

ホルモン補充療法における血中エストロゲン値の 高感度測定法による検討

徳島大学医学部産科婦人科

*三菱化学ビーシーエル

安井 敏之 上村 浩一 米田 直人 苛原 稔
青野 敏博 砂原 誠司* 畠 啓視*

Assessment of Serum Estrogen Levels by RIA with HPLC during Hormone Replacement Therapy

Toshiyuki YASUI, Hirokazu UEMURA, Naoto YONEDA, Minoru IRAHARA,

Toshihiro AONO, Satoshi SUNAHARA* and Keishi HATA*

Department of Obstetrics and Gynecology, The University of Tokushima, Tokushima

**Mitsubishi Kagaku Bio-Clinical Laboratories, INC, Tokyo*

概要 ホルモン補充療法(HRT)は更年期障害の改善のみならず、骨粗鬆症の予防ならびに治療として本邦において次第に浸透してきているが、本邦婦人に適切なホルモン剤の種類、投与量、投与方法などについてはまだ検討が十分でない。今回我々はHPLCとRIAを組み合せ、感度、特異性ともに優れた測定方法を用いて、HRT施行中の血中エストラジオール(E2)およびエストロン(E1)値を測定し、これらの推移を検討した。またHRT施行中の随伴症状である性器出血について血中E2濃度との関連を検討した。まず閉経前後における各年代別の血中E2およびE1値を測定したところ、E1については従来とほぼ同様の値で低下したが、E2は55歳を過ぎると3~6 pg/mlと従来の報告より非常に低い値を推移することが明らかとなった。次いで38例の更年期障害患者について結合型エストロゲン(CEE)0.625mgと酢酸メドロキシプロゲステロン(MPA)2.5mgの連日持続併用療法を施行し、その治療開始前、6ヵ月後、12ヵ月後の血中E2およびE1を測定した。その結果E2について平均値で投与前3.34pg/mlであったものが6ヵ月後には23.6、12ヵ月後には21.5pg/mlと有意な上昇を示し、E1については投与前26.6pg/mlであったものが6ヵ月後には156.7、12ヵ月後には137.2pg/mlと有意な上昇を示した。さらに性器出血について6ヵ月の時点で出血が認められた群と認められなかった群に分けて比較すると、E2濃度は出血が認められた群において平均25.9pg/mlであったが、認められなかった群においては平均19.9pg/mlであり、出血が認められた群において高い傾向にあった。HRT施行中の血中E2濃度については従来その測定が困難であったことから十分検討されていなかったが、今回の検討成績は本邦婦人に対する新たな投与方法や投与量を検討するうえで基本的なデータを提供するものであり有意義と思われた。

Synopsis We studied the serum estradiol and estrone levels in 146 peri and postmenopausal women, and in 38 women who had complained of various climacteric disturbance symptoms during daily hormone replacement therapy (HRT) with conjugated equine estrogen (CEE) 0.625mg and medroxyprogesterone acetate (MPA) 2.5mg. Serum estradiol and estrone were measured before treatment, and at 6 months, and after one year of the HRT therapy by HPLC-radioimmunoassay. In 146 peri and postmenopausal women, the serum level of estradiol was from 3 to 6pg/ml. The serum level of estradiol in 38 women after HRT significantly increased ($p<0.01$) from 3.34 to 23.6 pg/ml at 6 months, and 21.5pg/ml at 12 months. The serum level of estrone significantly increased ($p<0.01$) from 26.6pg/ml to 156.7pg/ml at 6 months, and 137.2pg/ml at 12 month. These results are very useful for deciding on the doses of hormones and the expected serum estradiol level in HRT for Japanese women.

