

# Lithospermum 属植物成分の性機能に対する作用に 関する実験的研究

昭和34年11月28日 受付

信州大学医学部産婦人科学教室(主任:岩井正二教授)

研 究 生 三 浦 良 治

## Experimental Studies on the Action of the Effective Components of Lithospermum-species Plants upon Sexual Functions.

Yoshiharu Miura

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Shinshu University.  
(Director: Prof. S. Iwai)

### 緒 言

Lithospermum (以下Lと略称す)には動物に対する性周期抑制作用のあることが Cranston 氏らによつて発見され、その後 Noble 氏らによつて試験管内にて Gonadotropin (以下Gと略称す)を不活化する作用のあることが明らかにされた。Lが示す性周期抑制等の対性腺作用は甚だ興味深い、その機序についてはほとんどわかっていないのが実情であつて、下垂体前葉機能の抑制或は血中Gに対する直接的抗G作用などの説が立てられている。先きに協同研究者の一人福沢は、Lの成分を化学的に追究した結果、主成分はフマル酸及び無水コハク酸であるが、これらには試験管内でGを不活化する作用はなく、該作用は Chinon 体と関係があると想像される吾々のC物質であることを明らかにした。すなわち、フマル酸・コハク酸などの T C A Cycle にぞくする物質とC物質とがLの成分としてはほぼ明らかになつたので、著者はLの作用機序解明への一段階としてこれらの物質の性機能に対する影響を観察すべく以下の実験を行った。

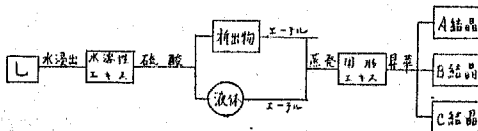
### 第1章 Lithospermum 成分の分離とその化学性状

先づL成分の分離過程と分離した物質の化学的性状を述べると以下の如くである。

#### 第1節 分離

分離過程は第1図に示す如くである。すなわち、Lの地上或は地下部水浸出エキスを硫酸で処理して生じた析出物及び液体から、エーテル抽出により固形エキスを得、更に昇華法によつて凡そ4:1の割合にA、B

第1図 分離過程



両結晶を分離し、そのほかに微量にC物質を得た。

### 第2節 化学性状

#### 第1項 A 結晶

本結晶は白色針状を呈し、融点 277~279°C、水・エーテル・アルコールに溶解し、ベンゾールには不溶、水溶液は酸性を呈する。赤外線分析の結果(示性式  $C_4H_4O_4$ )、本結晶はフマル酸であることを確認した。

#### 第2項 B 結晶

結晶形は白色針状、融点 116.5~117°C、水・エーテル・アルコールに溶解しベンゾールに溶解せず、水溶液は酸性で赤外線分析により(示性式  $C_4H_4O_8$ )、本結晶の本体は無水コハク酸であると断定できる。

#### 第3項 C 物質

抽出し得た本物質は未だ純粋でないが、次の如き化学的性状を有している。

- (1) 水に可溶性で、水溶液は黄色を呈する。
- (2) 水溶液に NaOH 液を加えると赤褐色となる。
- (3) 水溶液に  $FeCl_3$  を加えると青褐色となり、これに  $Na_2CO_3$  液を加えると赤褐色となる。
- (4) 醋酸酸性にて醋酸鉛により Pb 塩を形成しないが、塩基性醋酸鉛では黄色の沈澱を生ずる。

以上から、C物質は Catechol, Resorcinol, とは多少異なる Chinoid structure を有する物質を含むものと考えられ、Shikonine と同様  $O=\langle \rangle=O$  核が一部に存するのではないかと想像され、主成分の本体は一応 Chinon 体であろうと推測される。

### 第3節 小 括

Lの水溶性エキスからA、B両結晶とC物質を分離し、A結晶はフマル酸であり、B結晶は無水コハク酸であることを確認し、C物質については未だ本体を明らかになし得ないが、呈色反応等から、恐らく  $O=\langle \rangle=O$  核をもつた Chinon 体であろうと推測される。

第2章 各成分の試験管内 Gonadotropin 不活化作用

L 浸出液には、試験管内にてGを不活化する作用の  
あることが知られており、福沢は所謂C物質をLから  
抽出しこれが有効成分であるとしている。著者も本研  
究において使用するC物質及びフマル酸について、  
試験管内G不活化作用の有無を Mainini 反応及びラ  
ツテ卵巢・子宮の変化により以下の如く実験した。

第1節 Mainini 反応による実験

第1項 C 物質

実験方法：尿性絨毛性Gの PUG または妊娠前半期  
妊婦尿を用い、前者は 25 I. U. 1.0cc に対して炭酸ソ  
ーダで処置したC物質を 1.0mg, 5.0mg, 10.0mg に  
混じて 37°C に1時間おいたのちカエル皮下リンパ

第1表 C物質混合 PUG による Mainini 反応 (5mg:1.0cc (25I.U.))

カエル番号	排精検査時間			
	1	2	3	4
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-
対照 6	+	+	+	+
対照 7	+	+	+	+

第2表 C物質混合妊婦尿による Mainini 反応 (1~10mg:1cc)

カエル番号	C 量 (mg/cc)	排精検査時間			
		1	2	3	4
1	1.0	-	-	-	-
2		-	-	-	-
3		-	-	-	-
4	5.0	-	-	-	-
5		-	-	-	-
6		-	-	-	-
7		-	-	-	-
8	10.0	-	-	-	-
9		-	-	-	-
10		-	-	-	-
対照 11		-	+	+	+
対照 12		+	+	+	+
対照 13		-	+	+	+
対照 14		-	+	+	+

囊に注射して 1, 2, 3, 4, 時間目に排精の状態を観察した。

実験成績：成績は第 1, 第2表の如く、C物質を PUG に混合した場合も妊婦尿に混合した場合も、いずれも排精は全く証明されず、C物質にG不活化作用のあることが認められる。

第2項 フマル酸

実験方法：PUG (25I.U.) または妊娠7カ月妊婦尿 1.0cc に対してフマル酸ソーダを夫々 15mg 及び 20

第3表 フマル酸ソーダ混合 PUG による Mainini 反応 (15mg:1.0cc (25I.U.))

