Clinical Studies on the Urinary Excretion of Aldosterone in Myasthenia Gravis

Masato NAKAMOTO

The IInd Division of Medicine, Department of Medicine, Iwata Medical University,
Uchimarui, Morioka, Japan (Director : Professor Takeshi Kimura, M.D.)

Urinary excretion of aldosterone was measured (since 1963) by the modified method of Neher & Wettstein, in 10 patients with myasthenia gravis including 2 cases of fulminant form, 4 cases of generalized form and 4 cases of ocular form.

The normal range of aldosterone values was 2.2 to 11.2 $\mu\text{g/day}$ (average: 5.5 ± 2.2 $\mu\text{g/day}$) in 8 healthy adults, and the total recovery was 55.0 to 59.3% (average: 57.7%) with the addition of 30 μg of d-aldosterone free in 900 c.c. of boiled urine, and the average value of paper blank was 0.025 ± 0.002 .

A slight to moderate increase of urinary excretion of aldosterone was observed during the period "with" extremity weakness in 6 patients of fulminant form or generalized form, and then the value decreased to normal limits during the period "without" extremity weakness in 4 cases of 6 patients, whose muscle weakness was diminished by anti-cholinesterase therapy. In 4 cases of ocular form, however, aldosterone excretion was constantly within normal range.

The increase of sodium to potassium ratio in urine was also observed during the period "without" muscle weakness. No significant difference between both periods in the urinary excretion of 17-ketosteroids, 17-hydroxycorticosteroids and catecholamines was observed.

Transient hyperaldosteronuria, occurring during the period "with" extremity weakness in myasthenia gravis, might be explained by the following findings; 1) the abnormality in neuromuscular transmission with changes of intracellular electrolytes, which was considered to be one of the etiologic factors of myasthenia, 2) the occurrence of clinically obvious muscle weakness with slight changes of mineralocorticoid activity, 3) the effectiveness of aldosterone antagonists and KCL tablets in this disease, notwithstanding normal electrolytes in serum, 4) the decrease of intracellular potassium caused by aldosterone, if potassium depletion was to occur in muscle tissue, 5) the inhibitory effect of aldosterone on acetylcholine *in vitro*.

The significance of the relation of the demonstrated hyperaldosteronuria, which may be secondary, in myasthenia gravis (of fulminant or generalized form), to the basic disorder in this disease is not yet apparent. (pp. 770~784)

重症筋無力症の尿中 Aldosterone 排泄量 に関する臨床的研究

岩手医科大学内科学第二講座（指導 木村武教授）

仲 本 将 人

（昭和42年2月3日受付）

緒 言

1955年 Conn¹⁾ により primary aldosteronism がはじめて提唱されて以来、筋麻痺ないしは筋無力状態と電解質の問題、特に intra- and extracellular のナトリウムおよびカリウムの変動との関係が重要視されてきている^{27)~33)}。特に抗 aldosterone 剤が有効な点より、重症筋無力症においても、mineralocorticoid metabolism と密接な関係を有する aldosterone の果たす役割が問題となつている¹³⁾¹⁴⁾。

著者は1963年以来、重症筋無力症患者における筋無力症状におよぼす aldosterone の役割を究明する目的で、本症患者の尿中 aldosterone 排泄量をその臨床経過を追つて測定し、新たな知見を得たので報告する。

他方重症筋無力症においては諸種内分泌異常を合併することが多いとされており、著者の経験した10例においても、糖同化機能異常、甲状腺機能異常、胸腺腫および異常残存胸腺などを認める例が多く、これら内分泌機能についても言及したい。

測 定 法

著者は Neher & Wettstein 法²⁾ に基づく Hernando ら³⁾ の測定法に改良を加えた久田氏変法⁴⁾ にほぼ準じて尿中 aldosterone 排泄量の測定を行なつた。

(A) 試 薬

1) Chloroform: Aldosterone 用特級品に1/5容の 2,4-dinitrophenyl hydrazine 試薬を加え還流冷却器を用いて約75°Cにて3時間加熱し、脱 aldehyde 後室温にて放置冷却し chloroform 層を分離し、之に無水硫酸ソーダを加えて脱水後再蒸溜を行ないその中溜分を使用した。

2) Methanol: 特級品を再蒸溜して使用した。

3) Ethanol: 特級品を ethanol 1000cc につき飽和苛性ソーダ 5 cc および亜鉛末 5 gm. を加え還流冷却器を用いて95°C 30分間加熱し、脱 aldehyde 後再蒸溜を行なつて使用した。

