

〔特別掲載〕

(東女医大誌第29巻第11号)
(頁955—968 昭和34年11月)

去勢尿のゴナドトロピン作用について

東京女子医科大学薬理学教室 (主任 小山良修教授)

原 田 住 江
ハラ タ スミ エ

(受付 昭和34年10月1日)

目 次

緒 言
実 験

I 実験材料及び方法

A 実験材料

- 1) 去勢婦人尿
- 2) 妊婦尿
- 3) 正常婦人尿
- 4) 実験動物

B 実験材料の調製及び効力検定

- 1) 原尿
- 2) 粉末

II 実験成績

A 連続投与実験

- 1) 正常動物
- 2) 下垂体別出動物
- 3) 下垂体別出に去勢を併せ行つた動物

B 精製及び動物実験

- 1) 精製物質
- 2) 濾紙電気泳動
 - a) 実験材料及び方法
 - b) 実験成績
 - 泳動像
 - 生物学的検定
 - 考 察
 - 結 論
 - 参考文献

緒 言

先に当教室の左近¹⁾は去勢婦人尿の研究を行い、その生物学的有効成分は下垂体性の性腺刺激ホルモンであることを証明し、更にこれを妊婦尿と比較して異なる生物学的特徴のあることを述

べ、抽出法として65%アセトン法を考案している。今回、私はその後の問題として抽出物の精製、更に妊婦尿との比較を追求し新知見を得たので報告する。

実 験

I 実験材料及び方法

A 実験材料

1) 去勢婦人尿

卵巣疾患により卵巣別出術を受けた2人の婦人の早朝尿を用いた。

去勢尿Aは32才未婚。両側卵巣皮様嚢腫で両側卵巣別出術を8年前に受けている。この人の分を主に使用した。

去勢尿Bは35才未婚。7年前に出血性子宮症、強度の黄体嚢腫、壁内性子宮筋腫で付属器別出と子宮腔上部切断術を受けている。この人の分を補助的に用いた。

2) 妊婦尿

正常妊娠1~6ヶ月の5人(C, D, E, F, Gとして)の早朝尿を使用した。これを妊婦尿C, D, E, F, Gとする。

3) 正常婦人尿

対照用として20才健康未婚婦人2人の月経後の早朝尿を適時使用。

実験期間は昭和30年9月より34年2月迄に行つたものである。

4) 実験動物

ラットは本教室一定飼育管理下のWistar系及びWistar-King A系の体重200g前後の雌成熟ラットを使用。

マウスは動物商より購入の市販の雑系15~20gの雌成熟マウスと7~10gの雌未熟マウスを使用。

Sumie HARADA (Department of Pharmacology, Tokyo Women's Medical College): The gonadotrophic action of castrate urine.

B 実験材料の調製及び効力検定

1) 原尿

まず被検去勢婦人A及びBの尿、妊娠婦人C、D、E、F、Gの原尿について、先に左近の行つた方法に従いマウスの100時間法で(1回0.3cc, 全量1.5cc注射)有効成分の有無を検したところ両者共有効成分を認めた(表1)。

表1 原尿注射(100時間法)

	スミア所見	剖 検 所 見		
	角化期	卵 巢 (出血点)	卵巣(充血, 肥大, 黄体)	子宮(充血, 肥大)
去勢原尿	+	-	+	+
妊婦原尿	±	+	+	+

2) 粉末

上記の如く各々に有効成分を認めたので、左近が去勢尿について行つたと同様な方法で去勢尿、妊婦尿双方共65%アセトン粉末を作製した。

これ迄、妊婦尿を粉末にする場合は一般に安息香酸沈澱法が用いられており、その他には他の有機溶媒による沈澱法、アルカロイド試薬による沈澱法、限外濾過法、吸着法など種々な方法が試みられて来たが、2) 3) 4) 5) 6) 去勢尿粉末と比較する為に前記の如く65%アセトン法によつた。アセトン沈澱法は簡便である上に、去勢尿に対しては安息香酸沈澱法はpHの関係で無効であることがすでに左近により証明されているので去勢尿、妊婦尿両者同方法で作製した粉末について比較検討を行うために、妊婦尿にもこの方法を採用したのである。

すなわちこの粉末の有効量を用いれば去勢尿、妊婦尿共原尿を用いた場合と同程度の結果を得(表2)

表2 抽出粉末注射(100時間法)

	スミア所見	剖 検 所 見		
	角化期	卵 巢 (出血点)	卵巣(充血, 肥大, 黄体)	子宮(充血, 肥大)
去勢尿粉末	+	-	++	++
妊婦尿粉末	±	++	+	+

かつ大量を用いても毒性なく、殊に妊婦尿における出血点は一層著明に現われるのを認めた。

処理総量は去勢尿 60.7 L から65%アセトン粉末 191 g を、妊婦尿 22.2 L から同じく65%アセトン粉末 96.5 g を取得した(表3)。

表 3

	原尿量 (L)	取得量 (g)	原尿1cc相当 粉末量 (mg)	粉末1g相当 原尿量 (cc)	1単位相当量	
					原尿 (cc)	粉末 (mg)
去勢尿	60.7	191.0	3.15	317.8	5.5	17.33
妊婦尿	22.2	96.5	4.35	231.1	0.4	1.74

効力の検定は原尿の時と同様マウスの100時間法で1回0.3cc全量1.5ccの中に所要量が含まれる様に各種の量の粉末を蒸留水に溶解して各群のマウスに注射した。この場合、最少有効量を1単位とした。去勢尿の1単位相当量は原尿相当5.5cc、妊婦尿の1単位相当量は原尿相当0.4ccであつた。以後の実験の際には、有効かつ充分な量として各5単位づつを使用した。

以上に述べた抽出物は粗製粉末であつて磷酸塩その他の夾雑物を多量に含有するが、動物実験に使用する際には水溶液となし濾過して使用すれば何等支障はない。精製物質を使用する場合は、実験に際してその都度作製した。すなわち保存に際して粗製粉末のまま放置する方が精製粉末とするよりも効力の減退を来さない(3年間保存するも殆ど効力の減退はない)。以上のことを顧慮して本実験にはこの粗製粉末を主として使用した。

去勢尿中に Estrogen を含まないことはすでに左近が証明している。すなわち去勢尿及び去勢尿粉末の大量を去勢動物に注射してもスミア(陰脂膏)所見は発情像が見られないということは、去勢尿中に Estrogen を含まないことを意味し、去勢尿中の発情させる成分は Estrogen ではないことの確証としている。これに反し妊婦尿原尿には明らかに Estrogen が含有されているが、これを65%アセトン処理による妊婦尿粉末には Estrogen は含まれていない。すなわち去勢マウスに妊婦原尿 5cc~20cc 当りの粉末、去勢ラットには同じく原尿 25cc~100cc 当りの粉末の大量を注射し一方、予めエーテルにより妊婦尿の Estrogen を除去した原尿注射を対照として比較した成績はいずれも陰性であつて、65%アセトン処理の過程において妊婦尿中の Estrogen は除去されていることを確認した。

II 実験成績

実験の判定に際してスミア所見は小山・中尾法(1954)⁷⁾に従つた。

剖検に際しては軽くエーテル麻酔後瀉血して屠殺。各臓器を秤量し、ラットは体重100g当りに、マウスは体重10g当りに換算して1群毎に平均値を算出した。特に卵巣、子宮の肉眼的所見に注目

