Studies on the Plasma 17-hydroxycorticosteroids Levels in Normal Pregnant Women and Neonatal Period

Kenichi WASEDA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, The University of Kanazawa, Kanazawa, Japan (Director : Professor Fumio Akasu, M.D., Ph.D.)

Most studies revealed that the urinary 17-hydroxycorticosteroids (17-OHCS) excretion increases considerably with advancing pregnancy, but there exists much controversy as to the blood levels of 17-OHCS in pregnant women.

In this experiment the blood levels of 17-OHCS were determined by the Peterson et al. modified method.

In the field of obstetrics and gynecology, adrenals are said to be the third sexual gland by some workers. But the studies on the plasma 17-OHCS are scanty. Therefore the author researched the changes of plasma 17-OHCS levels in this field, for example, the diurnal variation in normal non-pregnant women, changes of menstrual cycle, pregnancy, labor, and cord plasma. Changes of plasma 17-OHCS levels following administration of ACTH 25 i.u. and of estradiol benzoate in a single dose of 5 mg. to normal pregnant women and then variation of plasma 17-OHCS levels of castrated females following administration of pregnant mare serum gonadotropin (PMS-G) in doses of 4000 i.u. or 6000 i.u., also estradiol benzoate in a single dose of 2 mg. were also investigated.

The results of these experiments are summarized as follows.

1) In the standard curve, extinction coefficient and average optical density at various wave lengths of Porter-Silber chromogen: The standard solution of 5 μ g./dl. hydrocortisone and extracted plasma 5 ml. were measured for absorbance at every wave length from 400 to 450 m μ , and it showed the maximal absorption at 410 m μ . Extinction coefficients of standard concentration 1, 2, and 5 μ g per 5 ml. hydrocortisone were a little different among each group, but in the same group of standard curve the slope indicated an absolutely straight line.

2) Diurnal variation of plasma 17-OHCS levels were tested in healthy non-pregnant women. Blood samplings were taken three times daily from the cubital vein. The highest plasma 17-OHCS value was observed in the early morning specimens, afternoon specimens showed lowered value and the night specimens showed the least value.

3) Changes of plasma 17-OHCS levels in menstrual cycle of healthy non-pregnant women: Changes of urinary 17-OHCS excretions during menstrual cycles have been observed by many investigators, but those in the plasma have scarcely been observed. So-called ovulation peak (16.2 ± 1.24 μ g./dl.) was observed in plasma 17-OHCS as in the case of estrogen. Before and after ovulation slight falls in plasma 17-OHCS were observed

(in follicular phase $11.3 \pm 1.69 \mu\text{g./dl.}$, in luteal phase $10.5 \pm 1.50 \mu\text{g./dl.}$)

Following administration of PMS-G or estradiol benzoate the plasma 17-OHCS levels of castrated females elevated. Hence the ovulation peak might probably be caused by the highest secretion of gonadotropin or estrogen.

4) The levels of plasma total 17-OHCS of normal pregnant females: The plasma 17-OHCS concentrations increased remarkably with advancing pregnancy, and in the last trimester the levels were approximately two or three times those in normal non-pregnant females. In the parturition a further rise occurred. This rise in the parturition may probably be ascribed to the increased labor stress of the maternal body. The mean value of 17-OHCS of primipara was $62.0 \pm 9.51 \mu\text{g./dl.}$, while that of multipara was $42.5 \pm 4.62 \mu\text{g./dl.}$, Mean cordal plasma level of the former was $24.0 \pm 4.16 \mu\text{g./dl.}$ and that of the latter $17.9 \pm 5.96 \mu\text{g./dl.}$. In spite of the high plasma 17-OHCS level there are no remarked clinical signs of hypercorticalism in pregnancy, probably because of the binding of most of the plasma cortisol with globulin in pregnancy. The lower values of cordal plasma may be due to the selective placental transfer of 17-OHCS or to a dissociation of 17-OHCS by the fetal and placental tissues.

5) Effects of the administration of ACTH or estradiol benzoate on the plasma 17-OHCS values of pregnant women: Following administration of ACTH or estradiol benzoate the 17-OHCS concentrations elevated. The elevated concentration by ACTH administration might be ascribed to the rise of cortisol-binding globulin.

(pp. 1207~1221)

妊婦並びに新生児血中 17-Hydroxycorticosteroids 値 に関する 研究

金沢大学医学部産科婦人科学教室 (指導 赤須文男教授)

早 稲 田 健 一

(昭和43年4月5日受付)

妊娠時の尿中 17-OHCS については増量するとなす多くの報告をみるが血漿中のものについては詳らかではない。我々の Peterson らの方法の成績では、妊娠月数の進むと共に血漿 17-OHCS は増量し、特に晩期に於ては正常非妊婦 ($12.9 \pm 2.93 \mu\text{g/dl}$) の 3~4 倍 ($34.5 \pm 4.42 \mu\text{g/dl}$) の値を示すのをみた。又、正常分娩時母体血においては、さらに増量を初め、初産婦は $62.0 \pm 9.51 \mu\text{g/dl}$ 、経産婦では $42.5 \pm 4.62 \mu\text{g/dl}$ と副腎皮質機能に十分な予備能力のあることを認めた。臍帯血はともに母体血値より低値を示し、胎盤の何らかの功妙な作用によるものと思はれた。妊娠時血漿 17-OHCS の漸次増量する主な原因を追求するために、去勢婦人に Estradiol benzoate を投与した結果、3日後には投与前値の約 4 倍の値を示し、妊娠時の Estrogen 増量の意義を裏付ける結果をえた。更に、妊婦に Estradiol benzoate を投与した場合も有意の差をもつて増量をみたが、去勢婦人に見られた程の増量は認められなかった。

I 緒 言

生命維持に不可欠である腎副機能に関する研究は1829年 Addison によつて行なはれ、それ以来、極めて多数の基礎的、並びに臨床的研究がなされてきているが、今日未だ明かでないところも多数にみられる。

