

氏 名	たか はし かつ ゆき 高 橋 克 幸
授 与 学 位	医 学 博 士
学 位 授 与 年 月 日	昭 和 3 6 年 3 月 2 4 日
学 位 授 与 の 根 拠 法 規	学 位 規 則 才 5 条 才 1 項
研 究 科 ， 専 攻 の 名 称	東 北 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科 外 科 学 系
学 位 論 文 題 目	Studies on Extra-Sexual Estro- gen
指 導 教 官	東 北 大 学 教 授 九 嶋 勝 司
論 文 審 査 委 員	東 北 大 学 教 授 九 嶋 勝 司 東 北 大 学 教 授 鳥 飼 龍 生 東 北 大 学 教 授 菊 地 吾 郎

論文内容要旨

I 緒 言

婦人の estrogen 分泌源 (以下 estrogen を E と略す) は卵巣、副腎であると云われるが之等分泌源の摘除後も微量ながら E の排泄が認められている。しかし、それが何れに由来した E か解っていない。筆者は性腺外 E について先に共著で綜説を試みたが、卵巣、副腎摘除後の E 分泌源として副腎の新生を論じている報告があるも副腎は全例に認められてはいない。副腎からの E 分泌に関する報告は単なる組織学的見地よりの推論の域を出ていない現状で、各種臓器と E 分泌、及び排泄との関係も不明のままである。筆者は之等性腺外 E について実験を試み、聊か知見を得たので茲に報告する。

II 実験材料及び方法

1) 42~51才迄の更年期婦人で子宮頸癌のため入院した10人につき、術前1回、術後は2日より32日迄5日間おきに24時間尿を採取、うち5人については術後60日にも採尿、去勢前後の尿中E変動を検索した。2) 動物実験には体重2~3Kgの成熟雌性家兎を使用し、底部を金網二重底とした円筒状金網籠に1匹ずつ入れ24時間尿を採取、去勢前後の尿中E変動を調べたが更に去勢後30日に両側副腎摘除を行い、DOCA 2.5mgを連日投与しながら採尿、速かに抽出操作に移した。3) 家兎よりの採血は尿採取の家兎とは別個の成熟雌性家兎を使用し、去勢前と去勢後25日に直接心室から注射針で2日間に亘り10cc宛採血し(0℃に保存)、遠心分離して血清をとり実験に供した。4) 家兎諸臓器からのE抽出には該当臓器2♂を使用したが、1個の重量が2♂に達しない時は数個1群とし5群について実験した。去勢家兎臓器は術後25日に屠殺、摘出して実験を行つた。5) incubate 実験には未処置家兎臓器の2♂を使用した。6) incubate は内容60ccのプラスチック内にKrebs Ringer phosphate 20cc (pH 7.4)、及び添加ホルモンを入れWarburg検圧装置で37℃ 3時間、60回/分振盪した。7) E抽出は、血中E抽出は既に報告した方法の変法で、尿中E抽出法は既報の如くに、組織からのE抽出はMitchell & Daviesの変法で行つた。incubate した組織からのE抽出はMitchell & Daviesの変法の中の遊離型E抽出法に準じた。8) E分割は鈴木・森法により行つたが、incubate した組織から抽出したEの分割には更にpaper chromatographyを行つた。9) 測定は蛍光光度計を使用し、蛍光測定を行つたが測定条件についても検討を行つた。

III 実験成績

1) 更年期婦人去勢前後の尿中E変動は、去勢前の尿中E排泄量が平均 $39.22 \pm 20.17r$ であつたが去勢後は一時著明に減少し、 $29.30 \pm 15.23r$ となつた。しかしその後増加し、術後12日には $37.84 \pm 16.97r$ となり術前排泄量に近似の値を示した。その後は漸減し、術後32日には $17.85 \pm 6.63r$ で術前の総排泄量の $\frac{1}{2}$ 以下に減少したが、術後60日に測定した5人の尿中総E排泄量は平均 $13.2r$ で漸減の傾向を示すも、術後32日の排泄量に比して減少率は僅少であつた。分割ではestrone (以下E_oと略) は術前 $19.66 \pm 11.36r$ 排泄されたが去勢直後は $14.15 \pm 6.86r$ と減少した。その後一時E_o排泄量は増加し、術後22日には $21.95 \pm 8.78r$ となり術前

