

ロン濃度の推移を検討し、さらに妊娠中期以降の胎児、新生児の血中プロゲステロン濃度を測定した。

測定方法は以下のごとくである。すなわち 0.1ml ないし 0.5ml のヘパリン処理したプラズマに回収率補正のため 600cpm の<sup>3</sup>H プロゲステロンを添加し、これに蒸留水を加え 1 ml にまで稀釈した後、石油エーテル 5 ml で 2 回抽出し抽出液を乾固する。これを Precoated Silica gel TLC plate 上に F<sub>2</sub> 色素を pilot としてベンゼン、酢酸エチル 80:20 に展開し、pilot 上方 1.5cm 巾の Silica gel を採取し、これをアルミナシリカカラム中に溶出してプロゲステロンを単離精製した。この一部を回収率補正に当て、残りに<sup>3</sup>H プロゲステロン-CBG 溶液を加え 4 °C で 60 分間振盪し、これにフロリジル 3 mg を加えさらに 30 分間振盪して遊離型プロゲステロンを吸着した後、その上清の一部放射能を Liquid scintillation Spectrometer で測定し % Bound を算出し、同時に作製した標準検量曲線からプロゲステロン濃度を求めた。

妊婦末梢血中プロゲステロンを各 Trimester 10 例ずつについてみると、1st Trimester ではプラズマ 100ml 中に 1.2~7.7μg, 2nd Trimester では 2.8~11.0μg, 3rd Trimester では 4.5~32μg と妊娠末期では初期の約 30 倍にも達しているが、一方同一妊娠月でも個体差がかなり大きかった。また臍帯静脈血のプロゲステロン濃度は臍帯動脈血の 1.2~2 倍であり、妊娠 20 週から 32 週までの 4 例の臍帯静脈血プロゲステロン濃度は、プラズマ 100ml 中に 18~40μg であり、一方臍帯動脈血では 10.5~25μg であった。

#### 148. Competitive Protein Binding 法による血中 Progesterone 定量

(東京女子医大) 青島 武子, 青島 雄吾

CBG と Dextran coated Florisil column を用いて CPB 法にて血中 Progesterone の定量を行なった。

1) 0.5~10.0mμg の範囲の定量曲線を作製することができた。

2) CBG の結合は他のステロイドとも非特異的な面があるが、試料中 Progesterone は 2 回の Paperchromatography で精製することができ、CPB 法は実用に供し得る。

3) 孵置温度の上昇は CBG の結合率を低下せしめるので、本法は孵置およびカラムの段階で 4 °C ± 2 °C で行なう必要がある。

4) 再現性は 94 ± 8 %, 添加物回収率は 97 ± 4 % であ

つた。

5) 正常周期婦人卵胞期血漿は 0.12 ± 0.08μg/dl, 黄体期は 1.08 ± 0.42μg/dl で妊娠 12 週で 1.8, 18 週で 3.5, 20 週で 17.5, 37 週で 22.2μg/dl をしめした。

6) 正常男子血漿 5 例は何れも 0.05μg/dl 以下であった。

7) 同じ試料を同時に Electron capture 付 Gas chromatography 法で測定した結果は CPB 法の値とよく一致した。

#### 149. 新生児 Growth Hormone の Radioimmunoassay

(山口大)

藤生 太郎, 森脇 一浩, 加藤 紘

##### A. 研究目的

新生児期は発育の著明な時期であるが、下垂体ホルモンとくに成長ホルモン (GH) はこれに重大な影響をおよぼしていると考えられる。このときに経過をおつて血中 GH 値を測定することにより下垂体前葉機能をうかがい、GH が新生児の発育、成長にどのように関与しているのか、その一端を知ることが目的とした。

##### B. 研究方法

成熟児 52 例, 未熟児 7 例および過熟児 4 例, 計 63 例の新生児について、分娩時より逐日的に約 1 カ月間 Radioimmunoassay (<sup>125</sup>I にて GH 標識, 二重抗体法採用) によつて血中 GH 値を測定し、児の発育、成長との相関性について検討し、現在以下のような結果を得ている。

##### C. 研究結果

1. 生下時(臍帯血)の GH 値は平均 33.4mμg/ml で、生後 2 日目にやや上昇をしめし、その後は次第に減少して約 1 カ月後には平均 14.5mμg/ml となるが、いずれも成人および小児のそれに比較してかなり高値をとる。

2. 臍帯血中の GH 値は、過熟児では平均 22.9mμg/ml と比較的的低値であるが、成熟児では 28.6mμg/ml, そして未熟児では 54.0mμg/ml と高値をしめした。

3. 臍帯血中 GH 値を分娩時期によつて比較すると、妊娠 37 週以前の平均 45.28mμg/ml, 38 週~42 週では 35.2mμg/ml, そして 43 週以後では 29.8mμg/ml と妊娠末期においては分娩時期がおくれるほど低下する傾向がみられる。

