

## 正常婦人における Estradiol の Metabolic Clearance Rate について

札幌医科大学産科婦人科学教室 (主任 明石勝英教授)

酒 井 潔 水 元 修 治

田 中 昭 一 荒 木 重 雄

**概要** 従来、卵巢の内分泌能をみるのに、尿中に排泄される性ホルモンを定量する方法が広く行なわれてきた。しかし、より直接的に卵巢の内分泌能をみるには、血中のホルモン動態をしらべるのがよい。我々は、 $^3\text{H}$ -estradiol を人間に静注し、その血中よりの経時的減少から、Tait の two-compartment model に従つて estradiol の metabolic clearance rate を測定した。

対象は月経整順な成熟婦人6名であり、いずれも黄体期と考えられた。 $^3\text{H}$ -estradiol(20.3  $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ ) ethanol 溶液10  $\mu\text{Ci}$  を生理食塩水で稀釈し、対象に静注した。その後経時的に採血し、血漿10ml をとつて放射能測定材料とした。これを ether で抽出し、非結合型  $^3\text{H}$ -estradiol のみを column chromatography で分離し、liquid scintillation spectrophotometer により放射能を測定した。

$^3\text{H}$ -estradiol の血中濃度を時間の経過に従つて片対数グラフ上にとると、注射直後より約30分までの急激な減少とそれ以後の比較的なだらかな減少との2相性の直線をなすことがわかつた。従つて、これに対して Tait の two-compartment model を適用して estradiol の metabolic clearance rate や生体 pool の大きさなどの計算を行なつた。

その結果、estradiol の metabolic clearance rate は 697~1065 l/日、平均 856 l/日であり、inner pool の大きさは17.9~35.7 l、平均25.2 l、また inner pool と outer pool をあわせた生体内 pool の大きさは41.8~69.0 l、平均56.5 l という値が得られた。

### 緒 言

生体に放射性物質を静注し、その後経時的に血中のその物質の放射能を測定すると、血中の放射能濃度は時間の経過とともに次第に減少する。この減少は  $^{14}\text{C}$  や  $^3\text{H}$  のように物理的半減期を無視しうる場合には、その放射性物質の組織への移行、および代謝によるものである。

もし体内で産生されるステロイドと同じ化学構造をもつ放射性ステロイドの微量を生体に静注した場合には、血中における放射性ステロイドの推移は、同一時点で内分泌腺から血中へ放出されたステロイドと同じ運命をたどるものとみなすことができよう。その際、生体が恒常状態にあるとすれば、放射性ステロイドを注射後経時的に採血してその放射能濃度を測定することにより、体内産

生性ステロイドの代謝状況を推測することが可能である。

投与した放射性ステロイドの血中からの減少について、最初 Peterson<sup>1)</sup> はこれを一相性の指數的な減少とみたが、Tait ら<sup>2)</sup> はこれを注入直後の急激な減少と、そのあとに続く比較的ゆるやかな減少との二相性の減少とみなし、これに対する説明として two-compartment model を提出した。このモデルによれば、生体は血漿および細胞外液を含む inner pool と、細胞内液を含む outer pool の2つにわけられ、inner pool に入つたステロイドは outer pool との間に濃度平衡を保ちながら、他方 pool の外に一定の速度で代謝されていくものとされる。そして Tait らはこの代謝の速さをしめす指標として metabolic clearance なる

概念を導入した。Tait および Burnstein<sup>3)</sup>によれば metabolic clearance rate (M.C.R.)は「単位時間にステロイドホルモンを完全に、かつ不可逆的に除去するに要する血液の量」として定義される。

2, 3のステロイドホルモンについて, two-compartment modelを用いた metabolic clearance rate の値が報告されている。すなわち, Tait ら<sup>2)</sup>は aldosterone について, Southren ら<sup>4)</sup>および Horton ら<sup>5)</sup>は testosterone について, Little ら<sup>6)</sup>は progesterone について, それぞれ metabolic clearance rate を測定している。

