Experimental Studies on the Effect of Sex Steroids on the Anterior Pituitary Gonadal-Stimulating Functions in the Female Rats

1st Report: The Experiments on the Normal Adult Female Rats and the Immature Female Rats

Kin-ya INOUE

Department of Obstetrics and Gynecology, Kyoto University School of Medicine, Kyoto, Japan
(Director : Professor Toshio Nishimura)

Either estradiol benzoate (E.B.) or progesterone (Prog.) was injected iv. in single doses or ip. repeatedly for 10 days to each group of 1) normal adult female rats and 2) immature female rats, and their effects on the gonadal-stimulating activity of anterior pituitary were studied.

Estimation of the fresh weight and gonadotropic potency (mouse uterine weight) of the anterior pituitary as the criteria of its gonadal-stimulating function and of the ovarian fresh weight, its ascorbic acid concentration, its total- and ester-cholesterol concentration were carried out in order to know the output intensity of gonadotropin from the anterior pituitary.

The result are summarized as follows:

1) The experiments on normal adult female rats.

Gonadotropic potency increased immediately after iv. single doses of 100 γ of E.B. indicating the acceleration of anterior pituitary function. And at the same time, ovarian function was activated after the same injection, increasing its weight and decreasing its ascorbic acid concentration, its total- and ester-cholesterol concentration (Table 3, Fig.4). Whereas gonadotropic potency failed to respond, though anterior pituitary weight markedly increased, the ovarian function was reduced as the result of ip. 10 days' repeated injection of 50 γ of E.B. (Table 4, Fig. 5).

In the case of ip. 10 days' repeated injections of 5 mg. of Prog., gonadotropic potency and anterior pituitary weight increased temporarily during the administration, and at the same time, the ovarian ascorbic acid concentration as well as its ester-cholesterol concentration significantly increased, indicating the reduction of the ovarian function (Table 5, Fig. 6).

2) The experiments on immature female rats.

In order to avoid the influence of the endogenous ovarian sex steroids on the effect mechanism of exogenously administered steroids such as E.B. or Prog. of the anterior pituitary gonadal axis, the immature female rats, which had no active ovarian functions at that time, were utilized in these experimental studies. The immature female rats were observed to have a greater pituitary gonadotropic potency than adult females have in the diestrous

stage, and to have almost the same concentration of ovarian ascorbic acid. (Table 6, Fig. 8).

Anterior pituitary function as well as ovarian function was markedly increased at 12–36 hours after iv. single doses of 20 γ of E.B. (Table 7, Fig. 9). Almost the same results were observed at 12–36 hours after iv. single doses of 2 mg. of Prog. with the exception that the anterior pituitary weight failed to increase in this case (Table 8, Fig. 10).

Anterior pituitary function and ovarian function were reduced from the beginning of ip. 10 days' repeated administrations of 20 γ of E.B., continuously to the 5th day after the end of treatments (Table 9, Fig. 11).

The result in the case where 2 mg. of Prog. was injected ip. daily for 10 days was almost similar to the former case except that anterior pituitary weight was not significantly altered, although it markedly increased in the former (Table 10, Fig. 12).

From the above results, it is indicated firstly that the response pattern of anterior pituitary to administered sex steroid such as E.B. or Prog., supposing the fashion of their administration is the same, is very similar and is not dependent upon the difference of endocrinological conditions of the animals. For example, when E.B. is injected iv. in single doses, anterior pituitary gonadal-stimulating function and consequently the ovarian function are activated in the adult female rats as well as immature female rats.

Secondly, the same sex steroid affects the anterior pituitary function in an almost opposite pattern when it is administered either iv. in single doses or successively, being indifferent to the endocrinological condition of the animals. For example, when E.B. is injected iv. in single doses to the adult female rats, both the anterior pituitary function and the ovarian function are activated, on the other hand in the case where the same steroid is administered ip. repeatedly for 10 days, these functions of pituitary-gonadal axis were inactivated.

Thirdly, the difference of effects between E.B. and Prog. on the anterior pituitary is not recognized, that is, on which E.B. and Prog. are observed to affect with an almost similar pattern, if the methods of administration are the same, with the exception that though E.B. increases the anterior pituitary weight, Prog. fails to do so, in the case of successive administrations.

(pp. 514~531)

性 steroid の下垂体前葉向性腺機能に及ぼす 影響に関する実験的研究

(第1報) 正常成熟雌白鼠ならびに幼若雌白鼠について

京都大学医学部産科婦人科学教室 (主任 西村敏雄教授)

井 上 欣 也

(昭和43年1月29日受付)

estradiol benzoate と progesterone を内分泌学的条件を異にする雌白鼠すなわち正常成熟雌白鼠と幼若雌白鼠に衝撃的あるいは持続的に投与して前葉向性腺機能の反応態度を検討したところ、二種の性 steroid 相互間あるいは内分泌環境を著るしく異にする上記二種の被投与個体相互間に本質的な作用方向あるいは反応態度の差異は認められず、むしろ性 steroid を衝撃的に投与すれば前葉機能は亢進し、持続的に投与すればこれは低下するという投与形式の差に基く反応態度の差が端的に示された。

緒 論

性腺機能はその上位中枢すなわち 間脳と下垂体の支配をうけているが、一方性腺から分泌される末梢 hormone すなわち性 steroid は逆行性に間脳を介してあるいは直接的に下垂体前葉の機能を調節している。いわば間脳下垂体性腺系という一つの内分泌機能環が生体内にあり、この機能環を形成している各内分泌臓器の相互の緊密な調節機転によつて正常でしかも律動的な性周期が確立維持されている。

下位臓器すなわち性腺から分泌される性 steroid の上下下垂体前葉に対する調節機序 (feed back mechanism) については約半世紀前より多くの研究があるが、この問題がとくに内分泌研究領域の注目を集め始めたのは1930年前後からであり、以来現在にいたるまでに膨大な研究報告があるが、Hohlweg¹⁾ や Meyer²⁾ の報告にもみられるようにその微妙でしかも非定型的な調節機序については決定的、公式的な法則を把握するにはいたっていない。

すなわち性腺から分泌される諸種性 steroid が下垂体前葉に対して何らかの影響を与える時、あるいは外来性に投与した性 steroid が前葉に作用する時、その個体の現行内分泌環境の如何により、あるいは外来から投与された性 steroid の投与量、投与方法、投与持続期間が異なることにより、前葉の反応態度が異なってくるのであつて極端な場合には同一の性 steroid に対しても上位中枢の反応態度が全く逆に発現することさえあり、このことは我々も臨床上しばしば経験するところである。例えば Zondek³⁾, Brown⁴⁾ などは estrogen を雌白鼠に微量連続的に投与すると前葉向性腺機能は亢進すると述べているのに対して、Zondek⁵⁾, Greep & Jones⁶⁾ などは比較的大量の estrogen を連続的に雌白鼠に投与すれば前葉の性腺刺激能は低下すると報告している。さらに Hohlweg⁷⁾, 五十嵐⁸⁾ は大量の estrogen を衝撃的に雌白鼠に投与すれば下垂体前葉からは gonadotropin とくに LH の分泌が増加すると述べているがごとくである。問題を estrogen に限定してみてもその投与量と投与方法の如何により下垂体前葉に対する作用は以上のように種々であり、gestagen についても全く同様のことがいえるのである。ましてや被投与個体の内分泌条件の種々の様子が下垂体性腺系の性 steroid に対する反応性に与える影響を考慮すると問題はさらに複雑となり系統的といわれながらも前葉性腺系の調節機序そのものの実体を把握するのは全く容易ではない。

この意味において私は性 steroid の上位中枢調節機序の本質をその一端ながら掴む目的で正常な性周期を有する成熟雌白鼠ならびに幼若雌白鼠を実験対象として、それらの下垂体性腺系に対する外来性の性 steroid

の影響を系統的に検討すべく基礎的実験を試みた。

すなわち内分泌環境が明らかに異なる二種の雌白鼠群すなわち上記の正常成熟雌白鼠群ならびに幼若雌白鼠群に性 steroid を衝撃的にあるいは持続的に投与してその下垂体前葉ならびに性腺について主として生化学的立場からその変動を経時的に分析検討した。以下にその実験方法、実験結果を述べ併せて考按を試みる。

なお私は投与する性 steroid として estrogen ならびに gestagen を選び、性 steroid の基本的な生化学的作用を追求するという本実験の方針に基づいて両性 steroid の代表的製剤である estradiol benzoate (水性懸濁液) ならびに progesterone (水性懸濁液) をそれぞれ使用した。

