

## ニワトリ及びカエルの脳下垂体前葉抽出物による金魚の排卵促進 (予報)\*

大塚 外 次

(鈴峯女子大學生物學教室)

Acceleration of ovulation in the gold-fish by injection of anterior pituitary extracts of domestic fowls and frogs

Sotoji OTSUKA

(Suzugamine Women's College, Hiroshima)

WRIGHT ('46) は哺乳類以外の脊椎動物に於いても脳下垂体前葉の FSH と ICSH とが生殖腺の作用を調節すると考えているが、筆者の知る範囲では哺乳類以外の脊椎動物の FSH と ICSH とが哺乳類に於けると同様又は類似のものか、又は全く相違したものか、或いはこの兩者の外に協働又は拮抗作用をする物質が存在するか、等について決定的な研究をした人はいない。然し魚類の排卵が種類によつて反應の相違はあるが、とも角各種動物の脳下垂体前葉ホルモンによつて、促進されることが明確である。KOCH & SCHEURING ('36) はドイツニジマスに哺乳類の脳下垂体ホルモンを注射したが影響が現われなかつた。然し KAHN ('38) は印度コイに哺乳類の脳下垂体前葉抽出物 40RU を注射して排卵を促進させた。この事は哺乳類の生殖腺の發育を促進させる物質が魚類に作用する場合もある事を示している。HASLER ('42) は正常な金魚に羊の LH を注射しても産卵を促進させられないと報じている。先に筆者等 (川村・大塚、'50) はニワトリ及びカエルの脳下垂体前葉が産卵期の金魚に對して排卵を促進し得る事を報じた。本研究に於いてはそれ等の脳下垂体の如何なる成分がこの役割を演ずるかを検討する爲に、既知の方法で抽出を行い、金魚に注射して効力の有無を調べた。

### 材 料 及 び 方 法

この實驗ではニワトリ及びカエルの脳下垂体から生殖腺刺激物質を抽出する爲、哺乳類で JENSEN 等 ('39) が用いた方法に従つて、エタノールで抽出し、硫酸アンモニウムで処理するか又は CHOW 等 ('42) の方法に従つて塩化ナトリウムで抽出し、硫酸アンモニウムで処理する方法を用いた (第1及び第2表参照)。脳下垂体は處理前にカエルのものは2週間以内、ニワトリのものは約3ヶ月以内にアセトンで乾燥したものである。これらの抽出方法はニワトリ及びカエルの脳下垂体の有効成分を抽出する方法としては不完全と思われるから、抽出處理の途中で出てくる殘渣で一應有効物質を含まぬと考えられるものも注射用に供した。これ等の中、注射に用いた物質は第1表の JA, J1, J2, J3, JF 及び JI に相當する物質で、ニワトリでは HJA, HJ1, HJ2, HJ3, HJF 及び HJI、カエルでは FJA, FJ1, FJ2, FJ3, FJF 及び FJI として表した。次に第2表の CA 及び CI に相當する物質は、ニワトリでは HCA 及び HCl。カエルでは FCA 及び FC1 として表した。これらの物質は金魚の排卵促進に對する單位は定められていないが、ニワトリの脳下垂体 65 個 (約 100 mg) から JA に相當するもの約 25mg、JF 及び JI に相當するものが約 1.5mg 得られ、カエルのもの約 100 個 (約 30mg) から JA に相當するもの約 7mg、JF 及び JI に相當するものが約 0.3mg 得られた。實驗に用いた金魚は体重 18~30g の未だ産卵した事のない2年魚で、腹部の壓迫により未成熟卵を排出する個体を選んだ。注射は抽出物を 0.25cc の魚類用リンガー氏液に溶かしたものを腹腔内に行つた。

1. この研究の概要は日本動物學會第 22 回大會 (1951) で講演した。
2. この研究の一部は文部省科學研究助成補助金の補助による。

Table 1 Method of isolation of sheep pituitary gonadotrophic hormones by JENSEN et al. ('39). At 4-7°C.

