有血液中の TSH 値の域を出ていなかった。このことから胎盤内で TSH が分泌されるとは思われない。

又妊娠時血中 TSH が正常時に比し少々増量している事は教室の石上が報告したが、妊娠白鼠、非妊娠白鼠を用い、その脳下垂体内 TSH 活性を検討した処、妊娠時の白鼠脳下垂体内 TSH 含有量は非妊娠時に比し、著しく増加していた。この結果からみて妊娠血中 TSH が正常婦人血中 TSH 値より高いのは、胎盤に由来するものではなく、脳下垂体に由来するものであることを暗示している。次にこの TSH の胎盤通過性を検討した処 TSH は胎盤を通過しない事を実験的に証明した。以上の結果から胎生期の胎児甲状腺の発育に母体並びに胎盤の TSH が関与しないと考える。胎児脳下垂体内 TSH の量的推移を胎令別に追って定性的に測定し及びその分泌機構を組織化学的に検討した処胎令8週より TSH の測定が可能になり、胎令15~20週迄の含有量は少々増量し、21~24週より胎令7ヶ月初期においてはその値は急激に増量する事を認めた。この時期に Gomori 陽性細胞、PAS 陽性顆粒細胞の増加する事を証明した。一般に胎児甲状腺の分葉がこの時期より始まり、それ以降の甲状腺組織は成人のそれと同様な組織学的所見を呈すると云う従来の報告から考えて胎児の分化発育には母体の TSH は関与するものでなく胎児自身の脳下垂体内 TSH が密接な関係にある、即ち脳下垂体甲状腺系は已に胎生期に機能を営んでいるものと考ええる。

結 語

1) 胎盤からの TSH 抽出法として、Bates 氏 percolation method が最もすぐれており、この方法を用いて胎盤内より TSH を抽出しその活性を測定した処、自然娩出された胎盤内の TSH 様活性は1.7±0.4 mU/100gで帝王切開のそれとの間には大差は認められない。胎盤内に残存する血液量と母体血中 TSH 量とを考慮すると、この胎盤内 TSH 値は残存血液中の TSH 値の域を出ない。従つて胎盤内で TSH が分泌されるとは考えられない。

2) 白鼠を用いた動物実験では妊娠時の脳下垂体内の TSH は非妊娠時のそれに比し、著しく増量している。従つて妊婦血中 TSH の増加は胎盤に起因するものでなく、脳下垂体 TSH の分泌亢進によるものと考ええる。

3) 白鼠を用いた動物実験によつて TSH の胎盤通過性について検討した結果 TSH は胎盤を通過しないものと考ええる。

4) 人胎児脳下垂体前葉 TSH は胎令8週より検出可能となり、胎令23~24週即ち甲状腺の分葉がほぼ完成する胎令6ヶ月末より7ヶ月初期に急に PAS の含有量が増加する。

5) 胎令7ヶ月初期に脳下垂体前葉内に PAS 陽性顆粒が出現し以後一層著明となる。

6) 胎児血中より4.2±1.3mU/100ml の TSH 活性値を証明した。

以上妊娠時の母体の TSH 産生源としては胎盤よりも脳下垂体を重要視すべきであり、胎児脳下垂体甲状腺系は母体のそれとは独立して機能を営んでいるものと考えられる。

本論文の一部は植田安雄教授により第15回日本産科婦人科学会、宿題報告、第36回日本内分泌学シンポジウムに於いて発表された。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師植田安雄教授、有益なる助言を賜つた本教室林講師、直接御指導を賜つた望月講師に深甚なる謝意を表明致します。尚本研究に御協力戴いた岸本博士、鷲尾博士、石上医学士並びに TSH 研究班の方々に謝意を表します。

