牝牛尿中ホルモン排泄に關する研究. II.

所謂腦下垂體前葉ホルモン

(フロラン)に就て

大 川 徳 太 郎

(東京高等獸醫學校)

STUDIES ON THE ELIMINATION OF HORMONES FROM THE URIN OF COWS. II. THE ANTERIOR PITUITARY-LIKE SEX HORMONE.

T. OKAWA.

(From the Tokyo Veterinary College, Tokyo)

目 次

I. 緒 言	出濃縮法
II. 實驗材料並に實驗方法	D. 所謂腦下垂體前葉ホルモン存 否決定法
1. 實驗材料	III. 實驗成績
2. 實驗方法	IV. 考 按
A. 採尿方法	V. 結 論
B. 卵胞ホルモンの除去に就て	
C. 所謂腦下垂體前葉ホルモン抽	

1. 緒 言

1928年 Aschheim u. Zondek により妊婦尿中に所謂腦下垂體前葉ホルモンなる物質證明され、而も妊娠初期より極めて多量の排泄を見るものなるを以て早期妊娠診斷法として該ホルモンの檢出により 97%の的中率を有すとの報告以來、此の

方面の業績相踵いで發表せられ妊婦に於ける生物學的妊娠診斷法としての價値は各人等しく之を是認し盛に應用さるに至れり。而して Aschheim u. Zondek は該ホルモンが幼若マウスの卵巢に及ぼす反應を腦下垂體前葉反應 Hypophysen-Vorderlappen Reaktion (H. V. R.) と名附け次の3種に區別せり。

- (1) 成熟卵胞及發情期の出現—— I. H. V. R.
- (2) 出血斑點—卵胞内出血—— II. H. V. R.
- (3) 黃體及閉鎖黃體形成—— III. H. V. R.

即ち上記 H. V. R. I. II. III. なる現象を惹起する物質の存在を假定し卵胞成熟を來すものを Prolan A. 黃體形成に參與するものを Prolan B と命名せり。斯る假定は其後 Hauptstein, Watrin, Emanuel, Mandelstamm, Kraul, Dingemane, Lipschütz 等により承認せられたるも。反之 Prolan A. B の一元論を説くものに Aron, Schoeller, Schulze-Rhouhof 等あり。

又他面斯る反應の由來するところに就て Aschheim u. Zondek は腦下垂體前葉ホルモンに依るとなせるも Philipp, 村田等は之を胎盤の新陳代謝産物に歸したり。此の二點に關しては現在尙疑義の存するところなれども。前述の早期妊娠診斷法としての價値。並に H. V. R. に就ての業績は內分泌學史上燦然たる足跡と云はざるべからず。

叙上の如くその發來する原因は何れにせよ所謂 H. V. R. を起す物質が妊婦尿中に存在するは正に事實にして Aschheim-Zondek に依れば妊娠初期に在りては 5,000 乃至 30,000 M. E. pro L., 3~7ヶ月にては 5,000 乃至 16,000 M. E., 末期に至りても尙 4,000 乃至 20,000 M. E. pro L. を排泄すと。

又動物妊娠尿に就て見るに。

- (1) 雌性猿にては 10,000—20,000 M. E. pro L. にして、妊婦尿に極めて近似し。
- (2) 牝馬に於ては僅か 800 R. E. pro L. にして且つ此の場合 Prolan A のみにしてBは陰性なりと。著者も亦此の點に就き種付後 76—180日の牝馬尿6例を檢査したり。

即ち恐らくは Prolan A. B. 適量の存在に依て發來するものならんと推定さる。家兎排卵試験法 Ovulations-Probe, Friedman-Test, に依て檢したるもAの

反應明かなるに不拘、20cc の大量注射に依ても卵巢に於ける Ovulation 又は Hämatom を認めず盡く陰性なりき。従て妊馬尿中の Prolan は A のみなりといふ Aschheim u. Zondek の言は首肯さるゝものなり。

(3) 其他の動物例之牝牛、豚、象、犬並に齧齒類動物等に於ては何れも陰性にして Prolan の排泄を見ずと。

又 Küst (1935) に依ても牝牛尿には Prolan を證明し得ずとなす。

然るに我國に於て此の點に就き検査せる報告未だ之を聞かず。依て著者は此の事實如何を追試し次の如き結果を得たり。

II. 實驗材料並に實驗方法

1. 實驗材料

實驗材料は前編に記載せる阪川牧場の乳牛より可及的妊娠率良好にして妊娠の確實なるものを選び、且つ妊娠初期のもの朝時蓄尿を使用せり。

2. 實驗方法

A. 採尿方法

採尿方法も亦前編の如しと雖も唯異なる點は全部早朝時の蓄尿を用ひたると、採尿後は直ちに醋酸を以て弱酸性となし、次でトルオールを加へてその腐敗を防ぎ可及的速かに抽出したることなり。

