

哺乳中のハツカネズミにおける発情ホルモン及び黄体ホルモンの消長について

南, 学
九州大学農学部動物学教室

<https://doi.org/10.15017/21352>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 15 (1), pp.129-138, 1955-02. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：

哺乳中のハツカネズミにおける発情ホルモン 及び黄体ホルモンの消長について¹⁾

南 学

Studies on the changes of the levels of estrogen and
progesterin during lactation period in the mouse

Satoru Minami

緒 論

ネズミやハツカネズミにおいては出産後の後分娩発情に続いて排卵が起り、その際形成される黄体は乳仔の吸引刺激により初めて機能を持つことが知られている。乳仔の吸引刺激が哺乳黄体の機能化には必要であるが、乳仔を取りかえていくら長く吸引刺激をつづけても、それにより黄体の機能を永続させることはできず、大体哺乳第25日頃に第2回目の発情期が到来する(竹脇, 1937, 1938a)。

2種の雌性ホルモン—発情ホルモンと黄体ホルモン—は夫々単独に働くものではなく両者の種々な組合せによつて内分泌的な相が確立される。そしてこの2種の雌性ホルモンの組合せも静的なものではなく、絶えず脳下垂体の生殖腺刺激ホルモンとの相互作用のもとで変化する。これらの2種の雌性ホルモンの質的量的な関係について報告がなされている(Courrier, 1951)。

哺乳黄体の機能に関連して雌性ホルモンの消長を知るため、正常な哺乳を行つているハツカネズミの子宮の組織学的な観察や若干の実験を行つた。

この研究にあたり、終始御懇篤な御指導と御鞭撻とを賜つた平岩教授に深甚な謝意を表す。また progesterone を供与された帝國臓器株式会社の山野井氏に深く感謝する。

材料及び方法

実験に使用したハツカネズミは九州大学農学部動物学教室で数年同系交配を行つたものを用いた。生後50日～80日の処女雌を妊娠させ、出産後の哺乳を行つている各時期の子宮を調べた。子宮角の一部分を剔出した後、数日哺乳を行わせ再び同一個体から子宮角の一部分を剔出した場合もあつた。固定は材料の萎縮を防止するという改良 Lavdous 液を用いた(Williams and Hodge, 1943)。5～7 μ のパラフィン切片とし、染色はHansenヘマトキシリンとライトグリーンで行つた。哺乳を行わせた乳仔の数は3匹から7匹であつた。

1) 九州大学農学部動物学教室業績 第213号。

発情ホルモンの作用によつて、ネズミやウサギの子宮内膜上皮の肥厚が見られること (Allen, Hisaw and Gardner, 1939; Horing, 1942—1944), 並びに黄体ホルモンの作用下の子宮内膜に、発情ホルモンの出現による非拮抗的な作用として内膜鬼胎(endometrial edema)を生ずること (Selye, Harlow and Mckeown, 1935) が知られている。この2つの指標によつて発情ホルモンの変動を調べた。哺乳の各時期の子宮内膜上皮の高さを、750 倍の一定倍率下における Ocular micrometer の長さによつて示し、観察を行つた (Table 1)。

黄体ホルモンの消長判断の方法として、Hooker (1945) や Hooker and Forbes (1947) のハツカネズミにおける子宮内膜反応を用いた。すなわち、progesterone の作用によつて子宮内膜基質の細胞核が拡大されて円くなり且つ空胞化するので、この基質核の反応を用いて 0.0002 γ の極く微量の黄体ホルモン物質の生物検定が可能となつている。顕微鏡の一視野に見られるこの黄体ホルモンの反応を示した子宮内膜基質核の数をかぞえ、その視野の内膜基質核全体との百分比の平均を求めた (Table 1)。観察は 1200 倍の倍率で行われたが、基質核反応は十分に認められ得た。