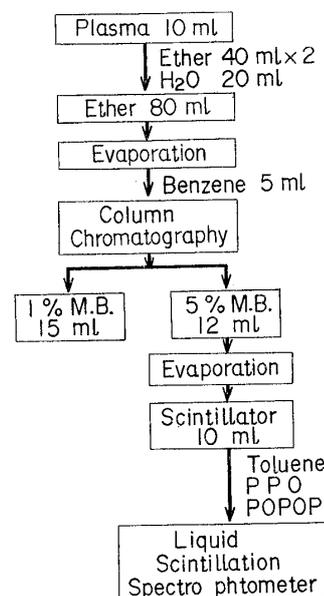
著者らは, 生体内 estradiol について two-compartment model を仮想して metabolic clearance rate の測定を試みた。

#### 方 法

対象は, 当札幌医大婦人科に入院した患者のうち, 月経整順な成熟婦人6名をえらんだ。いずれも肝機能および腎機能に異常を認めない。対象の年齢は35才より41才までの間であり, 月経周期からみると, いずれも黄体期と考えられた。測定時間は, 午後4時より6時までの間である。

投与した estradiol-17 $\beta$ -6, 7-<sup>3</sup>H (20.6mCi/mg) は New England Nuclear Corp. より購入し, クロマトグラフィーを用いて純品であることを確かめた。このものを一旦 ethanol に溶解し, そのうちの10 $\mu$ Ci (0.49  $\mu$ g) をとつて20 ml の生理食塩水に稀釈して1側の肘静脈より注入する。その後10分, 20分, 30分, 45分, 60分, および75分の6回にわたり, 反対側の肘静脈から heparine 加注射器で採血, 遠沈し, 血漿10 ml をとつて放射能測定のための材料とした。また回収率を補正する目的で estradiol-4-<sup>14</sup>C (198 $\mu$ Ci/mg) の1,000 c.p.m. を血漿10 ml に加えよく振盪する。この血漿10 ml を ether 40 ml で2回抽出し(図1), 水洗後蒸留乾固する。<sup>3</sup>H-estradiolの精製は, カラムクロマトグラフィーを用いる神戸川氏<sup>7)</sup>の尿中エストロゲンの分画法にしたがつた。すなわち, 内径5 mmのクロマト管にアルミナII度1.0 g を詰め, さきの乾固物を benzene 5 ml に溶解して吸

図1 Estimation of Plasma <sup>3</sup>H-Estradiol



着させる。展開はまず1% methanol-benzene 15 ml で溶出し, 次に5% methanol-benzene 12 ml を流して estradiol 分画であるこの溶出液を試験管に受けて蒸留乾固する。これをシンチレーター (toluene 10ml, PPO 40mg, POPOP 1 mg) 10ml に溶解して液体シンチレーションスペクトロメーター (LSC-201日本無線医学研究所) にて <sup>3</sup>H と <sup>14</sup>C の放射能を screen out 法<sup>8)</sup>により分別測定する。<sup>14</sup>C によつて回収率を補正された <sup>3</sup>H の放射能が, 血漿10 ml 当りの <sup>3</sup>H-estradiol の放射能濃度である。この値から血漿1 l 当りの放射能を計算し, これを投与した総放射能に対する百分比であらわし, 片対数方眼紙の縦軸にとる。また横軸には注射後の時間を分でとり, 各時間における測定値を線で結んだ。

このようにして得られる血漿中放射性ステロイドの減衰曲線は, Tait<sup>2)</sup>によれば片対数グラフの上で, 注射直後の急激な減少とそのあとの比較的ゆるやかな減少とを示す二相性の直線よりなるとみなすことができるという。したがつて, 時間Tにおける血漿中放射能濃度xを,  $x = Ae^{-\alpha T} + Be^{-\beta T}$  とあらわすとき, この式における A, B,  $\alpha$ , および  $\beta$  は, 実測により得られた減衰曲線から作図に

