

放射性同位元素を用いる Prolactin の 新しい定量法に関する研究

群馬大学医学部薬理学教室 (主任: 柴田勝博教授)

群馬大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 松本清一教授)

木 村 弘

概要 Prolactin (以下PLと略す)の定量法については、今日まで多数の報告がなされているが、いまだ完全に確立された方法はない。現在最も多く用いられているハト crop-sac 法においても種々の困難を伴っている。

今回、PL本来の生理作用である乳腺刺激効果を目標とし、しかも客観的に定量できるように放射性アイソトープ (以下RIと略す)を使用して、実験動物 (マウス及びラット)の乳腺におけるRIの摂取率を測定してPLを定量的に測定する新しいPLの定量法について検討を行なった。

あらかじめ Estrogen 及び Progesterone によつて乳腺を発育させた実験動物の乳腺組織内にPLを直接注射し、さらにRIを全身的に投与した後にその動物を屠殺して乳腺組織を摘出する。その乳腺組織におけるRIの摂取率を測定すると投与したPL量との間に、後者の対数をとると特定の範囲で直線的用量反応曲線がえられた。

実験動物としてラットを使用し、RIとして ^{65}Zn を使用した時に、NIH-P-S₇ (24.3 I.U./mg) に対して PL 0.2 I.U. から 5.0 I.U. にかけて用量反応曲線は直線となり ($Y=97.97 \times \log X + 57.36$), 精度指数 λ は 0.091となった。

組織学的にも PL 1.0 I.U. のラット乳腺組織内局所注射によつて、対照と較べて明らかな差がみられた。

本法のPLに対する特異性の検定では、PLの他に Growth Hormone にも反応がみられたが、他の下垂体前葉ホルモンには反応はみられなかった。

緒 言

Prolactin (以下PLと略す)の定量法としては Riddle, et al., (1932)以来ハトの crop-sac を用いる方法が主として行なわれている。局所 crop-sac 法では、Silver King 等の純系の特種のハトを使用すればきわめて高い感度を示すが、本邦でのドバトを使用し最少刺激反応をみる藤井、清水、岡本 (1958)の方法では、その感度は 0.3 I.U.である。また、他の方法のうち面積を測定する方法 (Grosvenor & Turner, 1958, その他)、重量を測定する方法 (Nicoll, 1967, その他)等でも、その感度は高いが結果の判定に種々の不都合があり問題となつている。さらにPLの luteotrophic 効果を目指した方法 (Kovacic, et al., 1968, その他)にも確立されたものはなく、mammatrophic または lactogenic 効果を目指した定量法 (Chad-

wick, 1963, その他)も各種考案されているが、概して感度が不良で、方法も繁雑なものが多い。近年になつて研究され始めた Immunoassay (小泉, 1966, その他)、Radioimmunoassay (上家, 1968, その他)も現在なお実用の段階に到達していない。以上のように、PLの定量法にはハトの crop-sac 法以外に確立された方法がないといつてよいが、この方法自体種々の困難を伴っている。

そこで、今回マウスおよびラットを使用し、PL本来の生理作用である乳腺刺激効果を目標として、しかもその判定を客観的に行なえるように放射性アイソトープ (以下RIと略す)を使用した新しいPL定量法を開発する目的で実験を行ない、次の結果を得た。

実験方法及び結果

実験動物として、White Swiss 系マウス (未熟

オス：8～12g，未熟メス：10～12gおよび成熟メス：25～35g）および Wistar 系成熟メスラット（150g以上）を使用した。飼育は恒温（24±1℃），恒湿の状態で行ない，固形飼料および水は自由に与えた。これらの動物にあらかじめ Estrogen（以下 E と略す）および Progestogen（以下 P と略す）を投与しておいて，その数日後から P L を含む検体を 1 日 1 回 4 日間連続投与（背部皮下注射または乳頭下乳腺組織内局所注射）する。

