

視床下部性中枢に対する各種ホルモン及び 薬剤の直接作用に関する研究

群馬大学医学部産科婦人科学教室 (主任 松本清一教授)

伊 吹 令 人

概要 副腎皮質ホルモン, 甲状腺ホルモン, kallikrein, clomiphene など人排卵誘発効果を有すると報告されているホルモンや薬剤が視床下部にある所謂性中枢に対し, どのような直接作用をもつかについて本邦でも欧米でも殆んど研究業績をみない現状なので, 著者は Krieg-Johnson の stereotaxic instrument を用いてラットの視床下部にこれら各種ホルモンや薬剤を移植し, それによつて惹起された下垂体前葉からの FSH と LH の合成と放出の変動をそれぞれ Igarashi-McCann 法と Parlow-McCann-Yokota 法とで定量するという全く新しい研究方法を用いて検討し, 次のような新知見を得た.

- 1) cortisone acetate は正中隆起に作用して FSH 産生を抑制し, LH 放出を促進した.
- 2) ACTH は正中隆起に直接作用して FSH 産生を抑制し, LH 放出を促進した.
- 3) kallikrein, triiodothyronine の中枢作用部位は正中隆起以外の部位である.
- 4) reserpine は正中隆起に作用して FSH と LH の放出をとともに抑制した.
- 5) antiestrogen 作用の強い androgen 剤— 10275 S は正中隆起に作用して LH 放出を促進した.
- 6) pregnenolone, Δ^4 androstenedione, Δ^5 androstenediol, testosterone, estrone 乾燥甲状腺末の合剤である Metharmone F は正中隆起に作用して FSH, LH 分泌に全く変動を与えなかったがこれは各種 steroid の feedback 作用が視床下部のレベルで相殺されるためと考えられる.
- 7) clomiphene citrate は視床下部の正中隆起と前部視床下部及び下垂体前葉に直接作用したが, 視床下部への作用は前葉に対する作用より強かつた. なお FSH に対しては早期に放出のみを一過性に促進するだけであるが, LH に対しては産生と放出を長期にわたり促進する. このことから従来不明だった clomiphene の視床下部及び前葉に対する直接作用が始めて証明され, 人排卵誘発機序解明のための有力な根拠を明らかにした.

結 言

近年生殖現象の中核として間脳下垂体性腺系という概念が導入され, 最近の研究によると視床下部より分泌される FSH-RF, LH-RF が下垂体前葉を刺激して gonadotrophin を分泌させ, これが卵巣を刺激する. この刺激によつて卵巣から分泌された steroid hormone が視床下部下垂体系を逆調節する feedback 機構が存在すること, さらに gonadotrophin 自身が feedback する機序 (short 又は auto feedback) も一部証明されている. したがつて副腎皮質ホルモン, 甲状腺ホルモン, kallikrein など人排卵誘発効果を報告されている各種ホルモンや薬剤は当然視床下部にあるいわゆる性中枢または下垂体前葉に直接作用する可能性が予想される. しかし中枢に対する直接作用はその証明法が極めて困難なために, 欧米でも本邦でも現在までにほとんど報告が見られない. 最近

優秀な人排卵誘発剤として注目されている clomiphene citrate も視床下部や下垂体前葉に作用するのではないかと想像されているが, それを完全に証明した報告はきわめて乏しい. 著者はこれらのホルモンや薬剤をラット脳内の特定部位に移植するという新しい研究方法によつて性中枢に対する直接作用を血中下垂体中の FSH, LH の動態から証明するため次のような研究を行なつた.

研究方法

実験動物としては Wistar 系成熟雌ラットで体重 150~200 g のものを使用し, clomiphene の実験のみ, その他に幼弱雄ラット, 去勢雌ラットも使用した.

脳内移植実験は Lisk¹¹⁾ (1960) および McCann¹⁴⁾ (1964) の方法にしたがい, Krieg-Johnson の stereotaxic instrument を用いて, ステンレス管の中に充填したホルモンまたは薬剤をラット視床

下部の正中隆起，下垂体前葉等に慢性移植した．ステンレス管の太さはホルモンまたは薬剤の種類により多少選択し，cortisone acetate, clomiphene の移植には27ゲージ，その他の移植には20ゲージを用いた．移植は De Groot のラットの脳地図 Stereotaxic Atlas を基準として行ない，27ゲージの針を使用するときは両側性に，20ゲージの針を使用するときは正中に1本を移植した．術直後にマイシリン筋注と5%ブドウ糖の皮下注射を行なった．屠殺は7～14日後に proestrus の日をさけて行なった．エーテル麻酔下に頸静脈より採血し，次に開頭してステンレス管が目的の部位に当たっているかどうかを肉眼的に検し当てないものは実験より除外した．次に下垂体を摘出して後葉をとり除いてから torsion balance で秤量した．甲状腺，胸腺，副腎，卵巣，子宮はそれぞれ秤量したのち10%ホルマリンで固定した．同一群のラットの血液は pool し2000回転20分遠沈して血漿を deep freezer に保存し後に gonadotrophin 活性を定量した．下垂体前葉は homogenize して1下垂体当り4ml の生理的食塩水を加え24時間冷蔵庫内で抽出したのち遠沈して上澄をとり deep freezer 中に保存し，のちに FSH, LH の定量をそれぞれ Igarashi-McCann 法，Parlow の OAAD 横田変法により測定した．

I. cortisone acetate の feedback 作用部位と作用機序に関する研究

方法

27ゲージのステンレス管を使用し cholesterol による稀釈は行なわず原末を融解し，毛細管現象を利用して管内に充填したものを使用した．

成績

正中隆起移植群で卵巣重量が有意に減少したが副腎重量に変化を認めなかつた(表1)．gonadotrophin は cortisone を正中隆起に移植したとき下垂体 FSH の産生が低下し，LH は下垂体含量に変化はないが下垂体移植群および正中隆起移植群で放出の促進がみられた(表2)．

