

Competitive protein binding 法における 妊娠時血中 corticoids 動態

Competitive Protein Binding Analysis of Corticosteroids in Pregnancy

日本大学医学部産科婦人科学教室 (主任 澤崎千秋教授)

助手 栢 木 秀 磨 Hidemaro TOCHIGI

概要 妊娠時母児双方での individual corticoids の動態に関する研究は必ずしも多くない。そこで著者は Murphy (1963) の開発した competitive protein binding analysis (以下 C.P.B.A.) に若干の改良を加えて、それを用いて妊娠、分娩、産褥時の血漿中 cortisol (以下 F), corticosterone (以下 B), cortisone (以下 E) 濃度を測定し、妊娠時の corticoids (以下 cds) 動態について検討し以下の如き成績を得た。

1. corticosteroid binding globulin (以下 C B G) との結合能に関しては、acetylated corticoids は unconjugated corticoids とほぼ同様の結合能を有することを確認した。
2. F.B.E. の分離ならびに他のステロイドの除去に cds の acetyl 化と Merk 薄層クロマトの組合わせが最も適していることを認めた。
3. 正常妊娠時の末梢血中 cds 濃度は、妊娠週数とともに漸増し、妊娠末期では非妊時のそれぞれと比べて F 濃度は約 3 倍、B 濃度は約 3.5 倍、E 濃度は約 4 倍の増加を示した。
4. 分娩直後の末梢血中 cds 濃度は陣痛発来とともに F.B.E. 3 者共に急増し、分娩直後にピークとなり非妊時の値と比べると F 濃度は約 6 倍、B 濃度は約 7 倍、E 濃度は約 10 倍の増加を示した。
5. 産褥時の末梢血中 cds 濃度は 3 者共に漸減し、産褥第 4 日目にはほぼ非妊時の値を示した。
6. 臍帯動脈管血及び静脈管血中 cds 濃度 F 濃度は動脈管血 $9.1\mu\text{g}$ (平均値)、静脈管血 $6.4\mu\text{g}$ 、B 濃度は動脈管血 $3.4\mu\text{g}$ 、静脈管血 $2.7\mu\text{g}$ 、E 濃度は動脈管血 $9.5\mu\text{g}$ 、静脈管血 $6.8\mu\text{g}$ 、すなわち F、E 濃度は動脈管血でやや高値を示した。
7. 切迫流産例では同一時期の正常妊娠よりも F.B. ともにやや高値を示した。
8. 妊娠中毒症例では同一期のそれぞれの正常妊婦と比べると、重症例では F.B. ともに高値を示し、軽症例でやや高値を示した。

緒 言

Murphy (1963) により開発された C P B 法による血漿中 cds の測定法は近時急速な発展を遂げ、既に臨床的にも広く応用されている。しかしその際使用する binding protein はなおステロイドに対する specificity に欠けるとされている。したがって妊娠時は多種類のステロイドが混在しているので、Murphy 等による従来の方法では測定の誤差が生じ易いので、あらかじめ十分に精製分離操作を行ない、その他のステロイドを除去することが必要となる。しかしこれらの前操作を加えることによつてステロイド同様 binding protein との結合を示す夾雑物が混入して、これによつて測定値が過大となることがある。したがって妊娠時の血漿 cds の測定に従来の C P B 法を応用する

には、なお検討の余地があるものと思われる。

そこで著者はこれらの問題点に留意し、まず前操作で acetyl 化を行ない、ついで精製した Merk G.F 254 の薄層クロマトを用いて、従来の C P B 法にみる欠陥をほぼ解消しえたので、この方法によつて妊娠時の血漿中 F.B.E. を測定し、胎児胎盤母体系にみるこれらの cds 動態を追求し、併せてそれらの産生分泌の場について若干の検討を加えたので、その成績について報告する。

実験材料並びに方法

I. 実験対象

A 正常妊娠

1. 母体末梢血 (71例)

母体末梢血液は cds の日内変動を考慮して、原則的には午前 9 時から午前 11 時の間に、肘静脈

から採血した。採血後直ちに heparin 100単位を添加した試験管に注入し、良く混和後、遠沈分離し、 -20°C で凍結保存した。

2. 臍帯動脈管血，静脈管血（5例）

分娩直後臍帯拍動停止前に拍動を確認しながら動，静脈管血別に採血した。

B 異常妊娠

1. 切迫流産（12例）

切迫流産患者で治療開始前に採血した。

2. 妊娠中毒症（17例）

日本産科婦人科学会妊娠中毒症委員会の分類に従って，軽症，重症に分けて採血した。

3. その他（8例）

II. 実験試薬

1. Florisil: 蒸留水で10回洗滌して使用。

2. 薄層クロマトグラム: Merk社製 Kieselgel

F 254を methanolで3回精製してから用いた。

3. radio active corticoids

a. cortisol-1,2- ^3H : 第一化学薬品K.K.製 S.A. 33ci/mM

b. corticosterone-1,2- ^3H : NENC製 S.A.48ci/mM

c. cortisone-1,2- ^3H : NENC製 S.A. 53ci/mM

4. CBGの作製

オスの雑犬に dexamethasone 10mgを1回腹腔内に注射し（細木，1970），12時間後に採血し，直ちに遠沈分離して血漿を5mlに小分けして -20°C で凍結保存した。

5. CBG isotope solution の作製

a. F測定（10%CBG isotope solution）: corticosterone-1,2- ^3H ethanol solution 4 μci を乾固し，これに蒸留水90mlを加えて十分に攪拌溶解し，さらにCBG 10mlを加えて混和した。