副腎皮質に対し、Selye¹⁾ は Hypothalamic anterior pituitary adrenal cortical system の防衛機転を展開させ、この形態を General adaptation syndrome と呼んだが、これ以来この分野における業績は特に多く発表され、本邦においても赤須²⁾およびその共同研究者は、特に女子における個体防衛機序、種族防衛機序としての下垂体副腎皮質系について、性差の概念を導入し各方面から検討し今日に至っている。さて、周知の如く、副腎皮質からはいろいろな Steroids が分泌されているが、大別すると Mineralocorticosteroids としての Aldosterone, Cortisol を主とする Glucocorticosteroids、及び Androgen (いわゆる 17-ketosteroids の大部分)、Estrogen などの Sexsteroids であるが、所謂 Stress 時に密接な関連をもつて変動するものは Glucocorticosteroids であるために、この系の直接的な Index として流血中好酸球数の算定、ACTH 活性、血中及び尿中 17-hydroxycorticosteroids (以下 17-OHCS と略) 値の測定、尿中 17-ketosteroids (以下 17-KS と略) 値の測定等がとりあげられ、中でも尿中及び血中の 17-OHCS 値の測定が重要視され、最近では技術上の問題も含めて、11-OHCS などの測定も可なり広く行なわれる様になっている。Corticosteroids (以下 Cds と略) は生体内外の環境変動に附随し、逐次変化して行くので、時間的因子を追求する場合は尿中 17-OHCS 値測定では、その時点に於ける副腎皮質機能を知ることが出来ない。この点から血中 Cds 濃度の測定が重要となり、臨床的にも極めて意義が大きいといえる。

人血漿中遊離型 17-OHCS 測定は1950年 Silber and Porter³⁾ が 17-21-dihydroxy-10-ketosteroid 即ち, Comp. E,F,S, 及び、その Tetrahydro 型に極めて特異的に反応する Phenylhydrazine 反応を用いて定量しているが、以後本法に基盤をおいた血中 17-OHCS 定量法として、Nelson and Samuels⁴⁾ (1952), Bayliss

and Steinbeck⁵⁾ (1953), Bliss et al⁶⁾ (1953), Silber and Busch⁷⁾ (1956), Migeon et al⁸⁾ (1956), Peterson et al⁹⁾ (1957) などがあり、それぞれ独自の方法で発表している。

妊娠時に副腎に変化がみられることは古くから多数の文献^{10)~12)}の示すところで、副腎皮質機能は亢進しているとされている、同時に胎盤からの Cds 分泌が問題となる、これは赤須¹³⁾らの妊娠動物から両側の副腎を剔除したとき、非妊動物の同様処置群に比して存命力がやや長いという点からも考えられるが、妊娠時の尿中ホルモン量の増加をもって推定している研究が多く、たとへば Venning¹⁴⁾ (1946) の Bioassay による Cds 値, Heard et al¹⁵⁾ (1946), Tobian¹⁶⁾ (1948), Devis et al¹⁷⁾ (1950), 沢崎¹⁸⁾ (1953), 松下¹⁹⁾ (1953), 加賀山²⁰⁾ (1954), 赤須²⁾ (1955), 小西²¹⁾ (1955) などによる Chemocorticoids 値の報告がそれである。又血中関係では, Gemzell²²⁾ (1953), Assali et al²³⁾ (1955) らによれば、晩期妊娠の血中 17-OHCS 値は正常の4倍もの値を示したという。このような大量の Cds は、従来言はれている free 17-OHCS の中に一時的に生物学的不活性の状態にある Cortisol binding globulin²⁴⁾ (以下 CBG と略) を解離させた総値と考えられる。これらの点を順次解明するため、まず第1歩として、著者は Peterson et al. による従来の血中遊離型 17-OHCS 測定法に若干の検討を加え、(1)正常婦人の性周期による変動、(2)去勢婦人に Estradiol benzoate 投与の場合、(3)妊馬血清ゴナドトロピンあるいは閉経期婦人尿中ゴナドトロピン投与などによる変化、(4)更に妊婦、産婦の血液、臍帯血、妊娠時の ACTH response、妊娠に対する Estradiol benzoate 投与例などの場合の血漿中 17-OHCS 値を測定したのでその成績について記述する。

II 実験材料及び実験方法

(A) 実験材料

対象とした婦人は金沢大学医学部附属病院産科婦人科を受診した患者及び看護学校学生で、採血は日内変動を考慮に入れ、原則として午前6時から午前8時の間に肘静脈から行ない、臍帯血は胎児娩出後臍帯搏動停止直後に断端から採血を行なった。血液凝固阻止剤としては Heparin を加え、採血後、30分以内に遠心分離し、測定に移した。なお、腎、肝などに機能障害のある患者及び溶血した症例は測定しなかった。

(B) 試薬

- 1) Dichloromethane (市販特級試薬) ; 特級 NaOH 50g に対し試薬1000mlの比で加え、50~60℃で2回減圧蒸溜し、最初と最後の100mlは捨て、褐色瓶に入れ、冷暗所に保存し、1ヶ月以内に使用した。
- 2) Ethylalcohol (市販特級試薬) ; 2,4 dinitrophenylhydrazine 2.5g に 1000ml Ethylalcohol を加え、80℃で蒸溜精製を2回行ない、前後の100mlは捨てた。
- 3) NaOH (市販特級試薬) ; 再溜水で0.1Nとし、冷暗所に保存した。
- 4) dil. H₂SO₄ (市販特級試薬) : 再蒸溜水100mlに対し H₂SO₄ 180g 加え64%とした。
- 5) Phenylhydrazine sulfate ; 再溜水に Phenylhydrazinesulfate を加え、溶解し、活性炭で脱色後、Ethylalcohol で再結晶を行なった、この行程を3回行なう。
- 6) Blank reagent ; 64% H₂SO₄ と Ethylalcohol を 2 : 1 の比で混合し Blank reagent とした。
- 7) Phenylhydrazine sulfuric acid reagent ; Blank reagent 10ml に 10mg の Phenylhydrazine sulfate を加え、測定毎に作製した。

(C) 測定法

Fig. 1 に示す方法で行ない、毎回 Cortisol 1, 2, 5 μ g につき同様の操作を行ない標準曲線を得た。尚 Microcuvettes は Light pass 10mm, Sample 量0.13mlを使用した。

1) 吸収曲線 : Cortisol 5 μ g 及び血漿について、前述の抽出操作によって得たものに、波長 400m μ より 450m μ の間で各波長毎にそれぞれの吸光度を測定し、Fig. 2 に示す吸収曲線を得た。再者とも 410m μ に最大吸収値を示した。

2) 標準曲線

既知量の Cortisol 1 μ g, 2 μ g, 5 μ g と再溜水を加え全量を 5 mlとし5倍量の Dichloromethane にゆっく

Fig. 1. Procedure for extraction of 17-OHCS in plasma.