第1篇 正常成熟雌白鼠についての実験

第1章 序 論

規則正しい性周期を有している成熟雌白鼠では下垂体前葉と性腺の間に相互に緊密な調節機序が働いておりその結果性腺においては静止期から発情前期を経て発情期へ、さらに発情後期から再び静止期へと律動的な性周期がくり返されているのであるが、このような緊密な連携状態にある内分泌環境へ外来性に性steroid が作用すれば内分泌平衡状態はどのような形で乱されるであろうか。私は先ず実験の第一段階として以上の点を検討すべく正常成熟雌白鼠を用いて性 steroid の下垂体前葉ならびに卵巣機能に及ぼす影響を追求した。

下垂体前葉機能を知る手段としては前葉の新鮮重量ならびに gonadotropic potency を幼若マウス子宮重量法 (Evans et al⁹.) で測定した値を用い、卵巣機能変動の示標としてはその新鮮重量、ascorbin 酸含量、総 cholesterol 含量ならびに ester-cholesterol 含量を測定した値を用いた。これらの定量操作の方法は全篇を通じて全く同様であり、その記載は便宜上第1篇第2章第3節以下第6節までにおいて一括して述べる。

第2章 実験対象ならびに実験方法

第1節 実験対象

生後60日ないし80日、体重 130gm. ないし 180gm. の Wistar 系雌白鼠を使用した。先づ実験前2週間に亘る膣脂膏を検査し正常な性周期をくり返す48匹を性 steroid 非投与対照群とし、これを静止期、発情前期、発情期ならびに発情後期の4群すなわち1群12匹づつに分け断頭屠殺して実験に供した。

一方膣脂膏が静止期を示す時期にある60匹に estradiol benzoate を衝撃的に投与し投与後12時間、24時間、36時間、48時間、3日、4日、6日、8日、10日ならびに12日の各時期にそれぞれ6匹づつ屠殺し前葉性腺系機能の経時的変動を追求した。

同じく静止期にある雌白鼠24匹に estradiol benzoate を10日間持続的に投与し投与開始後5日、10日、15日ならびに20日目の各時期にそれぞれ6匹づつ断頭屠殺した。さらに別の24匹を前者と同様の方法で progesterone 持続的投与の実験対象とした。

第2節 実験方法

第1項 性 steroid の投与方法…投与する性 steroid は前述したように estradiol benzoate ならびに progesterone とし前者は衝撃的ならびに持続的に投与し、後者は持続的にのみ投与した。すなわち Fig. 1 に示すように第1群では estradiol benzoate の水性懸濁液100γを、Nembutal 麻酔下に切開露出した左股静脈内に注入し直後清潔綿で圧迫止血して切開創を縫合した。第2群ならびに第3群の持続的投与群では estradiol benzoate あるいは progesterone の水性懸濁液をそれぞれ前者は50γを、後者は5mgを1回量として1日1回10日間連日腹腔内に注射した。

第2項 屠殺法、臓器剔出法ならびに臓器秤量法：屠殺は白鼠を床上に自由に這わせながら鋭利な長剪刀で突然その頸部を切断する方法を用いて白鼠に断頭前の stress を加えるのを極力避けた。次いで直ちに頭頂骨を除去、大脳左右両半球をとり去ると露出した脳底骨群の中央トルコ鞍上に米粒大の下垂体をみることが出来る。これの包被とそれを支持固定する4つの細小靱帯を除去し下垂体を遊離させ、中央部上面にある

Fig. 1. Timing of sex-steroid injection and timing of sacrifice of normal adult-rats

homogenizer を 5 cc の acetone で洗滌しこの洗滌液をもさらに遠沈管に加えて 3000 廻転 5 分間遠沈した。上清を捨てて沈渣に 5 cc の ether を加えて攪拌しさらに 3000 廻転 5 分間遠沈して沈渣をえた。この沈渣は ether が気化した後はすばやく乾燥するからこれに前葉 1 個あたり 2.5 cc の割合で生理的食塩水を加えて前葉組織懸濁液を作成しこれを幼若マウス背部に皮下注射した。すなわち前葉 1 個あたりを 1 匹の幼若雌マウスに使用し尽すことにし背部皮下に上記懸濁液を 12 時間毎 1 回 0.5 cc づつ 5 回に亘つて注射し、注射開始後 96 時間目に屠殺してその子宮重量を torsion wage で測定し、その重量 (mg) をもつて gonadotropic potency の指標とした。

なお前葉 gonadotropic potency の測定には幼若雌白鼠の卵巣重量法、同じく卵巣充血反応など数多くの生物学的測定方法が提唱されているが、私は前葉の total gonadotropin 含量を推定する上に最も鋭敏な反応を示す上記の方法を用いた。この方法は Burn & Finney¹¹⁾ によれば FSH そのものの測定法とも考えられているが、Greep¹²⁾, Evans⁹⁾¹³⁾ などが示しているように FSH 単独ではなく LH の協同作用によりマウス卵胞より estrogen の分泌が起り子宮重量の増加をきたすものとも考えられている。また前葉の acetone 処理に関しては Kuppman¹⁴⁾ の詳細な基礎的研究によれば、air-dry 法あるいは凍結乾燥法などの方法に比して gonadotropin の喪失は多いが前葉機能の相対的な変動を知る上にはさしつかえないものと考えられており最も簡便でしかも恒常的な成績を求めうる本法を用いた。

第 4 節 卵巣 ascorbin 酸測定法

Roe & Kuether¹⁵⁾¹⁶⁾ の方法を用いた。すなわち 4 cc の 4% 三塩化醋酸中に沈めた 1 個の卵巣を Potter の homogenizer で粉砕し、さらにこれに 8 cc の 4% 三塩化醋酸を加えてこれに Norit 0.7 gm. を加えて転倒攪拌してから濾過し、その濾液 4 cc 中の dehydro-l-ascorbin 酸を定量した。すなわちこれに thio-urea ethanol 溶液 1 滴を加えてさらに 2.4. dinitrophenyl hydrazine 1 cc を混和攪拌した後 60°C の温浴中に 1 時間静置し、さらにこれを流水中で冷却しながら 85% 硫酸 5 cc をこの上加え 30 分間放置して橙色に発色した被検液について、Beckmann 光電比色計 (日立製) で 520 m μ の吸光度から、あらかじめ求めてある標準曲線を利用して卵巣 1 個あたりの ascorbin 酸含量を算出した。なお blanc としては 1 群 3 個の卵巣からえられた dehydro-l-ascorbin 酸濾液を混和してこの 4 cc に 85% 硫酸添加後に 2.4. dinitrophenyl hydrazine を

後葉部分を注産深く除くと前葉部分がえられる。これを生理的食塩水で軽く洗滌、濾紙で吸湿した後 torsion wage で秤量 (1/10 mg), 直ちに冷 acetone 10 cc 中に沈めて gonadotropic potency の測定に供した。

次いで白鼠腹部を縦に切開し両側卵巣を周囲脂肪組織より遊離剔出し、生理的食塩水で洗滌後濾紙で吸湿して torsion wage で秤量し、各群 6 匹の雌白鼠の卵巣 12 個の内右側 3 個を 4% 三塩化醋酸 4 cc 中に沈め ascorbin 酸定量用とし、別の卵巣 6 個 (左右各 3 個づつ) を Bloor 氏液中に沈めて総 cholesterol ならびに ester-cholesterol の測定に供した。

第 3 節 下垂体前葉 gonadotropic potency 測定法

Evans et al⁹⁾¹⁰⁾ の幼若マウス子宮重量法を用いた。すなわち 6 個ないし 12 個の前葉をまとめて torsion wage で秤量した後 10 cc の冷 acetone 液に沈め Potter の homogenizer で充分乳化攪拌した後 25 cc 遠沈管に移しさらに残渣の附着した homogenizer

加えたものを用いた。1群中 ascorbin 酸含量測定に供した卵巣は3ないし6個であるがそれぞれの卵巣 ascorbin 酸含量を算術平均してこれを1群の測定値とした。

Roe & Kuether の方法は血清中の ascorbin 酸含量の測定を目的として考案されたものであるがその後内分泌臓器中の ascorbin 酸の定量に応用されるにいたつた。臓器 ascorbin 酸の測定法としては Roe 等の方法の他に Mindlin & Butler の Indophenol 法、沃度滴定法などが挙げられるが私は最も一般的で操作の比較的簡単な上記の方法を選んだ。また本法においても incubation の時間と温度に変化を加えた種々の変法が考案されているが小川・岸上¹⁸⁾、Schaffert & Kingsley¹⁹⁾ により比較検討された結果、60°C 1時間 incubate する方法が37°C 3時間 incubation 法に比較して収量に全く差を生じないという点から小川らの方法に拠つた。