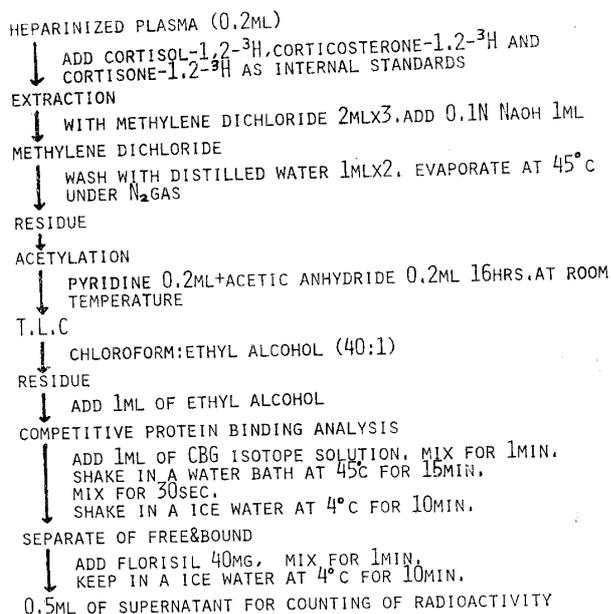
b. BならびにE測定（5%CBG isotope solution）: 前と同様の操作でcorticosterone-1,2- ^3H 2 μci を加えた。

III. 実験方法

A. direct standard curves の作製

cortisol-21-monoacetate (0, 5, 10, 15 μg), corticosterone-21-monoacetate(0, 3, 5, 10 μg),

図1 Determination of plasma corticoids by competitive protein binding analysis



cortisone-21-monoacetate (0, 3, 5, 10 μg)の各々を 45°C で窒素ガス環流下に蒸発乾固し，これに各々のCBG isotope solution 1mlを加えて，静かに1分間混和し， 45°C で15分間振盪し，次いで 4°C の冷水中で10分間振盪，Florisil 40mgを添加して1分間正確に混和，再び 4°C 冷水中で10分間静置し，その上清 0.5mlを counting vialにとり，15mlの Brays solution (1960)を加えて Liquid scintillation counter でそれらの放射能を測定し，standard curves を作製した。

B 試料の前処置

あらかじめ internal standard として cortisol-1,2- ^3H 4100dpm, corticosterone-1,2- ^3H 4600 dpm, cortisone-1,2- ^3H 4800dpm を試験管に添加し，また試料として血漿 0.2mlを加えた。また別の試験管に，それぞれ後述する processed standard curves の作製を目的として前述した internal standards と non-radioactive corticoids とを添加した。

C 抽出

試料は methylene dichloride 2ml で3回抽出した。次いで methylene dichloride 層に 0.1N NaOH 1ml を添加し，混和後遠沈分離し，上層の NaOH 層を捨て，さらに蒸留水 1ml で2回洗滌

し, methylene dichloride を窒素ガス環流下に乾固した。

D acetylation

試料を Peterson 法 (1960) に従って acetyl 化し, 45°C窒素ガス環流下に乾固した。

E TLCによる精製分離

TLCに試料を spot し, chloroform: ethanol (40:1) の溶媒系で上行性に3回展開し, spot を削り取り, これに蒸留水 1 ml と water saturated ether 3 ml とを加えて, 1分間混和後 2,500rpm で10分間遠沈し, ether 層を分離し, 乾固した。次いで ethanol 1 ml を加えて十分に混和し, それの 0.2ml で回収率を測定し, 残りの 0.8ml を CPB法に使用した。

F CPB法

上述の ethanol 0.8ml を必要に応じて希釈し, その一部分を取り, 45°C窒素ガス環流下に乾固し, 各々の乾固物にそれぞれの CBG isotope solution を加えて, direct standard curves 作製時

のそれと同様に操作した。

G processed standard curves 作製並びに血漿中濃度の算出

試料の前処置同様, あらかじめ測定時毎回純品を試験管にとり, これを Nugent (1970) の提唱にしたがい, 試料と同様の抽出, 精製, 分離を行ない blank すなわち method interference factor (Reeves, 1970) を補正して processed standard curves を作製し, これを基準にして次の計算式より算出した。

$$\begin{aligned} & \text{血漿 100ml 中濃度} \\ & = \% \text{m}\mu\text{g} \times \frac{\text{ethanol used (ml)}}{\text{total ethanol}} \\ & \times \frac{100}{\text{recovery rate}(\%)} \times \frac{100}{\text{plasma}} \end{aligned}$$

H 回収率

本測定法における全操作後の回収率は F では 50 ± 9.2%, B は 51 ± 8.5%, E は 58 ± 10.3% であつた。

1. 精度

表1 Accuracy of the method

Standard added (m μ g)	5.0			10.0			20.0		
	F	B	E	F	B	E	F	B	E
Corticoids									
Estimated value (m μ g)	4.8	4.7	4.6	9.8	9.2	9.7	18.8	18.6	17.9
	5.2	5.2	5.1	10.4	9.8	10.5	20.3	20.4	18.5
	5.5	5.4	5.7	10.7	10.4	10.9	21.2	21.5	20.2
	5.6	5.5	5.9	10.9	10.6	11.6	22.7	22.3	21.6
	5.7	5.6	6.1	11.3	11.1	12.1	23.1	22.9	23.0
Mean	5.3	5.2	5.5	10.6	10.2	10.9	21.2	21.1	20.3
S.D	0.3	0.2	0.5	0.5	0.6	0.8	1.8	1.5	1.8
Coef. var (%)	6.1	4.3	9.8	4.7	6.4	7.7	7.4	7.2	9.3

