

内分泌かく乱物質の健康影響に関する調査研究

課題名：内分泌かく乱物質の食品、食器からの暴露に関する調査研究

テーマ：「畜水産食品中の内分泌攪乱作用物質残留実態調査」

分担研究報告書 宮崎 奉之

研究要旨

牛生体内の天然ホルモン（エストラジオール-17 $\beta$ 、プロゲステロン、テストステロン）濃度は様々な要因により変動する。そのため牛から生産される食肉中のホルモン濃度も連動して変化すると考えられる。その変動要因としてホルモン剤の使用の有無、品種、雌雄、組織、部位、年齢、性周期など多くの因子が考えられる。ここではホルモン変動の正常範囲について文献を調査するとともに、我が国で消費している国内産及び輸入牛肉のホルモン濃度を測定し、その変動の要因を解析した。なお、本年、JECFA(FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議)において、これら天然のホルモンについて ADI(一日摂取許容量)が提案されており、これらの値と牛肉の摂取量から安全性について推定を試みた。その結果、国産及び輸入の牛肉中のホルモン濃度は正常な生理的範囲にあり通常の摂取量であれば内分泌かく乱作用を含め、食品としての安全上、特に問題となるレベルではなかった。

分担研究者：宮崎 奉之

所属施設：東京都立衛生研究所

職名：乳肉衛生研究科長

協力研究者：小久江 栄一

所属施設：東京農工大学

(岐阜大学)

職名：農学部教授

(連合獣医研究科教授)

協力研究者：秋山 真人

所属施設：静岡県西部食肉衛生検査所

職名：技監兼検査課長

協力研究者：橋本 常生

所属施設：東京都立衛生研究所

職名：乳肉衛生研究科主任

A. 研究目的

肥育牛に成長促進及び飼料効率を高める目的でホルモン剤（蛋白同化剤）が使用されている。一方、ホルモン剤には天然型と合成型があり、天然型ホルモンは牛の生体内でも作られるものと同等である。

これまでの食経験から天然のホルモンに関してはその濃度において、また天然型ホルモン剤に関しては法的に定められた方法により適正に使用されておれば、問題はないと考えられてきた。しかし、そのホルモンの濃度調査等は実施されていないのが現状であった。しかしながら、近年、ホルモンについて内分泌かく乱作用の面から問題が提起されてきた。

そこで、ここでは天然型ホルモン（エストラジオール-17 $\beta$ 、プロゲステロン、テストステロン）の牛生体内での生理的など

種々の変動要因を文献より調査して把握するとともに、実際に市販されている国内産及び外国産の牛肉中のホルモン濃度を測定し、牛肉の内分泌かく乱作用を含めた食品として安全性について確認することを目的とした。

## B. 研究方法

研究方法の内容は以下の3部からなる。

- 1) ホルモンの文献調査
- 2) 牛肉中のホルモンの分析法開発
- 3) 牛肉中のホルモンの濃度調査

それぞれの報告書をとりまとめて作成したので、ここではその総括を述べる。

### 1) ホルモンの文献調査

1999年から、1994年まではカレントコンテンツ (Agriculture Biology & Environmental Science)、それ以前1987年まではメッドラインを用いて、「エストロゲン」「プロゲステロン」「テストステロン」「ゼラノール」「トレンボロン」をキーワードに検索し、1987年以前は第31回、32回 FAO/WHO 食料生産動物に使用する食品添加物の残留に関する合同調査会の報告書を参考とした。

### 2) 牛肉中のホルモンの分析法開発

天然のホルモン (エストラジオール-17 $\beta$ 、プロゲステロン、テストステロン) を測定するにはラジオ・イムノアッセイ (RIA)、エンザイム・イムノアッセイ (EIA)、HPLC, GC, LC-MS など多くの方法が挙げられる。ここでは食肉中の天然濃度のホルモンを測定するため高感度の測定法が要求される。そこで感度が高く、測定事例が多い RIA により測定することとした。しかし、市販の RIA 測定キットでは血液、尿などを対象としたもので、食肉類を対象としたものではないため、抽出から精製の操