り，静かに加え，これに前述のごとき抽出操作を行ない，最大吸収波長 410mμ でそれぞれの吸光度を測定した結果 Table 1 に示す値を得た．これらを図に示すと Fig. 3 のごとくになり，吸光係数(K)は 0.96～0.83 で，各群の吸光係数には多少の変動はあるが，これは測定条件の差であり，同一群，各量における係数はよく一致した．尚回収率は 94.2% であった．

3) 日内変動

正常婦人につき，種々な時間に肘静脈より採血し，その 17-OHCS 値を測定した所 Fig. 4 に示す結果を得，早朝時は概して高値を示し，次第に減少した．

III 実験成績

(A) 本邦正常婦人の月経周期による血漿中 17-OHCS 値の変動

正常月経周期を有する 18 才から 22 才までの婦人 13 例につき，性周期第 7 日，14 日および 21 日に区分し，その血漿 17-OHCS 値を測定した結果，月経周期第 7 日目の卵胞期では 9.4～13.5μg/dl で平均値が 11.5±1.69μg/dl，14 日目の排卵期では 14.3～17.7μg/dl，平均 16.2±1.24μg/dl，21 日目の黄体期では 8.8～12.4μg/dl，平均 10.5±1.50μg/dl で，排卵期が最も高く，ついで卵胞期，黄体期の順であった，尚これら全ての平均値は 12.9±2.93μg/dl で，これを正常非妊婦の正常値とし対照値とした (Table 2)．この様な変動は Estrogen や Gonadotropin などの性器外作用によるものと思はれ，この事実を証明するものとして，去勢婦人に Estradiol benzoate (以下 Ed. benz. と略) 2 mg，あるいは妊馬血清 Gonadotropin (以下 PMS-G と略) 総量で 4000～6000 単位，又は，閉経婦人尿中 Gonadotropin (以下 HMG と略) 1 日 150iu. 投与した症例につき血中 17-OHCS 値を測定した結果 Ed. benz. 投与群 5 例，全てに増加傾向を示し特に投与後 3 日目に著名な増量を見た (Table 3)．又 PMS-G 2000i.u., 3000i.u., を 2 日間に渡り投与し，投与後 2 日，3 日

Fig. 2. Average optical density at various wavelength of Porter Silber chromogen (Sample A—Sample B.)

Table 1. Sample experiment

Sample	Optical density of		A-B	COD (A-B-BI)	K
	Sample (A)	Blank (B)			
Blank (H ₂ O 5ml)	0.027	0.003	0.024		
1 μ g+H ₂ O 4ml	0.080	0.003	0.077	0.053	0.94
2 μ g+H ₂ O 3ml	0.139	0.009	0.130	0.106	0.94
5 μ g	0.300	0.010	0.290	0.266	0.94
Blank (H ₂ O 5ml)	0.041	0.004	0.037		
1 μ g+H ₂ O 4ml	0.093	0.004	0.089	0.052	0.96
2 μ g+H ₂ O 3ml	0.146	0.006	0.140	0.103	0.97
5 μ g	0.305	0.010	0.295	0.258	0.97
Blank (H ₂ O 5ml)	0.035	0.010	0.025		
1 μ g+H ₂ O 4ml	0.095	0.010	0.085	0.060	0.83
2 μ g+H ₂ O 3ml	0.155	0.010	0.145	0.120	0.83
5 μ g	0.341	0.014	0.327	0.302	0.83

Fig. 3. Standard curve for extraction from standard solution

Fig. 4. Diurnal variations of plasma 17-OHCS levels at various times

および4日について 17-OHCS 値を測定した結果, 軽度であるが上昇傾向を示し, 投与後2日目に Peakを示すものが多く3日~4日には減少傾向を示した, もっともこれら PMS-G は異種蛋白としての作用が考えられるために非去勢婦人であるが, PMS-G 療法無効の患者の例につき HMG を投与したところ第3日目の血中 17-OHCS 値は投与前値の2倍量以上の高値を示した (Table 4).

(B) 正常妊娠に於ける血漿中 17-OHCS の変動

正常妊娠の, 妊娠2ヶ月より10ヶ月までの37例につき, 妊娠月数の進行に伴う血漿 17-OHCS 値の変動を観察した. 37例中経産婦17例, 初産婦20例で年齢分布は21才から32才であった. 血中 17-OHCS 値は妊娠2ヶ月及び3ヶ月は, 正常非妊婦と大差がなかったが, 以後, 月数の進むにつれ漸次上昇し, 中期では正常非妊婦の2倍, 10ヶ月では平均 $34.5 \pm 4.42 \mu\text{g/dl}$ で非妊時の3倍もの値に上昇した (Table 5, Fig. 5).

Table 2. Plasma 17-OHCS levels in menstrual cycle ($\mu\text{g/dl}$)

Name	Age	Menstrual cycle	17-OHCS level	Mean value
E. T.	18	7th. day	11.2	11.3 ± 1.69
T. T.	19		9.4	
H. K.	18		11.2	
T. E.	19		13.5	
S. K.	20	14th. day	16.5	16.2 ± 1.24
H. M.	19		15.9	
W. M.	18		14.3	
T. T.	19		16.5	
K. I.	19		17.7	
M. H.	18	21th. day	10.0	10.5 ± 1.50
O. M.	22		12.4	
O. T.	19		8.8	
Y. T.	19		10.6	

Total mean value $12.9 \pm 2.93 \mu\text{g/dl}$

Table 3. Plasma 17-OHCS levels of castrated females following administration of estradiolbenzoate in a single dose of 2mg

No.	Name	Age	Diagnosis Operation	Pretreated $\mu\text{g/dl}$	3 days after administration of estradiolbenzoate ($\mu\text{g/dl}$)
1	S. A.	57	Carc. in situ Panhysterect.	12.5	15.0 (2 days)
2	M. S.	62	Carc. st. III Panhysterect.	9.2	14.2 (2 days)
3	H. S.	58	Carc. st. I Panhysterect. Radiations th.	13.5	15.8 (2 days)
4	K. Y.	48	Carc. in situ Total hyst.	8.3	36.7
5	Y. Y.	37	Carc. st. I Panhysterect.	7.9	40.8

Table 4. Plasma 17-OHCS levels of castrated females following administration of PMS-G in dose of 4000i.u. and 6000 i.u. (2000 or 3000i.u./day)

Case No.	Name	Age	Diagn.	Dose of PMS-G	Plasma 17-OHCS level ($\mu\text{g/dl}$)			
					Before	after 2days	after 3days	after 4days
1	T. Y.	24	Carcinoma in situ	4000	13.1	13.1		15.5
2	T. A.	56	Normal	4000	11.5	12.7		34.7
3	M. T.	28	Dermoidcyste	6000	28.9	31.8		22.1
4	S. N.	24	Ectopic preg.	6000	13.8	26.3	25.4	
5	S. W.	30	Carcinoma in situ	6000	27.8	30.4	19.2	
6 *	K. S.	26	Hypofnunctio ovarii	HMG	12.4		27.1	