した。

組織所見は剖検所見により著明な変化を認めたものについて組織標本（ヘマトキシリン・エオジン及パス染色）を作製した。

A 連続投与実験

1) 正常動物

正常ラットに去勢尿粉末或いは妊婦尿粉末を連続注射すると両者共にスミア所見は不規則となり、正常な性周期を示さなくなつて発情像が長く間期が短くなつたり周期の順序が乱れたりする。

剖検所見において卵巢、子宮は両者共充血肥大し殊に妊婦尿粉末において著しい。妊婦尿粉末では卵巢に出血点が多数必発する。胸腺は妊婦尿粉末注射の際は異常に縮少した。一般に胸腺は去勢すると増量するのに対し、各粉末共注射すると縮少の傾向にある。これを重量の大なるものの順に列挙して表4に示した。

包皮腺は去勢すれば萎縮し、去勢尿粉末或いは妊婦尿粉末を注射すれば更に縮少する。正常動物に去勢尿粉末、妊婦尿粉末を注射した時も縮少の傾向にあるが、特に去勢尿粉末注射は去勢動物（対象として食塩水注射）程度に迄縮少する。大きさを比較すれば表4、表5のごとくである。副腎及下垂体の重量比較も表4、表5に示した。

表4 正常及去勢動物の抽出粉末連続注射による臓器重量比較

胸腺	去勢 + 食塩 水	去勢 + 去勢尿 粉末	去勢 + 妊婦尿 粉末	正常 + 食塩 水	正常 + 去勢尿 粉末	正常 + 妊婦尿 粉末
包皮腺	正常 + 食塩 水	正常 + 妊婦尿 粉末	去勢 + 食塩 水	正常 + 去勢尿 粉末	去勢 + 妊婦尿 粉末	去勢 + 去勢尿 粉末
副腎	正常 + 去勢尿 粉末	正常 + 妊婦尿 粉末	正常 + 食塩 水	去勢 + 食塩 水	去勢 + 去勢尿 粉末	去勢 + 妊婦尿 粉末
下垂体	正常 + 食塩 水	正常 + 妊婦尿 粉末	正常 + 去勢尿 粉末	去勢 + 食塩 水	去勢 + 去勢尿 粉末	去勢 + 妊婦尿 粉末

組織所見としては：

子宮：正常ラットに妊婦尿粉末を連続注射したものは内腔が長期に亘り著しく広がつたため上皮細胞は圧平され皺壁が消失している。又、基底細

胞は殆ど見当らず腺も退化的で筋層も圧平されている（図1）。去勢尿粉末注射のものは実質的な肥大がある（図2）。

去勢ラットの子宮は無処置（図3）も注射後（図4、図5）も全体的に萎縮像を示しており上皮細胞も萎縮的で腺細胞に退化が認められる。特に妊婦尿粉末注射のもの（図5）が一番萎縮が強いように見える。

卵巢：妊婦尿粉末を注射したものにおいては新しい黄体、出血、多数の原始卵胞、卵子が見られ黄体の中心に白体となるべき結締織の部分が出現しているものもある（図6）。去勢尿粉末では大きな黄体ができるが出血は見られない（図7）。

包皮腺：去勢ラットにおいては細胞そのものが変化して萎縮像を示し（図8）、殊に去勢して去勢尿粉末を注射したもの（図10）が最も萎縮が著明である。（正常ラットに食塩水注射（図9）、妊婦尿粉末注射（図11）と比較）。

2) 下垂体別出動物

有効物質は下垂体性のものであるか否かを確かめるために、下垂体別出ラットに対する実験を行った。まず小山氏法⁸⁾によつて、主として体重200g前後のラットの下垂体別出を行つて、別出症状の現れたものに去勢尿及び妊婦尿のアセトン粉末の各5単位を20日間連続注射して比較研究した。対照として下垂体別出ラットに食塩水注射を行つた（表6）

すなわち、下垂体別出ラットに妊婦尿粉末或いは去勢尿粉末を注射したものでは、スミア所見は角化期陽性が凡そ4日目頃より発現して死に至る迄継続し、下垂体別出ラットに食塩水を注射して陰性に終つているものと比較すれば、両者共ゴナドトロピン様作用を有することは明らかである。

ただし、下垂体別出ラットに去勢尿粉末注射を行つたものにおいては、スミア、剖検所見（後述）共に明らかな陽性を示すに反し、妊婦尿粉末注射においてはスミアは陽性となるにもかかわらず、剖検時卵巢、子宮に著明な変化を見られぬことは両者共 Gonadotrophic のものではあるが明らかにその作用に差異のあることは注目すべきことである。

なお、この正常動物及び下垂体別出動物に対する連続投与量は妊婦尿粉末、去勢尿粉末共に原尿に換算すれば非常に大量となるように用いたので

表5 正常及去勢動物の抽出粉末連続注射による臓器重量

処置 臓器 mg	正 常	正 常	正 常	去 勢	去 勢	去 勢
	+ 食 塩 水	+ 去 勢 尿	+ 妊 婦 尿	+ 食 塩 水	+ 去 勢 尿	+ 妊 婦 尿
胸 腺	106 ± 16.2	92 ± 11.0	35 ± 8.4	180 ± 15.3	115 ± 15.4	112 ± 8.9
副 腎	21 ± 1.0	25 ± 2.0	21 ± 2.4	20 ± 1.4	18 ± 0.4	14 ± 1.4
下 垂 体	3 ± 0.7	5 ± 0.4	5 ± 0.6	5 ± 0.5	5 ± 0.6	4 ± 1.0
卵 巢	29 ± 1.4	55 ± 7.5	120 ± 11.3			
子 宮	208 ± 7.1	262 ± 6.8	334 ± 8.1	46 ± 2.0	32 ± 2.8	29 ± 3.3
包 皮 腺	38 ± 3.7	26 ± 2.8	33 ± 2.6	28 ± 1.0	22 ± 1.4	19 ± 2.2

表6 抽出粉末連続注射（下垂体別出ラット）

処置	スミア所見	剖 検 所 見			
		卵 巢 (出血点)	卵 巢 (充血肥大)	子 宮 (充血肥大)	
下 垂 体 別 出	妊婦尿粉末	角化期連続	-	+	+
	去勢尿粉末	角化期連続	-	++	+++
	正常尿粉末	間期連続	-	--	-
	食塩水	間期連続	-	-	-
正 常	妊婦尿粉末	不規則	++	++	++
	去勢尿粉末	不規則	-	+	+

あるが、正常婦人尿も同じく65%アセトン抽出法で処理して粉末を作り、同様に下垂体別出ラットに原尿 20 cc 当り 10 日間連続注射をしたがスミア、剖検所見共に陰性であった。

組織所見

子宮：図12は対照として正常ラットに食塩水注射を行ったものの子宮である。図13は下垂体別出ラットに正常婦人尿粉末を注射した子宮で萎縮が高度である。図14は下垂体別出ラットに妊婦尿粉末を注射したもので図13、図14共いずれも体重 200 g 前後のラットであるが妊婦尿粉末注射の方が太く、腺様組織も前者より多く、正常ラット(図12)に近い所見を示す。

この図12~14と、図15の下垂体別出ラットに去勢尿粉末を注射した子宮を比較すれば実に著明な差異が見られる。すなわち図15では内腔が最も拡大し周囲は数倍に太くなるが壁は非常に薄くなる。上皮下及び結締織に細胞の浸潤を認める。スミア所見は前述のごとく角化期連続を示すにもか