表2 Precision of the method

Weeks of pregnancy	8			20			38		
	F	B	E	F	B	E	F	B	E
Corticoids									
Estimated value (μ g)	10.5	0.7	0.9	17.5	1.4	1.3	27.3	2.5	3.9
	10.6	0.8	0.9	18.2	1.5	1.4	28.5	2.8	4.1
	11.2	0.9	1.1	19.4	1.5	1.6	30.4	2.9	4.8
	11.9	0.9	1.2	19.6	1.6	1.7	30.6	3.1	5.2
mean	11.0	0.8	1.0	18.6	1.5	1.5	29.2	2.8	4.5
S.D	0.5	0.1	0.1	0.8	0.1	0.1	1.8	0.2	0.5
Coef. var (%)	5.0	7.4	12.5	4.6	5.8	10.0	6.4	7.6	11.2

本測定法における accuracy 並びに precision は表1, 2の如くであり, ほぼ満足すべき精度を有することを確認した。

IV. 実験方法考案

妊娠時の血漿中ステロイドは非妊時のそれに比し, 一般に著しく増加し, たとえば妊娠末期における estradiol は100倍(田, 1971), estriol は60倍(高木, 1971), progesterone は20倍(阿部, 1971), testosteroneは4倍(石井, 1972), cortisone は4倍, cortisol, corticosteroneは3倍となる。しかもこれらのうちのあるものが, CBGと結合して他のステロイドと競合するので著者は Nugent (1966), Beitins (1970) 等にしたがつて血漿を有機溶媒で抽出する前操作を行なつた。因みに未処置のままCBGと競合させる測定系では, 妊娠時血漿中に存在するこれらの競合性ステロイドは, その総てが反応し, 測定値を過大に導く恐れがあるので, これを避けるために著者は methylene dichloride で抽出した後, TLCで一回精製分離を行なつて競合性ステロイドの除去に務めて, ほぼその目的を達成しえた。

A cds の分離

FとEとはその極性がほぼ近似しているので TLCで展開すると, そのRf値は近似し分離が困難である。また paper chromatography では分離が良好となる反面, 展開には長時間を要し, また後述する如き夾雑物が混入する危険が多くなる。したがっていずれも実用上好ましい方法といえない。そこで著者はTLCの簡易性を重視して, F,B,Eをacetyl化して展開し, TLCでもその分離が良好であることを認めた。よつて以下の実験にはacetyl化に若干長時間を要するが, 著者はacetyl化後TLCで精製分離する方法を選んだ(図2)。

B. acetylated cds とCBGとの結合能について Sandberg (1966) によると F,B,E はそれぞれ90%, 82%, 62%の結合率を示すといわれる。他方著者の成績では F,B,E はそれぞれ85%, 80%, 77%であり, また cortisol acetate, corticosterone acetate, cortisone acetateのそれが, それ

図2 Separation of acetylated corticoids by TLC

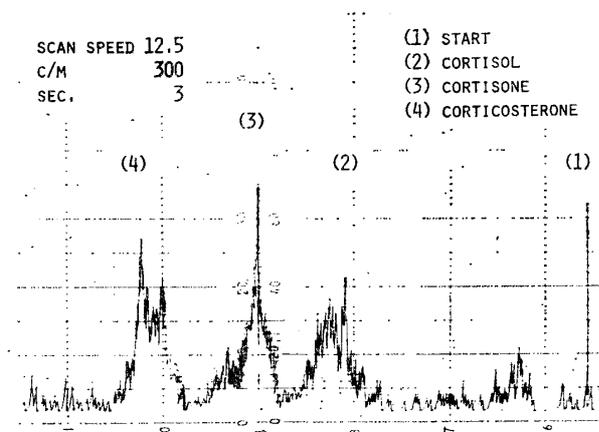
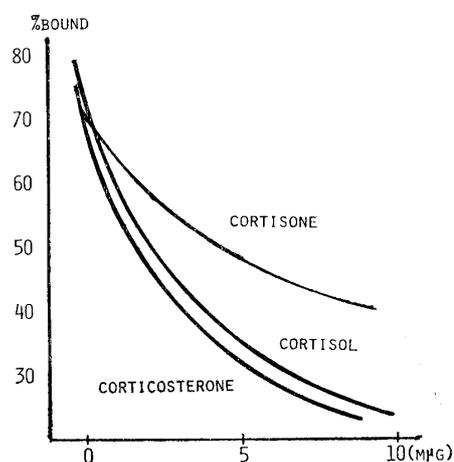


図3 Processed standard curves of corticoids



ぞれ80%, 75%, 70%の結合率を示しているのでacetyl化によって若干CBGに対する結合能は低下している。しかしacetyl化してもそれによるstandard curveは良好であるから(図3), cdsに関する限りacetyl化によるCPB法への影響は比較的少ないものとみなされる。

C blank の除去

CPB法はそのorderが μg であり, その感度が高い反面, 結合蛋白は他のステロイドや夾雑物とも結合する為, 他のステロイドや夾雑物を除去することが必要となる。前述した如く混在する他のステロイドはTLCの1回操作でほぼ除去されるが, 非ステロイド性の夾雑物はTLCやpaper chromatographyの過程で含まれ, paper chromatographyのそれではmethanolによる精製でその除去が容易でない。これに対してTL

図4 Plasma corticoids concentrations of various abnormal conditions in contrast with the ranges found in normal pregnancies and their puerperia

