

〔特別掲載〕

(東女医大誌第29巻第9号)
(頁227—634 昭和34年9月)ラットの成長発育に及ぼす
エストラジオールの影響

東京女子医科大学薬理学教室 (主任 小山良修教授)

田 中 振 爾
ダ ナカ レン ジ

(受付 昭和34年8月14日)

緒 言

人間をはじめとして各動物に性差がある理由の第一にあげられるのは性ホルモンである。男性ホルモンあるいは女性ホルモンは性徴の発現のみならず、生体内代謝に種々の面で影響を及ぼし、雌雄それぞれに特有の成長発育が行われる。なかでも男性ホルモンは蛋白同化作用が強く、これによつて成長発育が促進されることは多くの研究者により⁴⁾¹²⁾¹³⁾ 報告されている。しかし、さきに藤井⁵⁾ は男性ホルモンの1つであるメチルアンドロステンジオール (以下 MAD と略す) を正常、去勢、あるいは甲状腺を剔出せるラットに長期投与すると、いずれの場合も、雌の成長は促進されるのに反し、雄の成長はいずれの場合も抑制され、雌雄によりホルモンに対する感受性が非常に異なることを報告した。さらにテストステロン・プロピオネート (以下 TP と略す) の投与によつても、ほぼ同様な結果⁶⁾ を得た。

今回は女性ホルモンとしてエストラジオール・ベンツァート (以下 EB と略す) を正常、去勢、甲状腺剔出ラットに投与し、その影響を雌雄につき、成長発育の点から検討してみた。

方 法

当教室飼育の Wistar 及び Wistar King A 系ラット、雄 42 匹、雌 42 匹を使用、実験は昭和33年5月から昭和34年4月まで行つたもので10月から6月までは $21 \pm 1^\circ\text{C}$ の恒温戸棚飼育、飼料はオリエンタル酵母株式会社のラット用固型飼料 (NMF) と水、

野菜を自由に摂取せしめた。エストラジオール・ベンツァート (オバホルモン・ベンツァート結晶浮游液、帝国臓器製) は生理的食塩水にて、0.05 mg/ml および 0.025 mg/ml に稀釈、投与量は 0.05 mg/kg および 0.1 mg/kg の2段階とし、隔日に皮下注射を行つた。対照ラットには生理的食塩水を皮下注射した。体重測定は週1回行い、いずれも生後100日目まで実験を続けた。

去勢は生後2週目、甲状腺は生後4週目に当教室の方法¹⁰⁾ で剔出した。

生後100日目に軽いエーテル麻醉下に瀉血致死せしめ、臓器重量を測定、同時に血清蛋白量と血清蛋白分割を測定した。血清蛋白はマイクロキールダールの硫酸捕集法¹¹⁾ により、分割は小林式濾紙電気泳動装置で、水平法によつて行つた。東洋濾紙 No. 51, ベロナール緩衝液 (pH 8.5) を使用して6時間泳動を行い Amidochwarz 10 B で染色、濾紙用光電光度計で定量した¹¹⁾。

実験群は下記の如くわけた。

- 1) 正常ラット、生後1週より 0.05 mg/kg EB 投与。
- 2) 正常ラット、生後1週より 0.1 mg/kg EB 投与。
- 3) EB 0.05 mg/kg を生後1週より投与開始、生後2週目に去勢。
- 4) 甲状腺を生後4週目に剔出、同時に EB 0.05 mg/kg 投与開始。
- 5) 甲状腺を生後4週目に剔出、同時に EB 0.1 mg/kg 投与開始。
- 6) EB 0.1 mg/kg を生後1週より投与開始、生後

