

# 中枢刺激物質による家兎排卵に関する研究

## Studies on the Ovulation of the Rabbits Caused by the Central Stimulating Substances

東北大学医学部産科婦人科学教室（主任 九嶋勝司教授）

研究生 太田 仁 郎 Masaro OHTA

### 内容目次

- 第1章 緒言
- 第2章 中枢に働く諸種薬品による家兎排卵誘発実験
  - 第1節 実験方法
    - 第1項 実験動物
    - 第2項 被検材料及び負荷方法
  - 第2節 実験成績
    - 第1項 Isoniazid 及びその誘導体静注実験
    - 第2項 Butazolidin 静注実験
    - 第3項 Estradiol 静注実験
    - 第4項 Trilafon 皮注実験
    - 第5項 Meratran 静注実験
    - 第6項 Atmurin 負荷実験
    - 第7項 Antibarbi 静注実験
  - 第3節 小括並びに考按
- 第3章 植物成分による家兎排卵実験
  - 第1節 実験材料及び実験方法
    - 第1項 植物材料
    - 第2項 植物成分抽出法
    - 第3項 実験動物並びに材料注射法
  - 第2節 実験成績
    - 第1項 とうもろこしの第1段階抽出液静注実験
    - 第2項 ライ麦の第1段階抽出液静注実験
    - 第3項 小麦の第1段階及び第2段階抽出液静注実験
    - 第4項 大麦の第1段階及び第2段階抽出液静注実験
    - 第5項 燕麦の第1段階抽出液静注実験
    - 第6項 燕麦の第2段階抽出液静注実験
  - 第3節 植物抽出液静注に伴う諸症状
  - 第4節 小括並びに考按
- 第4章 結論

### 第1章 緒言

間脳、下垂体及び性腺の3者が機能的な反応環を形成することにより、性周期が自動的に営まれるものであることは今日既に異論のない事実である。吾々が屢々遭遇する婦人の性中枢發育不全は2種の症候を呈する。即ち1つは無排卵であり他の1つは性ホルモン分泌欠如である。後者は性ホルモン投与により治療しうるが、無排卵の治療は困難である。従来主として gonadotrophin がその目的に使用せられて来た。併し乍ら gonadotrophin 療法により排卵が起つたとしても、それは単に卵巣に於ける末梢反応即ち Friedman 反応的な意味に終る恐れが多分にあり、且つ高価な療法である。生体自らの性機能系、即ち間脳から下垂体を経て卵巣に至る総ての部分を動員して家兎に排卵を誘発せしめるものに銅塩があるが、その毒性の故に臨床に應用せられていない。鈴木<sup>1)2)</sup>は所謂「性中枢」物質に就いて綜説しているが、臨床に用い得るもので確実に排卵を誘発しうるものは未だないと希望を将来に託している。

Heape<sup>3)</sup> (1905) 以来、家兎は自然排卵を見ることがないとされ、排卵誘発実験に好んで用いられて来た。

著者は、性中枢に働いて排卵を惹起せしめ、且つ臨床的に無排卵の治療に應用し得る物質を探究すべく以下の家兎排卵誘発実験を試みた。

### 第2章 中枢に於く諸種薬品による家兎排卵誘発実験

Marshall & Verney<sup>4)</sup> (1936) は視床下部領域に対する電氣的刺激で家兎排卵を惹起せしめたが、間脳の視床下部に所謂性中枢が存在する事実は電氣的、機械的、化学的及びホルモンの刺激実験により益々明瞭になり、今日殆んど疑う余地がない。

中枢神経系に対し電氣刺激に類似する痙攣的乃至刺激的に作用する薬品類により排卵を誘発せしめ得るか否か

を検討して Marshall et al<sup>5)</sup> (1939) は Picrotoxin が家兎に排卵を誘発する作用のあることを報告し、他方臨床的に呼吸中枢興奮剤として知られる Cardiazol の静注により、小林<sup>6)</sup>、Brooks<sup>7)</sup> は家兎に排卵を誘発した。Marshall et al<sup>5)</sup> によれば、Strychnine, apomorphine,  $\beta$ -tetrahydronaphthylamine, ergometrine, carbaminoyl-choline hydrochloride, coriamyrtin等には排卵誘発作用は認められないとされている。

特に性中枢に働く与否とに拘らず、中枢神経系に刺激的に作用すると臨床と考えられる物質により排卵誘発が可能かどうかを更に検討することも意義なしとしない。著者はこの観点に於いて以下の数種の薬品に就いて家兎実験を行った。

### 第1節 実験方法

#### 第1項 実験動物

分離飼育した体重2～3kgの成熟雌性家兎を予め開腹、卵巢を視診して偽妊娠の状態にあるものは3週以上、排卵及び黄体を欠くものは2週間隔離飼育の後実験に使用した。

Dury, Brad-bury<sup>8)</sup> は銅塩排卵に際し、estrogen 10000単位を2日間前処置を施すと家兎の個体の差を著しく減少せしめ、その感受性を高めると報じ、Brad-bury<sup>8)</sup> は燕麦抽出液により排卵誘発実験で estrogen 8000単位1回を前処置した場合良好な成績を得たことを報じている。

著者は  $\alpha$ -estradiol benzoate 100 $\gamma$ を連続2日間皮下注射の前処置を行い、第3日目に被検薬物の投与を行った。