一部の実験では，P L 投与と同時に cortisone acetate（以下 C.A. と略す）を 1 日 1 回 4 日間背部皮下に投与した。最後の P L 投与から 24 時間後に断頭によつて動物を屠殺し，乳頭部を中心として脂肪組織を含む乳腺組織を切除摘出した。さらに屠殺前のある一定の時間に，背部皮下注射または腹腔内注射によつて R I を投与した。使用した核種は ^{32}P (H_3PO_4)， ^{131}I (NaI) および ^{65}Zn (ZnCl_2) である。摘出した乳腺組織は torsion balance で秤量後， ^{32}P 使用実験群のものは濃硝酸で湿性灰化，乾燥後に G-M counter で， ^{131}I および ^{65}Zn 使用実験群のものはそのまま well type scintillation counter で放射能を測定し，Standard Sample の放射能に対する比率から組織 100mg 当りの摂取率を計算して，同一群の平均および Standard Error (s.e.) を計算した。なお血中放射能を測定して，それが同一群の他のそれと著しくかけ離れている時は成績から除外した。

E, P の投与量および投与方法，R I の投与量および投与時間および P L の投与方法については各実験毎に詳記する。以上の実験方法を図示すると図 1 の如くである。

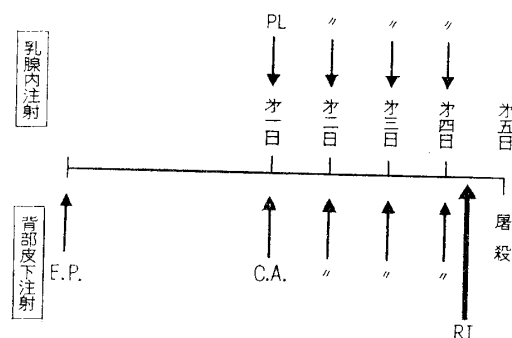
なお P L は NIH-P-B₁ (13.0 I.U./mg)，NIH-P-S₅ (17.0 I.U./mg) および NIH-P-S₇ (24.3 I.U./mg) を使用した。

I. マウスによる実験

I-1. ^{32}P 使用による実験

未熟オスマウスを使用し，estradiol benzoate 0.05μg および progesterone 0.5mg を 1 日 1 回 4 日間皮下注射した。P L を含む検体は E, P 投与と同時に，同様に 4 日間背部皮下に投与した。

図 1 定量法（図示）



^{32}P は 1 μCi/マウスを使用し，背部皮下に投与した。この実験に限り乳腺組織を含む胸腹部の脂肪組織を一塊として摘出し試料とした。

I-1-a: ^{32}P 注射時間についての検討

マウス屠殺前 1 時間から 96 時間までについて，P L 投与群（1.0 I.U./4 日間/マウス）および対照群の 2 群で検討した。結果は表 1 に示す。屠殺 24 時間以前の各群には有意差は認められなかった。

表 1 ^{32}P 注射時間の検討

注射時間 (屠殺前)	P L 投与群		対 照 群	
	n	^{32}P -uptake (%×10 ³)	n	^{32}P -uptake (%×10 ³)
96時間	9	163±9.2	9	130±6.8
72	9	170±8.8	9	134±5.6
48	9	196±12.1	9	163±14.3
24	9	271±18.6	9	225±13.0
12	9	272±17.4	9	227±21.6
1	9	286±32.3	9	263±30.6

n：使用マウス匹数

I-1-b: P L 用量反応についての検討

^{32}P は屠殺 24 時間前（最後の P L 投与 と同時）に投与して次の結果を得た。表 2 に示す。0.2

表 2 P L 用量反応

P L 量 (I.U.)	n	^{32}P -uptake (%×10 ³)
0 (対照)	10	166 ± 7.1
0.04	10	120 ± 5.7
0.2	9	214 ± 19.2
1.0	10	217 ± 12.3
5.0	10	210 ± 13.1
25.0	9	225 ± 17.5

n：使用マウス匹数

表3 ^{65}Zn 注射時間の検討 (成熟メスマウス)