図2 Calculations of Metabolic Clearance Rate and Volumes of Distribution

$$\alpha = 1000 / T_{1/2} \text{ min. (units/day)}$$

$$\beta = 1000 / T_{1/2} \text{ min. ( // )}$$

$$V_1 = \frac{1}{A+B} \text{ (liters)}$$

$$V_1 + V_2 = \frac{\beta^2 A + B\beta^2}{(A\beta + B\alpha)^2} \text{ ( // )}$$

$$K_1 = V_2 (A\beta + B\alpha) \text{ (units/day)}$$

$$K_2 = \frac{\alpha\beta (A+B)}{A\beta + B\alpha} \text{ ( // )}$$

$$\text{M.C.R.} = \frac{\alpha\beta}{A\beta + B\alpha} \text{ (liters/day)}$$

よつて求めることができる。そして、得られた A, B,  $\alpha$  および  $\beta$  と, Taitによつて示された式(図2)とを用いて, われわれは estradiol の inner pool の容積  $V_1$ , outer pool の容積  $V_2$ , inner pool と outer pool 間の移行速度  $K_1$ , 代謝速度  $K_2$ , および metabolic clearance rate (M.C.R.) を計算した。

成 績

$^3\text{H}$ -estradiol  $10 \mu\text{Ci}$  ( $0.49 \mu\text{g}$ ) 静注後の血漿中  $^3\text{H}$ -estradiol の放射能濃度の時間的推移を図に示した(図3~8)。注射後10分における血漿 1 l 当りの  $^3\text{H}$ -estradiol の放射能は投与量の 2.8~ 5.6 % であるが, 投与後30分には 1 % 内外にまで, 比較的急速に減少する。この減少は指数的減少であつて, 片対数グラフ上ではほぼ直線をなす。この直線の延長線が縦軸と交わる点は投与した  $^3\text{H}$ -es-

図3 Disappearance of  $^3\text{H}$ -Estradiol from the Plasma of Subject I.K.

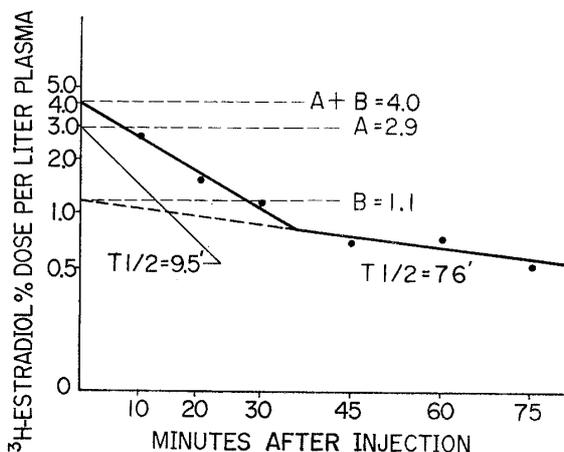


図4 Disappearance of  $^3\text{H}$ -Estradiol from the Plasma of Subject F.R.

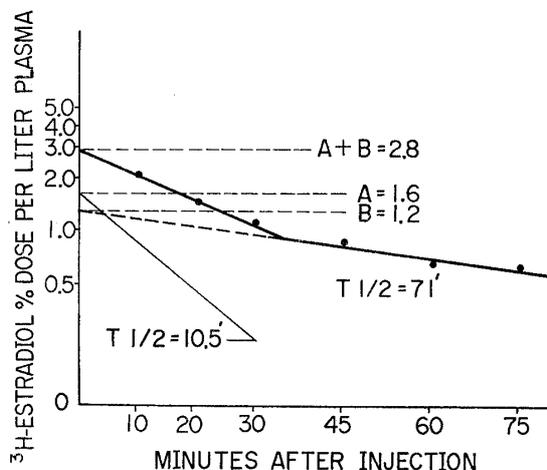


図5 Disappearance of  $^3\text{H}$ -Estradiol from the Plasma of Subject S.F.