通常、負荷終了48時間後に開腹して、卵巢に於ける排卵並びに出血卵胞の有無を検査した。

#### 第2項 被検材料及び負荷方法

所謂結核新薬と称せられる Isoniazid である Niazid 三共及び Isoniazid の誘導体たる Neoiscotin 第一 (sodium isonicotinyll hydrazide methane sulfonate), Hydronsan 中外 (sodium glucuronate isonicotinyll hydrazone) を水溶液として静注した。又 Butazolidin 藤沢 (Phenylbutazone) を Propylenglycol に溶解せしめて静注, Trilafon Am, Sherring (Perphenazine) は5mg/ccを皮下注射, Meratran塩野義 ( $\alpha$ -(2-piperidyl)-Benghydrol-hydrochloride) は粉末として経口投与, Atmurin 田辺 (N,N'-dibutyl-N,N'-D-dicarboxy-morpholide-ethylene diamine) は静注し, Estradiol 帝臓 (inpropylenglycol 5mg/cc) 静注, Anti-

barbi 田辺 ( $\beta$ , $\beta$ -methyl-ethyle-glutamide) の静注等の負荷実験を行った。

静注はすべて、家兎耳静脈より緩徐に1回に注射した。

### 第2節 実験成績

#### 第1項 Isoniazid 及びその誘導体静脈実験

第1表に示す如く、niazidの50～100mg静注では、排卵は認められず、250mg以上の負荷は排卵判定に至らざる短時間内に被検家兎の死亡を来した。Isoniazid 誘導体のうちで、neoiscotin は、毒性を軽減せしめる為にmethane sulfon 酸基を導入したものであり、家兎に使用した結果は第2表に示した。家兎に対する毒性はniazid に比し遥かに少いと思われるが、その1700mgまでを静注した7例は何れも排卵陰性であり、又2000mg以上を1回に静注した2例は排卵判定に至らずして死亡した。

第1表 ナイアジット静注

家兎 No.	体重 (g)	%	cc	総量 (mg)	生死	排卵
32	2250	1	5	50	生	—
33	2500	1	10	100	生	—
34	1950	5	5	250	死	
35	2500	10	5	500	死	
36	2400	10	10	1000	死	

第2表 ネオコスチン静注

家兎 No.	体重 (g)	%	cc	総量 (mg)	生死	排卵
37	2500	1	10	100	生	—
38	2900	5	5	250	〃	—
39	1950	5	10	500	〃	—
40	2000	5	15	750	〃	—
41	2000	5	20	1000	〃	—
42	2500	10	5	500	〃	—
43	1900	10	17	1700	〃	—
44	2150	10	20	2000	死	
45	1920	10	30	3000	死	

次に Hydronsan は LD<sub>50</sub> は約9800mg/kg と云われ、前者よりも更に毒性が僅少である。

第3表に示す如く、その500～4000mgを静注、死亡例は1例も無かつた。抗結核剤たるのみならず、Isoniazid は後述の如く或る種の中枢作用を有しては居るが、此の種の家兎排卵は誘発し得ないと考えられる。

#### 第2項 Butazolidin 静注実験

下垂体機能に影響を与えることが知られているPhen y

昭和35年7月1日

太田

1089—13

第3表 ヒドロロンサン静注

家兎 No.	体重 (g)	%	cc	総量 (mg)	生死	排卵
46	2530	5	10	500	生	—
47	1930	5	10	500	〃	—
48	2250	10	7.5	750	〃	—
49	1950	10	10	1000	〃	—
50	2800	10	15	1500	〃	—
51	1800	10	40	4000	〃	—

第4表 ブタゾリジン静注

家兎 No.	体重 (g)	%	cc	総量 (mg)	生死	排卵
61	1800	0.5	3	15	生	—
62	2300	0.5	5	25	〃	—
63	2920	0.5	5	25	〃	—
64	2500	0.5	7	35	〃	—
65	2400	0.5	8	40	〃	—

butazone (Butazolodin) を, Propylen glycol に 0.5 % に溶解せしめ, 極めて緩徐に静注した成績は第4表に示した通りであるが, 排卵誘発効果は認められなかつた。

## 第3項 Estradiol 静注実験

estrogen が性中枢に働くことは事実であるが, 果して大量の estrogen 負荷により排卵を惹起せしめ得るかは尙に興味深い。各種 estrogen 剤のうち, 著者の使用したものは, Estradiol (in propylenglycol) 5 mg/cc である。第5表に示す如く1日2~6 mg (10~30万単位) を1回静注例はすべて, 排卵陰性であつた。家兎番号 No. 76は2 mg を5日間, No. 77は2 mg を3日間静注の後3 mg を2日間静注, 総量10mg及び12mgを負荷した例であるが何れも排卵誘発に至らなかつた。

更に注射終了後1週間目に行つた第2回目の判定でも排卵は1例も認められなかつた。表示した実験範囲では

第5表 エストラジオール静注

家兎 No.	体重 (g)	投与量 mg	投与日数	総量 (mg)	排卵	
					48h 後	inj. 後1週目
71	1950	2	1	2	—	—
72	1800	3	1	3	—	—
73	2150	4	1	4	—	—
74	2000	5	1	5	—	—
75	2000	6	1	6	—	—
76	2550	2	5	10	—	—
77	2000	2 3	3 2	12	—	—

estrogen により排卵誘発は起らなかつた。

## 第4項 Trilafon 皮注実験

Velardo<sup>10)</sup> (1958) は Trilafon 15mg を rat に皮下注射して偽妊娠を生ぜしめ, 間脳下垂体系に働いたと結論した。そこで, この Trilafon に排卵誘発効果が期待しうるか否かを検討したところ第6表の如く, 30mg/day 5日間, 総量 150mg とを2例に皮下注射したにも拘らず, 排卵は認められなかつた。

第6表 Trilafon 負荷実験

家兎 No.	体重 (g)	mg/1日	投与日数	総量 (mg)	排卵	
					48h 後	1W 後
98	2540	30	5	150	—	—
99	2540	30	5	150	—	—