注 射 時 間 (屠殺前)	n	^{65}Zn -uptake($\% \times 10^3$)
96 時 間	16	146 $\pm$ 9.9
72 //	16	168 $\pm$ 11.1
48 //	16	122 $\pm$ 10.3
24 //	16	128 $\pm$ 7.9

n: 使用マウス乳腺数

表4 ^{65}Zn 注射時間の検討 (未熟メスマウス)

注射時間 (屠殺前)	24 時 間		48 時 間	
	n	^{65}Zn -uptake ($\% \times 10^3$)	n	^{65}Zn -uptake ($\% \times 10^3$)
P L 投与 (右側)	20	265 $\pm$ 21.2	20	349 $\pm$ 22.0
対 照 (左側)	20	222 $\pm$ 18.6	20	328 $\pm$ 17.0
対 照	40	203 $\pm$ 5.7	40	204 $\pm$ 6.8

n: 使用マウス乳腺数

I.U./4日間以上のP L投与群で対照に対し有意差 ($P < 0.05$) があるが、その各群間に有意差はない。

I-2. ^{65}Zn 使用による実験

未熟メスおよび成熟メスマウスを使用した。P Lは乳頭下乳腺組織内局所注射法により投与し、estradiol dipropionate (以下 Ed. dip. と略す) 1 μg , 17 α -hydroxyprogesterone capronate (以下 17 α -OPC と略す) 5 mgをP L投与開始7日前に1回注射した。 ^{65}Zn は1 μCi /マウスを皮下に投与した。試料はP L投与を行なった各乳頭を中心とする乳腺組織を個々に摘出し、そのおのおのを測定した。マウス1頭につき8カ所の乳頭部を使用した。

I-2-a: ^{65}Zn 注射時間についての検討

成熟メスマウス; マウス屠殺前24時間から96時間までについて検討した。結果は表-3に示す。屠殺72時間前に ^{65}Zn を投与した群に ^{65}Zn 摂取率の有意の上昇が見られた。

未熟メスマウス; この実験ではマウスを2群に分け、1群のマウスには右側乳腺にP Lを、左側には生理的食塩水を注射し、他の1群には両側と

表5 P L用量反応 (成熟メスマウス)

P L 量 (I.U.)	n	^{65}Zn -uptake($\% \times 10^3$)
0 (対照)	24	118 $\pm$ 7.2
0.008	24	133 $\pm$ 7.5
0.04	24	134 $\pm$ 8.8
0.2	24	194 $\pm$ 11.2
1.0	24	162 $\pm$ 11.1

n: 使用マウス乳腺数

も生理的食塩水のみを注射した。

^{65}Zn 投与は屠殺24および48時間前に行なつた。結果は表-4に示す。P L投与群の左側乳腺 (〔表4〕対照側) の ^{65}Zn 摂取率が他群のそれに比して増加することが判明した。

I-2-b: P L用量反応についての検討

成熟メスマウスで、屠殺72時間前に ^{65}Zn を投与し、P L 0.008I.U.—1.0I.U./4日間/乳腺についての結果を表-5に示す。

P L 0.2I.U./4日間以上の投与群に有意 ($P < 0.01$) の摂取率の増加がみられたが、用量反応曲線は直線的にならなかつた。

II. ラットによる実験

IIの実験は全てP Lを乳頭下乳腺組織内に局所注射した。

II-1. ^{131}I 使用による実験II-1-a: ^{131}I 注射時間についての検討

無処置のラットに ^{131}I μCi /ラットを背部皮下注射した場合に、その投与を屠殺2時間前に行なつた時にのみ、乳腺の ^{131}I 摂取率が有意に増加した。表-6に結果を示す。

