

性機能に関連せる白鼠視床下部 コリンアセチラーゼ活性の動態

東京大学医学部産科婦人科学教室（主任 小林隆教授）

加 藤 順 三

概要 性機能に関連した脳内就中視床下部のアセチルコリン (ACh) 代謝の内因性動態を、その合成面から分析すべく、aceto-CoA-kinase 系をカップルさせる江橋法に準拠して、成熟及び幼若白鼠脳内コリンアセチラーゼ (アセチルコリン合成酵素, choline acetylase, ChA) 活性を測定して、次の如き実験成績を得た。

成熟正常性周期白鼠における視床下部 ChA 活性値は発情期、発情前期、発情後期及び静止期の順に大きく、一定の周期的変動を示したのに対して、前頭葉及び下垂体の本酵素活性値ではかかる有意の変化はみられなかった。而して、発情前期における排卵刺激のための視床下部興奮の時期に一致して視床下部本酵素活性値の特異的な変動がみられたことは排卵ホルモン放出に於ける視床下部コリン作働性機序の役割りをより一層支持するものと考えられる。更に視床下部を前部及び後部に分けて検討したところ、視床下部 ChA 活性の周期的変動は前部のそれに基づくものであることが判明した。従つて自働反覆する性周期の成立には視床下部とくに前部のコリン作働性機序が何んらかの形で密接に関与していることが示唆された。

去勢後の雌白鼠脳内 ChA 活性の推移を検討すると、下垂体本酵素活性では著変がみとめられなかったが、視床下部活性は著明な上昇を示し、しかもその動態は特異な二峰性を示した。更にこの本酵素活性の増加は主として後部視床下部の変化によるものであることが分つた。ところで一方、雄の場合の視床下部 ChA 活性の増加は一峰性で、雌の場合とは相異つた動きが認められたことは雌雄動物における視床下部の性的分化を示唆するもので興味深い。而して此の去勢後の視床下部 ChA 活性の著明な上昇は性ステロイドの中でもエストラジオール (E) 投与によつてのみ対照値に迄可逆的に還元され、しかもこの効果は主として後部視床下部の抑制に基づくものであることが明らかになった。かくの如く、性ステロイド欠落及び E の負荷に呼応して、視床下部 ChA 活性が鋭敏に反応することは、視床下部、ことにその後部における、エストロゲンの消長に敏感なコリン作働性因子の存在を示唆するものであつて、性ステロイドの中樞神経系へのフィード・バック機序における、視床下部本機構の密接な関与を推定せしめる。尚、性中枢局在の問題とも関連して、視床下部前部及び後部におけるコリン作働性水準の変化と FSH 及び LH 分泌との関係について考察を加えた。

次に Hohlweg 効果 (幼若雌白鼠に大量のエストロゲンを負荷するとゴナドトロピンが分泌されて黄体新生をきたす現象) におけるエストロゲンの中枢侵襲機序を、ChA 活性の面から分析した結果、E. 投与後 6—10 時間を前後して視床下部本酵素活性の特異的な変動が認められた。しかもこの一過性の変動は、従来本効果について動物実験的に推定された排卵刺激のための視床下部興奮の発現時間とよく一致しており、視床下部コリン作働性レベルの変動が排卵刺激のための視床下部興奮に重要な意義を有するものと推察される。

以上の実験成績から、性機能に関連した白鼠視床下部 ChA 活性の特異な動態が明らかにされ、ACh 及びコリンエステラーゼに関する従来の成績と総合検討した結果、間脳視床下部コリン作働性酵素化学的機構がゴナドトロピンの中枢性調節或いは又性ステロイドのフィード・バック機序に極めて重要な役割りを果していることが、かかる ChA 活性の内因性動態の分析から強く推定された。

序 論

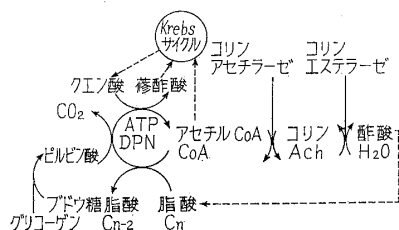
性機能の自律性の維持には間脳、下垂体及び卵巢の基因子からなる閉鎖機能環の成立が不可欠であり、その中でも視床下部は前葉ゴナドトロピン分泌能を中枢性に調節する一方、卵巢からの性ステロイドが上行性に feed back する場合、更には神経性環境と内分泌性環境とが接触しエネルギーの変換が行われる場であると解し得る¹⁾²⁾。

アセチルコリン (ACh) はカテコールアミンと共に中枢性刺激伝達物質の一つとして重要視され、ACh 及びその

関連酵素系の脳内分布等の観点から³⁾、特に視床下部では重要な役割りを果すものと云われる。視床下部のコリン作働性機序と性機能との密接な関係を支持する多くの薬理的・生理学的実験根拠が見出され、ACh の性機能に於ける重要な意義が指摘されるに至つた²⁾⁴⁾⁵⁾。かつて ACh は前葉ゴナドトロピン分泌を支配する mediator (Gonadotropin Releasing Factor, GRF) そのものと解されていたが⁴⁾、現在ではむしろ mediator の産生乃至分泌に関与する中枢機構即ち神経刺激とホルモンとの変換機序に重要な役割りを演じているのではあるまいかと

考えられている¹⁾²⁾。然しながら ACh のかかる意義を推定せしめる根拠の大部分は外因性投与実験に基くものであり、かかる実験の一般的欠陥として *in situ* での真の ACh 代謝の動きが直接反映されていないという点を挙げることができる。従つて性機能に関連せる視床下部の真の ACh 代謝パターンを窺うには是非とも内因性の ACh 代謝を分析する必要がある。生体組織内に於ける ACh 代謝は Nachmansohn による ACh 合成酵素即ちコリンアセチラーゼ (choline acetylase, ChA) の発見により⁶⁾, ACh, その分解酵素であるコリンエステラーゼ (ChE) 及び ChA の三者からなる ACh サイクルを形成し微妙な動的平衡を保つことが明らかとなつた。このうち性機能に関連せる視床下部 ChE⁷⁾⁸⁾ 及び ACh 様物質の動態^{9)~16)} については既に報告されているが, ChA についての研究はいまだ発表されていない。この ACh 合成酵素である ChA 活性は ACh 代謝レベルをしるための最も信頼できる指標であり, 本酵素の検索をまつて初めて ACh 代謝の真のパターンを把握することが可能である (第1図)。

第1図 アセチルコリン代謝 (江橋原図)



従つて著者は性機能に関連せる視床下部 ACh 代謝の動態を, ChA活性の面から分析を行い, 両者の関係について検討を加えた。

実験材料及び実験方法

実験材料: 1) 成熟雌白鼠: Wistar 系, 体重は主として 160±15 g, 混合飼料 (細麦, 野菜等), 自然採光, 室温飼育。成熟雄白鼠: 同系, 体重は 145~200 g, 飼育条件は上と同じ。2) 幼若雌白鼠: 同系, 体重45~50 g, 飼育条件は上と同じ。

