

卵巣機能に及ぼす Gonadotropin 及び 性ステロイドの影響について

東京大学医学部産科婦人科学教室 (主任 小林 隆教授)

小 林 昭 郎

概要 最近経口的に有効性の高い各種の gestagen 剤が出現し、その長期使用の関係からその作用機序、ひいては間脳下垂体、卵巣間の機能調節機構の解明が望まれて来ている。この解明の一手段として卵巣機能に及ぼす gonadotropin 及び性ステロイドの影響について検討した。

I において gonadotropin が卵巣に与える trophic action に対する progesterone 及び合成 gestagen 剤の作用を幼若雌ラットについて卵巣重量、組織学的検索を試み、gonadotropin の卵巣に対する作用は progesterone, 合成 gestagen 剤投与によつて全く影響をうけないことが立証された。

II において卵巣の分泌の消長を直接卵巣静脈血の性ステロイド測定によつて研究した。ヒト月経周期に於ては排卵に続く黄体期に卵巣よりの estrogen 並びに progesterone の分泌能が高まっている。犬に gonadotropin を投与した場合には卵巣の形態的变化の現われる以前の非常に短時間にステロイド分泌が既に開始することが判明した。

緒 言

gonadotropin の消長が標的臓器である 卵巣と密接な関係を有していることは言うまでもない。すなわち gonadotropin は卵巣に機能亢進的に働かし、また卵巣ホルモンはその血中放出により上位中枢に作用して gonadotropin の分泌を調節するいわゆる feed back 現象をもたらすことは今日よく知られている。

Pincus ら (1955)¹⁾が progesterone の大量経口投与、次いで経口的にも安定で有効性の高い合成 gestagen 剤投与による 排卵抑制を報告して以来その長期使用の関係から、gestagen 剤の排卵抑制機序、ひいては間脳下垂体、卵巣間の機能調節機構の解明が望まれて来た。

この問題の解明には 卵巣性ステロイドの gonadotropin分泌におよぼす影響、および gonadotropin の卵巣に対する作用の二方面から追求する必要がある。第一の問題について 著者は progesterone, estrogen, 並びに gestagen 剤のうち 17 α -ethinyl-19-nortestosterone enanthate, 6-methyl-6-dehydro-17 α -acetoxypregesterone, および 17 α -ethinyl-17 β -hydroxy-estrene などを投与したとき、卵巣の gonadotropin に対する感受性におよぼす影響を検討した。第二に gonadotropin に対する卵巣の

動態については従来卵巣の組織学的研究および尿中ホルモン定量により間接的に卵巣機能を推定するに過ぎなかつたが、Roy and Brown (1960) らおよび Short らによる血中性ステロイドの微量定量法が確立されるにおよんでこれを卵巣静脈血中ステロイド測定に応用し、直接卵巣より分泌された性ステロイドの消長を検討した。

I. 卵巣の Gonadotropin 感受性に及ぼす Progesterone, Gestagens の影響

progesterone およびその他の gestagen 剤の排卵抑制作用が性上位部を介する中枢機序によるものか、あるいは卵巣に対する直接作用であるか現在なお結論が出ていない。gestagen 剤で排卵抑制をおこなつた場合に下垂体 gonadotropin 分泌が抑制されるか否かを臨床的に尿中 gonadotropin の測定により推定して、その作用機序を論じた報告は多い。すなわち Kupperman²⁾ and Epstein³⁾ (1957), および Pincus (1957)⁴⁾ によると閉経期婦人に 19-nortestosterone enanthate を投与すると尿中総 gonadotropin 排泄量が減少することから排卵抑制は中枢機序を介しておこなわれると推定した。正常性周期を有する婦人の場合にも同様の機序によるとする結果が Heller (1957)⁵⁾ らにより報ぜられている。Brown et al (1963)⁶⁾ は正

常性周期婦人, Louwerens et al (1959)⁷⁾は去勢男子, Martin et al (1960)⁸⁾は乳癌患者にそれぞれ gestagen 剤を投与したが gonadotropin の減少を認めなかつたという. また本邦においても根本 (1960)⁹⁾, 矢吹 (1962)¹⁰⁾, 松本 (1960)¹¹⁾らの臨床実験報告があるが, 一般に明らかな gonadotropin 減少を認めたもの, 必ずしも一定の減少傾向を認めなかつたもの, 並びに gestagen 剤投与による影響を全く認めなかつたものなどがあつて, 結果は一致していない. 然しこれらは複雑な機構を介した人における臨床実験であるのでその分析は必ずしも容易ではない. 著者は動物実験によりまず卵巣の gonadotropin 感受性に対して progesterone および gestagen 剤が果して影響を与えるか否かを検討した. もしも progesterone および gestagen 剤の排卵抑制機序が卵巣のレベルに存在するならば, gonadotropin 投与後卵巣にみられる反応は当然これらステロイドによつて抑制されてしかるべきであろう.