即ち前者は Prolan 含有量は早朝時の蓄尿中に多しといふ Aschheim u. Zondek の説に従ひたるものにして、後者は Prolan の性狀として pH 値に關係あり、アルカリ性中に在ては破壊度大なるも弱酸性に在ては然らずとの説に據れるものなり。

B. 卵胞ホルモンの除去に就て

前編所載の如く妊牛尿に於ては妊娠初期には殆んど卵胞ホルモンの證明をなし得ざれども第 4 ヶ月終乃至第 5 ヶ月以後のものに於ては生物學的反應を呈するものなれば豫め卵胞ホルモンの除去を要するは言を俟たず、即ち Prolan の檢索時には注射動物の子宮並に腔に於ける變化を參考とするものなればなり。

乍然此の操作に依て Prolan 量に影響を與ふるが如きことあらば所謂角を矯めて牛を殺すの類に外ならず。即ち該除去法は兩ホルモンの化學的性狀の差異に依り選擇決定すべきものなり。而して此の方法は後述の Prolan 抽出濃縮法と相關

聯して實施さるゝものなるを以て詳細は次項に譲るも上記の理由より本實驗には現在の生物學的檢索法にて陰性となる迄卵胞ホルモンの除去を行ひ得る方法を以てしたるものなり。

C. 所謂腦下垂體前葉ホルモン抽出濃縮法

尿中ホルモンの含有量僅少なる場合殊に妊牛尿に在りては陰性なりとの報告ある以上、現在の生物學的檢索法に據り原尿にて之を證明檢出することは殆んど不可能なり。而して之に代るべき鋭敏確實なる檢索法の發見せられざる限り斯る尿中のホルモンを檢出せんとせば先づ抽出濃縮法を實施せざるべからず、且又前項の理由により卵胞ホルモンの除去をなさざるべからず。

此の二操作の方法は種々考案せられ極めて多種多様なも著者は比較的簡單にして確實なる Zondek のアルコール沈澱法を採用し之に多少の改良を加へて實施せり。即ち原尿アルカリ性なるを以て 10%醋酸にてラクムス紙弱酸性となし、350c.c.m. に4倍量の 96%アルコールを注加、10分間攪拌せる後約24時間放置す次で遠心沈澱器にて上澄液を分離除去し、沈澱物は麻醉用エーテルにて充分洗滌し更に遠心沈澱によりてエーテルを除去す。此の操作を反復すること3回、之れ卵胞ホルモンの抽出除去と解毒のためなり。

次に採取せる沈澱物を扇風機にて約1日間充分に乾燥しエーテル臭を放散せしめ、得たる稍帶黃色良粉末に原尿の 1/20量即ち 17.5c.c.m. の生理的食塩水を注加し、充分に攪拌溶解したる後遠心沈澱法にて不溶解性殘留物を除けり。

此處に製出されたる稍帶黃色透明水溶液は即ち所謂腦下垂體前葉ホルモンにして原尿の 1/20濃縮抽出液なり。

D. 所謂腦下垂體前葉ホルモン存否決定法

専ら Aschheim u. Zondek の生物學的檢索法に従ひたり。

(1) 試 驗 動 物

6—8 g の幼若健康雌性マウスを用ひたる他、その飼養法は前編と同一なり。

(2) 注 射 方 法

注射方法は次の如く行ひたり。

(第1日) 晝、夕2回、(第2日) 朝、晝、夕3回、(第3日) 朝1回、而して1回の試験にマウスは5匹以上を使用せり。

(3) 腔脂膏検査

注射後の第4日晝, 第5日朝, 晝の3回に互りて採取しギムザ染色にて鏡檢し角化細胞の有無を検せり。

(4) 剖 檢

第5日午後(第1回の注射より96—100時間後)體重測定後直ちにエーテルにて麻酔致死せしめ剖檢せり。

(5) 判 定 目 標

第1反應(H. V. R. I.)としては肉眼的に決定すること困難なるを以て必要に應じ顯微鏡検査をなせると同時に剖檢的の二次的の變化即ち腔脂膏に角化現象の有無, 子宮の肥大狀態及腔内分泌液の有無に重きをおきたり。