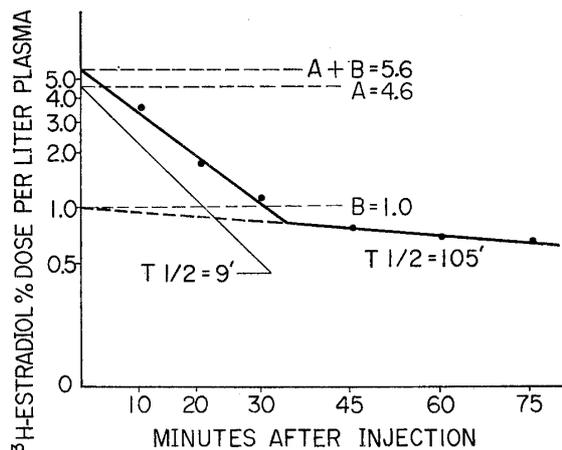


図6 Disappearance of  $^3\text{H}$ -Estradiol from the Plasma of Subject M.C.

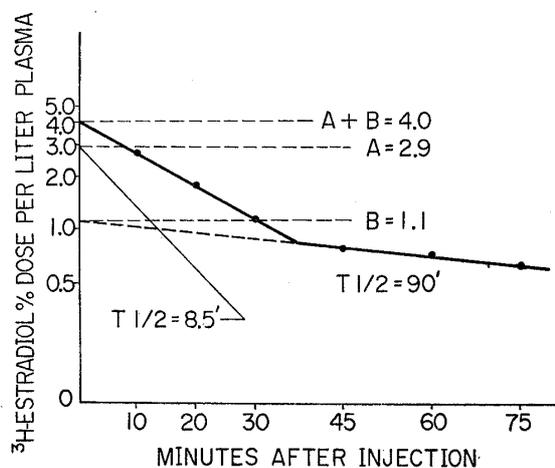


図7 Disappearance of  $^3\text{H}$ -Estradiol from the Plasma of Subject S.M.

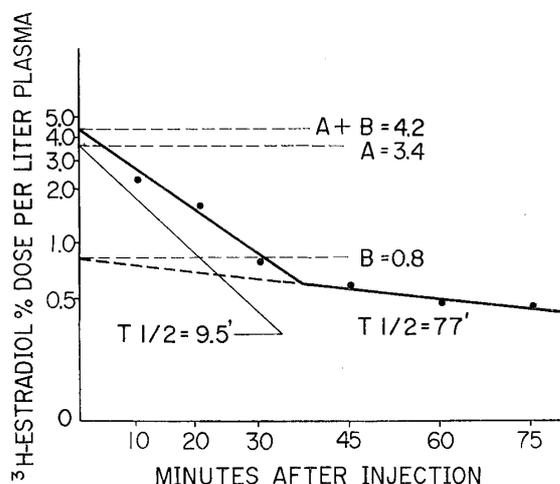


図8 Disappearance of  $^3\text{H}$ -Estradiol from the Plasma of Subject S.J.

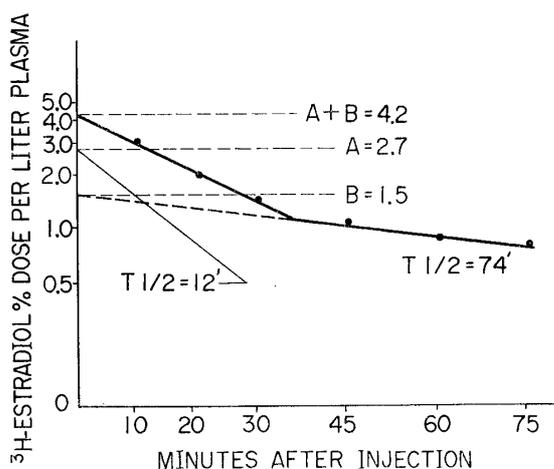


表1 Calculated Transport and Metabolic Rate Constants and Volumes of Distribution in Six Normal Women