*Noncastrated

HMG two vial/day

Table 5. Plasma 17-OHCS levels in normal pregnancies

Name	Age	Para	Months of preg.	17-OHCS ($\mu\text{g/dl}$)	Average of 17-OHCS ($\mu\text{g/dl}$)
Y. F.	32	1	II	12.6	14.9 ± 2.30
K. T.	27	1	II	17.2	
I. I.	29	2	III	19.2	14.1 ± 3.81
A. S.	25	1	III	13.0	
N. S.	30	2	III	10.0	
M. Y.	23	1	VI	23.0	17.0 ± 4.35
E. S.	27	0	VI	11.3	
K. S.	23	0	VI	15.0	
M. K.	27	0	VI	18.8	
N. S.	26	0	V	22.4	23.0 ± 4.34
H. K.	30	0	V	19.6	
K. N.	31	0	V	23.8	
S. H.	29	0	V	30.0	
F. K.	28	0	V	19.3	
K. K.	29	1	VI	23.3	26.8 ± 6.24
S. I.	22	0	VI	37.8	
Y. N.	24	0	VI	23.0	
F. U.	29	1	VI	22.8	
N. H.	24	0	VI	27.0	
Y. T.	22	0	VII	22.6	26.7 ± 2.99
N. K.	30	1	VII	29.5	
M. M.	24	1	VII	26.3	
Y. F.	29	0	VII	28.4	
Y. K.	29	1	VIII	34.0	27.9 ± 6.84
Y. S.	28	1	VIII	31.8	
H. T.	31	0	VIII	18.4	
Y. N.	22	1	VIII	27.2	
T. S.	30	1	IX	28.4	32.0 ± 4.52
E. O.	29	0	IX	39.8	
E. H.	23	0	IX	31.2	
K. Y.	21	0	IX	30.8	
M. M.	32	3	IX	29.6	
F. M.	22	0	X	33.3	34.5 ± 4.42
Y. F.	22	0	X	29.7	
A. N.	22	0	X	32.6	
M. S.	30	1	X	40.5	
N. M.	29	1	X	36.5	

Fig. 5. Plasma 17-OHCS levels in normal pregnancies.

(c) 晩期正常妊婦の ACTH 及び Ed. benz. 投与による変動.

正常妊娠第9ヶ月2例, 第10ヶ月13例の計15例, 年令21~29才に ACTH 25単位を筋注投与し, 投与後30分, 1時間, 2時間 および 3時間の血中 17-OHCS 値を測定した. 投与後30分は7例で平均増加率24.2%, 1時間後は3例で35.8%, 2時間後82.3%, 3時間後は121.2%で, 内1例に於いて, 分娩第1期に对照値を取り, 3時間後は分娩第Ⅲ期であったため異常な高値を示したものと思われ, 本症例を除外すると

Table 6. Plasma 17-OHCS levels following administration of ACTH 25 I.U. to normal pregnant women

Name	Age	Month. of pregn.	Hours after administration of ACTH	Plasma 17-OHCS level (μg/dl)	
				Before ACTH	After ACTH
A. Y.	21	IX	30'	29.3	35.5
M. E.	24	X	30'	32.3	44.1
Y. Y.	25	X	30'	28.3	31.7
M. S.	27	X	30'	30.1	38.6
H. T.	25	X	30'	33.1	35.9
A. O.	28	X	1	31.5	42.7
K. K.	25	X	1	28.8	44.8
M. C.	22	IX	1	34.5	41.3
M. N.	23	X	2	34.4	64.8
T. I.	21	X	30'	26.7	33.9
			2		43.2
K. U.	26	X	30'	28.0	35.2
			2		54.4
H. M.	23	X	3	22.7	60.8
N. N.	27	X	3	26.7	79.2
Y. M.	26	X	3	60.6	137.5*
Y. S.	29	X	3	31.7	80.0

*Baby born one hour after administration of ACTH

Fig. 6. Changes of plasma 17-OHCS levels following administration of ACTH 25I.U. to normal pregnant women.

平均増加率 171.3%であった。(Table 6, Fig. 6).

晩期正常妊婦に Ed. benz. の投与を行なった場合、正常非妊婦で max. であった投与後3日に於いては平均 $9.9\mu\text{g/dl}$ の上昇で増加率は 29.8%を示し、正常非妊婦の増加率をやや下まわる結果となった (Table 7).

(D) 正常分娩時の母体血及び臍帯血の 17-OHCS 値の変動

正常妊娠分娩時の初産婦 7 名、年令 20 才～27 才、経産婦 6 名、年令 25 才～28 才につき、分娩第Ⅲ期に肘静脈より採血し、臍帯血は臍帯拍動停止直後、断端より採血を行なった。

初産婦の血中 17-OHCS 値の平均値は $62.0 \pm 9.51\mu\text{g/dl}$ 、臍帯血は $24.0 \pm 4.16\mu\text{g/dl}$ 、母体血と臍帯血の比は $37.4 \pm 5.24\%$ であり、経産婦の場合はそれぞれ $42.5 \pm 4.62\mu\text{g/dl}$ 、 $17.9 \pm 5.96\mu\text{g/dl}$ 、 $42.2 \pm 13.4\%$ であり、初産婦に於いては母体血値及び臍帯血値は何れも経産婦のそれらより高値を示した、ただ母体血値と臍帯血値の比率は両者の間に差異はない様に思われる (Table 8).