小括と考案

Chowers et al²⁾ (1963) は cortisol を正中隆起

表1 成熟メスラットにおける cortisone acetate 脳内移植の効果

	ラット 頭数	体重	下垂体	卵巣	子宮	副腎
blank →下垂体前葉	7	177.3 [†] ± 5.2	6.0 ± 0.7	50.6 ± 3.1	286.8 ± 34.2	53.3 ± 3.1
cortisone →下垂体前葉	9	174.3 ± 4.0	5.8 ± 0.3	54.5 ± 3.4	256.7 ± 22.6	50.9 ± 1.8
blank →正中隆起	6	171.2 ± 5.1	6.8 ± 0.7	61.7 ± 6.3	280.3 ± 23.5	54.3 ± 4.1
cortisone →正中隆起	7	165.7 ± 4.2	6.7 ± 0.4	47.1* ± 1.6	235.9 ± 18.6	52.4 ± 3.5

† mean ± S.E * 0.05 > P > 0.02

表2 成熟メスラットにおける cortisone acetate 脳内移植の効果

	FSH		LH	
	下垂体中 (μg/pit)	血 中 (μg/10ml)	下垂体中 (μg/pit)	血 中 (μg/10ml)
blank →下垂体 前葉	792.5 (636.7~ 986.5) [†] λ=0.43	31.7 (25.5~ 39.6) λ=0.44	20.7 (14.8~ 29.0) λ=0.13	undetectable
cortisone →下垂体 前葉	652.2 (540.1~ 787.6) λ=0.44	26.8 (22.6~ 31.8) λ=0.33	13.5 (9.5~ 19.3) λ=0.14	7.1 (4.2~ 11.9) λ=0.22
blank →正中隆 起	1379.2 (1092.4~ 1740.9) λ=0.43	30.0 (26.2~ 34.2) λ=0.27	12.6 (8.2~ 19.4) λ=0.17	undetectable
cortisone →正中隆 起	147.2 (125.4~ 172.9) λ=0.30	30.6 (26.6~ 35.3) λ=0.31	14.5 (9.1~ 22.9) λ=0.18	2.9 (2.0~ 4.2) λ=0.13

† 95%信頼限界

に移植して約2週間後には副腎の明らかな萎縮を認め Corbin et al³⁾ (1965) は1週間の移植では副腎重量に差を認めず dexamethasone 移植では有意差を認めた．しかしこの両者とも gonadotrophin は全く測定していない．動物に副腎皮質ホルモンを皮下注射して gonadotrophin の動態を検討した報告は少なく，わずかに Byrnes & Shipley¹⁾ (1950) と五十嵐他⁶⁾ (1960)，五十嵐，関⁹⁾ (1967) があるだけである．Byrnes らは cortisone 0.5～2.0mgを10日間投与して下垂体内 total gonadotrophin が抑制されなかつたと述べ，五十嵐らはラットに prednisolone 50μg および 500μg を20日間投与して，下垂体内 total gonadotrophin が著増し前葉内の gonadotrophin 分泌細胞が増加

昭和43年12月1日

伊 吹

1535—3

することを明らかにした。さらに五十嵐、関は prednisolone 投与により LH の放出が亢進すると報じている。人間では副腎皮質ホルモンを投与して尿中 gonadotrophin の増加を認めた報告はかなり認められる。著者の成績は cortisone が正中隆起に作用して FSH の産生を抑制しさらに LH 放出を促進することを明らかにし、五十嵐・関の皮下注射の成績とよく一致し、しかもその作用部位を始めて明らかにしえたわけである。

Ⅱ. ACTH の feedback 作用部位と作用機序に関する研究

方法

合成 ACTH (Ciba 製薬 Synacthen) 0.5mg を cocoa butter に溶解し20ゲージのステンレス管に充填したものを Wistar 系成熟雌ラットの正中隆起に(正中に1本だけ)移植して7日後に proestrus をさけて屠殺した。

成績

下垂体および副腎重量は低下の傾向を示したが卵巣子宮重量には変化は認められなかつた(表3)。gonadotrophin では下垂体 FSH 含量の低下と、血中 LH の著増が認められた(表4)。

表3 成熟メスラットにおける ACTH 脳内移植の効果

	ラット 頭数	体重	下垂体	卵巣	子宮	副腎
cocoa →正中隆起	8	174.6 ± 4.1	6.9 ± 0.6	45.6 ± 3.9	269.7 ± 17.0	51.7 ± 3.8
ACTH →正中隆起	7	161.0 ± 5.9	6.4 ± 0.3	47.1 ± 2.5	236.0 ± 13.5	44.2 ± 2.8

表4 成熟メスラットにおける ACTH 脳内移植の効果

	FSH		LH	
	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血 中 ($\mu\text{g/10ml}$)	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血 中 ($\mu\text{g/10ml}$)
cocoa →正中隆起	542.5 (465.5~632.5) $\lambda=0.37$	24.3 (21.0~28.1) $\lambda=0.30$	8.6 (6.3~11.7) $\lambda=0.12$	undetectable
ACTH →正中隆起	392.3 (339.1~453.6) $\lambda=0.35$	25.8 (21.4~28.4) $\lambda=0.27$	10.4 (6.7~17.6) $\lambda=0.18$	3.9 (2.7~5.6) $\lambda=0.14$