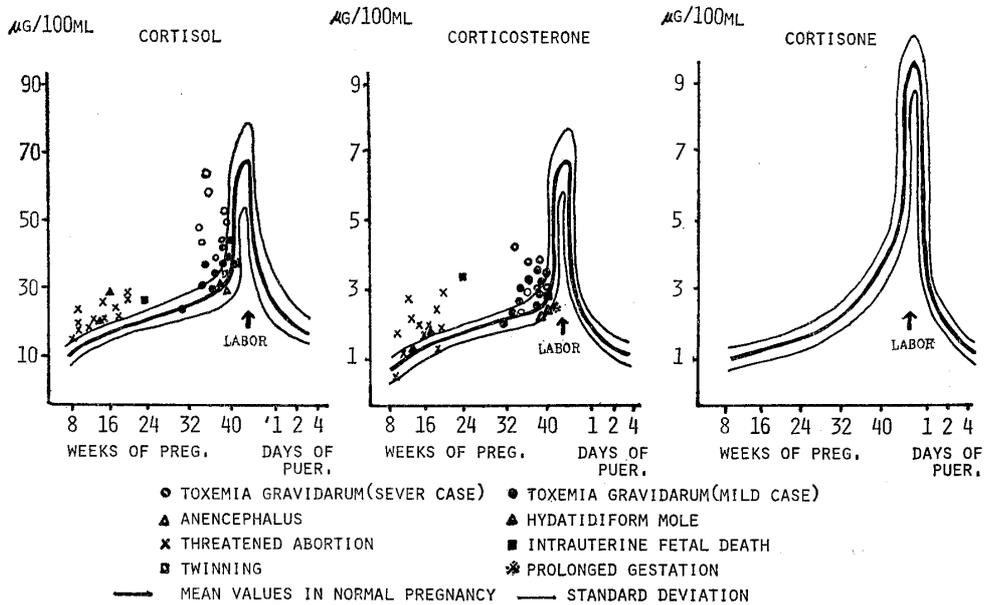


表3 Concentrations of cortisol in peripheral plasma under various conditions

	Values (μg 100ml)										mean	S.D.
	— 8	11.2	12.5	6.5	9.8	10.9	14.1	11.8				
Weeks of Pregnancy	9—12	14.1	15.6	21.9	13.7	16.2	12.7	14.3			15.5	2.8
	13—16	19.4	13.4	18.7	17.5	20.2	15.6	18.3			17.5	2.1
	17—20	24.0	22.1	15.2	17.2	16.7	13.6	18.5			18.1	3.1
	21—24	21.6	24.0	19.6	18.2	20.3	18.6	17.8			20.0	2.1
	25—28	34.0	27.2	22.0	17.4	20.5	25.6	23.4			22.8	5.1
	29—32	31.0	23.9	23.6	27.6	22.5	26.5	29.1			26.3	3.0
	33—36	28.6	32.6	35.2	31.2	27.6	24.8	30.1			30.0	3.1
	37—40	25.3	26.3	28.6	31.4	41.0	25.1	34.0	28.6	40.3	31.2	5.7
Days of Puerperium	Immed.	75.5	81.3	66.2	53.2						69.0	10.3
	1	28.5	19.8	21.5	35.5						29.4	6.9
	2	17.7	14.4	21.0	21.2						19.4	2.8
	3	14.6	10.1	16.8	22.5						18.1	4.9

Cのそれでは使用前あらかじめ methanol で3回精製することによつて、その目的が達成される。しかしこの際 KODAK 社製の chromagram を用いると、blank 値が最も低いと云われる反面 (Johanson, 1970, Reeves, 1970), 2回上行性に展開すると Rf 値が一定せず、したがつて分離が困難となるため、cds 分離に適さぬようである。一方 Merk 社製 G F 254薄層クロマトは精製による分離能は不変であるから、C P B法による cds 測定

にはこれが適しているものと思われる。

D binding protein の選択

従来C B Gとしてヒトならびに動物血漿が用いられている。著者は犬血漿を用いた。ヒト血漿を用いる場合は、0点の結合率が良好であっても、cds 添加にみるそれが良好でないため、使用に際して予め種々の薬剤を投与しておくことが必要となる (福地, 1968, Nugent, 1966). さらに犬では同一条件下で大量に血漿を採取することが可能であ

表4 Concentrations of corticosterone in peripheral plasma under various conditions

	Values (μg 100ml)								mean	S.D.
	— 8	0.75	0.76	1.05	0.98	0.90	0.85			
Weeks of Preg.	9—12	1.03	1.10	0.95	1.20	1.12	0.83		1.03	0.36
	13—16	1.52	1.68	1.28	1.34	1.51	1.13		1.41	0.21
	17—20	1.63	1.30	1.81	1.92	1.54	1.38		1.59	0.22
	21—24	1.31	1.68	1.43	2.04	1.51	1.67		1.60	0.22
	25—28	2.25	1.90	1.66	1.74	1.82	2.16		1.92	0.23
	29—32	1.75	2.61	1.65	2.32	1.81	2.38		2.06	0.36
	33—36	2.40	2.23	2.18	1.79	1.85	2.04		2.08	0.22
	37—40	3.42	2.82	2.01	2.76	3.10	2.98	2.83	2.78	0.43
Days of Puer.	Immed.	6.7	8.4	7.1	6.1				7.0	0.8
	1	1.2	1.7	1.9	1.6				1.6	0.3
	2	1.9	1.0	1.4	1.0				1.2	0.3
	4	1.3	0.6	1.0	1.2				1.1	0.2