4週目に甲状腺剔出。

結 果

I 体 重

1) EB 0.05 mg/kg 正常群

雄は著明な減少を示したのに反し、雌は軽度ながら増加の傾向を示した(図1)。

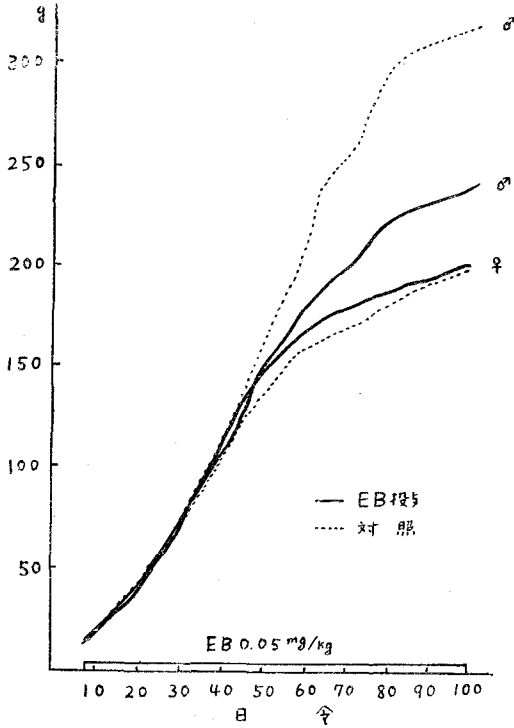


図1 正常・EB 0.05 mg/kg 投与ラット体重曲線

2) EB 0.1 mg/kg 正常群

雄は 0.05 mg/kg 群と同程度の、著明な体重減少を示した。雌は 1) の実験とは反対に僅かに成長抑制を示した(図2)。

3) EB 0.05 mg/kg 去勢群

EB 0.05 mg/kg 投与を生後1週より開始しておき、去勢を生後2週目に行い、以後も投与を継続すると、雄は去勢により正常より成長が劣ることは以前の報告¹⁸⁾の通りであるが、EB はさらにその成長を抑制する。これに反し、雌は去勢により正常より体重増加を示すのであるが、EB 投与により、正常に近い曲線を示した(図3)。

4) 甲状腺剔出, EB 0.05 mg/kg 群

生後4週目に甲状腺を剔出し、その日より隔日に EB 0.05 mg/kg を投与すると、雄の成長は甲状腺剔出対照より、さらに抑制されるが、雌の成長はほとんど影響されない(図4)。