1) 幼若ラット卵巣の Gonadotropin 感受性におよぼす Progesteroneの影響

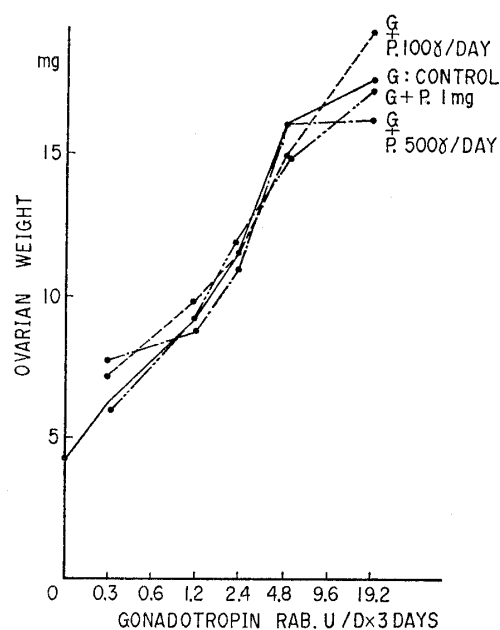
実験材料並びに方法

生後20日の体重30~40gのウイスター系雌ラット5匹を一群とし, 5群を一組として用いた. gonadotropin製剤としてはシナホリン(帝国臓器)を0.6~38.4家兎単位/ml水溶液としたものを用いた. progesteroneはゴマ油に溶解して1回投与量が0.1mlとなるような濃度にした. progesteroneを1日100 γ , 500 γ , 1mg投与したものおよびゴマ油のみ注射した対照ラットの4組を作り, 各組をそれぞれ gonadotropin 1日量0.3, 1.2, 2.4, 4.8および19.2家兎単位宛3日間投与した5群に分けた. このように progesterone および gonadotropin を3日間同時に投与して, 最後の注射から24時間後に断頭屠殺してただちに卵巣重量をトーションバランスにて測定した. さらに gonadotropin 1日2.4家兎単位と progesterone を1日100 γ , 500 γ および1mgとをそれぞれ投与した群も作つた. 秤量後卵巣はホルマリンにて固定, 組織標本を作成した.

実験結果

図1に示すごとく gonadotropin 単独投与の場合の卵巣重量の dose response curve はほぼ投与量に比例した直線的な増加を示している. progesterone を同時に投与した群においても卵巣重量増加曲線はほとんどこの対照群のそれと重なり, 両者間になんら有意の差異を認めなかつた. 10日間連続投与を行なつた場合においても gonadotropin 投与による卵巣重量増加は progesterone 併用投与によつて全く影響が認められなかつた(図2).

図1 卵巣のゴナドトロピン感受性に及ぼすプロゲステロンの影響



また, 組織所見においても gonadotropin 単独投与群と progesterone 併用群との間に全く相違を認めなかつた(図3).

小括

progesterone に関しては従来の報告と同様に種々の量の gonadotropin 投与による卵巣重量増加に対してなんらの影響もおよぼさないと考えられる.

2) 幼若ラット卵巣の Gonadotropin 感受性におよぼす19-nortestosterone enanthateの影響

実験材料並びに方法

生後20日の体重30~40gのウイスター系幼若雌

図2 幼若ラット卵巢のゴナドトロピン感受性に及ぼすプロゲステロンの影響

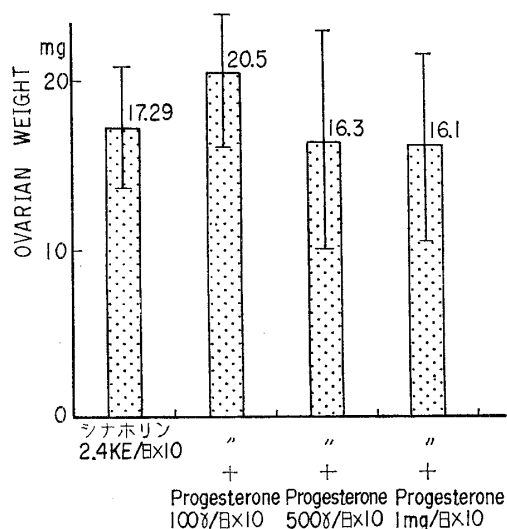
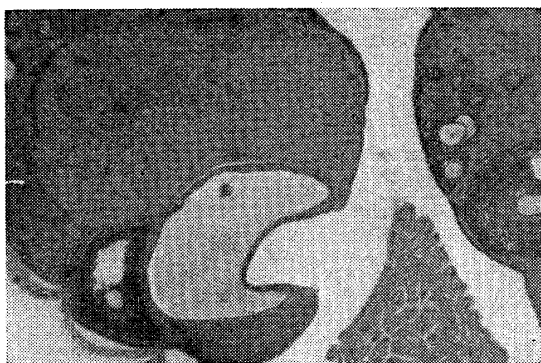


図3 Gonadotropin, Progesterone 併用投与例の卵巢組織



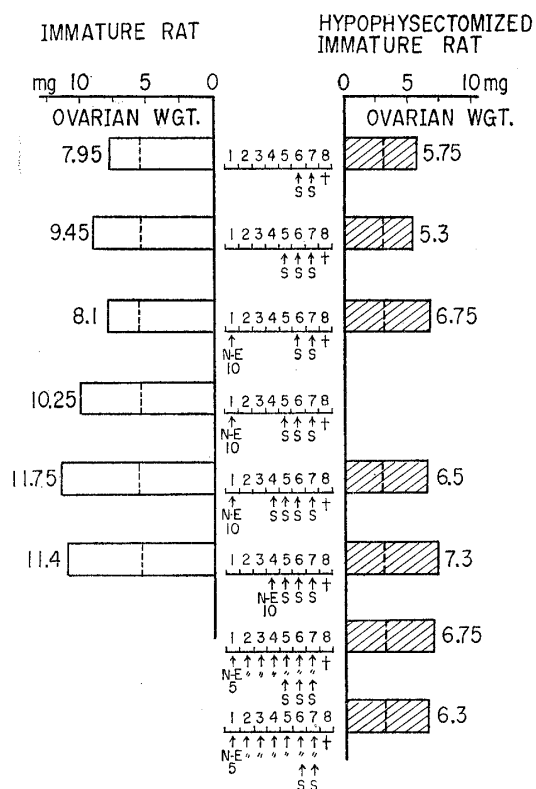
ラット5匹を一群とし、6群を用いた。gonadotropin 製剤は前回と同様にシナホリン（帝国臓器）を1日2.0家兎単位投与した。gestagen は比較的作用持続期間の長い 17α -ethinyl-19-nortestosterone enanthate（塩野義製薬、以下19NTEと省略）1日10mgを投与した。第1群はシナホリン2.0家兎単位2日間連続筋注、第2群はシナホリン2.0家兎単位3日間筋注、この1および2群を対照とした。第3群は19NTE10mg1回筋注後5日目より2日間シナホリン2.0家兎単位筋注、第4群は19NTE10mg筋注後4日目より3日間シナホリン2.0家兎単位連続筋注、第5群は19NTE10mg筋注し、同日よりシナホリン2.0家兎単位を4日間連続筋注した。いずれの群も注射終了24時