## 第5項 Meratran 負荷実験

中枢神経系刺激剤として臨床特に精神神経科領域に頻用せられるものに, Meratran がある。1錠中に, 1mg を含有する30~100錠を粉末として経口的に強制負荷した成績は第7表の如くて, 排卵は誘発されなかつた。

第7表 メラトラン経口投与

家兎 No.	体重 (g)	1Tab. 中 mg	Tab. 数	総量 (mg)	排卵
95	2300	1	30	30	—
96	2300	1	100	100	—
97	2400	1	100	100	—

## 第6項 Atmurin 静注実験

Atmurin は Théraptique と同じ構造の薬品であり, 呼吸中枢興奮剤である。

第8表に示した如く, その15~25mgの静注によつては排卵は惹起せられず, その45mg以上は致死的と思われた。

## 第7項 Antibarbi 静注実験

Shaw et al<sup>11)</sup> (1954) は Barbitol 剤に拮抗するも

第8表 アトムリン静注

家兎 No.	体重 (g)	%	cc	総量 (mg)	生死	排卵	備考
79	2200	〃	1	15	生	—	
80	1750	〃	1.7	25	生	—	
81	2250	〃	2	30	死	—	inj. 後50h. 以内
82	2500	〃	3	45	死	—	〃 15h. 〃
83	1950	〃	4	60	死	—	〃 10h. 〃
84	2450	〃	4	60	死	—	〃 10h. 〃

のとして Megimide を発表した。Barbital が性中枢を含めた中枢に抑制的に働くことは周知の事実である。Megimide と同じ組成の Antibarbi に排卵誘発作用があるかどうかを検討してみた(第9表)。即ち、その5mg静注では排卵は認められなかったが、7.5mg負荷2例中1例に明らかな排卵誘発を認めた。静注量を10mg以上とした場合は、すべて排卵陽性であった。併し乍ら、静注終了直後に短時間持続する軽度の痙攣を認めた。そこで注射液の濃度を0.5%から0.1%に稀釈した静注実験を試みた。症例8に示す如く、0.1%15cc、15mgを更に緩徐に静注したところ、痙攣を伴わずに排卵の誘発に成功した。

第9表 アンチバルビ静注

症例	家兎 No.	体重 (g)	%	cc	総量 (mg)	痙攣	排卵
1	85	1780	0.5	1	5	—	—
2	86	1800	0.5	1	5	—	—
3	87	2400	0.5	1.5	7.5	—	—
4	88	2700	0.5	1.5	7.5	—	+
5	89	2400	0.5	2	10	+	+
6	90	1850	0.5	2	10	+	+
7	91	2500	0.5	5	25	+	+
8	92	3000	0.1	15	15	—	+

### 第3節 小括並びに考按

Mono amine oxidase は Noradrenalin, Serotonin 等を破壊する酵素として知られているが, Coggeshall & Mac Lean<sup>12)</sup> (1958) は Isoniazid は Iproniazid と同様, Monoamine oxidase を抑制すると報じ, Zeller et al<sup>13)</sup> (1958) は諸種 Hidrazine 誘導体に就いて, 同様な抑制効果のあることを論じている。他方 Vogt<sup>14)</sup> (1954) の脳内分布に関する研究によれば, Noradrenalin, Serotonin は視床下部に最も多いとされている。小林<sup>15)</sup> (1956) は Noradrenalin を家兎に静注20例中4例に排卵を認め, 第3脳室内注入では17例中3例に排卵を認めたにすぎないことから, noradrenalin が Sawyer, Markee 等の唱える gonadotrophin 放出のための neurohumor<sup>16)</sup> とは考え難いとした。著者は Isoniazid 及びその誘導体である Niazid, Neoiscotin, Hydronsan に就いて, 上記文献的考察からその排卵惹起能力の有無を静注法により検討したが, 此等の物質には排卵効果を認めなかった。

Linsk et al<sup>17)</sup> (1957) は Phenylbutazone には Cortisone と同様甲状腺の <sup>131</sup>I uptake を減少せしめる作

用があるが, TSH の投与により此の減少は中和せしめられる点から, 甲状腺に対する下垂体機能の低下を来たさしめると考えるのが妥当であるとした。gonadotrophin の分泌, 特に排卵を対象とした実験は殆んど報告せられていないが, 実験成績に示した様に Phenylbutazone の静注によつては排卵誘発は認められなかった。

estrogen が性中枢に働くことは事実であり, 赤須<sup>18)</sup> (1955) は水溶性 estrogen を毎日10乃至20万単位総量50~60万単位静注で殆んど全例に家兎排卵を起し得ると云い, 他方小林——小林<sup>19)</sup> (1951) は家兎に2mgの estradiol を静注してもすべて排卵は認められなかったと報じている。又 Kupperman et al<sup>20)</sup> (1958) は20mgの equine (conjugated estrogen) を無排卵患者に静注し, その過半数に排卵を誘発したと述べている。著者の試みた estradiol 2乃至12mg静注家兎7例は48時間後判定で全例とも排卵は認められず, 又はね返り現象 (reboundphenomen) により排卵の惹起を期待した。1週間後の開腹判定に於いても, すべて排卵陰性であった。長谷川, 渡辺等<sup>21)</sup> (1959) は強力な Tranquilizer である Trilafon が妊娠悪阻, 精神身体症に有効であり, 且つ副作用乃至毒性は非常に少いと述べた。Dury & Bradbury<sup>22) 23)</sup> 以来, 家兎排卵を誘発する銅塩が発情 rat に偽妊娠を生ぜしめうる事が知られている。Velardo<sup>24)</sup> が Trilafon により rat に偽妊娠を見たことは, 中枢に働いて LTH の分泌を促進せしめた為と考えられる。著者の実験で家兎排卵は誘発されなかった事実から, FSH 及び LH 分泌の点では他の, Tranquilizer と同様, 抑制的に働いて居るものと思われる。