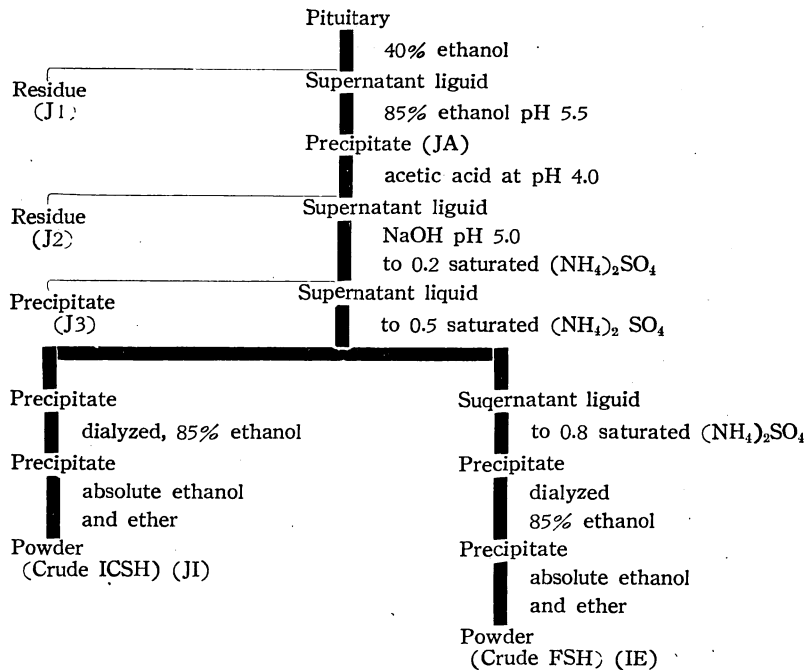
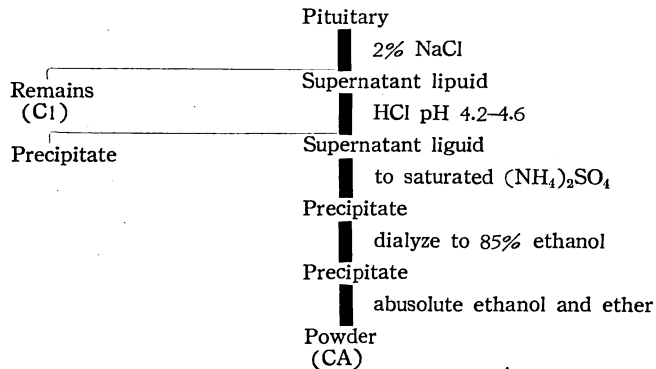


Table 2 Method of isolation of swine pituitary interstitial cell stimulating hormones by CHOW et al. ('42). At 4-7° C.



### 實 験 結 果

ニワトリ及びカエルの脳下垂体前葉から有効成分を40%エタノールで抽出した残渣(HJ1, FJ1)を金魚に注射した場合には、たとえ雄をつけても全く排卵を促進し得なかつた(第3, 4表)。これに對して抽出液にエタノールを加えpH 5.5で80~85%にして、できてくる沈澱物を金魚に注射し、すぐに雄をつけると、ニワトリのものでは6匹中2匹、カエルのものでは6匹中3匹が、24~48時間で排卵した(第3表)。これに對する對照區では、雄をつけておいたに拘らず、24~48時間で排卵したものはなかつた。この沈澱物をpH 4.0の醋酸で抽出して得た残渣(HJ2, FJ2)と、上澄液をNaOHでpH 5.0にし、硫酸アンモニウムを0.2飽和まで添加して得た沈澱物(HJ3, FJ3)とをそれぞれ金魚に注射して、直に雄をつけた場合には、いづれも排卵したものがなかつた。

**Table 3** Ovulation of gold fishes by administration of anterior pituitary preparations of domestic fowls and frogs. Ovulation was determined 24-48 hours after the beginning of the experiment. Mated with males.

Hormones	Date of inject.	Average weight (g)	Number of treated fishes	Dose of inject. (mg)	Results (Number is that of fishes which ovulated.)
HJ1	May 22	24.2	6	about 1.0	No ovulation
HJA	"	23.0	6	"	2; one ovulated about 20 hrs after inject. the other ovulated about 48 hrs after inject.
HJ2	26	22.8	6	about 0.5	No ovulation
HJ3	"	22.4	6	"	"
HJF	28	23.7	6	about 0.2	2; but a number of eggs had no plasma
HJI	"	23.8	6	"	No ovulation
FJ1	22	26.2	6	about 1.0	"
FJA	"	25.5	6	0.2	3; Ovulated about 24 hrs. after inject.
FJ2	26	24.3	6	0.75	No ovulation
FJ3	"	23.7	6	0.15	"
FJF	28	23.1	6	0.05	1; but a number of eggs had no plasma
FJI	"	23.6	6	0.05	No ovulation

**Table 4** Ovulation of gold fishes by administration of HJF, HJI, FJF and FJI. Ovulation was determined 48-72 hours after beginning of the experiment. Mated with males.

