

DHEA-17-oxime-BSA 抗体による妊婦血中 16 α -OH-DHEA (16 α -hydroxy dehydroepiandro sterone) の Radioimmunoassay

Development of Radioimmunoassay Method for 16 α -OH-DHEA Using DHEA-17-oxime-BSA

昭和大学医学部産婦人科学教室(主任:中山徹也教授)

大学院生 松 橋 一 雄 Kazuo MATSUHASHI

概要 妊娠時に著増する胎盤 estriol の主要 precursor として知られている16 α -OH-DHEA のRIAによる微量定量法を開発し、臨床応用に供した。1) ステロイドホルモンのRIAに必要な抽出・純化過程での回収率補正の為に、Specific activity の高い³H-labeled 16 α -OH-DHEA を微生物学的に生合成した。その純度は97.4%、S.a.は13.9 Ci/mM である。2) DHEA-17-oxime-BSA conjugate に対する抗血清が16 α -OH-DHEA と40%の交叉反応を示すことを応用し、本抗血清を用いてのAssay系を確立した。本抗血清と交叉反応を示す他のステロイドの Δ_5 Androstendiol, Pregnenolone, 17 α -OH-Pregnenolone の分離には薄層クロマトグラフィを用いた。これにより0~300pgの本ステロイドの測定が可能であり、accuracy及びprecisionの精度も満足すべきものであった。3) 胎児血、母体血中の本ステロイドとDHEA及びestrogenとともに測定した結果、① 16 α -OH-DHEA値は臍帯動脈血中に最も高く、DHEAと比べ約2倍の高値を示し、胎盤estrogenのprecursorとしての本ステロイドの役割の重要性が示唆された。② 胎児切迫仮死例では、正常例に比べ臍帯動脈血中の16 α -OH-DHEAの低下が著しく、且つこれと平行に母体血中estrogen値の低下がみられ、低下の程度は新生児のApgar score 7以下の重症例で特に著しかったことから、母体血中のestrogen測定が胎児の16 α -OH-DHEA産生能の指標となり得ることが示唆された。

緒 言

妊娠時に著増するestrogen特にestriolの生成機構についてはDiczfalucy(1966)中山等(1970)の研究があり、その材料は胎児副腎からDHEA, DHEA-sulfateの形で生成され、これが胎児・胎盤ユニットで加工されてestriolまで転換されることが明らかにされた。そして、この胎盤estriolのprecursorとしては、胎児副腎或は肝臓でDHEAから転換される16 α -OH-DHEAが主であるとの知見から(Diczfalucy, 中山), 胎児血中の16 α -OH-DHEA測定法が胎児の副腎-肝臓系機能の指標となり得ると考えられる。この16 α -OH-DHEA測定法としては従来は化学的な方法が応用されており、Colás et al. (1964), Magendantz

et al. (1964), Arai (1972)の報告があるが、方法的にその敏感度や精度については限界があった。近年RIAの進歩により血中の微量な各種のステロイドホルモンの測定が可能となつたが、16 α -OH-DHEAについては未だ報告がない。ステロイドホルモンのRIA上の問題点の1つは特異性の高い抗体の作製であり、第2は抽出・純化過程での回収率補正の為に必要なSpecific activity及び純度の高い³H-labeledステロイドの合成である。第2の点、即ちSpecific activityの高い³H-labeled 16 α -OH-DHEAを微生物学的に生合成することに成功したので、これを抽出・純化過程の回収率の補正に応用し、第1の点はDHEA-17-oxime-BSA抗体が16 α -OH-DHEAと約40%交

又反応を示すことからこれを抗体として用いることにより 16α -OH-DHEA の新しいRIA法を開発した。本法により胎児血及び母体血中の本ステロイドをDHEA及びestrogenとともに測定し、本法が臨床応用上価値あることを知ったので報告する。