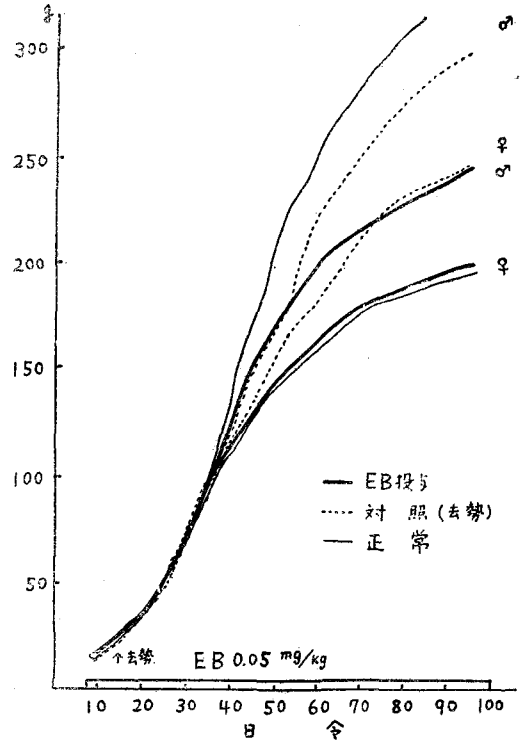


図3 EB 0.05 mg/kg 投与去勢ラット体重曲線

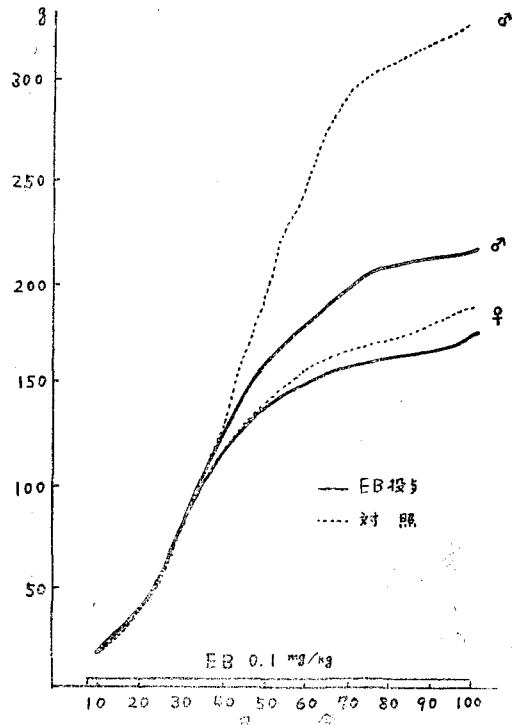


図2 正常・0.1 mg/kg EB 投与ラット体重曲線

5) 甲状腺剔出, EB 0.1 mg/kg 群

条件を 4) と同じくして EB の量を 0.1 mg

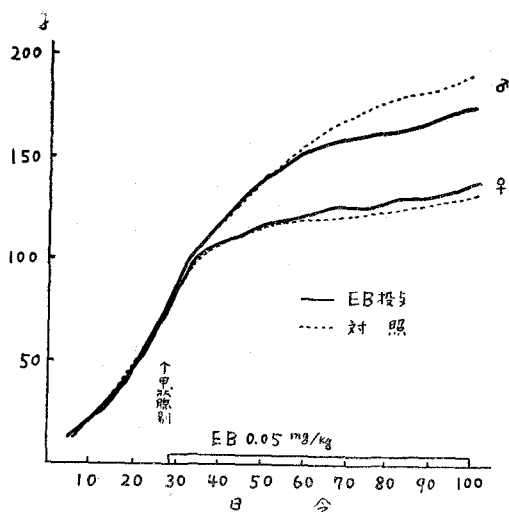


図4 甲状腺剔除時より EB 0.05 mg/kg 投与ラット体重曲線

/kg に増量して投与すると、雌雄とも同程度に、剔除対照より成長抑制を示した。しかも雄の体重減少は EB 0.05 mg/kg 群より早期から現われた (図5)。

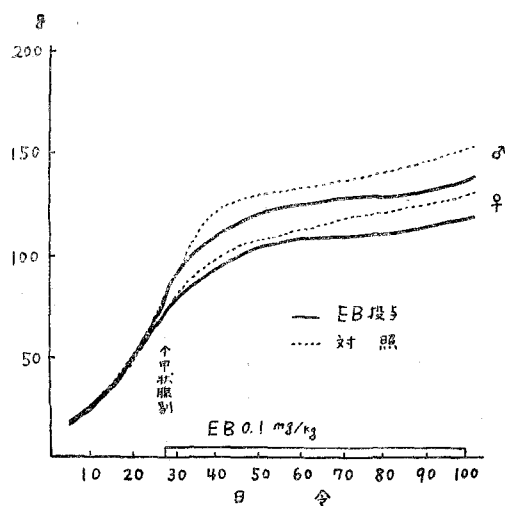


図5 甲状腺剔除時より EB 0.1 mg/kg 投与ラット体重曲線

6) EB 0.1 mg/kg 投与開始後、甲状腺剔除群。

生後1週より隔日に 0.1 mg/kg の EB を投与しておいて、生後4週目に甲状腺を剔除した場合は、5) の結果と同じように雌雄とも剔除対照より、さらに体重減少を示した (図6)。

II 臓器重量

性ホルモンと関係の深い性腺、副性腺、副腎、

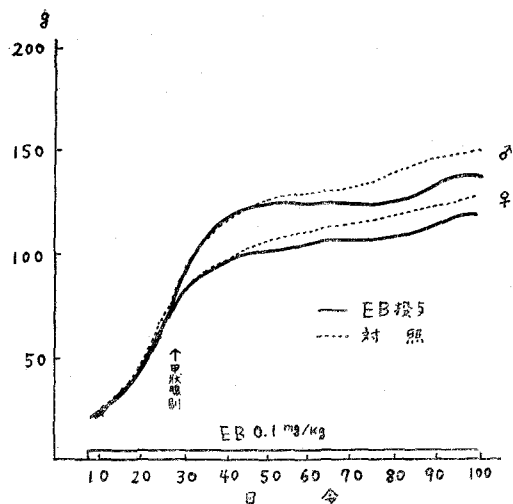


図6 EB 0.1 mg/kg 投与開始後甲状腺剔除ラット体重曲線

下垂体が、もつとも著明な変化を示した。

図7、表1に示す如く、正常ラットの睪丸は 0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg 両投与量による差はほとんどなく、いずれも、著しい重量減少を示した。しかし、その群の精囊、前立腺重量の減少は、むしろ 0.05 mg/kg 群に著しい。甲状腺剔除により増加した睪丸、精囊、前立腺重量は、EB 投与により、いずれも著明な減少を示した。なお、甲状腺剔除前後の EB 投与の差は見られなかった。また、EB は去勢ラットの精囊の重量を著明に増加させたが、前立腺に対しては、特別な影響はみられなかった。去勢ラットの子宮は EB により、かなりの重量増加を示した。