次に, Brown & Wermer<sup>25)</sup> (1954) の詳細に互る実験から, Barbital と Meratran, Pentmethylenetetrazol (Cardiazol) との間に興味ある関係が見出された。即ち, 大脳皮質抑制に基因する軽度の Barbital 催眠状態を Meratran は覚醒せしめ, 更に下位の中枢が侵される重症乃至致死的な Barbital 急性毒性には Cardiazol が拮抗する。従つて脳幹部に働く Cardiazol と対蹠的に, Meratran は大脳皮質に働くらしいとされている。限られた今回の著者の実験から直ちに推断することは許されないが, 排卵誘発効果を Meratran に依つて起し得なかつたことから, 此の物質は性中枢を含む脳幹部よりは寧ろ大脳皮質に作用するものと考えられる。

性中枢に対する栄養血管たる椎骨動脈の持つ重要な意義に就いては, 小林<sup>23)</sup>, 小林<sup>25)</sup>, 坂本<sup>26)</sup>等の研究があるが, 来須<sup>27)</sup> (1955) は脳血行の部位的特異性に関する検

討を試み、Noradrenalin と同様 Theraptique が椎骨動脈流域の血流を増大せしめることを実証し、Theraptique の抗 shock 剤たる根拠は此の性質によるとした。

かゝる意味合いを有する Theraptique を排卵誘発実験に用いたが、陽性結果は得られなかった。このことから単に椎骨動脈を拡張せしめるだけでは排卵は誘発されないことが判る。

Kehl et Audibert<sup>29)</sup> (1957) は中枢刺激剤の数種に就いて簡単に紹介し、Megimide は rat の発情期を持続せしめる作用があると暗示した。然し、Antibarbi (Megimide) で家兎排卵誘発を試みたと言う報告は未だない。著者は実験成績に示した如く静注法により Antibarbi に排卵誘発作用のあることを新たに発見した。笹野<sup>29)</sup> (1959) は間脳の酸素消費量を rat に就いて測定し、硫酸銅と同様 Antibarbi の負荷は、その増加を来たすと報じている。次に Antibarbi の薬理的作用機転に就いて若干の文献的考察を試みたい。Pederson<sup>30)</sup>

(1956) は、Barbital 中毒患者に、Antibarbi を使用すれば覚醒効果はあるが、血中の Barbital 濃度に変化がないことから、その効果は化学的拮抗でなく、作用的拮抗であると云った。又 Hahn, Schunk<sup>31)</sup> (1956) は Megimide は大脳を興奮せしめることにより Barbital の、Antagonist となる物質であろうとした。他方、山田<sup>32)</sup> (1958) は Antibarbi が Barbital 以外の催眠剤、例えば Chlorpromazine, meprobamate にも可成りの程度に覚醒効果を持つが、Brovarin に対するそれが甚だ不充分である点を疑問とした。併し乍ら Brovarin が大脳皮質に作用するものであり、且つ著者の排卵誘発成功の事実を徴し、Antibarbi は大脳皮質に働くよりは、主として視床下部を含む脳幹に作用するものと考えられる。著者の実験で、Antibarbi 静注による排卵陽性例 5 例中 3 例に瘧瘵を伴い 2 例は瘧瘵を認めなかったが、瘧瘵と排卵惹起との間に如何なる関係があるかという問題が残る。小林<sup>25)</sup> (1955) は Cardiazol による家兎排卵実験で、静注して瘧瘵を伴わぬものはすべて排卵陰性であり、第 3 脳室内注入では殆んどすべてに瘧瘵を認め且つその大多数が排卵陰性であったことから、Cardiazol 排卵は、恐らく全身瘧瘵と云う甚だしく強い一般症状に併発する二次的反應に過ぎないと考えた。併し乍ら、Brooks<sup>27)</sup> 等 (1940) は Picrotoxin, Metrazol と同様、瘧瘵を来たす Strychnine その他によつては排卵

は誘発されない事実を指摘している。又一方に於いて、Marshall 等<sup>29)</sup> は picrotoxin で瘧瘵を認めなかった 11 例中 1 例が排卵、他のすべては排卵には至らないが、卵胞の成育を観察したと云っている。著者の Antibarbi 排卵実験で、瘧瘵を伴わずに 2 例が排卵したことは注目すべきことであり、瘧瘵が此の際の必須条件ではないことがうかがわれる。

併し乍ら、Antibarbi の致死量が 30mg/kg と云われ、且つ瘧瘵を伴い易い点から、その大量を臨時的に無排卵の治療に応用することは好ましくない様に思える。

### 第 3 章 植物成分による家兎排卵実験

Friedman & Friedman<sup>33)</sup> (1934) は「由来、下垂体ホルモンは生体内に於いて簡単な化学物質から合成せられるものではなく、性腺刺激ホルモンに類似する構造を有する前駆物質が食餌として補給せられる」と推定し家兎の常食たる alfalfa (むらさきうまごやし) の葉のアルカリ抽出液が家兎卵巣に黄体、卵胞出血を生ぜしめたことを報じた。更に Friedman<sup>34)</sup> (1938) は燕麦幼葉の抽出液を静注して家兎排卵を認め、性腺刺激源として alfalfa に劣らないと云った。Friedman<sup>35)</sup> 等 (1939) は、alfalfa、燕麦の抽出法に就いて詳述し、Hisaw et al<sup>36)</sup> の報じた酵母の 1 種 brewer yeast を自らの抽出法により、同様排卵効果の存在を確認した。次いで Friedman & Mitchell<sup>37)</sup> (1941) はとうもろこし、freterita, sudan 草にも同様な有効物質が含まれていることを確め、その活性の産生に季節的変動のあることを認めた。Borasky & Bradbury<sup>38)</sup> (1942) はその抽出法を改良して、凍結貯蔵することにより活性物質の長期保存に成功したと報じた。更に Bradbury<sup>39)</sup> (1944) は、人蔘の葉、芝草等にも排卵物質が含まれると云った。植物成分を用いた家兎排卵実験に関する以上の如き文献的事実から、緑色植物の葉に家兎に排卵を生ぜしめる何らかの物質が存在することは疑いない。併し乍ら、抽出液に含まれる毒性は比較的強烈であり、且つその除去と活性の維持の問題は簡単でなく、従つてその排卵機序に関しては殆んど究明されていない。

