妊娠診断ニ於ケル日本産蛙ノ使用ニ關スル研究

I. 冬眠期前ノ雄トノサマ蛙ノ使用ニ就テ

佐藤 幸雄 村 松 隆

(宇都宮農林専門學校獸醫畜産科)

(昭和 24 年 1 月 6 日受付)

I. 緒 言

ROBERTS RUGH⁽¹⁾ (1939) ハ北米産蛙 *Rana pipiens* ノ雄ガ同種ノ前葉ほるもんニヨリ精虫ヲ放出スル事ヲ述べ之ヲ形態學的ニ研究シテ居ル

哺乳類ノ下垂體前葉抽出物又ハ妊娠尿製劑ガ雌蛙ニ對シテ排卵反應ヲ起サセル實驗ニ關シテ ROBERTS RUGH⁽²⁾ (1935) ガ引用シタモノヲ擧ゲルト

ADAMS (1931) ハ牛ノ前葉ノあるかり浸出物ニヨツテ *Rana vulgaris* ニ就テ排卵現象ヲ, BELLERBY (1933~34) ハ牛ノ前葉ノ食鹽水浮游液或ハ酸浸出物ヲ用イテ夫々 *Rana temporaria* 或ハ *Xenopus laevis* ニ於テ排卵ヲ見, 又妊婦尿或ハ其ノ抽出物ヲ以テ *Xenopus laevis* ニ排卵ヲ誘發シ得ルコトヲ觀察シタ RUGH (1935) ハ, ヒキガヘル (*Bufo fowleri*) ニ於テ羊ノ下垂體抽出物又ハ妊婦尿抽出物ヲ用イテ雌ノ排卵及ビ雄ノ抱擁反應ヲ觀察シ, 又 *Rana catesbiana* ニ於テ妊婦尿抽出物ニヨツテ排卵ヲ觀察シテ居ル 以上ノ事カラ蛙及ビヒキガヘルガ兩棲類ノミデナク哺乳類ノ性腺刺激ほるもんニ對シテモ反應スル事が知ラレタ

MAININI⁽³⁾ ニヨレバ同氏ガ南米産雄ヒキガヘル (*Bufo arenarum* HENSEL) ヲ用イテ之ニ妊婦尿ヲ注射シ, 3 時間以内ニ蛙ノ尿中ニ精虫ヲ發見スル事ヲ發表シテカラ之ノ問題ニ關シ多クノ研究ガ行ハレ, 妊婦尿注射ニ用イタヒキガヘルハ總計 3,156 匹, 對照蛙 2,108 匹ニ達シ, 之等ノ研究者ニヨツテ其ノ陽性率ハ 98.16~100% トサレテ居ル 又 1948 年ニ至リ ROBBINS & PARKER⁽⁴⁾ ハ北米産蛙 *Rana pipiens* ノ雄ヲ妊娠診断ニ用イタ 即チ妊婦尿 5 cc ヲ背淋巴腔ニ注射スルト 1~2 時間後ニ蛙ハ尿中ニ精虫ヲ放出スル事ヲ述べ, 112 例ノ婦人尿ヲ用イテ本反應檢査ト白鼠及ビ家兎ノ試驗ヲ並行實施シ, 77 例ハ兩反應一致シテ陽性, 34 例ハ兩反應陰性, 1 例ノミハ蛙反應陰性デ他反應ハ陽性ヲ示シタト報ジテ居ル WILTBERGER & MILLER⁽⁵⁾ ハ 200 匹以上ノ雄 *Rana pipiens* ヲ用イ妊婦尿注射後 2~4 時間後ニ蛙ノ排出シタ尿中ノ精虫ヲ檢査スル事ニヨリ妊娠ノ最後ノ 3 ヶ月ニ於テハ 50% 陽性, 最初ノ 3 ヶ月ニハ 100% ノ陽性率ヲ得タト述ベテ居ル

最近飼料難ノタメ FRIEDMAN 反應, ASCHHEIM-ZONDEK 反應共ニ試驗動物ノ飼育ガ容易デナイ折カラ之ニ代エルベク ROBBINS, WILTBERGER 等ノ用イタ蛙ト同ジアカガヘル科 (*Rana*) ニ屬スル日本産トノサマガヘル (*Rana nigromaculata* HALLOWELL) ノ雄ヲ用イテ妊婦尿並ビニ妊馬血漿及尿ノ之ニ對スル作用ニ就キ實驗シタノデソノ成績