表5 Concentration of cortisone in peripheral plasma under various conditions

	Values (μg 100ml)							mean	S.D.
	— 8	1.05	0.71	0.45	1.28	1.43	0.98		
Weeks of Preg.	9—12	1.61	0.92	1.26	0.68	1.04	1.10	0.31	
	13—16	1.82	1.25	1.08	1.63	0.93	1.34	0.33	
	17—20	2.11	1.68	0.95	1.32	1.12	1.43	0.42	
	21—24	1.05	1.28	1.59	2.18	1.50	1.53	0.37	
	25—28	1.53	1.68	2.05	1.23	2.37	1.77	0.39	
	29—32	2.65	1.61	3.23	2.93	1.96	2.47	0.60	
	33—36	3.22	3.68	2.76	4.21	3.04	3.38	0.51	
	37—40	4.97	3.06	5.37	3.61	4.24	4.25	0.84	
Days of Puer.	Immed.	10.3	11.2	7.4	9.8		9.7	1.4	
	1	3.2	1.6	2.5	1.8		2.3	0.6	
	2	1.8	2.2	1.6	0.9		1.6	0.4	
	4	0.5	1.4	0.9	0.6		0.9	0.3	

る。本測定法は血漿中のステロイド含量によつて測定値がかなり影響されるので、著者は測定時、同一血漿を使用してその精度を一定にするため犬血漿を使用した。

V 実験成績

A 正常妊産褥婦末梢血における血漿 cds 濃度 (図4, 表3, 4, 5)。

1) F 濃度: 各妊娠週数における末梢血中濃度は表に示した如くである。すなわち血漿 100ml 中に含まれる F 濃度は、妊娠 8 週までは $10.9\mu\text{g}$ (以下平均値) 9~12 週では $15.5\mu\text{g}$, 21~24 週

は $20.0\mu\text{g}$, 25~28 週では $22.8\mu\text{g}$, 29~32 週では $26.3\mu\text{g}$, 33~36 週では $30.0\mu\text{g}$, 37~40 週では $31.2\mu\text{g}$ であり、分娩直後では $69.0\mu\text{g}$, 産褥第 1 日では $29.4\mu\text{g}$, 第 2 日では $19.4\mu\text{g}$, 第 4 日では $18.1\mu\text{g}$ であつた。すなわち F 濃度は妊娠週数の増加に伴つて順次増加し、妊娠 29~32 週でその傾向は一層大となり、産褥第 4 日目にほぼ非妊時の値に下降した。従つて妊娠時の F 濃度は非妊時のそれに比べて妊娠末期ではほぼ 3 倍となり、分娩直後で約 6 倍となる。

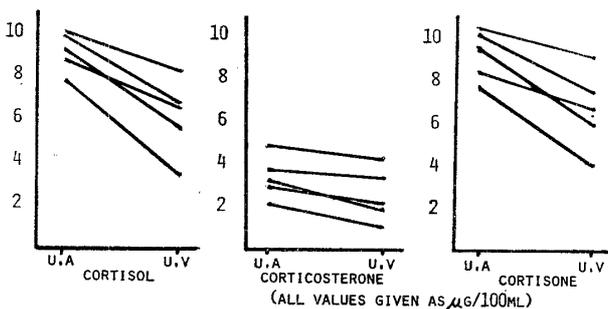
2) B 濃度: 妊娠時の血中 B 濃度は妊娠 8 週までは $0.88\mu\text{g}$, 9~12 週では $1.03\mu\text{g}$, 13~16 週では $1.41\mu\text{g}$, 17~20 週では $1.59\mu\text{g}$, 21~24 週では $1.60\mu\text{g}$, 25~28 週では $1.92\mu\text{g}$, 29~32 週では $2.06\mu\text{g}$, 33~36 週では $2.08\mu\text{g}$, 37~40 週では $2.78\mu\text{g}$ であり、分娩直後で $7.1\mu\text{g}$, 産褥第 1 日目 $1.6\mu\text{g}$, 2 日目 $1.2\mu\text{g}$, 4 日目 $1.1\mu\text{g}$ であつた。すなわち B 濃度は妊娠 24 週頃まで比較的緩徐に増加し、36 週頃よりその増加の傾向が大となり、分娩直後に最高となり、その後は比較的速かに下降し、産褥 4 日目のそれが非妊時のそれに一致している。したがつて妊娠時の血漿 B 濃度は非妊時のそれに比較し、妊娠末期で約 3 倍、分娩直後で約 7 倍の増加を示している。

3) E 濃度: 妊娠 8 週までは $0.98\mu\text{g}$, 9~12 週

では $1.10\mu\text{g}$, 13~16週では $1.34\mu\text{g}$, 17~20週では $1.43\mu\text{g}$, 21~24週では $1.53\mu\text{g}$, 25~28週では $1.77\mu\text{g}$, 29~32週では $2.47\mu\text{g}$, 33~36週では $3.38\mu\text{g}$, 37~40週では $4.25\mu\text{g}$ であり, 分娩直後で $9.7\mu\text{g}$, 産褥1日目 $2.3\mu\text{g}$, 2日目 $1.6\mu\text{g}$, 4日目 $0.9\mu\text{g}$, であつた. したがつて妊娠時のE濃度は妊娠28週頃までは比較的緩徐に増加し, その後急増して分娩直後に最高となり, その後は順次減少して産褥4日で非妊時のそれにほぼ一致した. 従つて妊娠時のE濃度を非妊時のそれと比較すると, 妊娠末期で約4倍, 分娩直後で約10倍に増加している.