間後断頭屠殺した際にトーションバランスで卵巢重量を測定した。

実験結果

図4左側の白いバーに示されているようにシナホリン並びに19NTEの投与形式の如何にかかわらず、卵巢重量の増加は対照群と比較して有意の差が認められなかった。

図4 幼若及び幼若垂別ラット卵巢のゴナドトロピン感受性に及ぼす Norluten E の影響



S: Gonadotropin NTE: Norluten-E

3) 幼若下垂体別出ラット卵巢のGonadotropin感受性におよぼす19NTEの影響

前章の実験方法で常に問題となることは被検ラット自身の有する下垂体前葉よりなんらかの機序を介して gonadotropin が分泌されて影響をおよぼさないかという疑義である。このような可能性の存在は幼若ラットにおける Hohlweg 現象、すなわち大量の estrogen が中枢機序を介して前葉 gonadotropin を分泌せしめ卵巢に黄体の新生を誘起する現象からも充分推定される。かかる可能性のない疑義を除外するためには、下垂体別出幼若

ラットで実験をおこなう必要がある。

実験材料並びに実験方法

生後20日の体重30～40gのウイスター系幼若雌ラットについて経耳的に下垂体剔出術をおこない前章と同様に5匹を一群として7群に分けて使用した。投与形式は第1群は下垂体剔出術後9日目よりシナホリン 2.0家兎単位 2日間連続筋注、第2群は術後8日目よりシナホリン 2.0家兎単位 3日間連続筋注して、この両群を対照とした。第3群は術後3日目に19NTE 10mgを筋注して9日目よりシナホリン 2.0家兎単位宛 2日間連続筋注、第4群は術後3日目に19NTE 10mgを筋注し7日目より4日間シナホリン 2.0家兎単位宛連続筋注、第5群は術後7日目に19NTE 10mgを筋注して、同日よりシナホリン 2.0家兎単位筋注を開始し4日間連続した。第6群は術後3日目より7日間19NTEを5mg連続筋注、8日目より3日間シナホリン 2.0家兎単位を連続筋注した。第7群は術後3日目より19NTE 5mgを7日間連続筋注、9日目よりシナホリン 2.0家兎単位を2日間連続筋注した。各群とも注射終了24時間後断頭屠殺し、たぐちにトーションバランスにて卵巢重量を測定した。秤量後卵巢はホルマリン固定して組織標本を作成した。

実験結果

図4右側の黒いバーで示したごとく、19NTEおよびgonadotropinの投与形式の如何にかかわらず下垂体剔出幼若雌ラットの卵巢重量は対照群と比較して有意の差を認めず、外因性 gonadotropin による卵巢重量増加に対して19NTEは全く影響を与えないことがわかった。

4) 幼若ラット卵巢の Gonadotropin 感受性におよぼす其の他の各種 Gestagen 剤の影響

実験材料並びに実験方法

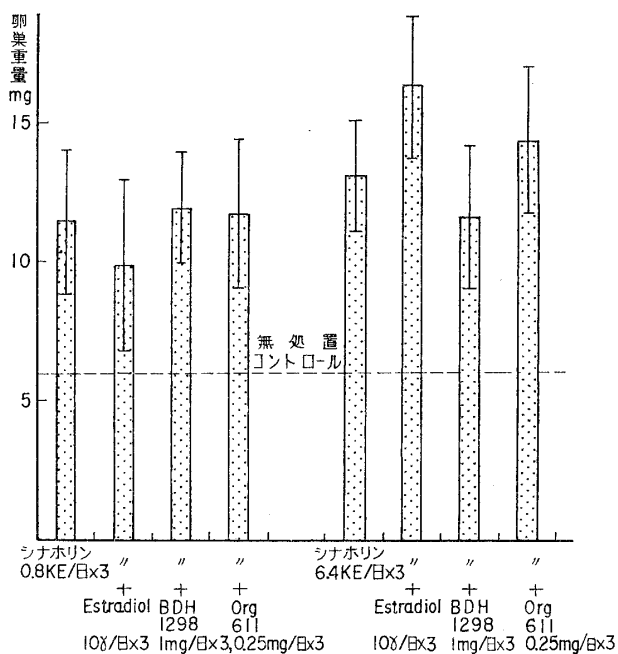
生後20日目の体重30～40gのウイスター系幼若雌ラット5匹を一群とし、8群を使用した。第1群にはシナホリン 0.8家兎単位を3日間連続筋注し、第2群にはシナホリン 0.8家兎単位および estradiol 10 γ を3日間連続筋注した。第3群はシナホリン 0.8家兎単位および 6-methyl-6-hydroxy-

