

目的：catecholestrogen,とりわけ catecholestrone (2-OHE₁) は、性周期において gonadotropin 分泌に係る一因子とされ、排卵機構の中で重要な役割を担つているであろうと推測される。しかし、ヒト排卵周期におけるその血中動態を下垂体・卵巣系 hormone との関連下に検討した報告は未だ認められない。そこで radio mmunoassay を開発したうえ、その動態より排卵機構に占める 2-OHE₁ の役割を明らかとする事を目的とした。

方法：[6.7-³H] 2-OHE₁ は [6.7-³H] E₁ を Fremy's salt と反応させ合成し、また 2-OHE₁-17-CMO-BSA を抗原とし家兔を免疫して得た抗血清の力値は×7,500 (v/v) であり、20~2000pg 範囲の標準曲線を作製した。50%交叉率は 2-OHE₂ : 20%, 2-OHE₃ : 0.37%, 4-OHE₁ : 0.37% であり、4-methoxy E₁、その他とは0.1%以下であった。2-OHE₁ は ascorbic acid 添加 plasma より ether 抽出後、Sephadex LH-20 column chromatography (benzene : methanol = 9 : 1, 0.05% ascorbic acid 含有) で分離精製して RIA に供した。

成績：卵胞期、黄体期における 2-OHE₁ 濃度はそれぞれ、27.5±5.7, 28.2±6.3pg/ml とほぼ一定し、排卵期には 69.0±18.2pg/ml となる明らかなピークを示した (n=8, p<0.05)。ついで LH surge を認めた日を 0 日、その前後を±1, ±2 日とし、FSH, LH と E₂, E₁ 動態との関連をみると、E₂, E₁ の preovulatory surge は -2~-1 日であつたが、2-OHE₁ はそれにやや遅れて -1~0 日でピークを形成し、その後は急減した。また、17 α OH-progesterone は 2-OHE₁ と一致したパターンを示した。

結論：ヒト正常排卵周期における血中 2-OHE₁ は、(1) 排卵期にピークを形成する、(2) そろは LH, FSH surge より早期に、しかも、(3) E₂, E₁ の preovulatory surge よりやや遅延し、また、(4) 黄体期における E₂, E₁ 上昇パターンとは解離する。以上の成績から、2-OHE₁ 生成が排卵期に至り著しく亢進し、ひいてはそれが gonadotropin 分泌に関与していることが示唆される。

質問

(鹿児島大) 河野 伸造

血中 estradiol に比較し、排卵期の 2-OHE₁ 値は、卵胞、黄体期の値に比較し相対的に低いようですが、このことはどのようにお考えでしょうか。

回答

(日本大) 高木 繁夫

先生の御指摘通り、E₂ と 2-OHE₁ の関連性につきましては、多くの問題があり、私共も、頭をなやまして

いる所がありますが、この点については今後さらに、検討を加えて行かなければならないと考えております。

回答

(日本大) 村井 一郎

性周期における E₂ のパターンと 2-OHE₁ のそれとの相違、あるいは卵胞期・黄体期と排卵期での 2-OHE₁/E₂ の比率が異なる点についての詳しい検討は今回行つておりません。しかし、それは in vitro での間脳・下垂体あるいは他の臓器における E₂ からの転換実験等によつて性周期での hydroxylation の変化を見る事が必要であり、今日の我々の 2-OHE₁ の血中動態からすれば、ovulation 時に E₂→2-OHE₁ への転換が行われ、局所ですでに消耗されているか、あるいは他の catechol estrogen に変つて、それが作動している可能性もあると考えます。

107. カテコールエストロジエンの RIA について

(東京・帝国臓器) 神戸川 明

目的：カテコールウストロジエンとは 3 の隣にもう一個水酸基をもつエストロジエンの総称で、とくに 2-OHE₁ と 2-OHE₂ は視床下部と下垂体で LH の分泌亢進、catecholamin の代謝抑制、opiate receptor への関与等の作用が認められ、これらの血、組織中の濃度を測ることの重要性が大となつた。

方法：抗原の合成：2-OHE₁ と (H₂NOCH₂CO₂H)₂ HCl と ascorbic acid (VC) 存在下で反応して得た 2-OHE₁-17-CMO を isobutylchloroformate で mixed anhydride として BSA と結合させた。これを透析、クロマトして家兔に免疫した。一方精製時に VC を加えたものを同様に免疫した。³H 標識 2-OHE₁ と 2-OHE₂ の合成：E₁-6, 7-³H と E₂-6, 7-³H を Fremy 塩（自製）で酸化後 KI で処理した後 VC 含浸 silica gel でクロマトして 4-OH 体と 2-OH 体に分け、さらに LH-20 でクロマトとして 2-OH の両者を得た。測定法：EDTA 処理血漿に直ちに 3% VC を 1/10 加え冷凍する。測定は血漿 2.2ml に回収補正用の両者 ³H 1,000dpm を加えエーテル抽出、水洗後 N₂ で乾固、LH-20 で 2-OHE₁ (2.5~5.5ml), 2-OHE₂ (7.5~11.5ml) 部分をとり、この 1/2 で回収率を計算し、残に相当する ³H 5,000dpm を加えて RIA をした。