正常ラットの卵巣は EB 0.05 mg/kg では重量はむしろ減少を来とし、0.01 mg/kg では正常の卵巣と異り囊腫状に腫大していた。なお、ここに興味あることは、甲状腺剔除動物に 0.1 mg/kg 投与の結果である。すなわち、甲状腺剔除前から投与した群は甲状腺剔除直後から投与した場合と異り著明な卵巣増大を示した。これら重量増加の著明な卵巣を組織学的にみると、正常の卵胞は殆んど消失し、顆粒膜細胞の増殖に伴う壊死、間質細胞の増殖が著明であつた。(くわしい組織学的所見については別に発表する予定)。子宮は正常ラットでは EB 投与でむしろ、重量減少を示したが、甲状腺剔除群では、かなりの増加を示した。0.1 mg/kg と 0.05 mg/kg 群との間には卵巣におけるが如き差は現われなかった。

表 1 臓器重量 (mg/100 g 体重)

	動物数	肝臓	腎臓	脾臓	顎下腺	胸腺	甲状腺	副腎	睾丸	精囊	前立腺	卵巢	子宮	下垂体	包皮腺	心臓	膀胱	
正 常	♂ 8	3558±54†	657±18	169±11	162±22	77.7±7.9	8.8±0.9	15.7±1.0	1116±82	210±	1881.9±6.8			2.9±0.2	229.7±2.2	306±11	30.3±2.7	
	♀ 6	3794±265	718±24	232±33	196±15	105±8.7	10.1±0.2	232.6±2.2				33.8±5.5	211±	155.7±0.3	332.7±2.5	323±27	34.9±7.0	
EB0.05 mg/kg	♂ 5	4109±165	711±42	259±	6234±83	96.3±10.1	7.8±0.4	23.5±1.4	**	**	62.7±5.2	**		**	5.3±0.8	840.6±1.7	369±20	41.3±4.6
	♀ 4	4351±233	790±40	278±31	197±34	80.2±7.6	10.7±0.4	29.2±0.7				**	13.7±4.1	173±	115.6±0.6	27.8±3.1	403±23	38.2±2.3
EB0.1 mg/kg	♂ 4	3833±206	712±59	158±11	151±	956.9±13.0	9.6±0.9	27.7±0.8	**	**	2683.9±8.4	**		*	5.6±0.6	38.0±4.9	327±10	44.4±3.9
	♀ 4	3740±357	512±118	197±33	171±	765.7±7.0	11.9±0.8	31.3±3.4				**	144±10	166±	446.7±0.6	38.6±4.1	369±	453.6±5.0
甲状腺 剔出	♂ 5	2870±105	597±19	164±16	158±7	52.6±6.0		10.5±1.1	1889±104	429±26	95.5±8.0			5.4±0.6	37.8±6.2	303±12	58.0±7.5	
	♀ 5	3067±113	619±11	191±38	168±8	105.5±8.9		13.2±0.9						23.4±2.3	210±	226.8±0.5	28.5±3.6	303±22
甲状腺剔出 + EB0.05 mg/kg	♂ 3	3300±107	628±33	156±	2173±	877.9±5.2		15.4±1.0	1183±41	81.5±20.4	41.9±98			6.6±0.2	31.7±2.3	281±10	38.8±2.1	
	♀ 3	2912±103	627±27	158±10	208±19	73.2±8.8		22.6±0.2						23.5±3.6	279±	309.3±1.0	34.6±1.1	273±36
甲状腺剔出 + EB0.1 mg/kg	♂ 5	3146±81	573±17	149±19	203±19	93.2±17.2		12.6±0.7	271±28	85.4±5.6	11.0±1.3			**	7.9±0.6	29.7±0.8	287±	469.0±3.5
	♀ 4	3338±138	719±52	164±16	188±	583.8±10.3		16.5±1.1						17.6±1.9	286±	149.5±1.0	28.8±4.7	315±21
EB0.1 mg/kg + 甲状腺 剔出	♂ 3	3061±99	605±7	157±2	165±3	78.6±6.4		12.7±0.2	193±37	119±20	4.7±0.6			*	6.4±0.5	28.5±0.9	334±30	28.3±1.9
	♀ 3	3051±56	739±4	318±44	214±8	81.6±7.7		20.7±1.1				**	1927±314	304±	219.1±0.7	31.3±2.1	266±27	77.1±0.9
去 勢	♂ 3	2187±173	606±7	239±39	206±22	149.0±27.2	6.3±0.5	17.6±0.7		3.4±0.3	1.2±0.2			3.8±0.2	222.8±3.8	306±29	27.6±1.9	
	♀ 5	3350±273	634±44	198±13	185±15	152.8±15.1	7.3±0.4	21.4±1.4						17.2±1.9	94.7±0.3	18.7±3.0	338±	725.5±0.4
EB0.05 mg/kg + 去勢	♂ 4	3670±81	702±9	219±12	214±12	100.0±9.0	7.8±0.3	25.4±1.3		90.6±22.5	2.9±0.7			5.8±0.7	34.0±3.8	352±	835.8±1.4	
	♀ 6	3655±142	672±30	254±28	219±17	96.7±5.9	7.3±3.1	126.4±1.1				**	124±	96.3±0.8	26.8±1.2	370±11	32.5±1.3	