4) 濃塩酸: 特級試薬を使用した。

5) 1/10 N-NaOH: 特級苛性ソーダ試薬 4 gm. を蒸溜水 1000cc 中に溶解し使用した。

6) Formamide: 和光製純薬品を使用した。

7) Acetone: 特級試薬を使用した。

8) Toluene: 特級試薬を使用した。

9) Ethyl acetate: 特級試薬を再蒸溜し使用した。

10) 無水硫酸ソーダ: 特級品を desiccator 中に保存し使用した。

11) Blue tetrazolium: Nutritional Biochemicals Corporation, Cleveland, Ohio. Lot No. 3839 を用いた。

12) 10% Tetramethylammonium hydroxide 水溶液: 東京化成製品を使用した。

13) Florisil: 60-100mesh, Floridin Co. 製を特級 ethanol に一昼夜浸漬し、その間4-5回 ethanol を取り替える。かくして得た florisil を更に ethanol で2回洗滌し、glass fiber filter で濾過乾燥させ、更に

之を電気炉で600°C 4時間加熱した。活性化した florasil は放冷後 desiccator 中に保存し、4日以内に使用した。

14) Filter paper : 東洋濾紙 No. 51を予め数本の脚を有する様に作成し⁴⁾、精製 chloroform 中に浸した後に取り出し乾燥後、Soxlet 装置を用いて ethanol で48時間洗滌後使用した。

15) 標品 Aldosterone^{*1)} : エーザイ製薬提供の Vismara Terapeutici, Lot No. 55563 126825 を使用した。

16) 標品 Cortisone および Hydrocortisone : 帝国臓器および塩野義製薬提供の cortisone free および hydrocortisone free を使用した。

17) Sudan III : Hexane 中に溶解して用いた。

18) 水 : イオン交換樹脂純水精製装置より得た Cu^{++} を含まない純水を使用した。

(B) 測定法

Fig. 1. Our method of determination of urinary aldosterone by the modified method of Neher & Wettstein

Urine sample

cooled and collected over a 24-hour urine with 15cc glacial acetic acid, protected from light

Hydrolysis

allowed to stand at room temperature for 24 hours after acidifying to pH 1.5 with conc. hydrochloric acid

Extraction (twice)

added with 0.5 vol. chloroform and shaken with a continuous mechanical shaker for 6 hours
Emulsion is separated by centrifuging

—Washing

- a) with 0.05vol. 0.1N sodium hydroxide solution (twice)
- b) with 0.05 vol. dist. water until the washings are neutral to litmus paper (twice or more)

Each washing is back extracted with 0.5 vol. chloroform and added to the extract

—Dehydration with sodium sulphate and filtered

—Evaporating in vacuo in water bath below 50°C

Florasil column chromatography

the portion of 45cc 25% methanol-chloroform is evaporated

First paper chromatography (Zaffaroni F-C System)

the location of aldosterone is checked by using UV lamp with corning filter No. 9896 and the strip of 6cm width (5cm above & 1cm below) corresponding with the bottom line of standard cortisone is cut out. The aldosterone spot is eluted in methanol for 24 hours after drying below 50°C overnight and evaporated

Second paper chromatography (Bush C System)

hydrocortisone is used as standard and other procedure is same as described in F-C system

Blue Tetrazolium reaction

Spectrophotometry (510m μ)

Evaluation from a standard curve with d-aldosterone

Fig. 1 に著者の測定法の概略を示す.

1) 加水分解と抽出

氷水を用いて 5℃以下の暗室にて貯えた24時間尿を, pH meter を使用し濃塩酸を加えて pH1.5 とし, 室温にて24時間放置し加水分解を行なった. 次いで1/2容の精製 chloroform を加え機械振盪機を用いて6時間振盪, この操作を2度くり返して抽出を行なった. 抽出液は1/20容の 1/10N-NaOH 液で2回洗滌し, 次いで1/20容の蒸留水で抽出液がリトマス中性となるまで2回以上洗滌を行ない, かようにして得た洗滌液は1/2量の chloroform にて逆抽出を行ない, 之を元の抽出液に加え, 更に之に少量の無水硫酸ソーダを加えて脱水を行なった後に50℃以下の温度にて減圧蒸溜乾固を行なった.

2) Column chromatography

内径1 cm 高さ7 cmの column に ethanol を用いて湿式にて florasil をつめ, 之に前述の方法で乾固した粗抽出物を chloroform 10cc にて溶出した液を注入吸着せしめ, 更に chloroform 5cc にて2回容器を洗滌し column に注入した.

次いで 1% methanol-chloroform 液 25cc, 更に 25% methanol-chloroform 液 45cc を1分間約60滴の速度で column を通し, aldosterone が溶出される後者の分画45ccを採取し, 之を 50℃以下で減圧乾固した.