第5節 卵巣総 cholesterol 測定法

Bloor²⁰⁾ 氏液 5 cc 中に沈めた1個の卵巣を homogenize してこれを10ccの同液にて洗滌しながら汙過し総 cholesterol の抽出を行なつた。抽出された10ccの cholesterol 含有 Bloor 氏液を温浴中で蒸発乾固しこの際試験管壁に付着した cholesterol を総量 10cc 以内の chloroform で数回洗滌溶解させて、cholesterol 含有 chloroform が充分冷却したとき総量 10cc にした。これに無水醋酸・硫酸混液 2 cc を加えて攪拌し30分間冷暗所に静置後、Beckmann 光電比色計で比色定量した。なお blanc には chloroform 10cc に上記無水醋酸・硫酸混液 2 cc を加えたものを用いた。

第6節 卵巣 ester-cholesterol 測定法

Windaus²¹⁾ により考案された digitonin-alcohol による遊離 cholesterol 沈澱法により ester-cholesterol を分離しこれを Bloor 氏法²⁰⁾²²⁾により定量した。すなわち粉碎した1個の卵巣組織から20ccの Bloor 氏液で総 cholesterol を抽出し、これに1ccの1% digitonin alcohol 溶液を加えて温浴中で蒸発乾固すると管壁に白色結晶状の digitonin-cholesteride 沈澱を生ずる。この試験管を温浴中に浸しながら石油 ether で3回洗滌し汉過すると汉液中に estercholesterol が抽出されるからこれを再び蒸発乾固してその後の操作を前節同様にして Beckmann 光電比色計を用いて定量した。ただし ester-cholesterol の chloroform 溶液は最終的には5ccになるようにした。

総 cholesterol ならびに ester-cholesterol の測定法に関しては多くの方法が案出されているがその中で最も広く応用されつゝ鋭敏な Bloor 氏法・斉藤変法を用いた。

第3章 実験成績

第1節 非投与対照群の成績

成熟雌白鼠に性 steroid を投与するに先立つて下垂体前葉性腺系機能がどのような状態にあるものか、さらに性周期に伴つて該機能がどのような変動を示すかを知るために非投与群の性周期の各時期における前葉重量、gonadotropic potency、卵巣重量、卵巣 ascorbin 酸含量、総 cholesterol ならびに ester-cholesterol 含量を測定し比較検討した。

第1項 下垂体前葉：成熟雌白鼠の下垂体前葉重量は Table 1 ならびに Fig. 2 に示すように性周期の各時期相互の間に有意の差を見出しえなかつたが、それでも発情前期ならびに発情期には静止期におけるよりもやや大であつた。

前葉 gonadotropic potency は発情期に最も低く発情後期に最も高く、発情前期、静止期は大差なく両者の中間値を示した。すなわち少なくとも発情期において重量は大きく gonadotropic potency はそれとは逆に少なくなつており、前葉の gonadotropin は発情期に最も多く放出されると考えてよい所見をえた。

第2項 卵巣：次に性周期の各時期における卵巣の重量ならびに諸種生化学的測定値は Table 2 ならびに Fig. 3 に示す通りである。

すなわち卵巣重量は静止期に少なく発情前期から発情期にかけて増加し、発情後期には減少してほぼ静止期の値に戻つてゐる。ascorbin 酸、総 cholesterol ならびに ester-cholesterol の含量は少なくとも発情期

Table 1. Anterior pituitary of normal adult female rat (The variation of anterior pituitary weight and gonadotropic potency corresponding to estrus cycle)

	No. Rats	Anterior Pituitary Weight (mg.)	Gonadotropic Potency (M.U.W.*)
Diestrus	12	$3.5 \pm 0.2^{**}$	14.2 ± 1.2
Preestrus	12	4.3 ± 0.3	14.3 ± 0.9
Estrus	12	4.2 ± 0.4	12.6 ± 0.6
Metestrus	12	3.9 ± 0.2	16.2 ± 1.0

*M.U.W. shows Mouse Uterine Weight (same in following all Tables and Figures)

**shows Mean $\pm$ standard error (same in following all Tables)

Fig. 2. Anterior pituitary of normal adult female rats (The variation of anterior pituitary weight and gonadotropic potency corresponding to estrus cycle)

Fig. 3. Ovary of normal adult female rat (The variation of ovarian weight and concentration of ascorbic acid, total cholesterol and ester cholesterol corresponding to estrus cycle)

Table 2. Ovary of normal adult female rat (The variation of ovaries weight and of concentration of ascorbic acid, total cholesterol and ester cholesterol corresponding to estrus cycle)

	No. Rats	Weight* (mg.)	Ascorbic acid concentration (r/100mg.)	Total cholesterol concentration (mg./100mg.)	Ester cholesterol concentration (mg/100mg.)
Diestrus	12	38.8 ± 3.5	33.0 ± 2.7	3.10 ± 0.26	0.50 ± 0.03
Pre-estrus	12	49.3 ± 4.9	36.8 ± 2.9	2.89 ± 0.23	0.72 ± 0.05
Estrus	12	50.6 ± 4.3	24.9 ± 2.1	2.55 ± 0.19	0.36 ± 0.02
Metestrus	12	40.9 ± 3.2	42.7 ± 3.6	2.52 ± 0.04	0.40 ± 0.04

*total weight of ovaries in pair (same in following all tables and figures)

において最も少なくなっており、同時期における重量の増加と考えあわせると発情期においては卵巢機能がとくに亢進していることが推想される。

第2節 estradiol benzoate を衝撃的に投与した場合の前葉性腺系の変動

成熟雌白鼠の陰脂膏が静止期を示す時期に estradiol benzoate を衝撃的に投与し、その後12時間から12日にいたる前葉性腺系機能の変動について経時的に追求した結果は Table 3 ならびに Fig. 4 に示すごとくである。

すなわち前葉重量は estradiol benzoate 投与12時間後すでに著明に増加しており、その後24時間目に一旦やや減少するが以後増加し4日目には一層増加している。前葉 gonadotropic potency も投与12時間後に増加し48時間後には peak を作りその後は減少している。

卵巣においても重量は estradiol benzoate 投与後3日目にいたるまで著明に増加しこの時期に peak を作るが、ascorbin 酸、総 cholesterol, ester-cholesterol ともに投与後漸減し、2日目にはいずれも最低値となつている。すなわち estradiol benzoate の衝撃的1回投与で前葉重量、gonadotropic potency は著明に増量し、この際卵巣重量も時期的に相似て増量しており、しかるに卵巣における ascorbin 酸、総 cholesterol, ester-cholesterol は逆に著明に減少したとみてよく、要するに前葉における gonadotropin の産生・放出の両面に顕著な機能亢進をもたらしたもので考えねばならない。

第3節 estradiol benzoate を持続的に投与した場合の前葉性腺系の変動

estradiol benzoate を成熟雌白鼠に10日間連続投与した場合の前葉性腺系機能の変動は Table 4 ならびに Fig. 5 に示すごとくである。

すなわち下垂体前葉重量は投与5日目において増加しその後減少したが投与終了後もなお投与前より高い値を示した。gonadotropic potency は投与開始より漸増、投与終了後もなおその傾向を持続した。一方卵巣重量は投与5日目に増加し投与終了直後には著明に減少し投与前値へほぼ復帰したが、その後再び増加さらにその後再び若干減少という複雑な動きを示している。卵巣 ascorbin 酸は投与5日目に増量、その後減少して投与終了後10日目にはほぼ投与前値に復帰している。卵巣総 cholesterol はこれに反し投与によって漸減し投与終了直後には最低となるが以後大した変動を示さない。卵巣 ester-cholesterol は ascorbin 酸とほぼ相似た変動を示している。

Table 3. Effect of intra-venous single administration of estradiol benzoate on anterior pituitary ovarian axis of normal adult female rats