第I章 ^3H -labeled 16α -OH-DHEA の微生物学的合成

飯田貢博士(東京理大)の協力を得て下記の如く行なつた。

1) 供試菌株 *Streptomyces roseochromogenus* ATCC 13400及び *Streptomyces roseochromogenus* NRRL B 1233 がDHEAの 16α -hydroxylation を特異的に起し 16α -OH-DHEA を生成することを確認したので、後者を応用することにした(Iida, M., Matsubashi, K., Nakayama, T., 1975)。

2) 培養法

ペンネト斜面培地上に本菌株を 27°C 48時間生育させた後、我々の培地(3% glucose, 2% soybean meal, 0.22% soybean oil, 0.25% CaCO_3 , pH 7.2) 100ml に接種し、500ml 容三角フラスコ中で 27°C 18時間振盪培養(220rpm)した。この時点で、 ^3H -labeled-DHEA (Specific activity 13.9Ci/mM, New England Nuclear) の 1.9×10^9 dpm を N,N-dimethyl formamide 0.5ml に溶解して培地に添加し、更に5分間培養を行なつた。

3) 抽出・純化法

上記培養液からステロイドを CH_2Cl_2 100ml で3回抽出した後、抽出物は薄層クロマトグラフィ上(TLC-plate silicagel 60, Merck)を用い Chloroform: Methyl alcohol 97:3の system をもつて展開し、 16α -OH-DHEA 部分を純化した。これにより ^3H -labeled 16α -OH-DHEA と目される放射能 1.1×10^9 dpm を得た。次いで、更に4回の薄層クロマトグラフィにより 16α -OH-DHEA 部分を純化した。(Chloroform: Methyl alcohol 97:3 \times 2回, Cyclohexane: Ethyl acetate 1:1 \times 2回, 計4回)。

4) 生成物質の同定並びに純度検定

以上により精製した物質は 2.5×10^7 dpm の放

射能をもつていたが、以下により本物質が ^3H -labeled 16α -OH-DHEA であることが同定された。i) Radio-thin-layer-chromatography; Packard model 7201を用いての CHCl_3 : MeOH 1:1の system で Rf. 0.24の 16α -OH-DHEAに相当する単一の部分に放射能があることが Radio-autography でも確認された。ii) Radio-gas-chromatography; OV-17 Column にて 16α -OH-DHEA に一致する部分(保持時間(分)11.4)に単一 peak を認めた。iii) 再結晶法: 純品の 16α -OH-DHEA 8mgを加え Methanol を溶媒として再結晶を行なつたところ、表1の如く、結果の Specific activity(dpm/mg)

図1 Radio-Gas-Chromatogram of [^3H] 16α -OH-Dehydroepiandrosterone produced

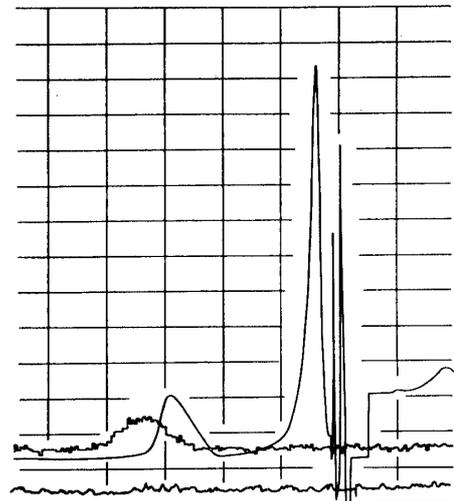


表1 Identification and radiochemical purity of [^3H] 16α -hydroxy-dehydroepiandrosterone produced

Recrystallization	[^3H] 16α -OH-DHEA		
	Radio activity (dpm)	Weight (mg)	Specific activity (dpm/mg)
1 st.	53430	5.724	9334
2 nd.	44001	4.924	8936
3 rd.	36353	4.294	8466

Initial radioactivity of 16α -OH-DHEA 122000dpm

Final radioactivity of 16α -OH-DHEA

(after 3rd recrystallization)

118800dpm

Purity of 16α -OH-DHEA

97.4%

16α -OH-DHEA = 16α -hydroxy-dehydroepiandrosterone

は連続3回一致, Axerlod の検定基準に合致した. 本試験によれば生成物質の ^3H -labeled $16\alpha\text{-OH-DHEA}$ としての純度は97.4%である (図1, 表1).