Table 7. Changes of plasma 17-OHCS levels of normal pregnant women following administration of estradiolbenzoate in a single dose of 5mg

Name	Age	Para	Month. of pregn.	Plasma 17-OHCS ($\mu\text{g/dl}$)		After/Befor (%)
				Befor	After 3days	
M.O.	23	0	IX	38.1	47.7	155.5
I.Y.	21	0	IX	22.3	29.1	130.5
S.T.	25	1	IX Twins	29.4	33.2	112.9
M.K.	20	0	X	34.3	52.9	154.2
A.S.	26	1	X	40.6	55.4	136.5
M.Y.	27	1	IX	27.4	40.5	149.8
C.M.	26	0	X	23.7	35.3	148.9
S.O.	29	1	X	26.9	41.9	155.8
S.U.	35	2	X	29.4	37.0	125.9
S.N.	29	0	X	31.6	40.4	127.8
				30.4 $\pm$ 5.9	41.4 $\pm$ 8.5	139.6 $\pm$ 14.9

Table 8. Levels of 17-OHCS in maternal and cord plasma in normal deliveries ($\mu\text{g/dl}$)

Name	Age	Para	Maternal.	Cord.	Cord/mater. (%)
M.O.	20	0	65.8	24.9	36.3
S.K.	25	0	71.2	25.6	34.5
F.K.	21	0	69.2	24.9	34.5
S.N.	23	0	66.9	22.2	31.7
M.K.	26	0	43.6	18.5	40.2
Y.T.	27	0	59.6	29.4	47.7
K.Y.	23	0	57.6	22.1	36.7
M.T.	28	2	36.2	12.7	35.1
T.M.	26	1	49.6	13.8	27.8
S.H.	28	1	40.4	15.0	37.1
K.U.	25	1	52.4	25.2	48.1
M.H.	26	1	39.0	25.8	66.1
K.K.	28	1	37.4	14.7	39.3
Mean value of	primipara		62.0 $\pm$ 9.51	24.0 $\pm$ 4.16	37.4 $\pm$ 5.24
	multipara		42.5 $\pm$ 4.62	17.9 $\pm$ 5.96	42.2 $\pm$ 13.4

IV 考 按

(A) 血中 17-OHCS 測定についてまず述る.

冒頭にも述べたが, Homeostesis, Hypothalamic-anteroir pituitary-adrenal cortical system 等の生体防衛機序の中核をなす Hormone として副腎皮質ホルモンが close up されて以来, この系の直接的な活性度の指標として 17-OHCS の測定が用いられている. これは, 1950年 Silber and Porter³⁾ により Phenylhydrazine の 17, 21-dihydroxy-20-ketosteroid による呈色反応がその本態をなすもので, この原理は Cds. 分子中の Dihydroxyacetone 側鎖と Phenylhydrazine とにより Phenylhydrazone が形成され, 黄

色の呈色反応を示すことによる。本法は、抽出エキスを直接試薬を反応させるため、Blank が高値を示すことが欠点とされていること、又、血中のものは尿中のものに比較し極めて微量であることを思考し、実験に当っては試薬の精製に最も努力を払わなければならない。又、試料が血漿であるために Sampling は出来るだけ少量のことが必要であるために血中 17-OHCS 値の測定はいきおい微量定量に集約され、Nelson and Samuels⁴⁾, Eik-Nes²⁵⁾, Van der Vies²⁶⁾ 等は極く微量で測定可能な方法を報告している。次いで routine 化するために簡便であることが要求され、Silber and Porter 法を改良した Peterson et al⁹⁾ 法が示されたが、これは回収率も高く、臨床的にも充分応用出来るものと思われ、著者も多少これを改良し実施したが、試料が溶血している場合や黄疸のある場合は Blank 値が著しく高値を示し、吸光曲線も乱れ、測定不能であった。著者の用いた測定法は、回収率も高く、吸光係数も各群で良く一致し、正常平均値に於いて Silber and Busch⁷⁾, Wallace et al²⁸⁾, Migeon et al⁸⁾, 渡辺・熊谷²⁸⁾, 井林²⁹⁾, 佐々木³⁰⁾, 鈴木³¹⁾, Watanabe³²⁾ らの報告と略々一致し、臨床目的に充分適したものと思われる。

(B) 正常値及び性周期に伴う変動について

血漿 17-OHCS の正常値について多くの報告があるが、測定法や採血時間の差異により当然ある程度の変動はまぬがれ得ない。それ故、私は外界からの Stress 等を考み、同一環境にある正常月経周期を有する婦人を対象とし、採血時間は午前6時から午前8時までとし、性周期に伴う変動もあわせて測定した。

日内変動についての報告はあるが、早朝時に Peak があり次第に低下するのが全て一致した報告であり⁶⁾⁸⁾³³⁾³⁴⁾、深夜は最も低値を示すといわれ、著者の測定した結果では、少数例ではあるが Fig. 3 に示如く正常婦人で早朝時が最も高く、時間と共に低下し、深夜近くでは早朝時の 1/2 の数値を示した。

副腎と性腺との密接な関係について Kolmer³⁵⁾, Takechi³⁶⁾, Poll³⁷⁾, Krumholz and Maass³⁸⁾, 赤須²⁾ 等が強調しているが、月経周期に關しての血漿 17-OHCS の報告は少ない。人については Pepper and Lindsay³⁹⁾ (1960) の報告がある。即ち12例の性周期に關する測定では、8例が排卵の前後48～72時間に 17-OHCS の Peak を認めている。著者の成績では全例を通じ排卵期が最も高く、次に卵胞期、黄体期の順であり、これらの変動は Estrogen の性器外作用、ことに對副腎作用がまず考えられ、加えて Gonadotropin の関与も推定される。これに關連して著者は去勢婦人に Ed. benz. 及び PMS-G 投与の血中 17-OHCS 値測定を行ない、Ed. benz. 投与群に於ては投与後3日目に投与前の4～5倍にも達した症例があった。副腎と Estrogen の關係について Ellison et al⁴⁰⁾, Morrell et al⁴¹⁾, Vogt⁴²⁾, Pinto⁴³⁾, 赤須⁴⁴⁾ Selye et al⁴⁵⁾ 等多くの研究者によって Estrogen 投与が副腎重量の増加を來すと報告されている、一方その変化が見られないとするもの⁴⁶⁾⁴⁷⁾、却って減少するとの報告⁴⁸⁾もあるが機能亢進を報告するものが多く⁴⁹⁾～⁵¹⁾、教室名越⁵²⁾はEd.のみならず Estriol も尿中 17-OHCS 排泄値の上昇があると述べている、ただ Estrone に関しては投与による有意の差はないといわれている。

PMS-G に関しては異種蛋白としての Stress も考えられるために、卵巢機能不全の症例に HMG を投与したもの1例、PMS-G 投与群5例について検討した結果は個体差はあるが投与後2日目に多少の増加を認め3～4日目には減少傾向を示すものがある一方、4日目にして投与前の3倍を示すものがあった。Gonadotropin の對副腎作用については異論が多いが、赤須²⁾らは副腎に作用する可能性を古くから述べている。HMG 投与例は先に PMS-G 投与無効例について HMG を1日150単位連続10日間筋注行なったものにつき投与前と投与後3日目の血漿 17-OHCS の測定を行なった所、投与後3日目には投与前の2倍量もの高値を示したもので、直接 Gonadotropin が副腎を作用した事が強く推定される。なお Gonadotropin と副腎との關係の業績は可なりあるが、ここでは省略する。