17 α -acetoxyprogesterone (以下 BDH 1298と省略) 1.0mgを3日間連続筋注、第4群にはシナホリン 0.8家兎単位および 17 α -ethinyl-17 β -hydroxy-estrene (以下 org 611と省略) 0.25mgを3日間連続筋注した。第5群にはシナホリン 6.4家兎単位のみを3日間連続筋注、第6群にはシナホリン 6.4家兎単位および estradiol 10 γ を3日間連続筋注、第7群にはシナホリン 6.4家兎単位および BDH 1298を3日間連続筋注、第8群にはシナホリン 6.4家兎単位および org 611を0.25mgを3日間連続筋注した。各群とも注射終了より24時間後に断頭屠殺し、両側卵巢を剔出、周囲組織を除去後たぐちにトーションバランスで重量を測定した。卵巢は前章同様組織標本を作成した。

実験結果

図5に示すごとく BDH, org 両剤投与群ともに対照群と比較して卵巢重量に有意の差が認められなかった。

図5 幼若ラット卵巢のゴナドトロピン感受性におよぼす各種ゲスターゲンスの影響



小括

上記の実験より各種の gestagens は未熟ラット卵巢の gonadotropin 投与による重量増加に対してなんら影響をおよぼしていないと思われる結果

を得た。したがって gestagens には卵巢への直接作用はまずないと推定してさしつかえないと思う。

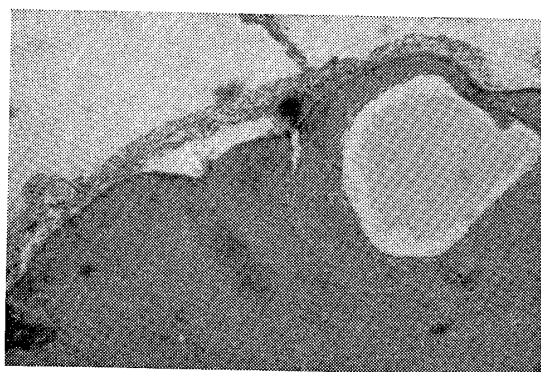
総括並びに考案

種々の投与形式、投与量によつても progesterone, gestagen らは卵巢のレベルにおいて Gonadotropin の作用に全く干渉しないことが示された。矢吹 (1962) は 19NTE について未熟マウスおよび未熟ラットで実験をおこない、卵巢重量増加の抑制を認めたことから、19NTE の排卵抑制機序は下垂体抑制を介するよりむしろ卵巢への直接作用によるものであらうと報じている。Saunders & Drill (1958)¹²⁾によると下垂体剔出ラットの exogenous gonadotropin に対する卵巢の反応は norethynodrel (Enavid) により抑制されないという。一方松本 (1960) は 17 α -methyl-19-nortestosterone および 17 α -ethyl-19-nortestosterone (Norlutein) について下垂体剔出ラットに 11 日間投与したところ外因性 gonadotropin に対する卵巢の反応が抑制されたと異つた報告を提出している。Edgren & Caster¹³⁾ および Harper¹⁴⁾ らは家兎について、Drill らと同様の実験を行なつたが卵巢への直接抑制作用のないことを認めた。

かように全く相反する成績が得られていることは gestagens と gonadotropin の投与形式の相違によることも考えられ、また卵巢重量の増加が黄体形成による増加か、卵胞成熟によるためか、あるいは間質増殖によるものか検討の必要がある。著者はこの点を考慮して各種の投与組合せをおこなつたが、これらの間に有意の差を認めず、gestagen 剤併用投与群の方が gonadotropin 単独投与群よりむしろ卵巢重量増加が多い傾向の群すら認められた。また組織学的に卵巢を検索したところ、全例に黄体の新生を認めた (図 6)。

Meyer & Bradburg (1960)¹⁵⁾ らは estrogen 前処置により外因性 gonadotropin に対する卵巢の感受性を高めることが出来ると報告し、Payne & Runcer (1958) らは Diethylstilbesterol が gonadotropin に対する卵巢の反応を増強するといっているが、本実験結果においても gestagens の有

図 6 Gonadotropin, NTE 併用投与例の卵巢組織



する estrogenic activity が果して卵巢の感受性になんらかの影響をおよぼしているか否かは興味ある問題であるが、今回の著者の実験のみではこの点に関する明らかな回答はなし得ないのでさらに検討を加えたい。

Eckstein & Mandl (1962)¹⁶⁾ は Enavid による同様実験の結果、卵巢に組織学的に見て明らかに黄体を認めており、著者の所見と一致した成績を報じている。

II. Gonadotropin の卵巢ステロイド分泌に及ぼす影響

Kober (1931)¹⁷⁾ により estrogen 呈色反応が考案され、また Stimmel はアルミナ Column chromatography によるステロイド分離精製に成功、次いで Brown et al (1955)¹⁸⁾ により estrogen を methyl ether として分離測定する方法が発表されて以来化学的定量法に基づく尿中 estrogen に関する知見は急速に進歩した。

1960年代に至つてさらに尿中にとどまらず血中 estrogen の測定もある程度可能となつた。中性分画についても血中 progesterone 測定法が Zander および Short (1958)¹⁹⁾ によつて確立されて妊婦末梢静脈血中並びに臍帯血中の該ホルモン測定が行なわれるようになった。

ただし、月経周期におけるホルモン分泌量の変動を末梢血中の卵巢性ステロイド定量により把握することは、その濃度が極度に低いことから困難であるため現在なお尿中に排泄されるホルモンないしその代謝物の測定値から推定しているに過ぎ

ない。然して卵巣の性ステロイド分泌の動態を追求するにあたり、より直接的方法としては卵巣静脈血中のステロイド分析をおこなうことが最も適当であろう。この問題に関する報告はまだ数少く、殊に estrogen と progesterone の両者を測定した文献は見当たらないので、この点を追求するため次の実験をおこなった。