カエル番号	排精検査時間				備考
	1	2	3	4	
1	-	-	-	-	翌日 PUG のみ +  全
2	-	+	+	+	
3	-	+	+	+	
4	-	-	-	-	
5	-	+	+	+	
6	±	+	+	+	
7	-	±	±	+	
8	+	+	+	+	
9	-	+	+	+	
10	-	-	-	-	
11対照	-	+	+	+	全

第4表 フマル酸ソーダ混合妊婦尿による Mainini 反応 (20mg:1.0cc)

カエル番号	排精検査時間				備考
	1	2	3	4	
1	-	+	+	+	翌日尿のみ +  全
2	-	-	+	+	
3	-	+	+	+	
4	-	-	±	+	
5	-	-	-	-	
6	+	+	+	+	
7	-	-	+	+	
8	-	-	-	-	
9	+	+	+	+	
10	-	-	+	+	
対照 11	+	+	+	+	
対照 12	-	+	+	+	
対照 13	+	+	+	+	
対照 14	-	+	+	+	
対照 15	+	+	+	+	

第5表 フマル酸ソーダ混合妊婦尿による Mainini 反応 (30~50mg:1.0cc)

カエル番号	排精検査時間				備考	
	1	2	3	4		
30mg:1cc	1	+	+	+	+	
	2	-	+	+	+	
	3	+	+	+	+	
	4	-	+	+	+	
	5	+	+	+	+	
50mg:1cc	6	+	+	+	+	
	7	+	+	-	-	
	8	-	-	-	-	
	9	-	+	+	+	
	10	-	-	-	-	
対照	11	+	+	+	+	
	12	+	+	+	+	
	13	+	+	+	+	
	14	+	+	+	+	
	15	+	+	+	+	

第6表 フマル酸ソーダ混合アンテロンによる Mainini 反応 (30~50mg:0.5cc(200I. U.))

カエル番号	排精検査時間				備考	
	1	2	3	4		
30mg:0.5cc	1	-	-	+	+	翌日アテロンのみ
	2	-	+	+	+	
	3	-	-	-	-	
	4	+	+	+	+	
	5	+	+	+	+	
50mg:0.5cc	6	-	-	-	±	
	7	-	-	-	-	
	8	-	±	+	+	
	9	-	-	+	+	
	10	-	-	+	+	
対照	11	+	+	+	+	
	12	+	+	+	+	
	13	+	+	+	+	
	14	+	+	+	+	
	15	+	+	+	+	

~50mg混じ、またアンテロン(200 I. U.) 0.5ccに對して30~50mgのフマル酸ソーダを混合して37°C 1時間おいたものについて前節の実験方法と同様に排精の状態を観察した。

実験成績:PUGに混合した場合の成績は第3表、妊

婦尿に混合した場合の成績は第4、第5表、またアンテロンに混合した場合の成績は第6表に示す通りである。

すなわち、排精が陰性で翌日C物質非混合同量のPUG、妊婦尿、或はアンテロンを注射した場合には陽性であつた例もあるが、Mainini 反応を指標とした本実験の全般的成績から、フマル酸塩にはC物質が示すようなG不活化作用はないと考えられる。

#### 第2節 ラット臓器の所見による実験

排精を指標とした場合には上記の如くC物質には明らかにG不活化作用が認められ、フマル酸ソーダには本作用はほとんど認められないが、更にこれら両物質のGに及ぼす影響を、幼若ラット卵巣・子宮の臓器所見から観察し、G不活化の程度を詳かにするとともに、両物質の卵巣に対する直接作用をも観察せんとして本実験を行つた。

#### 第1項 C 物質

実験方法:炭酸ソーダで処置したC物質5mgとPUG 20 I. U. を蒸溜水1.0cc中に溶かし、37°C、1時間後幼若ラットに1日1回5日間皮下注射し、6日目に解剖して卵巣及び子宮を剔出し夫々の臓器について肉眼的所見及びヘマトキシリン・エオジン染色により組織学的所見を観察した。なお対照として炭酸ソーダで処置したC物質5~10mgを1日1回5日間皮下注射したのものについても観察した。

実験成績:C物質とPUG混合注射後の卵巣・子宮の重量及び肉眼的所見は第7表、第2図に示した通りで、PUG単独注射群にくらべて変化はやや少く、C物質のGに対する或る程度の抑制作用が窺われる。また夫々の組織学的所見は次の如くである。

第7表 C物質・PUG混合注射後の卵巣・子宮重量

ラット番号	注 射 量 一 回	体 重 (gr)		卵巣+子宮重量 (gr)	
		開始時	剖検時		
1	5mg (0.5cc) + PUG 20 I. U.	55	58	0.2	
2		43	37	0.2	
3		59	45	0.2	
4		55	55	0.3	
6		46	45	0.4	
7	10mg (0.5cc) + PUG 20 I. U.	61	65	0.2	
8		61	66	0.3	
9		42	44	0.3	
10		70	81	0.4	
11		66	72	0.4	
13	対 照	PUG 20 I. U.	60	73	0.4
14	対 照	無 処 置	66	68	0.15
15	対 照	無 処 置	33	36	0.1

1, 卵 巢

(イ) C物質単独注射対照の卵巢所見は全般に無処置対照のそれとほとんど差異はなく、(ロ) PUG単独注射対照群では、成熟卵胞は増加し、著しく肥大したものを認め、また黄体数も増加し多数の新鮮黄体が認められる。間質構成細胞も肥大増殖し、卵巢全体は著明に充血する(第3図)。(ハ) C物質5mg・PUG混合注射群では、卵巢組織全体の充血はかなり高度に認めるが PUG 単独注射対照群にくらべると軽度であり、成熟卵胞数も比較的少い。出血卵胞はほとんど認められず、黄体形成は比較的新しいものが多い。すなわち、C物質5mgによつて、軽度ではあるがすでにPUG作用の減弱を認めることができる(第4図)。(ニ) C物質10mg・PUG混合注射群の卵巢充血の程度は5mg使用の場合と比較して大差はない。成熟卵胞は著しく減少し、卵胞膜及び上皮細胞の発育も下良で、出血卵胞は全く認めず、黄体は一般に小型で数は少く、新しい黄体でもルテイン細胞の発育は弱い。従つて本群においてはC物質の PUG 不活化に対する影響は更に大きいといえる(第5図)。

2. 子 宮

PUG 単独投与群では子宮粘膜組織の肥大増殖、筋層の肥厚などが著明であるが(第6図)、C物質混合投与群ではこれら全般的な発育は軽度であり、殊に10mg使用群にはこれらの発育が多少阻害されている傾向を認めることができる(第7図)。

以上の如く、ラツテ卵巢・子宮の肉眼的並びに組織学的所見から、in vitroにおいてC物質がPUGのG作用を弱めることは明らかであるが、完全にこれを不活化するまでには至らず、C物質のこの混合量ではMainini反応では排精は認められないがラツテに対するG作用はなお認められる。

第2項 フマル酸

実験方法：フマル酸ソーダ5~10mgを蒸溜水0.5~1.0ccに溶解し、これにPUG20 I.U.を加え37°C1時間おいたものを毎日1回連続5日間皮下注射し、6日目剖検して前項と同様に所見を観察した。尚フマル酸ソーダ5~10mgを単独に投与した場合の所見をも観察した。