[日本獸醫學雜誌, 第 12 卷, 第 2-3 號, 昭和 25 年]

ヲ報告スル

II. 供試材料及ビ研究方法

1. 妊婦尿

供試前日採尿シタモノハ防腐ノタメクロホルムヲ數滴添加シタ 妊娠日數ハ荻野氏法ニ準ジ次回ノ豫定月經ノ 14 日前カラ起算シタ Table 1 ノ W1, W2 ハ特殊事情ニヨリ推定妊娠日ノ明確ナモノデアル

2. 妊馬尿及ビ血漿

11 月 9 日農林省畜産試験場那須支場ヨリ廣西馬 1 頭, 朝鮮馬 3 頭ノ尿及血漿各々約 50 cc ヲ得タ 血液ニハ防腐劑トシテ少量ノクロホルム一着, 凝固防止劑トシテ 3.8 % クエン酸ソーダヲ 1 割加ヘ, 尿ニハ數滴ノクロホルムヲ加ヘタガ室温ニ保存シタタメ血漿ハ 4 日目, 尿ハ 2 日目ニ至リ腐敗シ以後ハ實驗ニ供シ得ナカツタ

3. 妊婦尿カラ抽出シタ粗製ぶろらん

粗製ぶろらんハ Table 1 ノ W13 妊婦尿 1L ヨリ安息香酸法 (KATZMAN & DOISY⁽⁶⁾) デ抽出シタ ソノ方法ヲ略記スルト, クロホルムヲ加ヘタ尿ヲ, 採尿ノ翌日氷醋酸デ pH 5 トシ濾過シ之ニ安息香酸飽和あせとん溶液 70 cc ヲ強ク攪拌シナガラ加ヘ 1 夜靜置スル 生ジタ沈澱ヲ吸引濾過シ, 沈澱中ニ含マレル安息香酸ト卵胞ほるもんヲ除去スルタメニあせとん 50 cc デ洗ヒ少量ノ不溶部分ヲ遠心分離シ更ニ其ノ沈澱ヲ 30 cc ノあせとんデ洗ツテ遠心分離シタ 之ノ沈澱ヲ使用直前ニ蒸溜水デ溶シタ

4. 實驗動物

9 月ニ豫備實驗ヲ始メタ 此ノ頃カラ 10 月末迄ハ容易ニトノサマ蛙ヲ捕ヘ得タ 11 月ニ入ツテカラハ冬眠中ノモノヲ捕ヘル事ガ困難ナノデ水戸, 静岡カラ購入シタ ヤマアカ蛙ハ水田地帯ニハ稀デ, 山邊ニテモ少數シカ捕ヘラレナカツタ

5. 注射方法及精虫検査法

注射ハ背淋巴腔ニ行ツタ 即チ有鉤ぴんせつとヲ用イテ背部ノ皮膚ヲ持ち上ゲテ皮下注射ヲシタ 注射量ハ最初ハ蛙ノ大サニヨリ 5 cc, 4 cc, 3 cc, 2 cc, 1 cc, ニ分ケテ行ツタガ, 注射量ハ尿中ノほるもん含量ト關連シテ考ヘネバナラヌコトハ勿論デアルガ吸收能力カラ考ヘルト少量程良ク 1~3 cc ガ適當ト認メラレタ 尿ハ注射前ニ普通濾紙デ濾過シタ 妊馬尿 1 例ハ粘稠度高ク遠心分離シタ

検査法 注射後 1 時間~1 時間半ヨリ隨時蛙ノ排泄口ニ毛細ぴぺつとヲ 0.5~0.1 cm 挿入シテ排泄液ヲ靜カニ吸引スル 尿ト精虫及ビ消化器系統ヨリノ原虫等ノ混合物ガ吸引サレルカラ之等ヲ以テ懸滴標本ヲ作り弱擴大, 稍暗クシタ視野デ鏡檢スル 射精直後ニ検査スレバ極メテ活潑ニ運動スル多數ノ精虫ヲ認メル 又濃厚ナ抽出ぶろらんヲ注射スルト蛙ノ排泄口附近ニ排泄液ガ見ラレ此ノ中ニモ精虫ヲ發見スル事ガ出來ル 射精迄ノ時間ハ蛙ノ系統, 個體, ほるもんノ濃度及ビ氣溫等ニヨリ左右サレルモノト考ヘラレルガ 2 時間前後ノモノ最モ多ク 4 時間 30 分以上經過シテモ反應ナキモノハ陰性ト見做シタ