Key words: Hormone replacement therapy・Estradiol・Estrone・Genital bleeding

緒 言

高齢化社会の到来とともに，更年期障害の治療だけでなく骨粗鬆症の治療や予防，動脈硬化の予防としてホルモン補充療法（HRT）の有用性が注目されている¹⁾。HRTの方法として本邦で，主として結合型エストロゲン（CEE）および酢酸メドロキシプロゲステロン（MPA）を用いた経口投与が行われている。またHRTの投与方法として，周期的投与方法と持続的投与方法に大別されるが，本邦においては各施設の方針に従ってその使い分けがなされ²⁾，一定の見解はまだ得られていない。一方投与量に関しても，CEEは更年期障害や骨粗鬆症の治療に必要な1日投与量として0.625mgが推奨され³⁾さらにMPAについては分泌期内膜に変化させる量として周期的投与方法では1日10mgが⁴⁾，また持続的投与方法においては脂質代謝に影響を与えない投与量として1日2.5mgが推奨されている⁵⁾。しかしこれらはいずれも海外の検討をもとにした投与量であり，本邦婦人に対するHRTにおいてこれらの量が適当かどうかについては検討を必要とする。HRTを実施するうえで投与するホルモン量とその効果を正確に知ることが極めて重要であるが，CEEの投与により血中のエストラジオール（E2）がどの程度上昇するのか，また更年期障害の治療，骨粗鬆症の予防および治療，脂質代謝の改善にはどの程度エストロゲン濃度が必要なのかについて，本邦婦人を対象とした詳細な検討はみられない。今回我々は，血中のE2を感度，特異性ともに良好な成績を得るためにHPLCを用いて分離した後にRIAで測定する系を用いて，各年代別およびHRT（CEEとMPAの連日持続併用療法）を行った際の血中エストロゲン値を測定し，更年期以降の本邦婦人の各年代

別血中エストロゲン値およびHRT施行中のエストロゲン値の推移を中心に検討を行った。

研究対象および方法

1. 対象

1) 年代別エストロン（E1），E2値

HRT施行中におけるホルモン値の推移を検討する前に，まず閉経前および閉経後の各年代別におけるホルモン値を検討した。この際の対象患者は当科外来に来院した45～74歳までの患者で特に卵巣摘出などの手術治療やホルモン剤などの投与を受けていない146例を対象とした。これらの各年代別の人数は，45～49歳が32例（閉経前婦人が13例），50～54歳が38例（閉経前婦人が3例），55～59歳が24例，60～64歳が25例，65～69歳が16例，70歳代が11例であった。

2) HRT施行中の各種ホルモン値の推移

ほてりやのぼせなどの更年期障害を訴えた患者（卵巣摘出後患者を含む）および老人性陰炎のため治療を必要とした患者において，HRTを施行し1年以上経過した症例38例を対象として，血中E2，E1，LH，FSHの推移を検討した。38例中25例は閉経後婦人であり13例は卵巣摘出後であった。これらの対象患者の背景は表1に示したが，平均年齢は閉経後婦人は55.6歳，卵巣摘出後婦人においては49.4歳であった。さらに閉経後婦人においては閉経後の年数は平均6年であり，卵巣摘出後婦人においては卵巣摘出後平均4年であり，Body mass index（BMI）は平均21.9であった。

2. HRTの施行方法

HRTの方法としてはCEE（プレマリン®）0.625mgとMPA（プロペラ®）2.5mgの連日持続併用療法を施行した。これらの治療開始前および治療開始6カ月後，12カ月後に採血を行いホルモ

表1 HRT治療患者の背景

	例数	年 齢	閉経後(卵摘後)年数	Body mass index
閉経後婦人	25	55.6±1.3	6.00±1.54	22.0±0.44
卵巣摘出後婦人	13	49.4±1.5	4.00±1.24	21.6±0.83
計	38	53.4±1.1		21.9±0.39

ンを測定した。なお採血はいずれも朝食抜きで施行し、治療開始後はホルモン剤服用約4時間後に行った。採血後検体を遠心分離したのち測定まで -20°C で凍結保存した。またHRT施行中の主要な随伴症状である性器出血について、その発生頻度をホルモンレベルと合せて検討した。

