

速報

DHEA (Dehydroepiandrosterone)-17-oxime-BSA 抗体による血中 DHEA 及び 16 α -OH-DHEA の同時測定法

昭和大学医学部産婦人科学教室

松橋一雄 中山徹也

東京理科大学理学部応用化学教室

飯田貢

東京大学第3内科学教室

大沢伸昭

緒言

妊娠時の estriol の主なる precursor である DHEA 及び 16 α -OH-DHEA の測定は臨床的価値が大きいと考えられ、前者に於ては既に Radioimmunoassay (RIA) 法が開発されているので、我々は後者との同時測定 RIA 法の開発を試みた。

方法

I. 測定法の概要

16 α -OH-DHEA 測定法の概要を図1に示した。なお、DHEA の測定は既報の関原等の方法 (Sekihara et al., 1972) による。

II. 16 α -OH-DHEA 測定法の検討

1) DHEA-17-oxime-BSA と 16 α -OH-DHEA の交叉反応。

本 assay 法では抗 DHEA-17-oxime-BSA 抗体との交叉反応を応用せんとしたので、その点を検討し、DHEA 100とした場合、16 α -OH-DHEA と 40%の交叉率があることを認めた。

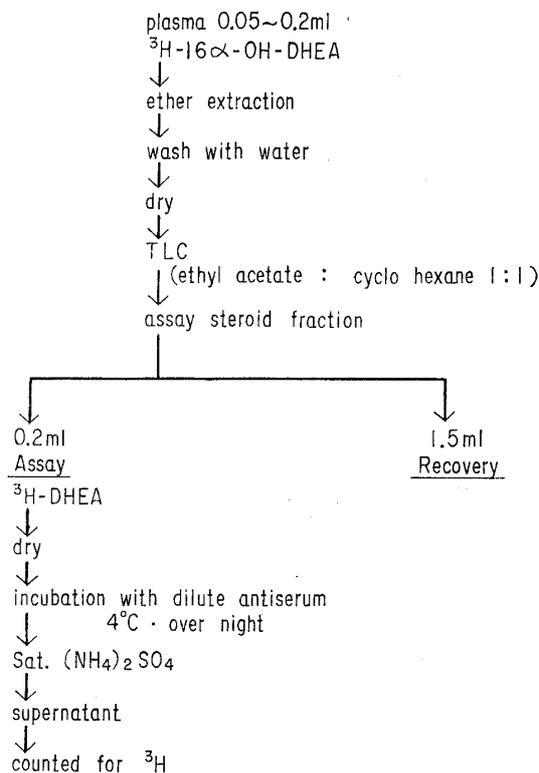
2) 16 α -OH-DHEA の分離・純化法

ether 抽出後の各ステロイドからの 16 α -OH-DHEA の分離には Thin-layer-chromatography (cyclo hexan: ethyl acetate 1 : 1 system \times 2回) を用いた。DHEA と 16 α -OH-DHEA の分離は完全であつた。

3) 抽出後の回収率の補正

Specific activity の高い ^3H -16 α -OH-DHEA の

図1 The procedure of the measurement



生合成は *Streptomyces roseochromogenus* (NRRL B-1233) を用いた微生物変換反応によつた (Iida et al., 1975a,b).

これを検体ごとに加えることにより抽出・純化過程の回収率を知り、測定値を検体ごとに補正した。なお、抽出・純化過程の回収率は約50%であつた。

表 1

1) Accuracy

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

2) Precision

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

表 2 正常分娩に於ける, 母体血・臍帯動脈血・臍帯静脈血値の平均値の比較 (expressed as ng/ml)

	Maternal vein	Umbilical Artery	Umpilical Vein
D H E A	13.37 \pm 8.83	11.45 \pm 7.68	7.16 \pm 4.70
16 α -OH-DHEA	6.13 \pm 3.05	22.16 \pm 11.73	14.31 \pm 9.61

4) 標準曲線

純品16 α -OH-DHEA については0~500pgの間で良好な標準曲線が得られ, 最小検出量は25pgであった。

Ⅲ. 本法の精度 (表1)

1) Accuracy; 蒸留水に本ステロイドの1, 10, 20ngを加えた際の 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。

IV. 臨床成績

正常分娩29例についての母体血並びに胎児血中

のDHEA及び16 α -OH-DHEA値は表2の如くであり, 16 α -OH-DHEA値は臍帯動脈血に最も高く(22.16 \pm 11.73ng/ml), 臍帯静脈血値はこれより低く(14.31 \pm 9.61ng/ml), 母体血では低値を示した(6.13 \pm 3.05ng/ml)。胎児血についてはDHEA値に比べ16 α -OH-DHEA値が約2倍の高値を示すことは興味深い。

考案と結論

本法により estrogen precursor と考えられるDHEA及び16 α -OH-DHEAの同時測定が可能となつたことの意義は大きい。本法は, Specific activity の高い³H-16 α -OH-DHEAを生合成し, これを予め加えることにより, 抽出過程での回収率を検体ごとに補正した点が新しい。

但し, 次の点については更に検討を要する。1) 血中の同ステロイドに関しては, free型とともに sulfate型(血中には同型が多いことが知られている)をも同時測定することが望ましいが, この為には Solvolysis などによる加水分解を併用することが必要となるであろう。2) 本法での16 α -OH-DHEAの分離に用いた Thin-layer-chromatography system では16-oxo-Androstenediolの分離が不十分であると思われるので(桑原), 化学的に16 α -OH-DHEAと可逆反応を起しやすい同ステロイドをも同時測定することになる。なお, 16-oxo-Androstenediolは16 α -OH-DHEA値に比べ低値であることが知られている(矢内原)。

稿を終えるにあたり, 関原久彦博士(東大・第3内科)の御厚情に深謝する。

文 献

- 桑原慶紀: 私信。
 矢内原巧: 私信。
 Sekihara, H., Ohsawa, N. and Ibayashi, H. (1972): Steroids. 20(6), 813.
 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.
 (No. 2940 昭50・7・7受付)