哺乳末期において黄体ホルモンの作用をうけた子宮内膜基質核に、新たに progesterone を投与してその変化を実験的に調べた。

結 果

先ず発情ホルモンの変動について述べる。第1図は第1表に示した同一哺乳時期の個体の子宮内膜上皮の高さの平均を黒点で示し、その哺乳期間中の変化を表わしたものである。

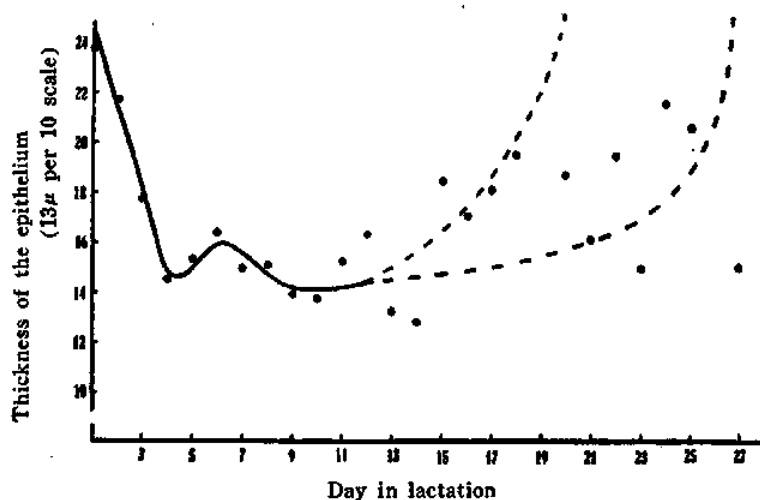


Fig. 1. Changes of estrogen levels represented by the thickness of the endometrial epithelium during lactation in the mouse. The dots denote average thickness of the epithelium in the same day of lactation. The broken lines present fluctuation in the levels of estrogen in the latter half of lactation.

Table 1. Intensity of response of the endometrium to estrogen and progesterin.

Mouse no.	Duration of lactation in days	Average epithelial thickness in occular micrometer (1.3 μ per 1 scale)	Average percentage of the numbers of enlarged stromal nuclei	Remark
M-1	1	23.8	2	
P-1	2	17.6	4	
M-3	2	26.3	35	
E-C-1	3	16.5	20	
F-2	3	19.1	52	
M-5	4	14.4	50	
L-3	4	14.6	54	
K-2	5	15.7	59	
I-A-5	5	15.0	55	
K-6	6	15.4	54	
E-B-2	6	17.6	65	
I-B-2	7	15.7	58	
L-2	7	14.4	59	
H-4	8	12.2	44	
M-2	8	18.4	60	
M-1	9	14.0	71	
E-C-2	10	13.3	40	
I-B-4	10	14.3	42	
H-1	11	16.2	35	
D-6	11	14.7	54	
K-2	12	17.0	42	
I-B-2	12	17.3	50	
F-1	12	15.9	47	
H-4	13	14.0	50	
D-5	13	12.6	63	
B-3	14	12.8	53	
K-4	15	19.4	44	
H-5	15	17.8	33	
E-C-2	16	17.6	46	
H-2	16	17.0	43	
K-6	17	20.0	42	
I-A-6	17	16.3	28	
O-2	18	25.1	16	Proestrus
H-3	18	14.2	20	
L-A-1	19	—	38	
L-A-3	19	—	28	
Q-2	20	22.2	19	Estrus
D-6	20	15.3	35	
I-B-2	21	16.3	12	
H-4	22	19.5	19	
D-1	23	15.7	25	
B-2	23	14.0	11	
I-B-3	24	21.6	11	
Q-2	25	20.1	21	
M-1	25	21.6	25	Estrus
M-2	27	15.1	3	
B-3	31	14.9	10	
K-6	33	24.6	8	Estrus