3. 各種ホルモンの測定方法

E2およびE1ともに三菱化学ビーシーエルにおいて開発された測定系を用いた。まず血清1mlに回収率算定用 $\text{H}^3\text{-E1}$ および $\text{H}^3\text{-E2}$ を添加し攪拌静置したのち、1mlの0.1N HClを添加、あらかじめアセトニトリルと4%酢酸で活性化したSep pak tC18 PLUS カートリッジに通した。次にそのカートリッジを4%酢酸および50%メタノールで洗浄後、アセトニトリルでエストロゲン分画を溶出した。溶出分画を蒸発乾固し、エタノール/ヘキサン(1:4)に再溶解しHPLCに供した。HPLCはCAPCELL PAK NH2カラムを用い、移動相に20%エタノール/ヘキサンを使用し、流速1mlでHPLCを施行し、E1およびE2を分離精製した。この分離精製されたE1分画およびE2分画を用い、DSL(Diagnostic Systems Laboratories, Texas)のキットを用いて、それぞれをRadioimmunoassayにて測定を行った。本測定法の測定範囲はE1が2.5~250pg/ml, E2は1.0~50pg/mlであり、E2では50pg/mlを超える値については希釈が必要である。また再現性試験について、intraassayのC.V.はE1で5.7~28.7%と特に低値で変動が大きかったが、E2で8.4~13.8%と10%前後であり満足する値であった。またinterassayのC.V.は

E1で19.4%, E2で15.5%であった。回収率についてはE1で96.0~135.6%, E2で89.2~147.1%であった。またLAB社におけるGC-MS法との相関で相関係数 $r=0.955$ と良好な相関が得られた。一方、ゴナドトロピンの測定についてはSPAC-S-LH, SPAC-S-FSH(第一ラジオアイソトープラボラトリー, 東京)を用いた。

4. 統計分析方法

測定値の統計値は平均値 $\pm$ 標準誤差で表し、各パラメーターの比較にはstudentのt検定を用い、その統計処理で有意水準は危険率5%(両側検定)で有意差ありと判定した。

研究成績

1. 各年代別におけるE2およびE1濃度

閉経前および閉経後における各年代別のE2およびE1濃度について図1に示した。E2値については45~49歳においては $54.9 \pm 14.6\text{pg/ml}$ の値を示したが、50~54歳では $17.7 \pm 7.43\text{pg/ml}$ と急速に減少し、55~59歳では $3.68 \pm 0.42\text{pg/ml}$, 60~64歳では $6.02 \pm 0.87\text{pg/ml}$ と著しく低値を示した。一方E1についても45~49歳においては $51.8 \pm 9.66\text{pg/ml}$ の値を示したが、50~54歳では $23.4 \pm 4.22\text{pg/ml}$ と急速に減少し、55~59歳では $16.1 \pm 1.48\text{pg/ml}$, 60~64歳では $21.8 \pm 5.91\text{pg/ml}$ と低値を示した。

2. HRT施行によるE2およびE1濃度の推移

連日持続併用療法によるHRT施行時のE2およびE1濃度について検討した(図2)。それによると投与前のE2値については平均 $3.34 \pm 0.35\text{pg/ml}$ であり全例10pg/ml以下の値であり、E1につ