植物成分中の排卵誘発因子は何か、そしてその本態並びに作用機序は如何なるものであるかを更に検討することは興味深い。そして若しも有効成分の分離、精製に成功すれば臨床的に応用しうる可能性もあり、且つ現今の gonadotrophin 製剤より遥かに安価な療法たりうるだろうことも想像せられる。数種の禾本科植物に就いて著者は以下の実験を行った。

## 第1節 実験材料及び実験方法

## 第1項 植物材料

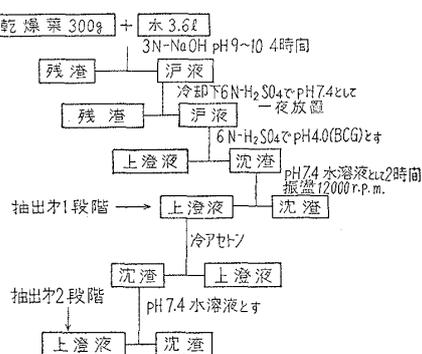
使用した5種の禾本科植物は燕麦(前進),ライ麦(ペトリーザ),大麦(会津7号),小麦(農林57号)及び,とうもろこし(エローデントコーン)である.当教室で播種発芽せしめたもの及びその一部は東北大学農学研究所より恵与されたものを抽出に用いた.20~30cmに伸ばした植物の幼葉を刈り取り,風乾の上保存した.

## 第2項 植物成分抽出法

植物成分抽出法に就いては,Friedman & Feiedman<sup>35)</sup>はKatzman-Doisy<sup>39)</sup>の妊婦尿抽出法の如く,安息香酸による沈澱法を用いて居り,Borasky & Bradbury<sup>38)</sup>は新鮮搾汁を凍結保存し,検定に当り抽出する方法を考案した.

著者及び小林(光)は此の2つの抽出法を参考として次の如き抽出法を行った(第10表はその概略).細かく刻んだ乾燥葉300gを12倍容のpH9~10の苛性ソーダ水溶液にて4~5時間室温に浸漬し時々攪拌する.晒木綿で搾取せる液を7.4とし,1夜氷室に放置した後濾過し,(此の際,濾過助剤 celite 535を用いた)濾液を硫酸でpH4.0に調整し,1夜氷室に放置し,冷凍遠心分離して沈澱をpH7.4の水溶液に2時間抽出し,冷凍遠心12000

第10表 植物成分抽出法



第11表 とうもろこし Corn: 抽出第1段階

家兔 No.	体重 (g)	Sample	r.p.m.	溶液 (cc)	乾燥量 (g)	生死	排卵		備考
							右	左	
215	2800	C <sup>12.6</sup>	12000	47	200	死			
216	2000	C <sup>16.27</sup>	12000	20	60	死		残渣再抽出	
217	2800	C <sup>16.2</sup>	3000	28	200	死			
218	2400	C <sup>16.27</sup>	3000	10	40	死		残渣再抽出	
219	2600	C <sup>16.2</sup>	12000	15	不明	死		pH 4.0液から	
220	2350	C <sup>16.2</sup>	12000	9	不明	死		再沈澱	

r.p.m. 1時間を行つて少々不透明な暗褐色の上澄液を得た.此を抽出の第1段階とする.

Friedman & Feiedman<sup>35)</sup>は抽出液の毒性を除く為に,acetoneを加えて沈澱せしめる方法をとつている.著者の実験で,後述する如く,大麦の場合第1段階の抽出液で家兔を死亡せしめた同一試料でも之を更にacetone処理を行つた場合死亡せずに排卵誘発と認めた.

以後はすべて acetone 処理を行つた.

即ち,pH 7.4の水溶液を冷却してから12倍容の冷 acetone を加えて沈澱せしめ,褐色の沈澱を再びpH 7.4の水溶液にて抽出し,冷凍遠心 12000r.p.m. 1時間を行い,その上澄液を抽出の第2段階とした.第1段階,第2段階の抽出液を家兔排卵誘発実験に用いた.

## 第3項 実験動物並びに材料注射法

材料の注射法を除き,実験動物に関してはすべて第1章第2節第1項のそれに準じた.

抽出液の血中濃度及びその毒性を考慮し,津野<sup>40)</sup>(1957)の考案せる銅塩2段階注射排卵法に準拠し,6時間以内2回に分けて,極めて緩徐に耳静脈より静注した.

## 第2節 実験成績

植物葉の抽出液の家兔に対する1排卵量(最少有効排卵量)に関しては,植物の種類,実験者などにより一定でないが文献上乾燥重量50~150g相当が1排卵量とするものが多い.それ故,著者は乾燥重量50~150g相当の抽出液を用いることにした.

又 12000r.p.m. 1時間の遠心分離の沈澱を念のため,pH 7.4の水溶液とし,3000r.p.m. 20分間遠心分離した上澄も排卵試験に用いたが,全実験を通じて排卵をみたものは1例もなかつた.