以上の排泄量を認めたが後漸減し、32日には $9.00 \pm 3.05 r$ で去勢前の $\frac{1}{2}$ 量に減少した。術後60日のE_o排泄量は32日とほぼ同じであつた。estradiol(以下E_dと略)は術前 $11.08 \pm 5.20 r$ 排泄されたが去勢後は減少し、術後17日に $8.58 \pm 4.07 r$ と一時増加傾向を示したが後再び減少を示し、32日には $3.49 \pm 1.69 r$ で術前排泄量の $\frac{1}{3}$ 以下に減少、3分割中最も顕著な減少率を示した。術後60日の平均排泄量は $2.25 r$ で漸減していたが、E_dの排泄は全例に認められた。estriol(以下E_tと略)は術前 $8.44 \pm 4.32 r$ であつたが去勢後は漸減し、術後32日の排泄量は $5.36 \pm 2.10 r$ で術前の $\frac{2}{3}$ に減少したが術後60日のE_t排泄量も32日とほぼ同じであつた。之等3分割中最も著明に減少したのはE_dでE_tの減少が最も少なかつた。2) 成熟雌性家兎の去勢・副腎摘除前後のE変動についてみるに、去勢前の総E排泄量は $2.49 \pm 0.632 r$ であつたが去勢後一時減少、その後増量して術後16日には $2.26 \pm 1.307 r$ となり去勢前排泄量に近い値を示した。しかし可成りの個体差が認められた。その後は漸減し28日には $1.21 \pm 0.820 r$ となり去勢前に比し半減していた。副腎摘除後は激減するも術後12日に $0.43 r$ のE排泄を認めた。分割を見るとE_dが多く、次いでE_o、E_tの順であつたが著しい差は見られなかつた。E_oは去勢後一時減少するが後増量し、16日には $1.36 \pm 0.852 r$ と術前以上に増加したが非常に個体差があつた。その後E_oは減少し28日には $0.47 \pm 0.242 r$ の排泄が認められた。副腎摘除後は減少し、12日には $0.2 r$ となり副腎摘除前に比し $\frac{1}{2}$ 以下に減少したが、3例共微量ながらE_oの排泄が確認された。E_dは去勢後著明に減少するが後一時増加し、13日には $0.96 \pm 0.387 r$ の排泄をみたが後再び漸減し、28日には術前の約 $\frac{1}{3}$ 量となり最も著明な減少を示した。副腎摘除後は更に減少したが術後12日猶 $0.15 r$ の排泄が認められた。E_tも去勢後は著明に減少するが13日には $0.74 \pm 0.399 r$ と一時増加傾向を示し後再び減少し、術後28日には $0.42 \pm 0.300 r$ の排泄が認められた。副腎摘除後は減少するが12日後猶 $0.08 r$ のE_tが排泄された。3) 成熟雌性家兎の去勢前後における血中Eについて検索するに、未処置家兎5群の血中総Eは平均 $2.35 \pm 0.24 r$ であつたが去勢後25日の4群の平均血中Eは $1.56 r$ で著明に減少していた。各分割について検討すると、去勢後は遊離、結合型共に3分割全てが減少していたが特にE_o、E_dの減少が著しかつた。しかし去勢前後における $\frac{E_t}{E_o + E_d}$ は、遊離、結合型の間に著しい差を認めなかつた。4) 成熟家兎各種臓器のE含有量を二つの方法で抽出を行い検索した。即ち一方は臓器25gより直接Mitchell & Daviesの変法により、遊離、抱合蛋白結合の3型に分けて抽出、他方は同種類の各種臓器2gをKrebs Ringer phosphateと共にincubateしてから抽出を行つた。前者では、脳、肺、腎、子宮、脂肪、筋肉より比較的多量のEが抽出されたが特に遊離型が多かつた。後者では脂肪、脳に比較的多量のEが証明されたが以下、肝、子宮、肺、腎、筋肉、腸の順であつた。分割では直接抽出、incubate後抽出共にE_o、E_dが多く検出されたが、脂肪、肝にはE_tも比較的多量に証明された。二つの方法で抽出されたE量を比較するとincubate後に抽出されたE量が直接抽出に比し非常に多く、2~7倍の多きに達していた。5) 成熟家兎各種臓器含有Eの去勢による変動を検査するため、incubate実験の結果比較的多量のEが証明され、又文献上よりE分泌、貯蔵に関係があると見做された4種の臓器を用いて実験した。a) 脂肪：未処置成熟雌性家兎5群の脂肪100g中のEは、平均、遊離型、 $15.78 \pm 5.72 r$ 、抱合型、 $6.94 \pm 0.35 r$ 、蛋白結合型、 $8.74 \pm 1.24 r$ で遊離型が最も多かつた。分割では各型共E_o、E_dが多く、両者で約80%を占めていた。又抱合、蛋白結合型では特にE_oが多く約 $\frac{1}{2}$ を占めていた。去勢後25日の家兎脂肪100g中のEは遊離型 $10.73 \pm 3.76 r$ で著明に減少しており、有意の差が認められた。抱合、蛋白結合型E

