

妊娠中毒症における血中非抱合型 2-Hydroxyestrone と 赤血球内 Catechol-O-methyltransferase 活性

鹿児島大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 森 一郎教授)

藤 野 敏 則

Plasma Unconjugated 2-Hydroxyestrone and Catechol-O-methyltransferase Activity in Toxemia of Pregnancy

Toshinori FUJINO

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Kagoshima University, Kagoshima
(Director: Prof. Ichiro Mori)

概要 Catecholestrogen はカテコール核を有するため, catechol-O-methyltransferase (COMT) の substrate として catecholamine と競合するとされているので, 高血圧を伴う妊娠中毒症では catecholestrogen や COMT 活性は重要な意義をもつと思われるが, これらについてはまだ明確にされていない。そこで, 最近確立された特異的な radioimmunoassay (RIA) を用い, 妊娠後期の正常妊婦および妊娠中毒症妊婦での血中非抱合型 2-hydroxyestrone (2-OHE₁) を測定するとともに, 2-OHE₁ および 2-hydroxyestradiol (2-OHE₂) を substrate として, 赤血球内 COMT 活性を *in vitro* 実験により妊娠の正常・中毒症間で比較し, 以下の成績を得た。

1) 妊娠後期の血中非抱合型 2-OHE₁ 値は正常妊婦で 220 ± 53 (SD, $n=7$) pg/ml, 妊娠中毒症妊婦で 162 ± 138 ($n=9$) pg/ml で, 両群の間に差はみられなかつた。

2) しかし, 胎盤機能低下を伴う妊娠中毒症での血中 2-OHE₁ 値は 34.7 ± 1.2 ($n=3$) pg/ml で, 正常妊婦に比べ明らかに低値を示した。

3) 妊娠中毒症重症 1 例に軽度の肝機能障害がみられたが, その血中 2-OHE₁ 値は正常範囲内であつた。

4) 妊娠中毒症軽症 2 例および胎盤機能低下を伴つた妊娠中毒症重症 1 例での COMT 活性は正常妊婦に比べ差はみられなかつた。

5) 糖尿病に妊娠が合併し, 胎盤機能低下を伴わなかつた妊娠中毒症重症 1 例では, 正常妊婦に比べ COMT 活性の軽度の亢進がみられた。

以上より, 妊娠中毒症でみられる血中 2-OHE₁ の低値は, 胎盤機能低下がその主因の 1 つではないかと思われた。

Synopsis To clarify the significance of catecholestrogens in toxemia of pregnancy, plasma unconjugated 2-hydroxyestrone (2-OHE₁) was measured by a specific radioimmunoassay. In addition, catechol-O-methyltransferase (COMT) activity in erythrocytes was compared between normal and toxemic pregnancies. The following results were obtained.

1) There was no significant difference in the plasma 2-OHE₁ level between normal and toxemic pregnancies in the 3rd trimester, these being 220 ± 53 (SD, $n=7$), 162 ± 138 ($n=9$) pg/ml, respectively.

2) However, the plasma 2-OHE₁ level was quite low in all three subjects in toxemic pregnancy with placental dysfunctions.

3) Liver dysfunction was found in only one case of toxemic pregnancy, whose plasma 2-OHE₁ was within the normal range.

4) In two cases of mild toxemia and one case of severe toxemia with placental dysfunctions there was no significant difference in COMT activity as compared with normal pregnancy.

5) The COMT activity of a diabetic woman with pregnancy toxemia without placental dysfunctions was slightly higher than that of a normal pregnant woman.

From these results it is suggested that the lower plasma 2-OHE₁ level in toxemic pregnancy may be caused by placental dysfunctions.

Key words: 2,3-Dihydroxy-1,3,5(10) estratrien-17-one (2-Hydroxyestrone) • Radioimmunoassay • Catechol-O-methyltransferase • Erythrocyte • Toxemia of pregnancy

緒 言

妊娠中毒症における高血圧発症には多くの因子が関与していると思われるが、従来より catecholamine もその一因子と考えられ、高血圧を伴う妊婦では正常妊婦に比べ、血中 catecholamine は高値を示すという報告¹⁰⁾もある。

Catecholamine の主要な代謝径路はその O-methylation であるが、それは肝や赤血球などに存在する catechol-O-methyltransferase (COMT) により行われるとされている。ところで、catecholestrogen もカテコール核を有するため、COMT の substrate として catecholamine と競合するが、COMT との affinity は catecholestrogen の方が高いとされている³⁾。したがって、血中 catecholamine 値は catecholestrogen や COMT 活性により強く影響を受けられるのに、妊娠中毒症での血中 catecholestrogen や COMT 活性については、これらの測定法が確立されていなかつたためか、まだ明確にされていない。

Catecholestrogen のなかでは 2-hydroxyestrone(2-OHE₁) が最も多く、次いで 2-hydroxyestradiol (2-OHE₂) が多いといわれている。Catecholestrogen は主として肝に存在する hydroxylase により estrogen より生合成されるほか、胎盤でも一部産生されるとされている。

一方、catecholestrogen は排卵機構との関連¹³⁾からも注目されるようになり、最近血中 2-OHE₁ と 2-OHE₂ の特異的な RIA が確立され¹⁴⁾¹⁵⁾ (いずれも測定感度は 10—15pg/ml), 比較的容易にその血中レベルが測定されるようになったが、2-OHE₂ は妊娠後期でもその血中レベルは 30pg/ml 程度で、2-OHE₁ の約 1/7 ときわめて低値とされている。他方、最近 in vivo および in vitro 実験により catecholestrogen は赤血球内 COMT によりきわめて迅速に代謝されることが証明されている⁸⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。