III. 實驗成績

1. 妊婦尿ニヨル成績

總括表示スレバ Table 1 ノ如クデアル 妊婦尿 19 例中 17 例ハ 10 月ニ, 2 例ハ 11 月ニ検査シタ 陽性ノ蛙 57 匹中 51 匹ニ於テ精虫ハ運動性デ 6 匹ニ於テハ非動性デアツタ

Table 1. Results Obtained with Urines of Pregnant Women.

URINE No.	DAY OF PREGNANCY	VOLUME OF URINE	NUMBERS OF FROGS		Died	TIME AFTER INJECTION ¹⁾	NUMBERS OF FROGS			
			Reaction				Sperms per Field			
			+	-			¹²⁾	1~10	11~100	100 <
W1	15	2 cc	1			hrs. mins. 2, 30		-1		
W2	18	2	1	1		2, 15		1		
W3	20	2		1		4, 30				
W4	20~30	1	1			3, 55			1	
W5	40	2~3	1	1	2	2, 50		1		
W6	40	1~2	4			1,50 ~ 2,00		1	2	1
W7	40	3~4	2		2	2,10 ~ 2,15		1		1
W8	40	2~3	4			2,20 ~ 2,40	1		3	
W9	40	2	2			2, 50			2	
W10	60	2, 3	2			3,10 ~ 3,15				2
W11	70	1~2	4			2,15 ~ 2,35		3	1	
W12	70	1~2	6			1,45 ~ 3,30	1	4	1	
W13	70	2	3			2,00 ~ 2,15			3	
W14	80	1~3	4			2,00 ~ 2,50	1	3		
W15	80	2~3	1			3, 30			1	
W16	80	2	3		3	1,50 ~ 1,55		1	2	
W17	90	1~5	11	1	4	3,00 ~ 4,45	1	1	8	1
W18	90	1~3	3		3	2,30 ~ 3,15			3	
W19	170	2~4	4	2		4,00 ~ 4,30	1	3		
Total	19 urines		57	6	14	mean 2, 56	5	20	27	5

N.B. 1) When spermatozoa were found, the time between the injection and the cloacal examination was described. When negative, we found no spermatozoon within 4 hours and 30 minutes.

2) Only one sperm was found after the examination of many fields.

2. 非妊婦尿及男子尿並=加熱妊婦尿=依ル成績

ソノ成績ハ Table 2 ノ如クデアル 之等ハ總テ 10 月中旬及 11 月中旬=實施シタ

3. 妊馬血漿=依ル成績

ソノ成績ハ Table 3 ノ如クデアル 11 月 9 日=廣西馬 (H1), 及ビ朝鮮馬 (其ノ他) ヨリ採血シタガ 11 月 13 日=ハ血漿ハ腐敗シ沈澱ヲ生ジ之等ヲ注射シタ 8 匹ノ

Table 2. Results Obtained with Non-pregnant Urines and Heated Urines.

NUMBER	URINE	VOLUME OF INJECTED URINE	No. OF FROGS			TIME AFTER INJECTION
			+	-	Died	
M 1	Adult man	2~4 ^{cc}	0	5		hrs. mins. 2,00~4,00
WC1	Adult Non-pregnant woman	2~3	0		3	
WC2	"	3	0	3		4,10~4,45
WC1	* Pregnancy 50 days	2	0	2		3,15~3,20
WC2	* Pregnancy 70 days	2	0	2		2,55~3,00

N.B. * Urine was heated at 70°C for 2 hours.

Table 3. Results Obtained with Blood Plasma of Pregnant mares.

HORSE No.	DAY AFTER COITUS	VOLUME OF PLASMA	NUMBERS OF FROGS			TIME AFTER INJECTION	MOTILITY OF SPERM	NUMBERS OF SPERMS
			Reaction		Died			
			+	-				
H1	95	4 ^{cc}			1			
			1			hrs. mins. 2, 30	—	1 1)
H2	96	4+4 ²⁾			1			
			1			3,30 (after first injection)	—	1 1)
H3	109	4+4 ²⁾			2.			
H4	109	4			1			
			1		.	3, 00	+	50~60 (par Field)

N.B. 1) The same as in Table 1.