結果：VC (-) の抗原では抗体価が上らず、VC (+) 抗原は家兔に注射 4 カ月で得られた抗血清は 4,000 倍で 2-OHE₁-³H 5,000dpm 使用で B₀ 75%, 50% 置換量 2-OHE₁ が 130pg でこれを 100% とすると 2-OHE₂ 5%, 2-OHE₃ 0.4%, E₁, E₂ 0.15% 以下と極めて特異性が高

1981年9月

第24群 妊娠・分娩・産褥・内分泌・代謝 I

1457

かつた。他の一羽の抗血清は 2-OHE₂ と 25% cross し、これを利用して 2-OHE₂-³H を用いて 2-OHE₂ の RIA ができた。測定値：卵胞期と黄体期と男の 2-OHE₁ は 20.2±7.5, 25.0±5.5, 13±7 pg/ml; 2-OHE₂ は 18.5±5.7, 22.7±6.3, 10±4 pg/ml (各 n=5) であつた。

独創点：本邦初の抗体である。従来の米と独の報告は 2-OHE₁ の RIA のみであり、2-OHE₂ の RIA は初めてである。

質問、追加 (鹿児島大) 河野 伸造

① 測定用の 2-OHE₁, 2-OHE₂ の tracer を Fremy's salt で作成しておられますか、同時に 4-OHE₁, 4-OHE₂ も作成され、又 2-OHE₁, 2-OHE₂ への conversion rate がかなり低いようですが、私達は mushroom tyrosinase を用い、E₁ tracer から 2-OHE₁ (4-OHE₁ は作成されない) を作成しています。同法での E₁ から 2-OHE₁ への conversion rate は 80% 以上で、又純度の高いものが得られるという利点があると思います。その他 cold カテコールエストロゲンの作成ですが、ニトロ化し、更にアミノ化して作成する方法でも conversion rate が 50% ときわめて高率ですので、この方法も応用しています。

② 測定で blank をみるのに water を使用されてい

ますが、人の blank plasma を使用されるのが最適ではないかと思いますが。それから Sephadex などの様にして使用しておられますでしょうか。かなり反応を阻害する不純物が思われます。

③ 2 匹の家兔に、同一抗原免疫し、2-OHE₂ に対する結合率は全く異なる抗血清が作成されていますが、これはどうして起つたのでしょうか。

④ 私達も血中非抱合型 2-OHE₂ を測定していますが、正常男子、非妊娠及び妊娠初期ではきわめて低く 15 pg 以下で、妊娠中、後期で 20 pg 前後でした。

回答 (帝国臓器) 神戸川 明

Catechol estrogen 標識物の作成に Tyrosinase の方が収量がよいとのこと、我々は化学的に Fremy 氏試薬で作つておらず酵素ではやつていない。

cross % が日大と帝臓で少しく違があるのは、数羽の家兔に免疫したので用いた抗血清が違つたからである。

LH-20 でのクロマトで water Blank が高くな易いこと、誠に同感で LH-20 をよく洗うことが必要です。

第24群 妊娠・分娩・産褥・内分泌・代謝 I (108~113)

108. Dopamine agonist (Bromocriptine) 及び antagonist (Metoclopramide) 妊娠初・中期ホルモン環境に及ぼす影響に関する検討

(茨城・土浦協同病院)

久保田俊郎、長江 光芳

富田 昭、潤田 嘉朗

(東京医歯大)

矢追 良正、鎌田 周作、鈴木 明

生山 博、西 望、斎藤 幹

(独協医大) 熊坂 高弘

目的：妊娠中に急増する Prolactin (PRL) の分泌機構や役割を知る目的で、Dopaminergic agents を用いて妊娠時母体血清中の PRL 分泌動態を検討し、それらが胎盤を中心とした内分泌環境に及ぼす影響についても検討した。

方法：妊娠中絶を希望する初・中期正常妊娠例及び不全流産・子宮内胎児死亡例に対し、I 群) Bromocriptine

(CB-154) 2.5mg を 1 回服用した 18 例、II 群) Metoclopramide (MCP) 10mg を静注した 15 例、III 群) 妊娠初期例に対し、CB-154 2.5mg 又は 5mg を服用し、60 分又は 120 分後に MCP 10mg を静注した 35 例に分類し、以後経時に 180 分間の母体血中 PRL, HPL, HCG, Estradiol (E₂), Progesterone (P), GH 値を RIA にて測定し、薬剤を投与しない control 群 16 例と比較検討した。

成績：① I 群では血中 PRL 値は CB-154 服用後 120 分で有意に低下 ($p < 0.01$) し、180 分で前値の 29.6 ± 4.2% を示した。また E₂ 値は、初期妊娠群で投与後 120 分で前値の 68.1 ± 11.6%，180 分で 57.9 ± 12.8% とともに有意に低下 ($p < 0.01$) し特に正常妊娠群で著明であったが、中期妊娠群では有意差はなかった。② II 群では血中 PRL 値の急激な上昇がみられ、その net change (Δ PRL) は 60 分で、初期群は 176.0 ± 30.8 ng/ml 中期群は 312.6 ± 66.0 ng/ml、前値との比 (Ratio) の 1 分値