脳組織剔除法¹⁴⁾: 断頭放血後速やかに脳全体をとりだし次の組織を剔除した。1) 視床下部: 中央隆起部を中心として頭側は視神経交叉迄, 尾側は乳頭体迄, 左右は視索及び大脳脚迄, 厚さは2~2.5mm, 重量は30mg前後。2) 前部及び後部視床下部: 漏斗を境いとして前部及び後部視床下部に区分した。3) 前頭葉: 前頭極を約40mg。4) 下垂体。

剔除脳組織処理法: 1) 酵素材料 新鮮剔除脳組織を秤量後直ちに 0.03mM 燐酸カリウム緩衝液 (pH6.8) 1.0ml を加え, 氷冷下 Elvehjem-Potter ホモジナイザーで, 合計60秒間ホモジナイズした後, 氷冷した上記緩衝液 1.0ml 2回の操作でナスコルベンに洗い出し, アセトン・ドライアイスを用いて凍結後, 凍結乾燥機 (東大薬学部製) を用いて乾燥標本を作製した。この際, 常に対照標本或いは相対比させる実験標本を組合せ, 凍結乾燥条件による誤差を可及的回避した。上記乾燥標本はコルク栓付小試験管中でシリカゲルを乾燥剤とした密封容器に入れ, deep freezer 内に-10°C以下の温度で酵素活性測定迄保存した。保存期間は主として10日間以内。

2) 抽出法 上記乾燥標本を自動微量天秤 (島津製作所或いは Mettler 社製) によつて0.01mgの桁迄秤量し, ついでポリエチレン遠心管にとり, 氷冷した0.03M 燐酸カリウム緩衝液 (pH6.8) の 1.0ml を攪拌しながら序々に加え, 約1時間時々攪拌を加えながら氷冷下に放置後, 冷凍室内遠心器 (5°C以下) 乃至冷凍遠心器で, 6000×g, 20分間遠心沈澱し, その上清を被検酵素液とした。

酵素反応 (コリンアセチラーゼ反応): 酵素反応には aceto-CoA-kinase を couple させて ChA 活性値を測定する江橋の反応組成を一部改良した方法を使用した¹⁷⁾¹⁹⁾²⁰⁾。反応液は 1.0ml 当り, 酢酸カリウム 5μmol, クエン酸カリウム15μmol, コリン10μmol, 弗化カリウム(1)μmol, 硫酸エゼリン 1μmol, 塩酸システイン15μmol, CoA (Pabst) 10単位²¹⁾²²⁾, ATP 塩 (Pabst 又は Sigma) 3μmol, カリウム80μmol, マグネシウム 3μmol, aceto-CoA-kinase標本15mg, 燐酸カリウム緩衝液30μmol 及び被検酵素液を含み, pH6.8, 38°Cの恒温槽中にて好氣的に60分間反応せしめ生成 ACh 量を測定した。

尚脳組織の含むカリウムは約 300mg%として計算した¹⁴⁾。

生成 ACh 定量法及び酵素単位: 酵素反応液を, 既に発表したと同様の操作に従つて処理した後¹⁹⁾, 生成 ACh 量をエゼリン化蛙腹直筋法²³⁾により ACh 当量として決定した。尚標準塩化 ACh は Roche 社製のものを用い, 測定毎に調製した。酵素単位は pH6.8, 38°Cの条件で, 凍結乾燥標本 1 g 当り 1時間に生成される ACh 量で表われた。

実験成績

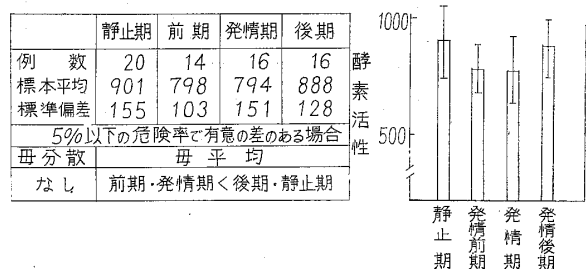
1. 成熟正常性周期白鼠における脳 ChA 活性

性周期に就いては腔脂膏検査にて12日間以上に亘つて確認し、静止期、発情前期、発情期及び発情後期の四期に分け、実験時刻については特に発情前期群では午後2時から午後4時の間²⁴⁾に行われるよう留意した。尚推計学検定は特記しない限り危険率はすべて5%を用いた。

視床下部 ChA:

1) 実験成績及び小括: 各期の平均値は発情期、発情前期、発情後期及び静止期の順に高く、前二者の値は後二者の値に比し、平均に於いて有意に低値を示す。分散については有意差は認められない(第1表及び第2図)。以上の成績から、性周期に関連して視床下部 ChA 活性が一定の周期的変動を示すことが認められた。

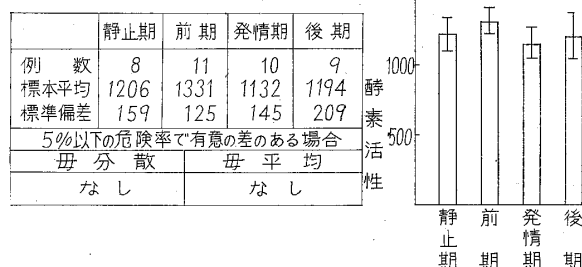
第1表 成熟白鼠正常性周期 第2図 性周期に於けるの視床下部コリンアセチラーゼ活性



前頭葉に於ける ChA 活性:

1) 実験成績及び小括: 性周期各期の前頭葉本酵素活性値には、分散・平均共に有意差はなく、視床下部の場合とは異なつて、有意の周期的変動は認められなかつた(第2表及び第3図)。

第2表 成熟白鼠正常性周期 第3図 成熟雌白鼠正常性の前頭葉コリンアセチラーゼ活性



下垂体に於ける ChA 活性:

1) 実験成績及び小括: 下垂体を5例宛一括して酵素活性を測定した結果、静止期 193及び 189(平均値 166), 発情前期 160及び 135 (148), 発情期 169及び 129

(149), 発情後期 183及び 152 (168) の値を示し、発情前期及び発情期に僅かに低値を示したが著明な差はなく、更に下垂体 ChA 活性値は他の脳活性値に比較して著しく少なく、その変動は生理的意義をもたないものと考えられる。

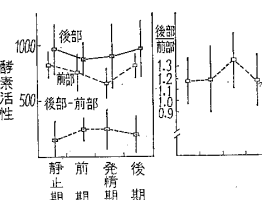
視床下部前部並びに後部の ChA 活性:

性周期に応じた視床下部 ChA 活性の著明な変動が前後両部のいずれに基くものであるかを分析することは性中樞局在の問題とも関連して興味あることである。

1) 実験成績: 視床下部前部の ChA 活性値について性周期各期相互に検討した結果、分散には有意差はみられないが、平均に関しては発情期値は発情前期、発情後期及び静止期の値に比較して最低値を示し、且つ発情後期、静止期の値に対し有意差を認める。後部に就いては前部と異なり分散及び平均共に有意差を示さない。前後両部の関係を後部値/前部値の比及び後部値から前部値を引いた差について検討してみても、いずれも有意差を示さない。前後両部 ChA 活性値の大小については、発情後期では前部値が後部値より大きい場合は8例中2例であるが、発情前期は7例中1例、発情期及び静止期では全例とも後部値の方が大きい。前後両部に就いての相関係数は発情前期、発情期、静止期及び発情後期の順に小さくなるが、有意の相関を示さない。然しながら発情後期の値が特に小さいことが注目される(第3表及び第4図)。