作である前処理法を検討した。なお、RIA 測定は外部に依頼して対応した。

### 3) 牛肉中のホルモンの濃度調査

牛肉試料として、国産牛肉では品種 (和牛、ホルスタイン種)、雌雄 (経産、未經産、去勢、未去勢)、年齢、部位、産地などを調べ、ホルモン濃度を調査することとした。その中で特に雌牛の肉には、卵巣を採取し、その牛肉の屠殺時の性周期を特定することとし、その濃度と周期の相関を調査することとした。一方、外国産 (アメリカ産、オーストラリア産) の牛肉については集められた範囲で情報を収集した。ホルモンの測定結果については国内産との比較を含めて検討した。

## C. 研究結果

### 1) ホルモンの文献調査

前述の文献調査の方法に従って、調べた。

#### 1. 牛生体組織中のホルモン濃度

- 1-1) エストロゲン
- 1-2) プロゲステロン
- 1-3) テストステロン

#### 2. インプラント剤 (埋込剤) 投与が組織中ホルモン濃度に与える影響

- 2-1) エストロゲン
- 2-2) プロゲステロン
- 2-3) テストステロン

#### 3. 人のステロイドホルモン生産速度の3章としてまとめた。

### 2) 牛肉中のホルモンの分析法の開発

抽出法は、ゼラノール、トレンボロンのホルモン剤の分析に使用されているアセトニトリル・メタノール抽出法を用いた。この抽出液をヘキササン洗浄後、減圧乾固した。この残留物を Sep Pak C18 カートリッジに負荷、溶出後、Bond Elut DEA カートリ

ッジにより精製し、RIAにより測定した。牛肉にエストラジオール 5, 50 ppt、プロゲステロン 0.4, 4 ppb、テストステロン 40, 200ppt を添加した時の回収率いずれも60%以上であり、検出感度はエストラジオール-17  $\beta$  1 ppt、プロゲステロン 0.04 ppb、テストステロン 10 pptであった。

### 3) 牛肉中のホルモン濃度の調査

国内産の牛肉中のエストラジオール-17  $\beta$ 濃度は平均 1.15  $\pm$  1.87 ppt、プロゲステロンは 3.19  $\pm$  5.80 ppb、テストステロン 30.9  $\pm$  122.1 pptであった。

国内産については品種ではホルスタインに比べ、和牛でいずれのホルモン濃度が高かった。しかし、これは品種によるものではなく、エストラジオールの高い要因は未経産牛により、テストステロンは未去勢牛によるものと推測された。

雌雄別では雌でエストラジオール-17  $\beta$ 及びプロゲステロン濃度が高く、雄（未去勢牛）でテストステロン濃度が高かった。また、雌牛の卵胞期でエストラジオール-17  $\beta$ 濃度が高く、黄体期でプロゲステロン及びテストステロン濃度が高い結果が得られた。一方、外国産牛肉のホルモン濃度についてはエストラジオール-17  $\beta$ は 3.33  $\pm$  2.83 ppt、プロゲステロンは 0.52  $\pm$  0.50 ppb、テストステロン 8.78  $\pm$  12.97 pptであった。

国内産及び外国産牛肉のホルモン濃度を単純に平均値により比較すれば、外国産牛肉でエストラジオールが、国内産牛でプロゲステロン、テストステロンが高い傾向にあった。

### D. 考察

文献調査を実施して、牛組織中の各種要因によるホルモン濃度を調査した。一方、食肉中のホルモンのラジオイムノアッセイ

(RIA)による測定法を完成させて、国内産の牛肉及び輸入の牛肉中のホルモン濃度を測定したが、その濃度は特に問題となるレベルではなく、生理的な変動の範囲と推察される。ただし、国内産と外国産の牛肉とその濃度レベルに若干の差異があるように見える。国内産は外国産に比較して、プロゲステロン、テストステロン濃度が高く、外国産はエストラジオール濃度が高いようにみえる。