実験成績：臓器重量並びに肉眼的所見は第8表及び第9図の如く、PUG単独注射群とフマル酸ソーダ混合注射群との間に著差はない。

第8表 フマル酸ソーダ・PUG混合注射後の臓器重量並びに卵巢の肉眼的所見

ラツテ番号	1回注射量	体 重		臓 器 重 量			成熟卵胞	出血卵胞	黄体形成	備 考
		開始時	剖検時	子宮	卵 右	巢 左				
1	5mg (0.5cc) + PUG 20 I.U.	47.0	54.5	244	26	42	卅	-	+	黄体はやや新しい
2		49.5	49.5	276	38	34	卅	-	卅	
3		51.8	68.0	220	42	21	卅	右+	+	
4		52.5	55.0	304	41	37	卅	左-	+	
5	10mg (1.0cc) + PUG 20 I.U.	61.5	55.0	270	25	38	+	-	+	卵胞成熟度低く数も少 い、黄体は陳旧
6		24.0	25.0	210	15	15	+	-	+	
7		54.0	54.0	340	32	40	+	-	+	
8		54.5	55.0	310	30	31	+	-	+	
9		53.0	54.0	272	30	31	卅	-	+	
10	PUG20 I.U. (1cc)	53.5	59.0	310	50	38	卅	+	+	黄体は新鮮
11		51.0	46.0	190	35	20	卅	+	+	
12		54.0	57.0	322	30	40	卅	+	+	
13	無処置(対照)	38.5	44.0	139	8	6	±	-	-	
14		24.0	28.5	110	7	8	±	-	-	

組織学的所見は次の通りである。

1. 卵 巢

(イ) フマル酸ソーダ単独注射群では、卵胞は未熟で黄体形成はなく無処置ラツテと同様であるが、萎縮傾向が認められ、フマル酸投与量を増大した場合

には間質の萎縮が目立つてくる(第9図)。(ロ) PUG単独注射対照では、卵巢全体に強い充血が認められ、成熟卵胞数も最も多く、排卵直前の卵胞及び出血卵胞も認められる。特に黄体は新鮮なものがある。(ハ) フマル酸ソーダ5mg・PUG混合注射群では、卵巢

の充血は PUG 単独注射対照にくらべるとやや軽度であるが、成熟卵胞数、出血卵胞及び黄体形成の状態は PUG 単独注射と大差なく、フマル酸ソーダの影響はほとんど認められない。(ニ) フマル酸ソーダ 10 mg・PUG 混合注射群の卵巣組織は一般に PUG 単独注射対照或はフマル酸ソーダ 5 mg・PUG 混合注射群より充血は比較的少く成熟卵胞数もやや少い。なかには上皮細胞構築像の乱れたものも認められ(第10図)。卵胞出血はほとんど起っていない。また黄体もほとんどすべてが陳旧性である。(ホ) PUG 投与群のラットの卵巣間質は一般に軽度の殖増を示すが、PUG 単独注射対照群とフマル酸ソーダ 5 mg 及び 10 mg・PUG 混合注射群との間には著明な差異は認め難い。

## 2. 子宮

子宮筋層の發育は PUG 単独注射対照群にくらべてフマル酸ソーダ混合注射群の方がかなり弱く、また PUG 単独注射群は粘膜上皮細胞や間質細胞に著明な細胞分裂像がみられるが、フマル酸ソーダ 10 mg・PUG 混合注射群では分裂像は少く、むしろ粘膜層の萎縮傾向が認められる(第11図)。

以上の如く、ラット卵巣・子宮の重量或は肉眼的所見においては、PUG 単独注射群とフマル酸ソーダ・PUG 混合注射群との間には著差はないが、組織学的変化は、PUG 単独注射群よりフマル酸ソーダ混合注射群の方がやや弱く、フマル酸ソーダにも G と混合した場合、G 作用を多少弱化せしめる作用のあることが推測される。

## 第3節 小括

C 物質は、Mainini 反応では PUG 混合注射するときは排精は全く認められず著明な G 不活化作用を示す場合においても、ラットの卵巣反応を指標とするときはなお若干の G 作用が証明される点より、C 物質はこの場合 G を完全に不活化したとはいえず、むしろ弱化せしめたものと解すべきであろう。また C 物質の卵巣に対する直接作用は認められない。一方、フマル酸は、Mainini 反応では G に対する不活化作用はほとんど認められず、わずかに排精発現時間の延長がみられるに過ぎない。しかし卵巣反応ではフマル酸の混合により組織学的に多少 PUG 作用の減弱がみられ、さらにフマル酸単独注射ラットにおいては萎縮傾向等軽微ながら卵巣に対する影響が認められる。すなわち、フマル酸は卵巣に直接作用してその結果 G 作用を或る程度抑制することが考えられる。

## 第3章 各成分の銅塩排卵に対する影響

Estradiol で前処置した家兎に硫酸銅塩を静注するときは銅イオンの中枢に対する侵襲の結果前葉の G 排

出が促進され排卵を起すことは周知の事実で、前葉抑制効果を知るためにしばしばこの方法が実験に用いられている。著者も C 物質及びフマル酸にかかる作用があるか否かを検するため銅塩排卵に対する影響につき以下の実験を行つた。

## 第1節 C 物質

実験方法：2～3kg 家兎1匹に対して C 物質 10mg (2.0cc) を6日間6回皮下注射し、第4、5日目に Estradiol 85r を皮下注射、第6日目に 0.1%硫酸銅液 5.0cc を静注、4時間後再び 5.0cc 静注し、26～28時間後開腹して卵巣を検し、破綻卵胞乃至血腫のあるものを排卵陽性とした。また家兎の他の1群には、銅塩投与2日前から Estradiol 85r ずつ2回注射しておき、第1回の銅塩注射時及びその前後30分の3回 C 物質 20mg (1.0cc) を静注し、4時間後第2回の銅塩注射の前30分から、30分毎に6回 C 物質 20mg (1.0cc) を更に静注 (C 物質総計 180mg) して24時間後に排卵の有無を検した。

実験成績：検体皮下注射群及び静注群の成績は第9表の如くで、両群共に銅塩排卵に対する抑制的影響は認められなかつた。

第9表 C 物質の銅塩排卵に及ぼす影響

処置別	例数	排 卵	
		+	-
皮下注射群	3	3	0
全対照	1	1	0
静脉注射群	2	2	0
全対照	1	1	0

## 第2節 フマル酸

### 第1項 短期間投与家兎における実験

実験方法：フマル酸ソーダを使用し、前節の実験と同様の方法で行つた。ただしフマル酸ソーダ1回の注射量は 20mg とした。従つて静注群ではその総計は 180mg となる。

実験成績：成績は第10表の通りで、皮下注射群で

第10表 フマル酸ソーダの銅塩排卵に及ぼす影響

処置別	例数	排 卵	
		+	-
皮下注射群	6	5	1
全対照	2	2	0
静脉注射群	3	2	1
全対照	1	1	0

は6疋中1疋に、また静注群では3疋中1疋に排卵を認めなかつた。田原も述べているようにフマル酸には或る程度排卵抑制効果のあることが推測されるが、その機序については今後の検討を必要とする。