## 第1項 とうもろこしの第1段階抽出液静注実験

6例に就いて第11表の如き実験を行つたが,何れも排卵判定に至らず死亡した.抽出液に含まれる毒性が甚しく,とうもろこしに就いて此以上の追及は試みなかつ

昭和35年7月1日

太田

1093-17

第12表 ライ麦 Rye : 抽出第1段階

家兎 No.	体重 (g)	Rample	溶液 (cc)	乾燥 重量 (g)	生死	排卵		備考
						右	左	
201	2450	R <sup>14.26</sup>	27	100	生	—	—	粉末として保存
202	2550	R <sup>13.27</sup>	37	80	生	—	—	
203	2800	〃	54	120	死			
207	2300	R <sup>28.27</sup>	34	120	死			12000r.p.m.
208	2000	〃	24	100	生	—	—	〃
209	2480	〃	12	60	死			3000r.p.m.
210	2300	〃	10	50	生	—	—	〃
211	1800	R <sup>16.2</sup>	18.4	120	死			10020r.p.m.
212	3000	R <sup>16.2</sup>	9.6	120	生	—	—	3000r.p.m.

第13表 小麦Wheat : 抽出第1及び第2段階

家兎 No.	体重 (g)	Sample	r.p.m.	溶液 (cc)	乾燥 重量 (g)	生死	排卵		備考
							右	左	
221	2550	W <sup>16.2</sup>	12000	11.8	75	死			第1段階
222	2400	〃	〃	5.9	37.5	生	—	—	
249	2800	〃	〃	15	100	生	—	—	第2段階

た。

## 第2項 ライ麦の第1段階抽出液静注実験

ライ麦の第1段階抽出液静注9例中4例は、排卵判定に至らず死亡し、残りの5例は何れも排卵陰性であった。乾燥重量、120g相当以上を静注することは家兎の死亡を来すものと思われ、ライ麦に就いての此以上の排卵誘発実験は行われなかつた。

## 第3項 小麦の第1段階及び第2段階抽出液静注実験

第1段階抽出液、乾燥重量75g相当を静注したところ家兎の死亡を見た。抽出を第2段階まで行つた場合は第13表に示す如く、100g相当の抽出液静注に耐え得たが、排卵は認められなかつた。

第4項 大麦の第1段階及び第2段階抽出液静注実験  
大麦の幼葉の抽出液を用いた実験成績は第14表の如く

である。即ち第1段階抽出液は乾燥葉150g相当の静注で排卵判定に至らず被検家兎の死亡を来し、その50g相当に減じ静注しても動物を生存せしめ得なかつた。しかるに此の同じ大麦の試料 B<sup>16.2</sup> を更に第2段階まで抽出を進めた場合、その100g相当の静注を受けた家兎番号245は生存し、且つその右卵巣に明らかな排卵を認めた。此のことから、第2段階の抽出過程即 acetone処理は或る程度の毒性排除に役立つものであることが知られる。

## 第5項 燕麦の第1段階抽出液静注実験

燕麦に就いて第15表の如き実験を行つた。家兎番号204, 205, 206は第10表に示した沈渣①を溶液としないでテシケータ中で乾燥保存し、検定の時にpHの溶液として静注した例であり、排卵は1例も認められなかつた。

第14表 大麦 Barley : 抽出第1及び第2段階

家兎 No.	体重 (g)	Sample	r.p.m.	溶液 (cc)	乾燥 重量 (g)	生死	排卵		備考
							右	左	
223	2450	B <sup>16.2</sup>	12000	24	150	死			第1段階
224	2600	〃	〃	10	50	死			〃
225	2450	〃	3000	11.4	150	死			〃
226	2980	〃	〃	5.5	50	死			〃
245	3000	〃	12000	12	100	生	+	—	第2段階

第15表 燕麦 Oat : 抽出第1段階

家兎 No.	体 重 (g)	Sample	r.p.m.	溶 液 (cc)	乾 燥 重 量 (g)	生 死	排 卵		備 考
							右	左	
204	2280	O <sup>14.21</sup>		30	90	生	—	—	粉末の保存
205	1900	〃		20	60	死			
206	2080	O <sup>16.2</sup>		29	120	生	—	—	
235	3000	O <sup>26.2</sup>	12000	28.5	150	生	+	+	第1段階
236	2300	〃	〃	15	75	死			
237	2500	〃	〃	11	55	死			
238	2850	〃	3000	9	150	死			
339	2900	O <sup>26.2</sup>	12000	37	150	死			
240	3000	〃	〃	26	100	死			
241	2950	〃	3000	6	75	死			
242	2650	O <sup>14.26</sup>	12000	33	150	生	+	+	

120000r.p.m. 遠心の上澄, 55~150g相当の第1段階抽出液を静注した6例中4例が死亡, 残りの2例に排卵の誘発をみた。

#### 第6項 燕麦の第2段階抽出液静注実験

燕麦の第1段階抽出液で2例に排卵を認めたことから検定に用いた5種の植物中燕麦が最も有望と思われた。燕麦に就いて第2段階まで抽出せるものを静注した成績を第16表に示した。即ち, 乾燥葉80~130g相当の第2段階抽出液を静注した6例中, 4例が排卵を認め他の2例は排卵判定を待たずに死亡した。家兎番号 278, 及び 279は抽出液調製後97日目に静注せられた例であるが, No. 279に明らかな排卵誘発を認め得た。

第16表 燕麦: 抽出第2段階

家兎 番号	家兎 体重 (g)	乾燥 重量 g相当	生 死	排 卵		備 考
				右	左	
263	2250	80	生	+	+	
278	3000	90	死			調製後97日に静注
279	2050	90	生	+	+	〃
280	2350	130	生	+	+	
281	2950	130	生	—	+	
282	2750	130	死			

#### 第3節 植物抽出液静注に伴う諸症状

抽出液静注後, 短時間持続する呼吸数の増加, 粘液の蓄積によると思われる鼻炎様鼻声を30分位示すものが少なくなかった。又48時間内の著明な体重の減少(10~15%の減少)及び下痢も亦屢々認められた。かゝる諸症状は特に第1段階抽出液を用いた場合に多かった。第1段