第3表 成熟雌白鼠正常性周期の前部及び後部視床下部コリンアセチラーゼ活性

性周期	静止期	発情前期	発情期	発情後期
例数	8	8	9	8
前部 標本平均	825	751	653	815
前部 標準偏差	120	167	136	104
後部 標本平均	961	870	900	965
後部 標準偏差	221	146	284	256
後部-前部 標本平均	1.173	1.182	1.354	1.175
後部-前部 標準偏差	0.209	0.297	0.244	0.232
後部-前部 標本平均	144	240	241	192
後部-前部 標準偏差	171	100	177	163



2) 小括: 以上の成績から、視床下部前部及び後部 ChA 活性値の変動は全視床下部 ChA 活性の変動とほぼ同様な傾向を示すが、性周期に一致せる有意の周期的変動は前部視床下部のみにみられた。此の所見は、白鼠性周期の律動性維持に視床下部前部のコリン作偽性機序が何んらかの形で関与していることを示唆する。更に又、視床下部 ChA 活性の前後関係について、ACh の場合と同様に¹⁴⁾、ことに発情後期における相関性は低く、前

部と後部との平衡関係の乱れの存在が示唆されたことは興味深い。

白鼠視床下部 ChE 及び ACh は性周期に応じて有意の変動を示すが^{7)10)14)~16)}, ACh 合成酵素である ChA 活性も亦有意の周期的変動を示すことが明らかとなった。即ち、性周期に関連した視床下部コリン作偽性機構の機能水準の周期的変動の存在が、かかる ACh 代謝の内因性の分析から証明された。

排卵刺激との密接な関係が推定されている発情前期の視床下部興奮の時期に一致して²⁴⁾, 該部のコリン作偽性レベルが有意に変動することは排卵機構に於ける視床下部のコリン作偽性機構の役割りをより一層意義づけるものと考えられる。

2. 両側卵巣剔除白鼠に於ける視床下部 ChA 及び下垂 ChA 活性

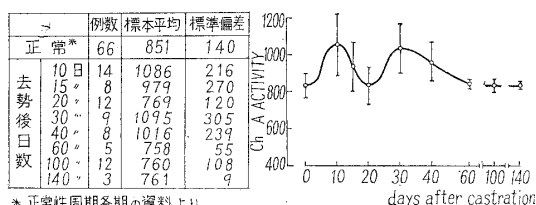
視床下部 ChA 活性:

卵巣を剔除することによつて、間脳・下垂体・卵巣系からなる機能環を離断開放すれば、卵巣ステロイドの視床下部への上行性侵襲はなくなり、視床下部は反射的機能亢進を示し形態的には去勢前葉像の成立、機能的にはゴナドトロピン分泌の増加がみられる^{25)~27)}。此の末梢性ステロイドの欠如に伴う中樞性反応の詳細を分析することは、性ステロイドの中樞への feed back 機構の解明に寄与する所大である。従つて著者はかかる去勢後の視床下部コリン作偽性機構の変化を ChA 活性の面から雌白鼠去勢後10日、15日、20日、30日、40日、60日、100日及び140日の8群に分けて検討した。

1) 実験成績: 去勢後10日群値は対照正常性周期群値に比べて有意に増加するが(1%以下の危険率),更に進んで15日及び20日と漸減し,対照群レベルに迄一旦低下する。しかし30日群値は再び増加し,その後は40日,60日と緩やかに下降して,再び去勢前のレベルに復し,100日,140日群値では最早変動を示さない。即ち第4表及び第5図で明らかな如く,去勢後の視床下部本酵素活性

第4表 去勢成熟雌白鼠視床下部コリンアセチラーゼ活性

第5図 成熟雌白鼠視床下部コリンアセチラーゼ活性に及ぼす去勢の効果



性は20日目の谷をはさんで10日目と30日目とに山をもつ特異な二峯性動態を示す。去勢後10日、15日、30日、40日及び100日群の分散は対照群に比して異なり,平均に関しては10日群は1%以下,30日群並びに40日群は5%以下の危険率で有意に増加している。

2) 小括: 雌白鼠視床下部 ChA 活性の去勢後の動態は特異で,この場合の分散及び平均が正常性周期対照群との間に著明な差を示すということは,去勢後の視床下部 ACh 代謝が正常性周期の場合と明らかに異つた条件下にあることを示すもので,去勢という性ステロイドの上行性侵襲の遮断が視床下部に対して極めて大きな内分泌環境の変化をもたらすものであることを示唆している。

以上,性ステロイドの欠落に伴つて,視床下部 ChA 並びに ChE, ACh⁷⁾¹⁴⁾ が共に著明に反応することは,去勢前葉像の成立並びに前葉ゴナドトロピン分泌増加という事実と一致して興味深く,本現象に於ける視床下部コリン作偽性機構の関与が推定される。

視床下部前部並びに後部の ChA 活性:

性中樞の局在の問題とも関連づけて,去勢後の視床下部 ChA 活性の動態における視床下部前部及び後部の役割りを追究すべく,去勢後10日群の視床下部両部の ChA 活性を夫々定量し,非去勢対照群の夫れと比較した。

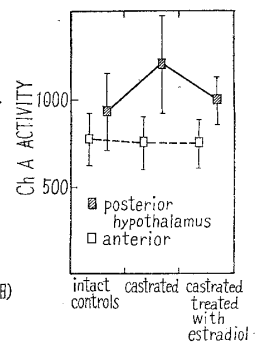
1) 実験成績: 視床下部前部の ChA 活性については去勢群値と対照群値との間に有意差は認められないのに対し,後部については対照群値と去勢群値間で,分散は有意差でないが,平均では1%以下の危険率で有意の差がみられる。後部/前部の比は分散及び平均共に有意差はない。後部値と前部値との差は去勢群で大きく,平均では有意差を認める(第5表及び第6図)。

第5表 去勢雌白鼠視床下部前後両部のコリンアセチラーゼ活性並びにエストラジオールの抑制効果

第6図 去勢後の雌白鼠視床下部前後両部のコリンアセチラーゼ活性並びにエストラジオールの抑制効果(去勢後10日群)

	例数	対照 正常性周期群	去勢 10日群	去勢10日群* 投与去勢群
前部				
標本平均	33	776	751	756
標準偏差		143	154	134
後部				
標本平均	9	930	1203	1001
標準偏差		218	275	137
後部/前部				
標本平均		1.208	1.406	1.305
標準偏差		0.066	0.116	0.201
後部-前部				
標本平均		201	348	246
標準偏差		152	271	120

* Estradiol benzoate, 10r/day. s.c. 頸背部(去勢0H-9H)



2) 小括：去勢後の視床下部 ChA 活性の著増は専ら後部の上昇に基くものであることが明らかとなった。このことは性ステロイドの欠落に敏感なコリン作偽性機構が主として後部視床下部に存在することを示唆するものである。

下垂体 ChA 活性：

実験成績及び小括：去勢後の下垂体活性値は対照値 158 ± 23 , 10日群値 153 ± 33 , 20日群値 123 ± 30 , 40日群値 128 ± 30 , 100日群 106で、漸減傾向を示す。しかし下垂体の ChA 合成能は他の脳活性に比べ、著しく低くその生理的意義は少ないものと考えられる。