3) Paper chromatography

a) First paper chromatography (Zaffaroni F-C System)

前述の方法で精製した濾紙を 30% formamide acetone 溶液に浸した後に之を暫時空气中で乾燥させ余分の液は濾紙を用いて吸着除去し, この濾紙の起始点上に column chromatography を行なつて得た乾固物を少量の chloroform に溶解した液を spot し, 他脚にそれぞれ cortisone, hydrocortisone の methanol 溶液を spot し, 更に Sudan III を pilot として spot した. 上述の方法ですばやく spot した濾紙を室温にて formamide 飽和 chloroform 液を溶媒としたタンク中で4—6時間展開し, Sudan III で示された solvent front が脚の先端 5 cm以内に達した時に濾紙をタンク中より取り出し, 50℃以下の乾燥器中で一昼夜乾燥させた. 次いでマツダ殺菌灯 (GT1511A) を光源とし Corning filter (No. 9863) を通して cortisone spot に相当する部分を, 上 5 cm下 1 cmの 6 cm巾に切り取り, 10ccの methanol で一夜溶出後更に約10ccの methanol で容器を洗滌した. この溶出液を50℃以下にて減圧乾固し, 次の操作を行なった.

b) Second paper chromatography (Bush C System)

この乾固物を少量の chloroform に溶解し, 前述の方法で精製した濾紙の起始点上に spot し, 他脚にそれぞれ cortisone, hydrocortisone を spot して, 之を37℃に安定させた Bush 溶媒 (Toluene : Ethyl acetate : Methanol : Water ; 9 : 1 : 1 : 5) 液の固定相の蒸気中で3—4時間吊した後に, 之に移動相を注入し3—5時間展開した. この Bush C 系では aldosterone は hydrocortisone とほぼ同じ R_f 値を有するので, 先の F—C系と同様にして hydrocortisone に一致する spot を 6 cm巾に切り取り, 他方何も spot してない脚より同じく 6 cm巾に切り取り paper blank とし, 同様に減圧乾固した

4) 比 色 定 量

上述の操作を経て精製した試料および paper blank より得た乾固物をそれぞれ 3 ccの精製 ethanol に溶解し, 之に 10% tetramethylammonium hydroxide 水溶液を精製 ethanol で溶解した溶液 0.5cc および 0.1gm blue tetrazolium を精製 ethanol 20cc に溶解した過飽和溶液の上清 (500mg%) 0.5cc を加え, 振盪しながら充分混和し, 室温暗所に25分間放置し発色を確認してから氷醋酸 2 ccを加えて発色を停止させた. 次いで之を Bechman 型 spectrophotometer を用い波長 510m μ の吸光度にて比色して得た値から paper blank の値を差し引き, hydrocortisone 1 μ g の平均値 (0.0090) より換算算出した. 尚 d-aldosterone を入手後は, これを用いて作成した標準曲線を使用した (Fig. 2).

5) 測定法の検討, 正常値並びに回収率

著者の行なった測定法と Neher & Wettstein 法との相違点は, a) 尿採取に際し3倍に稀釈した氷醋酸15cc

Fig. 2. Standard curve (at 510m μ .)

Fig. 3. Absorption spectra of free aldosterone, urine extract and reagent blank with blue tetrazolium reaction

を加え氷水を用いて 5°C 以下の冷暗所で蓄尿したこと, b) 抽出は機械振盪機を用い 1/2 容の精製 chloroform を加え 6 時間振盪を 2 度行なつたこと, c) Silica gel の代りに florisil を用いて column chromatography を行なつたこと, d) Aldosterone spot の決定にマツダ殺菌灯を光源とし Corning filter を使用したこと, e) Aldosterone 値は blue tetrazolium 反応により比色し別に作成した d-aldoosterone free の標準曲線より算出したこと (当初は aldosterone の入手不能のため, hydrocortisone 1μg の平均値より換算算出したこと) 等である. 尚久田氏変法と異なる主な点は, 抽出に Cohen type の連続抽出器を使用せず機械振盪機を用いた点である.

著者の方法で得た d-aldoosterone free, 尿抽出物および paper blank の peak は Fig. 3 に示す如く 510m μ であり, paper blank の平均値は 0.025 ± 0.002 であつた.

尚著者の方法で測定された物質は 2 つの paper chromatography の Rf 値より aldosterone に相違ないと考えられたが, 食塩制限中の高血圧症患者尿より得られた試料について次の検討を行なつた. 紫外線吸収⁵⁾, Blue tetrazolium 反応⁶⁾, H₂SO₄ chromogen の吸収スペクトルの測定⁷⁾を行ない, Simpson ら⁸⁾と同様の結果を得た. 尚 H₂SO₄ chromogen の吸収スペクトルの測定では 288m μ に peak を有し, 著者の試料が aldosterone に相違ないものと考えられた.