2) 4cc of plasma were injected again, 60 minutes after first injection.

蛙ハスベテ斃死シタ 血漿ノ吸収ハ尿ニ比ベテ悪ク注射シタ蛙ノ背部ハ長時間波動ヲ呈シタ H2, H3 ニ於テハ多量ノほるもんヲ作用サセルタメニ 1 時間置キニ 2 回 4 cc 宛ノ注射ヲ行ツタガ何レモ吸収悪クスル注射ノ方法ハ不適當ト認メタ

Table 4. Results Obtained with Urines of Pregnant Mares.

HORSE No.	DAY AFTER COITUS	VOLUME OF URINE	NUMBERS OF FROGS			TIME AFTER INJECTION	MOTILITY OF SPERM	NUMBERS OF SPERMS
			Reaction		Died			
			+	-				
H1	95	cc 3, 4			2			
H2	96	2		1				
		4			1			
H3	109	2		1				
		4	1			hrs. mins. 3, 50	—	* 1
H4	109	2	1			4, 45	+	* 1
		4			1			

N. B. * The same as in Table 1.

Table 5. Results Obtained with the Extracted Prolan.

VOLUME OF INJECTION	NUMBERS OF FROGS	REACTION	TIME AFTER INJECTION	SPERMS PER FIELD		
				4~14	50~100	100<
cc			hrs. mins	frogs	frogs	frogs
1	1	+	1, 5		1	
2	7	+	1,00~2,10	2	2	3
3	1	+	1,00			1
2 (heated 70°C for 2hrs.)	5	—				

4. 去勢馬血漿ニヨル成績

妊馬血漿ノ場合ト同様ニシテ 4 匹ノ蛙ニツイテ試験シタ 普通大 (17 g 内外) ノ蛙 3 匹ハスベテ斃死シ 39 g ノ大キイ蛙ノミ生存シタガ 4 時間ニ亘ル隨時検査デ精虫ヲ認メナカッタ

5. 妊馬尿ニヨル成績

ソノ成績ハ Table 4 ノ如クデアル 供試蛙 8 匹中 4 匹ハ斃死シ其ノ後ハ尿腐敗ノ

タメ實驗=供シ得ナカツタ

6. 抽出ぷろらん=依ル成績

9 匹ノ供試蛙ノ中 1 匹ハヤマアカ蛙デアル 1 匹=於テ排泄口ノ圍リノ 排泄液中=

Table 6. The Relation Between the Days of Pregnancy and the Positive Reaction.

DAY OF PREGNANCY	TIME AFTER INJECTION	SPERMS PER FIELD		
		<10	11~100	100<
15~30	hrs. mins. 2,30~3,55	frogs 2	frogs 1	frogs
40~90	1,45~4,55	19	26	5
170	4,00~4,30	4		

Table 7. The Relation Between the Volumes of the Injection and the Reaction.

REACTION No. OF SPERMS VOLUME OF URINE	POSITIVE				TOTAL	NEGA- TIVE.	DIED
	* 1	per Field					
		1~10	11~100	100<			
cc 1	frogs 1	frogs 5	frogs 3	frogs 2	frogs 11	frogs	frogs
2	1	12	17	1	31 (79%)	3 (8%)	5 (13%)
3	1	2	4	2	9 (57%)	2 (12%)	5 (31%)
4	1	1	2		4 (44.4%)	1 (11.1%)	4 (44.4%)
5	1		1		2		
TOTAL	5	20	27	5	57	6	14

N.B. * The same as in Table 1.

多數ノ精虫ヲ認メタ コノ抽出ぷろらん 1cc ハ原尿 10cc =相當スル コノぷろらん
ヲ 70°C, 2 時間加熱シテ 5 匹ノ蛙ニ注射シタガスベテ陰性反應ヲ呈シタ (Table 5)

IV. 論 議

1. 妊婦尿ニヨル成績ニ就テ

妊婦尿ハ早朝ノ第1回尿ヲ用フルヲ望ンダガ産科醫ニ來院シタ患者カラ採尿シテ翌日實驗ニ供シタ例ガ多カッタ 妊婦尿ヲ注射シタ蛙ハ 18% 斃死シタガ之ハ MAININI⁽³⁾ノヒキガヘルニ於ケル斃死率 0.76% ヨリ遙カニ高率ヲ示シ同氏ガヒキガヘルノ方ガ強い點デ優レテ居ルト稱シテキル所ニ一致スル