そこで、高血圧を伴う妊娠中毒症で血中 2-OHE₁ (2-OHE₂ は量的に少なく、比較にくい) を特異的な RIA で測定するとともに、2-OHE₁ および 2-OHE₂ を substrate として、赤血球内 COMT 活性をみ、正常妊娠と比較した。

対象および研究方法

I. 対象

1. 血中非抱合型 2-OHE₁, 血・尿中 estrogen, 血中 human placental lactogen (HPL), GOT, GPT, plasma renin activity (PRA), angiotensin I(A-I), angiotensin II(A-II), aldosterone(Ald) の測定 (表 1, 2)

鹿児島大学医学部産科婦人科外来を受診した妊娠後期の正常妊婦 7 例と、同科に入院した妊娠後

表 1 Hormone values in plasma and urine of normal pregnant women

Subject	Gestation (weeks)	Blood pressure (mmHg)	Plasma concentration			E ₃ in urine (E ₃ SLIDE KIT)	Birth weight (gestational weeks)
			2-OHE ₁ * (pg/ml)	E ₁ * (ng/ml)	E ₂ * (ng/ml)		
1	37	102/60	315	3.8	13.4	>20μg/ml	3852(40)
2	37	104/66	287	4.1	16.8	>20μg/ml	2920(41)
3	37	104/72	200	4.3	4.8	>20μg/ml	2842(39)
4	38	98/60	160	3.9	14.5	>20μg/ml	2918(38)
5	39	100/70	193	3.0	10.3	>20μg/ml	3415(40)
6	39	106/72	186	3.8	16.4	>20μg/ml	3004(40)
7	40	110/70	196	8.0	8.0	>20μg/ml	3593(40)
Mean			220	4.4	12.0		
S.D.			53	1.5	4.2		

* unconjugated

表2 Hormone values in plasma and urine of pregnant women with toxemia

Subject	Gestation (weeks)	Blood pressure (mmHg)	Plasma concentration					E ₃ in urine (mg/day)	HPL in plasma (μg/ml)	GOT	GPT	PRA (ng/ml/hr)	A-I (pg/ml)	A-II (pg/ml)	Ald (pg/ml)	Birth weight (gestational weeks)
			2-OHE ₁ * (pg/ml)	E ₁ * (ng/ml)	E ₂ * (ng/ml)	E ₃ (ng/ml)										
1	30	180/120	35	—	2.0	1.0	360	6.4	3.3	N	1.3	115	177	14.1	1260(30)	
2	33	148/118	436	17.4	2.2	3.8	825	37.3	6.1	N	1.3	162	217	7.6	2246(38)	
3	33	180/116	36	8.2	8.5	0.4	600	15.6	2.8	N	3.0	345	142	6.6	1696(35)	
4	34	168/114	114	15.2	4.8	3.2	700	18.8	4.0	N	3.2	190	310	43.7	2080(38)	
5	34	170/110	243	5.6	3.1	6.3	500	18.2	6.0	56	4.9	176	242	36.8	2553(38)	
6	35	174/110	115	12.5	9.0	3.5	365	16.4	8.1	N	2.1	200	149	23.6	1968(38)	
7	36	160/130	98	2.1	1.5	2.1	345	17.0	4.0	N	3.7	256	212	89.9	1460(36)	
8	37	184/124	349	12.8	4.5	8.7	850	18.0	—	N	—	—	—	—	2480(38)	
9	39	160/90	33	5.5	2.0	2.0	95	15.4	—	N	—	—	—	—	2553(38)	
Mean			162	9.9	4.2	3.4	515	18.3	4.9		2.8	206	207	31.8		
S.D.			138	5.0	2.7	2.4	246	8.1	1.8		1.2	69	54	27.1		

HPL: human placental lactogen

PRA: plasma renin activity

A-I: angiotensin I

A-II: angiotensin II

Ald: aldosterone

*: unconjugated

N: normal value

期の血圧148/90mmHg以上の妊娠中毒症(日本産科婦人科学会妊娠中毒症委員会, 昭和37年) 9例 (No. 1, 3, 9は胎盤機能低下例)を対象とした。肘静脈よりEDTA加真空採血管に採血し, 直ちに4℃で遠心し, 分離した血漿にascorbic acid 0.1%(W/V)を添加し, 測定まで-20℃に凍結保存した。

2. 2-OHE₁および2-OHE₂に対する赤血球内COMT活性の測定(表3)

鹿児島大学医学部産科婦人科外来を受診した正常妊婦4例と, 同科に入院した妊娠中毒症4例を対象とした。妊娠週数およびhematocritのほぼ等しい正常および中毒症妊婦それぞれ1例ずつをペアで同時に実験を行った。実験1および2の妊娠中毒症例の血圧はそれぞれ140/90, 146/106mmHgで, 血圧よりみて軽症で, とともに尿中estriol (E₃)値が30mg/day以上, 血中HPLが8μg/ml以上のように胎盤機能は正常であった。実験3の妊娠中毒症例は血圧が175/120mmHgの重症例で, 尿中E₃は7-8mg/day, 血中HPLは1μg/ml未満, heat-stable alkaline phosphatase (HSAP)は2-4K-A単位のように胎盤機能が低下し, 妊娠27週に子宮内胎児死亡をみた例である。実験4の妊娠中毒症例は糖尿病(Type1)婦人が妊娠した例で, 血圧は170/90mmHgで重症であったが, 尿中E₃は20-33mg/day, 血中HPLは6-8μg/ml, HSAPは8-13K-A単位のように胎盤機能は比較的良好に保たれていた。なお, 正常妊婦の尿中E₃, 血中HPLは正常値であった。