る。この図に示された曲線は正確な定量的な発情ホルモンの量の変動を示すものでないが、比較的量的変化の概略を示すと考えられる。

出産後の哺乳第1日及び第2日目における子宮内上皮はかなり高い (Plate 2, fig. 1)。この高い上皮は出産後23時間より33時間のあいだにあらわれる後分娩発情によつて誘導されるものである (戸刈, 1923)。このことは出産後におこる発情及び排卵に際して多量の発情ホルモンが存在することを示すものである。哺乳第5日目及び第6日目の個体の上皮の高さは哺乳第4日の個体より高くなっている。これは出産後の子宮内膜の修復のため、哺乳第4日の個体の上皮の高さはその時の実際の発情ホルモンの量によつて誘導される上皮の高さより低く評価されていると思われる。しかしながら、妊娠中でも脳下垂体の生殖腺刺激能力に週期的変動があるという Zeiner (1952) の報告より考えると、哺乳第4日の発情ホルモンの量は哺乳第5日及び第6日の個体の発情ホルモンの量より少ないのかも知れない。哺乳第2日、第3日、第4日の各1個体に内膜鬼胎が見られ、哺乳第5日及び第6日のものに見られないことより、実際の発情ホルモンの量より低く評価されていると考える方が妥当である。その後、哺乳第7日より第10日までの期間において上皮の高さは最も低い。この時期には発情ホルモンの量が最も少ないと思われる。しかし、哺乳第11日目より第2回目の発情期の到来まで徐々に発情ホルモンは増加すると思われる。このことは同一個体の異なる哺乳時期の上皮の高さを示した第2図によつて証明されている。第2図に示すように、6個体の上皮の高さは哺乳末期に進むにつれて高くなっている (Plate 2, figs. 7, 8)。黄体ホルモンと発情ホルモンとが協力的に働いて形成される内膜鬼胎は哺乳第11日及び第12日の個体の子宮にも見られた (Plate 2, fig. 5)。この内膜鬼胎の出現も発情ホルモンの増加を裏書きするものである。哺乳第11日より発情ホルモンの量は増加しているが、その増加は比較的緩慢で、第2回目の発情の折に急に増加すると思われる。哺乳末期の個体の上皮の高さには乳仔数とか母親の健康とかによる個体変異があり、これ

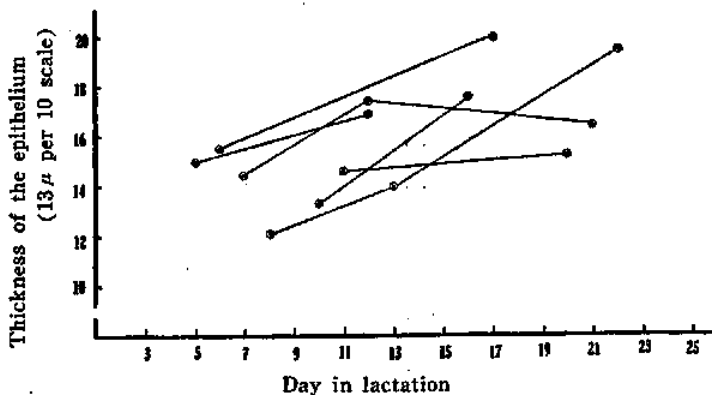


Fig. 2. Increase of the thickness of the uterine epithelium in the latter half of lactation in the mice. Each line denotes increase of the thickness of the epithelium in same mouse at the different stages of lactation.

は第1図に示した2つの破線の間位置する。この2つの破線は哺乳末期において第2回目の発情期到来までの発情ホルモンの増加の有様を示していると思われる。発情が20日前後にくる場合が上側の破線の場合であり、発情が遅く哺乳第30日前後にくる場合が他の破線の場合であると思われる。本実験に使用した個体の一部と対照のハツカネズミ33匹の第2回目の発情期の到来を腔脂垢法によつて調べた。哺乳発情間期の長さは第2表に示す通りである。

Table 2. Duration of lactation dioestrus in suckling mice.

Duration of lactation dioestrus (day)	18	19	21	23	24	25	26	27	28	30	31	32	34	40
No. of animals	1	1	1	2	4	3	4	6	4	1	1	2	2	1

哺乳発情間期の長さは竹脇(1932a)の報告の如く、24日から27日のものが大部分であるが、本実験に用いた個体ではそれより短いものと長いものがあつた。第3表に示す如く発情期の到来の時期的変異の存在は、第1図に示した発情ホルモン増加の2つの破線の存在を証明するものである。発情期の到来が遅れる個体の上皮の高さは発情の到来まで低く保たれる。発情期の到来にあつて興味があるのは、それが突然に起り、上皮の高さが発情期になつて急激に増すことである。これは偽妊娠の終る時期に急に発情が起るといふことと類似した現象である(Atkinson and Hooker, 1945)。