(C) 正常妊娠時血中 17-OHCS について

妊娠によって副腎に変化の起こる事は冒頭でも述べたが、赤須²⁾は妊娠副腎の肥大はあるが体重に対する副腎重量は静止期も妊娠前期及び後期共に全く差異のないことを指摘している。つまり重量だけを問題にはできないというわけである。又 Whiteley and Stoner⁵³⁾, Delamare⁵⁴⁾ は分娩後数日で肺結核で死亡した3例の婦人に副腎肥大を認めており、これらの副腎肥大が胎盤性 Cds とするもの⁵⁵⁾、副腎の機能亢進とするもの

があるが⁵⁶⁾、他面、妊娠を Stress 作用と見る傾向もあり^{57)~59)}、妊娠中 ACTH 分泌が高かまるのは下垂体以外の ACTH 源のあることが推定され(赤須他²⁾)、Corticotropin releasing factor の問題 Cds の Feed back, 分泌, 排泄等が関与しているとも考えられ、胎盤の関連性がとり上げられているが、すべては今後にあるといはねばならない。

赤須¹³⁾⁶⁰⁾⁶¹⁾の妊娠ラット副腎の組織学的研究では、妊娠前期に Lipids は少く、微細顆粒状を呈し、後期に於いて Lipids は多量で粗大顆粒状を呈しているのか見られ、Cholesterol 量は月数の進むにつれ漸次減少するが、血清中の量はその反対の傾向を示し、Steroids hormones の材料源として動員されているものと考えられると述べている。胎盤由来の ACTH に関しては、赤須²⁾、赤須・小西⁶²⁾は妊娠ラットから下垂体を剔除した時、胎児の発育を認めたが、これは胎盤からの Cds の産生を肯定するものである他、副腎重量は減少しているが、組織的には萎縮を示さず、束状層の出血さえ見られるのは、ACTH (胎盤由来か?) により賦活されていたものと考えられ、妊娠ラットから両側副腎を剔除したとき、非妊動物に比し存命力がやや長いという点から胎盤 Cds の存在は推定されるが、又、一方尿中 Chemocorticoids が著減していることは、副腎が妊娠後期でも可なり活動していることを認めるものであり、下垂体剔除例はこの減少がはるかに軽度である事は、下垂体が機能を著しく低下させているものと考えられると述べている。

正常妊娠の各月による血漿中 17-OHCS 値についての諸家の報告²²⁾²³⁾⁶³⁾⁶⁴⁾は一樣に上昇していることを認め、上昇程度に多少の相異はあるが、私の成績では妊娠晩期に於いて非妊時の 2~3 倍であり、17-OHCS の上昇原因は今までに述べたごとく、副腎皮質、胎盤産生の Cds、及び ACTH 様物質、Estrogen 産生の増加等が主なものと考えられる。又胎児副腎からの Cds 分泌が母体への移動は胎児及び生後 2 日で死亡した新生児の副腎切片より Progesterone-4-¹⁴C 結合を証明出来なかったという報告⁶⁵⁾もあり、除外しても良いのではないと思う。尚 Migeon et al⁶⁶⁾によれば radioactive の Cortisol を妊婦に投与し、その後 48 時間の尿中排泄を見ると、正常人に比べ遅延し、この事から妊娠時の血中 Cds の増量原因の一つとして、代謝の遅延が考えられ、血管内から体組織への Cortisol の拡散が遅いために target organ の高値が現はれず Hypercorticism が見られないのだからとしている。確かに妊娠時に Cushing 症候群はみられない。けれども妊娠と Cushing 症候群とを比較すれば N-Balance に於いて相違があるのみで、全体的に妊娠時は概して Cushing 状態に近似した点もあるのを赤須は強調している。又赤須⁶⁷⁾によれば Cds の大量投与、あるいは過剰分泌はたしかに catabolic な変動を生体に惹起させるけれども、適量の Cds はむしろ anabolic の作用をもち、妊娠はこの状態にあるものであろうという。

現段階に於ける大勢としては、妊娠時従来から測定されている Free 17-OHCS 中には CBG 結合型も含まれ、これを除いた所滑 Protein free 17-OHCS 値は非妊時と大差なく、妊娠時 Estrogen の著増などによって、これらの Protein、即ち Transcortin²⁴⁾⁶⁸⁾が増加し、種々な原因で増量した Cds は Transcortin と結合し、生物学的に略々不活性の状態にあると思われる CBG 結合型として存在するのではないと思われる。著者⁶⁹⁾の CBG を除いた Free 17-OHCS のみの測定法では Free は妊娠晩期で 27.6%、非妊時は 60.6%であった。尚 CBG に関しては著者は目下追究中である。

(D) 晩期正常妊娠時の ACTH response 及び Ed. 投与について

著者は ACTH 25単位筋注法を採用し、他の方法によるものと大差ないことを認めた、即ち晩期正常妊娠の ACTH response を投与後 30 分、1 時間、2 時間及び 3 時間の経過について観察すると、投与前高値でも Response の低いもの、又投与前低値でも Response の高いものなどがあり、全て同じ様に反応するとは限らず、一般に投与前高いものほど ACTH 投与による血中 17-OHCS 値は高く、投与後 3 時間まで次第に上昇した。これは ACTH-Z、ACTH 静注法にも見られることで、本法に於いて生物学的活性が失われたと思われる様な症例はなかった。尚 ACTH の胎児副腎に対する活賦作用であるが、Migeon et al⁷⁰⁾は帝切時に ACTH 投与を行ない、母体血と臍帯血の血漿中 Cortisol 比は正常分娩時と同様である事、又胎児副腎は母体に見る様な反応がないこと等により ACTH は胎盤を通過せず、ただ母体の血中濃度に反映したものであると述べている。

このような Response の高低の差異は妊娠という事とその個体にとり、種々の Stress の附加となる為に ACTH response の異常に低いものは副腎皮質の過機能亢進状態にあるか、胎盤機能不全に陥ったものと考えられ、重症妊娠中毒症のある妊婦の分娩時血漿 17-OHCS の下降、あるいは不変を起こす一つの大きな要因かと思われる。

ACTH を妊婦に投与すると血中 Cortisol が増量するといわれているが、著者の成績でもそれが実証され、Addison 病の患者に ACTH を投与しても Cortisol の増加は認められず、Addison 病に妊娠が合併した場合には妊娠と同様に上昇するが、男子の Addison 病の場合 ACTH に反応していないということから、妊娠時に投与した ACTH は副腎以外の内分泌腺、たとえば胎盤などに作用し、Cortisol の分泌を促したものである。