かわらず、腺様組織も殆ど認められずこのように萎縮像を示すことは半月余も水様内容を充満させ極度の緊張状態にあつたためと思われる。

卵巢：図16は下垂体別出ラットに正常婦人尿粉末を注射した卵巢で、全体として少々萎縮し陳旧性の黄体が見られる。図17は下垂体別出ラットに去勢尿粉末を注射したもので、多数の成熟卵を認める。図18の下垂体別出ラットに妊婦尿粉末を注射したものは、血管の拡張は著しく、黄体細胞は退行変性しつつあるものようである。

剖検所見、組織標本のいずれにおいても下垂体別出ラットに妊婦尿粉末を注射したものは、正常ラットに注射した場合のような出血点は認められない。

3) 下垂体別出に去勢を併せ行つた動物

体重 200 g 前後のラットに(2)の実験の時と同じく小山氏法で下垂体別出を行い、別出症状のあらわれたものに更に卵巢別出を施し、20日間経過したものに去勢尿粉末及び妊婦尿粉末を各5単位づつ10日間連続投与した。使用ラットは12匹で結果は表7に示すごとくスミア剖検所見共陰性であった。

表7 抽出粉末連続注射（下垂体別出+去勢ラット）

処置	スミア所見	剖 検 所 見		
		卵 巢 (出血点)	卵 巢 (充血肥大, 黄体)	子 宮 (充血肥大)
去勢尿粉末	間期連続	-	-	-
妊婦尿粉末	間期連続	-	-	-

組織所見：図19は下垂体別出に卵巢別出を併せ

行つたラットに妊婦尿粉末を注射した子宮、図20は同じ条件に去勢尿粉末注射をした子宮である。両者共、萎縮が極めて高度で、これを図21の正常ラットに正常婦人尿粉末を注射して丁度角化期に当つた時の子宮に比較すれば非常な差異が見られた。

B 精製及び動物実験

以上の実験により去勢尿粉末及び妊婦尿粉末にはゴナドトロピン様の物質が含まれていることを証明したが、両粉末の動物実験における差異は含まれるゴナドトロピンの質的或いは量的の差によるのではないかと考えられる。そこで両粉末を精製し、化学的にその差異を検索することを試みた。

1) 精製物質

去勢尿及び妊婦尿の65%アセトン粗製粉末を少量の蒸留水に溶解し、セロファン膜をとおして蒸留水に対し透析する。外液中に析出する磷酸塩はM/3 塩化第二鉄溶液を滴下して白濁するをもつて検し、白濁しなくなつたら内液を濾過、この濾液に65%アセトンを加えて再沈澱し、遠沈してアセトン、エーテルで洗い、乾燥粉末とする。収量は約5%である。すなわち平均収量は粗製粉末各々10gより去勢尿精製粉末0.42g、妊婦尿精製粉末0.50gであつた。この程度の精製では表8に見られるごとく、なお夾雑物をふくんでいるが、濾紙電気泳動実験に供するには充分であつた。

表8 夾雑物成分分析表

		Na mg/dl	K mg/dl	Ca mg/dl	P mg/dl	総N mg/l
去勢尿 粉 末	透析前	45.0	16.65	0.116	23.92	58.1
	透析後	0.709	2.49	0.097	0.28	1.48
妊婦尿 粉 末	透析前	81.3	6.67	0.292	32.36	56.7
	透析後	0.52	0.292	0.030	0.18	0.476

2) 濾紙電気泳動

a) 実験材料及び方法^{9) 10)}

装置は小林式濾紙電気泳動装置A型(水平式)を使用し、濾紙は東洋濾紙 No.51 及び Whatman No.1 (12×26cm:水平部分16cm)を用いた。

緩衝液はペロナール(ペロナール, ペロナールナトリウム, pH 8.6), 酢酸ペロナール(ペロナールナトリウム, 酢酸ナトリウム, 酢酸, pH 8.5) 及び酢酸

(酢酸, pH 1.7) の3種類を用いた。

試料として去勢尿及び妊婦尿の精製粉末の一定量をなるべく少量の緩衝液に溶解し遠沈して上清をとり1回の泳動に0.02cc(原尿相当約200cc)を使用した。また標準物質としてシナホリン(帝國臓器)は1回の泳動に10家兎単位, プベローゲン(友田製薬), フィゼックス(レオ), アンテックス(レオ), セロトロピン(帝國臓器)はそれぞれ500単位を用いた。

方法は定電圧(250V)定電流(濾紙1枚当り6mA)で酢酸緩衝液の場合は3時間, 酢酸ペロナールは5~6時間, ペロナールは8時間泳動を行つた。泳動後は100°Cの乾燥器で20分間乾燥した後, Amidoschwarz 10B, Bromphenolblue (BPB), Schiff 試薬, Ninhydrin 試薬及び Orcino 試薬で染色或は発色を行つた。

生物学的検定の際はペロナール緩衝液で泳動した。あらかじめ濾紙上に原点より泳動方向に1cm毎に13の分割に分けて印をつけておき、原点において両端1cmずつを残して長さ10cmに線状に試料をつけ、泳動後乾燥することなく各分割を切りとり、稀アンモニヤを滴下した蒸留水で抽出し、分割毎に生物学的検定を行つた。

b) 実験成績

酢酸緩衝液では両粉末共、陰極方向へ移動し、Amidoschwarz 10B, BPB染色で去勢尿粉末は不明瞭ながら3成分に分離した染色帯を認め、妊婦尿粉末では明瞭な1成分を認めた。シナホリンは2成分に分離した。酢酸緩衝液の場合は泳動速度が大きく、分離が明瞭であるが、特に去勢尿において生物学的活性度が落ちるので、下記の生物学検定には使用出来なかつた。

ペロナール及び酢酸ペロナール緩衝液では去勢尿粉末も妊婦尿粉末も殆ど同じ位置に前者はやはり不明瞭ながら3コ、後者は1コの染色帯を認めた。酢酸ペロナールと比較すればペロナールの方が時間がかかるがより明瞭な染色帯を得ることができる(図22)。

しかし標準物質との一致はどの緩衝液を用いた場合にも、どの染色試薬を用いた場合にも得られなかつた。また標準として用いたアンテックスとセロトロピンはF S H様物質と考えられるが、互にその染色帯は一致せず、フィゼックスとプベローゲンはL Hに相当すると考えられるが、その染色帯も互に一致しなかつた。またシナホリンはL HとF S Hの両成分をふくむものとして使用したのであるが、その染色帯も他の標準物質の染色