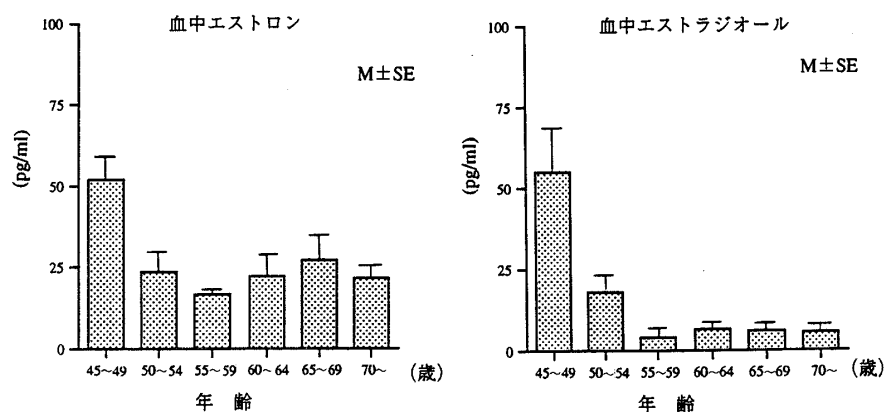


図1 各年代別の血中エストロン、エストラジオール値

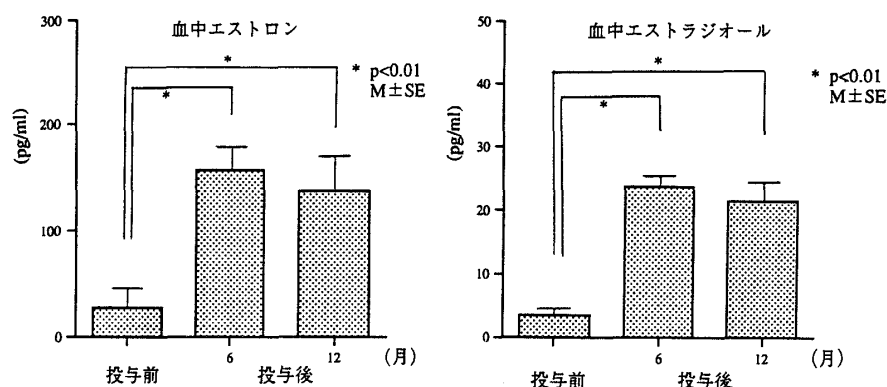


図2 HRT 施行による血中エストロン, エストラジオール値の推移

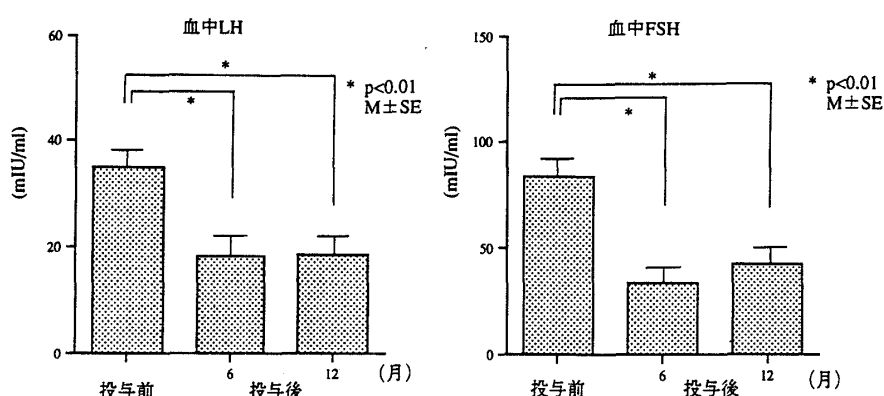


図3 HRT 施行による血中 LH, FSH の推移

いては平均 26.6 ± 7.00 pg/ml であった。6 カ月後には E2 は平均 23.6 ± 1.91 pg/ml, E1 は 156.7 ± 16.3 pg/ml, 12 カ月後には E2 は 21.5 ± 2.49 pg/ml, E1 は 137.2 ± 20.6 pg/ml といずれも有意 ($p < 0.01$) に増加を示した。

3. HRT 施行中における血中 LH, FSH 値の変動

HRT 施行中の血中 LH, FSH の変動について検討した (図 3)。投与前の LH は 34.5 ± 2.33 mIU/ml, FSH は 83.4 ± 5.74 mIU/ml であったが, 6 カ月後には LH は 18.1 ± 3.07 mIU/ml, FSH は 33.1 ± 4.14 mIU/ml へ, 12 カ月後には LH は 18.6 ± 3.0 mIU/ml, FSH は 42.1 ± 6.54 mIU/ml と有意 ($p < 0.01$) に減少した。

4. HRT 施行中における性器出血の頻度

12 カ月以上 HRT を施行した 38 例すべての症例のうち子宮が存在する症例 26 例について性器出血の頻度について検討した (図 4)。この際の出血については点状出血を初めとして月経程度の出血ま

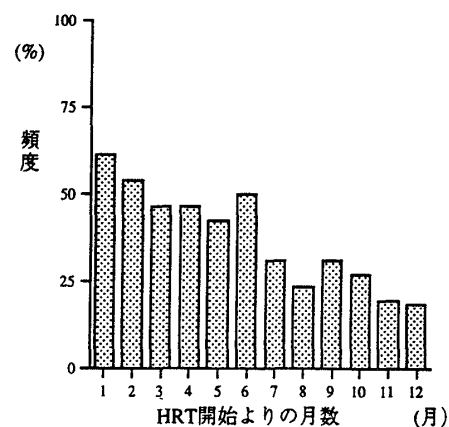


図4 HRT 施行による性器出血の頻度

でその程度に関わらず出血があればすべて含むこととした。治療開始 1 カ月においては 26 例中 16 例 (61.5%) に性器出血を認めた。6 カ月後には 26 例中 13 例 (50.0%) に減少した。6 カ月を過ぎるとさらに減少し, 12 カ月後には 26 例中 4 例 (15.4%) に減少した。6 カ月の時点において半数に性器出血を認めたが, その際に出血の認められた群と認

