FSH が排卵誘起作用を有する可能性について

今道友則*・江藤 禎一

(東京大学農学部家畜生理学教室)

雌性動物では、FSH は卵胞の発育を促進し、ICSH は卵胞ホルモン分泌・排卵・黄体形成の諸作用を有しているものと今日では一般に信じられている。ところで、FSH の分離抽出ならびにその生物学的性状の研究に関する歴史を振り返ってみると、FEVOLD ら (1931)¹⁾が、はじめて Gonadostimulating hormone と名付けて卵巣重量増加作用の強いホルモンを得て、このものが卵胞刺激作用のあることを明らかにした (後に FSH と改称された)。また、彼等は同時に LH を分離し、LH は、予め FSH によつて刺激された卵巣に対してのみ、その発育を促進し排卵を起こさす作用があることを実証した。その後、FSH および LH の抽出には多くの研究がなされ、1940 年に至り、SHEDLOVSKY ら²⁾ および LI³⁾ らは、LH 作用のみを有する下垂体 Gonadotrophin として、純粋な ICSH を単離することに成功した。この様な関係から、もう一つの下垂体 Gonadotrophin である FSH は、いわゆる FSH 作用のみを有し、LH 作用を有しない物質として存在しているという想定のもとに、その分離抽出ならびに生物学的作用の検討が続けられて来た。1949 年に至り、LI ら⁴⁾は羊の下垂体より、物理化学的に純粋と称する FSH を単離したが、下垂体別出幼若雌鼠に大量投与すると、黄体化が見られている⁵⁾。その後も、VAN DYKE ら (1950)⁶⁾、STEELMAN ら (1953, 1955, 1956)⁷⁻⁹⁾、MC SHAN ら (1954)¹⁰⁾、MC SHAN & MEYER (1955)¹¹⁾、LEONORA ら (1956)¹²⁾により豚あるいは羊の下垂体より高度に純化された FSH や、生物学的活性の高い FSH の分離に成功しているが、いずれも大量投与では、いわゆる LH 作用が認められるので、ICSH が混在していると考えられて FSH の単離は、きわめて困難な仕事とされている。

ごく最近、WOODS & SIMPSON¹³⁾は、硫酸分劃法とイオン交換樹脂法を併用して精製し、強力な FSH 標品 (Armour Standard FSH 264-151 X の 65 倍の力価) を

作り、その生物学的性状を、下垂体別出鼠を用いて調べたところ、卵胞発育作用を基準にした最少有効量 (MED) は 1.77 であったが、卵巣間質組織回復、前立腺腹葉重量増加、子宮の estrous distension、卵胞壁の黄体細胞化等のいわゆる ICSH (LH) 作用が、それぞれ MED の一定の倍数投与によつて現われるために、彼等は当惑している。また、STEELMAN & SEGALOFF (1959) は、前立腺重量増加作用がないと見做し得る Swine FSH を作つたが、子宮重量増加作用を除くことが出来なかつた¹⁴⁾。

著者らは、1954 年以来、各種 Gonadotrophins の生物学的性状の差異を明らかにすべく、広範な研究を行つて来た。その間、各種 Gonadotrophins に共通な生物学的単位として前立腺単位 (Pr. U.)¹⁵⁾およびラット排卵単位 (R. Ov. U.)¹⁶⁾の 2 つを考案し、凡ての Gonadotrophins の作用を合理的基盤に立つて比較することを可能にした。

かくして、種々な見地より検索を進めている内に、FSH も ICSH 様作用を持つていると考えられる幾つかの事例に遭遇し、その一部についてはすでに述べた^{17, 18)}。

本実験は、従来一般には予想されていなかった FSH の排卵誘起作用をしらべたものであり、前報の ICSH の場合¹⁶⁾と比較して検討したものである。実験は 1956 年に行い、その概要は内分泌学会東部々会 1957 年 6 月例会において発表した¹⁹⁾。

実験材料および方法

自家繁殖した Wistar rat の成熟雌を用いた。排卵誘起実験の方法は前報¹⁶⁾と同様であるが、注射は腔垢像が V 期²⁰⁾を示す日の午後 4~7 時に行い、解剖は注射 20 時間後に統一して行つた。

供試 FSH は、Armour Laboratories の S. L. Steelman 博士 (現所属: Merk Institute) より提供された Swine FSH Lot #K 45308 R で既報^{21, 17, 18)}と同一物である。この FSH は、下垂体別出幼若雄ラットの前立腺腹葉重量

現所属: 日本獣医畜産大学生理学教室

* Present address: Dept. Physiol., Nippon Veter. & Zootech, Coll., Musashino, Tokyo.