は未処置群と変わらず、有意の差は認められなかつた。減少した遊離型Eの分割値を見るに3分割共著明に減少していたが、Etの減少率が比較的大であつた。b) 筋肉：未処置家兎5群の筋肉100g中のEは遊離型が平均 $15.38 \pm 3.36r$ 、抱合型 $6.73 \pm 0.98r$ 、蛋白結合型 $8.48 \pm 0.695r$ で遊離型が最も多かつた。分割ではEoが最も多く、遊離型で48%、抱合型で47%、蛋白結合型で43%を占めていた。去勢後のE含有量は遊離型が $11.06 \pm 4.73r$ で著明に減少していたが、抱合、蛋白結合型では僅かに減少の傾向が見られたが有意の差は認められなかつた。c) 子宮：未処置群の子宮100g中のEは平均、遊離型が $19.52 \pm 3.32r$ で最も多く51%を占めていた。分割について検討するに遊離型ではEoが48%、抱合型では51%、蛋白結合型では43%を占めており最も多かつた。去勢後は遊離型 $15.32 \pm 3.85r$ で減少しており有意の差が認められたが抱合、蛋白結合型では差が認められなかつた。分割では遊離型Eは3分割共僅かに減少していたが他の2型では差を認めなかつた。d) 腎：未処置群の腎100g中の含有Eは平均、遊離型 $18.63 \pm 3.29r$ で最も多く、抱合、蛋白結合型Eは遊離型Eの夫々約 $\frac{1}{2}$ 量であつた。分割では各型共Eoが最も多く、遊離型で43%、抱合型で50%、蛋白結合型で53%を占めていた。Eo分割に次いでEt分割が多く、遊離型で30%、蛋白結合型で27%であつた。去勢後は、遊離型が $15.61 \pm 3.54r$ で去勢前に比し16%の減少を示した。抱合、蛋白結合型Eは減少の傾向が見られたが有意の差を認めなかつた。各型の分割値について検討しても、Eo、Etは僅かに減少していたがEdは減少を認めなかつた。e) 小括：脂肪、筋肉、子宮、腎共に含有Eは去勢後減少を示したがそれは大部分遊離型Eで、脂肪で32%、筋肉で28%、子宮で21.5%、腎で16%の減少率を示した。f) 子宮、腎におけるE生成の可能性を検討するため、夫々の組織2gを使用し、Krebs Ringer phosphate 20ccで3時間 incubate した後Eを抽出したが、子宮では $1.35r$ 、腎では $1.23r$ で、これを対照とした。実験条件を1 PMS. 250IU添加した群、2 testosterone 1000r添加した群、3 PMS 250IU+testosterone 1000r添加した群とし、夫々3例につき実験した。a) 子宮：PMS. 250IUを添加した才1群では平均、Eoは $0.64r$ 、Edは $0.43r$ 、Etは $0.34r$ で対照に比し有意の差は認められなかつた。testosterone 1000rを添加した才2群では、Eo、Ed、Etは夫々 $1.21r$ 、 $0.55r$ 、 $0.88r$ で総E量は $1.45r$ と対照に比し2倍に増加しており、testosteroneよりEへの転換が子宮組織をmediumとして行われうることを暗示している。PMS. 250IU+testosterone 1000rを添加して incubate を行つた才3群の成績は、総E量は $2.43r$ でEo、Ed、Etは夫々 $1.18r$ 、 $0.45r$ 、 $0.80r$ であり、testosterone 単独添加の才2群と比較し、差は認められなかつた。b) 腎：PMS. 250IUを添加した才1群では総E量は $1.64r$ で、分割はEoが $0.90r$ 、Edが $0.39r$ 、Etが $0.35r$ で対照に比しEoが僅かに増加の傾向を示した。testosterone 1000rを添加した才2群では、Eo、Ed、Etは夫々平均、 $1.64r$ 、 $1.03r$ 、 $0.60r$ で総E量は $3.27r$ であり、対照に比し著明な増加が認められた。PMS. 250IU+testosterone 1000rを添加した才3群では平均Eoが $1.32r$ 、Edが $0.88r$ 、Etが $0.81r$ で総E量 $3.01r$ 検出されたが才2群との間に差は認められなかつた。

IV 総括並びに考按

更年期婦人及び卵巣摘除婦人にもEが存在することは既に古くより報告されている。Parkes, Fluhman & Murphyは之等婦人の血中にEが存在することを、Dao, Smith & Emersonは去勢婦人の尿中Eを確認している。更年期のE分泌に関しては過剰説、減退説があるが更年期