1) 月経周期とヒト卵巣静脈血中ステロイドの変動

尿中への estrogen および pregnanediol の排泄量の推移は下垂体 gonadotropin と卵巣ステロイド産生との因果関係を示唆するものであるが、尿中ステロイドはあくまでもすでに他臓器を経た代謝産物であり卵巣から分泌されているホルモンの動態の直接的な証明になり得ず、卵巣機能ないしその調節機序を知るためには卵巣静脈血中のステロイドを測定する必要がある。

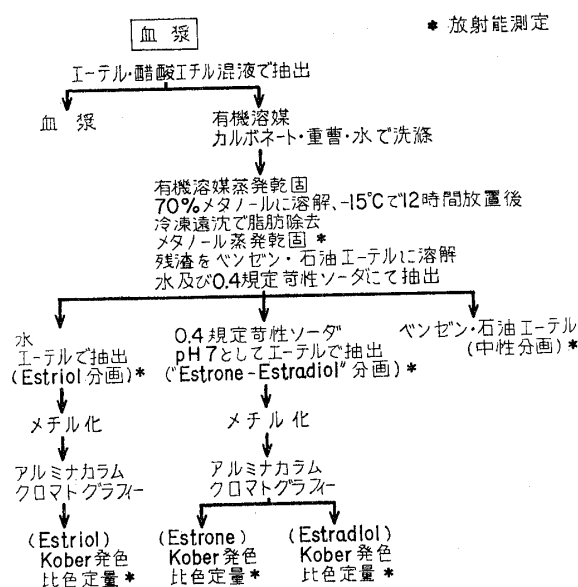
著者は月経周期における卵巣機能の推移を検討するため開腹手術のさいに卵巣静脈より採取した血液中のステロイドの変動を追求した。

実験材料並びに実験方法

正常月経周期を示す30～40才代の婦人で子宮筋腫のため開腹手術をおこなったもの11例（卵胞期4例，黄体期6例，月経期1例）を対象とした。周期の時期決定は術前の基礎体温および剔出標本の子宮内膜所見にもとづいた。開腹後一侧の卵巣静脈（黄体期には黄体の存在する側）を遊離し、ここへヘパリンで内壁をしめしておいた直径2mmのポリエチレン管を挿入して子宮側から流入する吻合枝をペアン鉗子で止めた後、ヘパリンを入れた容器に50 ml 採血した。血液はたゞちに3,000 rpmで15分間遠沈して血漿を分離し、加水分解はおこなわずに遊離型ステロイドのみを対象として有機溶媒で抽出した（表1）。

すなわち倍量の醋酸エチル・エーテル（1：1）混液で3回抽出後有機溶媒を重碳酸ソーダおよび水で洗滌、これを蒸発せしめて70%メタノールに溶解、 -15°C に一晩放置してリポイドを除去した。この上澄メタノールを蒸発させてから石油エーテル、ベンゼン混液に溶解、Brown法のRoy

表1 血中E測定法 (Brown)



& Brown 変法²⁰⁾に基づいて分離、メチル化、アルミナカラムクロマトグラフィー、micro-Kober発色をおこなつて estrogen を測定した。中性分画は R.V Short の方法にしたがつてペーパークロマトグラフィー、あるいは薄層クロマトグラフィーに展開、標準 progesterone と同一 Rf の UV吸収スポットを求めて溶出後エタノール溶液として日立分光光度計で 220, 240, 260 m μ の紫外線吸光度を求め、Allen 補正式により corrected density を求め、標準曲線より μg を求めて定量した。なおこのさい不純物混入のため紫外外部測定困難な場合には再度ペーパーあるいは薄層クロマトグラフィーを反復した。

なお、抽出前あらかじめ血漿中に微量の progesterone-4- C^{14} 0.001 μC および estradiol-4- C^{14} 0.001 μC を tracer として加えその回収率から実測値の補正をおこなった。回収率は estrogen の場合平均85%，progesterone は65%であつた。

実験結果

卵胞期においては estrone が0～0.19 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ ，estradiol が0～0.25 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ とそれぞれ測定されたが前者は本測定法の感度の限界に近い低値のものが多く、estradiolの方がやや多い傾向を示した（表2）。estriolはいずれも測定し得なかつた。2例において progesterone を測定し得たが

1969年1月

小 林

49

表2 卵巣静脈血中性ステロイド (人)
(単位: $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 血漿)

卵 胞 期	例	年齢	E O	ED	ET	P
	No. 1	48	(0.13)	0.20	0.	0.
	No. 2	41	(0.13)	0.25	0.	0.
	No. 3	32	(0.19)	0.	0.	1.9
	No. 4	38	0.	0.21	0.	2.1

きわめて低値であつた。

黄体期では estrone が $0 \sim 2.15 \mu\text{g}/100\text{ml}$ (平均 $0.62 \mu\text{g}/100\text{ml}$), estradiol $0 \sim 2.75 \mu\text{g}/100\text{ml}$ (平均 $1.36 \mu\text{g}/100\text{ml}$) であつた (表3). estriol はいずれも本測定方法の感度の限界以下の値であつた。

表3 卵巣静脈血中性ステロイド (人)
(単位: $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 血漿)

黄 体 期	例	年齢	EO	ED	ET	P
	No. 5	47	0.20	0.	(0.4)	30.8
	No. 6	35	0.35	0.88	0.	42.4
	No. 7	32	0.	2.32	0.	14.3
	No. 8	34	0.	1.54	0.	16.5
	No. 9	41	2.15	2.75	0.	15.4
	No. 10	39	1.0	0.66	0.	44.3
月経期	No. 11	42	0.80	0.	0.	5.4