イ. 精蟲ノ放出現象ハ妊娠日數ト一定ノ關係ヲ示ス 之ヲ要約スレバ Table 6 ノ如クデアル

即チ妊娠日數ニヨルぷろらんノ消長ト共ニ反應モ之ニ平行シテ強弱ノ差ガアル 妊娠 170 日前後ノモノニ於テハ陰陽ノ判定ガ困難ナモノガアッタ BROWNE 等⁽⁷⁾ニヨルト妊婦尿中ノ Prolan ノ含量ハ最後月經開始以來 40~50 日ヨリ急激ニ増加シ 50~60 日ニ最高ニ達シ以下急ニ減少シ 120 日以後ハ極メテ少量トナル 蛙ニ於ケル反應モ之ノぷろらん含量ノ最大ノ頃ハ 2~3 時間ニ於テ出現スル例多ク精蟲數モ 11~100 或ハ 100 以上ニ達スル例ガ多ク精蟲ハ活潑ニ運動シテ居ル

ロ. 妊娠早期尿ニヨル反應 妊娠 40 日前後ハ何レモ陽性ヲ示シ、更ニ早期ノ妊娠 15~30 日ノモノハ 1 例ヲ除ク外ハ陽性デ妊娠早期診斷法トシテ價值高キコトガ推察サレル

ハ. 注射量ト反應トノ關係ニ就テ Table 1 ニ示シタモノノ中、同一尿ヲ用イ、注射量ニ依リ反應ヲ異ニスル 6 尿例ニ就キ、其ノ關係ヲ見ルニ注射量ノ増加ト共ニ斃死蛙ノ増加スル傾向ヲ示スガ必シモ一定シテイナイ 之ハ採尿時ノ相違ニ依ル尿ノ濃度ノ差ニ起因スルモノト思考スル

次ニ注射量ト反應ノ關係ヲ總括表示スレバ Table 7 ノ如クデアル

5 cc 注射ヲシタ蛙ノ背部ハ注射液ヲ以テ充滿シ眼ノ前方ニ至ル迄膨ラミ一見シテ注射量過多ノ感アリ又注射針ヲ抜イタ孔カラ注射液ガ溢出シタ 作用ほるもん量ノ充分ナ場合注射量ハ 1~2 cc ガ最モ吸收ニ適スルモノト認メル 被檢液中ノほるもん含量ガ少イタメニ注射量ヲ増加スル場合ニ於テモ最大 4 cc 程度ニ止メルベキト思考スル 上表ノ中 2 cc 注射ニヨリ陽性反應ヲ示シタ例ガ最モ多ク 1 cc 及 3 cc 注射ニヨルモノ之ニ次ギ、4 cc, 5 cc 注射ハ注射量過多ノタメ不適當ト思考シタカラ少數例ニ止メタ ナホ本表ヨリ斃死率ハ注射量ト比例的ニ増加スルノガ認メラル

2. 妊馬尿及ビ血漿ニヨル反應ニ就テ

妊馬ニ於ケル實驗ハ 4 例ノミデアルガ血漿ニヨリ精蟲ノ放出ガ起ルコトヲ認メタ

妊馬血清中ノ性腺刺激ほるもんハ星⁽⁸⁾ニヨルト排卵後 40 日前後ニ始メテ現レ、急ニ増加シテ速カニ最大量ニ達シ、以後ハ次第ニ減少シテ 210 日頃ニハ極メテ微量シカ存在シナイ

實驗ニ供シタ妊馬ハ何レモ最終種付後 100 日前後ノモノデ血清中ほるもんノ消長カラ考エルト此ノ時期ハ性腺刺激ほるもんノ減少ニ向フ頃デ星ノまうす卵巢重量曲線カラ見

レバ妊娠 50 日頃ト量的ニ似タほるもん含量ト思ハレル 蛙ニ注射シタ血漿ノ吸収ハ尿ニ比ベテ遙カニ遅イ 血液ニ加ヘタちもーる、くえん酸ソーダノ影響ニヨルカ否カハ未ダ不明デアアルガ斃死率高ク 8 匹中 5 匹ハ斃死シ、生存シタ 3 匹ハ 3 時間 30 分以内ニ精蟲ヲ放出シタ