II. 方法

1. 血中非抱合型2-OHE₁の測定

血中2-OHE₁の測定は, 試料の純化にshort Sephadex LH-20 column chromatographyを応用したKono et al.¹⁴⁾の特異的なRIAによった。

1) 材料

① 2-OHE₁: Steraloid社より購入し, long Sephadex LH-20 column chromatography [column: 120(長さ)×2.5(内径)cm, 溶出溶媒: 飽和ascorbic acid・chloroform: benzene: methanol=5:4:1]で純化した。

② 2-OHE₁₋₆, 7-H³: estrone-6, 7-H³(比放射能

表3 Half life of catecholestrogens and COMT activity in normal and toxemic pregnancy

	Subject	Gestation (weeks)	Half life of 2-OHE ₁ (min.)	Rate of formation of 2-MeOE ₁ *	Half life of 2-OHE ₂ (min.)	Rate of formation of 2-MeOE ₂ *
Experiment 1	Normal	38	6.0	9.9	13.5	8.5
	Toxemia	38	6.0	9.8	15.0	7.8
Experiment 2	Normal	39	9.5	8.9	18.0	6.8
	Toxemia	38	9.5	8.6	19.0	6.6
Experiment 3	Normal	24	4.6	12.8	8.7	10.5
	Toxemia	22	3.9	12.0	10.0	9.3
Experiment 4	Normal	33	5.5	9.1	19.0	5.5
	Toxemia	34	2.9	10.2	10.0	7.6

* 10⁻¹⁴ mol/ml erythrocytes · 20 min

60Ci/mmol, New England Nuclear 社) より Fremy's salt を用い, 化学的に合成し¹²⁾, thin layer chromatography (Merk 社, Pre-coated TLC Plates Silica gel 60, 展開溶媒は飽和 ascorbic acid · chloroform : methanol : acetic acid = 96 : 3 : 1) で同定した。

③ 抗血清 : Ball and Knuppen et al.⁷⁾より提供されたもので, 2-OHE₁-17 (O-carboxymethyl) oxime-bovine serum albumin で家兎に免疫し作成された抗血清である。測定には7,000倍に希釈して用いた。

④ 希釈液 : EDTA 14.9g, ascorbic acid 4.4g, bovine γ -globulin 2g を蒸留水1l に溶解し, pH 7.4に補正したものをを用いた。

⑤ Short Sephadex LH-20 column : 5倍容量の methanol で洗浄した Sephadex LH-20 を使用直前に溶出溶媒 (飽和 ascorbic acid · benzene : methanol = 9 : 1) で洗浄, 膨化したのち, column [10 (長さ) × 1.0 (内径) cm] に充填し, この充填column をさらに溶出溶媒250ml で洗浄し, column blank が 0pg のものを測定に用いた。

⑥ Dextran coated charcoal 液 : dextran (Pharmacia 社, Dextran T-70) 250mg と charcoal (Merk 社, Charcoal activated GR) 250mg を生理食塩水100ml に溶解して作成した。

2) 方法

血漿2ml に回収率測定用として 2-OHE₁-6,7-H³ 1,000cpm を加え, 3倍量の ethyl acetate で3回抽出し, 窒素ガス流下に乾固後, この粗抽出物を

下記の溶出溶媒0.2ml に溶解し, 同操作をさらに2回くり返し, 全溶解液を short Sephadex LH-20 column [10 (長さ) × 1.0 (内径) cm] に apply し, 飽和 ascorbic acid · benzene : methanol = 9 : 1の溶媒で溶出した。2-OHE₁-6,7-H³および 2-OHE₂-6,7-H³はこの column chromatography によりそれぞれ6—9ml, 16—24ml の分画に溶出される¹⁴⁾。2-OHE₁の分画として5—13ml を採取し乾固した。この乾固試料に蒸留水2ml を加え, その3倍量の ethyl acetate で3回抽出し, ascorbic acid を除去した。乾固後, 希釈液1ml を添加し, その0.2ml を回収率測定用, 0.7ml を RIA 用とした。

試料または2-OHE₁の各標準液(10, 50, 100, 200, 500, 1,000pg, 200ng)0.7ml を test tube にとり, 2-OHE₁-6,7-H³ 10,000cpm 0.1ml, 抗血清0.1ml, さらに希釈液0.1ml を加え, 4℃で overnight incubation した。Dextran coated charcoal 液0.2ml を添加し, 軽く攪拌したのち4℃で20分間 incubate した。Incubation 後, 3,000rpm で5分間遠心し, 上清を counting vial に移し, Aquasol II (New England Nuclear 社) 10ml を加え, 液体 scintillation counter (Aloka 社, LSC-900) で放射能を計測した。

Bx-N.S./Bo-N.S.

Bx : 添加 2-OHE₁が 10—1,000pg の各標準量のときの radioactivity および各試料の radioactivity

Bo : 添加 2-OHE₁が 0 のときの radioactivity

N.S. (non specific radioactivity) : 添加 2-

OHE₁が200ngのときの radioactivity の式を用い、Logit-log scale で表わした標準曲線は10pgから1,000pgまで linear であつた。試料中の2-OHE₁は上記の式と標準曲線よりもとめ、回収率および回収率測定用に添加した tracer で補正し、血中値を求めた。ところで、本測定法での overall recovery は70—80%であつた。