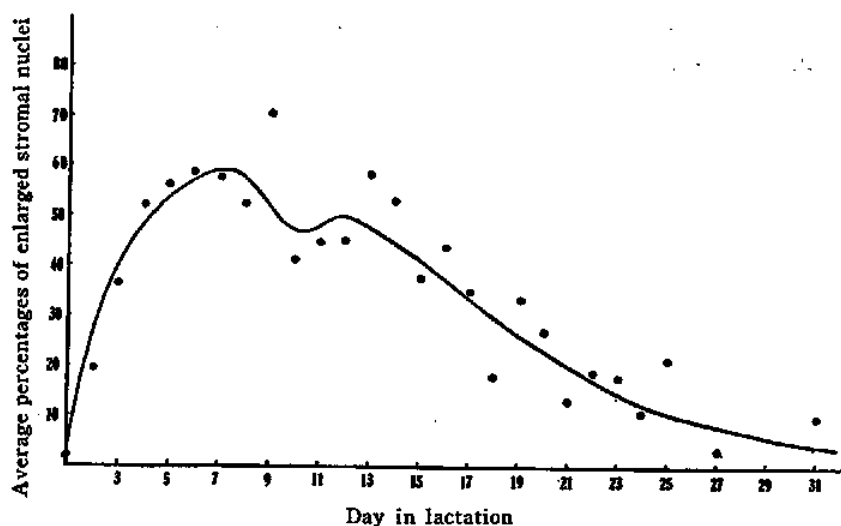


Fig. 3. Changes of progesterone levels represented by the average percentages of enlarged stromal nuclei during lactation in the mouse. The dots denote average percentages of enlarged stromal nuclei in the same day of lactation (Table 1).

次に黄体ホルモンの消長について述べる。第3図は黄体ホルモンの反応を示した子宮内膜基質核の百分比における哺乳中の変動を示したものである。黄体ホルモンの比較的な量的変動を示すものと考えられる。

出産第1日の個体では、子宮内膜に拡大空胞化した基質核を殆ど見ることはできない(Plate 2, fig. 1)。哺乳第2日、第3日、第4日の各1個体に内膜鬼胎が見られた(Plate 2, fig. 2)。哺乳第2日以後時日の経過と共に黄体ホルモンに反応を示した基質核の数は増加し(Plate 2, figs. 2, 3)、哺乳第9日に最大となる。その折、拡大空胞化した基質核の数は50%以上に達する。哺乳第2日の個体に基質核反応の見られることは、Astwood(1939)やForbes(1952)の述べた如く黄体ホルモンが排卵前に放出されることを示すものである。黄体ホルモンは哺乳第2日以後急激に増加して、哺乳第9日に最大量になる。しかしながら、哺乳第10日及び第11日の個体の基質核反応を示した基質核の数はやゝ減少する(Plate 2, fig. 4)。ネズミやハツカネズミの妊娠中の変化として、妊娠後半期に発情ホルモンが多量に出現する(竹脇, 1938b)。哺乳第11日前後から黄体ホルモンの減少と前述した発情ホルモンの出現が見られることは妊娠の半ばに見られる現象に類似している。唯、妊娠の場合にはその後半期に多量の発情ホルモンの存在が見られるが、哺乳の後半期では、発情ホルモンの増加が緩慢におこり且その量も少いことと黄体ホルモンの減少が緩慢であることを示している。哺乳第13日及び第14日の個体の基質核反応はやゝ増加するが(Plate 2, fig. 6)、以後基質核反応は減少し、哺乳末期の個体の子宮内膜組織の外観は繊維性となる(Plate 2, figs. 7, 8)。

哺乳第20日前後の個体の基質核反応の減少は実際に黄体ホルモンの減少を示すものかどうか、また、一度黄体ホルモンの影響を受けた子宮内膜基質核が、哺乳末期に再び黄体ホルモン物質処置によつて反応を示すか否かを検討するために一つの実験を行つた。哺乳第18日、第19日及び第21日の5匹の動物の子宮を一部剔出し、その日よりprogesteroneを3日間皮下注射した。注射の終つた翌日に動物を殺して子宮を調べ、注射前期出の子宮と

Table 3. Increased percentage in numbers of enlarged stromal nuclei in the endometrium by administration of progesterone and deciduoma formation in the end of lactation in the mouse.