Subjects	age	days of cycle	A	B	$\alpha$	$\beta$	$K_1$	$K_2$	$V_1$	$V_1+V_2$	M. C. R
			% dose/L								
I. K.	36	19	2.9	1.1	105	13.2	40.7	36.0	25.0	51.5	900
F. R.	41	23	1.6	1.2	95	14.1	33.0	37.6	35.7	59.8	980
S. F.	38	26	4.6	1.0	111	9.5	79.3	38.3	17.9	69.0	683
M. C.	35	17	2.9	1.1	118	11.1	55.9	32.4	25.0	59.6	809
S. M.	38	22	3.4	0.8	105	12.9	43.0	44.7	23.8	57.3	1065
S. J.	40	19	2.7	1.5	83	13.5	29.1	29.3	23.8	41.8	697
Mean			3.0	1.1	103	12.4	46.8	36.4	25.2	56.5	856

tradiol が直ちに体液中すなわち inner pool に平等に拡散したと考えられる濃度, すなわち0時間における推定濃度である. これが A+B 点であり, inner pool  $V_1$  の逆数となる. A+B 値は 2.8~5.6%, 平均 4.1% であつた. したがつて, inner pool の大きさは 23.8~35.7l, 平均 25.2l (表1) と計算された.

30分以後は血漿中  $^3\text{H}$ -estradiol の減少は比較的ゆるやかとなり, 75分後における血漿 1 l 当りの放射能は投与量の 0.42~0.75% であつて, その45分間における放射能の減少は, 0.33~0.72%, 平均 0.52% にすぎない. そして, 30分以後75分までの放射能濃度の減少は片対数グラフ上では, 30分までと同じく, これをほぼ直線とみなすことが可能である (図3~8). この直線を逆延長して縦軸と交わる点が B 点で, その値は 0.8~1.5%, 平均 1.1% である. またこの直線の半減期は, 71~105分, 平均 82分 で, これから  $\beta$ , すなわち半減期の逆数を 1,000倍すると,  $\beta$  の値は 9.5~14.1, 平均 12.4 となる.

次に10分, 20分, 30分の実測値から得られた直線上の値から, 後半の直線の延長線上の値を各時間において減ずると, ひとつの仮想曲線が得られる. この曲線は0分ないし20分の間ではほぼ直線とみなすことができる. この直線の縦軸との交点を A とし, その半減期の逆数を 1,000倍したものを  $\alpha$  とすると, A の値は 1.6~4.6%, 平均 3.0% であり,  $\alpha$  の値は 83.3~117.6, 平均 102.9 となつた.

このようにして得られた  $A, B, \alpha$ , および  $\beta$  から, 図2に示した計算式を用いて estradiol の inner poolの容積  $V_1$ , outer poolの容積  $V_2$  と  $V_1$  を加えた total body pool  $V_1+V_2$ , inner pool と outer pool 間の移行速度  $K_1$ , 代謝速度  $K_2$ , および metabolic clearance rate (M.C.R.) を計算すると表1のごとくである. これによれば estradiol の M.C.R. は 683~1,065l/日, 平均 856l/日であった. また  $V_1+V_2$  すなわち total body pool は体内において estradiol が細胞の内外を問わず移行しうる容積と考えられるが, この値は 41.8~69.0, 平均 56.5 l となった.

### 考 案

$^3\text{H}$ -estradiol 静注後の血中放射能の減少が, 片対数グラフ上で二相性の指数的減少を示したことは, aldosterone<sup>2)</sup>, testosterone<sup>4)</sup> および progesterone<sup>6)</sup> と同じく estradiol の生体内移行および代謝についても Tait の two-compartment model が適用されうることを示すものである.