妊馬尿ニ於テハ、供試蛙中半數死亡シ陽性反應ヲ示セル 2 匹ニ於テモ多數ノ視野中ニ辛ジテ 1 ケノ精蟲ヲ認メ得タ程度デアアルカラ妊馬尿ニ就テハ妊娠診斷ニ對スル本法ノ應用價值ハ疑ハシク更ニ實驗ヲ要スルモノト思考スル

3. 尿中ノ射精反應ヲ起ス物質ニ就テ

妊娠 70 日ノ婦人尿カラぶろらんヲ抽出シテ蛙ニ注射シタ所 Table 5 ニ示ス如クステノ蛙ニ 1~2 時間後ニ多數ノ精蟲ヲ放出シタガぶろらんヲ 70°C ニ 2 時間熱シテ注射シタ蛙デハ 1~4 時間ニ何等ノ反應ヲ示サナイ

即チ此ノ起反應物質ハ其ノ反應ノ強弱ガぶろらんノ濃度ニ比例スルコト、易熱性デアアルコトヨリぶろらんでアルト認メラレル

4. 反應ノ限界ニ就テ

Table 1 ニ示ス 5 匹、Table 3 及ビ 4 ニ示ス各 2 匹ノ蛙ニ於テ何レモ多數ノ視野中ニ辛ジテ 1 ツノ精蟲ヲ認メタ スル例ニ於テハ 2 人デ鏡檢シテ 1 人ノミガ精蟲ヲ發見スル事が再度アツタカラ反應ノ陰陽ノ限界ノ決定ハ慎重ヲ要スル ぶろらん含量ノ多イ尿及ビ抽出ぶろらんでハ多數ノ精蟲ガ容易ニ認メラレルカラ判定ニ困難ヲ感ジナイ 陰性ト陽性ノ決定困難ナ尿ハ安息香酸法ニヨリ 50~100 cc カラ粗ぶろらんヲ抽出シテ實施セバ良結果ガ得ラレルト思考スル

5. 蛙ヲ使用スル季節ニ就テ

ROBBINS⁽⁴⁾ 等ハ北米産蛙 *Rana pipiens* ノ冬眠中ノモノヲ用イ他ノ季節ニ於テモ使用シ得ルト考ヘラレルト述ベテキル 余等ハ繁殖季節ヲ終ツテ冬眠ニ入ル前ノ 10 月中、1 部ハ更ニ暖イ地方ノ蛙ニ就テ 11 月中旬迄ノ蛙ヲ用イタ (實驗室ノ溫度ハ 17°C~20°C デアツタ) 10 月 31 日ニハ水田地帶デ 2 時間ニ僅カ 1 匹ノ雄トノサマ蛙シカ捕ヘ得ナカッタ宇都宮地方デハ 10 月末頃ニ冬眠ニ入ルト思ハレル 1 年ヲ通ジテトノサマ蛙ヲ用イ得ルカ否カニ關シテハ睪丸脂肪體トノ關係及ビ繁殖季節中ノ蛙自體ノ性腺刺激ほるもんノ作用等ヲ考慮シ今後ノ研究ニヨラネバナラヌ

6. 蛙ノ種類ニ就テ

Table 5 ノ 1 例ハヤマアカ蛙 (*Rana temporaria ornativentris*) デアル 此ノ系統モ使用出來ルト思フガ之ハ捕ヘ得ル數ノ少イ不便ガアル 精蟲ハトノサマ蛙ノモノト稍其ノ形態ヲ異ニシ、ぶろらんニ對スル感受性ハ寧ロ優レテキタ

V. 總 括

ROBBINS 等ハ北米産雄 *Rana pipiens* ノ妊娠診斷ニ於ケル使用ヲ報告シテキル 余等ハ之ヲ本邦ノトノサマ蛙ニ應用シ次ノ結論ヲ得タ

1. 妊娠容疑又ハ妊娠 15~170 日ノ妊婦尿 1~5 cc ヲ、雄トノサマ蛙 (*Rana nigro-*

maculata HALLOWELL) ノ背淋巴腔ニ注射シ、1 時間 45 分～4 時間 45 分後ニ毛細
びべつとヲ以テ排泄口ヨリ分泌液ヲ取ツテ鏡檢スルト精蟲ガ認メラレタ