小括と考案

ACTH の下垂体卵巣系に対する影響についての報告では促進と抑制の報告が入りまじって散見される程度であり、一方 ACTH を正中隆起に移植した報告は Motta et al¹²⁾ (1965) と Corbin & Cohen⁴⁾ (1966) のものがあるのみである。Motta et al は下垂体重量の有意の減少と血中 corticosterone の明らかな低下を認めたが副腎重量は変化せず gonadotrophin にはふれていない。Corbin & Cohen は LH の short feedback の1つの control として ACTH を正中隆起に移植しているのであるが下垂体重量、副腎重量、卵巣・子宮重量にも変化は認めていないし、下垂体 LH 含量にも変動は認めなかつた。しかし血中 LH は測定していないし、FSH も全く測定していない。著者の成績からは ACTH の short feedback (すなわち ACTH の分泌抑制) の際に gonadotrophin に対しては FSH 産生の抑制と LH 放出の促進がおこることが証明された。

Ⅲ. gonadotrophin 分泌に対する kallikrein 脳内移植の効果

方法と成績

既述の方法で kallikrein と cocoa butter を混じ、20ゲージのステンレス管に充填して成熟 Wistar 系雌ラットの視床下部正中隆起に移植し、proestrus の日をさけて7日後に屠殺した。臓器重量では卵巣・子宮が萎縮の傾向を示したが有意差は

表5 成熟メスラットにおける kallikrein 脳内移植の効果

	ラット 頭数	体重	下垂体	卵巣	子宮	副腎
cocoa →正中隆起	6	195.8 ± 6.2	6.6 ± 0.1	62.1 ± 3.2	293.4 ± 18.5	49.3 ± 2.6
kallikrein →正中隆起	7	171.0 ± 7.8	6.9 ± 0.4	53.6 ± 1.6	229.1 ± 22.4	53.4 ± 3.5

なかつた(表5)。FSH は下垂体中、血中とも明らかに低下し、LH は血中への放出が抑制される結果を示した。

考案

ラットに kallikrein を投与すると卵巣重量が増加し、下垂体中 total gonadotrophin 含量が増加

することが報告され (五十嵐他⁷⁾⁸⁾1962), さらに最近の報告⁹⁾ではF SHはほとんど変化がなくL Hの産生と放出が亢進することが明らかにされている. これは著者が得た結果とは異なる. したがって kallikrein のおもな作用部位は正中隆起ではないことが示唆される.

IV. gonadotrophin 分泌に対する triiodothyronine 脳内移植の効果

方法と成績

triiodothyronine (T_3) の原末と cocoa butter とを混ぜて20ゲージのステンレス管に充填し既述の方法で成熟雌ラットの視床下部正中隆起へ移植したが, うち4匹は死亡し残り4匹を7日後に屠殺した. 甲状腺・卵巣・子宮重量に変化を認めなかったが, 副腎重量が有意に増加した. これは死亡率が高かったことと合せて stress が強かつた

表6 成熟メスラットにおけるkallikrein 脳内移植の効果

	F S H		L H	
	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血中 ($\mu\text{g}/10\text{ml}$)	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血中 ($\mu\text{g}/10\text{ml}$)
cocoa →正中隆起	509.0 (450.7~ 574.8) $\lambda=0.20$	54.1 (47.2~ 62.1) $\lambda=0.32$	7.5 (4.9~ 11.5) $\lambda=0.16$	6.1 (4.1~ 9.0) $\lambda=0.16$
kallik- rein →正中隆起	275.0 (236.4~ 321.1) $\lambda=0.35$	17.5 (13.9~ 21.9) $\lambda=0.37$	5.9 (3.8~ 9.3) $\lambda=0.17$	undetec table

めとも考えられる (表7). 下垂体中F SHは T_3 移植により減少したが, 血中F SH, 下垂体中L H, 血中L Hには有意の変動は認められなかった.

考案

甲状腺ホルモンの gonadotrophin に対する影響については下垂体中 total gonadotrophin 含量を増加させるという報告がある一方, 逆に減少させるという報告, ほとんど変化させないという報告もあり全く一致していない. T_3 の正中隆起移植で甲状腺重量に変化がなかったことは T_3 や T_4 の feedback 作用部位がここではないことを示唆するものであろう.

V. gonadotrophin 分泌に対する 10275 S 脳内移植の効果

方法と成績

10275 S は塩野義研究所で開発された含硫ステロイド ($2\alpha, 3\alpha$ -epithio-17 β -hydroxy-5- α -androsterane) で蛋白同化作用が強い androgen であるがその他に抗 estrogen 作用を持つという既述

図1 ラット視床下部正中隆起に 10275 S を移植した時の腔スミアの変化 (上は対照)

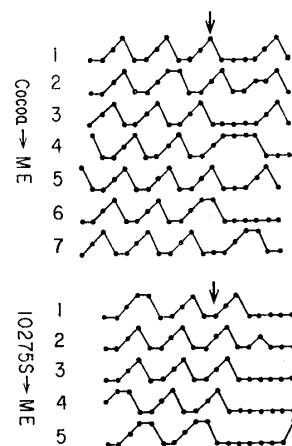


表7 成熟メスラットにおける T_3 , 10275 S, reserpine, metharmon F 脳内移植の効果

	ラット 頭数	体重	下垂体	卵巣	子宮	副腎	甲状腺	胸腺
cocoa →正中隆起	7	170.6 ± 7.0	7.4 ± 0.3	52.3 ± 3.4	248.1 ± 27.9	45.1 ± 2.2	11.9 ± 0.5	171.2 ± 29.1
T_3 →正中隆起	4	155.0 ± 8.9	6.5 ± 0.7	46.0 ± 4.1	184.0 ± 24.9	69.5* ± 6.1	12.3 ± 1.5	175.1 ± 22.7
10275 S →正中隆起	5	192.0 ± 2.7	5.6* ± 0.4	45.9 ± 3.4	135.4** ± 10.6	53.5 ± 4.4	11.6 ± 1.0	141.5 ± 18.5
reserpine →正中隆起	6	174.2 ± 3.8	7.2 ± 0.4	45.3 ± 4.0	209.8 ± 17.7	55.7 ± 4.4	13.7 ± 0.3	134.7 ± 29.7
metharmon F →正中隆起	6	158.5 ± 6.4	5.3* ± 0.3	42.3 ± 3.3	220.2 ± 42.5	51.8 ± 2.8	10.5 ± 1.1	140.4 ± 19.5