Mouse no.	Partially hysterectomized and traumatized day in lactation	Daily dose (mg)	Percentage of enlarged stromal nuclei before the administration of progesterone	Day of killing	Percentage in numbers of enlarged stromal nuclei after the administration of progesterone	Deciduoma formation
L-A-1	19	0.5	38	22	64	negative
L-A-5	18	0.5	35	21	47	positive
L-A-4	18	0.25	33	21	53	positive
L-A-3	19	0.25	28	22	57	positive
L-A-2	21	control	36	24	29	negative

の比較検討を行つた。0.25~0.5 mg の progesterone の結晶をゴマ油にとかし、0.25 cc の注射量として皮下注射を行つた。その結果は第3表に示す通りである。対照個体の基質核反応を示した基質核の百分比は減少しているのに反して、progesterone を処置した個体ではすべて progesterone に反応して、その基質核の百分比は非常に増加していた。黄体ホルモンが増加したので、基質核反応が減少するという現象は見られなかつた。黄体ホルモンの減少がそのまま基質核反応の減少として表われることを示している。

黄体ホルモン物質による基質核反応は、脱落膜形成の一過程であるといわれている (Hooker, 1945)。この実験の折、progesterone 処置前の子宮剥出が刺激となり、子宮の切口の部分が progesterone 処置後ふくれて脱落膜腫 (deciduoma) が形成された (Plate 2, fig. 9)。そして、このふくれた部分は決して内膜鬼胎ではなかつた。progesterone を処置しない1匹の対照の個体では脱落膜も内膜鬼胎も形成されなかつた。このことは哺乳末期において発情ホルモンの量はかなり低く保たれており、また、黄体ホルモンの量も減少して脱落膜腫を形成することはできないことを証明している。しかしながら、妊娠後半期と異なり、黄体ホルモン物質を処置すれば哺乳末期に脱落膜腫は形成される。

論 議

第1図に示した子宮内膜上皮の高さの変化により発情ホルモンの消長を観察したのであるが、この曲線は生体内発情ホルモン量の比較的な変動を示すもので、正確な定量的なものではない。内膜鬼胎を誘導する発情ホルモン効果は時間的に速やかに現われる (Astwood, 1938)。しかし、内膜上皮の高さに現われる発情ホルモン効果は内膜の固有層 (tunica propria) の底部に現われ、それから内膜上皮の方向に効果が拡がると報告されている (Hooker, 1945)。そして実際の発情ホルモン効果が上皮に及ぶのには約10時間かかる (Allen, Smith and Gardner, 1937; Hooker, 1945)。それ故、第1図に示した発情ホルモンの消長には多少の修正が必要であろう。

第3図は黄体ホルモン量の比較的な変動の概略を示したものであるが、この曲線によつて表現される変動にも真実の黄体ホルモンの変動との間には多少の時間的なずれがあると思われる。なぜなら、基質核に黄体ホルモン効果を誘導するには約24時間から48時間かかるといわれているからである (Atkinson and Hooker, 1945)。

Hooker (1945) や Hooker and Forbes (1947) の子宮内膜基質核反応による黄体ホルモン物質の生物検定法は非常に鋭敏な検定法である。しかしながら、estrogen や androgen 等の steroids による効果抑制があることが判つた (Olsen, Salhanick and Hisaw, 1952)。彼等は estradiol 17-beta と progesterone との比が、1/200 以下の時は検定法は信頼しうるが、1/200 以上の時には正しい基質核反応を示さないと述べている。Zarrow and Nehr (1951) も Hooker-Forbes 法による黄体ホルモン物質検定の場合に estrogen の効果抑制を認めているが、妊娠等の生理学的な生体活動の場合には estrogen の抑制効果は見られないと述べている。妊娠後半期に比較して哺乳後半期には発情ホルモンの量は少ないので、哺乳期を通じて基質核反応に対する estrogen の抑制効果はないものと思われる。