2. 該反應ノ發現率ハ妊婦尿 19 例中 18 例ノ陽性ヲ示シ 供試蛙 77 匹中 14 匹
(18%) ハ尿注射ノタメ斃死シ、生存セル 63 匹中 57 匹ニ於テ陽性反應ヲ、6 匹ニ於
テ陰性ヲ示シタ

3. 非妊婦尿、男子尿及ビ加熱妊婦尿ヲ注射シタ蛙 15 匹中 3 匹ハ斃死シ、12 匹ハ
スベテ陰性反應ヲ呈シタ

4. 抽出ぶろらんヲ同様注射スルト 1～2 時間ノ後ニ 9 匹ノ蛙ハスベテ多數精蟲ヲ放
出シタ 反應ノ判定困難ナ被檢尿ハ粗ぶろらんヲ抽出ノ上檢査スレバ良結果ヲ得ルト思
考サレル

5. 熱處置 (70°C, 2 時間加熱) ヲシタぶろらんデハ斯ル反應ハ起ラナイ

6. 4 例ノ妊馬ノ中 2 例ノ尿 (何レモ最終種付後 109 日) 及ビ 3 例ノ血漿 (最終
種付後 95, 96, 109 日) ヲ用イタ蛙ニ於テ陽性反應ヲ觀察シタ

稿ヲ終ルニ際シ川口榮作校長ニ敬意ヲ表シ、材料ヲ供與サレタ畜産試驗場那須支場、
長畑壽賀雄支場長外場員各位、新部醫院ニ謝意ヲ表スト共ニ本校三年生小林康、内田
武二君等ノ努力ヲ附記スル

本研究ハ文部省科學研究費ニヨリ行ツタモノデアル

文 獻

- (1) RUGH R.: *J. Exp. Zool.*, **30**, 80 (1939).
- (2) RUGH R.: *ibid.*, **71**, 153 (1935).
- (3) MAININI, C. G.: *Endoc.*, **43**, 349 (1948).
- (4) ROBBINS, S. L., & F. PARKER: *ibid.*, **42**, 237 (1948).
- (5) WILTBERGER, P. B., & D. F. MILLER: *Science*, **107**, 198 (1948).
- (6) KATZMAN, P. A., & E. A. DOISY: *J. Biol. Chem.*, **97**, Lii (1932).
- (7) 緒 方: 臓器藥品化學増訂第 I 版, 東京ヨリ引用 (1944).
- (8) 星(冬): 日本獸醫學雜誌, **6**, 447 (1944).

THE USE OF THE JAPANESE FROGS IN THE
DIAGNOSIS OF PREGNANCY. I.
THE USE OF THE MALE *RANA NIGROMACULATA*
HALLOWELL IN THE LATE AUTUMN.

YUKIO SATO and TAKASHI MURAMATSU

(From the Division of Veterinary Science, Utsunomiya Agricultural College.)

(Received for Publication Jan. 6. 1949)

STANLEY L. ROBBINS and F. PARKER (1948) reported on the use of the male North Americans Frog (*Rana pipiens*) in the diagnosis of pregnancy. We applied the same technic to the male Japanese Frog (*Rana nigromaculata* HALLOWELL). We filtrated the urine and injected 1~5 cc of the specimen into the dorsal lymphsack and 1 hour 45 minutes~4 hours 45 minutes later took the fluid in the cloacal cavity with a capillary pipette, and examined it in a hanging drop preparation under the reduced light. The presence of any sperm, motile or immotile is indicative of a positive reaction.

Summary of the results of the present study is as follows :

1. Analysis on 19 specimens from pregnant women and women suspected of being pregnant, showed 18 specimens positive, one specimen negative reaction.
2. Of 77 frogs tested, 14 died (18%) other 57 showed positive reaction, and 6 negative (Tables 1,6 & 7).
3. Urines from non-pregnant women and a man, and heated pregnant urines showed negative reaction (of 15 frogs, 3 died, 12 negative) (Table 2).
4. The crude prolan extracted from a pregnant urine by the KATZMAN-DORSY method, showed a strong positive reaction, and many sperms were observed within 1~2 hours after the injection (Table 5). Extraction of crude prolan from urines, whose reaction can't be determined easily, will facilitate the examination.
5. This prolan heated at 70° C. for 2 hours showed negative reaction.

[Japanese Journal of Veterinary Science, Vol. 12, No. 2 & 3, 1950]

6. Two urines and three blood plasmas from 4 pregnant mares gave positive reaction (Table 3 & 4).