表9 去勢尿粉末、妊婦尿粉末及びシナホリンの濾紙電気泳動法による各分割の有効成分の検定

		分割別							
臓器重量mg		1	2	3	4	5	6	7	
シナホリン	子宮	17.3 ± 1.7			29.6 ± 2.2	37.6 ± 4.1	18.6 ± 2.2	36.3 ± 5.3	
	右卵巢	3.2 ± 0.3			5.2 ± 0.8	5.6 ± 0.7	5.2 ± 0.7	6.4 ± 0.5	
	左卵巢	3.2 ± 0.3			5.3 ± 0.9	5.9 ± 0.9	5.4 ± 0.5	6.5 ± 0.6	
去勢尿粉末	子宮	9.1 ± 0.8					9.0 ± 1.6	10.0 ± 1.0	
	右卵巢	3.8 ± 0.1					5.5 ± 0.5	4.5 ± 0.4	
	左卵巢	3.8 ± 0.1					5.6 ± 0.3	4.5 ± 0.4	
妊婦尿粉末	子宮	10.0 ± 1.2			25.7 ± 3.1	30.7 ± 4.1	26.5 ± 3.5	13.2 ± 2.7	
	右卵巢	4.3 ± 0.2			6.1 ± 0.9	7.2 ± 0.5	6.7 ± 0.3	4.1 ± 0.4	
	左卵巢	4.6 ± 0.3			5.9 ± 0.6	7.1 ± 0.4	5.7 ± 0.8	4.1 ± 0.4	
		分割別							
臓器重量mg		8	9	10	11	12	13		
シナホリン	子宮	17.0 ± 2.4	25.3 ± 1.3	11.0 ± 0.1	9.0 ± 0.1	18.6 ± 2.2			
	右卵巢	4.7 ± 0.6	4.7 ± 0.9	3.9 ± 0.4	2.8 ± 0.2	4.3 ± 0.8			
	左卵巢	4.8 ± 0.3	4.4 ± 0.6	3.9 ± 0.4	3.1 ± 0.1	4.5 ± 0.9			
去勢尿粉末	子宮	12.5 ± 0.2	17.6 ± 2.8	12.3 ± 1.4	9.9 ± 1.0	9.1 ± 0.6			
	右卵巢	4.7 ± 0.6	4.8 ± 0.4	4.4 ± 0.4	3.5 ± 0.5	3.5 ± 0.2			
	左卵巢	4.8 ± 0.4	4.8 ± 0.4	4.6 ± 0.2	3.8 ± 0.4	3.5 ± 0.2			
妊婦尿粉末	子宮	11.6 ± 2.3	4.8 ± 2.1						
	右卵巢	4.5 ± 0.5	4.2 ± 0.2						
	左卵巢	4.6 ± 0.6	4.1 ± 0.2						

帯との一致をみることはできなかつた。

次に生物学的検定法すなわちマウスの100時間法により、泳動後どの分割に有効成分が存在するかを検討した。標準物質としてはシナホリンを使用した。泳動後濾紙の上下両端を各1cm巾に切りはなし、BPB及びAmidoschwarz 10Bで染色し、生物学的活性度を示す分割を比較した結果、去勢尿粉末では常に染色帯より後の部分、妊婦尿粉末では常に染色帯より前の部分に両者共染色帯よりかなり離れて有効成分をふくむ分割のあることを知つた。すなわち去勢尿粉末では第9～10分割を抽出した液をマウスに注射すれば、卵巢（出血点なし）の変化に比して著しい子宮重量の増加を見ることにより有効成分の存在が証明され、妊婦尿粉末ではほぼ第4～5分割の浸出液に

より多数の出血点、黄体を伴う卵巢及び子宮の充血肥大、重量増加により明らかに有効成分の存在が証明された（図23）、（表9）。

これをシナホリンと比較すると、シナホリンの第4分割の部分は妊婦尿粉末と同様に卵巢の出血点及び卵巢、子宮の充血肥大が認められ、第9分割では去勢尿粉末の場合と同じく卵巢、子宮の刺激像が認められた。なおその他に、第7分割に卵巢、子宮の著しい重量増加及び刺激像をみたのであるが、これは第4～5分割と第9分割の有効成分が重なり合つた部分に相当するものと考えられる（図24）（但しこの際、精製及び泳動手技の関係で去勢尿粉末も妊婦尿粉末も同じ量を泳動したが、実際の有効量の点から云えば1単位相当量は両者間に表3に見られる差異がある。よつて表9

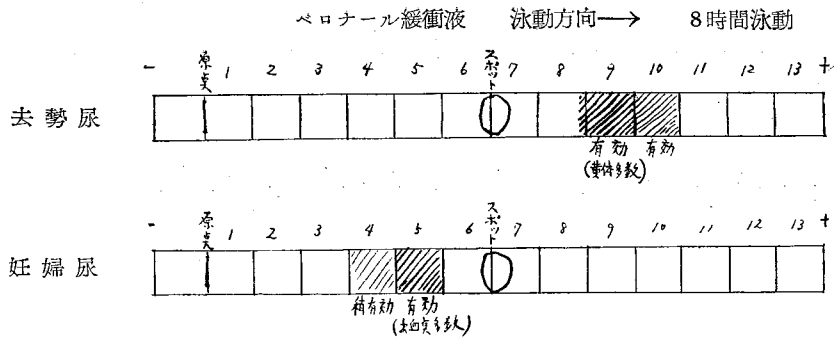


図23 両尿粉末の有効成分の位置比較

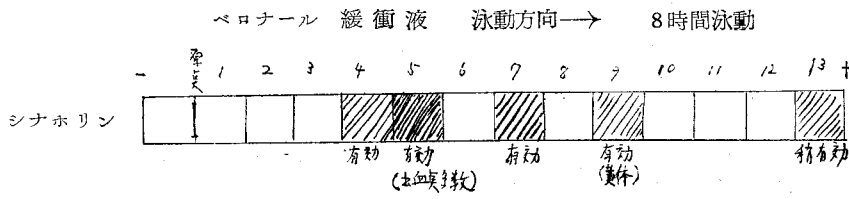


図24 シナホリンの有効成分の位置

の子宮重量の項は用いた去勢尿粉末の有効成分が他に比し少いため、子宮重量そのものを妊婦尿粉末或いはシナホリンと比較するという事は妥当ではない。

以上の有効成分の分割は上記のいずれの発色試薬でも発色せず、有効成分の位置を適確に示す試薬を見出すことはできなかつた。

考 察

以上の実験成績より見ると、去勢尿と妊婦尿との差は去勢尿ではFSH作用が強いのに対し、妊婦尿ではLH作用が大半であることである。この事は左近の報告その他諸氏の研究により承認されている事実である。私の実験において去勢尿の著明な作用としては、下垂体別出ラットに去勢尿粉末を連続注射した場合に、子宮壁は長期の異常なる拡張によつて組織像はかえつて萎縮をさえ示し、スミア、剖検所見共に明かな陽性を示すのを認めた。之に対し妊婦尿粉末を下垂体別出ラットに連続注射した場合は、スミアは陽性になるにも関わらず、剖検時卵巣、子宮に特別著明な変化が見られなかつた。すなわち、両者共同しくGonadotrophicの作用を有するがそこに大きな差異のあることを思わせる。

ここに付け加えることとしては包皮腺については報告が少なく、又結果もきわめてまちまちであ

る。中尾(1957)¹¹⁾はマウスに対しAndrostenediolを投与して著明に増大するを見ており、Noble, Collips(1941)が粗製下垂体抽出物を注射して増大せしめたことと、去勢についての影響はKorenchevsky, Dennison及びSimpson(1935)は20~40%減少すると云い、Noble, Collips(1941)は影響なしといつたことを併せ述べている。私の実験では去勢により重量は約20%減じ、妊婦尿粉末、去勢尿粉末注射はいずれも減少した。

ゴナドトロピンを化学的に検定しようという試みはCrooke, Butt et al(1952)¹²⁾により実施され、その後沔紙電気泳動法の発展に伴つて我が国においても梶原¹³⁾、松島¹⁴⁾、小西等¹⁵⁾ ¹⁶⁾により沔紙電気泳動法が妊婦尿や標準物質に応用されている。私は去勢尿粉末及び妊婦尿粉末についてこの方法を用いて、両尿を比較検討する一助とし、あわせて他のゴナドトロピンとも比較した。沔紙電気泳動法による物質分離の場合泳動沔紙を染色した結果からは去勢尿粉末と妊婦尿粉末との染色帯の位置には判然とした差異を見出すことは困難であり、また標準物質の染色帯の位置とその生物学的活性との関係を一致させることはできなかつた。恐らくこの方法は今後なお検討を要するであろう。ただし、泳動後の沔紙を抽出して生物学的検査を行つた時、有効成分を含む部分は妊婦