国内産の和牛、ホルスタイン種外国産種のアンガス、ロングホーン、ホルスタイン種といった品種が原因なのか、ホルモン剤の使用、雌雄、部位、脂肪含量、飼料、飼育条件、試料の採取法など、多くの要因が考えられるがその理由は不明である。ところで、アメリカ、オーストラリアとも、合成及び天然型のホルモン剤（エストラジオール、プロゲステロン等の製剤）を使用している実態があり、この影響も考えられる。

今回測定して得られたホルモン濃度は文献調査との比較において問題となるレベルではない。また、これらの値は JECFA のコーデックス委員会の答申のADI値との比較しても問題とならないといえる。

### E. 結論

文献調査の結果の濃度とコーデックス委員会で示されたADI値から、エストラジオール、プロゲステロン、テストステロン濃度とも、今回の国内、海外の牛肉中の各ホルモン濃度は内分泌かく乱作用を含め、特に問題となる濃度ではなかった。

# 「ホルモンの文献調査」

協力研究者 東京農工大学農学部 小久江栄一

## 目次

- I. 緒言
- II. 目的と調査方法
- III. 収集文献一覧
- IV. 結果
  - 1. 正常牛組織中のホルモン濃度
    - 1-1) エストロゲン
    - 1-2) プロゲステロン
    - 1-3) テストステロン
  - 2. インプラント剤投与が組織中ホルモン濃度に与える影響
    - 2-1) エストロゲン
    - 2-2) プロゲステロン
    - 2-3) テストステロン
  - 3. 人のステロイドホルモン 1 日生産量
- V. 考察
- VI. まとめ

### I. 緒言

雄牛の子は雌牛の子よりも成長が早い。男性ホルモンによるためである。しかしエストロゲンやプロゲステロンを投与するとさらに増体は良くなるし、肉が旨い。そこで肉牛肥育にステロイドホルモンを使う発想が生まれ、製剤化された（以下同化薬とよぶ）。

同化薬としてはテストステロン、プロゲステロン、エストロゲンとそれらの誘導体が使われている。天然ホルモンもあるし人工ホルモンもある。これらホルモンの徐放性製剤（以下インプラント剤）を肉用肥育子牛の耳介皮下に植え込むと飼料効率が 10~20% 増加するとされ、北米大陸ではかなり広く使われている。日本でも承認薬は

あるが、ホルスタイン雄子牛の肥育が日本では現在殆ど行われなくなっているため、実際の使用はここ数年無い。しかし牛肉はかなりの量輸入されているから、インプラント剤由来のホルモンに日本人が暴露される可能性はあるので本文献調査を行った。

### II. 目的と調査方法

本調査ではインプラント剤を適用することによりエストロゲン、プロゲステロン、テストステロンとそれぞれの誘導体がどの程度増加するのか、その増加が現在食用に供されている牛体組織中の内因性ホルモン量と比較してどの程度なのかについて検討した。

牛体組織中のホルモン濃度は牛の性別、産歴、去勢の有無などにより異なり、また組織・臓器によって蓄積量も異なることが予想される。調査の方針としては、食用に供されている正常牛の組織中ステロイドホルモン濃度の最高値を探し、インプラント剤により増加したホルモン濃度と比較してそれがどの程度なのか、また牛体中での各ホルモンの消失速度を調べる。さらに牛肉から人体に入るホルモン量を計算し、それが人の生産量と比べてどの程度の割合なのかについても考察した。なおインプラント剤の有効成分は、天然ホルモンもあるし天然ホルモン誘導体の場合もあるが、この調査ではあくまでも天然ホルモンの残留に焦点を絞った。人工ホルモンの残留についてはここでは触れない。