第II章 $16\alpha\text{-OH-DHEA}$ の RIA

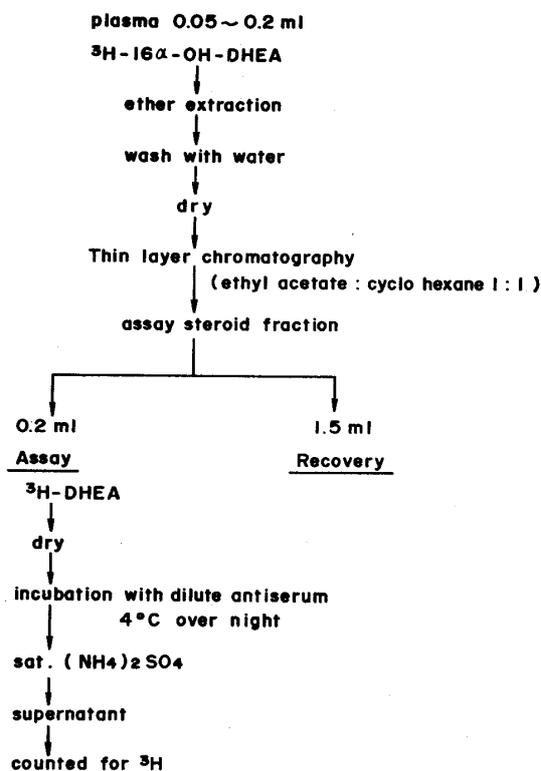
1) 実験材料

i) 抗血清; DHEA-17-oxime-BSA conjugate に対する抗血清を用いたが, 同抗血清は大沢仲昭・関原久彦博士 (東京大学第三内科) の好意により提供されたものである. 同 conjugate を家兎に約2年間免疫して得られた抗血清を borate buffer (0.05M, pH 7.8) にて10倍に希釈して使用した. ii) ^3H -labeled $16\alpha\text{-OH-DHEA}$; 上述の方法で生合成したものを, 2,000cpm/0.1ml Methanol 溶液とし検体ごとに加えて回収率を補正した. iii) ^3H -labeled $7\alpha\text{-DHEA}$ (Specific activity 22.4 Ci/mM); New England Nuclear より入手, 薄層クロマトグラフィ (Benzen: Methanol 1 : 1) で純化した後, methanol に溶解して 4°C に保存した. なお純化は1カ月毎に行なつた. iv) 純品ステロイド; $16\alpha\text{-OH-DHEA}$ 及び本法での交叉反応の検討に用いた各種のステロイドは全て IKAPHARM LTD. より入手し, 薄層クロマトグラフィ及び融点測定により純化を確認したのち, methanol で希釈し 4°C に保存し用いた. v) 薄層クロマトグラフィ用のシリカゲル; TLC Plate Silicagel 60 pre-coated Merck を充分乾燥したものを使用した. vi) ペプシン処理ガンマグロブリン; Gamma Venin, Hoechst Japan. を用いた. vii) Bovine serum albumin(BSA); Armour Pharmaceutical Co. 製のものをを用いた. viii) 有機溶媒; methanol, toluene, ethyl acetate, cyclohexane 等は和光純薬製の analytical grade のものをそのまま用いた. ix) 放射能測定; シンチレーター用の P P O, 及び POPOP は Packard Instrument Co. のものを用い Aloka Model LSC-602液体シンチレーションスペクトロメーターを使用し, external standard 法により測定した.