Ovulation induced by the single subcutaneous injection of follicle stimulating hormone. IMAMICHI, T*. & T. ETŌ (Lab. Veter. Physiol., Fac. Agric., Univer. of Tokyo, Tokyo), *Jap. J. Animal Reprod.*, 7 (4).

増加作用を ICSH の作用とみれば、ICSH を 2~3% 混有するといわれている²²⁾。

実験成績

FSH による誘起排卵実験成績は Table.1 に示した。50r (0.025~0.0375 Pr. U.) 投与では排卵率 40% で平均排卵数は 2.8 コ、100r (0.05~0.075 Pr. U.) で排卵率 80%、平均排卵数 5.6 コであり、200r (0.1~0.15 Pr. U.) 投与ではは全例排卵し平均排卵数は 8.5 コであった。以上の成績より算出して、1R. Ov. U. (排卵率 50% を得るに要するホルモンの量)¹⁶⁾ は 60r であった。

Table.1 Induced Ovulation by Single Subcutaneous Injection of Swine FSH (lot # K 45308R) in Adult Rats

dose of FSH	r	50	100	200
	Pr. U.	0.025~0.0375	0.05~0.075	0.1~0.15
rate of Ovulation		4/10	8/10	6/6
per cent of Ovulation		40	80	100
average Nos. of tubal Ova		2.8	5.6	8.5

1 R. Ov. U. = 0.03~0.045 Pr. U. = 60r

考察および結論

既述のごとく、供試 FSH は、下垂体別出幼若雄ラットの前立腺腹葉重量増加法によれば、ICSH を 2~3% 含有するという。これは、前立腺腹葉重量増加作用は ICSH のみの作用によると仮定する慣習に従ったものである。しかして、既報¹⁵⁾のごとく、Sheep ICSH (electrophoretic analysis で 85% pure) の 1Pr. U. は約

40r であったから、供試 Swine FSH の 1Pr. U. を算出すれば

$$40 \div (0.02 \sim 0.03) \div 2,000 \sim 1,333r$$

となる。

したがって、1R. Ov. U. である 60r は 0.03~0.045 Pr. U. に相当することになる。また、FSH 60r 中に混有する ICSH 量は

$$60 \times (0.02 \sim 0.03) = 1.2 \sim 1.8r$$

となる。

しかるに、ICSH 単独投与では 1R. Ov. U. は 7.5r であった¹⁶⁾。それ故に、前述の FSH 投与の場合では、ICSH 単用よりも少量の混有 ICSH で排卵が起きたことになり、排卵は ICSH によつて誘起されるという従来の考え方に矛盾する。そこで、念のために、60r の FSH 中に 7.5r の ICSH を混有している場合を仮定して前立腺重量を増加させることの出来るホルモンの量として、供試 FSH 200r、400r を既報の ICSH 投与方法¹⁵⁾に準拠して、下垂体別出幼若雄ラットに投与して見た。その成績は Table.2 に示したごとくであり、FSH の 400r 投与でも前立腺腹葉重量は全く増加しなかつた。しかるに全く同一の 6.7R. Ov. U. に相当する 50r の ICSH 投与では、前立腺腹葉重量は対照群の倍量以上に増加している。したがって、供試 FSH で前立腺重量を倍増させるには、既述のごとく 1,333~2,000r を要するということを認めることができる。

排卵は ICSH によつて誘起されると考えるとき、FSH 標品中の含有 ICSH 量を下垂体別出ラットの 前立腺重量増加反応よりみた場合と排卵誘起作用よりみた場合とで甚だしく異なることは不可解である。また、下垂体別

Table.2 Comparison of the Effects of Same Dose (expressed by R. Ov. U.) of FSH and ICSH on the Immature Male Rats.