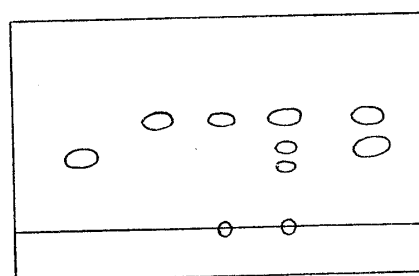
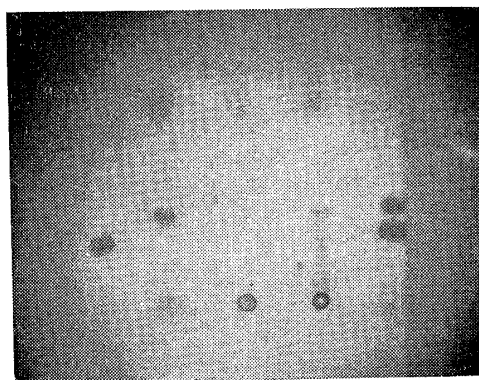
progesterone は全例においてクロマトグラフィーの段階で明瞭なUVスポットを認めており (図7), 量的にも $14.3 \sim 44.3 \mu\text{g}/100\text{ml}$ (平均 $27.3 \mu\text{g}/100\text{ml}$) と estrogen に比して10倍以上の値を示した。

小括並びに考案

Zander et al²¹⁾ もヒトの卵巣静脈血中の黄体ホルモンを測定しており progesterone 並びに 4^4 -pregnen-20 α -ol-3-one を証明し, progesterone の値は著者の成績よりも高値をとるものが多いが実験方法並びに人種の相違も関係しているのであろう。

図7の薄層クロマトグラムにおける紫外線吸収スポットにも明らかに認められるごとく progesterone や 4^4 -pregnen-20 β -ol-3-one よりもさらに極性の高いスポットを大部分の例に証明した。これはおそらく 4^4 -pregnen-20 α -ol-3-one と思われ

図7 卵巣静脈血, 中性分画の薄層クロマトグラム



Δ^4 Prog-20 β ol Prog. No.9 No.7 Prog+ Δ^4 Prog-20 β ol-3one
(標準) (標準) (標準)

ヒト卵巣静脈血
中性分画

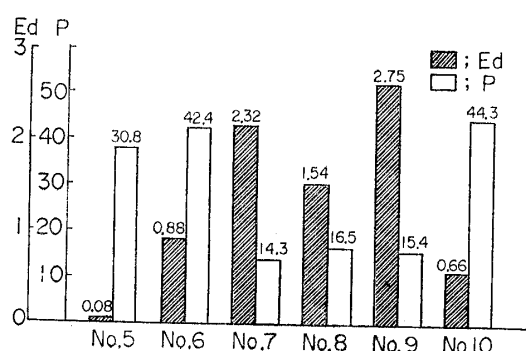
るが標準物質の入手が困難なため今回は定量出来なかつた。

月経周期における尿中 estrogen および pregnanediol 排泄量の従来報告されて来た推移と本実験結果とを比較対照してみると自明の理ながら卵巣静脈血中の estrogen および progesterone の濃度は, 同時期の尿中 estrogen 並びに pregnanediol 排泄量と並行関係にあつていずれも黄体期に高値であり, また著者が測定した3つのいわゆる classical estrogens の中では estradiol の濃度が最も高く Kober 反応でも明らかに estradiol 特有のピンク色の発色を示した。

一方 estrone は micro-kober 反応における感度の限界に近いまたはそれ以下の低値をとるものが多かつた。また estriol はいずれも測定可能範囲以下の値であつた。尿中 estrogen の各分画比は時期的に多少異なるが大体において卵巣静脈血中のそれと全く逆の関係にある。すなわち通常 estriol が最も大量に排泄されついで estrone, estradiol の順に低値となつている。これらの事実は卵巣から分泌される estrogen の主体が estradiol

であり, estroneの形でも少しは分泌されるが尿中の排泄パターンは体内, 主として肝臓らにおける代謝の結果であると言えよう. 中山ら(1965)はヒトの卵巣血流実験において cholesterol ないし C19中性ステロイドより生合成された phenolic steroid は主に estradiol-17 β であつたと報じているが本実験における 卵巣静脈血中の estrogen の形と正に表裏一体をなすもので興味深い. さらに estradiol と progesterone との関係を見ると, estradiol の低い例では progesterone が高値を示し, estradiol が多い例では progesterone が少ない傾向がみられた(表3, 図8). この事実は estrogenの precursor としての progesterone を考えると興味深いものがあるが卵巣1個あたりの分泌量 (secretion rate) の点も考慮した今後の検討が必要であろう.

図8 黄体期 Progesterone と Estradiol との相関関係



いずれにせよ月経周期においては内因性の FSH 並びに LH の作用により排卵ないしそれに続く黄体形成により卵巣よりの性ステロイドの分泌が盛んになることは本実験結果からも間違いのない事実と言える.

2) Gonadotropin 投与に対する卵巣ステロイドの消長

卵巣機能は既述のごとく gonadotropin の支配下にあるが gonadotropin の種類により反応態度に差異のあることが知られている. すなわち, Mason (1961)²²⁾は雌牛の黄体について in vitro で HCG が黄体ホルモン生成を高めるとし, Legault (1960)²³⁾は PMS が luteotropic の作用をもつことを示唆し, さらに Hilliard et al (1961)²⁴⁾は PMS および FSH も in vivo で家兎の卵巣に

における黄体ホルモン分泌を刺激促進し得るが, その作用は HCG にはおよばないと報告している. しかし卵巣静脈血の性ステロイドの消長から gonadotropin の作用を分析した報告は少ない.

著者は犬における PMS および HCG に対する卵巣の反応を卵巣静脈血中性ステロイドを測定することによって観察した.