2) 測定方法の概要

測定方法の概要を図2に示した. i) 血清中の

図2 The procedure of the measurement



$16\alpha\text{-OH-DHEA}$ の抽出及び純化法; 血清0.05~0.2mlに回収率補正の為 ^3H - $16\alpha\text{-OH-DHEA}$ 2,000 cpm を加え, 10ml の ethyl ether を更に加えて10分間振盪した後3000rpm で30分間遠心沈澱し血清部分を分離した後, ethyl ether 層をとり, 蒸留水 1 ml で洗滌した後, 温浴槽上で窒素ガスで乾固した. これを 0.1ml の acetone に溶解して薄層クロマトグラフィ (ethyl acetate: cyclohexane 1 : 1) で展開, $16\alpha\text{-OH-DHEA}$ 部分を削り取り, ethyl acetate: n-hexane 2 : 1 溶液10ml (5 ml \times 2) で抽出し 37°C 温浴槽上にて窒素ガスにて乾固した. 乾固分を正確に 2 ml の methanol に溶解し, うち 1.5ml は回収率補正用とし, 0.2 ml ずつ2本を R I A に用いた. 回収率補正用の分にはシンチレーター (P P O 4 g, POPOP 0.2 g, methanol 50ml を toluene 950ml に溶解) 10ml を加えて count した. ii) R I A の手技; 各濃度の $16\alpha\text{-OH-DHEA}$ の標準溶液 (標準曲線用) 或は検体から抽出・純化した溶液 0.2 ml を, 37°C の温浴槽内で窒素ガスで乾固した後, 0.5ml の抗 D H E A 抗血清 (0.05M, pH 7.8

の borate buffer による 1 : 20000 希釈液, 10000 dpm DHEA- $7\text{-}^3\text{H}$ ・0.075% B S A 及び 0.025% γ -globulin を含む) を加え, 30 秒間 vortex で振盪後, 4°C 一昼夜 incubation した. incubation 後飽和硫酸アンモニウム 0.5ml を加え直ちに vortex にて 1 分間振盪し, 10 分間そのまま 4°C に放置し 3000rpm で 30 分間遠心沈澱し, 上清 0.5 ml に Bray のシンチレーター 10ml を加えて放射能を count した.

3) 本測定法の検討

i) 抗体の希釈度と標準曲線; 抗血清を 10000 倍, 15000 倍, 20000 倍に希釈し 16α -OH-DHEA 0 ~ 500pg の間で標準曲線を抽くと, ① 0 pg の % free は希釈と共に上昇していること, ② 0 ~ 100pg の間では 20000 倍でかなり急峻な曲線が得られること, ③ 実際の測定に应用される 0 ~ 300pg ではその % free の上昇度の著明な 20000 倍希釈の抗血清を用いるのが適当であることが明らかとなった. 図 3 に 20000 倍希釈の抗血清を用いた場合の標準曲線を示した. ii) 抗血清と関連ステロイドとの交叉反応; 表 2 に示す各種

図 3 Standard curve for 16α -OH-DHEA (1:20000 dilution)

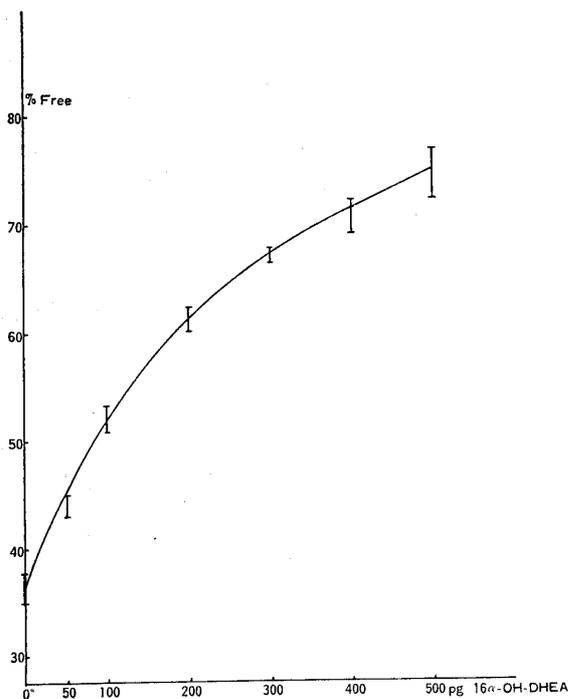


表 2 Relative potency of displacement ability (DHEA 100%)