* 0.01 < P < 0.05 (各群の対照に対して)

** P < 0.01 ()

† 平均値の標準誤差

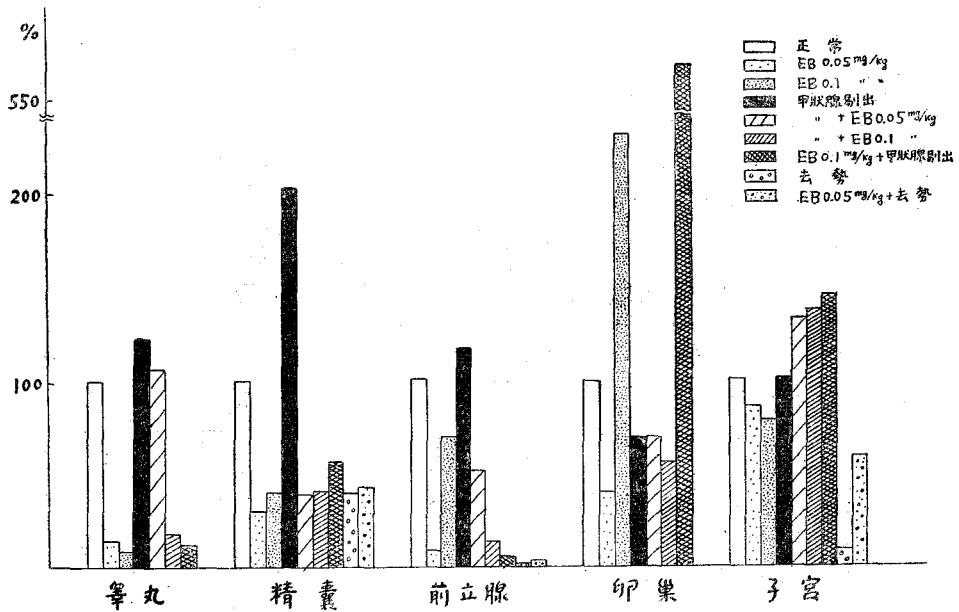


図7 性腺・副性腺重量百分比

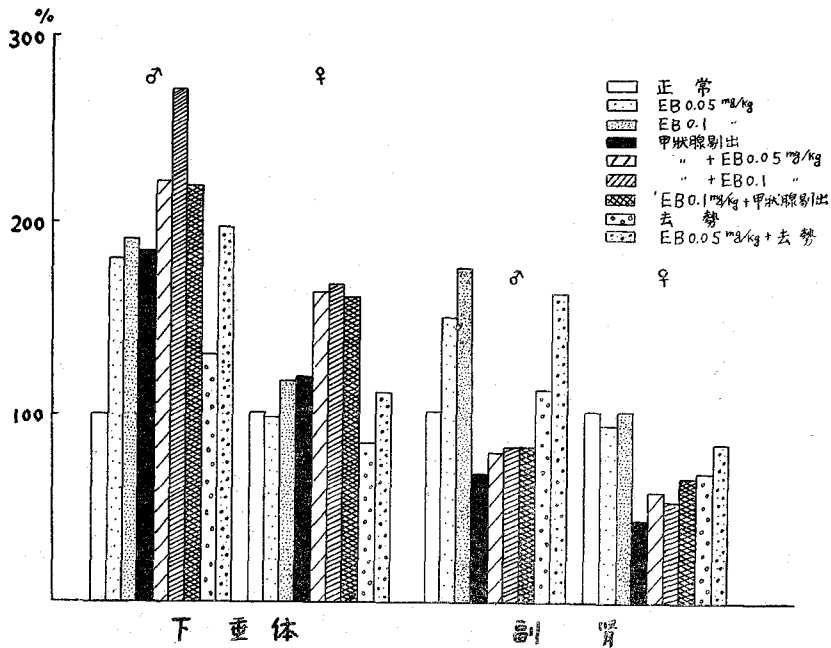


図8 下垂体・副腎重量百分比

副腎及び下垂体は雄は、雌に比較していずれの場合もEBにより著明に増大した(図8)。

ここに注目すべきは膀胱がEBにより、各群雌雄ともに重量増加を示したことである。また、心臓重量もやや増加を示した。

III 血清蛋白量及び血清蛋白分割

雌においては、0.05 mg/kg EB 投与群は、正

常、甲状腺剔除、去勢、いずれの場合も血清蛋白量が対照より増加の傾向を示し、その際の蛋白分割ではアルブミンの増加傾向が認められた。一方雄は僅かにEB投与去勢群において血清蛋白量の増加、分割中のアルブミン増加を認めたが、他の群には一定の傾向は認められなかつた(図9)。

IV 性周期

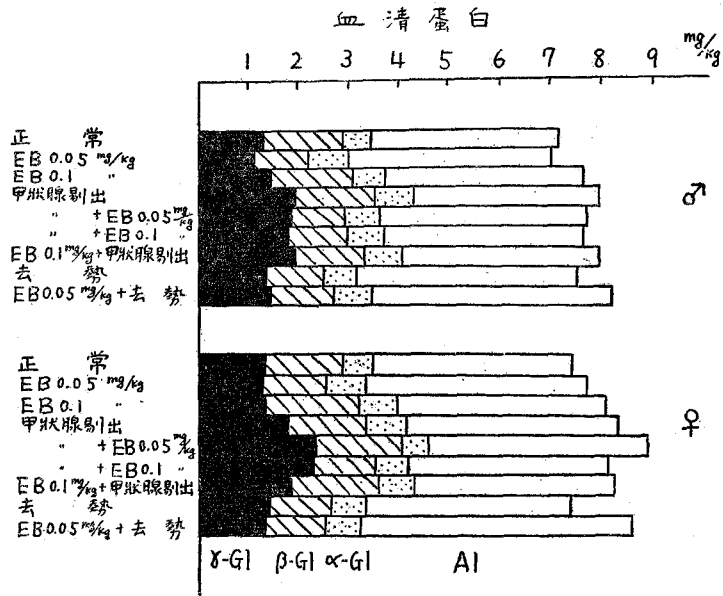


図9 血清蛋白量および分割