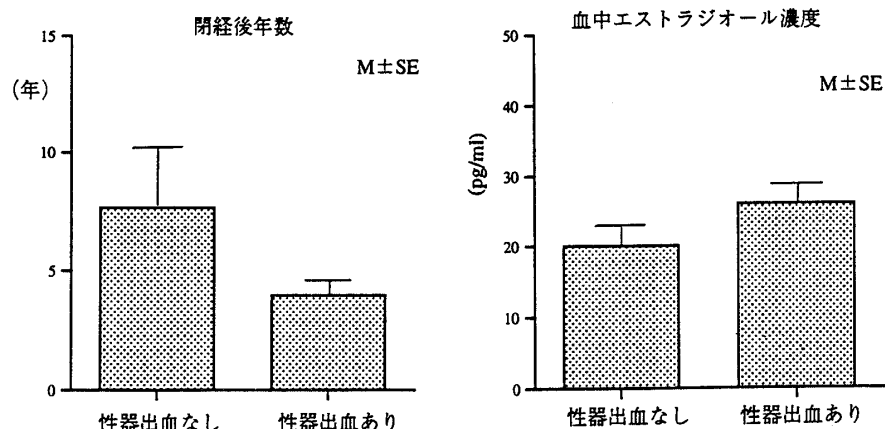


図5 性器出血が認められた群と認められなかった群における閉経後年数と血中エストラジオール濃度の比較

められなかった群について比較検討した。まず閉経後の年数との関係について検討したが出血が認められた群においては 3.92 ± 0.78 年であるのに対して、出血の認められなかった群においては 7.69 ± 2.83 年と閉経後年数を経ている例が多い傾向にあった。次に血中のE2について比較すると(図5)、出血の認められない群においては 19.9 ± 2.78 pg/mlであるのに対して、出血が継続している群においては 25.9 ± 3.17 pg/mlと高い傾向にあった。また血中のE1についても同様に比較したところ、出血の認められない群においては 246.7 ± 58.8 pg/mlであるのに対して、出血が継続している群においては 352.8 ± 62.8 pg/mlと高い傾向にあった。

考 案

HRTの際に使用されるエストロゲン剤としては、天然型のもの、妊馬尿から抽出したもの、人工的に作製したものなどがあるが、本邦においては妊馬尿から抽出したCEEであるプレマリン®がHRTの主流となっている。しかし、このプレマリン®はestrone, equilin, 17α -dihydroequilin, 17α -estradiol, 17α -dihydroequilenin, equileninなど数種のエストロゲンの合剤であり、エストロン誘導体が約半数を占めており、生物活性の強いエストラジオールは数%とごくわずかを占めるに過ぎない。これらが体内に入り肝臓で代謝されて種々の代謝産物になり、抗エストラジオール抗体と交叉反応を示すため、従来の測定法では実際よ

りもその値が高くなっている可能性があり、プレマリン®内服後のE2値を正確に測定することは困難であり、HRT中の血中E2値を指標にして投与量を決定することもまた極めて困難であると思われていた。今回我々が用いた測定法は、HPLCを用いてE1およびE2の分離を行ってからRIAを行うことにより感度と特異性が優れているので、HRT施行中のE2およびE1濃度を正確に測定することができ、エストロゲン活性を推定することができると思われる。

閉経前後における各年代別のE2およびE1濃度では、E2は55歳を超えると3~6pg/mlと極めて低値を推移することが明らかとなり、この値は従来報告されているE2値よりもさらに低値であることが示された。一方E1値については従来の報告とほぼ同様の値を推移することが示された⁹⁾。

次にHRT施行中のE2およびE1濃度についてみると、投与前は全例10pg/ml以下の値を示していたが、6カ月後には平均すると23.6pg/ml、12カ月後には平均で21.5pg/mlと有意な上昇を示した。しかしながら個人差はかなりあると思われ、6カ月で4.9pg/mlとほとんど変化のない例から49.8pg/mlとかなり上昇する例までばらつきが認められた。また、E1についても投与前は平均26.6pg/mlであったが、6カ月後には平均156.7、12カ月後には平均137.2pg/mlと有意な上昇を示した。