3. 両側睾丸切除白鼠に於ける視床下部 ChA 活性

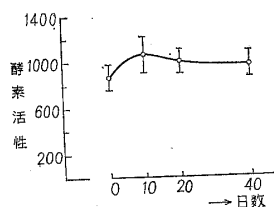
雄白鼠では雌にみられるような性周期は認められず、両者には視床下部レベルでの性的分化の差が存在することが推定される¹⁾。かかる観点から、両側睾丸切除時の視床下部 ChA 活性の動態を追究した。

実験成績及び小括：本酵素活性値の平均については、去勢後10日群は対照群に対して有意であり、去勢後20日群は10%以下の危険率で有意差をもつが、40日群は有意差をもたない。分散についても同様に去勢後10日群が対照群に対して有意差を示す(第6表及び第7図)。

第6表 雄白鼠視床下部コリンアセチラーゼ活性に及ぼす去勢の影響

	正常群	10日	20日	40日
例数	8	8	8	6
標本平均	898	1045	991	947
標準偏差	94	182	122	121

第7図 雄白鼠視床下部コリンアセチラーゼ活性に及ぼす去勢の影響



雄白鼠に於ける去勢後の視床下部 ChA 活性の変化は一峯性であり、雌とは異つた動態を示すことは雌雄動物における視床下部の性的分化の存在を示唆するものであり甚だ興味深い。

4. 去勢雌白鼠視床下部 ChA 活性に及ぼす性ステロイドの影響

性ステロイドの feed back メカニズムに於ける中枢神経機構の関与を解明するために、去勢後の視床下部 ChA 活性の上昇に及ぼす性ステロイドの影響を検討した。

エストロゲンの視床下部及び下垂体 ChA 活性に及ぼす影響：

(1) 去勢後10日の脳 ChA 活性に及ぼす影響

去勢後10日目の著増を示す視床下部 ChA 活性に及ぼすエストロゲンの影響を検討した。

1. 視床下部及び下垂体 ChA 活性

去勢当日から Estradiol benzoate (E.b.) 1日量10 γ を頸背部に連続皮下注射し、10日目に動物を屠殺した。腔脂膏は完全に角化像を呈していた。

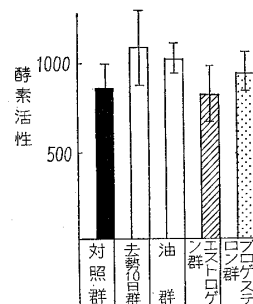
1) 実験成績：E.b. 投与群は平均に関しては去勢無処置群との間には1%以下の、ゴマ油投与群との間には5%以下の危険率をもつて有意に低く、E.b. 投与による抑制が見られる(第7表及び第8図)。

第7表 性ステロイドの去勢雌白鼠視床下部コリンアセチラーゼ活性に及ぼす影響(去勢後10日)

	対照群		性ステロイド投与群		
	去勢群	去勢溶媒群	エストロゲン群	プロゲステロン群	テストステロン群
例数	14	5	11	8	8
標本平均	1086	1021	823	946	973
標準偏差	216	88	150	111	190

* 去勢溶解群: SESAME OIL 0.2ml s.c. 頸背部(去勢0-9日)
 ** エストロゲン群: ESTRADIOL BENZ. 10 γ /day.
 *** プロゲステロン群: PROGESTERONE 1mg/day.
 **** テストステロン群: TESTOSTERONE PROPIONATE 10 γ /day.

第8図 性ステロイドの去勢雌白鼠視床下部コリンアセチラーゼ活性に及ぼす影響(去勢後10日)



下垂体 ChA 活性値については、去勢無処置群、ゴマ油投与群及び E.b. 投与群の値は夫々 153, 160及び 183で相互間に著明な変化はない。

2) 小括：去勢後の去勢前葉像の成立並びにゴナドトロピン分泌亢進がエストロゲン投与により抑制されることはすでに明らかであるが²⁸⁾³⁰⁾、この事実と一致して去勢後の視床下部 ACh 合成能の亢進も又エストロゲンにより還元されることが明らかとなった。去勢後の雌白鼠視床下部経 ACh がエストロゲンにより影響をうけることはすでに報告されており¹⁴⁾、従つて視床下部の ACh 代謝系がエストロゲンに敏感に反応して可逆性をもつことが推定される。かくしてエストロゲンの feed back メカニズムに視床下部コリン作偽性機構が密接に関与していることがより一層具体的となった。

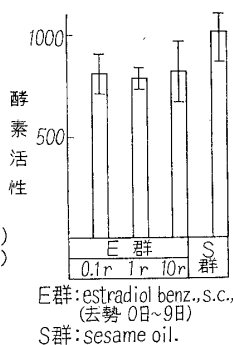
2. 視床下部 ChA 活性の抑制とエストロゲンとの量的関係 (Dose Response)

本項1の実験成績から定性的には、エストロゲンが去勢後の視床下部 ACh 代謝活性の亢進を還元せしめることが明らかとなったが、エストロゲンの投与量と酵素活性との量的関係を検討し抑制量の限界を求めることは興味ある問題である。

第8表 Estradiol の去勢
雌白鼠視床下部コリンア
セチラーゼ活性に及ぼす
効果 (Dose Response)

例数	対照 溶媒群	Estradiol benz. 1日投与量		
		0.1r	1r	10r
標本平均	1021	811	789	823
標準偏差	88	99	54	150

* sesame oil, 0.2ml. s.c. 頸背部(去勢0日~9日)
** estradiol benzoate, " (")

第9図 Estradiol の去勢
雌白鼠視床下部コリンア
セチラーゼ活性に及ぼす
抑制効果(Dose Response)

E.b. の1日投与量により, 10 γ , 1 γ 及び0.1 γ 投与3群に分けた。投与方法は本項1と同様。尚10 γ 投与群及びゴマ油投与群は本項1の成績から得た。

1) 実験成績: 平均に関しては対照群に対して, E.b. 10 γ 投与群は5%以下, 0.1 γ 及び1 γ 投与群は1%以下の危険率で有意に低値を示し, E.b. 投与群相互間では有意差はみられない。即ち0.1 γ の量迄は少くとも有意に抑制する。分散については各群間に有意差はみられない(第8表及び第9図)。

2) 小括: 投与量と本酵素活性抑制との間の定量的な関係は, 少くとも本実験の範囲内では認められなかった。しかしE.b. 1日量0.1 γ 迄はほぼ同じ程度の有意の抑制効果を示した。即ち亢進せる視床下部ACh合成能はエストロゲンに対して極めて敏感に反応する。E.b. 1日量0.4 γ 宛の投与では去勢前葉の出現がみられず³¹⁾, 又去勢後のゴナドトロピン分泌の増加はE.b. の1日量3 γ ³²⁾投与に依つて抑制される。更に, 0.1 γ 投与によつて去勢前葉像が影響をうけることが報告されており³³⁾ 之れらを参考にすれば, かかる微量のE.b. がすでに視床下部コリン作偽性酵素に作用する事実は, エストロゲンに対する視床下部の感受性の点で甚だ興味深い。