2. 血・尿中 estrogen, 血中 HPL, GOT, GPT, PRA, A-I, A-II, Ald の測定

上記の血中2-OHE₁値の測定の他に、正常妊婦では血中非抱合型 estrone (E₁), estradiol (E₂) 値を RIA (ミドリ十字社 RIA キット) で測定するとともに尿中 estriol (E₃) の半定量を E₃ SLIDE KIT (帝国臓器) を用い行つた。妊娠中毒症例では血中 E₁, E₂ 値の他に、血中総および非抱合型 E₃ 値、血中 HPL 値を RIA (ミドリ十字社 RIA キット) で、尿中 E₃ 値を E₃-kit 法 (帝国臓器) で測定するとともに、GOT, GPT も測定し、胎盤機能および肝機能と血中2-OHE₁値との関連をみた。さらに、妊娠中毒症例では血中 PRA および Ald をダイナボット社 RIA キットで、A-I, A-II を Harber の原法を応用した RIA で、それぞれ測定した。

3. 2-OHE₁ および 2-OHE₂ に対する赤血球内 COMT 活性の測定

1) 材料

- ① 非放射性 E₁, E₂: Sigma 社より購入した。
- ② 2-OHE₁-6, 7-H³: 前述のものを用いた。
- ③ 2-OHE₂-6, 7-H³: E₂-6, 7-H³ (比放射能60ci/mmole, New England Nuclear 社) より 2-OHE₁-6, 7-H³と同様の方法で合成同定した。
- ④ 抗凝固液: NaCl 0.878g, MgCl₂ 0.02g, EGTA 0.152g を蒸留水100ml に溶解し、pH 7.4 に補正したものである。

2) 方法

正常および妊娠中毒症妊婦の肘静脈よりそれぞれ16ml 採血し、直ちに抗凝固液20ml を加え、混和後、各々8本の test tube に等分し、2-OHE₁-6, 7-H³ および 2-OHE₂-6, 7-H³ 各7,000cpm と酸素流下37℃で、正常、妊娠中毒症検体を同一条件下に反応させた。反応開始後3, 5, 10, 20分目に各

test tube を冷却水中に入れ、反応を停止させた。反応終了後直ちに各 test tube に冷却蒸留水8ml を加え、ethyl acetate で抽出した。各抽出物ならびに標準物質として2-OHE₁-6, 7-H³, 2-OHE₂-6, 7-H³, および非放射性 E₁, E₂ を ascorbic acid を impregnate した薄層 (Merk 社, Pre-coated TLC Plates Silica gel 60) にプロットし、飽和 ascorbic acid・benzene: methanol=9:1 の溶媒で展開した。

乾燥後、非放射性 E₁, E₂ は硫酸を streak して発色させた。放射性物質をプロットした lane はそれぞれ origin より0.5—1.0cm 刻みで薄層を掻きとり、counting vial に移し、scintillation 液 [Toluene 1,000ml に Liquifluor (New England Nuclear 社) 42ml を加えたもの] 10ml を加え、液体 scintillation counter (Aloka 社, LSC-900) で放射能を計測し、catecholesterogen の metabolic conversion を正常妊婦と妊娠中毒症妊婦で比較した。なお、測定値の有意差は t 検定でみた。