	No. Rats	Anterior Pituitary		Ovaries			
		Weight (mg.)	Gonadotropic potency (M.U.W.)	Weight (mg.)	Ascorbic acid concentration (γ /100mg.)	Total cholesterol concentration (mg./100mg.)	Ester cholesterol concentration (mg/100mg)
Before Administration	12	3.5 $\pm$ 0.2	14.2 $\pm$ 1.2	38.8 $\pm$ 3.5	33.0 $\pm$ 2.7	3.10 $\pm$ 0.26	0.50 $\pm$ 0.03
12 Hours after Administration	6	4.2 $\pm$ 0.2	17.6 $\pm$ 0.6	48.9 $\pm$ 3.2	29.2 $\pm$ 1.6	2.33 $\pm$ 0.11	0.42 $\pm$ 0.02
24 Hours after Administration	6	3.9 $\pm$ 0.2	19.2 $\pm$ 0.9	45.7 $\pm$ 1.2	29.4 $\pm$ 1.8	2.05 $\pm$ 0.26	0.47 $\pm$ 0.06
2 Days after Administration	6	4.1 $\pm$ 0.3	23.3 $\pm$ 0.8	45.3 $\pm$ 1.1	21.0 $\pm$ 1.3	1.79 $\pm$ 0.18	0.35 $\pm$ 0.04
3 Days after Administration	6	4.2 $\pm$ 0.1	19.3 $\pm$ 0.9	49.6 $\pm$ 1.1	24.3 $\pm$ 1.4	1.95 $\pm$ 0.31	0.66 $\pm$ 0.01
4 Days after Administration	6	4.8 $\pm$ 0.2	18.8 $\pm$ 0.9	44.0 $\pm$ 0.5	26.1 $\pm$ 1.6	2.34 $\pm$ 0.22	0.53 $\pm$ 0.03
6 Days after Administration	6	4.5 $\pm$ 0.3	17.9 $\pm$ 1.2	43.4 $\pm$ 2.9	35.2 $\pm$ 2.2	2.43 $\pm$ 0.21	0.62 $\pm$ 0.03
8 Days after Administration	6	4.0 $\pm$ 0.1	17.1 $\pm$ 0.6	49.9 $\pm$ 4.4	39.4 $\pm$ 2.4	2.92 $\pm$ 0.11	0.54 $\pm$ 0.03
10 Days after Administration	6	4.5 $\pm$ 0.2	17.3 $\pm$ 1.8	50.1 $\pm$ 1.9	35.0 $\pm$ 1.9	3.56 $\pm$ 0.18	0.79 $\pm$ 0.01
12 Days after Administration	6	4.9 $\pm$ 0.2	16.1 $\pm$ 1.8	49.5 $\pm$ 4.2	29.4 $\pm$ 2.1	3.14 $\pm$ 0.22	0.64 $\pm$ 0.02

Fig. 4. Effect of intra-venous single administration of estradiol benzoate on anterior pituitary ovarian axis of normal adult female rats

Fig. 5. Effect of daily repeated administration of estradiol benzoate on anterior pituitary ovarian axis of normal adult female rats

Table 4. Effect of daily repeated administration of estradiol benzoate on anterior pituitary ovarian axis of normal adult female rats

	No. Rats	Anterior Pituitary		Ovaries			
		Weight (mg.)	Gonadotropic potency (M.U.W.)	Weight (mg.)	Ascorbic acid concentration (γ/100mg.)	Total cholesterol concentration (mg/100mg)	Ester-cholesterol concentration (mg/100g)
Before Administration	12	3.5±0.2	14.2±1.2	38.8±3.5	33.0±2.7	3.10±0.26	0.50±0.03
5 Days after Beginning of Administration	6	7.5±0.2	17.2±1.0	45.9±3.8	52.2±2.5	2.55±0.28	1.21±0.03
Immediately after Finishing of Administration	6	4.7±0.1	20.7±2.1	35.4±2.2	43.8±2.2	1.89±0.19	1.03±0.07
5 Days after Finishing of Administration	6	5.3±0.1	23.7±1.2	49.1±1.8	36.7±2.6	2.11±0.11	0.77±0.03
10 Days after Finishing of Administration	6	5.8±0.3	25.6±2.2	45.7±4.1	37.9±2.5	2.31±0.21	0.66±0.04

すなわち持続的投与によつて前葉では重量の増加と gonadotropic potency の漸増が招来されたとみてよく、卵巣では総 cholesterol が漸減するにもかかわらず ascorbin 酸ならびに ester-cholesterol 含量は増量しておりこの変動からはむしろ卵巣機能そのものが抑制されたとみられるのであるが、これが前葉 gonadotropin の放出の減退によると考えてよいものがあるいは投与された estradiol benzoate そのものの卵巣直接作用によるものかはこの場でにわかに断じ難い。

Table 5. Effect of daily repeated administration of progesterone on anterior pituitary ovarian axis of normal adult female rats

	No. Rats	Anterior pituitary		Ovaries			
		Weight (mg.)	Gonadotropic potency (M.U.W.)	Weight (mg.)	Ascorbic acid concentration (γ /100mg.)	Total cholesterol concentration (mg/100mg)	Ester cholesterol concentration (mg/100mg.)
Before Administration	12	3.5 $\pm$ 0.2	14.2 $\pm$ 1.2	38.8 $\pm$ 3.5	33.0 $\pm$ 2.7	3.10 $\pm$ 0.26	0.50 $\pm$ 0.03
5 Days after Beginning of Administration	6	5.8 $\pm$ 0.3	25.6 $\pm$ 2.2	45.7 $\pm$ 4.1	37.9 $\pm$ 2.5	2.31 $\pm$ 0.21	0.66 $\pm$ 0.04
Immediately after Finishing of Administration	6	5.9 $\pm$ 0.3	18.8 $\pm$ 1.5	47.4 $\pm$ 1.5	49.4 $\pm$ 2.1	2.38 $\pm$ 0.19	0.63 $\pm$ 0.02
5 Days after Finishing of Administration	6	4.3 $\pm$ 0.2	16.7 $\pm$ 1.7	45.3 $\pm$ 4.1	47.9 $\pm$ 2.7	1.69 $\pm$ 0.18	0.99 $\pm$ 0.01
10 Days after Finishing of Administration	6	5.4 $\pm$ 0.2	17.4 $\pm$ 0.2	59.3 $\pm$ 1.3	39.7 $\pm$ 1.7	1.50 $\pm$ 0.15	0.58 $\pm$ 0.05

第4節 progesterone を持続的に持与した場合 の前葉性腺系の変動

progesterone を持続的に投与した場合の前葉性腺系の変動は一括して Table 5 ならびに Fig. 6 に示したように estradiol benzoate の持続的投与の場合と大体において軌を一にした消長がみられた。

すなわち前葉重量は投与終了後にいたるまで著増した gonadotropic potency も投与開始5日目に増加、その後漸減したが投与終了後でも投与前に比して高く終了後5日ないし10日に漸く投与前値に近接している。

卵巣重量は投与終了時多少増加し投与終了10日後にいたつてさらに著増しているのが目立つ。また ascorbin 酸ならびに ester-cholesterol は投与終了時に前者では著明な増加、後者では漸増傾向が認められたが投与終了直後から5日目にかけて前者では変らず後者では著増しておりその後投与終了10日目には投与前値にそれぞれ近接する。総 cholesterol は投与によって漸減するとみてよい。

すなわち progesterone の持続的投与によつては前葉重量の増加とともに gonadotropic potency は増し、一方卵巣では ascorbin 酸ならびに ester-cholesterol 含量の消長からはむしろその機能が減退したものと考えたい。また投与終了10日後、ascorbin 酸、総 cholesterol ならびに ester-cholesterol が投与前値に復帰したにもかかわらず重量は増しており、これは卵巣機能の亢進を意味するものと解したい。

Fig. 6. Effect of daily repeated administration of progesterone on anterior pituitary ovarian axis of normal adult female rats

* Prog. designates Progesterone (same in following all figures)

第4章 小括ならびに考按

下垂体前葉重量の性周期に伴う変動については多数の研究報告があるが例えば, Burrow²³⁾, Hohlweg, Noble²⁴⁾ などが報告しているように前葉重量の増減は向性腺機能の盛衰と必ずしも平行するものではない。さらに伊藤²⁵⁾, 木村²⁶⁾, Catchpol²⁷⁾ は前葉組織像の性周期に伴う変化とくに静止期における好塩基性細胞の増加を認めているが重量には有意の変動を認めていない。私の実験においても性周期に伴う前葉重量の変動を認めなかった。

一方 gonadotropic potency は前葉における gonadotropin の産生と放出の相互関係に専ら依存するものであるが, 例えば Smith & Engle²⁸⁾, Schmidt²⁹⁾, Wolfe³⁰⁾ などの行なつた実験によれば発情期の前葉 gonadotropin 量は発情前期のそれよりも遙かに低い。さらに最近, Schwarz et al³¹⁾ は雌白鼠発情期の前葉 LH 含量が他の時期に較べて著しく低いことを卵巣 ascorbin 酸減少法により証明している。私の実験結果でも発情期に gonadotropic potency が減少しているが, これは gonadotropin の放出が産生を凌駕した結果と考えてよいであろう。