B 臍帯動, 静脈管血中の血漿 cds 濃度 (図5)

図5 A-V Differences of cortisol, corticosterone and cortisone concentrations in the umbilical cord vessels



1) F濃度: 正常分娩例にみる臍帯動脈管血中濃度は $9.1\mu\text{g}$, 静脈管血は $6.4\mu\text{g}$ であつた. すなわち動脈管血のF濃度は静脈管血のそれに比べて一層高値を示している.

2) B濃度: 動脈管血のB濃度は $3.4\mu\text{g}$, 静脈管血のそれは $2.7\mu\text{g}$ であり, 動脈管血でやや高値を示している.

3) E濃度: 動脈管血のE濃度は $9.5\mu\text{g}$, 静脈管血のそれは $6.8\mu\text{g}$ であり, 動脈管血で高値を示している.

C 異常妊娠時の血漿 cds 濃度 (図4)

1. 切迫流産

1) F濃度: 妊娠9~12週にみるF濃度は $17.3\mu\text{g}$, であり, 13~16週のそれは $19.9\mu\text{g}$ 17~20週のそれは $22.5\mu\text{g}$, であつた. したがつて同一週数

の正常妊婦のそれぞれに比べていずれもやや高値を示している.

2) B濃度: 妊娠9~12週のB濃度は $1.5\mu\text{g}$ 13~16週のそれは $1.9\mu\text{g}$ 17~20週のそれは $2.0\mu\text{g}$ であつた. したがつて流産例では同一週期の正常妊婦のそれに比べて特に有意を認めることができない.

2. 妊娠中毒症

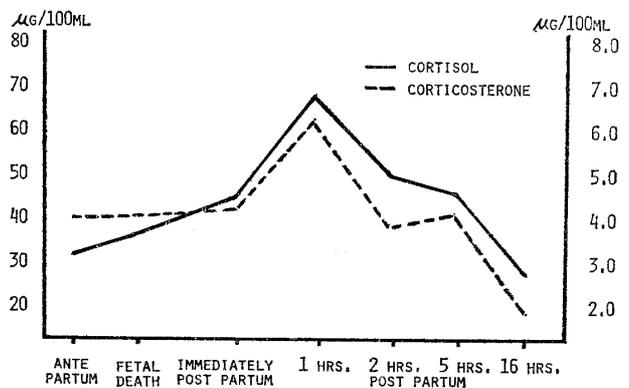
a. 重症例

1) F濃度: 妊娠33~36週のそれは $52.0\mu\text{g}$, 37~40週のそれは $45.0\mu\text{g}$ であつた. したがつて同一週期の正常妊婦に比べていずれも著しい増加を示している.

2) B濃度: 妊娠33~36週のそれは $3.1\mu\text{g}$, 37~40週のそれは $3.2\mu\text{g}$ であつた. したがつて同一週期の正常妊婦のそれに比べて高値といえる.

次に妊娠36週の重症妊娠中毒症患者にみる血中F, B濃度の逐時的变化をみると (図6), 分娩8

図6 Concentration of plasma cortisol and corticosterone in toxemia gravidarum prior to, during labor and post partum



時間前のそれは $34\mu\text{g}$, であり, B濃度は $4.0\mu\text{g}$ であつた. この時点における胎児は生存し, 陣痛は未だ発来していない. 分娩3時間前に子宮内胎児死亡が確認され, またこの時点で陣痛が発来し, その場合のF濃度は $37\mu\text{g}$ であり, B濃度は $4.1\mu\text{g}$ であつた. また分娩直後のそれを求めるとF濃度は $44\mu\text{g}$, B濃度は $4.2\mu\text{g}$ となり分娩1時間後にF濃度は $67.5\mu\text{g}$, B濃度は $5.7\mu\text{g}$ でピークとなり, 2時間後F濃度は $27\mu\text{g}$, B濃度は 2.6

μg となつた。

b. 軽症例

1) F 濃度: 妊娠33~36週のそれは $29.8\mu\text{g}$, 37~40週のそれは $36.1\mu\text{g}$ であり, 同一週期の正常妊婦のそれに比べてやや高い。

2) B 濃度: 妊娠33~36週のそれは $2.5\mu\text{g}$, 37~40週のそれは $2.8\mu\text{g}$ であり, 同一週期の正常妊娠のそれに比べて特に有意の差は認めることが出来なかつた。

考 案

妊娠時末梢血中の cds が増加することは周知の事実である。著者の成績では, 妊娠8週までのそれにみる F 濃度は $10.9\mu\text{g}$ であり, 妊娠の進行とともに漸増し, 妊娠37~40週では $31.2\mu\text{g}$ となるので, 妊娠初期のそれに比べてほぼ3倍量の増加となつている。さらに分娩後急増して $69.3\mu\text{g}$ となり, 以後漸減し, 産褥4日目ほぼ非妊時のそれに回復しており, B, E 濃度のそれにもほぼ同様の傾向を認める。したがつてこの成績は従来の報告例にみるそれと比較的よく一致し, 妊娠時の血漿中 F 濃度の増加を確かめたことになる。しかし妊娠時, これに関連づける副腎機能の亢進が臨床的には明らかでない。現在その理由に対して Booth (1961) は血漿 cortisol の増加に比例して C B G が増加し, 活性型の非結合型 cortisol はその絶対量が増加しないためであると述べている。しかし Doe (1964, 1969) によると非結合型 cortisol は非妊時の $1.2 \pm 0.5\mu\text{g}$ (9:00 AM) に対して, 妊娠末期のそれは $2.62 \pm 0.34\mu\text{g}$ (9:00 AM) となり, 両者の値に有意の相違を認めるとし, また妊婦の副腎皮質機能には cushing 症候群様の状態が現われるとされている。しかしなかには妊娠時の cortisol 分泌量は非妊時のそれにほぼ等しいとする報告もあり (Cohen, 1958), 妊婦体内で cds 分泌亢進をみるにはなお問題がある。したがつて妊娠時にみる血漿中 cds 濃度の増加は, C B G をはじめとした生体内の貯留機構が主体となつており, むしろこれが作動するための結果であろうとする考え方が妥当であろうと思われる。