3. 視床下部前部並びに後部のChA活性

上記の実験より, 性ステロイドの負の侵襲に敏感なcholinergic component が視床下部後部に存在することが推定されたが, 更に積極的にその存在を証明するためE.b. 1日量10 γ を本項1と同様な方式に従つて投与した。

1) 実験成績: 視床下部前部のChA活性は対照群値とE.b. 投与群値との間で平均・分散共に有意差を示さない。これに対し後部ではE.b. 投与群値は平均・分散

共に有意差をもつて去勢対照群値より低い。後部/前部の比には有意差はなく, 後部値と前部値との差では平均で有意差はないが, 分散は去勢対照群の方がE.b. 投与群より有意に高い(第5表及び第6図)。

2) 小括: 去勢後の視床下部後部のChA活性の上昇はエストロゲン投与により完全に非去勢レベルに迄抑制される。即ち視床下部後部に於けるエストロゲンに感受性あるcholinergic component の存在が強く示唆される。

(2) 去勢後15日目の視床下部ChA活性に及ぼす影響

下降傾向を示すが尚対照値より高い去勢後15日目の視床下部ChA活性にエストロゲンが如何なる影響を及ぼすかをみるため, 去勢後10日目より毎日E.b. の10 γ (E10 γ 群)及び50 γ (E50 γ 群)を夫々頸背部に皮下注射し, 去勢後15日目のChA活性を測定した。臍脂膏は完全に角化像を呈していた。

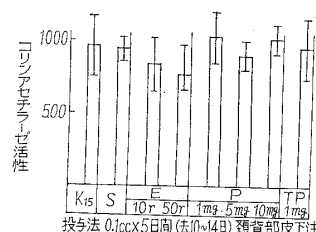
溶媒ゴマ油投与群及び去勢後無処置群とを対照群とした。

1) 実験成績: E10 γ 群はゴマ油投与群に比し低値を示すが, 平均には有意差なく分散のみ有意差を認める。E50 γ 群はゴマ油投与群に比較し分散は有意差をみとめないが, 平均では有意に(1%以下の危険率)低値を示す。即ちかかる大量のE.b. によつて初めて抑制がみられる(第9表及び第10図)。

第9表 性ステロイドの去勢雌白鼠視床下部コリン
アセチラーゼ活性に及ぼす影響(去勢後15日)

例数	対照群 去勢群	エストロゲン群		プロゲステロン群				生理食塩水群
		10r	50r	1mg	5mg	10mg	1mg	
標本平均	963	946	837	768	1023	896	1014	950
標準偏差	210	77	184	103	174	96	98	109

* 1日投与量
** sesame oil, 0.2ml. s.c. 頸背部(去勢後10~14日)
*** estradiol benz., " (")
**** progesterone, " (")
***** testosterone propionate " (")
+ Physiological saline, " ("), 注射したものを含む。

第10図 性ステロイドの去勢雌白鼠視床下部コリン
アセチラーゼ活性に及ぼす影響(去勢後15日)

2) 小括: E.b. 10γの投与では視床下部本酵素活性値の分散の乱れを認めるのみであったが, 50γの投与で初めて有意の抑制がみられた。

此の場合興味ある事は E.b. 10γ群はゴマ油投与群と比較して平均での有意差はみられないのに, 分散は有意に(1%の危険率) 大きい事実である。このことから E.b. 10γ投与によつて視床下部 ChA 活性が何んらかの影響をうけ, 酵素活性動態の乱れが示唆される。

(3) 去勢後20日目の視床下部 ChA 活性に及ぼす影響

去勢後一旦低値を示す20日目の視床下部 ChA 活性に及ぼすエストロゲンの効果をみるため, 去勢後15日目より毎日 E.b. 10γ宛投与し去勢20日目に屠殺して視床下部 ChA 活性を測定した。腔脂膏は完全に角化像を呈していた。注射部位は上記と同様。

1) 実験成績及び小括: 去勢無処置群, ゴマ油投与群及び E.b. 投与群間では, 平均値相互間に有意差はみられないが, 分散については E.b. 投与群はゴマ油投与群より有意に大きい(第10表及び第11図)。従つて, E.b. 投与によつて去勢後20日目の視床下部 ChA 活性が何んらかの影響をうけたものと思われる。

第10表 性ステロイドの雌
白鼠視床下部コリンアセ
チラーゼ活性に及ぼす影
響(去勢後20日)

	去勢群	ゴマ油群	エストロゲン群	プロゲステロン群	テストステロン群
例数	12	11	10	12	10
標本平均	765	722	809	766	919
標準偏差	116	62	235	88	179

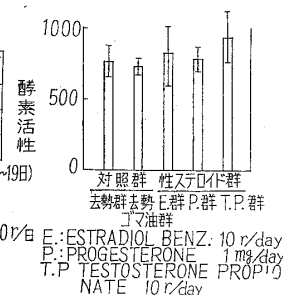
去勢溶媒群: sesame oil, 0.2ml.s.c.(去勢後15-19日)

エストロゲン群: estradiol benzoate, 10γ/日

プロゲステロン群: progesterone, 1mg/日

テストステロン群: testosterone propionate, 10γ/日

第11図 性ステロイドの雌
白鼠視床下部コリンアセ
チラーゼ活性に及ぼす影
響(去勢後20日)



(4) 去勢長期間後の視床下部 ChA 活性に対するエストロゲンの影響—去勢後 100日の場合—

去勢後 100日を経るすでに非去勢群レベルに回復した視床下部 ChA 活性に及ぼすエストロゲンの効果をみるため, E.b. 1γを三日間毎日頸背部に皮下注射し, 最後の注射より24時間後に屠殺して視床下部 ChA 活性を測定した。

1) 実験成績及び小括: 去勢無処置群及び E.b. 投与群間には平均・分散共に有意差は認められず。視床下部

第11表 去勢後 100日の雌白鼠視床下部コリンアセチラーゼ活性に及ぼす Estradiol の影響

	去勢対照群	エストロゲン* 投与去勢群
例数	12	10
標本平均	760	702
S.D.	108	78

* Estradiol benzoate, 1γ/日, S.C., 3日間

ChA 活性はかかるエストロゲン投与によつて何んらかの影響もうけなかった(第11表)。

プロゲステロンの視床下部及び下垂体 ChA 活性に及ぼす影響:

プロゲステロンはエストロゲンと共に性周期の作功に重要であり, 間脳視床下部のレベルに feed back することが推定されている²⁾³⁴⁾³⁵⁾。

前項の場合と同様な実験方式に従つて, 去勢後10日, 15日及び20日目の視床下部及び下垂体 ChA 活性に及ぼす影響を検討した。

(1) 去勢後10日目の視床下部及び下垂体 ChA 活性に及ぼす影響

1) 実験成績及び小括: プロゲステロン 1mg投与群(P 1mg群)の視床下部活性値は対照去勢無処置群及びゴマ油投与群値に比し低値を示すが, P群と対照去勢無処置群との間の分散の有意差を除いては相互に有意差は認められない(第7表及び第8図)。下垂体 ChA 活性値についてはP群値は 148で対照群値 153及び 160との間に著明な差はみられない。