1. Adrenal Corticoids	Estrone	3	
Cortisol	0%	Estradiol	4%
Corticosterone	4	Estriol	3
Deoxycortisol	0	4. C ₁₉ Steroids	
Deoxycorticosterone	4	Testosterone	4
	4	Androsterone	3
Aldosterone	0	Epiandrosterone	9
2. Progestins		Etiocolanalone	
Progesterone	3		8
17α-OH		Androstenedione	
Progesterone	0		2
Pregnenolone	22	Androstenediol	28
17α-OH		DHEAS	7
Pregnenolone	19	5. Cholesterol	0
3. Estrogens		6. 16α-OH-DHEA	40

表 3

Rf-value on TLC	
Androst-5-en-3β-ol-17-one	0.3
16α-OH-DHEA	0.15
Pregn-5-en-3β-ol-3-one	0.34
Pregn-5-en-3β, 17α-diol-3-one	0.26
Androst-5-en-3β, 17β-diol	0.25

の関連ステロイドについて, 各々の 0, 25, 50, 100, 200, 300, 500, 1000pg を用いて標準曲線を抽き, その displacement ability から各ステロイドの交叉反応を検討した. DHEA を 100% とすると 16α -OH-DHEA は 40% の交叉反応を示した. その他の主な交叉ステロイドとしては, Androstenediol 28%, Pregnenolon 22%, 17α -OH-Pregnenolone 19% 等がある. なお血清中に比較的少量に含まれるステロイドの cholestrol, cortisol, estrogen では交叉反応は極く僅かであった. 以上の成績から, 16α -OH-DHEA を本抗血清を用いて測定する為には, DHEA, Androstenediol, Pregnenolone, 17α -OH-Pregnenolone との分離が必要となる. これ等のステロイドは薄層クロマトグラフィ (ethyl acetate: cyclohexane 1 : 1 × 2 回) により 16α -OH-DHEA とは完全に分離可能であった (表 3). iii) 精度; Accuracy 及び Precision についての検討成績を表 4 に示した.

表 4
Accuracy of the Assay

16 α -OH-DHEA added	16 α -OH-DHEA recoverd (M \pm SD)	Recovery (%)	C.V. (%)
0	0		
1ng	0.96 \pm 0.13	96 \pm 13	14
10ng	10.26 \pm 0.87	102 \pm 8	8
20ng	19.44 \pm 1.16	97 \pm 5	6

Precision of the Assay

	(M \pm SD)	(C.V.)
Intra Assay		
Sample 1	22.14 \pm 0.88	4
Sample 2	5.46 \pm 0.46	8
Inter Assay		
Sample 3	23.82 \pm 0.52	3
Sample 4	5.64 \pm 0.22	4

① Accuracy; 蒸留水に純品の16 α -OH-DHEAを1, 10, 20ng加えた際のRecoveryはそれぞれ96 \pm 13, 102 \pm 8, 97 \pm 5%であり, 変動係数は, それぞれ14, 8, 6%と良好であった。② Precision; Intra Assay及びInter Assayの変動係数が共に10%以内であり満足すべき結果が得られた。

第III章 臨床応用例

同一例について胎児血及び母体血中の16 α -OH-DHEAとともにDHEA及びestrogenを測定し, 比較検討した。なおDHEAは関原法(1972), estrogenは高橋法(1975)に従ってRIAにより定量した。