尿においては常に染色帯の前,すなわち原点寄り,去勢尿においては染色帯の後にあることを認めることが出来た。

FSH, LH, 2成分の共存するシナホリンを泳動すると2成分に分離して生物学活性を示すが,出血点の現れる第4,第5分劃はLHに相当するのであろうし,子宮の大となる第9分劃はFSHに相当するのであろうと思われる。従つてこれをもつてみれば前者と同じ場所に同様の活性を示す妊婦尿粉末はLH作用が主であらうし,後者と同じ場所に同様の活性を示す去勢尿粉末はFSH作用が主であらうと考えられる。その他に個々にとつては主なる活性を示す部分ではなくて僅かな効力が存在するのみであつても, LH, FSH両作用がお互に重なり合う場所では第7分劃においてみられるように著明な子宮及卵巣重量増加を來たすので,之は成書に記載されている如く両者の協調作用によるものと思われる。

結 論

1) 去勢婦人尿,妊婦尿ともに65%アセトン抽出物質中には Estrogen は含まれていない。

2) 去勢婦人尿及びその抽出物質のゴナドトロピン作用は妊婦尿のものと異なり,動物に連続注射した場合に子宮拡大著明,卵巣成熟卵胞著明を現わした。

3) 下垂体別出動物に対しては去勢婦人尿及び妊婦尿中の物質はゴナドトロピン作用を有するが,下垂体別出と去勢を併せ行つた動物に対しては,その作用は發揮されない。

4) 去勢婦人尿及び妊婦尿のアセトン粉末を精製し,滲紙電気泳動法により作用物質の確認を試みた。

稿を終るに臨み終始御懇篤な御指導,御校閲を賜りました小山良修教授及び教室の諸姉に謹んで感謝の意を表します。尙有益な示唆と御助力を頂いた東邦大小西行男氏,帝国臓器松島早苗氏,慶大工藤愛子氏及び本学解剖学教室の諸姉に深甚なる謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) 左近さくら: 日薬理誌 49 296 (1935)
- 2) 緒方 章: 臓器薬品化学 (1935)
- 3) 上野福寿: お茶の水医誌 4 855 (1956)
- 4) 早津清二: お茶の水医誌 4 883 (1956)
- 5) Albert, A.: Recent Progress in Hormone Research, 12 227 (1956)
- 6) Rigas, A., Alvin, C.P. and Carl, G.H.: Endocrinology, 62 738 (1958)
- 7) 小山良修・中尾 健: 生体の科学 6 88 (1954)
- 8) 小山良修: 動物実験手技 48 (1955)
- 9) 小林茂三郎・森 五彦: 滲紙電気泳動法の実際 (1956)
- 10) 小林茂三郎・村井京子: 臨病理特集 3 36 (1955)
- 11) 中尾 健・平井正直・岩崎益美: マウス研究班報告 (1957)
- 12) Crooke, A.C. and Butt, W.R.: Proc. Roy. Soc. Med., 45 805 (1952)
- 13) 梶原和人: 臨婦産 8 863 (1954)
- 14) 松島早苗: ホルモンと臨 3 796 (1955)
- 15) 小西行男: 産婦の世界 9 49 (1957)
- 16) 小西行男: 産婦の世界 10 52 (1958)