かくの如く, プロゲステロンは去勢後10日目の視床下部及び下垂体 ChA 活性に著明な影響を与えないものと思われる。

(2) 去勢後15日目の視床下部 ChA 活性に及ぼす影響

1) 実験成績: P 1mg及びP 10mg群値は対照群値と比較して, 平均に関しては有意差は認められない。分散についてはP 1mg群のみがゴマ油群に対して有意差が認められる(1%以下の危険率)(第9表及び第10図)。

2) 小括: 此の場合にもプロゲステロンは去勢後15日目の視床下部 ChA 活性に有意の変化をもたらさなかった。ただ投与量によつてその作用が異なり, 特に critical dosis である P 1mg³⁶⁾ 投与によつて分散が有意に大きくなり且つ平均についても $t=1.63 < 1.72 (0.05)$ で5%に近い有意差を示した。このことからこの量のプロゲステロン投与が視床下部の去勢後 ChA 活性に何んらかの影響を及ぼしていることが示唆される。

(3) 去勢後20日目の視床下部 ChA 活性に及ぼす影響

1) 実験結果及び小括：P 1 mg投与群値については分散で有意差がみられるが、平均では有意差は認められず(第10表及び第11図)。去勢後20日目の低値を示す視床下部 ChA 活性にはプロゲステロン投与は影響を与えなかった。

以上、プロゲステロン投与では、エストロゲン投与時にみられたが如き著明な効果は認められず、去勢後15日目のP 1 mg投与群の場合を除いては視床下部 ChA 活性に何んらかの効果を与えたとは考え難い。プロゲステロンの去勢前葉像成立無影響説を支持する成績は多く^{29) 30) 34)}、此等のことと、プロゲステロンが視床下部コリン作偽性酵素に著明な影響を与えなかったという著者の成績とは一致して興味深く、プロゲステロンの中樞性作用は他の何んらかの機序を介して働くものであることが示唆される。

テストステロンの視床下部及び下垂体 ChA 活性に及ぼす影響：

アンドロゲンは雌性機能に於いて性上位部に作用することが推定される³⁷⁾。

去勢後の視床下部及び下垂体 ChA 活性に及ぼすテストステロン・プロピオネイト (T.P.) の影響を前項と同様な実験方式に従って検討した。

(1) 去勢後10日目の視床下部及び下垂体 ChA 活性に及ぼす影響

1) 実験成績及び小括：T.P. 10 γ 投与群の視床下部 ChA 活性値は対照群値に比較し、分散・平均共に有意差を認めない(第7表)。下垂体についても T.P. 10 γ 投与群値は 155で対照群値 153及び 160との間に差はみられない。

少くとも此の程度の T.P. 量は去勢後10日目の亢進した視床下部 ChA 活性に影響を与えなかった。

(2) 去勢後15日目の視床下部 ChA 活性に及ぼす影響

1) 実験成績及び小括：T.P. 1 mg投与群値と対照群値との間には、分散・平均共に有意差はなく、T.P. 投与による影響は認められない(第9表及び第10図)。

(3) 去勢後20日目の視床下部 ChA 活性に及ぼす影響

1) 実験成績及び小括：T.P. 10 γ 投与群の値は分散・平均共に対照群値より有意に高い(第10表及び第11図)。

去勢後一旦低値を示す20日目の視床下部 ChA 活性が

T.P. 1 日量10 γ の連続投与によつて有意に増加することが明らかとなった。

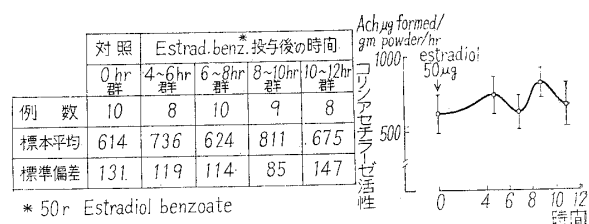
Paesi 等によつて、去勢雌白鼠の下垂体性 FSH に対してテストステロンとエストロゲンとが逆の作用を示す事が観察されており⁴⁰⁾、本実験成績と併せて興味深い。

5. Hohlweg 効果時の視床下部 ChA 活性

幼若白鼠に大量のエストロゲンを負荷すると、下垂体前葉の LH 分泌が促進されて黄体新生をきたす現象は Hohlweg 効果といつて古くから知られており³⁹⁾、本効果は投与エストロゲンの中樞侵襲に基くものであることが推定されており⁴⁰⁾、この場合エストロゲン投与後6～8時間で中樞神経系に於ける必要な反応が完結することが知られている^{41) 2)}。本実験では幼若雌白鼠を正常無処置群、エストロゲン投与後4～6時間群、同上6～8時間群、同上8～10時間群及び同上10～12時間群の5群に区分して Estradiol benzoate 50 γ 油溶液投与後の視床下部 ChA 活性値の時間的経過を観察した。注射部位は頸背部。

1) 実験成績：第12表及び第12図に示す如く、本酵素活性値は4～6時間で上昇、6～8時間で下降、8～10時間で再び上昇、ついて10～12時間で再び対照レベルに復する。4～6時間群値及び8～10時間群値は正常対照群値に対して夫々5%及び1%の危険率で有意である。

第12表 Hohlweg 効果に於ける幼若雌白鼠視床下部コリンアセチラーゼ活性の逐時の変化



2) 小括：此のように、Hohlweg 効果時の大量のエストロゲン投与後6～8時間を前後して視床下部 ChA 活性の一過性変動が発来することが分つた。而もこの時間は動物実験的に推定されている排卵刺激のための視床下部興奮の時間とよく一致し、更に視床下部 ACh も又この時間にほぼ一致して変動がみられるので^{14) 16)}、視床下部コリン作偽性機序が排卵刺激のための視床下部興奮に重要な意義を有するものであることが推察される。

考按並びに総括

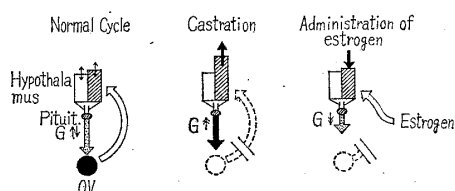
1) 組織内 ChA 活性測定の意味：ACh は元来不安

定な物質であり而もその組織内における分解は極めて迅速である⁴²⁾。従つて多くの因子例えば動物屠殺法、ホモジェナイズ迄の時間と条件、抽出法、他の収縮物質の存在及び ACh 測定法等が組織内 ACh 測定値に影響を与えるので、此等の測定値をある一定の機能と結びつけて相互に比較検討するにあつては極めて慎重を要する^{44)~47)}。性機能に関連した白鼠間脳 ACh 測定値についても、各報告者の間で成績の不一致をみるのは、このためであると推察される。

これに対し ChA は比較的安定な酵素であり^{19) 43)}、上記の条件による影響は少ないものと考えられる。更に江橋法では生成 ACh 量は多く、propionyl-, butyrylcholine の如き蛙腹直筋収縮物質の存在も少なく、測定誤差も小さいので、本法による ChA 活性測定は充分信頼することができる。脳組織に於ける ChA の分布は true ChE より限局されており、ACh そのものの分布とより密接に関係しており、コリン作偽性レベルの判断には最も信頼すべき指標と考えられる^{3) 43) 49)}。従つてこの ChA 活性測定値に、更に ChE 及び厳密な条件下で測定された ACh 値を参考にすれば、生体組織内の ACh 代謝のパターンを把握することが可能である。