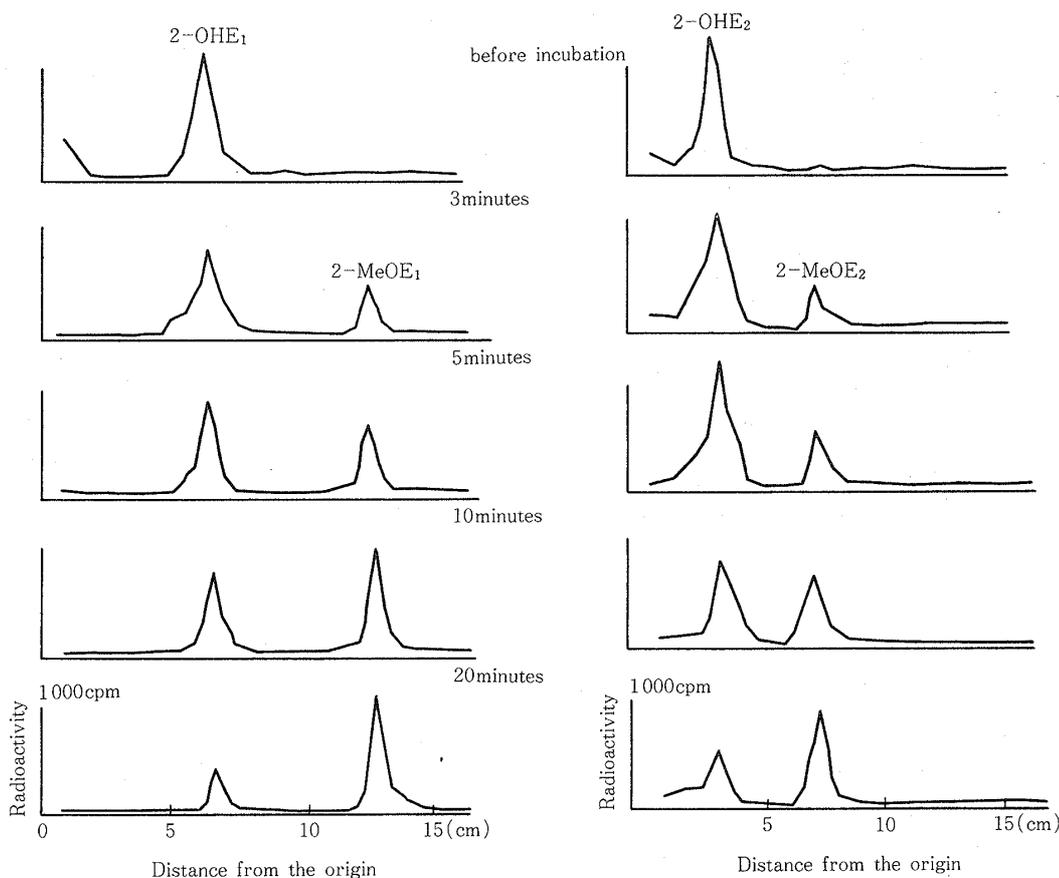
研究成績

1. 血中非抱合型 2-OHE₁, 血・尿中 estrogen, 血中 HPL, GOT, GPT, PRA, A-I, A-II, Ald 各値

正常および妊娠中毒症妊婦の血中2-OHE₁値ならびに他のホルモン値は表1, 2に示すとおりである。妊娠後期の血中2-OHE₁は、正常妊婦では220±53 (SD, n=7) pg/ml, 妊娠中毒症妊婦では162±138 (n=9) pg/ml で、両群間に差はみられなかつた。しかし、尿中および血中 E₃ 値が低く、胎盤機能低下が推定される妊娠中毒症3例 (表2の1, 3, 9) では血中2-OHE₁は正常妊婦に比べ、明らかに低値を示した。このうち2例 (表2の1, 3) では血中 HPL も低値であつた。高血圧の程度と血中2-OHE₁値との関連は、収縮期血圧値にかかわらず、胎盤機能低下が推定される例でのみ低値を示した。肝機能障害は妊娠中毒症9例中1例のみにみられたが (表2の5), その血中2-OHE₁値は正常範囲内であつた。

2. 2-OHE₁ および 2-OHE₂ に対する赤血球内 COMT 活性の測定

図1は実験1の妊娠38週の正常妊婦 (表3) の血液での2-OHE₁ および 2-OHE₂ の metabolic

図1 Metabolic conversion of 2-OHE₁ and 2-OHE₂

conversion を各 incubation time (0, 3, 5, 10, 20分) でみたものである。2-OHE₁は2-methoxyestron (2-MeOE₁) に、2-OHE₂は2-methoxyestradiol (2-MeOE₂) にそれぞれ convert された。その同定は、薄層クロマトグラフィの Rf によつたが、平均 Rf は E₁: 0.57, 2-OHE₁: 0.29, 2-MeOE₁: 0.71, E₂: 0.38, 2-OHE₂: 0.26, 2-MeOE₂: 0.43 であつた。

表3に示す実験1, 2, 3, 4の各 incubation 実験での正常および妊娠中毒症検体による2-OHE₁および2-OHE₂の disappearance を semi-log scaled graph に表わしたものが図2である。実験1, 2の妊娠中毒症軽症および実験3の胎盤機能低下を伴う妊娠中毒症重症例では2-OHE₁ならびに2-OHE₂の metabolic conversion は正常妊婦との間にほとんど差はみられなかつた。しかし、実験4の糖尿病に合併し、胎盤機能が比較的良好に保たれていた妊娠中毒症重症例では、正常妊婦に比べ2-OHE₁および2-OHE₂の metabolic

conversion の軽度の亢進がみられた。表3には4組の incubation 実験での2-OHE₁および2-OHE₂の half life (t_{1/2}) と COMT 活性を示した。COMT 活性は、それぞれの検体での20分間に作られた methoxy 物質の量を hematocrit で補正して表わした。

以上、4組の incubation 実験を正常妊婦4例、妊娠中毒症軽症2例(実験1, 2)、妊娠中毒症重症2例(実験3, 4)に分け、2-OHE₁および2-OHE₂の disappearance をみたのが図3である。表4にそれら3群での2-OHE₁および2-OHE₂の half life (t_{1/2}) と COMT 活性を示した。

考 案

Catecholestrogen は従来までは estrogen の終末代謝産物であり、生物学的活性のないものとされてきたが、近年排卵機構との関連¹³⁾より注目され、血中非抱合型2-OHE₁および2-OHE₂の特異的な RIA が Kono et al.¹⁴⁾¹⁵⁾により確立された。また、Kono et al.¹⁴⁾は血中2-OHE₁は非妊婦と健

図2 Comparison of disappearance of 2-OHE₁ and 2-OHE₂ between normal and toxemic pregnancy