Estrogen 投与に関しては正常婦人、男子に於ける文献は多く、先にも述べたが、晩期妊娠婦人に Estrogen 投与の症例はない。妊娠月数の増加に従い Estrogen の上昇することは周知の所であり、又非妊婦及び男子に Estrogen を投与した場合副腎機能亢進状態を招来し、血漿中 17-OHCS 値の上昇を報告しているが⁷¹⁾⁻⁷³⁾、同時に Cortisol と結合する Protein fraction も増加し、所謂 CBG 結合型として存在するのが大部分をなすといわれている。

私の妊娠晩期婦人に Ed. benz. 5mg 単独 1 回投与に於いて 12.9%~55% の増加を見が、去勢婦人に見る様な増量は見られなかったが、これは妊娠中 Estrogen が大量に存在するため 5 mg 程度の Estrogen では著大な変化を起こすに致らなかったものと考えられる。

(E) 正常分娩時の母体血及び臍帯血値について

妊娠月数と共に上昇した妊婦血中 17-OHCS は分娩開始と同時に更に上昇する事が認められ、私の成績では妊娠晩期に比べ初産婦で約 2 倍、経産婦では 1.3 倍で、このような急激な上昇は母体を受ける陣痛発作の反復が精神的、肉体的な Stress となり、一過性に副腎皮質ホルモン増加が惹起されたものと思われ、経産婦と初産婦に於ける相違はこの Stress の差として現れて来るもので、年令、胎児の性及び体重等には関係がない様に思われる。

分娩時母体血及び臍帯血中 17-OHCS 値について Bayliss⁶⁴⁾、Gemzell⁷⁴⁾、Migeon⁷⁰⁾、Kawahara⁷⁵⁾、更に近年 Hillman and Giroud⁷⁶⁾ は double isotope 法を用いて測定を行なったものなど、多数の報告があるが、正常分娩時には母体血中濃度が高いというのが一致した意見であり、従来から Progesterone, Estrogen, Androgen 等、臍帯血値が高いとする報告が多数あるのと比較すると興味ある事で、これらの臍帯血が低値を示す理由は母体循環より胎児側に移行する際に胎盤の何か巧妙な作用によるものと考えられ、Migeon et al⁶⁶⁾ は 4-¹⁴C-Cortisol を母体に投与し、分娩時母体血から臍帯血に移行する際の消退率を測定した結果、母体血値の 20%~48% を認めたにすぎない。又胎児から Cortisol 分泌のない事などから推測すると胎盤は Cortisol に対し Barrier として、更に Cortisol, Cortisone の比などから 1 種の代謝臓器として存在するのではないかと考えられる。

私の成績では経産婦、初産婦ともに臍帯血値が低く、臍帯血：母体血は前者が 37.4%、後者は 42.2% であり、Apgar 指数とは一般に逆比例の関係にあった。

以上の如く、血中 17-OHCS の変動は極めて delicate なものであり、且、巧妙に動かされているものと考えられる。

V 結 論

正常婦人に於ける月経周期による血漿中 17-OHCS の変動、去勢婦人に Estrogen, PMS-G 投与及び晩期妊婦の ACTH response, Estrogen 投与による変化、更に妊娠、分娩についての血漿 17-OHCS の変動を Peterson et al. 法変法により測定を行なった。

〔A〕健康成熟非妊婦々人の血漿中 17-OHCS の平均値は $12.9 \pm 2.93 \mu\text{g/dl}$ で性周期による変動を認め、月経期を除き排卵期に高値を示した。

〔B〕去勢婦人に Estrogen あるいは PMS-G 投与を行なったが, Estrogen では投与後3日, PMS-G で2~3日に高値を示した。

〔C〕正常妊娠経過については, 月数の進むにつれ血漿中 17-OHCS は上昇し, 分娩開始とともに著明な上昇を示したが, これは CBG を共に測定したものと考えられる。又, 臍帯血値は一般に母体血より低く 27.3%~66.1%であった。

〔D〕正常妊娠晩期の婦人に ACTH を投与すると投与後3時間で投与前の約3倍もの値を示した。これは副腎の予備能力が妊娠晩期でも充分にあることを示す。又 Estrogen 投与では多少の増加はあるが, 非妊婦に見られた様な増加は認められなかった。

(欄筆するに当り終始御懇篤なる御指導と御鞭撻頂き, 御校閲を賜った恩師赤須文男教授に深く感謝の意を捧ぐると共に, 御協力, 御助言を賜った西田助教授始め教室員の方々に対し深甚なる謝意を表します。)