第 1 次および第 2 次の paper chromatography のみの回収率はそれぞれ 84.0 および 82.5 % で, 煮沸尿 900ml に d-aldoosterone free 30μg を加えて行なつた全操作を通じての回収率は 55.0—59.3% (平均 57.7%) であつた.

健康成人 8 例 (男 4 例, 女 4 例) より得られた尿中 aldosterone 排泄値は 2.2—11.2μg/day で, その平均値は $5.5 \pm 2.2\mu\text{g/day}$ であつた.

6) 電解質および他の Hormone 測定法

血清および尿中電解質 (Na および K) の測定は日立 IIPF Flame Photometer を使用した。

尿中 17-ketosteroids (以下 17-KS) は Dreker らの方法⁹⁾, 17-hydroxycorticosteroids (以下 17-OHCS) は Porter & Silber 法¹⁰⁾により, さらに catecholamine は Euler & Floding 法¹¹⁾により測定した。

実験対象および実験方法

対象は1963年以来当科に入院した電撃型2例, 全身型4例および眼瞼型4例からなる重症筋無力症患者10例について行ない, 全例共普通食を与え, 特に電解質の負荷および制限は行なっていない。

尿中 aldosterone およびその他の尿中 hormone の測定は extremity weakness を有する時期およびこれを欠く時期に測定を行なったが, 両時期に亘って測定可能であつたのは電撃型の1例および全身型の3例の計4例であつた。電撃型の他の1例は常に extremity weakness を有し, myasthenic crisis で死亡したため, 又全身型の他の1例は抗 ChE 剤投与に抗し寛解を見なかつたため, 共に extremity weakness を欠く時期を有せず, 眼瞼型の4例と共に, 両時期に亘って観察することは出来なかつた。

Extremity weakness の程度は臨床症状および臨床所見特に両腕を水平に保ちうる時間で判定した。尚全例共 Tensilon[®] test 陽性であつた。

結 果

眼瞼型の3例 (Y.S., F.O. および F.O.) を除く他の8症例の臨床所見, 検査所見および治療状況については Fig. 4 より Fig. 10 までに示した。

全症例の尿中 aldosterone, 17-KS, 17-OHCS, catecholamine, 血清 Na および K 値更に尿中 Na/K 比を extremity weakness の有無による時期に分け Table 1 に示した。Fig. 11 に示す如く, extremity weakness を有する時期に尿中 aldosterone 排泄量の明らかな増加を認め, かつ extremity weakness の消失せる時期に aldosterone 値の正常化を認めた。本症患者に抗 ChE 剤^{*)}を投与した際に尿中 aldosterone 値に影響をおよぼすか否かを実験的に確かめることは困難であるが, 眼瞼型 H.Y. 例 (Fig. 10) について行なつた

Fig. 4.

28yr. ♀ Fulminant form

48yr. ♂ Generalized form

Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 9.

48yr. ♂ Generalized form

Y.K.

Onset : July. 1964

Admission: Sept. 7 1964

Table 1. Urinary excretion of aldosterone, 17-ketosteroids, 17-hydroxycorticosteroids

Form	subject	Aldosterone		17-ketosteroids		17-hydroxy-corticosteroids		Adrenaline	
		with *	without*	with	without	with	without	with	without
Fulminant f.	T.C. 32 yr M	μ g/day {20.0 31.4 28.2}	26.5	6.1		4.5		15.1	
	E.U. 28 F	{27.2 19.0}	23.1 { 4.0 5.0}	4.1	2.9	3.9	4.9	13.7	4.6
Generalized f.	J.N. 48 M	{17.6 19.8 16.4}	17.9	7.3		5.1		3.3	
	Y.C. 39 M	{31.2 26.4 17.2}	24.2 { 7.4, 5.2 2.0, 2.0 3.0, 4.2}	6.5	4.8	2.8	2.2	5.1	4.7
	K.K. 31 F	{14.8 17.6 21.2}	16.5 { 11.0, 3.5 2.8, 9.5 10.0, 8.6}	1.9	1.9	1.5	1.6	4.4	2.4
	Y.K. 48 M	{12.8 13.8}	13.1 { 5.4 10.3 7.2}	5.3	7.3	2.6	3.5	2.1	4.7
Ocular f.	H.Y. 17 F		{ 1.7, 1.2 10.0, 1.3 2.7, 4.0 2.6}		2.0		1.9		9.2
	Y.S. 12 F		6.0		1.4		1.5		5.7
	O.F. 11 M		2.6		2.3		1.8		3.6
	F.O. 41 M		1.2		3.7		2.3		trace