#### 150. LH の Radioimmunoassay (Dextran coated charcoal 法)

(千葉大) 御園生雄三, 関 光倫  
吉原 暉文, 関 克義

Dextran-coated charcoal を用いるLHの Radioimmunoassay を検討した. 0.1ml の家兎抗HCG血清と 0.2ml の検体または standard を反応させ (1st-Incubation) 次いで  $^{125}\text{I}$ -HCG を入れ Incubate 後 (2nd Incubation), さらに Dextran-coated charcoal を入れ, 遠沈にて Bound と Free を分離し, 上清すなわち Bound の Radioactivity を count した. Dextran-coated charcoal は 5% charcoal 懸濁水と 0.5% Dextran 溶液を等量に混じ, stock solution とした. Dextran 分子量 80,000, 150,000 および 250,000 について, それぞれの stock solution をつくり, おのおの 3ml を用い 0.5% BSA solution 稀釈標準曲線を比較, 分子量の多いほど, Free と Bound の分離は良いことを認めた. また抗血清稀釈による標準曲線の変化をみるに, 高濃度抗血清稀釈 1/500 では standard 濃度に比例し, 1/5000 ~ 1/10000 稀釈では逆比例となつた. この関係は Dextran 分子量によつても変らない.

stock solution (1/1), 3ml の条件では, 小児尿添加標準曲線は control すなわち抗血清を入れない場合と殆んど差はなく, 尿中LH測定のための標準曲線となり得ない. したがつて stock solution の添加量および稀釈度の検討を行ない, 分子量 250,000 で  $1/2$  稀釈 1ml および分子量 80,000 で  $1/2$  ~  $1/4$  稀釈 1ml で尿中LHの測定が可能となつた. Incubation 時間は抗血清濃度により異なり,  $4^\circ\text{C}$  より  $37^\circ\text{C}$  の方が早く 4% は上る. また Incubation 時間と標準曲線の変化をみるに, 1st Incubation 時間で勾配が左右され, 0時間より12時間の方が緩やかになり, 感度も上り, 2nd Incubation 時間による変化は殆んどなく, 12~16時間で充分である. 感度の変化は12時間でほぼ平行に達する. 感度は1万倍稀釈抗血清, 1st Incubation 12時間, 2nd Incubation 4~8時間で 2.5 mIU/ml までである. Dextran coated charcoal への Free の吸着は短時間で充分である. この System を用いて, 同一検体の婦人尿中LHを二抗体法と比較測定したところ, その測定値はよく平行する. この場合 control をおき必ず測定値の補正を行なう必要がある. この方法は操作も簡易, 測定時間も短縮されるため有用である.

#### 151. LH の Radioimmunoassay (Disc Solid Phase 法)

(千葉大)

御園生雄三, 関 光倫, 吉原 暉文  
関 克義

Disc solid-phase radioimmunoassay について諸条件を検討し, 人尿中LHの測定を試みた. disc は Catt らの開発した tetrafluorethylene-g-isothiocyanatostyrene (Protapol DI/1) を使用し, 抗血清はLHと交叉反応をする家兎抗HCG血清を, standard としてHCG 12,000 IU/mg (FSH 混在 0.047IU/mg 以下) を用いた. disc を coating する場合抗血清濃度は1000倍稀釈の方が1万倍稀釈よりも精度はよいが感度は落ちる. coating 時間は16時間が適当である. coated disc と unlabelled hormone を反応させる 1st incubation 時間は2時間より8時間の方が, 感度がよくなる. しかし8時間から24時間では殆んど変化がない. 次に unlabelled hormone と反応した disc を labelled HCG と反応させる 2nd incubation では, 1st incubation 後  $^{125}\text{I}$ -HCG をそのまま加えるよりは, 反応した disc のみにして  $^{125}\text{I}$ -HCG を加える方が disc の radioactivity も増加し, また標準曲線の傾きも大きくなる. 加える  $^{125}\text{I}$ -HCG の量を増せば標準曲線の傾きは増加するが, 感度は低下する.  $^{125}\text{I}$ -HCG の量は  $1 \times 10^4$  ~  $4 \times 10^4$  cpm で標準曲線が得られる. 2nd incubation 時間は30分~24時間では長ければ長いほどよい. しかし8時間でも充分である. 2nd incubation 後の disc の wash は1回でよい. standard 稀釈液とし, BSA, 小児尿, および馬血清を検討した. これら三標準曲線は平行するが一致しない. 尿を測定する場合の standard の稀釈は小児尿稀釈が適当である. 以上の結果より, disc を24時間1000倍家兎抗HCG血清で室温にて coating し, 1st incubation は coated disc を尿 0.5ml あるいは小児尿稀釈 standard 0.5ml と一緒に  $37^\circ\text{C}$  で24時間とし, 2nd incubation は反応した disc に  $^{125}\text{I}$ -HCG 0.25ml 加えて  $37^\circ\text{C}$  24時間行なつた. 測定感度は 2.5mIU/ml までである. この solid phase RIA にて婦人尿中LHの経時的変動を測定した. この分離法は二抗体法に比し測定時間は短縮でき, 操作がやや簡単であるが, 経済的にやや難点がある.

#### 152. Progesterone 投与後の尿中ホルモン変動に関する研究

(札幌医大)

佐竹 実, 酒井 潔, 水元 修治  
田中 昭一, 荒木 重雄

1. 研究目的: Progesterone (以下 Prog.) を投与し, exogenous な Prog. がホルモン代謝の pattern と, どのように関連しているかを研究することを目的とした.
2. 研究方法: Prog. の投与法を3群に分けて検討し