第2項 長期間投与家兎における実験

実験方法：フマル酸ソーダを132～145日間に1回50mg(2cc)を毎日皮下注射し、或は1回60mg(2cc)を隔日腹腔内に注射し、概むね投与期間の中間

と最終日に銅塩排卵試験を行つた。すなわち、2日間Estradiol 85r ずつを前処置し、銅塩排卵試験実施当日に0.1%硫酸銅液5.0ccを静注し、4時間後更に同量を静注して排卵の有無を観察した。

実験成績：成績は第11表の如く、皮下注射群では、132～145日間フマル酸ソーダ投与例にて4例中3例が銅塩排卵陰性であり、陽性であつた他の1例は144日までフマル酸ソーダを投与し、その後注射を

第11表 フマル酸ソーダ長期投与の銅塩排卵に及ぼす影響

処置別	家兎番号	体重	検査日	フ・ソ投与量合計(g)	検査時体重	銅塩排卵	備考
皮下注射群 (50mg 毎日)	1	2.400	66日 132日	3.3 6.6	2.700 3.000	+ -	第一反応陽性
	2	2.500	66日 132日	3.3 6.6	2.600 2.900	+ -	
	3	2.400	73日 145日	3.65 7.25	2.600 2.800	-	144日までの投与、その後無処置
	4	2.000	73日 168日	3.65 7.2	3.000 3.500	+	
腹腔内注射群 (60mg隔日)	5	2.400	66日 132日	1.98 3.96	3.000 3.200	+ +	
	6	2.600	66日 132日	1.98 3.96	3.000 3.400	+ +	
	7	2.000	73日 145日	2.19 4.35	3.000 3.200	+ -	
	8	2.500	73日 145日	2.19 4.35	2.600 2.600	+ -	

やめ168日目に検査を行つたものである。投与後66日目に検査した2例(家兎番号1, 2)はいづれも陽性であつた。腹腔内注射群では、66～73日及び132日投与ではすべて陽性であつたが、145日投与では2疋とも陰性であつた。また投与したフマル酸ソーダの総量からみると、本実験では4g以下ではすべての家兎に銅塩排卵がみられたが、4g以上(皮下注射群：家兎番号1及び2-6.6g, 家兎番号3-7.25g, 腹腔内注射群：家兎番号7及び8-4.35g)の家兎には排卵は認められなかつた。以上からフマル酸ソーダを或る程度長期にわたつて投与した家兎の卵巢は、銅塩の注射によるも反応を示さず、排卵現象の起らぬことがわかる。

第3節 小括

C物質には銅塩排卵に対する抑制作用は全く認められないが、フマル酸には多少抑制作用を示す場合があるものようである。またフマル酸を長期間投与した家兎は銅塩排卵を起さないようになり投与を中止し相当期間を経ると再び銅塩排卵が認められる。此のことは先のラツテにおけるG作用抑制傾向と併せ考え

フマル酸は直接家兎卵巢にも作用しG作用を減弱或は阻止するものと思われる。

第4章 フマル酸長期投与による卵巢の変化

先の実験で、フマル酸ソーダを長期間投与した家兎に銅塩排卵が起らぬことを認めたが、これはフマル酸の長期投与により家兎卵巢が銅塩刺激によつて放出されるGに対して反応する能力を失うためと考えられ、一方L長期投与によつて性腺に萎縮をきたすとの従来の知見もこれと関係すると考えられたので、フマル酸長期投与家兎の卵巢について主として組織学的に検索を行い、さらに比較的長期にわたつて投与したラツテの卵巢についても組織学的検索を試みた。

第1節 家兎卵巢の変化

第1項 肉眼的所見

前章におけるフマル酸ソーダ長期投与家兎の卵巢を材料とし、銅塩排卵検査数日後にこれを剔除して長さ及び重量を測定した。結果は第12表の如く、肉眼的にも計測上からも正常卵巢により多少萎縮の傾向がみられる。

第2項 組織学的所見

第12表 フマル酸ソーダ長期間投与家兎卵巣の長さ及び重量

家兎番号	投与方法	フソ投与総量	左右別	卵巣所見		備考
				長さ (cm)	重量 (g)	
1	皮下注	6.6 g	左右	1.8 1.6	0.22 0.25	銅塩排卵+ 全 全
2	全	6.6 //	左右	1.6 1.6	0.26 0.30	
3	全	7.25 //	左右	1.2 2.0	0.23 0.24	
4	全	7.20 //	左右	1.6 2.0	0.25 0.15	
5	腹腔内注	3.90 //	左右		0.28 0.27	
6	全	3.96 //	左右	1.9 2.0	0.18 0.22	
7	全	4.35 //	左右	1.8 1.7	0.18 0.17	
8	全	4.35 //	左右		0.28 0.28	
対照平均				2.0	0.27	

上記の卵巣を計測後直ちにホルマリンに固定し、ヘマトキシリン・エオジン重複染色を行つて組織学的に検鏡した。フマル酸ソーダ投与総量の多いものでは、卵胞数はやや少く、卵胞は小型のものが多く認められ、顆粒層が乱れたり卵胞液の少ないものが認められる。また卵巣は一般に貧血状態を示し、形の縮小、特に皮質の萎縮傾向が強くなり、原始卵胞に萎縮をきたしている例(家兎番号8)も認められる。髄質は皮質にくらべて変化は少いが、フマル酸ソーダ投与総量の多い例では髄質にもやや萎縮を呈するものもある(第12, 13図)。

要するにフマル酸を長期にわたつて投与することにより、卵巣には萎縮変性の傾向があらわれるほか、比較的高度の貧血状態が発現してくる。

### 第2節 ラツテ卵巣の変化

フマル酸ソーダを1回15mgまたは30mgを0.5ccの蒸溜水に溶解し、概ね6~10週間連日皮下注射した場合の卵巣の変化を組織学的に検索した。その結果は間質に萎縮がみられ、顆粒層は乱れ、変性をきたしている卵子もみられる。また黄体形成は認められるが成熟卵胞はほとんど見当らず、幼若卵胞のみの状態を呈している(第14, 15図)。

### 第3節 小括

フマル酸ソーダを長期間投与した場合の家兎卵巣には、組織学的に貧血状態と萎縮変性傾向が認められ、卵胞も小型のものが多く、ラツテにおいても同様で、幼若卵胞及び黄体形成はみられるが成熟卵胞は

ほとんど見当らない。すなわち、前章のフマル酸長期投与家兎において銅塩排卵がみられなかつたのはその卵巣が貧血状態、萎縮変性等の変化をきたし、銅塩により排出されたGに対する反応を失つたためと考えられ、またL投与によつて生ずる卵巣の萎縮傾向はL成分中のフマル酸によることが考えられる。

## 第5章 各成分の Hohlweg 効果並びに性周期に対する影響

### 第1節 Hohlweg 効果

Estrogen の衝撃によつて前葉から反射的にGが放出され幼若卵巣に黄体を形成せしめる所謂 Hohlweg 効果は、家兎における銅塩排卵試験と同様に、前葉機能に対する抑制作用を検討する場合にはしばしば実験に應用されている。著者もC物質及びフマル酸について Hohlweg 効果に対する影響を実験した。