表6 A Comparative summary of our findings and published data in umbilical cord plasma

authors	method	source	cds	values
Ulstrom (1961)	Isotope dilution	Mixed	F	8.5
Aarskog (1965)	Fluorometric	Mixed	F	19.5 ± 3.9
Steenburg (1966)	Fluorometric	Mixed	F	14.9 ± 6.1
Hillman (1965)	Double isotope derivative	Mixed	F	7.8 ± 4.8
			E	13.6 ± 4.9
Schweitzer (1969)	Double isotope derivative	Mixed	F	3.6 ± 1.5
			E	9.0 ± 1.4
			B	0.3 ± 0.2
Kawada (1970)	C.P.B.A	Mixed	F	17.4 ± 6.3
Present	C.P.B.A	U. vein	F	6.4 ± 1.5
			E	6.8 ± 1.7
			B	2.7 ± 1.3
		U. artery	F	9.1 ± 0.9
			E	9.5 ± 1.6
			B	3.4 ± 1.1

(all values given as $\mu\text{g}/100\text{ml}$)

F: cortisol

B: corticosterone

E: cortisone

次に新生児の臍帯血 cds 濃度は, 表6にみる如き報告がある。しかしこれらはいずれも動静脈管血をそれぞれ分離して測定したものではない。また cds の種類も cortisol に限つたものが多いといえる。そこで分娩時の胎盤を中心とした母体の末梢血と臍帯血とで, その individual corticoids を求めてその濃度分布を比較すると母体末梢血 cortisol は著者をはじめとした諸家の報告例がいずれも8~10倍の増加を示している。これに対して cortisone のそれは Hillmann (1965) によると2.5倍, Schweitzer (1969) によると1.5倍臍帯血に高いといわれる。しかし著者のそれでは有意の増加を認めることができなかった。次に corticosterone は Schweitzer (1969) によると母体末梢血が5倍高いとしており, 著者の成績でも3倍の高値を認めている。

したがつてこの成績より分娩時は胎盤を中心と

して、母児双方にみる分布濃度が cds の種類によつて若干相違をみるが、その理由や機構についてはなお明らかでない。

次に Megion (1961) によると標識 steroids を妊娠中期ならびに末期婦人の肘静脈より注入して、これらの胎児への移行について検討すると、cortisol の母体末梢血ならびに臍帯血放射能比は 2~5 : 1 となり、corticosterone のそれは 1 : 1 であるとし、この実験にみる cortisol と corticosterone との濃度分布の相違は母児のそれぞれにみるステロイド結合蛋白濃度の違いによつて起るとしている。たとえば Sandberg (1966) によると妊娠末期に母体末梢血中の C B G は 3 倍に増加するとし、また坂田 (1972) によると妊娠末期のものでは母体の血漿ステロイド結合能は増加するが、これに対して胎児のそれでは極めて低いとしている。したがつてこの成績より少なくとも C B G に関連した外因性ステロイドの分布はこの様な機序で営まれていると解して差支えなく、母児それぞれの内因性 cortisol と corticosterone も C B G に関してはほぼ同一の機構によつて調節を受けるのであらうと思われる。

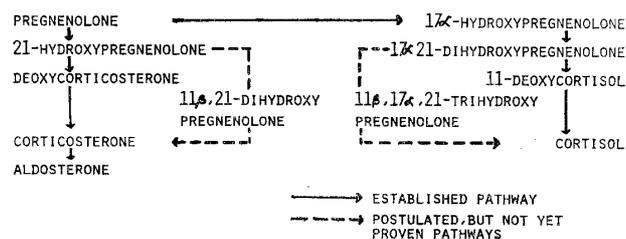
さらに cortisone のそれについても母児双方でほぼ等しいが、あるいは胎児側に若干高いといえるので、この濃度分布よりすると前述した Megion 説では依然その説明が困難である。しかし Olinske (1960) によると母体の cortisol は胎盤を通過し、胎児側に移行するとし、この際 cortisol が胎盤の 11 β hydroxysteroid dehydrogenase によつて還元される為のものであらうといわれる。すなわちこのことは胎児側 cortisone が母体由来のものであることを示した見解の一つである。これに対して Hillman (1965) は新生児血にみる cortisone 濃度の推移を追及して、生及引続いて増加傾向を認めることより、胎児の cortisone の母体由来説には疑問の余地があるとして、cortisol より cortisone への転換には胎児肝あるいは胎児血そのものが関与するのであらうとしている。したがつて胎児血の cortisone が如何なる機序によつて高濃度を維持するのかその見解はなお一定していない。しか