これらの血中エストロゲン測定値について現在

までの主要な報告と比較してみると, Dupont et al. によれば⁷⁾15例の子宮摘出後の更年期障害婦人に対して, プレマリン®0.625mg を連日投与し, その時の E1 は投与前17.6pg/ml が投与後6ヵ月で234.4pg/ml へ, E2 は投与前14.1pg/ml が投与後6ヵ月で34.9pg/ml へ増加したことを報告している. また Jurgens et al. は⁸⁾, 閉経後婦人17例にプレマリン®0.625mg を連日投与し, 内服後8 ± 2 時間でホルモン値を測定したところ, E1 は90~100pg/ml, E2 は20pg/ml であったと報告している. また投与量を変化させた検討においても, Lobo et al. は⁹⁾プレマリン®の投与量を0.3mg と0.625mg の2群に分け, 内服後25日目に採血し測定したところ, 0.3mg ではE1は76pg/ml, E2は18.5pg/ml であり, 0.625mg においてはE1は153pg/ml, E2は39.4pg/ml であると報告している. また Chetkowski et al. は¹⁰⁾プレマリン®を0.625mg と1.25mg とに分けて比較し, 0.625mg ではE1は65pg/ml, E2は15pg/ml であり, 1.25mg においてはE1は150pg/ml, E2は20pg/ml であったとしている. 一方本邦においては本庄が¹¹⁾, 硫酸抱合型エストロン製剤1.25mg を経口投与した際の末梢血中硫酸抱合型エストロンの濃度について10~30ng/ml, E1については100~300pg/ml の上昇を認めている. このような今までの測定値をまとめると, 採血時期が一定でないため一様に評価はできないが, プレマリン®0.625mg ではE1は60~150pg/ml, E2は15~40pg/ml であるといえる. 今回のE2値についてはほぼこれらの報告と一致しており, 本邦婦人においても諸外国同様のホルモン値の推移を示すものと考えられる. しかし今までの報告はいずれも最高6ヵ月までの検討であり, 今回の我々の検討によりHRT開始後12ヵ月においてもほぼ同様の値を維持することが認められた.

一方, 血中E2濃度と更年期障害あるいは骨粗鬆症の出現などとの関連についてはさまざまな報告がある. Barbieri によれば¹²⁾, E2濃度が28pg/ml になると尿中カルシウム排泄やFSH 値の減少が認められ, 65pg/ml 程度になるとLH, FSH ともに減少し, 腔の表層細胞の増加が認められるよう

になり, 脂質に影響するには70~80pg/ml 程度が必要になると報告している. また Nichols et al. も¹³⁾, E2濃度が35~70pg/ml になると血管運動神経症状は改善し, 腔萎縮症状は70pg/ml で改善するとしている. しかしその一方で太田らは¹⁴⁾E2濃度と骨密度の増加量, 脂質の変動との間には関連が認められないと報告しており, 血中E2濃度と各種症状の出現についてもまだ一定の見解は得られていないのが現状である. 今後本邦においてもE2濃度と更年期障害の改善や骨密度の増加量や脂質の変動等について詳細な検討が必要であり, その結果から欧米における投与量が日本人にも適した投与量であるかどうかについても再検討されたいと考えられる. さらに今後経皮投与や経腔投与法など新たなHRTが本邦において導入されていくうえにおいて, 日本人における必要なE2濃度を設定することが求められ, その意味において今回の検討は必要であると思われる.

HRT を施行していくうえにおいては性器出血は現在大きな問題点となっている. 今回我々が用いたCEEとMPAの連日持続併用療法は最初の数ヵ月は出血が認められるが, それを超えると出血の頻度は低くなるという点で画期的な方法として欧米より紹介された方法である⁵⁾. しかし最初の数ヵ月における出血に耐えられずコンプライアンスの低下につながる症例もあり投与の継続には苦慮する場合も多い¹⁵⁾. 今回我々は出血の頻度が半数に減少する6ヵ月時点において出血が認められる要因について検討してみたが, 閉経後からの年数および血中のE2の値に有意差を認めることができなかった. しかし閉経後からの年数がたった例ほど, 血中E2濃度の低い例ほど出血は減少する傾向が認められた. 今回6ヵ月において出血が認められなかった群においてE2値が32.4, 38pg/ml と高値を示した2例が含まれており, これらの患者の閉経後の年数は13年, 38年と長期たっていることから, 血中のE2値は上昇しているものの子宮内膜の反応性がなくなっているため出血を来さなかった可能性が推察され, 今後はさらに症例数を増やしてこの両面から性器出血の状態をみていくことが必要であると思われる.