階, 第2段階抽出液の何れにても静注直後に家兎の死亡を来たす場合は, 宛も空気栓塞を思わせる様な苦悶状態乃至は痙攣に類する全身症状を認めることが多かった。

併し乍ら排卵誘発例の家兎ではかゝる不快な諸症状は殆んど見られなかった。

#### 第4節 小括並びに考按

Friedman & Friedman<sup>33)</sup> により初めて報告せられた植物葉抽出液の家兎排卵誘発作用が, 大麦, 燕麦に存在することが著者の実験で確認された。併し乍ら排卵誘発例は比較的少数であつた。此の種の実験に於いて, 排卵陽性の高率を得ることの困難は次の2点に要約せられる。即ち

- 1) 同一品種の植物でさえも試料により, 1排卵量が区々であり, 一定の基準がない。
- 2) 毒性の除去と排卵活性の維持の問題が未だ研究不充分である。

此の第1の要因に関して, Friedman, Mitchell<sup>37)</sup> は同一品種に於いてもその排卵活性の産生に季節的変動があり, 秋, 冬, 早春に刈り取つた植物葉には排卵効果が認められず, 春, 夏に刈り取つたものに活性が多く認められると云つたが, 著者の得た排卵陽性抽出液は4月及び6月に刈り取つたものであることは上記の文献の事実に符合するものである。又毒性の除去に就いては種々報告せられているが, 何れも不十分に終っている。著者も acetone処理の外に若干の実験を試みているが, 未だ満足すべき毒性排除の方法を見出してない。

さて, 家兎に排卵を誘発する此の植物成分中の有効物質の本態は何かと云う問題が残る。Friedman<sup>34)</sup> は有効

成分が Katzman-Doisy の安息香酸沈澱法により抽出されることから、それは粗なる蛋白であろうと推論している。又 Bradbury<sup>9)</sup> は燕麦により 排卵をみた家兎の下垂体からホルモンの放出されていることを認めたことから、それは gonadotrophic agent であると言うよりは、寧ろ pituitary secretagogue だろうと述べている。他方 Fevold et al<sup>11)</sup> は酵母抽出液が家兎排卵を誘発し、又熱に対して安定なところからその排卵効果は含有する銅に基くものだろうと云った。Bradbury<sup>9)</sup> は燕麦抽出液も熱に対して安定であり、煮沸するもその活性は失われないと述べている。燕麦類の葉にも銅が含まれることは事実ではあるが、著者の試みた銅含有量測定実験では燕麦葉乾燥重量80g相当(1排卵量)の抽出液に18γの銅が認められたに過ぎない。それ故、植物成分中の有効物質が銅そのものでないことは疑いの余地がない。

他方比較的近年になつて、Clover, alfalfa に生物学的に estrogen 様作用が存在することが報じられている(Curnow et al<sup>42)</sup>, Robinson<sup>43)</sup>, Cheng et al<sup>44)</sup>). 更に Dohan et al<sup>45)</sup> はライ麦にも該作用が認められると云った。Bradbury & White<sup>46)</sup>, Curnow<sup>47)</sup> は Subterranean clover から estrogen 作用を示すところの isoflavon 誘導體 formononetin, genistin を得、Pope & Elcoate<sup>48)</sup> は red clover から同じく isoflavon の1種, biochamin A を分離、mouse の子宮重量を増加せしめた。estrogen そのものにより直接家兎に排卵を起し得るか否かは別としても、estrogen が性中枢に働くことは定説となつている。著者の用いた植物葉抽出液に此らの isoflavon 類が同時に抽出せられている可能性も否定し得ず、此の点に関する検討も必要であろう。

一方、渡辺<sup>49)</sup>は最近、毒性の少いグルコン酸銅が家兎に排卵を誘発し、且つ溶液中の銅イオンが比較的僅かであると報じている。このことから従来考えられて来た程の銅イオン量が、家兎排卵に必ずしも必要でないことが想像せられる。それ故、微量の銅を含有する排卵に有効な或る種の有機的化合物が発見せられる可能性も亦否定出来ない。

又、負荷後排卵を惹起するまでの所要時間は gonadotrophin の場合は10~12時間と云われ(Jares<sup>50)</sup>) 著者の植物抽出液静注では、銅塩同様24時間後に排卵を認めている。

抽出法の改良による有効成分の精製、並びにその本態

及び作用機転に関しては今後の研究が望まれる。

#### 第4章 結 論

臨床に応用しうる排卵物質の検索を目的として、諸種中枢刺激剤、並びに若干の植物の幼葉抽出液に就いて家兎排卵誘発作用を Screening test し、次の結果を得た。

- 1) Isoniazid 誘導體である Niazid, Neoiscotin, Hydronsan には排卵誘発作用が認められなかつた。
- 2) Butazolidin (Phenylbutazone), Trilafon, Meratran Atmurin 負荷でも排卵は誘発されなかつた。
- 3) Estradiol 静注で排卵を誘発せしめ得なかつた。
- 4) Antibarbi (Megimide) の静注により排卵誘発をみたが、その半数以上に痙攣を伴つた。
- 5) 5種の禾本科植物の幼葉を著者等の考案せる方法により抽出し、大麦、燕麦に家兎排卵誘発作用のあることを確めた。
- 6) 著者等の第2段階抽出液を用いた場合燕麦の乾燥葉重量80~130g相当を静注した6例中4例に明らかな排卵を認めた。