又研究上、御協力、御便宜を与えて下さつた京都府立医大第2解剖学教室、佐野豊教授、別府野口病院、野口秋人博士に感謝致します。

文 献

- 1) BATES, R.W., et al. : *Endocrinol.*, 65 : 7, (1959). 2) 植田安雄 : 日本産婦人科学会宿題報告別冊, (1963). 3) 植田安雄 : 日本産婦人科学会宿題報告別冊, (1963). 4) 岸本弓弦 : 日本内分泌学会誌, 39, 12, 1141, (1994). 5) 野口秋人他 : ホルモンと臨床, 8 : 407, (1960). 6) 望月真人 : 日本内分泌学会誌, 36 : 4, 668, (1960). 7) CIERESZKO, L.S. : *J. Biol. Chem.*, 160, 585 (1945). 8) JUNKMANN, K. & W. SCHÖLLR : *Klin. Wochenschr.*, 11, 1176, (1932). 9) 赤須文男他 : 日本内分泌学会誌, 32 : 2, 112, (1955). 10) 島貫太吉 : ホルモンと臨床, 6, 9, 667, (1957). 11) BATES, R.W. : *J. Clin. Endocrinol. and Metab.*, 23, 7, 958 (1963). 12) SULMANN, F. : *J. Exp. Med.*, 61 : 1, (1937). 13) BERGMANN, A.J. & W. TURNER, : *J. Biol. Chem.*, 118 : 247, (1937). 14) SALHANICK, A.H., L.M. NEAL., and J.S. MAHONEY : *J. Clin. Endocrinol. & Met.*, 16 : 8, 1120, (1956). 15) CROSBY, W.H, MUNN, J.I. and FURTH, F.W. : *U. S. Armed Forces M. J.* 5 : 693, (1954). 16) 石上統 : 未出版. 17) 小林正義 : 神戸医大紀要, 13, 694, (1958). 18) CREPAX, P. : *Chem. Abst.*, 43, 9199 (1949) 19) NIKITOVITCH, M. & KNOBIL, E. : *J. Clin. Endocrinol.*, 15, 837 (1955). 20) KNOBIL, E. & JOSINOVITCH, J.B. : *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 75 : 895, (1959). 21) PETERSON, R.R. & L. YOUNG. : *Endocrinol.*, 50 : 218, (1952). 22) 望月真人 : 日本内分泌学会誌, 37, 775, (1961). 23) ROMEIS, B. : *Hypophyse Möllendorfs Hand b.d. mikro. Anat. d. Menschen*, Bd. 6, 3. Berlin, (1940). 24) PEARSE, A.G.E. : *J. Path. & Bact.*, LXV, 355, (1953). 25) 太田顕男 : 日本産婦人科学会誌, 10, 253, (1957). 26) PURVES, H.D., & GRIESBACH, E.W : *Endocrinol.*, 49, 244, (1951). 27) 小国真久他 : 日本産婦人科学会誌, 10, 177, (1958). 28) KEMP, T. & SMITH, P.E. : *Anat. Rec.*, 33. 288 (1929). 29) PETRONIC, A. & M. ARON. : *Compt. rend. soc. Biol.*, 149, 1030, (1955). 30) BATES, R.W. & CONDLIFFE, P.G. : *J. Endocrinol.*, 60 : 225, (1957). 31) PIOTTI : 文献 (34) より引用. 32) 鎮目和夫 : 日本内分泌学会誌, 37 : 325, (1961). 33) D'AEGLIO, S.A., A.S. Gordon, and H.A. CHARIPPER. : *Endocrinol.*, 31 : 217, (1942). 34) ADAMS, D.D. & PURVES, H.D. : *Endocrinol.*, 57 : 17, (1955). 35) MCKENZIE, J.M. : *Endocrinol.*, 63 : 372, (1958). 36) DE-ROBERTIS : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 8 : 956, (1948). 37) BOTTARI, P.M. *Ciba Found. Colloq. Endocrinol.*, 11 : 52, (1957). 38) BAKKE, J.L., M.L. HEIDEMAN, N.L. LAWRENCE, and WIBERG, C. : *Endocrinol.*, 61 : 352, (1957). 39) 小倉一 : 日本内科学会誌, 48 : 1045, (1959).