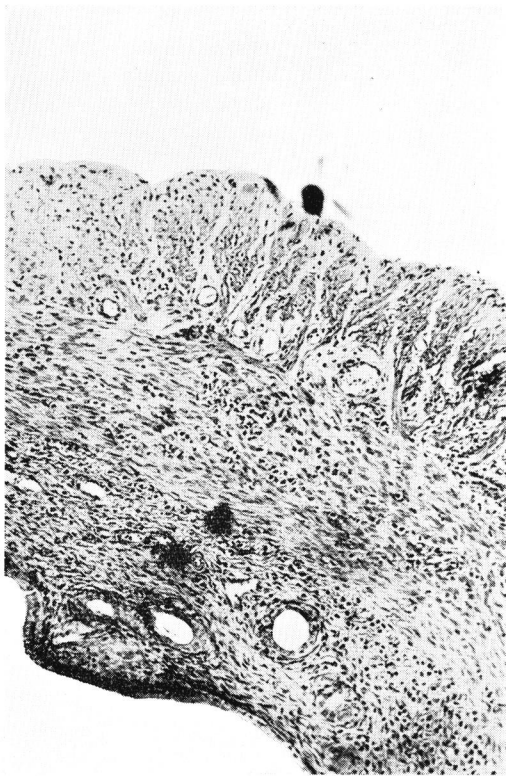


図1：子宮（正常ラット＋妊婦尿粉末連続注射）
H.E. 染色 100×

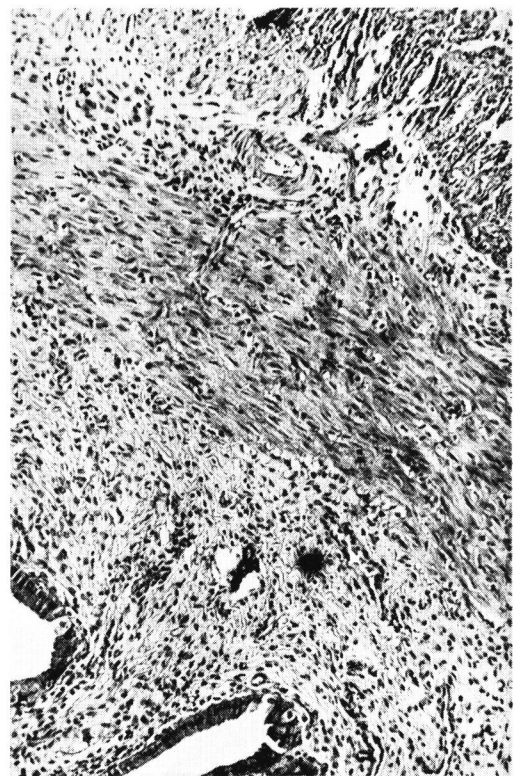


図2：子宮（正常ラット＋去勢尿粉末連続注射）
H.E. 染色 100×

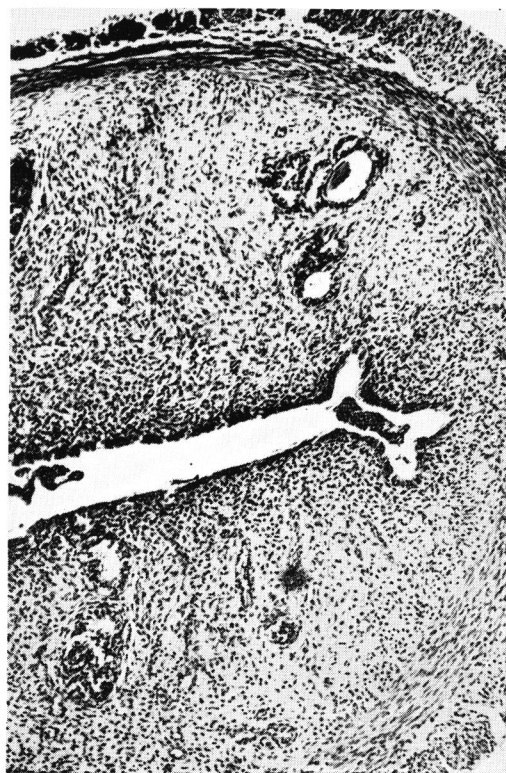


図3：子宮（去勢ラット 無注射）
H.E. 染色 100×

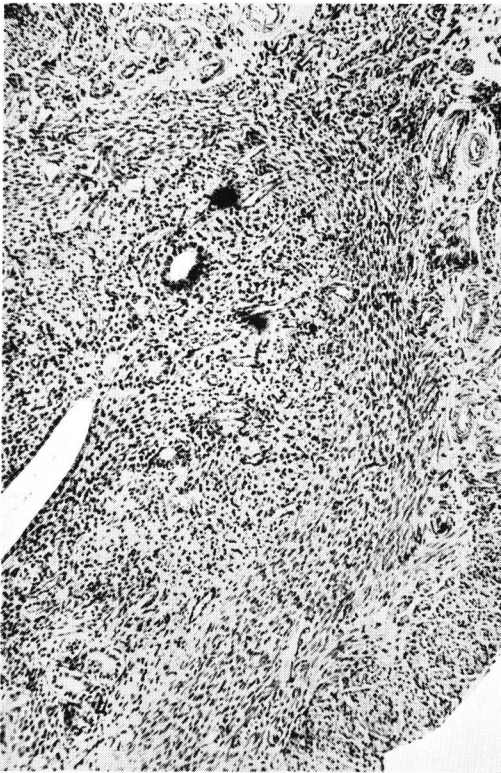


図4：子宮（去勢ラット+去勢尿粉末連続注射）
H.E. 染色 100×

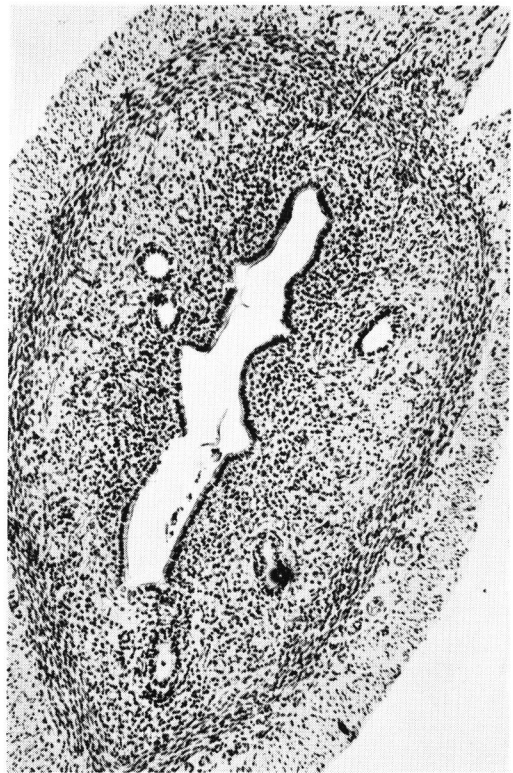


図5：子宮（去勢ラット+妊婦尿粉末連続注射）
H.E. 染色 100×

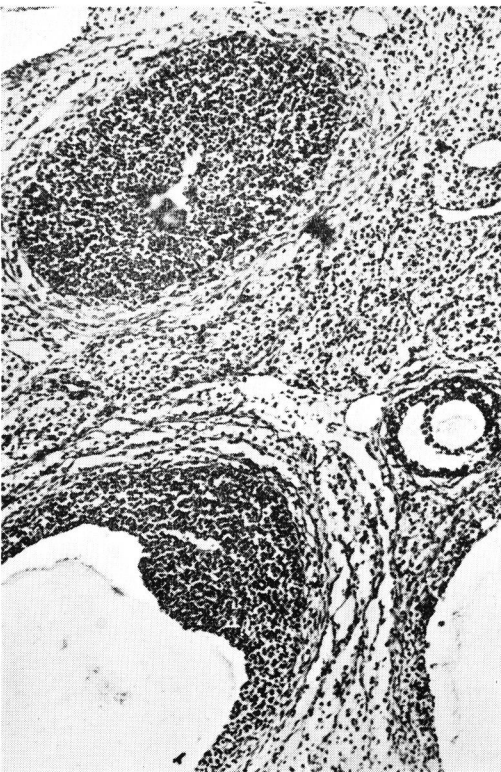


図6：卵巢（正常ラット+妊婦尿粉末連続注射）
H.E. 染色 100×

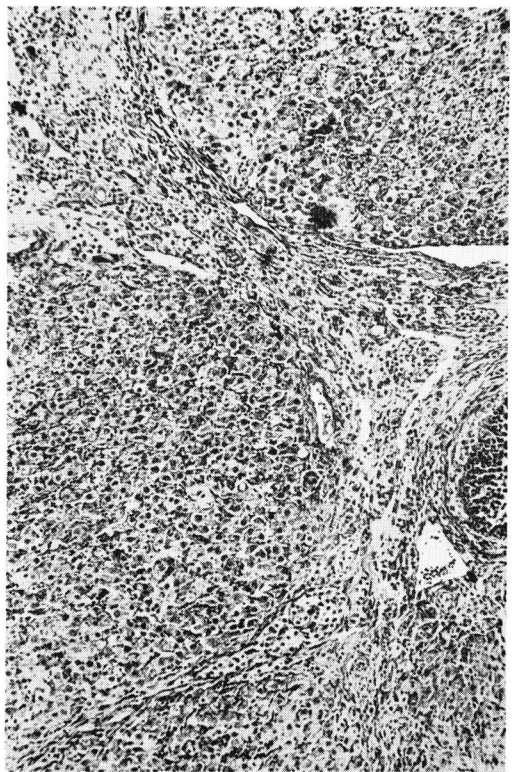


図7：卵巢（正常ラット+去勢尿粉末連続注射）
H.E. 染色 100×