*during the period "with" or "without" extremity weakness

Fig. 10. 17 yr ♀ Ocular form

Onset: Nov. 1960

Admission: Apr. 29 1964

catecholamine, and serum & urinary electrolytes in patients with myasthenia gravis

Noradrenaline		Serum Sodium		Serum Potassium		Urinary Na/K		Notes
with	without	with	without	with	without	with	without	
$\mu\text{g/day}$	$\mu\text{g/day}$	mEq/l	mEq/l	mEq/l	mEq/l			
37.2		138.5		5.0		3.4		hypertension died of myasthenic crisis
10.7	22.0	137.0	138.7	5.1	5.1	3.0	6.6	hypertension thymectomy
12.9		141.5		4.9		5.1		anti-cholinesterase therapy is ineffective
42.2	24.5	148.5	145.2	4.7	5.6	3.0	4.2	hyperthyroidism
21.0	31.0	139.6	143.9	5.0	5.5	4.0	4.7	hypothyroidism thymectomy
52.5	19.1	140.9	142.7	4.6	4.9	2.8	5.1	hyperthyroidism thymectomy
	36.4		141.5		5.7		4.7	no extremity weakness thymectomy
	21.1		145.0		5.0		4.7	no extremity weakness
	23.6		143.0		5.4		4.3	no extremity weakness thymectomy
	31.4		141.2		4.7		4.8	no extremity weakness

**the average value of the determined value shown in parentheses

Fig. 11. Concentrations of urinary aldosterone, serum sodium & potassium, and urinary sodium to potassium ratio during the periods "with" and/or "without" extremity weakness

Fig. 12. Concentrations of 17-ketosteroids, 17-hydroxycorticosteroids and catecholamine during the periods "with" and/or "without" extremity weakness

結果より抗 ChE 剤投与が aldosterone 排泄量に特別の影響を与えないものと想像された。T.C. および J.N. の 2 例 (Fig. 4, 6) でもほぼ同様のことが云いえる。この両例では抗 ChE 剤を投与しても extremity weakness の改善をみていない点が特に重要だと考えられる。全身型の Y.C. 例 (Fig. 7) で明らかな如く、尿中 aldosterone 排泄量の減少は、抗 ChE 剤そのものの影響ではなく、むしろ同剤の奏効による extremity weakness の消失と共に起つたものと考えられる。

次に Fig. 12 に示す如く、17-KS および 17-OHCS 値には aldosterone 値にみられる様な有意の変動は認められなかつた。

Table 2. Another findings of clinical and laboratory examinations

	Form	Fulminant f.		Generalized f.				Ocular f.			
	Cases Age. Sex	T. C. 32 ♂	E. U. 28 ♀	J. N. 48 ♂	Y. C. 39 ♂	K. K. 31 ♀	Y. K. 48 ♂	H. Y. 17 ♀	S. Y. 12 ♀	O. F. 11 ♂	F. O. 41 ♂
Tention Test		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E.M.G. findings	waning	+	+	+	+	+	+	+	+		
	low voltage					+	+				
Muscle biopsy	atrophy	++	+	+	+	+	+	+			
	degeneration	+		+	+	+	+				
Na/K ratio in muscle tissue					1/2.2	1/1.5		1/1.2			
Urine sugar		+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
G.T.T.	fasting time	119	107	50	87	77	102	75	88		
	after 60 min. (depletion of 50g)	203	223	90	124	78	178	78	126		
Struma		—	—	—	+	—	+	—	—	—	—
Thymoma in chest X-ray		+	—	—	—	—	±	—	—	—	±
Thymus weight in cases, accepted "Thymectomy"			35 g			50 g	14 g	29 g			

Fig. 13. Influences on concentrations of urinary aldosterone, serum sodium & potassium, and urinary sodium to potassium ratio after thymectomy

尿中 adrenaline 値は高血圧を有する電撃型の 2 例 (T.C. および E.U. 例) で軽度上昇を認め、又 nora-drenaline は甲状腺機能亢進を示した例 (Y.C.) で軽度増加を示したが、extremity weakness の有無による有意の変動は認められなかった。

Aldosterone 排泄量と甲状腺機能との関係についても一定の傾向は認められなかった。

次に他の内分泌機能との関係をみると (Table 2), 糖同化能の異常を認めた例が 10 例中 3 例もあり、第 1 および第 2 例で尿糖陽性、糖負荷試験にて 60 分値の増加を認めた。第 3 例は逆に低血糖の傾向にあつた。甲状腺機能亢進 (甲状腺腫) を認めたものが 2 例あり、又胸部レ線で明らかな胸腺腫を認めたもの 1 例、又胸腺摘出術を施行した 4 例共年令に比し脂肪化の少い異常残存胸腺を認め得た。