1) 分娩時に於ける胎児血及び母体血中の16 α -OH-DHEA, DHEA及びestrogen値

正常分娩29例についての平均値を表5に示した。① 16 α -OH-DHEA値; 臍帯動脈血が最も

高値を示し(22.16 \pm 11.73ng/ml), 臍帯静脈血(14.31 \pm 9.61ng/ml)がこれに次ぎ, 母体血では最も低かつた(6.13 \pm 9.61ng/ml)。なお, 胎児血中では16 α -OH-DHEAはDHEAの約2倍の高値を示し, 胎盤estrogen precursorとしての重要性が示唆された。② DHEA値; 臍帯動脈血では臍帯静脈血よりも高いが, 母体血中では, 臍帯動脈血とほぼ同等の値であった。③ estrogen値; 16 α -OH-DHEAと異なり, 臍帯動脈血中で最も低く, 臍帯静脈血及び母体血中では高値であった。このことは①・②の成績を考え合せると臍帯動脈中の16 α -OH-DHEA及びDHEAは胎盤でestrogenに転換され, これが臍帯静脈及び母体側に大量に移行することを示唆している。

2) 妊娠週数と母体血及び臍帯動脈血中の16 α -OH-DHEA及びDHEA値

妊娠週数による変化を表6に示したが, 母体血に於ては16 α -OH-DHEA及びDHEA値に著明な変動はない。臍帯動脈血に於ては16 α -OH-DHEA及びDHEA値共に39週から41週までは週数につれて値が上昇する傾向があり, 42週ではやや低値を示した。このことは胎児副腎のandrogen産生能は妊娠41週までは上昇するが, 42週に入ると低下の傾向があることを示唆している。

3) 胎盤重量及び新生児体重と臍帯動脈血中16 α -OH-DHEA及びDHEA値

臍帯動脈血中16 α -OH-DHEA及びDHEA値は胎児の副腎及び肝臓系機能の指標となり得ると考えられるので, これと胎児付属物である胎盤重量及び新生児体重との相関を検したが, 16 α -OH-DHEA及びDHEA値ともに胎盤重量と相関は無く, 新生児体重とも相関しなかつた。

表5 正常分娩例に於ける母体血・臍帯動脈血・臍帯静脈血の16 α -OH-DHEA値とDHEA及びestrogen値の平均値(ng/ml)

	臍帯動脈血	臍帯静脈血	母体血
16 α -OH-DHEA (n=29)	22.16 \pm 11.73	14.31 \pm 9.61	6.13 \pm 3.05
DHEA (n=29)	11.45 \pm 7.68	7.16 \pm 4.70	13.37 \pm 8.83
Estrogen (n=29)	40.74 \pm 35.1	141.71 \pm 82.35	116.54 \pm 103.57

表6 妊娠末期に於ける母体血中・臍帯動脈血中の 16 α -OH-DHEA 及び DHEA 値 (ng/ml)

分娩週数		38	39	40	41	42
(n=)		2	11	8	5	2
母体血	16 α -OH-DHEA	6.1 \pm 4.3	5.2 \pm 2.8	7.2 \pm 3.0	5.8 \pm 2.6	7.2 \pm 1.1
	DHEA	13.0 \pm 2.5	12.4 \pm 7.4	14.6 \pm 11.3	10.1 \pm 6.3	14.6 \pm 1.6
臍帯動脈血	16 α -OH-DHEA	26.95 \pm 23.97	19.85 \pm 7.15	20.03 \pm 11.06	29.70 \pm 14.41	16.10 \pm 11.87
	DHEA	20.45 \pm 21.95	10.42 \pm 6.17	10.62 \pm 4.51	14.16 \pm 8.91	5.65 \pm 1.48

表7 胎児切迫仮死例に於ける母体血中 16 α -OH-DHEA 値と DHEA 及び estrogen 値の比較 (ng/ml)

	正常分娩例	胎児切迫仮死例	Apgar score 10	Apgar score 9~8	Apgar score 7~
(n=)	29	8	10	25	2
16 α -OH-DHEA	6.13 \pm 3.05	8.05 \pm 4.42	7.8 \pm 2.7	5.7 \pm 2.8	6.0 \pm 4.1
DHEA	13.37 \pm 8.83	7.51 \pm 4.09	13.2 \pm 6.3	12.2 \pm 8.9	4.8 \pm 0.6
estrogen	116.54 \pm 103.57	70.03 \pm 38.80	103.2 \pm 67.9	114.3 \pm 102.7	26.3 \pm 3.3