* $P < 0.001$ ** $0.01 > P > 0.001$

昭和43年12月1日

伊 吹

1537—5

表8 成熟メスラットにおける T_3 , 10275 S, reserpine, metharmon F, 脳内移植の効果

	F S H		L H	
	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血 中 ($\mu\text{g/10ml}$)	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血 中 ($\mu\text{g/10ml}$)
cocoa →正中隆起	253.4 (218.3~ 366.2) $\lambda=0.33$	24.3 (22.3~ 31.7) $\lambda=0.37$	8.6 (6.3~ 11.7) $\lambda=0.17$	undetec table
T_3 →正中隆起	159.4 (136.2~ 186.4) $\lambda=0.30$	30.3 (26.1~ 35.1) $\lambda=0.32$	7.9 (4.5~ 14.8) $\lambda=0.20$	undetec table
10275 S →正中隆起	564.5 (484.3~ 658.1) $\lambda=0.36$	34.2 (29.4~ 39.7) $\lambda=0.33$	6.6 (4.0~ 10.9) $\lambda=0.20$	1.4 (0.9~ 2.4) $\lambda=0.14$
reserpine →正中隆起	517.6 (450.8~ 594.3) $\lambda=0.33$	26.2 (22.9~ 30.1) $\lambda=0.29$	14.7 (10.1~ 21.5) $\lambda=0.15$	undetec table
metharmon F →正中隆起	302.5 (267.0~ 342.3) $\lambda=0.29$	30.2 (26.4~ 34.5) $\lambda=0.29$	6.7 (4.0~ 11.3) $\lambda=0.20$	undetec table

の方法で cocoa butter に混じた 10275 S を20ゲージのステンレス管に充填し、成熟雌ラットの視床下部正中隆起に移植して7日後に屠殺した。腔脂膏は持続静止ないし静止期の延長となり(図1)下垂体および子宮重量が有意に低下し卵巣重量は低下の傾向を示した(表7)。下垂体中 F S H は有意に上昇したが血中 F S H は変動せず、下垂体 L H に変化はなかつたが血中 L H は増加した(表8)。卵巣は成熟卵胞がやや減少し、黄体はやや増加した。この成績から 10275 S は人でも投与のしかたによつては排卵を誘発しうる可能性が示されたものといえよう。

VII. gonadotrophin 分泌に対する reserpine 脳内移植の効果

方法と成績

既述の方法で20ゲージのステンレス管に cocoa butter と混じて充填した reserpine を成熟雌ラットの視床下部正中隆起に移植して7日後に屠殺すると、卵巣・子宮重量は減少、副腎・甲状腺は増大する傾向を示したが有意差はなかつた(表7)。下垂体 F S H 含量は著増したが血中 F S H は変化せず、下垂体 L H 含量は増加し血中 L H は測定不能であつた(表8)。この成績より reserpine は正

中隆起に作用して F S H, L H の放出を抑制することが示された。

考案

reserpine 1 mg/kg 10~20日間の皮下注射で下垂体、卵巣、子宮、甲状腺重量が激減し卵巣の組織像では卵胞数、黄体数ともに減少し間質腺が発達したこと、F S H と L H の放出が強く抑制されたことを五十嵐・関が報告している。reserpine を脳内に移植した報告は Kanematsu & Sawyer¹⁰⁾ (1963)が行なっているが、このときは下垂体・副腎重量に変化はなく F S H, L H にはふれていない。reserpine を正中隆起に移植したときには下垂体 prolactin 含量は著減し(すなわち血中に放出され)その結果として乳腺の発育がみられたという。著者は乳腺観察をおこなっていないが shift 説よりすれば F S H, L H の下垂体含量の増加は矛盾しないものと考えられる。

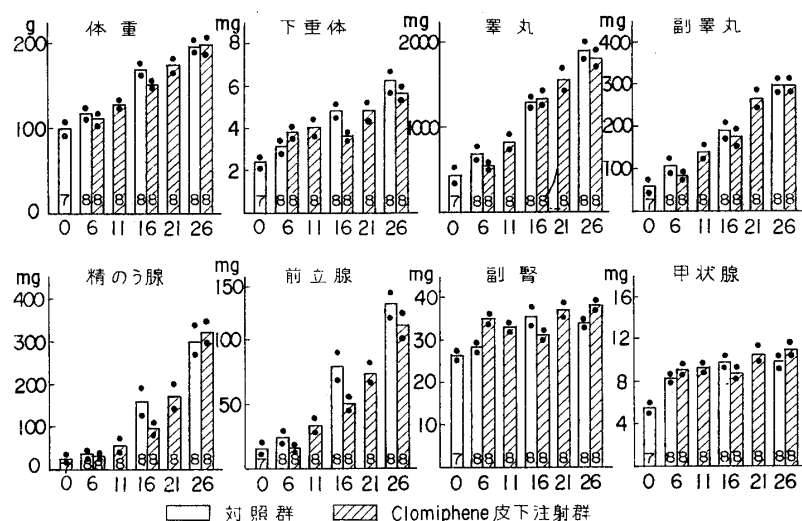
VII. gonadotrophin 分泌に対する Metharmon F 脳内移植の効果