調査は 1999 年から遡って 1994 年まではカレントコンテンツ (Agriculture, Bio

logy & Environmental Sciences) データベースを、それ以前 1987 年まではメッドラインを使った。キーワードは「エストロゲン」、「プロゲステロン」、「テストステロン」、「ゼラノール」、「トレンボロン」である。

1987 年以前については、第 31 回と 32 回の FAO/WHO 合同委員会の「食料生産動物に使用する食品添加物の残留に関するレポート」がある。結果的にはこれらのホルモンの牛体中組織濃度については、第 32 回のレポート中の文献によるところが大きかった。

### III. 収集文献一覧

上記のデータベースから、合計 37 編の原著論文、総説などが得られたが、そのうち組織や血漿のステロイドホルモンを定量している論文について内容の概略を付け以下に一覧した。特に関連の深い文献については、文献番号を付して内容を報告書に引用した。文献は筆頭著者名のアルファベット順で並べた。

#### 〔報告書中に引用した文献〕

文献-1 Arts CJM, van Baak, MJ, Buisman, IJ, van Weerden: Residue studies in steers implanted with TORELOR. In: Unpublished report IL) B-report 561a. Submitted to FAO by Roussel-UCLAF, Romainville, France. (1986). (インプラント剤 Torelor を雄肉牛に植え込んだ時のホルモン残留。報告書中の表 12 に数値を引用)

文献-2 Craigmill AL, SF Sundlof, JE Riviere: Hormones. In: Handbook of Comparative Pharmacokinetics and Residue of Veterinary Therapeutic Drugs. pp. 453-456. (1994) (本書には多くの動物用薬の動態パラメーターを集めてある。人のテ

ストステロンの半減期を考察で引用)

文献-3 Decker OD, LG Turner: Estrogen tissue levels in bulls following treatment with estradiol controlled-release implants. In: Unpublished study No. AAC 8410 from Lilly Research Laboratories, Greenfield, Submitted to FAO by Elanco Products, Co., Indianapolis, IN, USA. (1985). (エストラジオール $17\beta$ インプラント剤を雄肉牛に植え込んだ時のホルモン残留。報告書中の表 3, 10 に本論文の数値を引用)

文献-4 Eissa HM, MS EI-Belely, IM Ghoneim, OH Ezzo: Plasma progesterone oestradiol- $17\beta$ , oestrone sulphate, corticosteroids and a metabolite of  $PGF_2\alpha$ : Evolution throughout pregnancy, before, during and after parturition in buffalo cows. Vet Res, 26, 310318, 1995 (妊娠中の血漿中ステロイドホルモン濃度の推移について、エストロンは妊娠中期までは低く、中期以降上昇を始め妊娠 10 ヶ月では 5 倍ほど増加した。プロゲステロンは妊娠初期に高く次第に減少する。エストラジオール $17\beta$ は一定して低値。妊娠期のホルモンの血漿中濃度として結果で引用)

文献-5 Estergreen VL, MT Lin, EL Martin et al: Distribution of progesterone and its metabolites in cattle tissues following administration of progesterone- $4-^{14}C$ . J Anim Sci, 46, 642-651, 1977 (ラジオアイソトープラベルしたプロゲステロンを牛体に投与し、その代謝物の同定を行った。代謝物の種類を結果で引用)

文献-6 FAO Food and Nutrition Paper:

In: Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Geneva, Jan 30-Feb 8, pp.88-98, (1989)

(トレンボロンの体内動態残留について記載がある。結合残留についての記述を考察で引用)

文献-7 Farber TM, M Arcos: A regulatory approach to the use of anabolic agents. In: Meissonnier, E. (ed.) Anabolics in Animal Production, Office International des Epizooties, Paris. 289-296, 1983