表8 胎児切迫仮死例に於ける臍帯動脈血中 16 α -OH-DHEA 及び DHEA 値と臍帯静脈血中 estrogen 値の比較 (ng/ml)

	正常分娩例	胎児切迫仮死例	Apgar score 10	Apgar score 9~8	Apgar score 7~
(n=)	29	8	10	25	2
16 α -OH-DHEA	22.16 \pm 11.73	11.73 \pm 12.40	20.5 \pm 6.4	21.0 \pm 13.1	6.8 \pm 4.4
DHEA	11.45 \pm 7.68	7.61 \pm 5.95	13.7 \pm 7.1	10.1 \pm 7.1	4.0 \pm 0.2
estrogen	141.71 \pm 82.35	137.21 \pm 49.45	139.0 \pm 76.4	142.1 \pm 76.1	132.4 \pm 43.2

4) 胎児切迫仮死例に於ける 16 α -OH-DHEA と DHEA 及び estrogen 値

① 母体血 (表7) ; 胎児切迫仮死の8例では正常例に比べ 16 α -OH-DHEA 及び DHEA 値には有意差はないが, estrogen 値は有意に低値を示した ($t=2.00$). なお, 同症例の新生児の仮死の程度を Apgar score に従って分類してみると, score 7 以下の重症新生児仮死をおこした例では 16 α -OH-DHEA 及び DHEA には有意の差はないが, estrogen は著しく低値を示している. ② 胎児血 (表8) ; 臍帯動脈血中 16 α -OH-DHEA 及び DHEA と臍帯静脈血中 estrogen 値を検すると胎児切迫仮死例では 16 α -OH-DHEA は有意の

差をもつて低値を示す ($t=2.13$). DHEA 値も平均値としては低い有意差は無く, estrogen 値にも差は見られない. 特に新生児の Apgar score が7以下の重症仮死例では estrogen 値には差は無いが, 16 α -OH-DHEA は明らかに低く, DHEA もかなりの低値がみられ, 且つ 16 α -OH-DHEA の低下の方が DHEA のそれより著しい.

以上の如く, 胎児切迫仮死例については, 臍帯動脈血中では 16 α -OH-DHEA は明らかに低値を示して (DHEA も平均値は下がる), 胎児副腎一肝臓系機能の低下が窺われるが, 臍帯静脈血中 estrogen 値に有意差が無いのに対して, 母体血中では estrogen 値が明らかに低値を示すのに 16 α -

OH-DHEA 及び DHEA には有意差がみられないとの知見は興味深く、本症例で母体血中 estrogen 値の低下するのは胎盤 estrogen の材料としての胎児での 16α -OH-DHEA (及び恐らくは DHEA) の産生の減少に基因することが示唆される。

考案

1) ^3H -labeled 16α -OH-DHEA の生合成

16α -OH-DHEA のRIA 確立の為に、抽出・純化過程の回収率補正用の high specific activity をもつ ^3H -labeled 16α -OH-DHEA の合成が先決となる。low specific activity の本ステロイドについては既に Solomon et al. (1966) による報告があり、 16α -OH-Pregnenolon については high specific activity のものの生合成が報告されているが (Alfonso 1969), 16α -OH-DHEA については未だ報告がない。我々 (Iida, M., Matsubashi, K., Nakayama, T., 1975) は既報の如く *Streptomyces roseochromogenus* NRRL B 1233 により 97.4% の純度をもつ specific activity の高い (S.a. 13.9 Ci/mM), 本ステロイドの生合成に成功したことの意義は大きい。