実験材料並びに実験方法

発情間期の体重10~14kgの成熟雌犬13例を用いた. 5例は4日間連続して PMS (帝国臓器製セロトロピン) を1日 1,000単位宛筋注, 4例は4日間連続して HCG (帝国臓器製ゴナトロピン) を1日 1,000単位宛筋注, 2例は PMS 5,000単位を1回静注, 2例は HCG 5,000単位を1回静注し, 筋注例は最終注射後24時間, 静注例は直後に側腹部より開腹して卵巣静脈を遊離し, ここにあらかじめヘパリンを注入したシリコン被膜ポリエチレン管(経4mm)を挿入固定し, 子宮吻合枝は結紮して子宮よりの血液の流入を防止したのちヘパリンを入れた容器に採血した. 血液は直ちに 3,000回転15分遠沈して血漿を分離し, 前述のごとく estrogen は Roy & Brown 法, progesterone は Short 法によつて抽出測定した. 前述のごとく遊離ステロイドのみを抽出した.

実験結果

(1) PMS 筋注例

PMS 筋注投与例の結果は表4に示すごとく, 5例の平均値は estrone; 0.47 μ g/100ml, estradiol; 0.53 μ g/100ml, progesterone; 33.9 μ g/100ml, であつた. estrogen 値については micro-kober 法では 0.20 μ g/100ml が感度下限であるから, それに近い値ないし以下のものについては解釈には慎重を要する. estradiol 値のうち, kober 発色で典型的なピンク色に発色し, 吸光度曲線からも estradiol と考えられたものは No. 1, No. 3, No. 6 であるが, 絶対量が少ないため充分な同定は不可能であつた. いずれにせよ, estradiol はイヌ卵巣より分泌される主な estrogen であると考えられた. progesterone は5例中3例のみ測定し得たが, ベーパーないし薄層クロマトグラフィー上で UV 吸収スポットを認めたものを溶出したので progesterone と考えて間違いのないと思う. 家兎卵巣静脈血中の主な黄体ホルモンであるとされて

表4 PMS投与後の卵巣静脈血中性ステロイド含有量(犬)(単位: $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 血漿)

例 数	E O	E D	E T	P
No. 1	0.46	1.09		—
No. 2	0.13	0.28		38.5
No. 3	0.92	0.09		27.8
No. 4	0.36	0.20		35.6
No. 5	—	0.		—
平 均	0.47	0.53		33.9

いる 20α -hydroxy-pregn-4 ene-3 one と思われる progesterone よりもやや極性の強いスポットが常に認められたが、該ステロイドの標準物質が入手出来なかつたので定量はしなかつた。しかしUV吸収スポットの濃度、大きさから判断して量的には progesterone より大分少ないと思われた。

(2) HCG筋注例

HCG筋注例では、平均 estrone; $0.25\mu\text{g}/100\text{ml}$, estradiol; $0.29\mu\text{g}/100\text{ml}$, progesterone $60.2\mu\text{g}/100\text{ml}$ であつた(表5). estrogen ではやはり estradiol がやや多い傾向にあるがPMS筋注例にくらべると低く、これに反して progesterone はHCG筋注例の方が多量分泌されている結果となつた。

(3) PMSおよびHCG静注例

PMSおよびHCGを静脈注射した場合、先ず両者ともそれぞれ1,000単位静注後1ないし3時間の卵巣静脈血中ステロイドは検出し得なかつた。PMS, HCGをそれぞれ5,000単位宛静注した後の卵巣静脈血中ステロイドは表6に示すごとく、すでに静注後1時間以内に progesterone の分泌が始まつており、注射後2時間から3時間まで採血した血液中にはさらに多量に測定し得た。ここでもHCG静注後は 18.9 ないし $53.7\mu\text{g}/100\text{ml}$ とPMS静注後の 9.2 ないし $29.6\mu\text{g}/100\text{ml}$ に比較して多量の progesterone を検出し得た。estrogen 値は本実験ではややバラツキが多くて一定の傾向を把握することが困難であつた。

小括

PMS, HCGいずれも gonadotropin として純粋な形に作られているわけではなく、大体において前者はFSH的、後者はLH的作用を持つと考えられているが、本実験ではPMS投与後は estrogen の増量が比較的によく、HCG投与後は

表5 HCG投与後の卵巣静脈血中性ステロイド含有量(犬)(単位: $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 血漿)

例 数	E O	E D	P
No. 6	0.30	0.85	90.5
No. 7	0.49	0.20	80.5
No. 8	0.17	0.	—
No. 9	0.03	0.11	10.0
平 均	0.25	0.29	60.2

表6 PMS及びHCG静注後の卵巣静脈血中性ステロイド(犬)(単位: $\mu\text{g}/100\text{ml}$ 血漿)

	例数	採血時間	E O	E D	P
P M S	No. 1	1 時間後	0.25	0.15	9.2
		2~3時間後	1.10	0.	28.0
	No. 2	1 時間後	0.20	0.43	11.3
		2~3時間後	1.05	0.	29.6
	平均値		0.65	0.15	19.5
H C G	No. 3	1 時間後	0.36	0.69	20.0
		2~3時間後	0.	0.53	53.7
	No. 4	1 時間後	0.21	0.	18.9
		2~3時間後	0.93	0.47	33.0
	平均値		0.38	0.42	31.4

progesterone の増量が多いことは当然の結果とはいえ興味深い。この estrogen と progesterone との量的関係は前述したヒト卵巣静脈血中の両者の関係と比較してみると相通ずるものがある。また gonadotropin を静注した場合には1ないし3時間ですでに卵巣ステロイド分泌が開始されることから卵巣の反応が始まつていることが判明した。この時期にはもちろん黄体形成は見られないにもかかわらず progesterone の分泌が行なわれていることが推定される。これは従来考えられていた黄体あつての黄体ホルモンという概念とは必ずしも一致しない興味ある所見である。ヒトの月経周期の場合も排卵期の近い卵胞期で絶対量こそ少ないが2例において卵巣静脈血中に progesterone を明らかに証明したこととも合わせ考えると、卵巣における Steroidogenesis, 就中 progesterone 合成は大量の gonadotropin が作用するとただちに開始すると考えて大過なからう。事実 Hilliard らも家兎に gonadotropin 投与あるいは交尾せしめた後1時間以内に卵巣よりの progestin 分泌を認めている。また正常月経周期の卵胞期にすでに尿中 pregnanediol がかなり排泄されていること