前葉向性腺機能の以上のような周期的変動は下位臓器すなわち卵巣に必然的な変動をもたらせる。

Zondek-Aschheim³²⁾ は gonadotropin 作用下に卵巣は充血, 排卵あるいは黄体化が起ることを証明したが卵巣がこのような変化をいとなむ時その重量は増加する。今日卵巣重量の増加をもつて gonadotropin の定量が行なわれていることは周知のことである。私の実験成績でも発情期において卵巣重量は最大となつている。

卵巣機能が亢進すると ascorbin 酸含量が減少するのは副腎の場合と同様であつて³³⁾ とくに前葉 LH の影響下で特異的に減少することは Parlow³⁴⁾ によつて示されている。

雌白鼠の性周期に関連して卵巣 ascorbin 酸の消長を検討した報告も数多いがその詳細については必ずしも意見の一致をみていない。すなわち Coste et al³⁵⁾, Mills³⁶⁾ は発情前期に卵巣 ascorbin 酸の急激な減少があり発情期にはむしろ漸増すると述べているのに対して Everett³⁷⁾, Foreman³⁸⁾ はとにかく発情期あたりに最低値を示すと報告している。私の実験結果は後者の報告に一致して発情後期には速やかに増加している。

卵巣における性 steroid の生合成と ascorbin 酸の関係はなお未解決の分野となつているが, しかし実際にみて卵巣の機能亢進と ascorbin 酸の減少とが密接な関係があことは疑いなくとくに排卵直前に前葉 LH の急激な増加がありこれが排卵の直接誘因としては否定されえないことからみて ascorbin 酸含量のもつ意味は深い³⁹⁾。

cholesterol が各種 steroid hormone の母体であることは自明の事実でありしたがつて卵巣 steroid の分泌と組織 cholesterol 含量の消長が密接な関連性を有していることは当然考えられる。事実黄体機能の亢進により黄体内 cholesterol が減少した下垂体剔除によつて卵巣機能を低下させると卵巣内総 cholesterol ならびに ester-cholesterol が著増することはすでに Laquer et al⁴⁰⁾, Miller⁴¹⁾, 植田⁴²⁾, 森⁴³⁾ などによつて報告されている。雌白鼠の発情期では静止期におけるよりも卵巣 cholesterol 含量が減少していることは手島⁴⁴⁾⁴⁵⁾が報告している。私の実験成績でも総 cholesterol は静止期から発情期さらに発情後期にいたるにつれ漸次減少し, ester-cholesterol は発情前期には増加しているが発情期には著減し卵巣機能と cholesterol 含量の関係をかなり明確に示している。

さて成熟雌白鼠の下垂体前葉性腺系機能に対する estrogen の影響に関しては夥しい報告があるがその中で例えば Lane & Hisaw⁴⁶⁾, Hohlweg & Chamorro⁴⁷⁾, Flank⁴⁸⁾ による動物実験や Kupperman et al⁴⁹⁾ による臨床実験にみられるように estrogen の短期間あるいは衝撃的投与が前葉向性腺機能を賦活するという見解と, Meyer et al⁵⁰⁾⁵¹⁾, Selye, Collip & Thomson⁵²⁾, Noble²⁴⁾, Deansley⁵³⁾, Burrow⁵⁴⁾, Folley & Malpress⁵⁵⁾ などのように estrogen の比較的長期間投与はこれに反して雌白鼠の前葉性腺系機能を抑制するという見解に大別することができる。この中とくに, Kupperman が臨床的には前葉 LH の放出増大を指摘, Folley & Malpress, Noble が雌白鼠において estrogen の投与があたかも前葉除去のごとくこの機能を低下させる

ことを報告していることは注目される。

estrogen の卵巣に対する直接作用については Williams⁵⁶⁾, Pencharz⁵⁷⁾ は卵巣の gonadotropin に対する感受性を増強させると述べ、一方 Pincus et al⁵⁸⁾ はこれに反し estrogen が gonadotropin の卵巣刺激作用を block することを報告している。しかるに Edgren⁵⁹⁾ et al. は諸種 steroid の卵巣機能に対する直接的な影響を認めていない。

gestagen の前葉性腺系機能に対する作用についても Herlant⁶⁰⁾, Burrow⁶¹⁾ らは progesterone の持続的投与は前葉向性腺機能を抑制、とくに Astwood et al⁶²⁾, Falconi et al⁶³⁾ は前葉 LH の分泌を抑制すると述べている。一方 Greep & Jones⁶⁾ は progesterone の前葉に対する feed back action は estradiol のそれに比して非常に弱く大量の progesterone を投与しても前葉向性腺機能に影響を与えることができなかったと報告している。また Holms & Mandl⁶⁴⁾ は progesterone あるいは合成 gestagen が estrogen と同様に前葉重量を増加させるがこれは主として色素嫌性細胞の増加によるものであつて塩基好性細胞はむしろ減少しており LH 分泌は抑制されると報告している。

gestagen の性腺に対する直接作用については文献上明確な解答は容易にえられないが Purshottam et al⁵⁸⁾ によると多くの steroid と同様合成 gestagen では卵巣に対する gonadotropin の排卵誘発作用を block すると述べている。

ここで私の実験成績を検討するとまず第一に estradiol benzoate の衝撃的投与は直後に前葉機能の著明な亢進をもたらす卵巣においても重量の増加、ascorbin 酸、総 cholesterol, ester-cholesterol 含量などの減少など要するにその機能亢進をものがたる結果をえたのであるが本篇ではこのような卵巣機能の亢進が estrogen の卵巣に対する直接作用か前葉を介してのものであるかを決定できない。

第二に estradiol benzoate を持続的に投与した場合、持続的投与によつて途中一旦増量した下垂体前葉重量は投与終了時において減少、しかしそれでも投与前よりやや増量しており、卵巣重量もこれとほぼ相似た消長を示しているが投与終了時ではかえつて投与前よりもやや減少している。これらの所見は前葉 gonadotropic potency が持続的投与によつて漸増、卵巣 ascorbin 酸、卵巣 ester-cholesterol などが結果的には軽度ながら増加、卵巣総 cholesterol はこれに反し減少といったことと総合するとむしろ卵巣機能は低下をきたしたと解すべきであり、gonadotropic potency の漸増自体がこれの因をなしているものとすればそれはおそらくは有効な gonadotropin 放出の低下を意味するものであろう。

第三に progesterone の持続的投与の場合には estradiol benzoate の持続的投与の場合と大体において相似していると解してよい所見をえた。すなわち progesterone の場合でも前葉 gonadotropin の放出が抑制され、その結果卵巣機能の減退が招来されるものと解すれば納得がいく。

以上の如く成熟雌白鼠の下垂体性腺系に対する estradiol benzoate あるいは progesterone の作用効果はおぼろげながら比較的明確な姿においてこれを把えたともしうべきであるが、しかし対象が性周期をもつ成熟雌白鼠であるためにその内因性性 steroid あるいは内因性前葉 gonadotropin そのものの増減による干渉があり、さらには正常な卵巣自体の活動周期そのものもこれに関与しているだろうから外来的に与えた性 steroid それ自体のみによる前葉性腺系機能に及ぼす影響は多分に修飾されており純粋な姿において必ずしも表現されているとは限らない。

そこで私はこれらの点に注意を払い内因性の諸条件を可及的に排除して検討すべく以下第2篇に述べるごとく幼若雌白鼠を用いての諸実験を試みた。

第2篇 幼若雌白鼠についての実験

第1章 序 論

前篇では成熟した雌白鼠の前葉性腺系に及ぼす性 steroid の影響について estradiol benzoate あるいは progesterone を用いて諸実験を行ないおぼろげながら前葉性腺系の態度を掴みえたが、これにはなお上述

のごとく多分に個体そのものの持つ内因性諸因子が関与し、その成績を修飾しているおそれがある。したがって私は比較的条件が安定化されているとおもわれる幼若雌白鼠を用いて実験を行なつた。

一般に雌白鼠の成熟時期に関しては陰開口時期がその示標として用いられており陰開口時期は白鼠の種により季節によりあるいはその飼育環境により異なるものであるが Wistar 系雌白鼠においてはほぼ生後40日ないし50日(平均47日: van der Werff⁶⁵⁾)と考えてさしつかえない。すなわちこの時期にいたるまでの雌白鼠の前葉性腺系は上位中枢間脳を直接的あるうは間接的に介して相互に密接な関係を有しながら結局は前葉 gonadotropin の放出が極度に抑制されていることは明らかであつてそのために卵巣における卵泡の成熟が妨げられていると解されている。この時期における前葉の性腺刺激能や間脳の働きそのものについては小括において述べるように議論の余地は充分にあるが、とにかく Engle⁶⁶⁾ のいう “prepubertal stage” の雌白鼠すなわち生後24日ないし30日目のものを用いて性 steroid の投与実験を行なつた。