0.05 mg/kg および 0.1 mg/kg の EB 投与正常ラットは5～6日の発情持続後1日の間期を示し、それが比較的規則正しく繰返される。去勢ラットも 0.05 mg/kg の EB により、3～11日の発情持続と1～3日の間期とが繰返される。これに対し甲状腺別出ラットは 0.01 mg/kg の EB を生後1週目から投与された場合は陰開口時(生後31日)から、すでに角化期の持続を示し、一度も間期を示さなかつた。また、甲状腺別出時から投与した場合は、しばらくは間期も示すが、一旦角化期の持続を示してからは上角期と角化期の連続で間期を示すことなく著明な発情状態を示した。また、EB 0.05 mg/kg を別出日より投与した場合は甲状腺別出対照よりやや長い発情期を示すこともあるが、かなり不規則である。

考 察

従来、動物の成長発育を司るホルモンとしては、成長ホルモン、甲状腺ホルモン、性ホルモンが重要視されているが、女性ホルモンは、第2次性徴の発育に重要で、子宮筋の如き特定の臓器の肥大増殖をおこすが、その投与 somatic growth で体重等が著しく影響を受けるとの報告は少ない¹⁹⁾。代謝面に対する作用としては、脂肪代謝に関係して血中コレステロールの減少あるいは増加を来す等の報告²⁰⁾²¹⁾はあるが、蛋白代謝には影響がないといわれる^{5,8)}。むしろ、女性ホルモンは、男性ホルモンとの協力作用により男性ホルモ