次に K.K. 例 (Fig. 8) では Spironolactone^{*4)} 投与時に尿中 aldosterone 増加を示しているが、同剤投与前および服用 1 か月半後の aldosterone 値に差がないことより、同剤の直接の影響ではないと思われる。これは同時期に臨床的に extremity weakness の出現を認めておりその影響と考えるのが妥当と思われる。次に胸腺摘出術の影響をみると Fig. 13 に示す如く一定の関係は認められなかった。これは又 E.U. および K.K. 例の経過表 (Fig. 5 および Fig. 8) より明らかである。

血清 Na および K 値については、Fig. 11 に示す如く、Na 値は 3 例で extremity weakness を欠く時期で逆に増加しており、aldosterone 値の低下、血清 K 値の増加および尿中 Na/K 比の増加等と一致しなかったが、この変動は全て正常範囲内のものであり、特に有意の差はないと考えられた。血清 K 値は尿中 aldosterone 値の減少とほぼ一致して増加していた。尿中 Na/K 比も同様に aldosterone の変動とほぼ一致して増加していた。

考 案

1961 年 Gottlieb および Laurent¹²⁾により、重症筋無力症に抗 aldosterone 剤^{*4)5)}が有効であるという報告がはじめてなされ、以来本症の筋組織における電解質代謝が再び注目される様になった。しかし本症における aldosterone 代謝に関する報告は殆ど見当らない。

最近 Frenkel ら¹³⁾により、月経前期に筋力低下を示す重症筋無力症の婦人患者 3 例で排卵後の progesterone 排泄増加にひき続いて尿中 aldosterone 排泄量の増加を認め、これら患者に progesterone および DOCA 注射を行なつて実験的に症状の増悪を起させ得たとの報告がなされた。更に Frenkel¹⁴⁾によれば、これら 3 例の患者に排卵抑制の目的で Norethynodrel (Enovid)^{*6)}を投与して progesterone 産生を抑制し月経前期の症状増悪も阻止出来たことより、本症の増悪因子として aldosterone の排泄増加が考えられることを実証した。しかるに Frenkel の報告では、月経前期に症状増悪を示さない他の婦人患者および男子患者についての尿中 aldosterone 排泄量の記載はなく、又本邦では沖中ら¹⁵⁾の 1 例で aldosterone 排泄量は正常であつたという報告があるのみである。しかるに本症患者の症状増悪は、婦人患者においてさえ、その大半は月経周期とは無関係に起るのであり、かつ他の男子例も含めて抗 aldosterone 剤が有効だとする報告は多い¹²⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。

他方周期性四肢麻痺発作においては、麻痺発作の際に血清 K が著明に低下することが明らかにされており¹⁹⁾²⁰⁾、Conn²¹⁾は麻痺の直前に aldosterone 分泌が亢進し細胞外液の Na が増加して K が細胞内に移行するためとし、intermittent hyperaldosteronuria という説を提唱した。以来本症の筋肉内外の電解質の変動について数多くの観察がなされているが、麻痺の際にかならずしも aldosterone 分泌増加を認めない報告があり²²⁾²³⁾²⁴⁾、現在では麻痺発作と aldosterone 分泌増加との関係はむしろ否定的の様である。

一方重症筋無力症の際の血清 K 値は正常ないしは正常下界を示すとされているが²⁵⁾、本症における細胞内電解質の変動については、報告例が少くまだ一定の見解は得られていない様である。

Hypokalemic paralysis は exogenous steroids によつても起りうるし、又 aldosterone の分泌が異常に亢進している状態 (Primary aldosteronism) では自然に起りうる。

重症筋無力症は現在の概念では特殊な type に属する neuromuscular conduction の障害によるとされて

おり、上述の如き hypokalemia や adrenal hyperfunction の徴候も見出されていないのが現状である。

Neuromuscular transmission 機構が正常に働いて筋収縮が起つた際には、急速な脱分極 (depolarization) が起り、細胞内への Na の移動が起り細胞内 K は減少するとされ、次いで再分極 (repolarization) の際にはこの逆の移動が起り、Na が細胞外へ出て K は細胞内へ入る²⁶⁾とされている。