Total Dose of Hormone				No. of Anim.	Body Length		Tail Length		Body Weight		Testes
FSH (r)	ICSH (r)	Pr. U.	R. Ov. U.		Op.	Aut.	Op.	Aut.	Op.	Aut.	
200	—	0.1~0.15	3.3	4	cm 10.50	cm 11.40	cm 7.00	cm 7.35	g 34.5	g 36.7	mg 128.0 ±21.3
400	—	0.2~0.3	6.7	2	10.25	10.65	6.40	6.70	31.3	34.0	144.5
—	25	0.625	3.3	5	10.00	10.34	6.40	7.12	29.6	29.4	120.2 ±13.9
—	50	1.25	6.7	6	10.68	11.01	6.30	7.23	35.5	37.1	141.0 ±26.8
Controls		—	—	12	10.30	11.03	6.46	7.03	33.4	37.0	94.0 ±8.4

Fig.1 Response Curves induced Ovulation by FSH, ICSH and HCG in Normal adult female Rats

出幼若雌ラットに ICSH を投与した場合には 5~10 r で間質が回復するが、供試 FSH の 400 r 投与でも間質は回復しないこと¹⁸⁾を思えば、供試 FSH の 1R.Ov.U. に相当する 60 r 中に含まれる ICSH 量は 7.5 r に達するとは考えられない。さらに、供試 FSH 200 r に ICSH を 1,000 r 併用しても黄体化が認められない¹⁷⁾に対して、FSH の 500 r 単用では黄体化が認められたこと¹⁸⁾を考慮するならば、FSH は本来黄体化作用や排卵誘起作用があるとみて差支えなく、本成績にみられた排卵誘起作用は、FSH 自体の具有する性質によるものであり、混有する ICSH の作用が主体をなすものではないと云うことが出来る。

なお、本実験結果を裏付ける成績はその後も得られており²³⁾、また SANTOLUCITO *et al.* (1960)²⁴⁾も FSH が排卵に際して主役を演ずる可能性を述べている。

Fig.1 には、FSH の排卵誘起力を他の Gonadotrop-Reproductive Tract of Hypophysectomized

hins と分り易く比較するために、前報¹⁶⁾の ICSH, HCG の成績と共に、それぞれの排卵反応曲線を画いた。横軸には前立腺単位の対数を取り、縦軸に排卵率を示した。FSH の 1Pr.U. は 1,333 r ~2,000 r となつてゐるが、本図では 1,333 r として図示した。前述のごとく、もしも排卵が ICSH の作用のみによるとすれば、FSH の反応曲線は ICSH に重なる筈であるが、FSH は ICSH よりも、さらに少量の Pr.U. で排卵を誘起している。また、FSH と ICSH のごとく下垂体性の Gonadotrophins は前立腺重量増加作用より排卵作用が強いのに對して、胎盤に由来する HCG は、前立腺重量増加作用よりも排卵作用が相当に弱く、その 1R.Ov.U. は Pr.U. で表わすとき、10¹ の次元であり、ICSH が 10⁻¹、FSH が 10⁻² の次元の Pr.U. であるのと対照的である。

文 献

- 1) FEVOLD, H.L., F.L.HISAW & S.L.LEONARD: *Amer. J. Physiol.* **97**, 291, 1931.
- 2) SHEDLOVSKY, T., A.ROTHEN, R.O.GREEP, H.B.VAN DYKE & B.F.CHOW: *Science* **92**, 178, 1940.
- 3) LI, C.H., M.E.SIMPSON & H.M.EVANS: *ibid.* **92**, 355, 1940.
- 4) LI, C.H., M.E.SIMPSON & H.M.EVANS: *ibid.* **109**, 445, 1949.
- 5) SIMPSON, M.E., C.H.LI & H.M.EVANS: *Endocrinol.* **48**, 370, 1951.
- 6) VAN DYKE, H.B., S.Y.P'AN & T.SHEDLOVSKY: *Endocrinol.* **46**, 563, 1950.
- 7) STEELMAN, S.L., W.A.LAMONT, W.A.DITTMAN & E.J.HAWRYLEWICZ: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* **82**, 645, 1953.
- 8) STEELMAN, S.L., W.A.LAMONT & B.J.BALTES: *Endocrinol.* **56**, 216, 1955.
- 9) STEELMAN, S.L., T.L.KELLY, A.SEGALOFF & G.F.WEBER: *Endocrinol.* **59**, 256, 1956.
- 10) MCSHAN, W.H., C.M.KAGAWA & R.K.MEYER: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* **85**, 393, 1954.
- 11) MCSHAN, W.H. & R.K.MEYER: *ibid.* **88**, 278, 1955.
- 12) LEONORA, J., W.H.MCSHAN &