Hormones	Date of inject.	Average weight (g)	Number of treated fishes	Dose of inject. (mg)	Results (Number is that of fishes which ovulated.)
HJF	June 2	25.2	6	about 0.2	2; ovulated normal eggs
HJI	4	24.8	6	"	No ovulation
FJF	2	25.3	6	0.05	3; ovulated normal eggs
FJI	4	24.9	6	"	1; ovulated normal eggs
HJF+HJI	17	26.5	6	0.4	2; "
FJF+FJI	17	26.2	6	0.1	3; "

**Table 5** Ovulation of gold fishes by administration of HC1, HCA, FC1 and FCA. Mated with males.

Hormones	Date of inject.	Average weight (g)	Number of treated fishes	Dose of inject. (mg)	Results (Number is that of fishes which ovulated)
HC1	June 2	22.5	6	about 1.5	No ovulation
HCA	6	23.1	6	1.5	2; ovulated normal eggs
FC1	2	22.3	6	1.0	No ovulation
FCA	6	22.8	6	1.0	2; ovulated normal eggs

(第3表)。上澄液に硫酸アンモニウムを 0.5 飽和になる様に加えて得た沈澱物、及び上澄液に更に硫酸アンモニウムを加えて、0.8 飽和として、できた沈澱物を透析し、エタノールを加えて80~85%にして有効成分を得たものをそれぞれ金魚に注射し、直に雄をつけたところ、24~48 時間後に HJF のものでは6匹中2匹、FJF のものでは6匹中1匹が少数の卵膜のみの卵を排出した。

HJI 及び FJI では注射後雄をつけても排卵したものがなかつた。これ等に對する對照區では 6 匹共に 72 時間で排卵したものがなかつた。

前記の HJF, HJI, FJF 及び FJI を更に検討する爲に今年 ('51) 新しく抽出したものをそれぞれ金魚に注射して、雄をつけた。その結果は第4表に示す如くであつた。HJF, FJF 及び FJI では注射後 48~72 時間で雄が追まなかつたが、腹部を壓迫して見ると HJF, のものでは6匹中2匹 FJF のものでは6匹中3匹が多数の成熟卵を排出し、FJI の場合では6匹中1匹が少数の成熟卵を排出した。然し HJI の場合では排卵したものがなかつた。これ等に對する對照實驗では 72 時間で排卵したものはなかつた。他方前記の場合と比較する目的で HJF と HJI, FJF と FJI の混合物を金魚に注射した場合の結果は第4表に示した。これ等は注射後雄をつけたが、48~72 時間で前者は6匹中2匹、後者では6匹中3匹が排卵した。この場合は單一物を注射した場合に比較して排卵したものが多様であるが、實驗の時期が遅かつた事も之に關係していると考えられる。

次に腦下垂体前葉の生殖腺刺激物質を2%の塩化ナトリウムで抽出して、前者と同様に硫酸アンモニウムで處理し、沈澱物を透析して、エタノールを 80~85% にして得た沈澱物を金魚に注射した。それらの抽出物を得た残渣と考えられる HCl 及び FC1 を金魚に注射した場合、その排卵を促進させ得なかつたが、HCA 及び FCA を注射した場合はそれぞれ6匹中2匹が注射後24~48 時間で排卵した(第5表参照)。