Grob²⁷⁾によれば麻痺発作の発現機序として、血清 K の低下、細胞内 K の増加によって細胞内外カリウム比 (Ki/Ko) が上昇し、静止膜電位が上昇することより、hyperpolarization block と考えられた。最近 Creutzfeldt²⁸⁾ や里吉²⁹⁾ は周期性四肢麻痺で麻痺中の筋細胞静止膜電位が低下していることより、depolarization block と考えられる様になった。里吉は麻痺時に細胞内の水分が著明に増加するため細胞内 K 濃度はむしろ低下していると述べているが³⁰⁾³¹⁾、他方麻痺発作中軽度の水分増加は認めたが麻痺の有無にかかわらず細胞内 K 濃度に殆ど変化はないとし、里吉らの報告を否定した鎮目³²⁾の報告もある。他方 Dahlbäck³³⁾ および里吉²⁹⁾によれば、重症筋無力症の摘出筋の膜電位は正常であり、従つて Grob²⁷⁾の四肢麻痺に関する考え方 (hyperpolarization block) も否定出来ないとしている。

重症筋無力症にみられる extremity weakness を hyperpolarization block と考えた場合には、aldosterone により細胞外 K の細胞内への移動が抑制されることも当然考えられ、従つて Hechter³⁴⁾や Frenkel¹³⁾の DOCA 投与による観察ともよく一致すると思われる。

次に extremity weakness を欠き、尿中 aldosterone 排泄量が低下している時期に 3 例で血清 Na 上昇を認めたが、これは血清 Na 値の変動が正常範囲内のものであり、かつ正確な balance study を施行してないこともあり、あまり重要ではないと考えられた。

Luetscher³⁵⁾によれば、実験的に行なつた甲状腺機能の変動によつては尿中 aldosterone 排泄量に影響はなかつたとしているが、われわれの経験した 3 例でも同様の結果を得た。

重症筋無力症で extremity weakness を認めた時期に一致してみられた一過性の secondary hyperaldosteronuria の可能性として次の諸点が考えられる； a) 本症の原因として筋細胞内電解質の異常を来す neuromuscular transmission の障害が考えられていること²⁵⁾ b) Mineralocorticoid activity の一寸した変化が臨床的に明らかな筋力低下を起すこと、および本症の筋肉がイオン濃度の微妙な変化に対し異常に反応すると想像されること (筋細胞膜透過性の異常)¹³⁾、 c) 本症で血清 K 値は正常範囲内のことが多いにもかかわらず、K 剤や抗 aldosterone 剤投与の有効例が多いこと¹²⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾、 d) 筋組織内 K 値を低くした状態では、aldosterone により細胞内 K 値が更に低下すること、³⁶⁾ e) in vitro で aldosterone に acetylcholine 拮抗作用があること³⁷⁾等である。

しかるに重症筋無力症中 extremity weakness を有する電撃型および全身型の症例で、extremity weakness を認める時期に一致して、何故一過性に hyperaldosteronuria を来したかは尚不明である。

結 語

電撃型 2 例、全身型 4 例および眼瞼型 4 例の重症筋無力症患者 10 例の尿中 aldosterone 排泄量を臨床経過を追つて測定した。

電撃型および全身型患者全例で extremity weakness を有する時期に尿中 aldosterone 排泄量が増加しており、extremity weakness の消失を認め得た 4 例で尿中 aldosterone 排泄量の正常範囲への減少を認めた。4 例の眼瞼型患者では全経過を通して尿中 aldosterone 排泄量は正常であつた。

胸腺摘出術を施行した電撃型 1 例、全身型 2 例および眼瞼型 1 例の 4 例の手術前後の尿中 aldosterone 排泄量には有意の変動は認められなかつた。尚尿中 Na/K 比も aldosterone 値と一致して変動したが、同時に測定した尿中 17-KS、17-OHCS および catecholamine 値は extremity weakness の有無とは無関係で特別の変動は認められなかつた。

*1) — *6)

薬剤はそれぞれ以下の商品名を使用した。

- *1) Aldosterone = Δ^4 -pregnen-11 β , 21-diol-18-al-3,20-dione ;
- *2) Tensilon = dimethylethyl (3-hydroxyphenyl) ammonium chloride, (edrophonium chloride) ;
- *3) Ambenonium chloride = N,N'-bis (2-diethylaminoethyl) oxamide bis (2-chlorobenzyl) chloride ;
- *4) Spironolactone = 3-(3-oxo-7 α -acetylthio-17 β -hydroxy-4-androsten-17 α -yl) propionic acid- γ -lactone ;
- *5) Triamteren = 2,4,7-triamino-6-phenyl-pteridine ;
- *6) Norethynodrel = 17 α -ethynyl-17 β -hydroxy-5(10)-estren-3-one.