血中エストロゲンを正確に測定することでコンプライアンスをたかめるようなホルモン投与法が考案されれば、本邦においてもより一層HRTが浸透し、更年期障害の治療だけでなく骨粗鬆症や動脈硬化の予防の観点から、広く普及するものと期待できる。また、経皮投与や経腔投与などの新たな投与方法やCEE以外のホルモン剤を用いた新たなHRTが本邦においても導入されていく際においても、本邦婦人における適切な血中エストロゲン濃度を設定することが極めて重要であり、その意味において今回の検討は基本的なデータを提供するものであり有意義であると思われる。

文 献

1. 安井敏之, 米田直人, 上村浩一, 梶 博之, 桑原章, 横山祐司, 斉藤誠一郎, 漆川敬治, 東敬次郎, 苛原 稔, 青野敏博. 中高年婦人および両側卵巢摘出婦人に対するエストロゲン・プロゲステン持続併用療法の骨および脂質に対する検討. 日更年期医誌 1994; 2: 130—138
2. 安井敏之. HRT 処方の実際. 青野敏博 編 臨床医のための女性ホルモン補充療法マニュアル, 閉経前後の care と cure 東京: 医学書院, 1994; 61—72
3. Lindsay R, Hart DM, Clark DM. The minimum effective dose of estrogen for prevention of postmenopausal bone loss. Obstet Gynecol 1984; 63: 759—763
4. Whitehead MI, Fraeser D. Controversies concerning the safety of estrogen replacement therapy. Am J Obstet Gynecol 1987; 156: 1313—1321
5. Weinstein L, Bewtra C, Gallagher JC. Evaluation of a continuous combined low-dose regimen of estrogen-progestin for treatment of the menopausal patients. Am J Obstet Gynecol 1990; 162: 1534—1542
6. 森 一郎. 更年期対策—ホルモン動態. 産科と婦人科 1984; 51: 139—147
7. Dupont A, Dupont P, Cusan L, Tremblay M, Gomez JL, Mailloux J, Lignieres B, Belanger A, Labrie F. Efficacy of percutaneous estradiol and oral estrogens as replacement therapy in postmenopausal women. Dusitsin N, Notelovitz M, eds. Physiological Hormone Replacement Therapy. New Jersey: The Parthenon Publishing Group Ltd, 1990; 37—49
8. Jurgens RW, Downey LJ, Abernethy WD, Cutler NR, Conrad J. A comparison of circulating hormone levels in postmenopausal women receiving hormone replacement therapy. Am J Obstet Gynecol 1992; 167: 459—460
9. Lobo RA, Brenner P, Mishell R. Metabolic parameters and steroid levels in postmenopausal women receiving lower doses of natural estrogen treatment. Obstet Gynecol 1983; 62: 94—98
10. Chetkowski RJ, Meldrum DR, Steingold KA, Randle D, Lu JK, Eggena P, Hershtan JM, Alkjaersig NK, Fletcher AP, Judd HL. Biological effects of transdermal estradiol. N Engl J Med 1986; 314: 1615—1620
11. 本庄英雄. 卵巣の老化と硫酸抱合型エストロン. 産婦進歩 1987; 39: 483—487
12. Barbieri RL. Hormone treatment of endometriosis: The estrogen threshold hypothesis. Am J Obstet Gynecol 1992; 166: 740—745
13. Nichols KC, Schenkel L, Benson H. 17 β -estradiol for postmenopausal estrogen replacement therapy. Obstet Gynecol Surv 1984; 39: 230—245
14. 太田博明, 池田俊之, 増沢利秀, 小武海成之, 増田あさ子, 堀口 文, 野澤志朗. 本邦婦人におけるホルモン補充療法の臨床的効果と good responder の選別. 産婦治療 1994; 68: 491
15. Ravnkar VA. Compliance with hormone therapy. Am J Obstet Gynecol 1987; 156: 1332—1334

(No. 7635 平7・4・7 受付)