第2反應(H. V. R. II.)は出血點の有無。

第3反應(H. V. R. III.)は黃體の有無。

即ち Zondek の云ふ所謂 H. V. R. I. II. III. の有無を以てその判定目標となせり。

III. 實 驗 成 績

ホルモン檢出法が現在の如く生物學的範圍を脱せざる限り卵巢, 子宮, 腔に對する所謂 H. V. R. が毎常定型的反應を呈するものに非ず。例へば階段的に遞減したるホルモン量注射の場合, 量の高きものが低きものに比し必ず陽性となるものに非ず。時としては低きものに陽性を示す場合のあることはホルモン定量に従事せる經驗者の必ずや逢着する事實なり。

從て本實驗に當りては濃縮尿のみを以て注射液とするよりはそれ以下のものをも注射液とせざるべからずと思考し, 最初の實驗例は次の如き種類に分ち使用せり。

(1) 1/20抽出濃縮液。 (2) 5/20濃縮液。

(3) 10/20濃縮液。 (4) 20/20液 即ち原尿に等し。

而して實驗例の後半は總て(1)液を使用せり。即ち實驗の進むにつれて(2)液以下は意味なく且つ(1)液の注射量を階段的に變更することに依て(2)液と同一のものとなすを得るに依る。

今その実験例を一括して表示すれば第 I 表の如し。

第 I 表

実験 番 號	實 驗 牝 牛 名	種付後 日 數	注 射 量	±
1	ダ イ ア ナ フランクリン	日 27	1/20 0.5 0.3 5/20 0.1 0.05 10/20 0.2 0.2	(-)
2	ダ リ ア	27	同 上	(-)
3	ダ イ ア ナ フランクリン	56	1/20 0.5 0.3 0.1 5/20 0.5 10/20 0.5 0.3 0.1	(-)
4	ダ リ ア	56	同 上	(-)
5	ダ イ ア ナ フランクリン	84	同 上	(-)
6	ダ リ ア	84	同 上	(-)
7	ダ イ ア ナ フランクリン	111	同 上	(-)
8	ダ リ ア	111	同 上	(-)
9	ダ イ ア ナ フランクリン	140	同 上	(-)
10	ダ リ ア	140	同 上	(-)
11	ダ イ ア ナ フランクリン	168	同 上	(-)
12	ダ リ ア	168	同 上	(-)
13	ダ イ ア ナ フランクリン	196	同 上	(-)
14	ダ リ ア	196	同 上	(-)
15	ダ イ ア ナ フランクリン	224	同 上	(-)
16	ダ リ ア	224	同 上	(-)
17	ダ イ ア ナ フランクリン	255	同 上	(-)
18	ダ リ ア	255	同 上	(-)
19	ダ イ ア ナ フランクリン	272	同 上	(-)
20	ダ リ ア	272	同 上	(-)

以上20例は前編卵胞ホルモン検出に當り豫備實驗として使用したる妊娠牛2頭に就き夫々10ヶ月間、各月別に Prolan の検出を試みたるものなれども第 I 表に示せる如く何れも陰性に終りたり。

次に可及的妊娠初期のものに就き更に實驗を重ね第 II 表の如き結果を得たり。

第 II 表

實驗 番號	實 牝 牛 名	採 取 年 月 日	種 付 後 日 數	注 射 量	±
21	鶴 二	9. 6. 17.	111	1/20 0.5 0.3 0.1 5/20 0.5 10/20 0.5 0.3 0.1	(-)
22	馬 橋	9. 6. 17.	117	同 上	(-)
23	初 秋	9. 6. 20.	76	同 上	(-)
24	金 星	9. 6. 20.	71	同 上	(-)
25	岩 槻	9. 6. 29.	56	1/20 0.5 0.4 0.3 0.2 0.1 0.05	(-)
26	福 泉	9. 6. 29.	65	同 上	(-)
27	第一水月	9. 7. 15.	121	同 上	(-)
28	初 秋	9. 7. 22.	108	同 上	(-)
29	田 鎖	9. 7. 22.	32	同 上	(-)
30	黒 岩 B	9. 7. 24.	27	同 上	(-)
31	春 日 B	9. 7. 24.	45	同 上	(-)
32	館	9. 11. 18.	91	同 上	(-)
33	八 幡	9. 12. 16.	9	同 上	(-)
34	パラダイス リ	10. 2. 17.	83	同 上	(-)

〔註〕表 中 1/20, 5/20, 10/20 の數字は夫々原尿に對する濃縮尿を示す。
0.5, 0.3, 0.1 等の數字は 1 回の注射量なり。

即ち上記 14 例の實驗結果は 前例同様全く陰性にしてその排泄を證明し得ざりき。

以上 34 例の結果を見るに妊牛 2 頭に於ける全妊娠期間中、及種付後 9 日乃至 121 日間の妊娠前半期の尿中に所謂腦下垂體前葉ホルモンの排泄を證明すること能はず悉く陰性なりき。