第2章 実験対象ならびに実験方法

第1節 実験対象

生後24日ないし30日すなわち離乳直後であつて体重 40gm. ないし 60gm. (平均 48.2gm.) の Wistar 系雌白鼠を使用した。先づこれら14匹を性 steroid 非投与群として性 steroid 投与群の対照とした。一方これら幼若雌白鼠群60匹を第1群とし、これに estradiol benzoate の衝撃的投与を行ないその後12時間から12日目にいたるまでそれぞれ6匹づつ10群に分けて断頭屠殺して前葉性腺系機能の変動を知るための対象とした。

別の60匹を第2群として progesterone を衝撃的に投与して後12時間から12日にいたるまで10回に分けてそれぞれ6匹づつ屠殺した。

第3群としてさらに24匹に estradiol benzoate を10日間連続的に投与して投与開始後5日, 10日, 15日ならびに20日にそれぞれ6匹づつ屠殺した。

第4群として同じく24匹を第3群と同様の形式で progesterone 持続的投与の対象とした。

第2節 実験方法

投与する性 steroid は estradiol benzoate ならびに progesterone の水性懸濁液とし Fig. 7 に模式的に示すように第1群では estradiol benzoate 20 γ , 第2群では progesterone 2mg. をそれぞれ雌白鼠左股静脈内に1回投与し、投与後12時間から24時間, 36時間以後2日より12日にいたるまで経時的に前葉性腺系機能を追求した。第3群では estradiol benzoate 20 γ , 第4群では progesterone 2mg. をそれぞれ1回投与量として1日1回腹腔内に連日10日間投与して投与開始後5日, 10日, 15日ならびに20日目の前葉と卵巣に検討を加えた。

なお性 steroid 非投与群は生後24日目に屠殺し、性 steroid 衝撃的投与群(第1群, 第2群)には生後24日目に性 steroid を投与し、持続的投与群(第3群, 第4群)では生後24日目より投与を開始した。

幼若雌白鼠の断頭屠殺法, 臓器剔出法ならびに重量測定法, gonadotropic potency 測定法, ascorbin 酸定量法, 総 cholesterol ならびに ester-cholesterol 定量法に関しては第1篇で述べたと全く同様の手技

Fig. 7. Timing of sex steroid injection and timing of sacrifice on immature female rats

を用いた。

第3章 実験成績

第1節 非投与対照群の成績

性 steroid 投与前の幼若雌白鼠の前葉性腺系機能の諸測定値は Table 6 ならびに Fig. 8 に成熟雌白鼠静止期のそれと比較して示したごとくである。

第1項 下垂体前葉：幼若雌白鼠の前葉新鮮重量は 1.8 ± 0.1 mg. であつて成熟雌白鼠静止期の 3.5 ± 0.2 mg. に比して約半量であつた。gonadotropic potency は幼若雌白鼠において成熟雌白鼠静止期はいうに及ばずその他の性周期各時期におけるよりも高い値を示した (Table 1 参照)。

Table 6. Anterior pituitary and ovary of immature female rats (in comparison with the normal adult female rats)

Anterior pituitary		No. of Rats	Weight (mg.)	Gonadotropic potency (M.U.W.)
	Immature female rats	14	1.8 ± 0.1	19.8 ± 1.2
	Normal adult female rats (Diestrus)	12	3.5 ± 0.2	14.2 ± 1.2

Ovary		No. of Rats	Weight (mg.)	Ascorbic acid concentration ($\gamma/100$ mg.)	Total cholesterol concentration (mg/100mg.)	Ester cholesterol concentration (mg/100mg.)
	Immature female rats	14	21.5 ± 1.8	32.1 ± 2.8	1.72 ± 0.14	0.42 ± 0.03
	Normal adult female rats (Diestrus)	12	38.8 ± 3.5	33.0 ± 2.7	3.10 ± 0.26	0.50 ± 0.03

Fig. 8. Anterior pituitary and ovary of immature female rats (in comparison with the normal adult female rats)

Table 7. Effect of intra-venous single administration of estradiol benzoate on anteroir pituitary ovarian axis of immature female rats

	No. Rats	Anterior pituitary		Ovaries			
		Weight (mg.)	Gonadotropic potency (M.U.W.)	Weight (mg.)	Ascorbic acid concentration (γ /100mg.)	Total cholesterol concentration (mg/100mg.)	Ester cholesterol concentration (mg/100mg)
Before Administration	14	1.8 $\pm$ 0.1	19.8 $\pm$ 1.2	21.5 $\pm$ 1.8	32.1 $\pm$ 2.8	1.72 $\pm$ 0.14	0.42 $\pm$ 0.03
12. Hours after Administration	6	1.8 $\pm$ 0.1	25.6 $\pm$ 1.0	23.3 $\pm$ 1.5	30.2 $\pm$ 2.0	1.03 $\pm$ 0.11	0.40 $\pm$ 0.02
24. Hours after Administration	6	2.6 $\pm$ 0.2	27.0 $\pm$ 1.3	28.2 $\pm$ 1.7	21.1 $\pm$ 1.8	0.84 $\pm$ 0.12	0.26 $\pm$ 0.02
36 Hours after Administration	6	2.5 $\pm$ 0.1	28.0 $\pm$ 0.7	31.0 $\pm$ 1.5	23.8 $\pm$ 1.5	0.64 $\pm$ 0.10	0.17 $\pm$ 0.02
2 Days after Administration	6	2.5 $\pm$ 0.1	30.8 $\pm$ 1.7	31.2 $\pm$ 1.2	20.5 $\pm$ 1.8	0.86 $\pm$ 0.12	0.34 $\pm$ 0.03
3 Days after Administration	6	2.4 $\pm$ 0.2	24.6 $\pm$ 1.2	25.8 $\pm$ 1.0	25.5 $\pm$ 1.7	0.88 $\pm$ 0.10	0.38 $\pm$ 0.02
4 Days after Administration	6	2.1 $\pm$ 0.1	27.5 $\pm$ 1.5	30.0 $\pm$ 1.2	28.9 $\pm$ 2.7	1.44 $\pm$ 0.08	0.37 $\pm$ 0.02
6 Days after Administration	6	2.3 $\pm$ 0.1	22.8 $\pm$ 1.1	22.1 $\pm$ 0.7	30.0 $\pm$ 2.5	1.14 $\pm$ 0.10	0.50 $\pm$ 0.03
8 Days after Administration	6	1.9 $\pm$ 0.2	21.4 $\pm$ 1.3	15.7 $\pm$ 1.5	33.0 $\pm$ 2.2	1.37 $\pm$ 0.15	0.56 $\pm$ 0.03
10 Days after Administration	6	1.9 $\pm$ 0.1	18.5 $\pm$ 1.7	10.2 $\pm$ 1.2	30.5 $\pm$ 2.1	1.84 $\pm$ 0.15	0.44 $\pm$ 0.02
12 Days after Administration	6	2.0 $\pm$ 0.2	19.5 $\pm$ 1.0	16.2 $\pm$ 1.2	33.2 $\pm$ 2.1	1.80 $\pm$ 0.15	0.40 $\pm$ 0.02

第2項 卵巣：卵巣新鮮重量は21.5 $\pm$ 1.8mgであり成熟雌白鼠静止期の38.8 $\pm$ 3.5mgに比し約半量であった。しかしながら卵巣100mgあたりの ascorbin 酸含量は成熟雌白鼠静止期のそれにほぼ匹敵し、総 cholesterol 含量は成熟雌白鼠静止期の大半近くを示しているにもかかわらず ester-cholesterol 含量では静止期よりやや少ない程度であり発情期のそれよりは多かつた (Table 1 参照)。

第2節 estradiol benzoate を衝撃的に投与した場合の前葉性腺系の変動

幼若雌白鼠に estradiol benzoate を衝撃的に投与したときの前葉性腺系機能の変動は Table 7 ならびに Fig. 9 に示したごとくである。

すなわち前葉重量は投与24時間後すでに peak に達しており, gonadotropic potency は投与12時間後よりすでに著しく増加し2日後には peak に達した。すなわち前葉では重量の増加とあいまって gonadotropic potency の著増がみられ gonadotropin の著明な蓄積を示唆しているようにおもわれる。前葉の以上のような変化と時期的にみて軌を一にしたかのごとく卵巣においても重量は増加し ascorbin

Fig. 9. Effect of intra-venous single administration of estradiol benzoate on anterior pituitary ovarian axis of immature female rats