ン作用を増強するといわれるが、それも主に副性器の発育効果の面においてである¹⁾¹⁵⁾。

EBの長期投与に関しては主に性腺の変化をみた Hohlweg⁹⁾の報告があるが、本実験ではEB長期投与の影響を主として成長発育の面からみた。この結果、EB 0.1 mg/kg は正常及び甲状腺別出ラットの雌雄の成長を抑制した。しかも雄において著明である。しかし、0.05 mg/kg では雌は正常、甲状腺別出、いずれの群も殆んど影響をうけないか、むしろ僅かに体重増加を示すに反し、雄は両群とも、成長抑制を示す。ラットを去勢すると雄の体重は正常ラットより減少し、雌は逆に増加するが0.05 mg/kg の EB で雌はほぼ正常の成長を示す。しかし、雌はさらに体重減少を示す。

先に藤井⁵⁾⁶⁾は今回と同じ条件で正常、甲状腺別出、去勢ラットに男性ホルモン(MAD, TP)投与を行い、雌雄により影響の受け方が著明に異っている結果を得たが、今回のEB投与実験でも同様であつた。すなわち、これら両ホルモン投与を総括して考察してみると、雌は男性ホルモン投与により、正常でも、去勢、甲状腺欠除、いずれの場合も成長が促進され、女性ホルモン投与によつては殆んど影響がないか、僅かに抑制される。これに反し、雄は男性ホルモン投与により、正常、去勢、甲状腺欠除、いずれの場合も成長は抑制され、女性ホルモン投与ではさらに著しい成

長抑制を来す。勿論、この場合投与量が問題となるが、雌との比較においてみれば雄は種々の条件下で成長が抑制され易い、換言すれば、非常に外部よりのホルモンに影響され易い。それに反し、雌は比較的その影響をうけ難いといえる。このように性ホルモンに対する反応の性差はいかにして生ずるのであろうか。この問題はなお今後の研究にまたねばならないが、その際、第1に自己の有する性ホルモンの存在を無視するわけにはいかない。しかし、去勢した場合にもその差が存在することは、性腺以外に、遺伝子を別としても、他の臓器例えば副腎その他の作用が性ホルモンの働き出す以前に現われていることも考えられる。

一方、今回のEB投与では、甲状腺剔出前から、剔出と同時に投与を開始した場合との間の成長に差が認められなかつたが、MAD、TP投与の場合の如く、ホルモン投与開始時期の差によつて影響が非常に異なることは、やはり、成長の時期によつて優位性を保つホルモンが異なるためとも考えられる。

男性ホルモン投与、女性ホルモン投与、いずれの場合にも反応に性差を認めたのであるが、その程度はかなり異なる。すなわち、正常雄ラットに男性ホルモンを投与した場合、あるいは去勢雄ラットの場合にみられる成長抑制を性腺の抑制、あるいは欠除、つまり男性ホルモンの不足の結果とすれば、雄ラットにEB投与せる場合も、性腺の抑制のための男性ホルモン不足、あるいは男性ホルモンとの拮抗から成長抑制が起ることは当然考えられるのである。

しかし、本実験によると、EB投与の場合の抑制が、あまりに著明であつたことは、単なる体内における男性ホルモンと女性ホルモンとの拮抗というよりもさらに他の面、すなわちEBの代謝面に対する影響を考へてもよい。そのため著者はまず血清蛋白量およびその分割をみたのであるが、MAD、TP投与の実験に比し、アルブミン増加傾向を示しているのをみた。

次に、臓器重量の変化からみると、性腺、副性腺の変化が著明で、しかもMAD、TP投与の場合に比し、睪丸、精囊、前立腺重量減少が著明である。一方、卵巣は0.05 mg/kgでは減少0.1 mg/kgでは嚢腫状に腫大した汚胞が多く、また重量も増加していた。

体重の変化からはあまり明かでないが、臓器重量の面からみると正常、甲状腺剔出、去勢、各群の間に感受性の相違が認められる。すなわちEBによる甲状腺剔出ラットの卵巣、子宮、下垂体の重量増加は正常及び去勢ラットより著明であり、さらにスミア所見においても甲状腺剔出群の方が発情持続期間が長い。甲状腺剔出ラットの精囊、前立腺の重量の増加度の増大はTP投与の際にも認められたことで、甲状腺剔出ラットはJanes¹⁰⁾ および Mandle¹⁸⁾ のいう Gonadotropin に感受性が昂まるのみでなく、性ホルモンにも感受性が昂まるように考えられる。