稿を終るに当り、御指導・御校閲を賜った恩師木村武教授に深く感謝致します。また本研究に対し終始御援助および測定法の御指導を頂いた本学生化学教室太田稔講師、および尿中 catecholamine の測定をして頂いた本学木村内科井上一彦助手に感謝致します。

また aldosterone free を心よく提供して下さいたエーザイ製薬、cortisone free および hydrocortisone free を提供頂いた帝国臓器および塩野義製薬各社に謝意を表します。尚本論文の要旨は第11回日本内分泌学会東部部会および第37・38および39回日本内分泌学会総会において発表した。

文 献

- 1) CONN, J.W. : J. Lab. Clin. Med., 45 : 3, (1955). 2) NEHER, R. & A. WETTSTEIN : J. Clin. Invest., 35 : 800, (1956). 3) HERNANDO, L., J. CRABBE, E. ROSS, W.J. ROSS, W.J. REDDY, A.E. RENOLD, D.H. NELSON & G.W. THORN : Metabolism, 6 : 518, (1957). 4) 久田昇一 : 日内分泌誌, 36 : 1396, (1960). 5) HAINES, W.J. : Recent. Progr. Hormone Res., VII : 255, (1952). 6) GENEST, J. : Canad. Med. Ass., 77 : 780, (1957). 7) NAWACZYNSKI, W., E. KOIW & J. GENEST : Canad. J. Biochem. Physiol., 35 : 425, (1957). 8) SIMPSON, S.A., J.F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. VON EUW O. SCHINDLER, & T. REICHSTEN : Helv. Chim. Acta, 37 : 1163, (1954). 9) DREKTER, I.J., A. HEISLER, G.R. SCISM, S. STERN, S. PEARSON & T.H. McGAVACK : J. Clin. Endocr., 7 : 795, (1947). 10) PORTER, C.C. & R.H. SILBER : J. Biol. Chem., 185 : 201, (1950). 11) EULER, U.S.v. & I. FLODING : Acta Physiol. Scand., 33(Suppl. 118) : 45, (1955). 12) GOTTLIEB, B. & L.P.E. LAURENT : Lancet, II : 528, (1961). 13) FRENKEL, M. & E.N. EHRLICH : Ann. Intern. Med., 60 : 971, (1961). 14) FRENKEL, M. : Arch. Neurol., 11 : 613, (1964). 15) 冲中重雄ほか : 内科, 9 : 475, (1962). 16) DORNDORF, W. & E. KAEMMERER : Nervenarzt, 33 : 416, (1962). 17) OKINAKA, S., N. OHSAWA, K. SHIZUME et al., : J. Clin. Endocr., 22 : 549, (1962). 18) SATOYOSHI, E., K. MURAKAMI & T. OKAZAKI : Lancet, 1 : 741, (1964). 19) AITKIN, R.S. & E.N. ALLOTT : Clin. Sci., 3 : 47, (1937). 20) BIEMOND, A. & A.P. DANIELS : Brain, 57 : 91, (1934). 21) CONN, J.W., L.H. LOUIS, S.S. FAJANS, D.H. STREETEN & R.D. JOHNSON : Lancet, 1 : 802, (1957). 22) ALLOTT, E.N. & B. MCARDLE : Clin. Sci., 3 : 229, (1948). 23) ROWLEY, P.T. & B. KLIMAN : Am. J. Med., 18 : 376, (1960). 24) SHY, G.M., T. WANKO, P.T. ROWLEY & A.G. ENGEL : Exper. Neurol., 3 : 53, (1961). 25) 冲中重雄 : 内科臨床と剖検 (冲中内科17年のあゆみ), 初版 (1963), 112, 南江堂, 東京. 26) HODGKIN, A.L. : Proc. Roy. Soc. B., 148 : 1, (1958). 27) GROB, D., A. LILJESTRAND & R.J. JOHNS : Am. J. Med., 23 : 340, (1957). 28) CREUTZFELDT, O.D., B.C. ABBOTT, W.M. FOWLER & C.M. FOWLER : EEG & Clin. Neurophysiol., 15 : 508, (1963). 29) 里吉堂二郎ほか : 臨床脳波, 5 : 136, (1963). 30) 里吉堂二郎ほか : 日臨内小誌, 16 : 1179, (1961). 31) 里吉堂二郎 : 日本臨床代謝学会記録, II : 59, (1965). 32) 鎮目和夫ほか : 日本臨床代謝学会記録, II : 63, (1965). 33) DAHLBÄCK, O., D. ELMQVIST,

- T.R. JOHNS, S. RADNER & S. THESLEFF : J. Physiol., 156 : 336, (1961). 34) HECHTER, O. & G. LESTER : Recent. Progr. Hormone Res., 16 : 139, (1960). 35) LUETSCHER, J.A., A.P. COHN, C.A. CAMARGO, A.J. DOWDY & A.M. CALLAGHAN : J. Clin. Endocr., 23 : 873, (1963). 36) 里吉宮二郎 : 内分泌と代謝, 4 : 165, (1963). 37) GROSS, F. : Experientia, 2 : 57, (1961).