本実験では子宮の一部剥出を行つたが、その影響について考えて見ると、妊娠の場合と異つて哺乳における子宮除去は発情期の到来を促進し難い(竹脇, 1937, 1938 a). それ故、子宮の一部剥出は大きな内分泌的変動をおこさないものと考えられる。

Atkinson and Hooker (1945) は偽妊娠の終る時期に発情ホルモンの量が急激に増加することを観察しているが、この実験でも哺乳末期になると、突発的に上皮の高さが増して発情期が到来する。このことは哺乳黄体と偽妊娠黄体との機能退化の類似性を物語るもので、興味ある現象である。

黄体ホルモンに対する内膜基質核反応の差異が、妊娠前半期と後半期に見られるし (Atkinson and Hooker, 1945), また、妊娠前半期には脱落膜腫は形成しうるが、妊娠後半期には脱落膜腫を形成しえない (Selye and Mckeown, 1935; 竹脇, 1938 b). たとい、黄体ホルモン物質を投与しても、妊娠後半期には脱落膜腫を形成しえない (Atkinson, 1944). Selye and Mckeown (1935) はネズミで、哺乳第 13 日までは脱落膜腫を形成しうると述べている。本実験において progesterone の投与によつて哺乳末期に脱落膜腫をうることができた。脱落膜腫形成に關係する妊娠後半期と哺乳後半期の内分泌的差異を、単純に発情ホルモンの多少によると考えて良いかどうかは不明であるが、妊娠黄体と哺乳黄体の機能に關連して興味がある。

摘 要

1) 哺乳中のハツカネズミの子宮内膜上皮の高さの変化や子宮内膜鬼胎の存在によつて発情ホルモンの消長を調べた。発情ホルモンの量は後分娩発情につづいて下降し、哺乳第 11 日頃より再び上昇する。この上昇は非常にゆるやかで、哺乳第 25 日前後に至つて第 2 回目の発情期の到来と共に急激に増加する。

2) Hooker (1945) 等によつて報告された黄体ホルモンの作用による子宮内膜基質核反応を用いて、哺乳中のハツカネズミにおける黄体ホルモンの消長を検討した。黄体ホルモンの量は出産後より順次増加し、哺乳第 4 日から第 9 日頃までが最大であり、以後次第に減少してゆくことが判つた。

3) 哺乳末期において子宮内膜基質核は progesterone の処置に反応を示し、また脱落膜腫の形成も見られた。

文 献

- Allen, E., Hisaw, F. L. and W. U. Gardner 1939 Sex and internal secretions. Baltimore.
- Allen, E., Smith G. M. and W. U. Gardner 1937 Accenturation of the growth effect of theelin on genital tissues of the ovariectomized mouse by arrest of mitosis with colchicine. *Am. J. Anat.*, 61 : 321.
- Astwood, E. B. 1938 A six-hour assay for the quantitative determination of estrogen. *Endocrinology*, 23 : 25.
- Astwood, E. B. 1939 Changes in the weight and water content of the uterus of the normal adults rat. *Am. J. Physiol.*, 126 : 162.