2) 抗 DHEA-17-oxime-BSA conjugate 血清応用による 16α -OH-DHEA 測定法の開発

大沢・関原等により提供をうけた DHEA-17-oxime-BSA conjugate に対する抗血清が、 16α -OH-DHEA と 40% の交叉反応を示すことを応用した Assay 系を開発した。本抗血清はその他のステロイドとも交叉反応を示す為、 16α -OH-DHEA の抽出・純化過程でこれらのステロイドの分離が必要となるが、薄層クロマトグラフィ (ethyl acetate: cyclohexane 1:1×2回) により他のステロイドを分離することが出来た。但し、類似ステロイドの 16 -keto-Androstene-3-17-diol に関しては本薄層クロマトグラフィでも分離が困難であるので (桑原), 本法ではこのステロイドを含めての 16α -OH-DHEA 分画を測定していることになる。なお、胎児や母体血中の 16 -keto-Androstendiol 値は 16α -OH-DHEA に比べればかなり少ないとされている (矢内原)。本法により 0~300pg の本ステロイドの測定が可能であり、Accuracy や

precision の精度の点でも満足すべき成績が得られ、入手の比較的容易な DHEA-17-oxime-BSA conjugate 抗血清を用いて DHEA と 16α -OH-DHEA とを同時に測定することが可能となった。

3) 胎児血及び母体血中の 16α -OH-DHEA, DHEA, 及び estrogen 値

正常分娩例では、① 16α -OH-DHEA 値は胎児から胎盤に移行する臍帯動脈血中に最も高く、臍帯静脈や母体血では低値であること。② 臍帯動脈血中の本ステロイド値は DHEA のほぼ 2 倍の高値を示したこと。③ 一方 estrogen 値は臍帯動脈では最も低く、臍帯静脈血及び母体血中では高値を示すことなどから、胎盤 estrogen の precursor としては DHEA よりも 16α -OH-DHEA が量的にもより大きな役割を果していることが示唆された。

胎児切迫仮死例では、正常例に比べ母体血中の estrogen 値が有意差をもつて低下し (16α -OH-DHEA 及び DHEA には有意差はない)、臍帯動脈血中の 16α -OH-DHEA が明らかに低値を示す (DHEA の平均値も下がるが estrogen には有意差はない) ことから、本症例で母体血中 estrogen 値の低下するのは胎盤 estrogen の材料としての胎児での 16α -OH-DHEA (及び恐らくは DHEA) 産生の減少に起因することが示唆され、母体血中 estrogen 測定が胎児内分泌機能の示標となり得ることが示されたことは興味深い。なお血中の本ステロイドは free 型よりも sulfate 型の方が多いことが知られているので、抽出過程で solvolysis などの加水分解を行なつて後者を測定することが今後の方向となる。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導並びに御校閲を賜りました恩師中山徹也教授に深甚なる感謝の意を捧げます。本研究に御協力下さいました東京理科大学理学部応用化学教室講師飯田貢博士、及び東京大学医学部第3内科大沢仲昭博士・関原久彦博士、更に、本教室高橋諄学士に心から御礼申し上げます。なお本論文の要旨は第48回日本内分泌学会総会に於て発表した。

文 献

桑原 慶紀：私信

高橋 諱：未発表

矢内原巧：私信

Alfonso, H. Janoski., George, J. Doellgast. and William, G. Kelly (1969): STEROIDS, 13, 2, 179.

Arai, K., Kuwabara, Y., Kihara, K., Okinaga, S. and Sakamoto, S. (1972): Am. J. Obstet. Gynecol., 114, 812.

Colas, A., Heinrichs, W.L. and Tatum, H.J. (1965): STEROIDS, 5, 753.

Diczfalusy, E., Bolte and Wigvist, N. (1966): Acta. Endocr., 52, 583.

Iida, M., Matsuhashi, K. and Nakayama, T. (1975a):

Z. Allg. Mikrobiol., 15(3), 181.

Iida, M., Matsuhashi, K. and Nakayama, T. (1975b): Z. Allg. Mikrobiol., 15(3), 189.

J.L. Ruse and S. Solomon (1966): BIOCHEMISTRY, 5(3), 1065.

Magendantz, H.G. and Ryan, K.J. (1964): J. Clin. Endocr., 24, 1155.

Nakayama, T. (1970): Endocr. Jap., 15, 255.

Sekihara, H., Ohsawa, N. and Ibayashi, H. (1972): STEROIDS, 20(6), 813.

(No. 2946 昭 50・7・7 受付)