Metharmon F (pregnenolone 1, Δ^4 androstenedione 1, Δ^5 androstenediol 0.5, testosterone 0.1, estrone 0.005乾燥甲状腺末 7.5の割合の混合物)を cocoa butter に混じ、これを既述の方法で成熟雌ラットの視床下部正中隆起に移植した。臓器重量は下垂体重量が減少した他著変なく、腔脂膏にも影響はみられなかつた。また、F S H, L H 分泌にも全く変動を認めなかつた。これは薬剤相互の feedback 効果が相殺されたことを示す可能性がある。

VIII. Clomiphene citrate の作用機序、作用部位に関する基礎的研究

clomiphene citrate はアメリカ Merrell 社の研究者により発見された化合物で臨床的に応用されると無月経や無排卵周期症の婦人にきわめて優れた排卵誘発効果を示すことが認められている。この排卵誘発効果のなりたちに関しては現在までに多くの実験的、臨床的研究が行なわれ発表されているにも拘らずなお十分な解決が与えられていない。逆に動物実験では排卵抑制作用, gonadotrophin 分泌抑制作用, 妊娠阻止作用など臨床効果と

図2 オスラットに対する Clomiphene 1 mg/kg皮下注射の効果



は一見相反する効果が報告され、この矛盾を解決するための研究がいろいろなされている。著者は皮下注射時の gonadotrophin の動態、およびこれを直接脳内に移植したときの clomiphene の間脳におよぼす有接作用を検討して、その作用機序ならびに作用部位について新しい知見を得た。

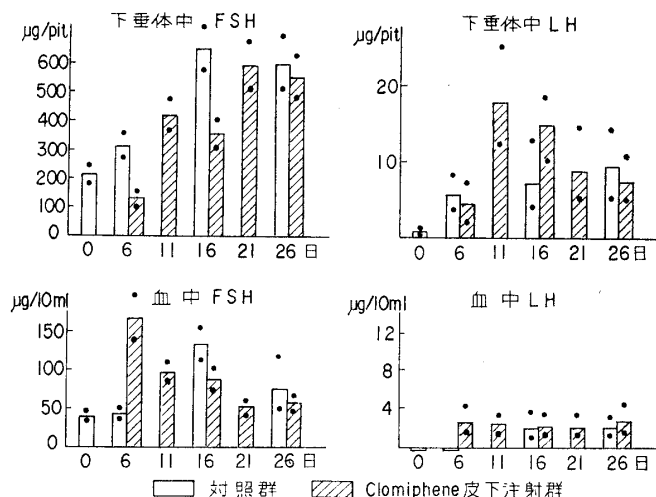
方法

第1, 第2, 第3の実験ではそれぞれ未熟雄, 成熟雌, 成熟雌去勢ラットを使用し, clomiphene citrate のゴマ油溶液を 1 mg/kg 宛1日1回5日間皮下注射した。対照ラットには 0.1 ml/kg 宛のゴマ油を5日間皮下注射した。屠殺は図および表に示した間隔で行なつた。第4, 第5, 第6実験では Kreig-Johnson の stereotaxic instrument を用いて27ゲージのステンレス管に充填した clomiphene citrate を所定の脳内に移植した。第6実験では clomiphene と cholesterol を 9:1 に混合したものを使用した。

成績

第1実験では図2に示したごとく有意差は認められないが、下垂体前葉は対照に比べ一時増大が抑制された傾向がみられ26日目ごろに大体対照まで戻るような傾向を示した。精囊腺、前立腺、副腎でもやはり同様な傾向がみられるが、睾丸、副睾丸ではそのような傾向がみられない。gonadot-

図3 オスラットに対する Clomiphene 1 mg/kg皮下注射の効果



rophin は図3に示したように血中 FSH が6日, 11日に有意に増加し, 下垂体 FSH が第6日に有意に減少したので第6日に FSH の血中放出が証明されたといえる。LH は血中で第6, 第11日に有意に増加し下垂体中でも第11日, 第16日に有意に増加した。すなわち FSH は一過性に放出が亢進し, LH は産生放出ともに亢進した。第2, 第3の実験では成熟雌ラットの膣脂膏は注射を始めた翌々日より proestrus ~ diestrus のごとき状態となりこれが持続した。一方去勢ラットでは対照が明らかな diestrus を示すのに対し clomiphene

昭和43年12月1日

伊 吹

1539—7

表9 成熟メスラットにおける clomiphene 1 mg/kg
5日間注射の効果

	ラット 頭数	体重	下垂体	卵巣	子宮	副腎
対照群 (注射開始後 6日目)	6	215.0 ± 9.7	9.2 ± 0.6	55.3 ± 4.4	439.5 ± 46.6	48.1 ± 2.5
clomiphene 注射群 (注射 開始後6日目)	6	209.0 ± 5.6	11.0 ± 1.0	42.6* ± 3.8	** 281.7 ± 14.4	45.8 ± 2.5
clomiphene 注射群 (注 射開始後15 日目)	6	199.7 ± 6.6	9.4 ± 0.6	32.9† ± 2.1	252.8 ± 18.7	47.0 ± 3.6

* P < 0.02 † P < 0.01 ** P < 0.001

表10 去勢メスラットにおける clomiphene 1 mg/kg
5日間注射の効果

	ラット 頭数	体重	下垂体	卵巣	子宮	副腎
対照群 (注射開始後 6日目)	6	220.5 ± 10.0	7.9 ± 0.9	/	40.3 ± 2.8	61.7 ± 6.2
clomiphene 注射群 (注射 開始後6日目)	6	227.7 ± 8.8	7.5 ± 0.8	/	88.7* ± 6.4	65.3 ± 2.8
clomiphene 注射群 (注 射開始後15 日目)	6	227.5 ± 4.0	7.8 ± 0.4	/	85.2* ± 4.2	58.0 ± 4.0