(人におけるエストロゲン、プロゲステロン、テストステロンの1日生産量を、成長の各ステージ毎に測定している。インプラント剤由来のホルモンが人体に与える影響を判定する時に、人の生産量についての情報は重要である。報告書中の表 20、21 に数値を引用した)

文献-8 Food and Drug Administration 21 CFR Part 522: Implantation or injectable dosage form new animal drug; Trenbolone acetate and estradiol benzoate. Federal Register, 63(221), 63788, Nov 17, (1998) (FAD がホルモン製剤の使用拡大を認可した。従来は認められていなかった、出荷直前の肉牛へのインプラント剤使用を認めた。報告書のまとめに引用)

文献-9 Frank R, RP Basson, JF Wagner: Depletion of estradiol-17 $\beta$  and estrone from kidney fat of steers following removal of the estradiol controlled release implant. In: Unpublished report No. APH-216 C from Lilly Research Laboratories, Greenfield, USA. Submitted to FAO by Elanco Products Co., Indianapolis [発表年不明(b)].

(エストラジオール・インプラント剤を雄肉牛に植え込んだ時の腎脂肪中ホルモン濃度の消退について。表 7 に数値を引用)

文献-10 Hoffmann B, E. Rattenberger: Testo-sterone concentrations in tissue from veal calves, bulls and heifers and milk-samples. J Animal Sci, 46, 635-641, 1977 (表 6 に数値を引用)

文献-11 Hoffmann B: Aspects on the formation and detection of tissue levels of anabolic steroids in domestic animals. J Steroids Biochem, 11, 919, 1979 (妊娠牛、去勢牛、雄成牛、食用子牛などいろいろな種類の牛のホルモン濃度を総覧。インプラント処理した牛体組織のホルモン濃度についての数値もある。まとめに記載の一部を、表 19 に数値を引用)

文献-12 Hoffmann B, P Evers: Anabolic agents with sex hormone-like activities: Problem of residues. In: Rico, AG (ed.), Drug residues in animals, Academic Press, New York, pp.111-146. (1986) (アイソトープラベルしたテストステロンを牛体に投与し代謝物の種類を同定している。結果に引用)

文献-13 Ivie GW, RJ Christopher, CE Munger, CE Coppock: Fate and residues of [4-14C] estradiol-17 $\beta$  after intramuscular injection into holstein steer calves. J Anim Sci, 62, 681-690, 1986. (アイソトープラベルしたエストラジオール17 $\beta$ を牛に投与し、代謝物を同定・定量している。考察に内容を引用)

文献-14 Kushinsky S: Safety aspects of the use of cattle implants containi

ng natural steroids. Presented at International Symposium on the Safety Evaluation of Animal Drug Residues, West Berlin. Submitted to FAO by Syntex (U.S.A.) Inc., Palo Alto, CA, USA. (1983).

(いろいろな種類の牛に各種インプラント剤を投与し、組織ホルモン濃度の変化を広範囲に測定した。表 1, 4, 5, 11, 14, 16, 17 に数値を引用)

文献-15 Purdy RH, CK Durocher, PH Moore et al: Analysis of metabolites of progesterone in bovine liver, kidney fat, and milk by high performance liquid chromatography. J Steroid Biochem, 13, 1307-1315, 1980 (ラジオアイソトープをレベルしたプロゲステロンを牛体に投与し、その代謝物を同定している。代謝物の種類を結果で引用)

文献-16 Roberts, NL, DM Cameron: Steroid levels in tissues of veal calves following implantation with Implix BM/BF and/or Revalor lactose. In: Unpublished report No. RSL/686 from Huntingdon Research Centre, Huntingdon, Cambridgeshire, England. Submitted to FAO by Roussel-UCLAF, Romainville, France. (1986). (いろいろな種類の牛に各種インプラント剤を投与し、組織ホルモン濃度の変化を広範囲に測定した。表 13, 15, 18 に数値を引用)