2) エストロゲンの中枢神経系への feed back に於ける視床下部コリン作偽性機序の役割： 第13図の模式図に示した如く、去勢による性ステロイドの上行性侵

第13図 エストロゲンの去勢白鼠視床下部コリンアセチラーゼ活性に及ぼすフィード・バック作用 (模式図)



襲の消失の結果亢進した視床下部 ChA 活性はエストロゲン負荷により再び元のレベルに迄還元されることが明らかになった。このことは性機能に関する視床下部 ChA 活性が体内エストロゲン濃度と逆相関関係に於て消長することを示唆している。しかしながらプロゲステロンでは、エストロゲンの場合に見出されたが如き著明な効果は見出されなかつた。去勢前葉像の成立及び去勢後の前葉ゴナドトロピン分泌能の亢進もエストロゲンでは著明に抑制されるが^{28) 30)}、プロゲステロンでは無影響であり^{29) 30) 34)}、之等の事実は視床下部 ACh 合成能の面

からみたエストロゲン並びにプロゲステロンの効果とはからずとも一致して興味深く思われる。去勢後の増加するゴナドトロピンはその早期に於いては一時 FSH が優位であると云われており⁴⁹⁾、若しこれが事実であるならば、去勢後の ChA 及び ACh, ChE の動態^{14) 7)}からみて、視床下部コリン作偽性機構の機能亢進はどちらかと云えば FSH の産生・分泌に関与しているのではあるまいかとも考えられる。

それは兎も角として、雌白鼠視床下部殊にその後部には、エストロゲン sensitive な cholinergic component が存在し、かかる因子がエストロゲンの中枢への feed back 機構のなかに組み込まれており、ゴナドトロピンの産生・分泌に密接に関与しているものと考えられる。

3) 排卵刺激のための視床下部興奮とコリン作偽性水準との関係： 中枢神経で排卵に必要な反応が完結する迄の時間に就ては、正常性周期白鼠に就き Everett 等は発情前期の午後2時から午後4時迄の2時間とし²⁴⁾、Hohlweg 効果の場合に関しては小林・唐沢はエストロゲン注射後6~8時間と報じた⁴¹⁾。性周期に就いて視床下部 ChA 活性は発情前期及び発情期に他の期に対し有意に低下を示す。ACh 様物質及び ChE も発情前期に一過性の変動を示すことが既に知られており^{7) 10) 14) ~16)}、排卵のための視床下部興奮のおこると推定される時期と一致して、視床下部コリン作偽性機構に一過性の変動がおこることが明らかとなった。Hohlweg 効果に関する実験で、視床下部 ChA 活性値は4~6時間で上昇、次いで6~8時間で下降するが、8~10時間で再び上昇という変動が認められた。即ちこの場合にも、排卵に必要な現象が生起すると推定される時間にほぼ一致して視床下部 ChA 活性に変動のおこることが観察された。此等のことは前葉からの排卵ホルモンの放出には視床下部コリン作偽性機序の水準の低下が何んらかの重要な役割を演じていることを推察せしめる。性周期における視床下部 ChA 活性の周期的変動が主として前部視床下部に基くものであることは、去勢後の変化が専ら後部に依るということと相異つて意義深く、排卵のための LH 分泌中枢の前部視床下部存在を支持する従来の実験成績^{52) ~56)}と併せ考えると、排卵ホルモン放出における前部視床下部コリン作偽性機序の重要性を示唆するものと云えよう。尚アドレナリン作偽性機序に関与するモノアミン酸化酵素の性周期及び Hohlweg 効果に於ける視床下部での動態がコリン作偽性酵素系の動態と逆相関を示すこと⁵⁰⁾は甚だ示唆にとむもので、即ち視床下部のコリン並びにアドレナ

リン両作偽性機構の協調が排卵ホルモン放出のために必要なことが窺える。

視床下部前部後部に於ける ChA 活性の定量的差の問題は、性中枢の局在の問題のみならず、純粋に神経化学的な問題としても、従来未だ検討されていず、重要であると思われる。ChA 活性が後部視床下部により多いということはコリン作偽性が後部でより高いものと見做しうるもので、モノアミン活性が前部でより大きいことと併せ考えると⁵¹⁾、視床下部の之らの酵素のかかる定量的分布は自律神経体液性作働因子の局在に関する基礎的問題としても甚だ興味深く、又前部及び後部に於て活性値に定量的差があつても両酵素の活性が認められることは、コリン作偽性並びにアドレナリン作偽性の両機構の分布が混在することを酵素化学的に証明したものといえる。而して、之等の成績は、FSH 及び LH の如きゴナドトロピンの産生・分泌に関与する視床下部前部及び後部の機能分化の問題とも、関連して意義深いものと考えられる。

結 論

白鼠脳コリンアセチラーゼ活性を aceto-CoA-kinase をカップルさせる江橋法に準じて測定することに依り、其の性機能との関連性を追究して次の成績を得た。

1) 成熟正常性周期白鼠に於ける視床下部 ChA 活性は発情期・発情前期・発情後期及び静止期の順序で大きく、前二者の値は後二者の値に比して有意に低値を示し、性周期に関連して一定の変動が認められた。これに反して前頭葉及び下垂体本酵素活性値ではかかる周期的変化は認められなかった。

2) 成熟正常性周期白鼠に於ける視床下部前後両部の ChA 活性値について性周期各期相互に検討した結果、後部本酵素活性値には有意の変動が認められなかったのに対して、前部本酵素活性値に関しては発情期に最低値を示す有意の変化が認められた。

3) 成熟雌白鼠視床下部 ChA 活性は去勢によつて、対照正常性周期群値に対して著明な増加を示した。而してその時間的推移を追究すると、去勢後20日の谷をはさんで、去勢後10日目と30日目にピークをもち、40日、60日、100日及び140日と漸次対照正常レベルに収斂するという特異な二峯性の動態を示した。下垂体 ChA 活性には何んらの変化も認められなかった。

4) 成熟雌白鼠視床下部 ChA 活性の去勢後の増加は視床下部前部の変化に依るものでなく、専ら視床下部後

部の活性値の増加に依るものであることが認められた。

5) 去勢後の成熟雄白鼠視床下部 ChA 活性の変動は雌白鼠の場合とは異にして、去勢後10日で増加するが、その後は緩やかに漸減するという一峯性動態を示した。

6) 性ステロイドの去勢後の雌白鼠視床下部及び下垂体 ChA 活性に及ぼす影響を検討した結果、次の成績を得た。即ち、

1. 去勢後の視床下部本酵素活性値の増加はエストラジオール投与によつて去勢前の値に迄還元された。

2. エストロゲン投与量と去勢後の視床下部 ChA 活性の抑制との間には、比例関係は認められず、Estradiol benzoate 1日量 0.1 γ 迄は有意に且つほぼ同程度に抑制を示した。

3. エストラジオール投与に依る去勢後の視床下部 ChA 活性の抑制は専ら後部視床下部の変化に基づくものであつた。

4. かかるエストラジオールの去勢後の視床下部ChA活性に及ぼす抑制効果は活性増加のみられる去勢後10日群及び15日群では証明されたが、低値を示す20日群では認められなかった。