表6 ^{131}I 注射時間の検討

注 射 時 間 (屠殺前)	n	^{131}I -uptake($\% \times 10^3$)
24 時 間	35	30 $\pm$ 2.1
4 //	35	31 $\pm$ 1.7
2 //	34	59 $\pm$ 3.1

n: 使用ラット乳腺数

II-1-b: P L用量反応についての検討

表7 PL用量反応

PL量 (I.U.)	n	^{131}I -uptake($\% \times 10^3$)
0 (対照)	58	32 $\pm$ 1.4
0.2	59	38 $\pm$ 2.6
1.0	56	36 $\pm$ 1.6
5.0	60	73 $\pm$ 2.2

n: 使用ラット乳腺数

表8 ^{65}Zn 注射時間の検討

注射時間 (屠殺前)	PL投与群		対 照 群	
	n	^{65}Zn -uptake ($\% \times 10^3$)	n	^{65}Zn -uptake ($\% \times 10^3$)
24時間	10	38 $\pm$ 0.9	10	32 $\pm$ 1.6
16	10	48 $\pm$ 2.6	10	35 $\pm$ 1.7
12	10	43 $\pm$ 1.3	10	31 $\pm$ 2.3
8	10	38 $\pm$ 0.8	10	33 $\pm$ 1.2

n: 使用ラット乳腺数

E,P 処置を行わずに ^{131}I を屠殺2時間前に投与した結果を表一7に示す。

PL 5.0I.U./4日間投与群で ^{131}I 摂取率増加に有意差 ($P < 0.001$) がみられたが、他の群間には有意差はみられなかつた。

II-1-c: 甲状腺 block による乳腺 ^{131}I 摂取率向上についての検討

甲状腺 block の目的で ^{131}I 投与30分前に PTU 50mgを腹腔内注射した所、それによりラットが死亡したためにMTU 40mgに換えて実験した。PTUまたはMTU投与により乳腺における ^{131}I 摂取率は増加したが、ラット個体による差が著しく、有意差はみられなかつた。MTUによるラット死亡はなかつた。

II-2. ^{65}Zn 使用による実験

II-2-a: ^{65}Zn 注射時間についての検討

Ed. dip. 5 μg , 17 α OPC 25mgを注射し、その3日後からPL投与を開始した。 ^{65}Zn 10 μCi /ラットは背部正中皮下に注射した。結果は表一8に示す。

PL投与群 (0.2I.U./4日間) は対照群に比し

表9 PL用量反応

PL量 (I.U.)	n	^{65}Zn -uptake($\% \times 10^3$)
0 (対照)	20	23 $\pm$ 1.2
0.04	20	31 $\pm$ 1.1
0.2	20	30 $\pm$ 1.3
1.0	20	34 $\pm$ 1.4
5.0	20	37 $\pm$ 1.3

n: 使用ラット乳腺数

て、各時間群とも有意差 ($P < 0.001-0.01$) があり、特に屠殺16時間前に ^{65}Zn を投与した群が最高値を示した。

II-2-b: PL用量反応についての検討

E,P 投与は前実験と同様に行ない、 ^{65}Zn 投与はラット屠殺前16時間とした。結果は表一9に示す。対照群に比して他の各群の ^{65}Zn 摂取率に有意 ($P < 0.01$) の増加がみられた。

II-2-c: C.A. および E,P の投与量についての検討

E,P およびPLに加えてC.A. を投与して ^{65}Zn 摂取率の変化について検討を加えた結果、PL投与と同時に1日1回4日間 C.A. 0.25mg/ラットを皮下注射した場合に乳腺における摂取率の増加が認められた。

E,P の投与量についても検討し、大量投与群 (Ed.dip. 200 μg , 17 α OPC 125mg) に乳腺の ^{65}Zn 摂取率の増加を認めた。

II-2-d: ^{65}Zn 注射時間についての再検討

表10 PL用量反応

PL量 (I.U.)	n	^{65}Zn -uptake($\% \times 10^3$)
0 (対照)	30	32 $\pm$ 3.2
0.04	30	42 $\pm$ 2.0
0.2	30	42 $\pm$ 1.3
1.0	20	47 $\pm$ 2.5
5.0	20	57 $\pm$ 1.8