副腎、下垂体重量は正常状態において性差が著しいのであるが、TPは雌の副腎、下垂体重量を減少させるが雄では殆んど影響を与えず、一方、EBは雄の副腎、下垂体重量を増加させるが、雌自身のものには殆んど影響を与えない。しかも、両ホルモンの作用を比較するとEBが雄の重量を増加させる程度の方が、TPが雌のを抑制する程度より著しく大である。

他の臓器のうち、膀胱、心臓、特に前者の重量増加がEB投与で著明なのは、女性ホルモンが子宮の如き平滑筋に作用点を有するのと、これら臓器が平滑筋あるいはそれと類似の構造の筋肉から出来ていることと何らかの関連があるのではないかと想像される。

Kochakian¹⁴⁾ 等はマウスの膀胱重量が去勢により減少し、これにテストステロンを投与すると増加すると報告しているが、藤井の実験ではMAD、TPは正常及び去勢ラットの膀胱重量を軽度増加させるが、EB投与の場合の方が著明である。男性ホルモンが、むしろ、横紋筋の發育と密接な関係を有することと考へあわせると興味深い。

結 語

女性ホルモンとしてエストラジオール・ベンテート 0.05 mg/kg および 0.1 mg/kg を正常去勢、および甲状腺剔出ラットに生後1週より、あるいは手術時から生後100日まで隔日投与し、成長發育に如何なる影響を及ぼすかを、体重の変化を中心に観察した。

1. 正常、去勢、甲状腺剔出雄ラットの体重曲線はEB投与により、いずれも著明な低下を示した。これに反し雌の体重は殆んど影響をうけな

いか、僅かに抑制を示したのみである。

2. いずれの群も雄の性腺、副性腺重量減少が著しいが、卵巣、子宮は重量減少あるいは増加を示した。とくに卵巣重量増加は正常ラットの生後1週より、および甲状腺別出と同時に0.1 mg/kg投与群に著明で囊腫状の腫大を示した。

3. EBによる副腎、下垂体重量の増加は、雄に於て著明である。EBは膀胱重量も増加させる。甲状腺別出ラットにおける発情持続が最も著しい。EBは雌において血清アルブミンの増加傾向を示した。

終りに臨み、御懇篤な御指導を賜かつた小山良修教授に深謝すると共に御協力下さった藤井壽子助手に厚くお礼申し上げ、また絶えず御鞭撻賜わつた教室員各位に感謝する。

文 献

- 1) 安藤晴弘：産婦の世界 4 1149 (1952)
- 2) Eder, H.A. : Recent Progr. Hormone Res. N.Y. 14 405 (1958)
- 3) Eisenberg, E., Gordon, G.S. : J. Pharm. Exp. Ther. 38 99 (1950)
- 4) Gordon, G.S., Evans, H.M. & Simpson, M.E. : Endocrinol. 40 375 (1947)
- 5) Fujii, T. : Endocr. Jap. 6 47 (1959)
- 6) Fujii, T. : ibid. 6 125 (1959)
- 7) Fillios, L.C. : Endocrinol. 60 22 (1957)
- 8) Hershberger, L.G., Shipley, E.G. & Meyer, R.K. : Proc. Soc. Exp. Biol. 83 175 (1953)
- 9) Hohlweg, W. : Stoffwechselwirkungen der Steroidhormone. 156 Springer-Verlag (1955)
- 10) Janes, G. : Endocrinol. 54 464 (1954)
- 11) 小林茂三郎, 森五彦：濾紙電気泳動法の実際 104頁 3版 南江堂 (1956)
- 12) Kochakian, C.D. : Am. J. Physiol. 160 66 (1950)
- 13) Kochakian, C.D., Beall, B. : ibid. 160 52 (1950)
- 14) Kochakian, C.D., Endahl, G. & Austin, J. : Endocrinol. 60 80 (1957)
- 15) Korenchevsky, V., Demrison, M. & Simpson, S.L. : Biochem. J. 29 2534 (1935)
- 16) 小山良修：動物実験手技 92, 103 頁 改訂2版 協同医書出版 (1958)
- 17) 小山良修, 左近さくら, 細田明子, 亀井照子, 藤井壽子：日薬理誌 51 (5) 151 (1955)
- 18) Mandl, A.M. : J. Endocrinol. 15 448 (1957)
- 19) 松村義寛：臨病理 3 50 (1955)
- 20) Paesi, E.J.A., de Jongh, S.E., Hoogstra, M.J., & Engelbregt, A. : Acta Endocrinol. 19 49 (1955)
- 21) 安田守雄：ホルモンと臨 3 1157 (1955)