Table 8. Effect of intra-venous single administration of progesterone on anterior pituitary ovarian axis of immature female rats

	Rats No.	Anterior pituitary		Ovaries			
		Weight (mg.)	Gonadotropic potency (M.U.W.)	Weight (mg.)	Ascorbic acid concentration (γ /100mg.)	Total cholesterol concentration (mg./100mg.)	Ester cholesterol concentration (mg./100mg.)
Bifore Administration	14	1.8 $\pm$ 0.1	19.8 $\pm$ 1.2	21.5 $\pm$ 1.8	32.1 $\pm$ 2.8	1.72 $\pm$ 0.14	0.42 $\pm$ 0.03
12 Hours after Administration	6	2.2 $\pm$ 0.2	25.8 $\pm$ 1.0	)))	34.1 $\pm$ 1.7	1.87 $\pm$ 0.12	0.49 $\pm$ 0.02
24 Hours after Administration	6	1.7 $\pm$ 0.1	27.1 $\pm$ 1.3	27.2 $\pm$ 1.3	29.1 $\pm$ 1.6	1.51 $\pm$ 0.21	0.41 $\pm$ 0.03
36 Hours after Administration	6	2.2 $\pm$ 0.1	27.0 $\pm$ 1.4	24.2 $\pm$ 1.4	24.3 $\pm$ 1.7	1.03 $\pm$ 0.71	0.43 $\pm$ 0.04
2 Days after Administration	6	2.0 $\pm$ 0.2	23.6 $\pm$ 1.7	23.4 $\pm$ 1.7	28.2 $\pm$ 2.8	0.87 $\pm$ 0.13	0.11 $\pm$ 0.02
3 Days after Administration	6	2.0 $\pm$ 0.1	24.0 $\pm$ 1.0	19.0 $\pm$ 1.0	30.5 $\pm$ 3.0	0.91 $\pm$ 0.14	0.22 $\pm$ 0.03
4 Days after Administration	6	1.7 $\pm$ 0.1	18.3 $\pm$ 0.7	17.3 $\pm$ 0.7	31.5 $\pm$ 2.1	1.24 $\pm$ 0.11	0.32 $\pm$ 0.03
6 Days after Administration	6	1.8 $\pm$ 0.1	15.8 $\pm$ 0.8	21.0 $\pm$ 0.8	28.3 $\pm$ 1.9	1.71 $\pm$ 0.20	0.39 $\pm$ 0.02
8 Days after Administration	6	2.0 $\pm$ 0.2	19.3 $\pm$ 1.2	21.7 $\pm$ 1.2	30.3 $\pm$ 1.8	1.85 $\pm$ 0.18	0.68 $\pm$ 0.04
10 Days after Administration	6	2.2 $\pm$ 0.2	17.0 $\pm$ 1.4	25.8 $\pm$ 1.4	33.6 $\pm$ 1.6	1.66 $\pm$ 0.13	0.41 $\pm$ 0.04
12 Days after Administration	6	2.2 $\pm$ 0.2	15.2 $\pm$ 1.2	30.2 $\pm$ 1.2	33.8 $\pm$ 1.5	1.54 $\pm$ 0.14	0.41 $\pm$ 0.02

酸ならびに総 cholesterol は著減, ester-cholesterol も減少した。

前葉, 卵巣における以上のような著明な変化は前者では投与後8日, 後者では投与後4日ないし6日にいたつてはほぼ投与前値に回復している。すなわち estradiol benzoate を衝撃的に投与すると前葉と卵巣はともに一時的に機能が著明に亢進ししかもその影響はすでに投与後少なくとも2日あるいはそれ以内に強く現われていることは注目されねばならない。

第3節 progesterone を衝撃的に投与した場合の前葉性腺系の変動

progesterone 2mg. を衝撃的に1回投与した場合の前葉性腺系の変動は Table 8 ならびに Fig. 10 第10図に示すごとくであつた。

前葉重量は投与後あまり一定した変動傾向を認めることはできない。これに対して gonadotropic potency は投与後著明に増加し24時間後には peak に達し, 4日後にはほぼ投与前値に復す。

一方卵巣は投与12時間後に著明に増大し, ascorbin 酸含量は投与36時間後に有意の減少を示し, 総 cholesterol ならびに ester-cholesterol 含量も投与

Fig. 10. Effect of intra-venous single administration of progesterone on anterior pituitary ovarian axis of immature female rats

48時間後には減少の極に達している。

すなわち前葉 gonadotropic potency はごく早期に著明に増加し卵巣重量もこれに応じて増加し卵巣 ascorbin 酸、総 cholesterol ならびに ester-cholesterol は時期的にやや遅れて減少している、よつて estradiol benzoate の衝撃的投与の場合とはほぼ軌を一にした変動を示していることは明らかである。

第4節 estradiol benzoate を持続的に投与した場合の前葉性腺系の変動

Table 9. Effect of daily repeated administration of estradiol benzoate on anterior pituitary ovarian axis of immature female rats

	No. Rats	Anterior pituitary		Ovaries			
		Weight (mg.)	Gonadotropic potency (M.U.W.)	Weight (mg.)	Ascorbic acid concentration (γ /100mg.)	Total cholesterol concentration (mg./100mg.)	Ester cholesterol concentration (mg./100mg.)
Pefore Administration	14	1.8 $\pm$ 0.1	19.8 $\pm$ 1.2	21.5 $\pm$ 1.8	32.1 $\pm$ 2.8	1.72 $\pm$ 0.14	0.42 $\pm$ 0.03
5 Days after Beginning of Administration	6	2.8 $\pm$ 0.2	14.4 $\pm$ 1.0	20.0 $\pm$ 1.2	57.6 $\pm$ 3.8	3.01 $\pm$ 0.22	0.89 $\pm$ 0.03
Immediately after Finishing of Adminiftration	6	3.2 $\pm$ 0.2	13.6 $\pm$ 0.8	17.0 $\pm$ 1.3	71.2 $\pm$ 1.3	3.38 $\pm$ 0.30	0.88 $\pm$ 0.03
5 Days after Finishing of Administration	6	2.6 $\pm$ 0.2	11.2 $\pm$ 1.4	13.7 $\pm$ 1.0	66.7 $\pm$ 2.8	4.17 $\pm$ 0.24	0.78 $\pm$ 0.02
10 Days after Finishing of Administration	6	2.1 $\pm$ 0.1	11.2 $\pm$ 1.0	19.9 $\pm$ 1.9	56.7 $\pm$ 2.2	1.81 $\pm$ 0.19	0.11 $\pm$ 0.04

estradiol benzoate 20 γ を10日間連続投与した場合の前葉性腺系機能の変動は Table 9 ならびに Fig. 11に示したごとくである。

前葉重量は投与開始後漸次増加し投与終了時には著明に増量して投与前の約2倍になっているがその後は減少し終了10日後にはほぼ旧値に復している。前葉 gonadotropic potency は投与開始後漸次減少し始め投与終了10日後には投与前の大半近くに達している。

一方卵巣においては重量は投与中から投与終了5日後にいたるまでは減少しておりその間において ascorbin 酸ならびに総 cholesterol は増加しており、ester-cholesterol も投与開始後5日目にはすでに著増しておりその後は漸次減少し投与終了10日後においてほぼ投与前値に復している。

すなわち estradiol benzoate を連続的に投与すると前葉 gonadotropin 量は減少し卵巣機能も抑制されることがわかる。

第5節 progesterone を持続的に投与した場合の前葉性腺系の変動

Fig. 11. Effect of daily repeated administration of estradiol benzoate on anterior pituitary ovarian axis of immature female rats

Table 10. Effect of daily repeated administration of progesterone on anterior pituitary ovarian axis of immature female rats