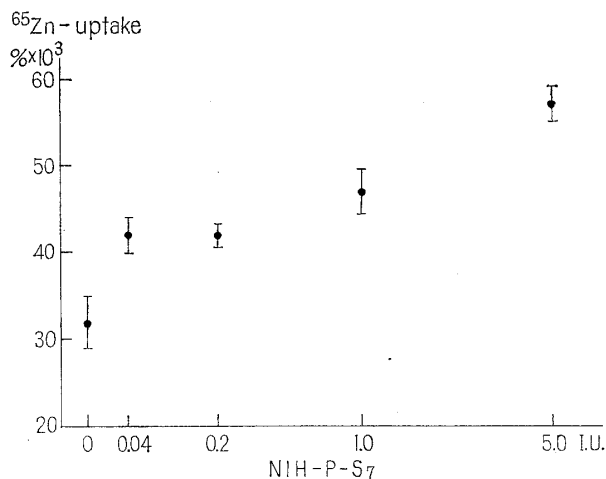
n: 使用ラット乳腺数

Ed. dip. 200 μ g, 17 α OPC 125mg投与後3日目から C.A. 0.25mgおよびPLを1日1回4日間投与したラットでも, 屠殺16時間前に ^{65}Zn を投与した群で乳腺における ^{65}Zn 摂取率は最高値を示した. これはII-2-aの結果と一致している.

II-2-e: PL用量反応についての再検討

II-2-dと同様条件のラットを用いて, ^{65}Zn を屠殺16時間前に投与した実験の結果を表-10に示す. 表-9に示す結果より全体として乳腺における ^{65}Zn 摂取率が増加しており, PL 0.2I.U. から 5.0I.U.にかけて用量反応曲線は直線となり ($Y = 97.97 \times \log X + 57.36$), 最少有効量は0.04 I.U.ないし0.2I.U.となる. 精度指数 λ は 0.091であつた.

図2 PL用量反応曲線



II-2-f: 特異性についての検討

FSH(NIH-FSH-S₉) 100 μ g, LH(NIH-LH-S₁₁) 1.0 μ g, ACTH (合成 Synacthen-Ciba) 5 mU, TSH(NIH-TSH-S₉) 100mU, GH (NIH-GH-S₈) 10mU, PL(NIH-PH-S₇) 1.0I.U. を用いて本法

表11 特異性検定

使用ホルモン	投与量	n	^{65}Zn -uptake (% $\times 10^3$)
対 照		20	41 $\pm$ 1.0
FSH(NIH-FSH-S ₉)	100 μ g	20	35 $\pm$ 1.4
LH(NIH-LH-S ₁₁)	1.0 μ g	20	36 $\pm$ 1.2
ACTH (合成 Ciba)	5 mU	20	38 $\pm$ 1.4
TSH(NIH-TSH-S ₉)	100 mU	20	32 $\pm$ 1.0
GH(NIH-GH-S ₈)	10 mU	20	54 $\pm$ 3.1
PL(NIH-P-S ₇)	1.0 I.U.	30	44 $\pm$ 1.3

n: 使用ラット乳腺数

表12 特異性検定

使用ホルモン	投与量	n	^{65}Zn -uptake (% $\times 10^3$)
対 照		20	45 $\pm$ 2.0
GH(NIH-GH-S ₈)	10 mU	20	49 $\pm$ 2.5
PL(NIH-P-S ₇)	1.0 I.U.	20	49 $\pm$ 2.1

n: 使用ラット乳腺数

のPLに対する特異性について検討した. E, P, C.A., ^{65}Zn 投与時間はII-2-eと同様である. 結果は表-11, 12に示す. PL以外に, GHにも反応することが判明した.