#### 第1項 C 物質

実験方法: 50mg 内外の幼若雌ラツテを使用し、C物質1回5mg (0.3cc)を連日9日間皮下注射し(総量45mg)、3日目に Estradiol 85r を注射して10日目に黄体形成の有無を観察した。

実験成績: 成績は第13表の如く、対照ラツテと同様すべてのラツテに黄体形成が認められ、C物質には Hohlweg 効果に対する影響はないと考えられる。

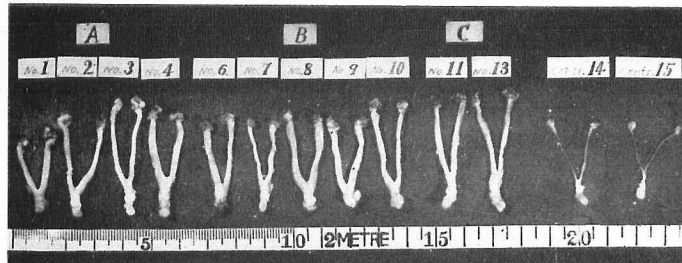
第13表 C物質の Hohlweg 効果に対する影響

ラツテ番号	体重	黄体形成	体重増減
1	45g	+	+ 0.5
2	50	+	+ 2.5
3	58	+	+ 2.0
4	49.5	+	+ 3.5
5	51	+	+ 4.0
6(対照)	51.5	+	+ 6.5
7( // )	46	+	+ 5.5

第14表 フマル酸ソーダの Hohlweg 効果に対する影響

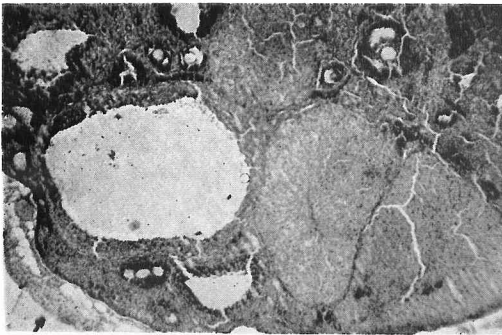
ラツテ番号	体重	黄体形成	体重増減
1	50g	+	- 1 g
2	51g	+	+ 0.5g
3	49.5g	+	+ 9 g
4	48g	+	+ 3.5g
5	48g	+	+ 9 g
6(対照)	45.5g	+	+ 4.5g
7( // )	54g	+	+ 9 g

第2図 ラットの卵巢・子宮の肉眼的所見

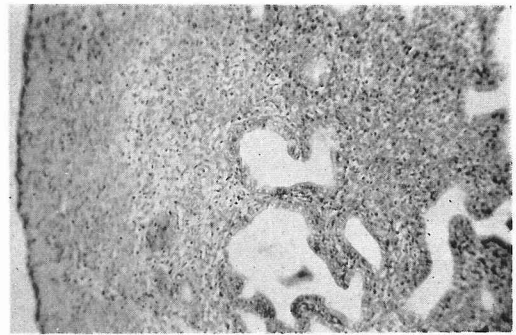


No. 1.~4. C5mg+PUG, No. 6.~10. C10mg+PUG, No. 11.13. PUG 単独, No. 14. 15. 無処置

第3図 PUG 単独注射対照ラットの卵巢所見(×40)



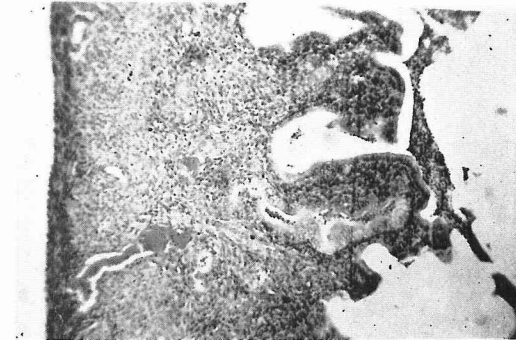
第6図 PUG 単独注射対照ラットの子宮所見(×100)



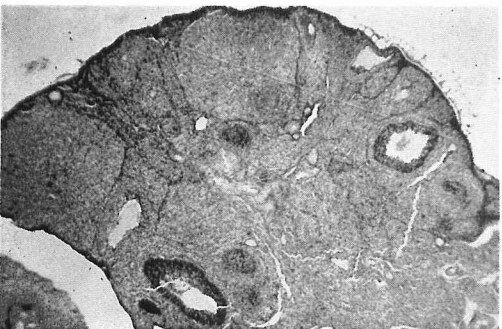
第4図 C物質 5mg・PUG 混合注射ラットの卵巢所見 (×40)



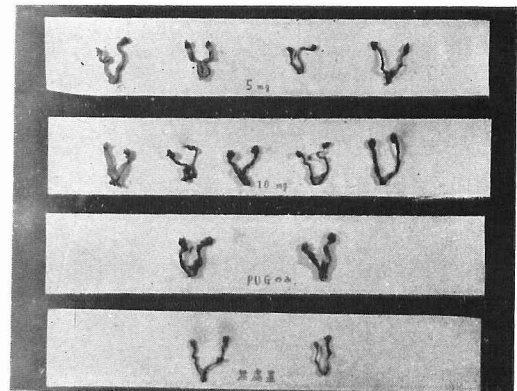
第7図 C物質 10mg・PUG 混合注射ラットの子宮所見 (×100)



第5図 C物質 10mg・PUG 混合注射ラットの卵巢所見 (×40)

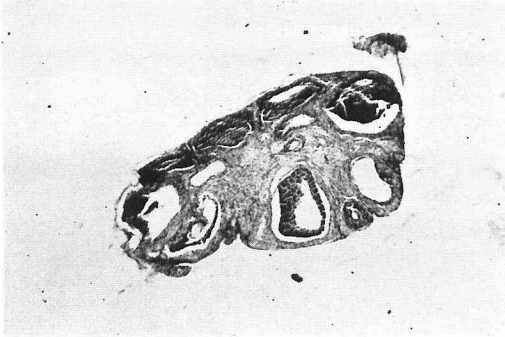


第8図 ラットの卵巢・子宮の肉眼的所見





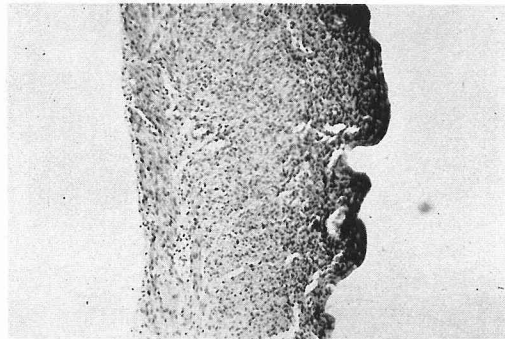
第9図 フマル酸ソーダ単独注射ラットの卵巢所見 (×40)