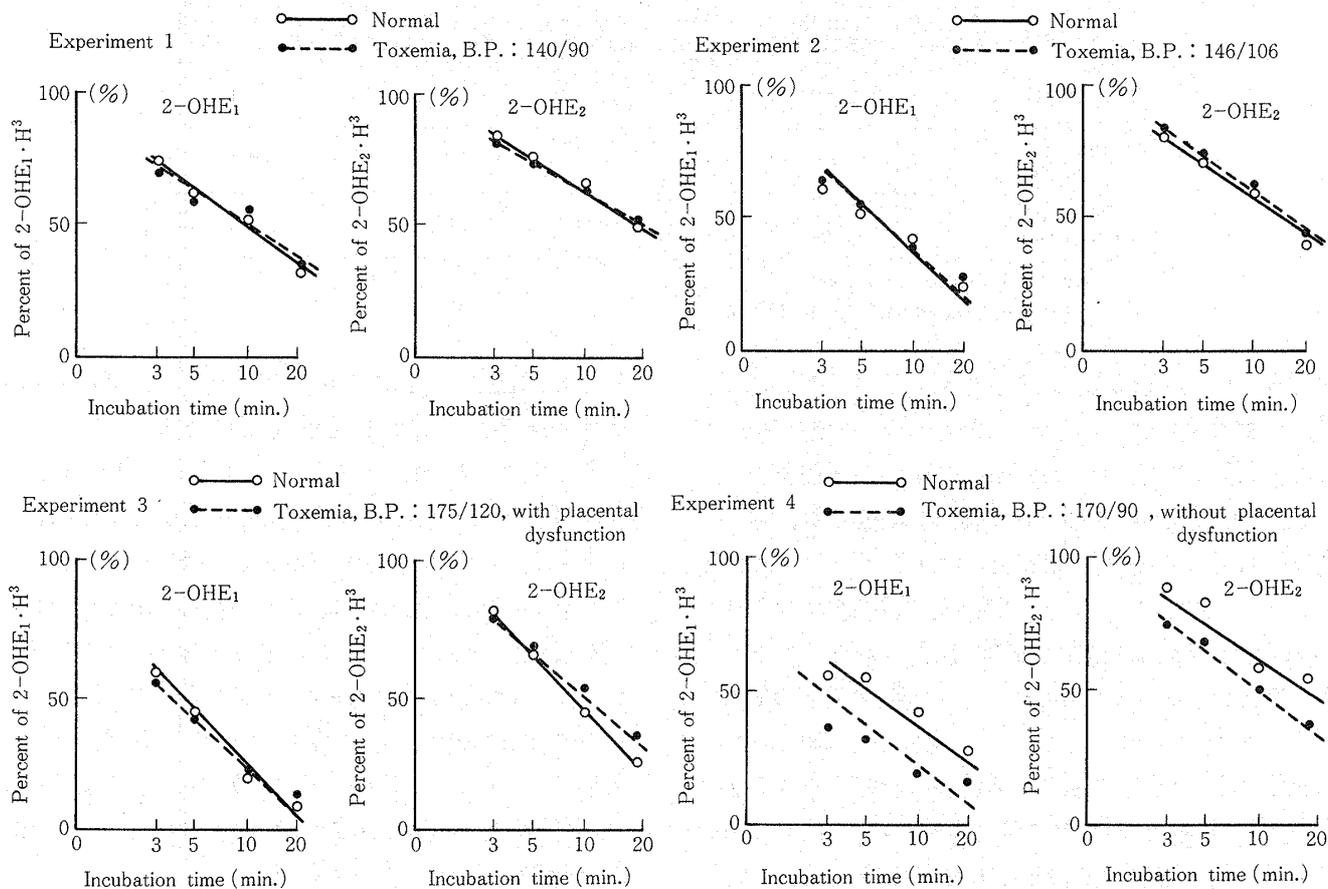


図3 Comparison of disappearance of 2-OHE₁ and 2-OHE₂ between normal and toxemic pregnancy

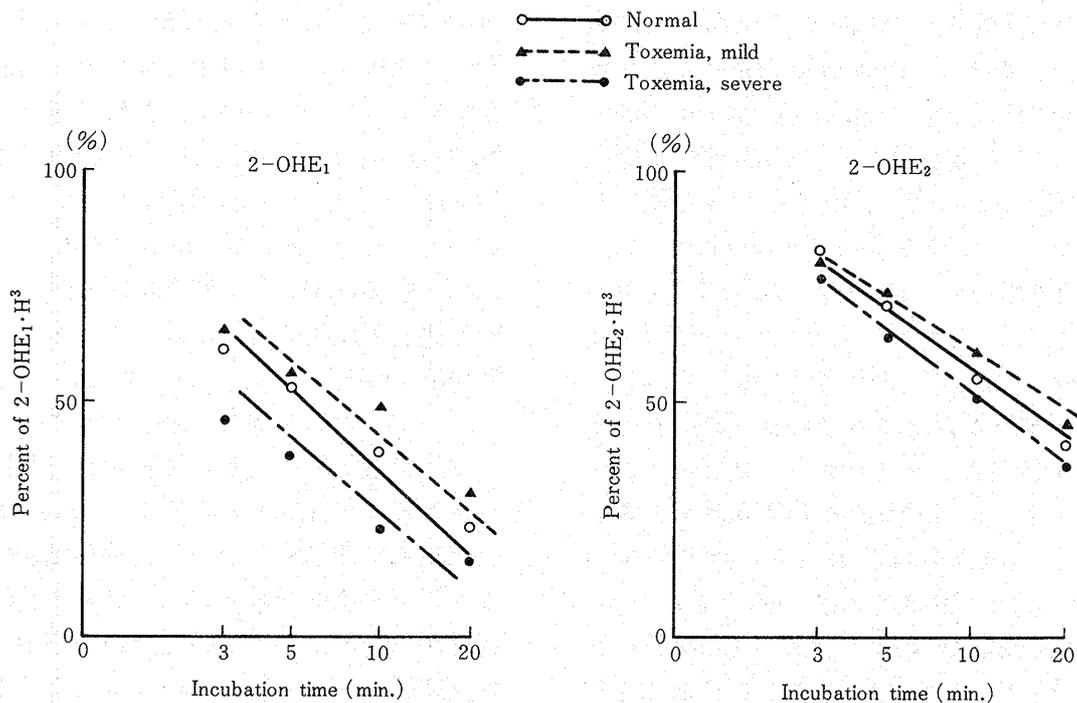


表4 Half life of catecholestrogens and COMT activity in normal and toxemic pregnancy

Subject	No. of subject	Half life of 2-OHE ₁ (min.)	Rate of formation of 2-MeOE ₁ *	Half life of 2-OHE ₂ (min.)	Rate of formation of 2-MeOE ₂ *
Normal	4	6.4±1.9	10.2±1.6	14.8±4.1	7.8±1.9
Mild toxemia	2	7.8±1.8	9.2±0.6	17.0±2.0	7.2±0.6
Severe toxemia	2	3.4±0.5	11.1±0.9	10.0±0	8.5±0.9

Mean±Standard deviation

* 10⁻¹⁴ mol/ml erythrocytes. 20 min.