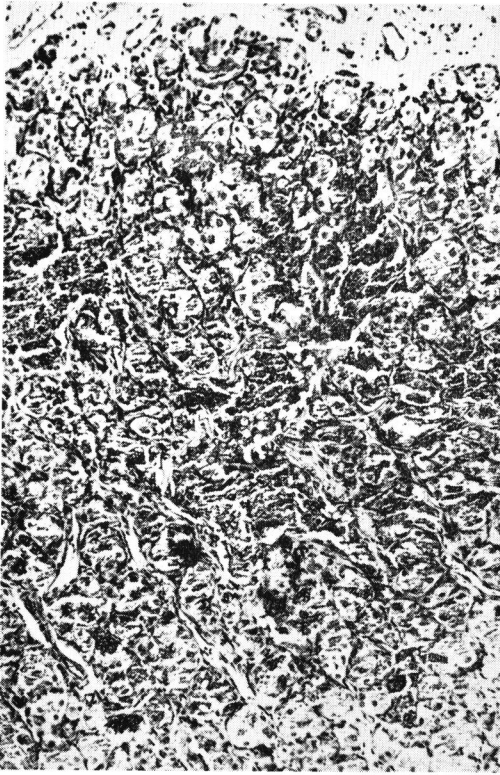


図8：包皮腺（去勢ラット 無注射）
H.E. 染色 100×

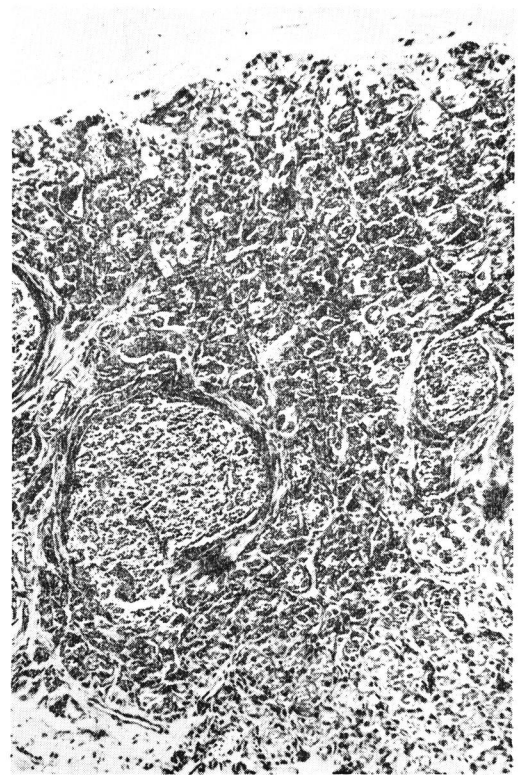


図9：包皮腺（正常ラット+食塩水注射）
H.E. 染色 100×

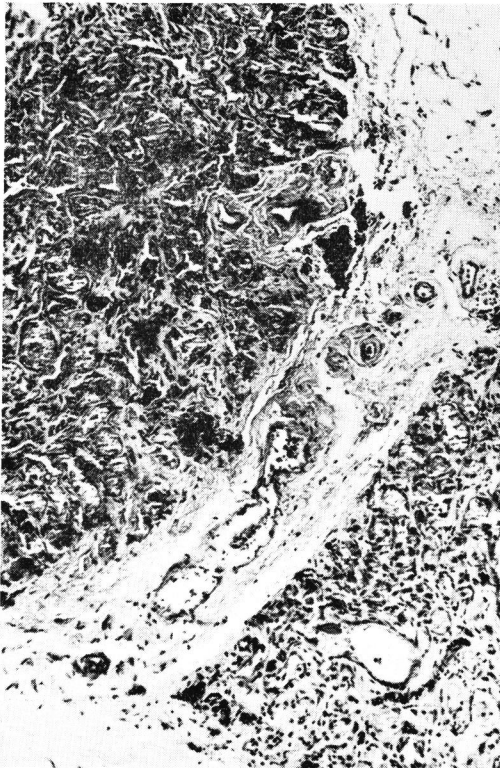


図10：包皮腺（去勢ラット+去勢尿粉末連続注射）
H.E. 染色 100×

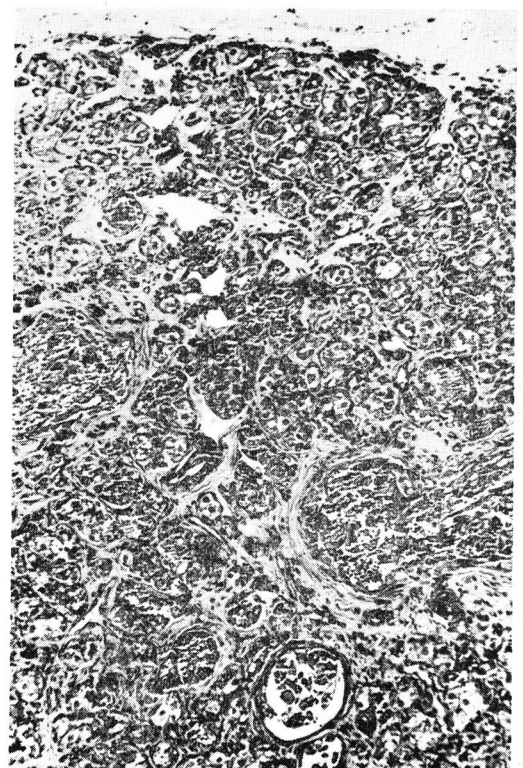


図11：包皮腺（去勢ラット+妊婦尿粉末連続注射）
H.E. 染色 100×



図12：子宮（正常ラット+食塩水連続注射）
H.E. 染色 100×

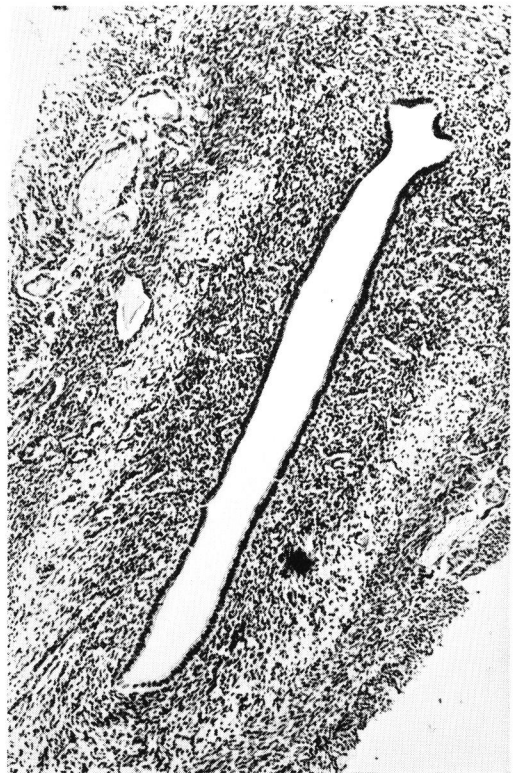


図13：子宮（下垂体剔除ラット+正常婦人尿粉末
連続注射）H.E. 染色 100×

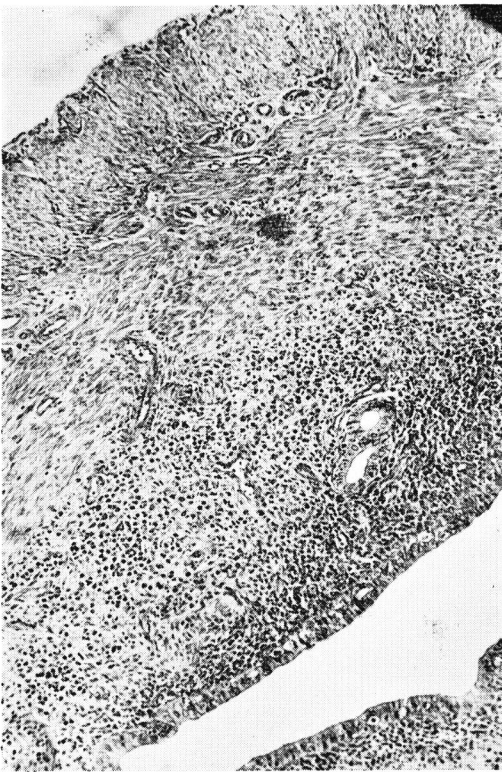


図14：子宮（下垂体剔除ラット+妊婦尿粉末連続
注射）H.E. 染色 100×

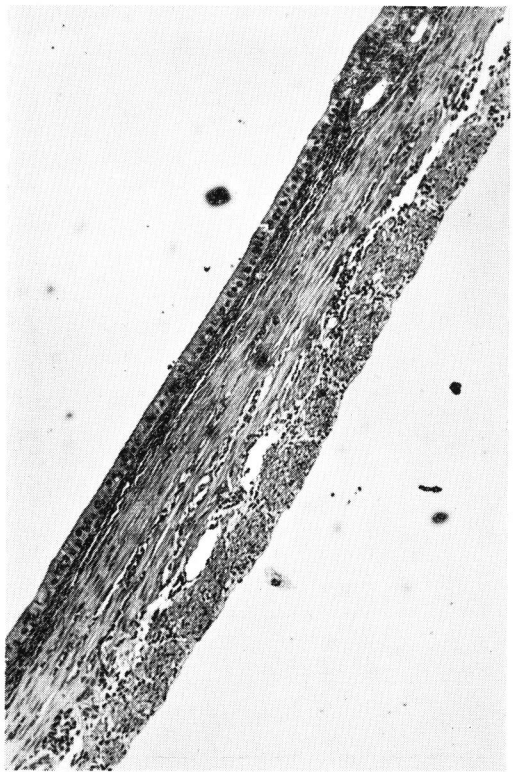