第10図 フマル酸ソーダ10mg・PUG混合注射ラットの卵巢所見 (×40)



第11図 フマル酸ソーダ10mg・PUG混合注射ラットの子宮所見 (×100)



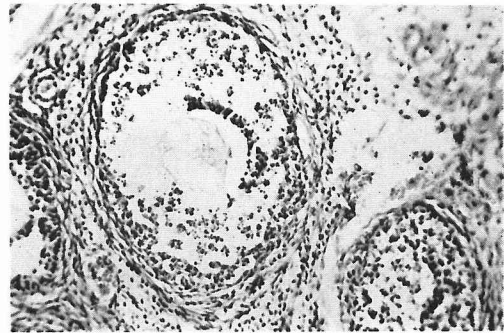
第12図 フマル酸長期投与家兎の卵巢所見 (×100)



第13図 フマル酸長期投与家兎の卵巢所見 (×40)



第14図 フマル酸長期投与ラットの卵巢 (×200)



第15図 フマル酸長期投与ラット卵巢 (×40)



第2項 フマル酸

実験方法：フマル酸ソーダの1回量を10mg (0.3 cc) とし、前項と同様の方法で実験した。

実験成績：成績は第14表の如くで、この場合にも、Hohlweg 効果に対する抑制作用は認められなかった。

第2節 性周期

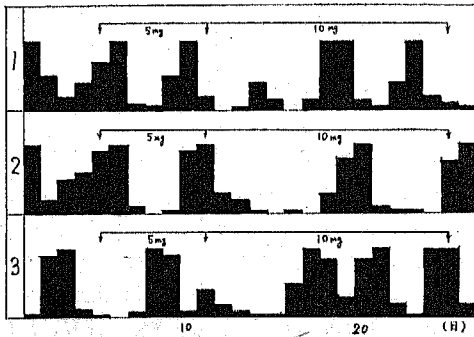
教室の宿沢は、C物質及びフマル酸を主成分とするA物質を用いてラツテ性周期に対する影響を観察し、これらの相当大量を投与しても性周期抑制作用を認めなかった。著者もまたC物質及びフマル酸ソーダを使用してこれを追試した。

第1項 C物質

実験方法：Wister 系成熟雌ラツテにC物質を6日間5.0mg, 次の15日間は10.0mgを1回量とし、夫々1.0ccの蒸溜水に溶解し炭酸ソーダで処置して毎日皮下注射し、毎日一定時刻に膈脂垢を採取し、ギムザ染色を行って性周期の変化を観察した。

実験成績：第16図の如く、C物質の性周期阻止作用は全く認められなかった。

第16図 C物質のラツテ性周期に対する影響



第2項 フマル酸

実験方法：フマル酸ソーダを30mg (1.0cc) ずつ3週間皮下注射し、また2%フマル酸並びにフマル酸ソーダ各々0.5cc, 1.0cc, 1.5cc ずつ13日間皮下注射して、前実験と同様に角化細胞の出現率によって性周期の推移を観察した。

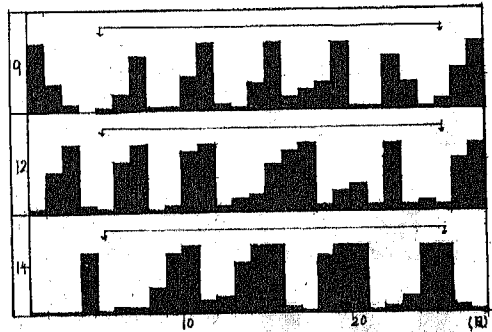
実験成績：第17図及び第18図の如く、何れの場合も性周期阻止作用は認められなかった。

第3項 C物質・フマル酸混合

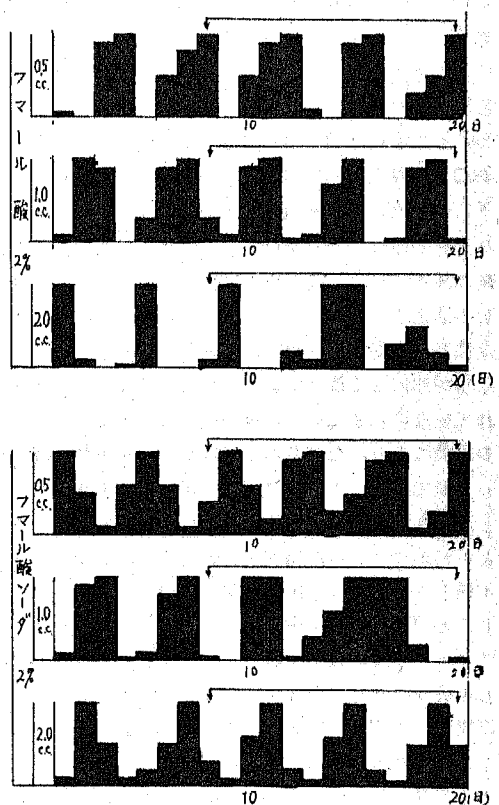
実験方法：炭酸ソーダで処置したC物質10mgとフマル酸ソーダ40mgと混合したもの(1.0cc)を3週間連日皮下注射し前項同様に実験を行った。

実験成績：前2項と同様に性周期は阻止されなかった(第19図)。

第17図 フマル酸ソーダのラツテ性周期に対する影響



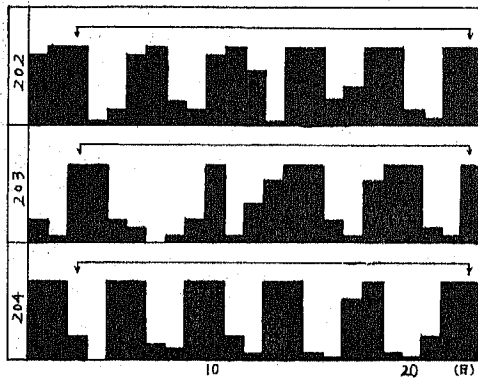
第18図 フマル酸のラツテ性周期に対する影響



第3項 小括

C物質及びフマル酸を用いて、Hohlweg 効果並びに性周期に対する影響を観察したが、両物質共Hohlweg 効果に対する抑制作用はみられず、また性周期に対しても阻止作用を認めることはできなかった。