常男子では10pg/ml以下ときわめて低値であるが、妊婦では妊娠前期で約20pg/ml、中期で約60pg/ml、後期では約180pg/mlに達すると報告している。同じ測定法を用いた著者の成績でも、妊娠後期の血中2-OHE₁は220±53 (SD, n=7) pg/mlではほぼ一致していた。妊娠後期の血圧148/90 mmHgを越える妊娠中毒症妊婦の血中2-OHE₁は162±138pg/ml (n=9)で、正常妊婦との間に差はみられなかつた。しかし、尿中および血中E₃と血中HPL値よりみて、胎盤機能低下のみられる妊娠中毒症では血中2-OHE₁は34.7±1.2pg/ml (n=3)で、正常妊婦の約1/6と明らかな低値を示していた。

ところで、catecholestrogenの血中レベルはhydroxylaseによるestrogenからの生合成と、一方ではmethoxy物質への代謝との両面より決定されると考えられる。Catecholestrogenの生合成は主として肝で行われ、Ball et al.⁵⁾はratの肝のsliceとE₂-C¹⁴とのincubationで、放射性産物の8%が2-OHE₂、16%が2-OHE₁であつたと報告している。また、ヒトの肝のsliceとのincubation実験では、放射性産物の5.3%が2-OHE₂、2.6%が2-OHE₁であつたと述べている⁶⁾。ところがcatecholestrogenの生合成は肝のほか胎盤、下垂体、視床下部、大脳皮質などでも行われ、Fishman et al.¹¹⁾は、ヒト胎盤のマイクロゾームとE₂-C¹⁴とのincubationで12%の2-OHE₁が合成されたと報告している。妊娠中は胎盤でもかなりの量のcatecholestrogenが合成されていると思われる。

一方、catecholestrogenの代謝はCOMTにより行われ、COMTは肝、腎、脳および赤血球など

多くの組織に存在するが、赤血球内COMT活性は他の組織のCOMT活性を反映するとされている¹⁸⁾。また、Kono et al.¹⁵⁾¹⁶⁾によれば、2-OHE₁と2-OHE₂のplasma metabolic clearance rateはそれぞれ約51,000 1/day, 22,000 1/dayで、E₁, E₂より10—20倍も高く、またdisappearance rate (t_{1/2})はそれぞれ45, 90秒であると報告されているが、このdisappearance rateはきわめて短かく、catecholestrogenは流血中で非常に迅速に代謝されると考えられる。したがって、赤血球内COMT活性はcatecholestrogenの血中レベルに強い影響を与えると思われる。

今回著者の行つたin vitro実験による正常妊婦と妊娠中毒症妊婦の赤血球内COMT活性の比較では、4組中3組で正常妊婦と妊娠中毒症妊婦との間に差はみられなかつた。このようにCOMT活性に差がないとすれば、血中E₁, E₂値にも特別な傾向がみられないので、胎盤機能低下を伴う妊娠中毒症例での血中2-OHE₁の低値は、胎盤での2-OHE₁産生低下がその原因ではないかと思われる。ところで、肝機能障害が1例にみられたが、その血中2-OHE₁は正常範囲内であつた。これは胎盤機能が比較的良好であつたことと、肝機能障害の程度が軽かつたためではないかと考えている。したがって、妊娠中毒症での血中2-OHE₁レベルは胎盤機能により強く影響され、肝機能の影響はきわめて少ないものと考えられる。また、著者の成績では糖尿病に合併し、胎盤機能低下を伴わない妊娠中毒症重症1例でCOMT活性の軽度の亢進がみられたが、この亢進が妊娠中毒症としての反動的なものか、あるいはもともと本症例に固

有のものであつたのかは不明である。

さて, catecholestrogen は COMT の substrate として catecholamine と競合するとされているが, COMT に対する両者の affinity には差があるとされている。Ball et al.³⁾によれば, Km 値は epinephrine : 300 μ M, norepinephrine : 200 μ M であるのに対し, 2-OHE₁ : 20 μ M, 2-OHE₂ : 15 μ M で, catecholestrogen の方が affinity が高いとされている。また, Ball et al.⁴⁾は rat への注入実験で, catecholestrogen は catecholamine の昇圧作用の持続時間を延長すると報告しており, 血中 catecholestrogen 値は catecholamine 値に強く影響を与えると思われる。

ところで, 高血圧を伴う妊婦の血中 catecholamine 値については, 正常妊婦に比べ高値を示すとする報告¹⁰⁾, 低値を示すという報告¹⁹⁾, あるいは差はないとする報告¹⁷⁾があつて, 一致した見解が得られていない。高血圧妊婦での血中 catecholamine が高値であると仮定すれば, その血中 catecholestrogen は高値であることが推測されるが, 著者の成績では catecholamine は測定していないが, 妊娠中毒症での血中 2-OHE₁ は胎盤機能低下をみとめる例ではむしろ低値であつた。このような catecholestrogen の低値より考えれば, 妊娠中毒症での高血圧発症への末梢循環血液中の catecholamine の関与は少ないのではないかと推察している。

昇圧物質としては, catecholamine の他に renin-angiotensin-aldosterone 系 (R.A.A.系) があるが, R.A.A.系は一般に妊娠中毒症では低値であるとされている¹⁾。著者の成績でも妊娠中毒症では胎盤機能の如何にかかわらず, 表 2 のように正常妊婦でいわれている値より低値の傾向を示した。一方, 降圧因子としては prostaglandin (PG) や kallikrein-kinin 系 (K-K 系) が知られているが, 妊娠中毒症では血漿 prekallikrein は低値であると報告されている²⁾。また, PG の低下と妊娠中毒症との関連を示唆する報告も多く, なかでも強力な血圧降下作用を有する prostacyclin (PGI₂) が最近注目され, pre-eclampsia の母体血管では PGI₂ activity の低下がみられると報告さ