- Atkinson, W. B. and C. W. Hooker 1945 The day to day level of estrogen and progesterin throughout pregnancy and pseudopregnancy in the mouse. *Anat. Rec.*, 93 : 75.
- Atkinson, W. B. 1944 Studies on the failure of deciduoma formation after placentation in the mouse. *Endocrinology*, 35 : 193.
- Courrier, R. 1951 Interactions between estrogens and progesterone. *Vitamins and Hormones*, 8 : 179.
- Forbes, T. R. 1953 Pre-ovulatory progesterone in the peripheral blood of the rabbit. *Endocrinology*, 53 : 79.
- Hooker, C. W. 1945 A criterion of luteal activity in the mouse. *Anat. Rec.*, 93 : 333.
- Hooker, C. W. and T. R. Forbes 1947 A bioassay for minute amounts of progesterone. *Endocrinology*, 41 : 158.
- Horing, E. S. 1942—1944 *J. Endocrinology*, 3 : 260 (quoted from H. Burrows 1949, *Biological actions of sex hormones*. Cambridge).
- Olsen, A. G., Salhanick, H. A. and F. L. Hisaw 1952 The inhibitory action of various steroids on the Hooker-Forbes assay for progesterone. *Endocrinology*, 51 : 519.
- Selye, H., Harlow C. and T. Mckeown 1935 The endometrial mole. *Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med.*, 32 : 1253.
- Selye, H. and T. Mckeown 1935 Studies on the physiology of the maternal placenta in the rat. *Proc. Roy. Soc., London, B*, 119 : 1.
- Takewaki, K. 1937 Postponement of appearance of oestrus following interruption of pregnancy in lactating mice. *Proc. Imp. Acad.*, 13 : 371.
- Takewaki, K. 1938a The effect of hysterectomy on the corpus luteum in the mouse. *J. Fac. Sci. Imp. Univ. Tokyo*, IV, 5 : 11.
- Takewaki, K. 1938b On the hormonal condition of pregnancy in the rat. *J. Fac. Sci. Imp. Univ. Tokyo*, IV, 5 : 23.
- Togari, C. 1923 On the origin of the corpus luteum of the mouse. *Aiti Jour. Exp. Med.*, 1.
- Williams, W. L. and H. C. Hodge 1943 Intravital staining and toxicity of chlorazol fast pink in mice and rats. *Anat. Rec.*, 87 : 181.
- Zarrow, M. X. and G. M. Neher 1951 The action of various estrogens in the Hooker-Forbes assay for progesterone. *Anat. Rec.*, 111 : 507.
- Zeiner, F. N. 1952 Pituitary gonadotropic fluctuation during pregnancy in the rat. *Anat. Rec.*, 113 : 225.

R é s u m é

The sequences and fluctuations in the intensity of the response of the endometrium to estrogen and progesterin during lactation in the mouse were studied. Using the thickness of the endometrial epithelium and the existence of the endometrial edema as criteria, changes of the level of estrogen in the blood were estimated. By the response to progesterone that consists in hypertrophy of the stromal nuclei, progesterin levels in the blood were estimated.

High levels of estrogen concentration are seen in the first and second day of lactation, though after that estrogen levels fall. In the latter half of

lactation output of estrogen are ascending gradually. However, the second coming of estrus in lactating mice appears at the end of lactation and at that time abundant output of estrogen takes place suddenly.