* P < 0.001

表11 成熟メスラットにおける clomiphene 1 mg/kg
5日間注射の効果

	F S H		L H	
	下垂体中 (μg/pit)	血 中 (μg/10ml)	下垂体中 (μg/pit)	血 中 (μg/10ml)
対照群 (注射開始 後6日目)	96.3 (87.0~ 106.6) λ=0.21	17.4 (8.9~ 33.9) λ=0.24	6.3 (4.2~ 9.5) λ=0.16	undetec table
clomiph- ene 注射群 (注射開始 後6日目)	93.0 (83.9~ 103.2) λ=0.21	16.9 (8.6~ 34.6) λ=0.23	9.4 (6.1~ 14.6) λ=0.17	2.7 (1.9~ 3.9) λ=0.12
clomiph- ene 注射群 (注射開始 後15日目)	79.8 (72.1~ 88.3) λ=0.19	14.7 (6.0~ 36.1) λ=0.27	5.4 (3.5~ 8.4) λ=0.16	undetec table

の注射を始めた翌々日より proestrus を経て estrus に至ったがその後は proestrus~estrus の状態を持続した。表9ないし表10にみられるように成熟雌ラットでは clomiphene 注射群で卵巣および子宮重量が著明に減少したのに対し、去勢ラット

表12 去勢メスラットにおける clomiphene 1 mg/kg
5日間注射の効果

	F S H		L H	
	下垂体中 (μg/pit)	血 中 (μg/10ml)	下垂体中 (μg/pit)	血 中 (μg/10ml)
対照群 (注射開始 後6日目)	289.3 (257.4~ 325.2) λ=0.25	44.2 (24.6~ 79.6) λ=0.25	13.4 (9.3~ 19.1) λ=0.15	2.2 (1.5~ 3.2) λ=0.12
clomiph- ene 注射群 (注射開始 後6日目)	293.1 (284.0~ 302.6) λ=0.22	40.4 (23.0~ 71.1) λ=0.25	13.1 (8.5~ 20.2) λ=0.17	undetec table
clomiph- ene 注射群 (注射開始 後15日目)	331.7 (299.2~ 367.7) λ=0.23	88.2 (48.9~ 157.0) λ=0.24	25.5 (18.5~ 35.2) λ=0.12	undetec table

表13 成熟メスラットにおける clomiphene 脳内
移植の効果 (5日目)

	ラット 頭数	体重	下垂体	卵巣	子宮	副腎
clomiphene →大脳皮質	8	182.9 ± 7.1	7.3 ± 0.5	49.6 ± 3.6	253.3 ± 22.5	55.6 ± 3.0
clomiphene →前部視床 下部	10	174.4 ± 5.3	6.6 ± 0.4	44.9 ± 2.3	238.9 ± 12.1	52.3 ± 2.3
clomiphene →下垂体前葉	6	168.2 ± 3.8	6.5 ± 0.6	43.5 ± 3.5	246.3 ± 12.4	54.3 ± 3.6
clomiphene →正中隆起	9	171.9 ± 5.0	6.7 ± 0.6	46.5 ± 2.7	252.1 ± 12.4	61.3 ± 2.5

表14 成熟メスラットにおける clomiphene 脳内
移植の効果 (15日目)

	ラット 頭数	体重	下垂体	卵巣	子宮	副腎
clomiphene →大脳皮質	9	154.8 ± 5.0	5.5 ± 0.3	37.6 ± 2.6	247.9 ± 22.9	42.6 ± 2.2
clomiphene →前部視床 下部	8	171.3 ± 5.3	5.8 ± 0.2	41.9 ± 3.5	255.2 ± 20.6	47.8 ± 2.2
clomiphene →下垂体前葉	7	173.9 ± 9.0	5.6 ± 0.3	42.7 ± 6.5	269.1 ± 50.6	50.1 ± 3.2
clomiphene →正中隆起	9	167.4 ± 6.9	5.4 ± 0.3	47.4 ± 4.7	308.1 ± 36.6	47.6 ± 1.5

では始め糸のように細かつた子宮が clomiphene 投与後かえって増大した。gonadotrophin は成熟雌ラットでは血中、下垂体中ともに F S H は変化せず、LH は下垂体中で6日目に増加の傾向を示し血中で明らかに増加した(表11)。去勢雌ラットでは F S H が血中で15日目に増加傾向を示したが下垂体中では変化せず、LH は下垂体中では不変であつたが血中放出は抑制された(表12)。

表15 成熟メスラットにおける clomiphene 脳内移植の効果 (30日目)

	ラット頭数	体重	下垂体	卵巢	子宮	副腎
cholesterol →正中隆起	8	176.4 ± 6.9	5.5 ± 0.4	56.2 ± 2.7	266.3 ± 26.6	57.0 ± 2.5
clomiphene →正中隆起	6	188.8 ± 4.6	6.8* ± 0.3	41.1** ± 5.1	218.4 ± 21.9	54.3 ± 2.6
cholesterol →下垂体前葉	5	186.6 ± 7.6	5.4 ± 0.3	56.8 ± 3.5	279.3 ± 21.9	55.1 ± 4.3
clomiphene →下垂体前葉	5	197.4 ± 5.2	6.9 ± 0.8	57.7 ± 2.3	234.6 ± 16.9	52.9 ± 2.3

* 0.05 > P > 0.02 **0.02 > P > 0.01

表16 成熟メスラットにおける clomiphene 脳内移植の効果 (5日目)