れている⁹⁾。

以上のように, 妊娠中毒症では昇圧物質としての R.A.A.系は低値を述べているものが多く, また catecholamine については一定せず, これと関係が深い catecholestrogen も著者の成績からみれば, 胎盤機能低下例を除いては正常のものが多いことから, catecholamine 値にも特別なことは考えられない。事実, 著者の表 2 の 1, 3, 9 例をみても, これらは胎盤機能低下を伴い, catecholestrogen は低値であるが, 血圧は高値を示すものもあるし, そうでないものもある。他方, 降圧物質としては, K-K 系および PGI₂ などの低値が述べられている。それで, 妊娠中毒症の高血圧については上述の降圧物質が主役を演じているように思われるが, なお詳細は不明な点が多い。

著者は catecholestrogen と catecholamine の関係から, 妊娠中毒症について catecholestrogen を測定し, 高血圧との関係をみたが, 両者間に特別な関係はみられず, catecholestrogen はむしろ胎盤機能と関連が深いことがわかつた。

稿を終えるにあたり, ご懇篤なるご指導およびご校閲を賜つた森一郎教授に深甚なる謝意を表するとともに, 実験にあつて終始ご指導をいただいた河野伸造講師に厚くお礼申しあげます。

文 献

1. 三宅良明: 妊娠中毒症における Mineralocorticoids と Renin-Angiotensin 動態に関する研究。日産婦誌, 32 : 295, 1980。
2. 曾我賢次: 産科・婦人科における血漿プレカリクレインの生理と病理。日産婦誌, 34 : 1763, 1982。
3. Ball, P., Knuppen, R., Haupt, M. and Breuer, H.: Interactions between estrogens and catecholamines. III. Studies on the methylation of catecholamines and other catechols by the catechol-O-methyltransferase of human liver. J. Clin. Endocrinol. Metab., 34 : 736, 1972。
4. Ball, P., Knuppen, R., Wennrich, W. and Breuer, H.: Interactions between estrogens and catecholamines: Influence of estrogens on the effect of catecholamines on blood pressure in rats. Acta Endocrinol. Suppl., 159 : 85, 1972。
5. Ball, P., Hoppen, H.O. and Knuppen, R.: Metabolism of estradiol-17 β in rat liver slices. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 355 : 1451, 1974。
6. Ball, P., Farthmann, E. and Knuppen, R.:

- Comparative studies on the metabolism of estradiol-17 β and 2-hydroxyestradiol-17 β in man in vitro and in vivo. *J. Steroid Biochem.*, 7: 139, 1976.
7. Ball, P., Emons, G., Haupt, O., Hoppen, H.O. and Knuppen, R.: Radioimmunoassay of 2-hydroxyestrone. *Steroids*, 31: 249, 1978.
 8. Bates, G.W., Edman, C.D., Porter, J.C. and MacDonald, P.C.: Metabolism of catechol estrogen by human erythrocytes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 45: 1120, 1977.
 9. Bussolino, F., Benedetto, C., Massobrio, M. and Camussi, G.: Maternal vascular prostacyclin activity in pre-eclampsia. *Lancet*, 2: 702, 1980.
 10. Davey, D.A. and Macnab, M.F.: Plasma adrenaline, noradrenaline and dopamine in pregnancy hypertension. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 88: 611, 1981.
 11. Fishman, J. and Dixon, D.: 2-hydroxylation of estradiol by human placental microsomes. *Biochemistry*, 6: 1683, 1967.
 12. Gelbke, H.P., Haupt, O. and Knuppen, R.: A simple chemical method for the synthesis of catechol estrogens. *Steroids*, 21: 205, 1973.
 13. Gethmann, U. and Knuppen, R.: Effect of 2-hydroxyestrone on lutropin(LH) and follitropin(FSH) secretion in the ovariectomized primed rat. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 357: 1011, 1976.
 14. Kono, S., Brandon, D.D., Merriam, G.R., Loriaux, D.L. and Lipsett, M.B.: Low plasma levels of 2-hydroxyestrone are consistent with its rapid metabolic clearance. *Steroids*, 36: 463, 1980.
 15. Kono, S., Merriam, G.R., Brandon, D.D., Loriaux, D.L. and Lipsett, M.B.: Radioimmunoassay and metabolism of the catechol estrogen 2-hydroxyestradiol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54: 150, 1982.
 16. Merriam, G.R., Brandon, D.D., Kono, S., Davis, S.E., Loriaux, D.L. and Lipsett, M.B.: Rapid metabolic clearance of the catechol estrogen, 2-hydroxyestrone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51: 1211, 1980.
 17. Pedersen, E.B., Rasmussen, A.B., Christensen, N.J., Johannesen, P., Lauritsen, J.G., Kristensen, S. and Wohler, M.: Plasma noradrenaline and adrenaline in pre-eclampsia, essential hypertension in pregnancy and normotensive pregnant control subjects. *Acta Endocrinol.*, 99: 594, 1982.
 18. Quiram, D.R. and Weinshilboum, R.M.: Catechol-O-methyltransferase in rat erythrocyte and three other tissues: Comparison of biochemical properties after removal of inhibitory calcium. *J. Neurochem.*, 27: 1197, 1976.
 19. Tunbridge, R.D.G. and Donnai, P.: Plasma noradrenaline in normal pregnancy and in hypertension of late pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 88: 105, 1981.

(特別掲載 No. 5327 昭58・7・14受付)