は内分泌学的に特殊な環境にあり、且つ子宮癌患者の尿中Eは一般に増加していると云われている。筆者の測定でも、正常婦人に比しE排泄量が多く且つ個体差のあるのを認めた。又分割ではEdが特に大であつたが、之は子宮癌患者ではEの代謝障害があるためと思われ、同様の報告も多い。去勢後一時減少した尿中Eは、10例中6例が後上昇を示し、特にE_o分割で著明であつた。之れ手術的侵襲に対する生体防禦反応のため二次的に副腎皮質からの分泌が亢進したものと思われる。去勢後一旦減少したEが時間の経過に伴つて再び増加することは古くから知られている。その後尿中Eは一般に減少していたが、去勢後もなお高いE排泄を示した例も見られた。家兎尿中Eの測定は、採尿に際しても狭雑物混入の危険が多く、微量で測定困難である。妊娠家兎尿中Eを測定した松本、関の報告では、E排泄量は微量であつたが分割比ではEdが大部分であつたと云つている。去勢後の家兎尿中Eは、E_oの減少率が他分割に比し小で、又術後E_oの排泄が一時著明に増加することが認められることより、去勢後のE分泌は主に副腎皮質で行われると推定される。副腎摘除後も尿中Eが微量ながら排泄されるのを認めたが、これがDOCA投与の影響によるものか、副々腎新生によるものか又は臓器貯蔵Eからの排泄によるものかは結論付け難い。卵巣、副腎摘除後も尿中Eの排泄が認められたと云う報告も少なくないが、Strongetalは摘除後corticotropinを投与して尿中Eの増減を検査した結果より、卵巣、副腎以外にもEを分泌する内分泌源が存在すると推論しており、Bulbrook & Greenwood、渋沢は摘除後の尿中E排泄値を記載している。特に渋沢は、卵巣、副腎摘除後一旦減少したE排泄量が30日以後再び増加する例がかなり多かつたと述べているのは注目に値する。副腎を摘除すると副々腎が肥大増殖し、Eを分泌するのではないかと云う考えがあり、Grahamは100例の剖検中32例に、Fallsは組織学的に副腎と類似した副々腎を30例中7例に認めている。筆者の行つた実験で、卵巣副腎摘除家兎の尿中Eが副々腎新生の結果によるものか否かは、術後12日迄の測定のみでは結論付け難いが去勢前後の臓器貯蔵Eの変動より考慮すると、貯蔵Eよりの放出も関係すると思われる。組織よりのE抽出は胎盤、卵巣、副腎等で行われているがが少ない。各種臓器からEを抽出したと云う報告は見当たらないが、Albertは放射性Edを使用して実験を行い、脂肪組織はホルモンの一時的貯蔵庫として重要なものであり、又乳腺、皮膚及び筋肉層よりも多量のホルモンを検出した。その他、肝、腎、脂肪並びに筋肉組織に高濃度のホルモンが貯蔵されていると云う報告もあり、秋山は特に脂肪組織で著明であつたと述べている。筆者は脂肪、筋肉、子宮、腎から比較的多量のEを抽出したが之等貯蔵Eは去勢後25日には減少しており、各種臓器共遊離型Eの減少が著しく特に脂肪組織では顯著で遊離型Eの32%が減少した。このことはホルモンが脂溶性であることより容易に考えられることで、之等各種臓器特に脂肪組織がEの貯蔵臓器として重要な役割を持ち、分泌源が摘除されると代償性にEの放出を来し、血中濃度の維持、作用の持続に関与しているものと考えられる。Eの生成過程については種々の説が唱えられているが未だこれを確証したものはない。E生成過程のうち、androgen→Eへの過程は実験的に、並びに臨床的にも確認され定説となつているが、この過程を辿らないE生成の説もある。しかし、卵巣副腎摘除婦人にtestosteroneを投与したところ投与前検出されなかつた尿中Eが検出され、それはE_o、Edの2種でEtは確認出来なかつたという報告や、invitroの実験で卵巣を用い、testosteroneにgonadotrophinを加えincubateするとEd分割に有意の増加を証明したと云う報告がなされているが、E受容器である子宮やホルモン代謝並びに排泄器官として最も重要な臓器の一つである腎についてE生成の可能性を検討した報告は見当たらない。Smith & SmithはEtの生成は子宮の存在及びprogesteroneの存在によ