	F S H		L H	
	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血 中 ($\mu\text{g/10ml}$)	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血 中 ($\mu\text{g/10ml}$)
clomiphene →大脳皮質	156.5 (139.7~ 175.4) $\lambda=0.26$	21.3 (11.1~ 40.6) $\lambda=0.25$	8.1 (4.3~ 15.2) $\lambda=0.21$	undetec table
clomiphene →前部視床下部	98.0 (88.2~ 109.0) $\lambda=0.22$	32.4 (18.2~ 57.7) $\lambda=0.27$	6.3 (4.2~ 9.6) $\lambda=0.17$	undetec table
clomiphene →下垂体前葉	140.6 (123.8~ 158.9) $\lambda=0.28$	29.6 (15.9~ 55.2) $\lambda=0.26$	9.8 (5.9~ 15.8) $\lambda=0.19$	undetec table
clomiphene →正中隆起	89.5 (78.0~ 102.8) $\lambda=0.28$	23.3 (13.2~ 40.9) $\lambda=0.25$	11.6 (7.6~ 17.8) $\lambda=0.17$	undetec table

clomiphene の脳内移植を行なった実験では、第4、第5実験で臓器重量に変化を認めなかったが(表13, 14), 30日間移植した第6実験では clomiphene の正中隆起、下垂体前葉移植群で下垂体前葉がやや増大の傾向を示し、正中隆起移植群で卵巢重量が明らかに減少し、子宮重量は減少の傾向を示した(表15). gonadotrophin は第5日に正中隆起および前部視床下部移植群で下垂体中 F S Hが減少したが血中 F S Hには有意差は認められず、LHは下垂体中、血中とも変動はなかった(表16). 第15日目に前部視床下部に移植した群では血中 F S Hが増加傾向を示し、血中 LHはこの群と正中隆起移植群で明らかに増加したが下垂体中 LHはほとんど変化を示さなかった(表17). 第30日目には血中、下垂体中 F S Hに変化は認められなかったが、血中 LHは正中隆起移植群と下垂

表17 成熟メスラットにおける clomiphene 脳内移植の効果 (15日目)

	F S H		L H	
	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血 中 ($\mu\text{g/10ml}$)	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血 中 ($\mu\text{g/10ml}$)
clomiphene →大脳皮質	239.9 (156.8~ 365.6) $\lambda=0.16$	24.8 (16.6~ 37.1) $\lambda=0.16$	8.3 (5.9~ 11.6) $\lambda=0.14$	undetec table
clomiphene →前部視床下部	301.2 (207.7~ 436.3) $\lambda=0.18$	42.5 (30.0~ 60.0) $\lambda=0.18$	10.6 (7.5~ 15.0) $\lambda=0.13$	2.7 (2.0~ 3.7) $\lambda=0.10$
clomiphene →下垂体前葉	233.6 (159.7~ 360.2) $\lambda=0.19$	25.8 (18.8~ 44.5) $\lambda=0.19$	9.4 (6.6~ 13.4) $\lambda=0.14$	undetec table
clomiphene →正中隆起	302.2 (206.2~ 466.9) $\lambda=0.16$	24.4 (15.4~ 38.5) $\lambda=0.16$	10.5 (6.4~ 17.1) $\lambda=0.19$	2.6 (1.9~ 3.7) $\lambda=0.12$

表18 成熟メスラットにおける clomiphene 脳内移植の効果 (30日目)

	F S H		L H	
	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血 中 ($\mu\text{g/10ml}$)	下垂体中 ($\mu\text{g/pit}$)	血 中 ($\mu\text{g/10ml}$)
cholesterol →正中隆起	253.6 (151.2~ 403.3) $\lambda=0.17$	39.2 (35.5~ 43.2) $\lambda=0.21$	8.9 (6.3~ 12.4) $\lambda=0.14$	undetec table
clomiphene →正中隆起	249.9 (158.6~ 373.5) $\lambda=0.17$	32.2 (28.7~ 36.1) $\lambda=0.24$	17.7 (10.1~ 31.3) $\lambda=0.21$	3.2 (2.2~ 4.6) $\lambda=0.13$
cholesterol →下垂体前葉	268.2 (152.4~ 447.9) $\lambda=0.20$	21.4 (18.2~ 25.1) $\lambda=0.28$	5.6 (2.5~ 12.5) $\lambda=0.17$	undetec table
clomiphene →下垂体前葉	332.0 (192.0~ 544.8) $\lambda=0.20$	28.0 (25.4~ 30.9) $\lambda=0.25$	11.4 (7.1~ 18.2) $\lambda=0.19$	2.3 (1.6~ 3.3) $\lambda=0.12$

体移植群とで有意に増加し、下垂体 LH も同様の傾向を示した。さらに正中隆起移植群のほうが下垂体移植群よりも増加度が著明であつた(表18).

小括と考案

antiestrogen 剤の1つである clomiphene は弱い estrogen 作用と強い antiestrogen 作用をもつことが知られている(Holtkamp et al⁵⁾1960). 去勢ラットなど内因性の estrogen 欠乏状態では estrogen 作用が著明となり、内因性 estrogen 分泌のある状態では antiestrogen 作用が著明になるといわれている。著者の実験でも成熟去勢ラットで

は陰脂膏の角化，子宮の肥大，子宮内膜の増殖性変化がみられ，成熟正常雌ラットに注射したときは陰脂膏の周期性変化が消失し卵巣および子宮重量は減少した．経口投与では 0.1mg/kg/day で成熟雌ラットの性周期を抑制するが，排卵を完全に抑制するには 1mg/kg/day が必要であるという．