IV. 考 按

牝牛尿に於ける所謂腦下垂體前葉ホルモンの排泄は以上實驗の如く全く證明し

得ず而して諸家の報告を見るに該ホルモンの妊娠尿中へ排泄乃至増量を示すは婦人、雌性猿並に牝馬のみなり。然も牝馬に於ては前二者と異りその一部に過ぎず。

翻て腦下垂體自體に於ける Prolan の存在を見るに Zondek に依れば牝牛、雌豚、婦人共に A、B の存在を認め、又血液中には牛、豚は何れも陰性なれど、馬猿、婦人に於ては何れも陽性なりといふ。茲に於て注目すべきは上記各項の比較検討なり。即ち猿、婦人に於ては腦下垂體自體には勿論血液尿中に多量に含有され、馬に在りても亦同様なるも、尿中には Prolan A のみにして B を證明し得ず。然るに牛の場合は前者とは甚だしき差異ありて、腦下垂體には Prolan A、B 共に證明さるるに不拘、その血液及尿中には何れも認められず、如斯差異は如何なる機轉に基因するものなりや。一は妊娠なる生理的現象に依りて不要又は過剰の物質として尿中へ排泄さるるに反し、一は之れを排泄せずして體內に於けるホルモンの平衡を保ちつゝある理由如何。

又馬尿に就て見るに Prolan A のみにして、B の證明せられざる所以如何、殊に Zondek に依れば尿中に A のみなるは妊馬尿のみならず去勢婦人に於ても同様なりといふ。故に之等諸點の闡明は今後の研究に俟つべきものと信ず。

以上は單に所謂腦下垂體前葉ホルモンのみに就きて考察せるものなれども、前編卵胞ホルモン排泄機轉と關聯し、又は腦下垂體前葉自體のホルモンとの關係を思考すれば更に新しき興味を惹起するものなり。

V. 結 論

牝牛尿中に排泄さるる所謂腦下垂體前葉ホルモンの檢索を 34例に就きて實驗したる結果次の如き成績を得たり。

(1) 妊娠期間を10ヶ月に區分し妊娠牛2頭に就きその排泄さるる自然尿を各月毎に採取して檢索したるも何れも陰性なり。

(2) 種付後第9日乃至121日に互る妊娠初期の牝牛尿13例に就き檢したるも前項同様全部陰性なり。

故に妊牛尿中には所謂腦下垂體前葉ホルモンの排泄を證明し得ず。

内藤博士に滿腔の謝意を表し、抽出装置に就き御助力を得たる澤崎學士、並に實驗材料の提供に便宜を與へられたる阪川牧場鈴木學兄に深謝す。

尙本論文掲載に際し島村教授の御校閲及び御教示を賜はりたり、茲に謹謝す。

文 獻

- (1) Zondek u. Aschheim : *Klin. W.*, 1928, 30-31, 1404.
- (2) Zondek, P. : *Zbl. Geburtsh.* 1928, 95.
- (3) P. Hauptstein : *Endokrinologie*, 1930, 7, 104.
- (4) J. Watrin : *C. R. Soc. Biol.*, 1929, 101, 1198.
- (5) S. Emanuel : *C. R. Soc. Biol.*, 1931, 106 571.
- (6) Mandelstamm : *Zbl. Gyn.*, 1931, 3004.
- (7) Krauß : *Wien. Klin. W.*, 1931, 472.
- (8) Dingemanse u. Jangh : *Pflüg. Arch.*, 1931, 226, 543.
- (9) Magistris : *Pflüg. Arch.*, 1932, 230, 835.
- (10) Wolfe u. Ellison : *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 1932, 29, 601.
- (11) M. Hill u. S. Parkes : *Proc. Roy. Soc.*, 1930, 107, 30.
- (12) Max Aron : *C. R. Soc. Biol.*, 1931, 108, 1218.
- (13) Schoeller : *D. M. W.*, 1934, 21; *Klin. W.*, 1934, 82.
- (14) Schülze-Rhonhof : *Zbl. Gyn.*, 1929, 902.
- (15) Philipp : *Zbl. Gyn.*, 1930, 1858.
- (16) Zondek u. Aschheim : *Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorderlappers*. 1931 u. 1935.
- (17) Kust : *Klin. W.*, 1935, 2, 70.
- (18) Evans : *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 1929, 26, 595.
- (19) Zondek : *Zbl. Gyn.*, 1929, 53, 834.