つて行われると述べているし、組織培養法をホルモン代謝の研究に応用し、Eの相互転換について報告もなされているが非常に少く、未だ不明の点が多い。筆者の行つた実験ではPMS単独添加した群では対照に比し子宮、腎共に有意の増加を示さず、testosterone 1000rを添加した群に著明なEの増加が認められ、子宮では特にE_o、E_tが、腎ではE_o、E_d、E_tが共に著明に増加していた。しかしtestosterone+PMS群との間にE増加について有意の差が認められなかつた。同様の実験を豚卵巢を用いて行つた山田の報告では、E_d分割に有意の増加が認められている。この事より推論すると、子宮、腎でのE生合成の可能性は否定せざるを得ないが、之等実験結果より子宮、腎に貯蔵されたEは内分泌環境の変化に伴い放出され、作用保持に代償性に働くと同時に貯蔵testosteroneも一部転化してE作用に補助的に関与して来ることが考えられる。この際RNA、DPN及び種々の酵素、助酵素が関係して来ると思われるが、作用部位、機序、及び他の臓器でのtestosteroneからEへの転化については今後更に検討することが必要である。

V 結 論

1) 更年期子宮癌婦人の尿中E排泄量は比較的多く且つ個体差が著しかつた。2) 更年期子宮癌婦人で両側卵巢摘除を行うと尿中E排泄量は一時減少するが後上昇し、平均12日以後は再び減少した。分割ではE_dの減少が最も著しかつた。3) 家兎尿中EではE_d分割が比較的多く、去勢後は更年期婦人の場合と同様の経過を辿り術後28日に $\frac{1}{2}$ に減少した。分割ではE_dの減少が顕著であつた。副腎摘除後は3分割共著明に減少したが猶微量のEが検出された。4) 家兎血中Eは $2.35 \pm 0.24 r / \text{serum } 10 \text{ cc}$ であり去勢後1.56rに減少し有意の差を認めたが、遊離、結合型の減少率には差を認めなかつた。5) 脳、肺、肝、腎、腸、子宮、筋肉、脂肪組織中に比較的多量のEが存在することを確認した。6) 脂肪、筋肉、腎、子宮の含有Eは去勢後遊離型Eが著明に減少したが特に脂肪組織での減少が顕著であつた。7) 子宮、腎組織ではE生合成は行われないと結論されたが、testosteroneよりEへの転化が行われることを確認した。

審 査 結 果 要 旨

Estrogen は卵巢ホルモンの名が冠されていたように、卵巢に特有なものであると考えた時代もあつたが、その後、胎盤に証明され、更に副腎にも之を認めるに至つた。然るに、胎盤はなく、卵巢も副腎も摘除しても尚Estrogen が排出されることが知られるに到り、このEstrogen の由来が吾々の興味を呼ぶようになった。筆者はこのような性器外Estrogen の由来を追求する目的で実験を行い、以下の結果を得ている。

1) 手術で両側卵巢を摘除すると尿中Estrogen は一時減少するが、後再び増加傾向をとり、手術後12日頃から再び減少して行つた。分割から推定するに、卵巢摘除後に来る増量は副腎の代償的機能亢進に基ずくものの如くであつた。

2) 家兎を去勢すると、人同様の経過をとるが、之に副腎摘除を行うと更にEstrogen が減少するが、しかも終に、Estrogen が零とはならなかつた。

3) 家兎の脳、肺、肝、腎、腸、子宮、筋肉、脂肪などに多量の貯蔵Estrogen を証明した。

4) 脂肪、筋肉、子宮、腎の貯蔵Estrogen を遊離、抱合、蛋白結合の3型に分離抽出し、之を去勢前と去勢後25日とを比較するに、減少の著しいのは遊離Estrogen であり、去勢による減少は脂肪組織に於て特に顯著であつた。

5) 子宮と腎でEstrogen 生成作用の有無を検討したが、生成能は認められなかつた。然し、Testosterone からEstrogen へ転化することは確認された。子宮、腎の他に脂肪、筋肉、脳、肺、肝、腸などでも之を incubate 後に測定するとEstrogen をより多く検出し得たことから、諸種臓器で、他のSteroids からEstrogen への転化が行われているものと考えられる。

以上の観察から、Estrogen の主分泌源は非妊婦では勿論、卵巢であるが、卵巢機能が衰退すれば、副腎が代償的に機能亢進を来し、その他に、貯蔵Estrogen が動員され、之が尽き果てた時は、体内の他のSteroids からの転化が行われる。それ故、更年期や去勢により、卵巢からのEstrogen 分泌がなくなつても、体内には数カ月、数カ年に亘つてEstrogen の供給が行われているものであることが判明した。