追跡量の放射性ステロイドを用いて生体内ステロイドの動態を追求しようとする場合, 投与する放射性ステロイドは生体内ステロイドの恒常状態を乱すほど大量であつてはならない<sup>9)</sup>. そのためには, 注射する放射性ステロイドに高い比活性度が要求される. この実験で用いた  $^3\text{H}$ -estradiol の比活性度は 20.6mCi/mg であつて, その 10 $\mu\text{Ci}$  は 0.048  $\mu\text{g}$  に相当する. Svendsen ら<sup>10)</sup>の報告によれば, 正常月経周期における血中 estradiol の濃度は 0.1~0.3 $\mu\text{g/l}$  であり, われわれの投与量では, 内産性 estradiol の生理的な分布, および代謝に大きな影響はないと考えられる.

図3~8に示した  $A+B$  点は,  $^3\text{H}$ -estradiol 静注後10分より30分までの血漿中放射能濃度曲線を逆延長して縦軸と交わつた点であるが, これは  $^3\text{H}$ -estradiol が注射した瞬間に, 一樣に inner poolに拡散したと考えたときの inner poolあるいは血漿中の放射能濃度を意味する. 図では投与した放射能の総量を1として, 血漿1 l当りの放射能濃度を百分比で示してあるから, 放射能濃度の逆数が容量をあらわすことになり,  $A+B$  点の逆

数は inner pool の容量  $V_1$  をあらわすことになる. われわれの得た結果によれば, inner pool の大きさは 17.9~35.7 l, 平均 25.2 l であつた. これを他のステロイドホルモンの  $V_1$  値と比較すると, testosterone<sup>4)</sup> 正常男子 23.3~39.7 l, aldosterone<sup>2)</sup> 正常女子 平均 27.0 l, および progesterone<sup>6)</sup> 正常男子 平均 13.2 l などと報告されている.

また, 生体内のステロイド容量は  $V_1+V_2$  として求められるが, estradiol の  $V_1+V_2$  は 41.8~69.0 l, 平均 56.5 l であつた. これを他のステロイドの  $V_1+V_2$  値と比較すると, testosterone<sup>4)</sup> 正常男子 平均 51.0 l, aldosterone<sup>2)</sup> 正常女子 平均 40.6 l, progesterone<sup>6)</sup> 正常男子 平均 29.5 l, また corticosterone<sup>11)</sup> 9.1~21.9 l, cortisol<sup>12)</sup> 平均 14.4 l などであり, estradiol は testosterone や aldosterone とともに比較的大きな body pool を示す.

河野<sup>13)</sup>は aldosterone の  $V_1+V_2$  値が cortisol および corticosterone のそれにくらべて大きいのは, aldosterone の血漿蛋白結合能が cortisol および corticosterone よりも低いためであろうと述べているが, estradiol についても同じような事情が介在するのではなからうか. 事実, Slaunwhite および Sandberg<sup>14)</sup> は, in vivo の実験で estrogen の血漿蛋白結合能が低いことを報告している. いずれにせよ,  $V_1+V_2$  を単純に生体内で占めるステロイドの空間的容積と考えるよりも, むしろ物理化学的概念を含むものと解すべきであろう.

M.C.R. はその定義から理解されるごとく, ステロイド代謝の遅速をあらわす数値であつて, 生体内ステロイドホルモンの代謝状況を動的に把握するのに有用な指標と考えられる. ただ, この測定法によると, たかだか2時間の測定結果から1日当りの M.C.R. を計算するために, ステロイドの産生, 代謝における日内変動を無視することになる. 著者らは測定時間を午後4時より6時の間に限つたので, 対象相互間の M.C.R. 値の比較は可能と考える. また, 女性の estrogen 分泌には性周期に伴なり変動のあることは周知であるが, 対象は月経周日第17日より26日の間にあり, いずれも黄体期と考えられる. 著者らの得た結果