図15：子宮（下垂体剔除ラット+去勢尿粉末連続
注射）H.E. 染色 100×

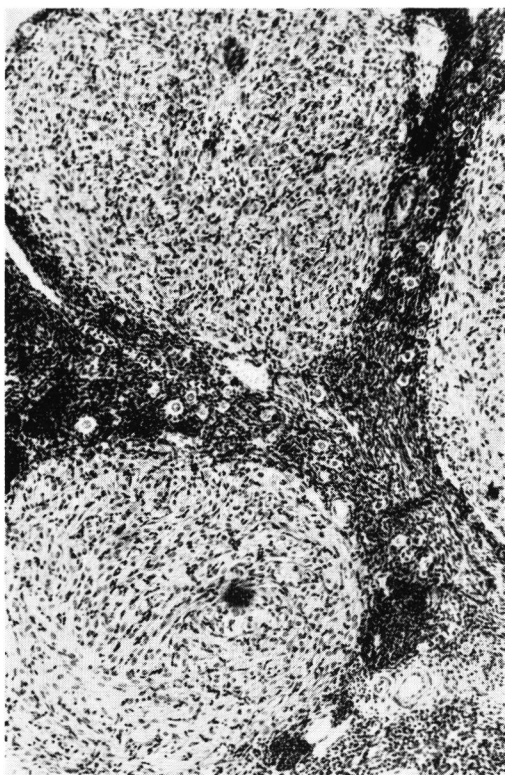


図16：卵巢（下垂体別出ラット+正常婦人尿粉末連続注射）H.E. 染色 100×

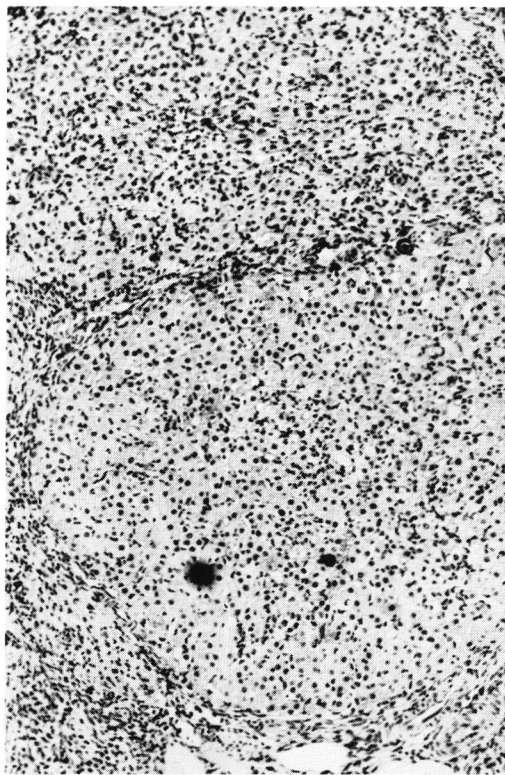


図17：卵巢（下垂体別出ラット+去勢尿粉末連続注射）H.E. 染色 100×



図18：卵巢（下垂体別出ラット+妊婦尿粉末連続注射）H.E. 染色 100×

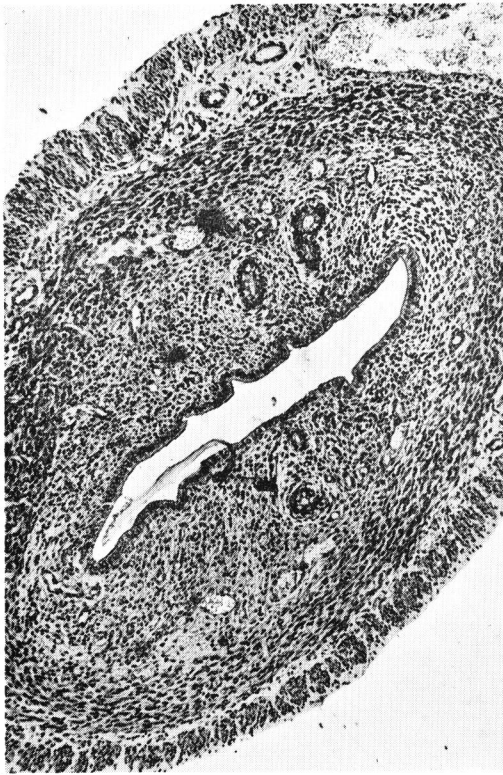


図19：子宮（下垂体及卵巣両者剔出ラット+妊婦尿粉末連続注射）H.E. 染色 100×



図20：子宮（下垂体及卵巣両者剔出ラット+去勢粉末連続注射）H.E. 染色 100×

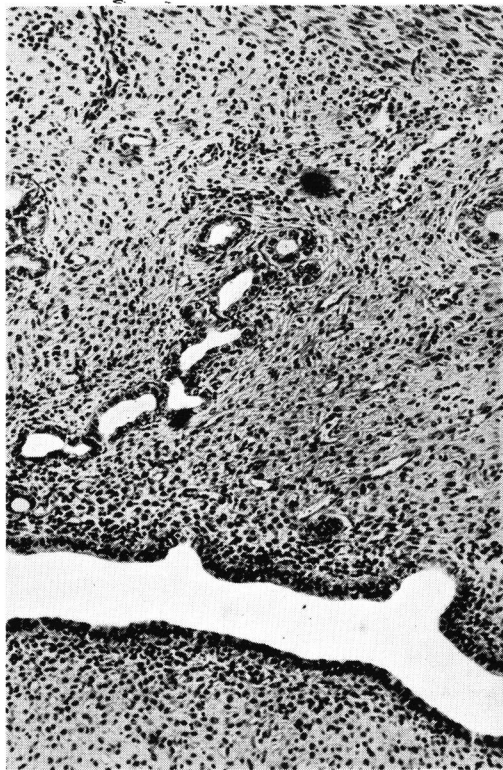


図21：子宮（正常ラット+正常人尿粉末連続注射）H.E. 染色 100×

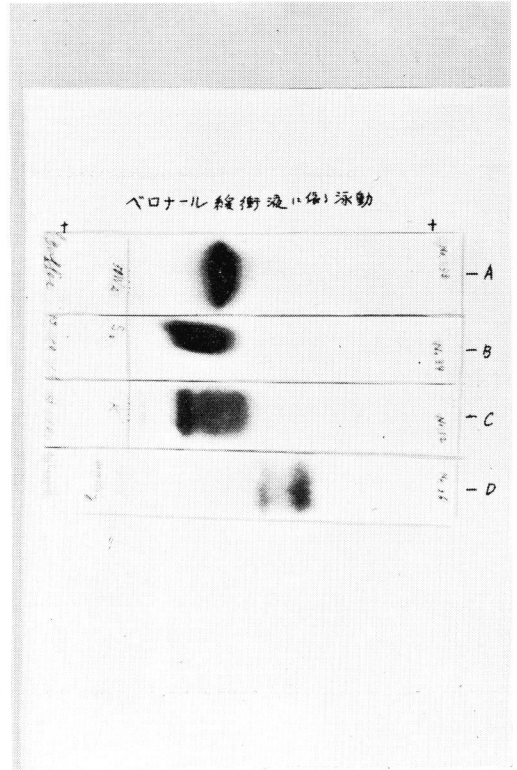


図22：A=妊婦尿粉末（帝臓製）B=妊婦尿粉末 C=去勢尿粉末 D=PMS（帝臓製）