文献-17 Shemesh M, N Ayalon, HR Linder: Oestradiol levels in the peripheral blood of cows during the oestrus cycle. J Endocrinol, 55, 73. 1972. (性周期に伴う末梢血中エストラジオール濃度について考察で引用)

文献-18 Stieck RF, LG Turner, T Matsuoka, RP Basson: Estrogen tissue levels in veal calves following treatment with estradiol-17 $\beta$  controlled-release implants. In: Unpublished study No. S-AAC-80-43 from Lilly Research Laboratories, Greenfield, USA. Submitted to FAO by Elanco Products Co., Indianapolis. [発表年不明(a)]. (ビール牛組織でインプラント中のエストロゲン濃度を測定。表 9 に数値を引用)

文献-19 Stieck RF, LG Turner, JF Wagner, RP Basson: Estrogen tissue levels in heifer cattle following treatment with estradiol controlled-release implant. In: Unpublished report No. S-AAC-82-14 from Lilly Research Laboratories, Greenfield, USA. Submitted to FAO by Elanco Products Co., Indianapolis. [発表年不明(b)]. (未経産子牛組織でインプラント中のエストロゲン濃度を測定。表 2, 8 に数値を引用)

文献-20 Tanaka Y, DL Vincent, KS Lodgerwood, CW Weems: Variable progesterone response and estradiol secretion in prepubertal beef heifers following treatment with norgestomet implants. Theriogenology 43, 1077-1086, 1995 (性成熟以前の雌牛にインプラント剤を投与した時による発情誘起との血清中エストラジオール17 $\beta$ の変動を測定している。インプラントによりエストラジオールは通常の 2 から 3 倍になる。考察で引用)

文献-21 Vynckier L, M DeBeckere, A De Kruif, M Coryn: Plasma estradiol-17 $\beta$  concentrations in the cow during induced estrus and after injection of est

radiol-17 $\beta$ benzoate and estradiol-17 $\beta$  cypionate -- a preliminary study. J vet Pharmacol Therap 13,36-42, 1990 (インプラント剤中の人工ホルモンの残留と休薬期間設定に関する論文。天然ホルモンの半減期についての記載を考察に引用)

文献-22 Wagner JF, EL Veenhuizen, RP Basson: Estrogen anabolics, mode of action, drug delivery, efficacy and safety. In: Carrillo BJ and CasalJJ (Eds) III. Congreso Argentina de Ciencials Veterinarias 415. Sociedad de Medicina Veterinaria, Buenos Aires.(1980)

(同化薬の作用機序、剤形、薬効と安全性についての総説。エストロゲン類の血漿半減期を考察で引用)

[報告書中には引用しなかったが本テーマに関連のある文献]

Ahmad N, EC Townsend, RA Dailey, EK Inskeep: Relationship of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three wave of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. Anim Reprod Sci, 49, 13-28, 1997 (妊娠率とステロイドホルモンプロフィールの相関を調べた。血清中プロゲステロンとエストラジオール17 $\beta$ の定量値がある)

Duchens M, M Forsberg, H Gustafsson, L.-E Edqvist, H Rodriguez-Martines: Reproductive performance of heifers induced to oestrous asynchrony by supra-basal plasma progesterone levels. Anim Reprod Sci, 39, 171-182, 1995 (妊娠周期・排卵と血漿中プロゲステロン濃度の相関を調べた)

Floyd, JG, RS Ott, JE Hixon, DNR Veeramachaneni, CL Willms, DF Parrett: Effects of zeranol implanted during a post weaning weight gain test on testicular, semen, and endocrine characteristics of bulls. Am J Vet Res, 55, 556-560, 1994 (ゼラノールを肉用雄子牛にインプラントしたところ、血漿中 LHホルモン濃度は約 1.5 倍、テストステロン濃度は約半分になった)

Hamudikuwanda H, G Gallo, E Block, BR Downey: Adipose tissue progesterone concentrations in dairy cows during and early lactation. Anim Reprod Sci, 43, 15-23, 1996 (発情期と黄体期の脂肪組織と血漿中プロゲステロン濃度は相関する。いずれも性周期により変動する)