III. PL投与によるラット乳腺の組織学的変化についての検討

PL 1.0I.U. をラット乳腺組織内に直接注射し, その反応を組織学的に対照と比較した結果, PLを投与したラット乳腺において, その腺腔は

写真1 PL投与

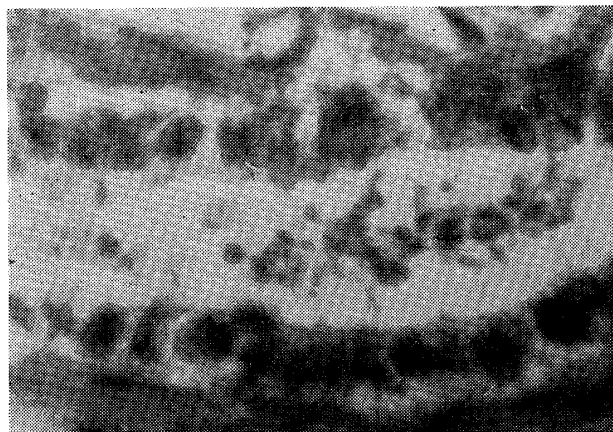
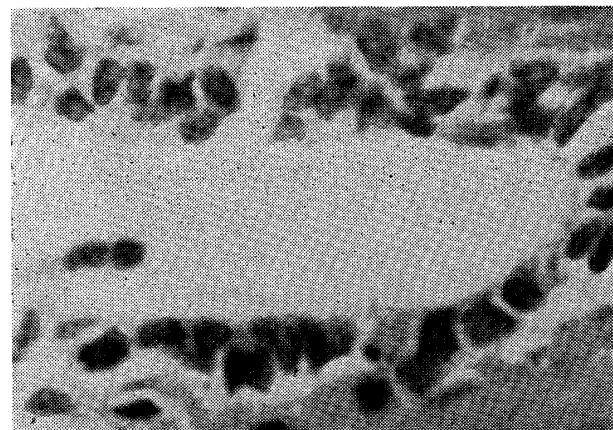


写真2 対 照



拡張し、上皮が高円柱状、好塩基性となり、空胞が増加し、腺腔内に乳汁分泌が認められた。写真—1, 2に示す。

考 案

P Lには本来の生理作用として乳腺刺激効果があり、今回の一連の実験もそれを目標としたものである。

最初の ^{32}P 使用による実験では、 ^{32}P 摂取率の増加がみられ、これはP L投与で乳腺発育が促進されたものと考えられるが、有意差のある直線的用量反応曲線は得られなかつた。これは全く未発達な未熟オスマウスの乳腺を対象とした所に問題があるように思われる。リンは体内に広く分布し、核酸その他の有機リン化合物の合成増加に伴われる組織増殖には不可欠のもので、乳腺増殖を起こすことを目的としている本法に ^{32}P を使用することは有効と思われる。しかし ^{32}P の測定には灰化、乾燥が必要であり、簡便さにやや欠ける点がある。

次の ^{131}I 使用による実験でもP L用量反応曲線に有意差はみられなかつた。ヨードは乳汁中にかなり多量に排出されるが、それよりも甲状腺に対する臓器特異性の強いことは周知の事実である。そこであらかじめ甲状腺 block により乳腺における ^{131}I 摂取率増加を企図したが、この実験ではラットの高率の死亡をきたした。 ^{131}I は本法には不適當と思われる。

続く ^{65}Zn 使用による実験では、亜鉛はヨードに較べてより多く乳汁中に分泌され、また生理的に乳腺組織に多く含まれるという点で本法には最適のものである。しかも ^{65}Zn は well type scintillation counterにより簡単に測定できる。 ^{65}Zn を使用しての数回の実験の結果、P L 0.2I.U. から 5.0I.U.にかけて直線的用量反応曲線が得られ、その精度指数 λ も 0.091という値を示した。

哺乳動物の乳腺を assay に用いる場合、経産の動物では乳腺の発育に個体差が著明であるために、処女の動物を使用し、乳腺の発育を一定にしておく必要がある。これには一定量のEとPとで前処置を行なえばよい。この点について本法では

depot 作用をもつ Ed. dip.および $17\alpha\text{OPC}$ を用いて実験の簡素化をはかっている。

さらに乳汁分泌に重要な役割を演ずることを Nandi, et al. (1961), Talwalker, et al. (1961) 等によつて指摘されている glucocorticoid に関しても検討を加えた結果、本法では C.A. 0.25mgの4日間投与が最適であつた。

なお本法ではラット乳腺組織内に直接P Lを注射しているが、P Lの乳腺組織に対する直接作用については改めて述べる必要はないであろう。卵巣 steroid, glucocorticoid, PLの乳腺への直接作用については、最近になつて Barnawell (1967), Mishkinsky, et al. (1967) による in vitro での実験で再確認され報告されている。