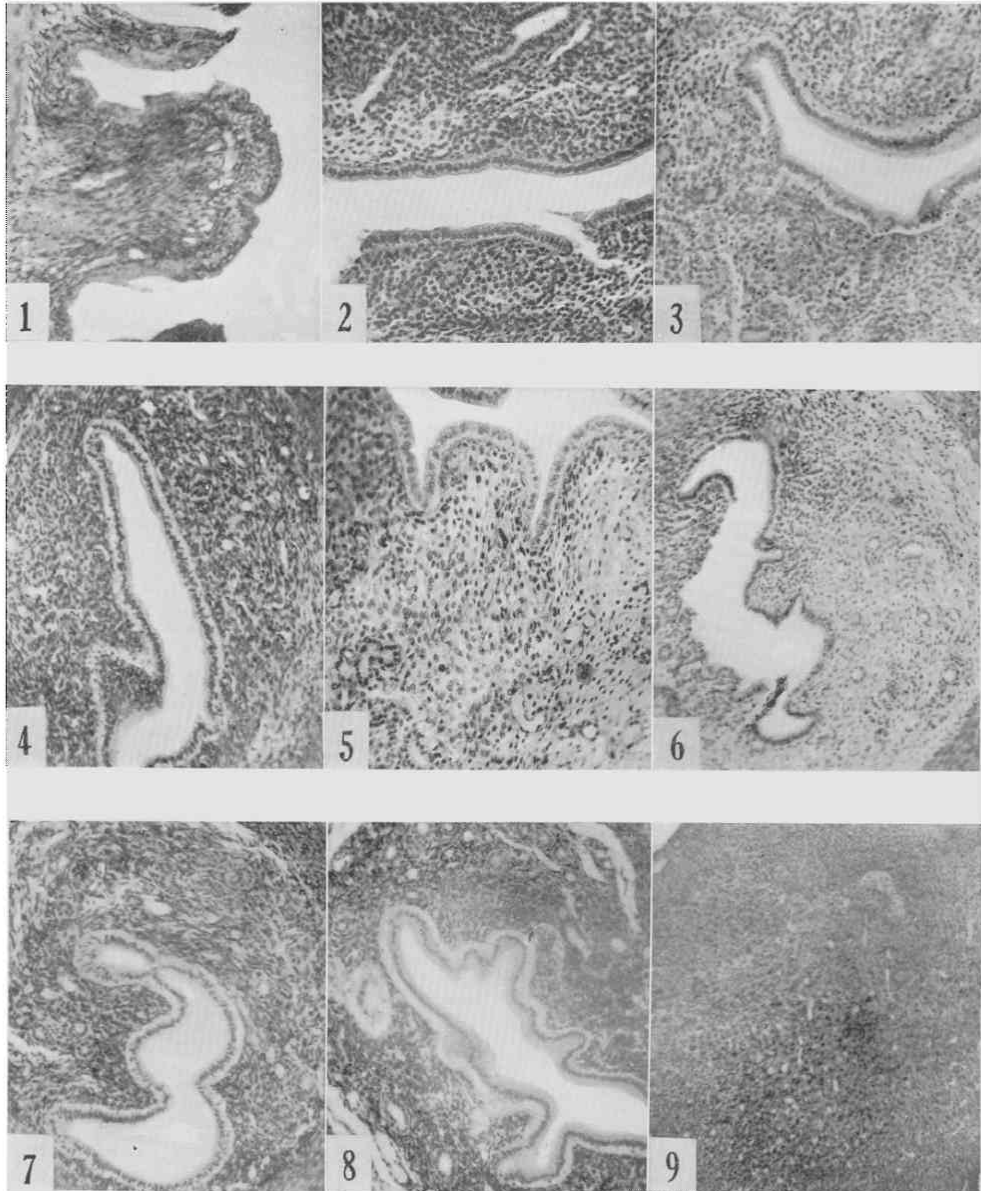
Production of progestin is ascending gradually after parturition and the highest level of progestin is seen between 4th and 9th day of lactation. After that, progestin levels in the blood decline slowly.

The stromal nuclei having received the effect of progesterone are again affected by the treatment of progesterone, whether it is endogenous or exogenous. In the end of lactation deciduomata were produced by progesterone administration in the mouse uterus.

Zoological Laboratory, Faculty of Agriculture,
Kyushu University

Explanation of Plate 2

- Fig. 1. Endometrium of the mouse on the 2nd day of lactation. The epithelium is thick and the stromal nuclei are small and mainly spindle-shaped. $\times 120$.
- Fig. 2. Endometrium of the mouse on the 4th day of lactation. The endometrium is edematous. The epithelium becomes thin and the stromal nuclei are enlarged and vesicular. $\times 120$.
- Fig. 3. Endometrium of the mouse on the 8th day of lactation. The stromal nuclei are much enlarged and vesicular. $\times 120$.
- Fig. 4. Endometrium of the mouse on the 10th day of lactation. $\times 120$.
- Fig. 5. Endometrium of the mouse on the 12th day of lactation. The endometrium is highly edematous. $\times 120$.
- Fig. 6. Endometrium of the mouse on the 14th day of lactation. The epithelium remains thin as before. The stromal nuclei are much enlarged and vesicular. $\times 100$.
- Fig. 7. Endometrium of the mouse on the 18th day of lactation. The epithelium becomes thick. The stromal nuclei become small, dense and often fusiform. $\times 100$.
- Fig. 8. Endometrium of the mouse on the 24th day of lactation. The epithelium is thick and the endometrium has a fibrous appearance, showing the paucity of progesterone. $\times 100$.
- Fig. 9. Uterus of the lactating mouse receiving daily injection of 0.25 mg. progesterone over a period of 3 days, beginning from the 18th day of lactation. Formation of deciduoma is shown. $\times 40$.



哺乳中のハツカネズミにおける発情ホルモン及び黄体ホルモンの消長について