Hartwig M, S Hartmann, H Steinhart: Bestimmung natürlich vorkommender steroidaler Sexualhormone (Androgene und Gestagene) in Rindfleisch. Z Lebensm Unters Forsch 201, 533-536, 1995 (雄牛、肉用雄牛、肉用雌牛の筋肉中アンドロゲン、エストロゲン、両者の誘導体濃度の測定法についての論文)

Hendricks DM, RT Brandt, EC Titgemeyer, CT Milton: Serum concentration of Trenbolone-17 $\beta$  and Estradiol-17 $\beta$  and performance of heifers treated with trenbolone acetate, melengestrol acetate, or estradiol-17 $\beta$ . J Anim Sci, 75, 2627-2633, 1977 (非妊娠未経産牛に同化薬を食べさせた後の血漿中ステロイドホルモン濃度を測った。エストラジオール17 $\beta$ が2から3倍増加した。trenboloneをインプラントした後の血漿中トレンボロン濃度も

測っている)

Henricks DM, AK Torrence: Endogenous estradiol  $17\beta$  in bovine tissues. J Assoc Off Anal Chem, 61, 1280, 1978

(エストロゲンとその代謝物の定量・同定法の開発と、筋肉、腎、肝中濃度の定量値を記載している)

Hendricks DM, SL Gray, JLB Hoover: Residues levels of endogenous estrogens in beef tissues J Anim Sci, 57, 247-255, 1983 (牛組織中内因性エストロゲン濃度についての記載)

Mann GE, GE Laming, MD Fray: Plasma estradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with busserelin. Anim Reprod Sci, 37, 121-131, 1995 (乳牛に人工 GnRHであるブセレリンを使ったときの、血漿中と乳中のプロゲステロンとエストラジオール $17\beta$ を測定している。)

Pritchard JY, FN Schrick, EK Inskeep: Relationship of pregnancy rate to peripheral concentrations of progesterone and estradiol in beef cows. Theriogenology 42, 247-259, 1994 (妊娠率とホルモン動態についての文献。交配後の血漿中エストラジオール $17\beta$ 、プロゲステロン濃度を測定している。)

Robbers S, D Rieger, NC Rawlings: Periovarian LH, FSH, and steroid hormone profiles in superovulated and unstimulated holstein heifers. Theriogenology 44, 59-70, 1995 (FSHにより過排卵処理をしたときのプロゲステロンとエストロゲンの血漿濃度を測定している)

#### IV. 結果

##### 1. 正常牛組織中のホルモン濃度

エストロゲン、プロゲステロン、テストステロンにつき、正常牛の組織中ホルモン濃度を調べた。特にこれらのホルモンは性成熟に達すると濃度が高くなることは知られているので成牛の組織濃度に注目した。

##### 1-1) エストロゲン

ラジオアイソトープラベルしたエストラジオール $17\beta$ を牛に投与した実験で、牛の筋肉中の主な代謝産物はエストラジオール $17\alpha$  (放射能の 38~70%) とエストロン (17~45%) である事が明らかにされている (文献-13)。そのため殆どの文献で、インプラント薬投与後の測定対象はエストロンとエストラジオール $17\beta$ になっている。従ってこの報告書では、この 2 つのステロイドホルモンについての測定値を表示した。

結果として妊娠雌牛組織中のエストロゲン濃度は、どの種類の牛よりも高かった。

##### ① 妊娠牛 (表 1)

妊娠牛の正常値を表に示した。両代謝物とも組織濃度は高く、その濃度は妊娠日数が経つほど高くなった (文献-14)。また多くの文献では組織中のエストラジオール $17\beta$ 濃度は、脂肪>腎>肝>筋肉の順であるが、本文献の結果で肝濃度が高いことが特徴的であった。