本法の欠点は、時に再現性を欠くことがあることであり、今後本法の実施に当つてはこの点の改良が必要と考えられる。

P Lの定量法にR Iを利用し、定量を客観的に行なう試みは、ハトの crop-sac を用いる方法ではいくつかの報告がある (Brown, et al. 1951, Damm, et al. 1961, Peruzy 1963, Ben-David 1967) が、マウスおよびラットの乳腺組織を使用したR I利用の定量法に関する報告は見あたらない。Ben-David (1967) の方法では 0.001I.U. というきわめて高い感度を示しているが、これは Silver King のような特殊なハトを使用し、しかもR Iには ^3H -methyl-Thymidine を用いていて、方法も複雑で実験操作にはかなり高度の技術が必要と思われる。また、この報告では特異性の検定は行なわれていない。その他の方法は概して感度は高くない。

今日P Lの動態に関する研究が、他の下垂体ホルモンのF SH, LHに比して遅れているのは、P Lの定量法が複雑かつ手数のかかるものであるためであり、今までに多数のP L定量法が報告されているのも結局どの定量法も理想からかけ離れているためであろう。

P Lはウサギの乳腺に泌乳を起す (Stricker & Grüter, 1928) ことから発見され、この mammothrophic または lactogenic 効果を利用した定量法

としては, Chadwick (1963) 他いくつかの報告があるが, その最少検出量は0.25~0.75I.U.であり, またACTHにも反応することが報告されていて, 特異性のある定量法とはいえない。

ついで, Riddle & Braucher (1931) によつてハトの crop-sac を増殖させる作用が発見されて以来, これを応用した方法が多数報告され, 特にその局所投与法は今日でも広く利用されている。これらの方法の感度は, 特殊なハトと器具とを使用すれば0.01I.U.と高い値を示すが, いずれの方法にもその結果の判定法の客観性に問題がある。本邦で入手可能なドバトを使用した最少刺激法(藤井他, 1958)では測定可能な最低量は0.3I.U.である。

さらに Evans et al (1941) によつて発見されたラットの卵巢黄体を刺激する luteotrophic 効果を応用した方法についての報告もあるが, 感度は0.4I.U.が最高であり, ハトの crop-sac 法に較べて低い。

上述の方法による報告に較べ, 今回の実験結果では, その感度は0.04I.U.ないし0.2I.U.であり, 判定も客観的に行ないうる。また特異性については, 本法はPLとGHとに反応を示している。このことは一見本法のPLに対する特異性を疑わせるが, PLとGHとはその性状の類似点が各方面から報告され(Reisfeld, et al. 1961, Chadwick, Folley & Gemzell, 1961, Reisfeld, et al. 1963, Ferguson & Wallace 1961), 本法がPLとGHとの両方に反応したことはむしろ本法のPLに対する特異性を立証したものといえよう。

総 括

1. 放射性核種 (^{32}P , ^{131}I , ^{65}Zn) をトレーサーとし, ラット乳腺における摂取率を測定する新しい Prolactin の定量法について検討した。

2. ラットに estradiol dipropionate 200 μg および 17α -hydroxyprogesterone capronate 125mgを前処置し, その3日後から1日1回4日間 Prolactinを乳腺組織内に直接注射した。Prolactinと同時に, cortisone acetate 0.25mgを同様4日間背部皮下注射した。

3. 使用した核種のうち ^{65}Zn が最適であり, それをラット屠殺16時間前に10 μCi /ラットを投与した場合にもつとも良い成績が得られた。

4. NIH-P-S₇ に対する用量反応曲線は, 0.2I.U. から 5.0I.U. にかけて直線となり ($Y = 97.97 \times \log X + 57.36$), 精度指数 λ は0.091である。最小有効量は0.04I.U.ないし0.2I.U.であつた。