が Kloppe²⁵⁾ らにより証明され、また Smith & Smith²⁶⁾ も排卵前の卵胞から集めた卵胞液中に progesterone を証明していることから著者の実験成績の裏付けがなされていると思う。

なお estrogen のうち estriol 分画についても測定したが、使用した血漿量に比し濃度が低いため不純物混入があり測定が困難であつたので除外した。

全編の総括並びに結語

以上卵巣機能におよぼす gonadotropin および性ステロイドの影響について研究した。先ず I においては主として卵巣の重量、組織所見などを中心とする形態学的所見を基盤にして、gonadotropin が卵巣に与える trophic action に対して progesterone および合成 gestagen 剤がどのように影響するかを検討した。その結果ラット卵巣に対する gonadotropin の作用は progesterone および合成 gestagen 剤投与によつて全く影響をうけないことが立証された。すなわち、gonadotropin 分泌が正常に行なわれていれば progesterone, gestagen 剤などは卵巣機能に全く影響を与えないといえよう。したがつてヒトや家兎における gestagen 剤の排卵抑制作用は卵巣への直接作用によるものではなくて中枢を介する下垂体 gonadotropin 分泌抑制のためと考えてよからう。

II においては卵巣のステロイド分泌の消長を直接卵巣静脈血の性ステロイド測定によつて研究した。

すなわち、ヒトの月経周期においては排卵に続く黄体期に卵巣よりの estrogen 並びに progesterone の分泌能が高まり、量的に後者は前者の約10倍前後が分泌されており、estrogen の中では estradiol が最も多く証明された。

犬に gonadotropin を投与した場合には非常に短時間で、卵巣の形態学的変化のあらわれる以前にステロイド分泌が開始された。

また FSH の作用の強い場合には estrogen, LH の作用の強い時には progesterone の増加の方が目立つたが、両者とも増加した。

ステロイドの生合成経路から考えると progesterone は estrogen の precursor に相当するわけで

あるので、性周期において両者の増減の時期がほぼ一致しているのは容易に理解し得る。また时期的にほぼ一致して増加はしても、ヒト卵巣静脈血中で見られた estradiol が高い場合 progesterone はむしろ低く、前者が低い例では後者が高い傾向にあつたのは、progesterone の段階からさらに進んで aromatization を受ける所に到るまでの酵素系の作用の差により、ある場合には progesterone まで反応が止まり該ホルモンが分泌される量が多くなり、他の場合にはさらに最終段階の estrogen まで容易に進む場合があるためであらう。

稿を終るに臨み御指導御校閲を賜った恩師小林隆教授に謹んで感謝の意を捧げると共に、直接御指導御鞭撻を戴いた中山徹也助教授、小林拓郎助教授、山本皓一講師、荒井清博士に感謝します。

文 献

- 1) Pincus: Paper represented to the 5th International Conference on Planted Parenthood, Tokyo 1955. —2) Epstein & Kuppman: Ann. N.Y. Acad. Sci. 71: 560, 1958. —3) Kuppman et al.: In proc. of Symp. on 19-norprogestational steroids, Searle & Co. Chicago 1957. —4) Pincus, G.: Proceeding of Symposium of 19-norprogestational steroids 105, 1957. —5) Hiller: In proceeding of symp of 19-norprogestational steroids 97, 1957. —6) Broron et al.: J. Endocrinol. 25: 331, 1962. —7) Louwerens et al.: Acta Endocr. 30: 551, 1959. —8) Martin et al.: J. Clin. Endocr. 20: 529, 1960. —9) 根本: 日産婦誌, 12: 523, 1960. —10) 矢吹: 日産婦誌, 14: 12, 1962. —11) 松本: 産と婦, 26: 691, 1959. —12) Sanders & Drill: Ann. N.Y. Acad. Sci. 71: 516, 1958. —13) Edgren & Carter: J. Endocr. 24: 525, 1962. —14) Harper: J. Endocr. 24: XX 1962. —15) Meyer & Bradburg: Endocr. 66: 121, 1960. —16) Eckstein & Mandl: Endocr. 71: 964, 1962. —17) Kober, S.: Biochem. Z. 239: 209, 1931. —18) Brown, J.B.: Biochem. 60: 185, 1955. —19) Short, R.V.: I. The chemical determination of progesterone in peripheral blood. J. Endocr. 16: 415, 1958. —20) Roy, E.J. & Brown, J.B.: J. Endocr. 21: 9, 1960. —21) J. Zander: J. Endocr. 23: 1262, 1963. —22) Mason, N.R.: J. Biol. Chem. 236, Pc 34. J. Biol. Chem. 237, 801, 1961. —23) Legault, J.: Acta Endocr. Copenhagen, 34: 163, 1961. —24) Hilliard et al.: Stimulation of progestin release from rabbit ovary in vivo, Proc. Soc. Exp. Biol., N.Y., 108: 154, 1961. —25) A. Kloppe, E.A. Michie and J.B. Brown: J. Endocr. 12: 209, 1955. —26) Smith, O.W.: Endocr. 16: 49, 1960. (No. 2177 昭43・9・16受付)