第19図 C 物質  
 フマル酸ソーダ混合, ラットの性周期に  
 対する影響



### 第6章 総括並びに考按

Lithospermum は先に岩井教授により紹介された如く、一部人種が経口避妊薬として古くから常用していることからヒントを得て諸家の実験的裏付けによって注目を惹くに至つたムラサキ科に属する植物である。その根或は地上部の浸剤を動物に投与すると、可逆的な性周期抑制作用が認められ、それと共に卵巢・子宮の萎縮、睪丸・前立腺・精囊の縮小をきたし、また実験的腫瘍の発育を抑制するほか、試験管内でL浸剤は種々なG例えば妊馬血清性、絨毛性及び前葉性Gを不活化することが知られている。しかし、このような性系に対する作用或は試験管内におけるG不活化作用が如何なる機序によつて起るかはまだ明らかにされていない。また夫々の有効成分についてもなお研究の段階にあり、ただLの主成分がフマル酸と無水コハク酸であり、これとは別にChinon体と関係があると想像される所謂C物質がG不活化作用物質であることがわかつているに過ぎない。云うまでもなくフマル酸とコハク酸は生体内代謝にきわめて重要な地位をしめるT C A Cycleに属し、コハク酸は生体内にてフマル酸に移行すると考えられる。そこで著者はLの成分のうち、今日までに吾々が明らかにし得たC物質及びT C A Cycleのフマル酸(塩)を用いて、夫々の試験管内G不活化作用、家兎銅塩排卵に対する影響、長期投与による卵巢の変化、Hohlweg効果及び性周期に対する影響を実験した結果を概括すると次の如くである。

(1) 先ずL地上或は地下部浸出エキスを硫酸で処理して生じた析出物より、エーテル抽出並びに昇華法によつて得られたA, B両結晶及びC物質について赤外線分析を行い、A結晶はフマル酸であり、B結晶は無水コハク酸であることを確認し、C物質は呈色反応

によりChinoid structureを有する物質であろうと推測された。

(2) C物質が、Lの示す試験管内G不活化作用の有効物質であることは、先に教室の福沢が報告したところであるが、著者もまたMainini反応を指標として実験した場合、1~10mgの少量でもこれをPUG 25 I. U. 或は妊婦尿の1ccと混じて一定時間後注射すれば全く阻止され、試験管内でGを不活化する作用を有することを確認した。一方、フマル酸ソーダを混じた場合にも、量が多ければ排精は多少抑制されるが著明でなく、特異的なG不活化作用は認め難い。

(3) Mainini反応を指標とした場合の成績は上記の如くであるが、C物質はフマル酸ソーダの各5~10mgをPUG 20 I. U. と混じ幼若ラッテ5日間5回(PUG総量100 I. U.)連続注射して卵巢所見を検したところでは、C物質にはPUGに対する相当強い影響が認められるが、完全な不活化ではなく、ラッテ卵巢になお若干のG作用が証明された。またフマル酸ソーダにも、軽微であるがG作用に対する弱化作が認められたが、これは、フマル酸を単独投与したラッテ卵巢の組織学的所見から、フマル酸が卵巢に直接作用しGに対する反応性を弱化したものと思われる。

(4) Lの家兎銅塩排卵に対する影響については、田原はL抽出エキスは皮下注で排卵抑制効果を示すに対し、フマル酸は静注で効果が認められるとし、このことからエキス中の有効成分が生体内で徐々に分解されて効力を生ずるのであろうと推測している。いずれにしてもLの主成分であることが明らかとなつたT C A Cycle物質のかかる影響は、L作用の本体解明の上からも興味深いものがあると考えられる。著者もC物質及びフマル酸を用いて家兎銅塩排卵に対する影響を観察した結果、C物質には排卵抑制効果は全く見られなかつたが、フマル酸では一部に排卵を証明し得ぬものを認めた。しかしその機序については今後検討する必要がある。

(5) 更に、フマル酸を長期にわたつて皮下(50mg毎日)または腹腔内(60mg隔日)に投与して銅塩排卵の有無を観察したところ、各群共大体総量4g以上となると銅塩排卵が阻止されるようである。また投与中止後24日目に検査を行つた1例では銅塩注射により排卵が認められ、投与中止後の機能回復が推測された。

(6) フマル酸長期投与家兎における卵巢その他の変化について新井は、性腺は著明に萎縮し、精子形成能は著しく衰え、また卵胞上皮に萎縮変性傾向が強

現れるほか、下垂体前葉には増量する場合があるという。その他甲状腺の変化は長期になるに従つて増強し、Struma diffusa parenchymatosa microfollicularisの像を示すようになるに云われている。更に新井は、吉田肉腫皮下移植ラツテにフマル酸の腹腔内注射を行うに肉腫細胞の変性乃至壊死傾向及び肉腫細胞の消失傾向があらわれるといい、フマル酸による上記変化の発生機転は、不飽和の二重結合を有するフマル酸が血中のヨードと結合し、また分裂のさかんな性細胞或は肉腫細胞に特異的に作用し、その細胞核乃至核酸代謝へ影響を及ぼすことが直接の原因であるとしている。一方、Lのこれら臓器に及ぼす影響については従来次の如き報告がある。(イ) 卵巣・子宮に及ぼす影響：Drasher (1946) は、性周期の静止状態にあるマウス卵巣及び子宮に萎縮を認め、卵巣には閉鎖卵胞があり、L投与中止後周期の再現したマウス卵巣には機能を有すると思われる小卵胞がみられるといい、Cranston は21日間投与マウスの性腺・子宮には重量増加が認められずとし、Plankett (1951) は抽出エキス20mgを30日間皮下注射した未成熟ラツテの卵巣は正常発育が阻止され、子宮は縮小し、成熟卵胞・排卵・黄体を欠如するという。またZahlは1カ年処置マウスについて、卵胞閉鎖と軽度の子宮萎縮を認めている。(ロ) 睪丸・前立腺・精囊に及ぼす影響：Plankett (1951) によれば、成熟ラツテにL抽出エキス80mgを14日間皮下注射し、睪丸には軽度の縮小を、また前立腺・精囊には高度の縮小を認め、同じく20mgを30日間皮下注射し、睪丸・前立腺・精囊の縮小と精子形成能の障害を認めている。(ハ) 下垂体全葉に及ぼす影響：Cranston は下垂体重量の減少を認めたが、Zahlは1カ年処置のマウスについて下垂体前葉には特別な組織学的変化はみられなかつたという。(ニ) 甲状腺に及ぼす影響：Plankett (1951) は、80mg 14日間皮下注射成熟ラツテの甲状腺重量は減少するといひ、Drasher (1946) は食餌に30%に混合してLを5カ月経口投与したマウスについて、甲状腺は組織学的に上皮細胞・コロイド含量は正常とほとんど変りがないが間質細胞にわずかな増殖を認めたという。(ホ) マウス乳房腫瘍発生に及ぼす影響：Cranston (1950) によれば、Lの混合率を初めの4週間は15%、次の8週間は20%、その後は30%とした食餌を与え、マウス乳房腫瘍の発生率を対照の58.1%に対して2.8%に減少せしめ、またZD<sub>8</sub>F<sub>1</sub>種マウスにおける実験では、対照96.6%に対して21.9%に発生をみたに過ぎないと報告し、その原因についてはLの直接作用によるか、または食餌消費量の減少に