Organ Weights				
Epididymides	Sem. Vesicles	Vent. Prostate	Adrenals	Thymus
mg	mg	mg	mg	mg
22.88 ±2.01	5.75 ±4.97	5.08 ±0.29	5.60 ±1.30	117.3 ±18.3
22.35	6.50	5.25	7.80	72.0
19.06 ±2.48	6.24 ±0.60	7.22 ±1.24	4.98 ±0.43	85.8 ±28.5
23.57 ±2.39	6.72 ±0.40	10.05 ±1.45	6.02 ±0.80	98.5 ±31.4
19.49 ±2.43	5.62 ±0.63	4.55 ±0.85	5.80 ±1.51	107.7 ±29.6

- R.K. MEYER : *ibid.* 92, 524, 1956. 13) WOODS, M. C. & M.E. SIMPSON : *Endocrinol.* 66, 575, 1960. 14) STEELMAN, S.L. & A. SEGALOFF : *Rec. Prog. Hormone Res* 15, 115, 1959. 15) 今道(友)・江藤(禎) : 本誌 6, 127, 1961. 16) 今道(友)・江藤(禎) : 本誌投稿中. 17) 今道(友)・江藤(禎) : 本誌, 5, 147, 1960. 18) 今道(友)・信永(利)・佐竹(祥) : 日本獣畜大紀要 8, 56, 1959. 19) 今道(友)・江藤(禎) : 日本内分泌学会東部々会誌 1, 22, 1957 (講演). 20) 江藤(禎)・豊田(裕)・星(冬) : 本誌 3, 113, 1958. 21) 今道(友)・江藤(禎) : 本誌 5, 113, 1959. 22) STEELMAN, S.L. : Personal Communication, 1954. 23) 今道(友)・三浦(豊) : 第 51 回日本獣医学会講演, 1961. 24) SANTOLUCITO, J.A., M.T. CLEGG & H.H. COLE : *Endocrinol* 66, 273, 1960.

Summary

It has been believed that FSH stimulates the follicular growth and does not induce ovulation. However, there were some reports suggesting the possibility that FSH might have the luteinizing and ovulation promoting properties^{13,17,18,19,24}.

In the present study, the ovulation inducing activity of swine FSH was investigated. Regular 4 day cyclic rats were used. Purified swine FSH was injected subcutaneously at the afternoon on the day of vaginal diestrus. Animals autopsied 20 hours after the injection and the tubal ova were inspected.

At the dose of 50 γ and 100 γ of FSH, 4 out of 10 and 8 out of 10 animals ovulated. From these results, 1 rat ovulating unit¹⁶ of this preparation of FSH was calculated as 60 γ .

Generally, the amount of contaminating ICSH in the preparation of FSH is estimated by the ventral prostate assay of hypophysectomized immature male rats. In this preparation of FSH, the amount of contaminating ICSH is estimated as 2-3 % by the prostate assay²². As the amount of 1 Pr. U. of sheep ICSH was 40 γ ¹⁵, 1,300 to 2,000 γ of the FSH preparation is equivalent to 1 Pr. U. The amount of 1 R. Ov. U. of the ICSH preparation was 7.5 γ which was equivalent to 0.19 Pr. U. If the ovulation was induced by the contaminating ICSH in the FSH preparation, the necessary amount of this preparation to induce ovulation in 50% of animals may be calculated as 250 to 375 γ . However, the practical amount of 1 R. Ov. U. of the FSH preparation was 60 γ which was equivalent to 0.03 to 0.0045 Pr. U. and its ICSH contamination is calculated as 1.2 to 1.8 γ by the ventral prostate stimulation.

By this result, ovulation inducing activity of the FSH preparation is 4 to 6 times potent that of the ICSH preparation. The ovarian interstitial cell stimulating effect of 400 γ of the FSH preparation was weaker than that of 5 to 10 γ of ICSH. Accordingly, ICSH contamination in 60 γ of the FSH preparation may not exceed 2 γ . Although 200 γ of the FSH preparation stimulated effectively the follicular growth in hypophysectomized immature female rats^{18,21}, no follicle was luteinized by combined treatment of 200 γ of FSH and 5 to 1,000 γ of ICSH¹⁷. On the other hand, partial luteinization was observed clearly in hypophysectomized immature animals received 500 γ of FSH alone. From these results, it may be reasonable to assume that the luteinizing and ovulation inducing activities may be intrinsic as biological properties of pituitary FSH.

Acknowledgment

The authors wish to thank Prof. Herbert M. Evans of the University of California for his kind introduction to the Armour Laboratories and Dr. Sanford L. Steelman of the Armour Laboratories (present address : the Merk Institute) for his generous supply of swine FSH.