によれば, estradiol の M.C.R. は 683~1,065 l/日, 平均 856 l/日であつた. これを他のステロイドホルモンの M.C.R. 値と比較すると, aldosterone<sup>2)</sup> は平均 1,620 l/日, progesterone<sup>6)</sup> 正常男子平均 2,450 l/日, testosterone<sup>4)</sup> 正常男子平均 965 l/日, cortisol<sup>12)</sup> 433 l/日, corticosterone<sup>11)</sup> 330~632 l/日などと報告されている. 以上によれば, aldosterone, progesterone は estradiol よりも大きな M.C.R. 値を示し, testosterone (男性) は estradiol とほぼ似た値を示す. また cortisol, および corticosterone は estradiol より低い値を示す.

理論的には, M.C.R. 値は生体のステロイド産生能が大きい程, また血中ステロイド濃度が低い程大きくなる. 微量の放射性ステロイドを投与して得られる M.C.R. は, 生体内ステロイドの産生, および代謝を示すひとつの生物学的指標として意味あるものと考えられる.

### 結 論

5名の正常婦人(黄体期)に <sup>3</sup>H-estradiol 10  $\mu$ Ci を静注し, その後経時的に採血して, 血漿中 <sup>3</sup>H-estradiol の放射能を測定した. その結果血漿中 <sup>3</sup>H-estradiol の減少は注入直後より約30分までの急激な減少と, それ以後の比較的緩徐な減少との二相性の直線をなすことがわかつた. これについて Tait の two-compartment model を適用して estradiol の M.C.R. その他を求めた.

計算の結果, inner pool の大きさは 17.9~35.7 l,

平均 25.2 l であり, inner pool と outer pool をあわせた total body pool の大きさは 41.8~69.0 l, 平均 56.5 であつた. また M.C.R. は 683~1,065 l/日, 平均 856 l/日であつた.

稿を終るにあたり, 御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師明石教授に深く感謝しますと共に, 適切なる御助言と御教示を戴いた京都大学深瀬内科河野剛講師に心から御礼申しあげます.

なお, 本論文の要旨は昭和42年3月, 第19回日本産科婦人科学会総会に於て発表した.

### 文 献

- 1) Peterson, R.E. and Wyngaarden, J.B.: J. Clin. Invest. 35 : 552, 1956. —2) Tait, J.F., Tait, S.A., Lihtle, B. and Laumas, K.R.: J. Clin. Invest. 40 : 72, 1961. —3) Tait, J.F. and Burstein, S.: The Hormones, vol. 5, 441, ed. Pincus, G. and Thiamann, K., Academic Press, N.Y. 1964. —4) Southren, A.L., Tochimoto, S., Carmody, N.C. and Isurugi, K.: J. Clin. Endocr. 25 : 446, 1965. —5) Horton, R., Shinsako, J. and Forsham, P.H.: Acta Endocr. (Kobenhavn) 48 : 446, 1965. —6) Little, B., Tait, J.F., Tait, S.A. and Erlenameyer, F.: J. Clin. Invest. 45 : 901, 1966. —7) 神戸川明: 内分泌と代謝, 3 : 244, 1962. —8) 岩倉哲男: 化学の領域, 18 : 409, 1964. —9) Peterson, R.E.: Recent Progr. Hormone Res. 13 : 231, 1959. —10) Suendson, R. and Sjörensén, B.: Acta Endocr. (Kobenhavn) 47 : 237, 1964. —11) 大林誠一他: 第2回核医学研究会発表, No. 25, 1962. —12) 河野剛: 日内会誌, 51 : 682, 1962. —13) 河野剛他: 綜合臨床, 12 : 688, 1963. —14) Slunwhite, W.R. and Sandberg, A.A.: J. Clin. Invest. 38 : 384, 1959.

(No. 2181 昭43・9・16受付)