よるか不明であるとしている。著者が4,5カ月間皮下或は腹腔内にフマル酸ソーダを注射した家兎の卵巣所見を観察した成績でも、新井のいうように萎縮変性傾向が認められ、顆粒層が乱れたり卵胞液が減少しているような貧血状態を示していた。また6~10週間連日皮下注射したラツテ卵巣においても、間質の萎縮、顆粒層の乱れ、卵子の変性がみられ、幼若卵胞及び黄体形成はみられたが通常の成熟卵胞はほとんど認められなかつた。

以上から、従来Lの重要な薬物学的作用の一つと目されてきた長期投与による内分泌諸臓器の変化、殊に性腺の萎縮傾向はL成分中のフマル酸がその作因として重要な意義を有することが考えられ、また前実験におけるフマル酸ソーダ長期投与家兎の銅塩排卵に対する不応性は、フマル酸の卵巣に対する直接作用に基づく排卵機能の低下が原因であると考えられる。

(7) Lの性周期抑制作用に関してCranstonは、15%混合食餌投与マウスでは35日間に約半数が静止期となり、20%混合食餌ではこれよりやや増加し、30%混合の場合は85日間の投与で全部が静止期となり、20%に戻すと30日間に周期の再現するものがあらわれてくると述べている。しかし或る程度以上の量の投与では、投与開始後数日で性周期は静止し、投与を中止すると数日後に周期の回復をみるのが特徴的である。また田原・小林はLには銅塩排卵抑制作用があるほか、Hohlweg効果に対する抑制作用をも有すると述べている。

著者がC物質及びフマル酸塩を用いてラツテ性周期に対する影響及びHohlweg効果に対する影響について実験したところでは、前述の如くこれら両物質には何れにも影響を与へる如き作用は認められず、またC物質とフマル酸ソーダとを混合して投与しても性周期にはほとんど変化を認め得なかつたことから、Lの性周期抑制作用は少くともC物質、フマル酸等が主要な作因をなすものではなく、恐らくこれら物質以外の未知の成分が関係しているのであろうと考える。

#### 結 論

Lの成分のうち、今日までにフマル酸、無水コハク酸及び化学的自体はなお詳かでないがC物質の三者が明らかにされた。著者はコハク酸と共にTCA Cycleに属するフマル酸とC物質とを用いて、夫々の主として性機能に対する作用を実験し、以下の結論を得た。

(1) C物質はGに対してかなり強力な不活化作用を示し、従来L作用の一つとして挙げられているin vitroのG不活化作用は、Lのなかに含まれる本物質

の特異的作用によるものと考えられる。フマル酸混合によるGへの影響は極めて軽微でありGに直接作用するものではないと思われる。

(2) フマル酸には或る程度の家兎銅塩排卵に対する抑制作用が認められる。このことがL本来の性周期抑制作用にどの程度関係をもつかは疑問であるが、Lの主成分であることが明らかとなつたT C A Cycle物質のかかる影響は興味深く思われる。C物質においては銅塩排卵抑制作用は認められなかつた。

(3) 従来L作用の一つと目されてきた長期投与による内分泌諸臓器の変化、殊に性腺の萎縮傾向はL成分中のフマル酸がその作因として重要な意義を有し、フマル酸長期投与家兎の銅塩排卵に対する不応性は、フマル酸の直接作用に基づく卵巣の機能低下が原因であると考えられる。

(4) L作用のうちで最も早くから注目を浴びた投与後数日にして起る性周期抑制作用に対しては、G物質、フマル酸投与によつては該作用の発現を証明し得ず、Hohlweg 効果にも影響を認めなかつた。従つて、Lの性周期抑制作用は少なくともC物質、フマル酸等が主要な作因をなすものではなく、恐らくこれら物質以外の未知の成分が関係しているのであると考えざるを得ない。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師岩井教授に深甚なる感謝を捧げると共に、種々御協力を載いた石井講師、福沢博士及び医局の各位に衷心より感謝の意を表す。

本文の要旨は昭和33年10月第3回日本不妊学会総会並びに昭和34年3月第11回日本産科婦人科学会総会で発表した。

#### 参 考 文 献

- ①新井恒人、玉井一郎：日新医学 39:9, 483, 1952.  
 ②Cranston, E. M. : J Pharm. and Exp. Therap. 83:130, 1945. ③Cranston, E. M. and Robinson, G. A. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 70:66, 1945. ④Cranston, E. M., Kucera, G. R. and Bittner, J. J. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 75:779, 1950. ⑤Drasher, M. L. and Zahl, P. A. :

Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 63:66, 1946.

⑥Drasher, M. L. : Endocrinology, 45:120, 1949.

⑦East, J. : J. Endocrinology, 12:252, 1955.

⑧Husbey, R. A., Ball, Z. B. and Visscher, M. B. : Cancer Res., 5:40, 1955. ⑨岩井正二、石井次男、：産と婦, 22:473, 1955.

⑩岩井正二、石井次男、福沢芳章、池上礼子：日本医事新報, No. 1691, 34, 1956. ⑪石井次男、今泉明、福沢芳章、池上礼子：日産婦誌, 7:188, 1955.

⑫石井次男、福沢芳章、池上礼子、今泉明：日産婦誌, 8:225, 1956.

⑬岩崎寛和：日内誌, 32:3, 1957. ⑭小林隆、坂元正一、田原靖：日新医学 43:11, 1956. ⑮小林拓郎：日産婦誌, 7:1087, 1955.

⑯de Jaszle, H. and Henslow, P. S. : Science, 119:626, 1954.

⑰長野県衛生部薬務課：薬用植物むらさき. ⑱Noble, R. L. and Graham, R. C. Canad. Med. Ass. J., 69:576, 1953. ⑲Noble, R. L., Plankett, E. R. and Jaylor, N. B. G. : Recent. Progress in Hormon Pes., 5:263, 1950.

⑳Noble, R. L. and Plankett, E. R. : Rev. Can. de Biol., 9:85, 1950.

㉑Noble, R. L., Plankett, E. R. and Graham, R. C. : Federation Proc., 10:1, 1951. ㉒Parkes, A. S. : Paper Presented to the VI C. P. P., 1955.

㉓Plankett, E. R., Colpitts, R. V. and Noble, R. L. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 73:311, 1950.

㉔Plankett, E. R. and Noble, R. L. : Pev. Can. de Biol., 9:88, 1950. ㉕Plankett, E. R. and Noble, R. L. : Endocrinology, 5:1, 1951.

㉖Sieve, B. F. : Science, 116:373, 1952. ㉗田原靖：日産婦誌, 8:11, 1956. ㉘Thiersch, J. B. : Paper Presented to the VI C. P. P., 1955.

㉙Train, P., Henricks, J. R. and Archer, W. A. : Contrib. towards a Flora of Nevada, No.33. (Washington 1941). ㉚Wisner, B. P. and Judkin, J. : Nature, 170:274, 1952. ㉛Zadina, R. : Zvlastinio. tisk., Zcas. Biologicks listy CI roc 31, 1950. ㉜Zahl, P. A. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 67:405, 1948. ㉝Zahl, P. A. and Nowak, A. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 79:5, 1951.