5. 特異性検定の結果, Prolactinの他にGrowth Hormone にも反応がみられた。しかし他の下垂体前葉ホルモンには反応しなかつた。

6. 組織学的にも Prolactin 投与ラットの乳腺に明らかな増殖性変化が見られた。

7. 本法の欠点は時に再現性を欠くことがあることで, この点今後の改善が必要と考える。

稿を終わるに当たり, 終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師柴田勝博教授, 松本清一教授に謹謝し, 御助言, 御教示を戴いた花岡謹一郎教授に深謝致します。併せて終始直接御指導戴いた五十嵐正雄助教授, 小川栄一講師に深謝致します。なお実験に御協力戴いた品田孝夫博士, 都築博先生はじめ群大アイソトープ研究室の職員各位に感謝の意を表すると共に, 終始御鞭撻を賜りました教室員各位に感謝致します。

文 献

上家 哲 (1968) : 日内分泌誌, 44, 247.

小泉浩吉 (1966) : 日産婦誌, 18, 127.

藤井久四郎・清水 昭・岡本良平 (1958) : 臨産婦, 12, 413.

Bahn, R.C. & Bates, R.W. (1956) : J. Clin. Endocrinol. & Metab. 16, 1337.

Barnawell, E.B. (1967) : Endocrinology, 80, 1083.

Ben-David, M. (1967) : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 125, 705.

Ben-David, M., Dikstein, S. & Sulman, F.G. (1964) : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 117, 511.

Brown, R.W., Woodbury, D.M. & Sayers, G. (1951) : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 76, 639.

Caspersson, T. (1947) : Symp. Soc. Exp. Biol., 1, 127.

Chadwick, A. (1963) : J. Endocrin., 27, 253.

Chadwick, A., Folley, S.J. & Gemzell, C.A. (1961) : Lancet ii, 11, 241.

Damm, H.C., Pipes, G.W. von Berswordt-Wallrake, R., Turner, C.W. (1961) : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 108, 144.

- Evans, H.M., Simpson, M.E. & Lyons, W.R.* (1941) : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 46, 586.
- Ferguson, K.A. & Wallace, A.L.C.* (1961) : Nature, 190, 632.
- Grosvenor, C.E. & Turner, C.W.* (1958) : Endocrinology, 63, 530.
- Kovacic, N.* (1968) : J. Reprod. Fert., 15, 259.
- Lyons, W.R.* (1958) : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 98, 839.
- Lyons, W.R., Li, C.H. & Johnson, R.E.* (1958) : Recent Progr. Hormone Res., 14, 219.
- McShan, W.H., Davis, J.S., Soukop, S.W. & Meyer, R.K.* (1950) : Endocrinology, 47, 274.
- Mishkinsky, J., Dikstein, S., Ben-David, M., Azeroual, J. & Sulman, F.G.* (1967) : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 125, 360.
- Nandi, S. & Bern, H.A.* (1961) : Gen. Comp. Endocri., 1, 195.
- Nicoll, C.S.* (1967) : Endocrinology, 80, 641.
- Panda, J.N. & Turner, C.W.* (1966) : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 121, 803.
- Peruzy, A.D., Amoruso, M.R. & Pavoni, P.* (1963) : Folia Endocrinologia, 16, 670.
- Prop, F.J.A.* (1959) : Nature, 184, 379.
- Prop, F.J.A.* (1962) : Acta Physiol. Pharmacol. Neer., 10, 305.
- Reisfeld, R.A., Tong, G.T., Rickes, E.L., Brink, N.G. & Steelman, S.L.* (1961) : J. Amer. Chem. Soc., 83, 3717.
- Riddle, O., Bates, R.W. & Dyskhorn, S.W.* (1933) : Amer. J. Physiol., 105, 191.
- Srivastava, L.S. & Turner, C.W.* (1966) : Endocrinology, 97, 650.
- Stricker, P. & Grüter, F.* (1928) : Compt. Rend. Soc. Biol., 99, 1978.
- Talwalker, P.K. Nicoll, C.S. & Meites, J.* (1961) : Endocrinology, 69, 802.
- Turner, C.W.* (1950) : Hormone Assay edited by C.W. Emmens. Academic Press Inc. Publishers, New York, 261.

(No. 2302 昭44・12・1 受付)