## 考 察

HJI 及び FJI を金魚に注射した場合は排卵せず、HJA 及び FJA を注射した場合に排卵した事は、前者のそれぞれの中に有効成分が含まれていないか、又は注射量の中に排卵を促進させ得る程度のもが含まれていないの對して、後者では有効成分が含まれている事を示すものと考えられる。この事は又 40% エタノール及び 2% 塩化ナトリウムはニワトリ及びカエルの腦下垂体前葉の生殖腺刺激物質を哺乳類に於けるとほぼ同様に抽出し得る事を示すものである。更に HJ2, HJ3, FJ2 及び FJ3 の場合では排卵せず、FJF, FJI 及び HJF の場合は排卵した事は、前者には金魚の排卵を促進する有効成分がほとんど含まれていないで、後者の中にこの物質が存在していることを示す様に考えられる。HASLER ('42) は羊の ICSH は金魚の排卵を促進させ得ないと述べており、WRIGHT ('46) は羊の FSH 單獨ではカエルの排卵を促進させられないと報告している。然し金魚で HJF, FJF 及び FJI の何れによつても排卵促進し得た事は、これ等が哺乳類の粗製 FSH と粗製 ICSH に相當する物質で尙十分 FSH と ICSH とに分離されていないためであるとも考えられるし、またその上それら以外の有効物質が含まれているために起るとも考えられる。この点については、本實驗では十分純粹化出来なかつたので斷定出来ない。なお金魚は個体に依り僅かの環境の差、例えば十分食物が與えられたり、又は水の pH の變化によつて自然に雌のみで排卵することがあるから、排卵の成績によつて嚴密な比較をすることは困難であるが、然し大体 HJF, FJF 及び FJI が金魚の排卵促進に役立つことは疑われない。

## 要 約

1) ニワトリ及びカエルの腦下垂体前葉から哺乳類に於けると同様に 40% エタノール又は 2% の塩化ナトリウムで抽出した物質を産卵期の金魚に注射して、排卵を促進することができた。

2) ニワトリ及びカエルの脳下垂体前葉より40%エタノールで抽出し、硫酸アンモニウムで処理し、その0.5飽和と0.8飽和で分離した物は共に金魚の排卵促進に有効な成分を含むが、これらは哺乳類の粗製FSHと粗製ICSHに相当する物質で、尙十分FSHとICSHとに分離されていないこともその原因と考えられる。

終に臨みこの研究を興えられ、日頃御指導を賜り、本文の校閲の勞をとられた廣島大學川村智治郎教授に對し衷心より謝意を表する。

## 文 献

- 1) CHOW, B. F., H. B. VAN DYKE, R. O. GREEP, A. ROTHEN and T. SHEDLOVSKY, 1942: Gonadotropins of the Swine pituitary. II preparation and Biological and physico-chemical characterization of a Protein Apparently identical Metakentrin, *Endocrinology*, 30, 650-656.
- 2) DYKE, H. B., S. Y. P'AN and T. SHEDLOVSKY, 1950: Follicle-Stimulating Hormones of the anterior pituitary of the Sheep and the Hog, *Endocrinology*, 46, 563-573.
- 3) HASLER, A. D. and A. K. MEYER, 1942: Respiratory responses of normal and castrated gold fish to teleost and mammalian hormones, *Jour. Exp. Zool.* 91 (3), 391-404. in abstract.
- 4) JENSEN, H., M. E. SIMPSON, S. TOLKSDORF, H. M. EVANS, 1939: Chemical Fraction of the Gonadotropic Factors present in sheep pituitary, *Endocrinology*, 25, 57-62.
- 5) 川村智治郎, 1947: ホルモンによる魚類の産卵促進、*生理生態* 1, 125-134.
- 6) 川村智治郎、大塚外次, 1950: キンギョの排卵促進について、*魚類學雜誌*, 1 (3), 157-165.
- 7) LI, C. H., M. E. SIMPSON, H. M. EVANS, 1949: Isolation of Pituitary Follicle-stimulating Hormone (FSH), *Science*, 109, 445-446.
- 8) WRIGHT, P. A. and F. L. HISAW, 1946: Effect of Mammalian pituitary gonadotropine on ovulation in the Frog, *Rana pipiens*, *Endocrinology*, 39, 247-255.

## R é s u m é

- 1) The ovulation of one-year-old gold fishes is accelerated by injection of anterior pituitary extracts obtained from frogs as well as domestic fowls. The extracts were made with 40% ethanol or 2% NaCl aqueous solution by the procedure which was adopted by JENSEN et al. ('39) and CHOW et al. ('42) for extracting FSH and ICSH fractions from mammalian pituitaries.
- 2) The substance extracted with 40% ethanol was separated into two fractions by 0.5 and 0.8 saturated solutions of ammonium sulphate. Each fraction, however, accelerated the ovulation of gold fishes. This seems to be attributable to the impureness of both fractions.