##### ② 非妊娠牛 (表 2)

比較のため、非妊娠成牛 (体重 800ポンド; 非発情期) の組織濃度を調べた。表 1にある妊娠牛と比べて、濃度は極めて低い (文献-18)。

##### ③ 雄成牛 (表 3)

比較のため、雄成牛（体重 850 ポンド）の組織濃度を調べた。非妊娠雌成牛の組織濃度と大きな差はなく（表 2）、妊娠牛と比べると濃度は極めて低い（文献-3）。

### 1-2) プロゲステロン

アイソト-ラベルしたプロゲステロンを牛に投与し組織中の誘導体を同定した実験で、牛体中のプロゲステロン代謝物は  $3\alpha$ -hydroxy- $5\beta$ -pregnan-20-one、 $5\beta$ -pregnane- $3\alpha$ 、 $20\beta$ -diol、 $20\beta$ -hydroxypregn-4-en- $3\alpha$ -one、 $3\alpha$ -and  $3\beta$ -hydroxy- $5\alpha$ -pregnan-20-one などが同定されている（文献-5、文献-15）。これら代謝物は生物学的活性を持つものも持たないものもあるが、それぞれを個別に測定することは困難なため、残留試験ではラジオイムノアッセイ（以下 RIA）法により総量値を求めている。以下この報告書にある測定値はいずれも総量値である。

#### ① 妊娠牛、早期去勢牛、肉用雄子牛の比較（表 4）

妊娠牛、早期去勢牛の測定値は文献-14 から引用した。妊娠牛は妊娠中期（3 頭）である。いずれの組織臓器でも妊娠牛の値が高い。肉用雄子牛の値は子牛 2 頭の平均値で文献-16 から引用した。

結果としては組織中プロゲステロン濃度はどの種類の牛よりも妊娠牛で高かった。

### 1-3) テストステロン

アイソト-ラベルしたテストステロンを牛に投与し、組織中の誘導体を同定した実験でいくつかの代謝物が確認されたが、それらは通常生体内で検出される代謝物と同じであった（文献-12）。残留試験で RIA 法による総量値を求めている。以下にこの報告書に出るテストステロン濃度は総量値である。

結果としては、雄成牛のホルモン濃度は高かったが、妊娠未經産牛の濃度もかなり高く、妊娠日数が進むに従って濃度が高まる傾向が見られた。また腎臓中濃度に関しては妊娠牛の方が雄成牛より高かった。

#### ① 妊娠牛（表 5）

妊娠未經産牛のホルモン濃度である。濃度は雄成牛には及ばないがかなり高く、妊娠日数が経つと濃度は上がる傾向であった。また脂肪中濃度より腎臓中濃度が高いところが特徴的であった（文献-14）。

#### ② 雄成牛、非妊娠雌成牛の比較（表 6）

雄成牛と雌成牛（非妊娠）の比較である。文献-10 からの引用。当然ながら雄成牛の濃度は高かった。

〔まとめ〕 エストロゲン、プロゲステロン、テストステロン濃度は、いずれも成牛組織の値が高かった。とくにエストロゲンとプロゲステロンについては妊娠の時期により値は変動するが（文献-4）、高い時期にはエストラジオール $17\beta$ では正常肉用子牛の 10~20 倍、エストロンでは 50~100 倍であった。プロゲステロンでは 50~100 倍であった。テストステロンについては雄成牛の濃度が高く、肉用子牛の 20~100 倍であった。従って以下の肉用子牛へのインプラント剤投与によるホルモン濃度増加の調査では、組織濃度がこれら成牛の組織濃度を越えるかが焦点となる。

## 2. インプラント剤投与が組織中ホルモン濃度に与える影響

### 2-1) エストロゲン

#### ① 早期去勢牛に Compudose をインプラントした場合

このインプラント剤は肉用牛全般に使い、エストラジオールを 24 mg 含み 1 日に