	No. Rats	Anterior pituitary		Ovaries			
		Weight (mg.)	Gonadotropic potency (M.U.W.)	Weight (mg.)	Ascorbic acid concentration (γ /100mg.)	Total cholesterol concentration (mg./100mg.)	Ester cholesterol concentration (mg./100mg.)
Before Administration	14	1.8 $\pm$ 0.1	19.8 $\pm$ 1.2	21.5 $\pm$ 1.8	32.1 $\pm$ 2.8	1.72 $\pm$ 0.14	0.42 $\pm$ 0.03
5 Days after Beginning of Administration	6	2.0 $\pm$ 0.2	15.8 $\pm$ 0.9	14.0 $\pm$ 2.2	50.0 $\pm$ 2.2	2.20 $\pm$ 0.18	0.88 $\pm$ 0.08
Immediately after Finishing of Administration	6	2.1 $\pm$ 0.2	16.2 $\pm$ 1.4	17.3 $\pm$ 1.3	52.0 $\pm$ 3.5	4.08 $\pm$ 0.20	1.43 $\pm$ 0.08
5 Days after Finishing of Administration	6	2.2 $\pm$ 0.2	16.4 $\pm$ 1.0	18.6 $\pm$ 1.5	42.0 $\pm$ 1.5	3.24 $\pm$ 0.22	0.65 $\pm$ 0.05
10 Days after Finishing of Administration	6	2.1 $\pm$ 0.1	20.7 $\pm$ 1.2	20.2 $\pm$ 1.2	40.8 $\pm$ 3.0	1.14 $\pm$ 0.13	0.32 $\pm$ 0.02

progesterone 2mg. を10日間持続的に投与した場合の前葉性腺系機能の変動は Table 10 ならびに Fig. 12 に示すごとくである。

前葉重量は投与中投与後を通じて有意の変動を認めず多少とも漸増傾向のみられるのは幼若雌白鼠の成長に伴う重量増加と考えてよいとおもう。gonadotropic potency は投与開始5日後から終了5日後まで減少、以後増加して投与終了10日後にはほぼ投与前値に復帰している。

一方卵巢では重量は投与開始5日後に著減しその後投与終了後には漸次増加しており、投与終了10日後にはほぼ旧値に復帰している。ascorbic acid 含量、総 cholesterol ならびに ester-cholesterol 含量はともに投与開始後より増加しいずれも投与終了時には peak に達し終了10日後にはほぼ旧値に復帰している。すなわち progesterone の持続的投与の場合も estradiol benzoate 持続的投与の場合と同様に gonadotropin の産生は抑えられ同時に卵巢機能の減退が招来されるが、estradiol benzoate の持続的投与時に比較して前葉重量の増加が認められないことと投与終了後卵巢機能の回復がやや速やかである点が注目される。

Fig. 12. Effect of daily repeated administration of progesterone on anterior pituitary ovarian axis of immature female rats

第4章 小括ならびに考按

性周期の発来していない幼若雌白鼠の間脳下垂体性腺系がどのような機能的連関を有しているかについては議論の余地がある。例えば Hellbaum⁶⁷⁾, Smith & Engle⁶⁸⁾ は胎生期あるいは出生直後の前葉がすでに多少

とも gonadotropic potency を有していることを証明し, Clark⁶⁹⁾ は幼若マウスに種々の日令の雌白鼠前葉移植実験を行なつて前葉 gonadotropic potency が生後13日から20日に最大値に達しその後漸減することを明らかにし, McQueen-Williams⁷⁰⁾⁷¹⁾, Lauson et al⁷²⁾. も同様の実験結果を報告している.

幼若雌白鼠の卵巣についても Eckstein⁷³⁾ は卵巣の gonadotropin に対する感受性は生後30日に最大になるとし, Arai⁷⁴⁾ は組織学的に生後26日ないし30日の雌白鼠卵巣が生涯を通じて最多数の卵胞を有することを報告している.

一方 Presl et al⁷⁵⁾. は幼若雌白鼠の性腺切除実験により生後まもなく卵巣からは性 steroid が分泌され間脳を介して前葉 gonadotropin の分泌が抑制されている. すなわち間脳下垂体性腺系機能環は出生直後にすでに完成されていることを示唆し, さらに Harris & Jacobsohn⁷⁶⁾, Horowitz⁷⁷⁾, Donovan & van der Werff ten Bosch⁷⁸⁾ などの間脳破壊実験の結果から竹胸⁷⁹⁾⁸⁰⁾ が指摘しているように出生直後の動物でも性腺からは少量の性 steroid が分泌され, 幼若動物の間脳はこの性 steroid の feed back に非常に敏感に反応して前葉 gonadotropin の分泌を抑制し, ために早熟が防止されていると考えてもよいであろう.

性 steroid 非投与群における私の実験成績でも前葉 gonadotropic potency は成熟雌白鼠のそれよりも多く Clark その他の報告とよく一致している. 卵巣においては ascorbin 酸ならびに ester-cholesterol 含量は成熟雌白鼠静止期の値に比してやや少なく総 cholesterol 含量にいたつては, 著明に少なくそのほぼ半分に達しているに過ぎず生化学的所見からみると, 排卵とそれに伴う性周期こそ認められないがこれに比してむしろ旺盛な機能像の存することは否定されえないものと考えられる.

以上のような内分泌環境にある幼若雌白鼠に estradiol benzoate あるいは progesterone を衝撃的に投与するとその前葉性腺機能はどのような影響を蒙るであろうか. これに関する報告は過去において見当らない.

estradiol benzoate を衝撃的に投与した私の実験成績では前葉 gonadotropic potency は増加し同時に卵巣の機能亢進があると解してよい所見が認められたのであるが卵巣の機能亢進が gonadotropin によるものとすれば gonadotropin そのものが通常の放出を上まわつて大量に生産された結果と考えねばならない.

progesterone を衝撃的に投与した場合もほぼ相似た所見がえられたと考えられるのであつてこの点では性 steroid が前葉性腺系の機能促進作用を有しているものと一括してよい. しかしながら progesterone は上述のごとく前葉重量をさして増加させる作用のなかつた点は指摘するに値するとおもわれる.

幼若雌白鼠の前葉性腺系に対する estradiol benzoate 持続的投与の影響については Hohlweg, Leonord et al⁸¹⁾, Golding et al⁸²⁾. などの報告にみられるように投与期間中卵巣の發育は中止し投与中止により正常の状態に回復する. しかもこの發育阻止作用はすべて前葉 gonadotropin の産生を抑制した結果と解されている.

gestagen の前葉性腺系に対する作用もほぼ同様であつて前葉 gonadotropin の分泌が抑制される結果二次的に性腺の萎縮を招来すると Burrow⁸³⁾ は報告している.

estradiol benzoate あるいは progesterone を持続的に投与した場合の実験成績は前述した通りであつて両者いずれも前葉 gonadotropin 量を多少とも減少させ同時にすでに投与前から成熟雌白鼠静止期に少なくとも匹敵していると考えられている卵巣機能を抑制し, 重量もこの際減少しているので多分に卵巣が萎縮せしめられたと推想される. これら卵巣における変化が先人に倣つて前葉 gonadotropin の分泌抑制の結果と解すれば上述の gonadotropic potency の低下はもともと幼若時その potency の高いことからみて産生と放出がともに抑制されとくに産生が強く抑えられたことを意味すると考えるべきである.

結 語

正常成熟雌白鼠ならびに幼若雌白鼠を実験対象とした以上の性 steroid 投与実験の成績から, 前葉向性腺機能に及ぼす性 steroid の影響を以下に述べるような方向で把握することが出来た.

すなわちまず, 前葉も性腺も未だ機能的に覚醒していない状態の幼若雌白鼠においても, 換言すれば内因性の gonadotropin あるいは性 steroid により修飾をある程度除外しえた状態でも, 同一方法で投与された

同一の性 steroid の前葉性腺系に与える影響は性周期が整然と営なまれている正常成熟雌白鼠におけるとほぼ軌を一にしたものであることが明らかにされたというべきである。

つぎに estradiol benzoate と progesterone の二種の対照的な生物学的作用を有するとされている性 steroid は、その投与方法が同一であれば前葉向性腺機能に対して質的差異を認め得ない、同一方向の影響を及ぼすものであることが明らかにされた。

さらに同一の性 steroid 例えば estradiol benzoate は、その投与方法が衝撃的単一投与であれば前葉向性腺機能を賦活し、連続的に長期に亘つて投与されればそれを抑制するという全く反対の作用態度を示すものであることが示されたのである。

以上の事実に関しては第2報の終りにさらに詳細に検討し考按を試みる予定であるが、ここでもう一度考慮しなければならないのは幼若雌白鼠においても、その卵巢の生化学的所見からも明らかなように、なお完全に内因性性 steroid による影響が除外されていないことである。そこで著者は実験の第3段階として内因性性 steroid を完全に排除した、すなわち間脳下垂体前葉が性 steroid の feed back action から完全に解放された性腺除去雌白鼠についての実験を試み、第2報にその成績を報告したい。

なお主要参考文献は第2報巻末に併せて列挙する。

本論文の要旨は第10回日本内分泌学会西日本地方会、昭和38年度文部省卵巢総会研究班会議ならびに第37回日本内分泌学会総会において発表した。

第1報の稿を終るにあたり終始御懇篤なる御指導を賜わった恩師西村敏雄教授に心から感謝の意を表するとともに御助力を頂いた東条伸平助教授に深謝する。