(Holtkamp et al, Segal & Nelson¹⁹⁾).雄ラットでは 5mg/kg/day で精子数は減少する．幼弱雄ラットでは 1mg/kg/day 投与で副性器の発育が抑制されるというが著者の実験でも同様のことが観察された．Holtkamp et al は 1mg/kg 20日間投与で下垂体 gonadotrophin 含量に変化はなかったと述べ，逆に Nelson & Patanelli¹⁸⁾ (1962) は $0.1\sim 25.0\text{mg/kg}$ 宛30日間投与で明らかに下垂体 gonadotrophin 含量は減少したと報告した．教室の佐藤ら¹⁸⁾ (1966) は成熟雌ラットに clomiphene $0.5, 1.0, 2.0\text{mg/kg/day}$ を14日間投与したとき下垂体 FSH 含量は減少の傾向にあり，逆に下垂体 LH 含量は有意に増加したので clomiphene は下垂体の LH 産生並びに放出に重要な役割を演じていることを明らかにしている．また露口²⁰⁾ (1967) は去勢直後の成熟ラットに clomiphene $1\sim 10\mu\text{g/day}$ 5日間投与して LH の産生と放出作用の亢進を認めさらに去勢雌ラットを使用した実験で下垂体 LH が著明に減少したことから，clomiphene には LH の放出作用があると結論した．Roy et al¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾ (1964) は clomiphene をおのおの $0.1, 0.25, 0.5\text{mg/kg}$ 宛34日間注射して未熟雄ラットの前立腺，精囊腺重量が増加したことから IC₅₀ SH 分泌を推論し，さらに放射性 estradiol を使用して未熟雌ラットで clomiphene が子宮，下垂体などにおける estrogen に対する receptor の部位で内因性 estrogen と競合し estrogen の侵入を阻止することを認めた．著者の実験から clomiphene は下垂体からの FSH 放出を一過性に亢進せしめ，次いで LH 分泌の産生と放出とを亢進させることが証明された．このことはわれわれの教室における臨床的研究で clomiphene citrate 投与のさいに尿中 gonadotrophin にみられた変化をよく説明しうるものであ

るが，上記研究者の得た基礎的な研究とは一致する部分もありまた矛盾するところもある．これは結局投与量と投与方法の差によるのであつて，clomiphene が LH の産生と放出作用を有することは間違いのない事実と思われる．

結 論

cortisone acetate, ACTH, triiodothyronine (T_3), 10275 S, reserpine, kallikrein, Metharmone F clomiphene citrate などを脳内に移植してこれの性中枢に対する直接作用を検討し，次の結果を得た．

- 1) cortisone acetate は正中隆起に作用して FSH の産生を抑制し LH の放出を促進すること，また下垂体前葉に直接作用して LH 放出を促進することを認めた．
- 2) ACTH は正中隆起に作用して下垂体中 FSH 産生を抑制し，LH 放出を促進する．
- 3) kallikrein と triiodothyronine のおもな作用部位は正中隆起でないことが示唆された．
- 4) 10275 S の正中隆起移植で下垂体 FSH の有意の上昇と血中 LH の有意の増加を認めた．
- 5) reserpine は正中隆起に作用して FSH および LH の放出を抑制することを認めた．
- 6) Metharmone F の移植では steroid 相互の feedback 作用が相殺される可能性を示した．
- 7) clomiphene citrate は antiestrogen でありながら estrogen 欠乏状態では estrogenic にも働くこと，視床下部と下垂体に直接作用して FSH の一過性放出を促進し，LH に対しては産生と放出を同時に強く促進することを明らかにし，その作用機序と作用部位に関する問題を解決した．

稿を終るにあたり終始御指導をいただき御校閲を賜った恩師松本清一教授に感謝致します．又直接御指導御助言をいただいた五十嵐助教授，御助言御協力下さった久保博士，広野学士，御協力くださった教室員特に FSH 班，LH 班の各位に深く感謝致します．本論文は当教室五十嵐助教授の宿題報告の一部をなし，その要旨の一部は第18回日本産科婦人科学会総会において発表した．

文 献

- 1) Byrnes, W.W. & Shipley, E.G.: Proc. Soc.

Exp. Biol. Med. 74, 308, 1950. —2) Chowers, I., Feldman, A. & Davidson, J.M.: Am. J. Physiol. 205, 671, 1963. —3) Corbin, A., Mangili, G., Motta, M. & Martini, L.: Endocrinol 76, 811, 1965. —4) Corbin, A. & Cohen, A.I.: Endocrinol. 78, 41, 1966. —5) Holtkamp, D.E., Greslin, J. G., Root, C.A. & Lerner, L.J.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 105, 197, 1960. —6) 五十嵐正雄, 佐藤昭吾, 小沢陸男, 保坂 久, 井上定一, 藤間幸道: 日産婦誌, 12, 171, 1960. —7) Igarashi, M., Sato, S., Kubo, H. & Sato, T.: Endocrinol. Jap. 9, 81, 1962. —8) Igarashi, M., Sato, S., Kubo, H.: Zbl. Gynäk 84, 161, 1962. —9) 五十嵐正雄: 第19回日産婦会総会宿題報告要旨, 1967. —10) Kanematsu, S. & Sawyer, C.H.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 113, 967, 1963. —11) Lisk, R.D.:

J. Exper. Zool. 145, 197, 1960. —12) Motta, M., Mangili, G. & Martini, L.: Endocrinol 77, 392, 1965. —13) Nelson, W.O. & Patanelli, D.J.: Fed. Proc. 21, 437, 1962. —14) Ramirez, V.D., Abrams, R.M. & McCann, S.M.: Endocrinol. 75, 243, 1964. —15) Roy, S., Mahesh, V.B. & Greenblatt, R.B.: Acta endocr. 47, 645, 1964. —16) Roy, S., Mahesh, V.B. & Greenblatt, R.B.: Acta endocr. 47, 657, 1964. —17) Roy, S., Mahesh, V.B. & Greenblatt, R.B.: Acta endocr. 47, 669, 1964. —18) 佐藤恒治, 五十嵐正雄, 松本清一: ホと臨, 14, 901, 1966. —19) Segal, S.J. & Nelson, W.O.: Anat. Rec. 139, 273, 1961. —20) 露口元夫: 日産婦会内分泌委員会, 1967.

(No. 2153 昭43・5・13受付)