しこの問題に関して著者は後述する如く、臍帯動、静脈管血の濃度差より、一部の cortisol は胎児側で産生分泌されることを実証している。すなわち胎盤を中心としてみた場合これらの個々の corticoids 分布は異なつており、これの調節機構の詳細についてはなお明らかでない。しかし胎盤を中心として母児双方でこれらの 3 種類の cds の濃度の総和を比較すると母体側のそれは極めて高く、胎児側のそれは非妊婦のそれにほぼ等しいことになる。

ところで澤崎 (1953) 及びその一門によると、妊娠時は蛋白代謝が亢進することを実証し、またその内因の一つにステロイドがあずかることを主張している。したがつてこのことを cds の生理作用を含めて検討すると、たとえば妊娠時は胎盤を中心として、母体側には異化作用が強いとされる cds が高濃度にあり、これに対して胎児側には同化作用が強い dehydroepiandrosterone sulfate が増加し、ともに調和した異化及び同化作用を営なみ、特異な代謝様相を展開して胎児発育の至上目的を達成するものと解される。この際 cds の胎盤通過は比較的容易とみなされるので、胎児側 cds の分泌源についても母体依存、胎盤分泌、ならびに胎児の副腎分泌に由来するとの説があり、これも亦今日尚未解決の問題である。

しかし Block (1959), Solomon (1958) によるとそれぞれ slice level, homogenate level においては産生が認められるとされるが、perfusion level におけるそれを見ることできない。わずかに Block (1958), Bird (1965) による cds 産生を報告したそれを見るのみである。しかし近時 Pasqu-

図7 Δ^5 -C₂₁-Pathways for the synthesis of adrenocortical hormones in the adrenals of human fetuses at midgestation



alini (1968, 1970) は perfusion level においては従来の 4^{β} pathway の他, 図7に示した如き 4^{δ} pathway が存在するとしているので, 従来報告された諸家の成績を総合すると, 胎児の副腎皮質は恐らく妊娠中期より成人のそれとほぼ等しい cds の生成系酵素を有するが, in utero の状態では何かによつてその分泌が抑制され, 分泌量が少ないものと考えられる。

ところで前述した著者の研究成績は, 臍帯動静脈管血中にみる cds の濃度差より胎児にみるその分泌態様の実態を検討したものであり, このことは図4にみるごとく cortisol と cortisone とは, ともに臍帯動, 静脈管血濃度に相違があり, この濃度差よりすると臍帯血濃度のほぼ $1/3$ 量が胎児の副腎皮由来のものであろうとみなされる。したがつて残りの $2/3$ 量は母体あるいは胎盤由来のものとなる。しかしこれについては, さらに検討すべき余地が少なくない。

結論は概要に記載してある。

稿を終るに臨み, 御懇篤なる御指導と御校閲を賜わつた恩師澤崎千秋教授に深甚なる感謝の意を表わすと共に, 終始御教示御指導を戴いた高木繁夫助教授, 吉田孝雄講師並びに帝国臓器の神戸川明博士, また御協力を頂いた教室の各位に深謝致します。

なお本論文の要旨は第23回日本産科婦人科学会総会(高木繁夫助教授招請講演), 第43回日本産科婦人科学会関東連合地方部会総会, 日本内分泌学会東部々々6月例会(昭和46年)において報告した。

文 献

阿部 誠 (1971) : 日産婦誌, 23 : 1095.

- 田 根 培 (1971) : 日産婦誌, 23 : 1009.
 福地稔逸 (1968) : ホと臨床, 43 : 913.
 細木秀美 (1970) : 日内分泌誌, 45 : 1160.
 石井久淑 (1972) : 日産婦誌, 24 : 513.
 川田 肇 (1970) : 日内分泌誌, 45 : 1614.
 坂田寿衛 (1972) : 日産婦誌, 24 : 355.
 澤崎千秋 (1953) : 日産婦誌, 5 : 545.
 高木繁夫 (1971) : 第23回日本産科婦人科学会総会招請講演要旨.
 A arskog, D. (1965) : Acta paediat. Scand. Suppl, 158: 1
 Beitins, I.Z. (1970) : Steroids, 15: 765.
 Booth, M. (1961) : J. Endocr, 23: 25.
 Bray, G.A. (1960) : Anal. Biochem, 1: 279.
 Block (1964) : proceedings of the 2nd. International congress of Endocrinology, London
 Bird, C.E. (1966) : J. Clin. Endocr, 26: 1144.
 Cohe, M. (1958) : J. Clin. Endocr, 18: 1076.
 Doe, R.P. (1964) : J. Clin. Endocr, 24: 1029.
 Johansone, E.D.B. (1970) : Acta Endocr. Supple, 147: 188.
 Migeon, C.J. (1961) : Recent Prog. in hormone Ressearch 17: 207.
 Murphy, B.E.P. (1963) : J. Clin. Endocr, 27: 973.
 Olinski, P.A. (1960) Nature 187: 777.
 Nugent, C.A. (1966) : J. Clin. Endocr. 26: 1116.
 Nugent, C.A. (1970) : Acta Endocr. Supple, 147: 257.
 Peterson, R.E. (1960) : J. Biol. Chem, 235: 1639.
 Pasqualini, J.R. (1970) Acta Endocr, 63: 11.
 Reeves, B.D. (1970) : Acta Endocr, 63: 225.
 Sandberg, A.A (1966) : Steroed Dynamics, Editors G. Pincus, T. Nakao and J.F. Tait, Academic Press, New York, London.
 Solomon (1958) : J. Clin, Endocr, 26: 726.
 Schweitzer, M. (1969) : Steroids 14: 519.
 Ulstrom, R.A. (1961) : J. Clin, Endocr, 21: 414.

(No. 2527 昭47・4・6 受付)