拙筆に当り、御懇篤な御指導御校閲を賜つた恩師九嶋教授並びに鈴木助教授に衷心より深甚な謝意を捧げ、終始研究推進に御協力を戴いた渡辺孝也助手及び小林光世助手に深謝する。又薬品並びに材料の一部を恵与せられた田辺始め各製薬会社、東北大農研に謝意を表する。

#### 文 献

- 1) 鈴木雅洲：内分泌と代謝，1：114，1958。—2) 鈴木雅洲：日不妊会誌，4：30，1959。—3) Heape, W.: Proc. Roy. Soc., 76：260，1905。—4) Marshall, F.H.A., & Verney, E.B.: J. Physiol., 86：327，1936。—5) Marshall, F.H.A., Verney, E.B. & Vogt, M.: J. Physiol., 97：128，1939。—6) 小林隆：東大婦同窓会月報，29：1939。—7) Brooks, C.M., Beadenkopf, W.G. & Bofar, S.: Endocrinol., 27：878，1940。—8) Dury, A. & Bradbury, J.T.: Am. J. Physiol., 139：135，1943。—9) Bradbury, J.T.: Am. J. Physiol., 142：487，1944。—10) Velardo, J.T.: Fertil. & Steril., 9：60，1958。—11) Shaw, F.H., Simon, S.E., Cass, N., Shulman, A., Anstee, J.R. & Nelson, E.R.: Nature, 175：402，1954。—12) Coggeshall, R.E. & Mac Lean, P.D.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 98：687，1958。—13) Zeller, P., Pletscher, A., Gey, K.F., Gutmann, H., Hegedüs, B. & Straub, O.: Conference on amine oxidase inhibitors: The New York Academy of Sciences Section of Biology, 1958。—14) Vogt, M.: J. Physiol., 123:

- 451, 1954. — 15) 小林隆: 第8回日産婦総会宿題報告要旨, 1956. — 16) *Markee, J.E., Sawyer, C.E. & Everett, J.W.*: *Rec. Prog. in Horm. Res.*, 7: 139, 1952. — 17) *Linsik, J.A., Paton, B.C., Persky, M., Isaacs, M. & Kupperman, H.S.*: *J. Clin. Endocrinol.*, 17: 416, 1957. — 18) 赤須文男: 脳下垂体, 医歯薬出版, 205, 1955. — 19) 小林隆, 小林拓郎: *臨産誌*, 5: 166, 1951. — 20) *Kupperman, H.S., Epstein, J.A., Elati, M.H.G. & Stone, A.*: *Am. J. Obst. & Gynec.*, 75: 301, 1958. — 21) 長谷川直義, 渡辺孝也, 荒井洋: *日産婦誌*, 11: 296, 1959. — 22) *Dury, A. & Bradbury, J.T.*: *Am. J. Physiol.*, 135: 587, 1942. — 23) *Brown, B.B. & Werner, H.W.*: *J. Pharmacol. & Exp. Therap.*, 110: 180, 1954. — 24) 小林隆: *日産婦誌*, 8: 475, 1956. — 25) 小林拓郎: *日産婦誌*, 7: 1087, 1955. — 26) 坂本正一: *日産婦誌*, 9: 21, 1957. — 27) 来須正男: *脳と神経*, 7: 365, 1955. — 28) *Kehl, R. et Audibert, A.*: *Soc. d. Gynec. et D Obst.*, 9: 322, 1957. — 29) 笹野和枝: *日産婦誌*, 11: 835, 1959. — 30) *Pederson, J.*: *Lancet*, 271: 965, 1956. — 31) *Hahn, F. & Schunk, R.*: *Dtsch. med. Wschr.* 81: 1643, 1956. — 32) 山田俊治, 斎藤浩哉: *綜合臨床*, 7: 9, 138, 1958. — 33) *Friedman, M.H. & Friedman, G.S.*: *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 31: 842, 1934. — 34) *Feiedman, M.H.*: *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 37: 645, 1938. — 35) *Friedman, M.H. & Feiedman, G.S.*: *Am. J. Physiol.*, 125: 486, 1939. — 36) *Hisaw, F.L., Greep, R.O. & Fevoid, H.L.*: *Anat. Rec.*, 67: supp. p. 50, 1936. — 37) *Friedman, M.H. & Mitchell, J.W.*: *Endocrinol.*, 29: 172, 1941. — 38) *Borasky, R. & Bradbury, J.T.*: *Am. J. Physiol.*, 137: 637, 1942. — 39) *Katzman, P.A. & Doisy, E.A.*: *J. Biol. Chem.*, 98: 739, 1932. — 40) 津野清男: *日産婦誌*, 9: 165, 1957. — 41) *Fevoid, H.L., Hisaw, F.L. & Greep, R.*: *Am. J. Physiol.*, 117: 68, 1936. — 42) *Curnow, D.H., Robinson, T.J. & Junder Wood, E.*: *Austral. J. Exper. Biol. & Med. Sci.*, 26: 171, 1948. — 43) *Robinson T.J.*: *Austral. J. Exper. Biol. & Med. Sci.*, 27: 297, 1949. — 44) *Cheng, E.W. et al.*: *J. Animal Sci.*, 12: 507, 1953. — 45) *Dohan, F.C., Richardson, E.M.*: *Stribley, R.C. & Gyorgy, P.*: *J. Am. Vet. Med. Assm.*, 118: 323, 1951. — 46) *Bradbury, R.B. & White, D.E.*: *J. Chem. Soc.*, 3447, 1951. — 47) *Curnow, D.H.*: *Biochem. J.*, 58: 283, 1954. — 48) *Pope, G.S. & Elcoate, P.V.*: *Chem. & Industry*, 1092, 1953. — 49) 渡辺孝也: 第4回日本不妊学会総会講演要旨, 1959. — 50) *Jares, J.T.*: *Am. J. Physiol.*, 101: 545, 1932.

(No. 1211 昭35・1・8 受付)