5. 去勢後100日目の視床下部 ChA 活性に対するエストラジオール投与の効果は認められなかった。

6. プロゲステロン及びテストステロン投与は去勢後の雌白鼠視床下部 ChA 活性に著明な影響を与えなかった。唯少量のテストステロンが去勢後20日の視床下部本酵素活性値に有意の増加をもたらしたことは注目される。

以上の実験成績から、エストロゲンは視床下部 ChA 活性が亢進している条件下で著明にその活性を抑制することが明らかとなつた。更に視床下部特にその後部にエストロゲンの消長に敏感な cholinergic component の存在が示唆された。

7) 幼若雌白鼠に大量のエストラジオールの負荷後 (Hohlweg 効果時) の逐時的検索では、視床下部 ChA 活性に於いて、4～6時間で上昇、6～8時間で下降、8～10時間で上昇という変動が認められ、排卵誘起の過程に於ける視床下部コリン作偽性機構の関与が推定される。

8) 尚雌白鼠視床下部後部の ChA 活性値は前部の夫れより大きく、前部と後部との間に定量的分布差が認められた。

9) 以上の実験成績から、視床下部コリン作偽性機構

昭和38年12月1日

加藤

1303—11

が性機能の中樞性調節に重要な役割りを演じているを明らかにした。

稿を終るに当り終始御懇篤なる御指導と御校閲とを頂いた恩師小林隆教授並びに御指導と御援助とを下された東大薬理学教室熊谷洋教授及び江橋節郎教授に対して、深甚な謝意を表します。尚実験に際して終始御協力を頂いた東大産科婦人科学教室小林拓郎講師及び水口弘司学士をはじめとして教室員各位に衷心より感謝致します。猶帝国臓器株式会社の御援助を深謝する。

本論文の要旨は第34回、第35回日本内分泌学会総会並びに第16回日本医学会総会における小林隆教授並びに小林拓郎講師のシンポジウムの一部をなすものであり、又第12回日産婦総会及び第1回臨床神経学会で発表した。

参考文献

- 1) Harris, G.W.: Neural Control of Pituitary Gland. Edward Arnold. London. 1955. — 2) 小林隆: 第8回日本産科婦人科学会宿題報告要旨, 1956. — 3) Feldberg, W. & M. Vogt: J. Physiol., 107, 372, 1948. — 4) Taubenhaus, M. & S. Soskin; Endocrinology 29, 958, 1941. — 5) Sawyer, C.H., J.E. Markee & B.F. Townsend: Endocrinology 44, 18, 1949. — 6) Nachmansohn, D. & A.L. Machado: J. Neurophysiol., 6, 397, 1943. — 7) 長野: 日産婦誌, 8, 569, 1956. — 8) 千葉: 日産婦誌, 12, 785, 1960. — 9) Gitsch, E.: Zschr. f. Geburtsh. u. Gynäk., 136, 215, 1952. — 10) Gitsch, E.: Arch. f. Gynäk., 182, 52, 1952. — 11) Gitsch, E.: Arch. f. Gynäk., 182, 58, 1952. — 12) Gitsch, E. u. J. Reitninger: Zbl. f. Gynäk. 75, 209, 1953. — 13) Gitsch, E. u. J. Reitninger: Zbl. f. Gynäk., 75, 734, 1953. — 14) 桑島: 日産婦誌, 9, 135, 1957. — 15) 山田: 日産婦誌, 11, 229, 1959. — 16) 関: 日産婦誌, 13, 585, 1961. — 17) 江橋: 酵素研究法Ⅲ, p 310, 朝倉書店, 1957. — 18) 江橋: 酵素研究法Ⅰ, p 714 — 19) 加藤(順) 生化学, 31, 691, 1959. — 20) Kato, J.: J. Biochem. 48, 768, 1960. — 21) Kaplan, N.O., & Lipmann, F.: J. Biol. Chem., 174, 37, 1947. — 22) Novelli, G.: Methods in Enzymology III, 913, Academic Press, New York 1957. — 23) Chang, H.C. & Gaddum, J.H.: J. Physiol., 79, 255, 1933,

- 24) Everett, J.W., Sawyer, C.H. & Markee, J.E.: Endocrinology, 44, 234, 1949. — 25) Hohlweg, W. u. Junkmann, K.: Klin. Wschr., 11, 321, 1932. — 26) Westman, A. u. Jacobsohn, D.: Acta obst. gynec. Scand., 17, 235, 1937. — 27) Evans H.M. & Simpson M.D.: Am. J. Physiol., 89, 371, 1929. — 28) Nelson, W.O.: Anat. Rec., 55, (4) Suppl, 31, 1933. — 29) Greep R.O. & I.C. Jones: Rec. Prog. Hormone Res., 5, 197, 1950. — 30) 竹脇: 生殖腺刺激ホルモン, 協同医書, 昭29年. — 31) Schoeller, W., M. Dohrn u. W. Hohlweg: Klin. Wschr., 15, 1907, 1936. — 32) Hellbaum, A.A., L.G. McArthur, P.J. Campbell & J.C. Finerty: Endocrinology. 68, 144, 1961. — 33) Bogdanove, E.M.: Endocrinology, 72, 638, 1963. — 34) 岩崎: 日産婦誌: 9, 31, 1957. — 35) 小林(拓): 宿題シンポジウム講演要旨, 日本内分泌学会雑誌, 38 (5), 425, 1962. — 36) Everett, J.W.: Endocrinology 43, 389, 1948. — 37) 宮本: 産婦の世界, 11: 1089, 1959. — 38) Paesi F.J.H. & van Rees, G.P.: Acta Endocrinol., 34, 366, 1960. — 39) Hohlweg W.: Klin. Wschr., 13, 92, 1934. — 40) 小林隆: 日産会誌, 35, 767, 1940. — 41) 小林, 唐沢: 日産婦誌, 3, 83, 1951. — 42) 関根: 神経化学(第2版), p 353, 医学書院, 1958. — 43) 江橋: 神経化学(第2版), p 368. — 44) 熊谷, 江橋, 藤田: 生体の科学, 3, 66, 1951. — 45) 中島: 日外会誌, 52, 23, 1951. — 46) 加藤(順): 日本医事新報, No. 1918, p 123, 昭36年. — 47) 黒川, 町山, 加藤, 秋元: 第4回神経化学懇話会抄録, p 15, 1961. — 48) Hebb, C.O.: Physiol. Rev., 87, 196, 1957. — 49) Purves H.D. & Griesbach: W.E. Endocrinology, 56, 374, 1955. — 50) 小林, 小林, 加藤(順), 水口: 第36回日本内分泌学会総会講演, 1963. — 51) 小林, 小林, 加藤(順), 水口: 第3回神経化学懇話会講演, 1962. — 52) Dey F.L.: Endocrinology, 33, 75, 1943. — 53) Hillarp, N.A.: Acta Endocrinol., 2, 11, 1949. — 54) Critchlow, B.V. & Sawyer C.H.: Federation Proc. 14, 32, 1955. — 55) Everett, J.W.: Control of Ovulation, p101, Pergamon Press, New York, 1961. — 56) Barraclough, C.A.: Control of Ovulation, p 113. (No. 1634 昭38・7・1受付)