文 献

- 1) SELYE, H. : J. Clin. Endocrinol. 6, 117, (1946)
- 2) 赤須文男 : 日産婦誌, 7, 655, (1955)
- 3) PORTER, C.C., and SILBER, R.H. : J. Biol. Chem. 185, 201, (1950)
- 4) NELSON, D.H. and SAMUELS, L.T. : J. Clin. Endocrinol. 12, 519, (1952)
- 5) BAYLISS, R.I.S. and STEINBECK, A. W. : Biochem. J. 54, 523, (1953)
- 6) BLISS, E.L., SANDBERG, A.A., NELSON, D.H. and EIK-NES, K.B. : J. Clin. Invest. 32, 818, (1953)
- 7) SILBER, R.H. and BUSCH, R.D. : J. Clin. Endocrinol. 16, 1333, (1956)
- 8) MIGEON, C.J., TYLER, F.H., MAHONEY, J.P., FLORENTIN, A.A., CASTLE, H., BLISS, E.L. and SAMUELS, L.T. : J. Clin. Endocrinol. 16, 622, (1956)
- 9) PETERSON, R.H., KARRER, A. and GUERRA, S.L. : Analyt. Chem. 29, 144, (1957)
- 10) GOTTSCHAU, M. : Biol. Cbl. 3, 565, (1883)
- 11) GUIEYSSE, M.A. : Compt. rend. soc. Biol. 51, 898, (1899)
- 12) HEWER, E.E. : Brit. Med. J. 1, 138, (1922)
- 13) 赤須文男 : 内分泌のつどい, 5, 114, (1954).
- 14) VENNING, E.H. : Endocrinol. 39 : 203, (1946)
- 15) HEARD, R.D.H., SOBEL, H. and VENNING, E.H. : J. Biol. Chem. 165 : 699, (1946)
- 16) TOBIAN, L. : J. Clin. Endocrinol. 9 : 319, (1949)
- 17) DEVIS, R. and LEMMENS, P. : Ann. Endocrinol. Paris. 11 : 389, (1959)
- 18) 沢崎千秋 : 日産婦誌 5 : 545, (1953).
- 19) 松下 亭 : 日産婦誌, 5 : 1191, (1953).
- 20) 加賀山正純 : 日産婦誌 7 : 1955. (1955)
- 21) 小西行男 : 日産婦誌 7 : 1523, (1955).
- 22) GEMZELL, C.A. : J. Clin. Endocrinol. 13 : 898, (1953)
- 23) ASSALI, N.S., GARST, J.B. and VOSKIAN, J. : J. Lab. Clin. Med. 46 : 385, (1955)
- 24) SLAUNWHITE, W.R. and SANDBERG, A.A. : J. Clin. Invest. 38 : 384, (1959)
- 25) EIK-NES, K.B. : J. Clin. Endocrinol. 17, 502, (1957)
- 26) VAN DER VIES, J. : Acta Endocrinol. 38 : 399, (1961)
- 27) WALLACE, E.Z., CHRISTY, N.P. and JAILER, J.W. : J. Clin. Endocrinol. 15 : 1073, (1955)
- 28) 渡佐富久子, 熊谷 朗 : 日内分泌誌 32 : 127, (1956).
- 29) 井林 博, 伊藤徳治, 吉田 尚 : ホと臨 5, 1161, (1957).
- 30) 佐々木英夫, 勝又黎子, 草間光俊 : ホと臨 9 : 845, (1961).
- 31) 鈴木秋悦 : 日内分泌誌, 38 : 987, (1962).
- 32) WATANABE, T. : J. Jap. Obst & Gyn. Soc. 8 : 29, (1961)
- 33) DOE, R.P., FLINK, E.B. and GOODSSELL, M.G. : J. Clin. Endocrinol. 16 : 196, (1956)
- 34) GEMZELL, C.A. : Acta Endocrinol. 18 : 342, (1955)
- 35) KOLMER, W. : Arch. ges. Physiol. 144 : 361, (1912)
- 36) TAKECHI, K. : Zt. Konsist.-lehre. 12 : 210, (1926)
- 37) POLL, H. : Deutsch. Med. Wschr. 567, (1933)
- 38) KRUMHOLZ, K.H. and MAASS, G. : Gynecologia 147 : 13, (1959)
- 39) PEPPER, H. and LINDSAY, S. : Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 104 : 145, (1960)
- 40) ELLISON, E.T. and BURCH, J.C. :

- Endocrinol. 10 : 746, (1936) 41) MORRELL, J.A. and HART, G.W. : Endocrinol. 29 : 796, (1941) 42) VOGT, M.J. *physiol.* 104 : 60, (1945) 43) PINTO, R.M. *Am. J. physiol.* 144 : 652, (1945) 44) 赤須文男 : 臨産婦 7 : 5, (1953). 45) SELYE, H., COLLIP, J.B. and THOMSON, W.L. : *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 32 : 1377, (1955) 46) LEONARD, S.L., MEYER, R.K. and HISAW, F.L. : *Endocrinol.* 15 : 17, (1931) 47) MELLISH, C.H., BAER, A.J. and MACIAS, A.C. : *Endocrinol.* 26 : 273, (1940) 48) CLAUSEN, F.W. and FREUDENBERGER, C.B. : *Endocrinol.* 25 : 585, (1939) 49) POR, F. and STANAK, F. : *Acta Endocrinol.* 30 : 481, (1959) 50) WALLACE, E.Z. : *Survey., Gynec. and Obst.* 7 : 433 (1959) 51) 正木清孝, 右橋俊雄, 磯矢 良, 佐藤東達 : 日内分泌誌, 35 : 154, (1959). 52) 名越和美 : 日産婦誌, 13 : 711, (1961). 53) WHITELEY, H.J. and STONER, H.B. : *J. Endocrinol.* 14 : 325, (1957) 54) DELAMARE, G. : Cited from Möllendorff, W. and Bargmann, W. *Handbuch d. Mikroskop. Anatomie d. Menschen Bd. VI Teil V* Springer 1954 : 730, (1904) 55) WATRIN, J. : 54) と同じ, (1925) 56) GROSSMANN, H. and SCHÖNEBERG : *Zt. Geburtsh.* 93 : 734, (1928) 57) ELLIOT, T.R. : *J. Physiol.* 44 : 374, (1913) 58) ANDERSEN, D.H. and SPERRY, W.M. : *J. Physiol.* 90 : 269, (1937) 59) RANDOLL, L.O. and GRAUBERD, M. : *Am. J. physiol.* 131 : 291, (1940) 60) 赤須文男 : 総合医学, 10 : 330, (1953). 61) 赤須文男 : 東京医誌, 70 : 247, (1953). 62) 赤須文男, 小西行男 : 綜合臨床, 3 : 1275, (1954). 63) ROBINSON, H.J., BERNHARD, W.G., GRUBIN, H., WANNER, H., SEWEKOW, G.W. and SILBER, R.H. : *J. Clin. Endocrinol.* 15 : 317, (1955) 64) BAYLISS, R.I.S., BROWNE, J.C. McC., ROUND. B.P. and STEINBECK, A.W. : *Lancet* 1 : 62, (1955) 65) HILLMAN, D.A., STACHENKO, J. and GIROUD, C.J.P. : *Symington and Grant : The Human Adrenal Cortex* (1962) 586, E & S Livinstone Ltd. London. 76) より引用. 66) MIGEON, C.J., BERNSTRAND, J., WALL, P.E. : *J. Clin. Invest.* 36 : 1350, (1957) 67) 赤須文男 : 日内分泌誌, 42 : 632, (1966). 68) SANDBERG, A.A. and SLANW HITE, W.R. : *J. Clin. Invest.* 38 : 1290, (1959) 69) 赤須文男, 名越和美, 早稲田健一, 柳沢和孝 : 第19回日産婦総会で発表, (1967) 70) MIGEON, C.L., PRYSTOWSKY, H., GRUMBACH, M.M. and BYRON, M.C. : *J. Clin. Invest.* 35 : 488, (1956) 71) PETERSON, R.E., NOKES, G., CHEN, P.S. and BLACK, R.L. : *J. Clin. Endocrinol.* 20 : 495, (1960) 72) WALLACE, E.Z. and CARTER, A.C. : *J. Clin. Invest.* 39 : 601, (1960) 73) MUSA, R.U., SEAL, U.S. and DOE, R.P. : *J. Clin. Endocrinol.* 25 : 1163, (1965) 74) GEMZELL, C.A. : *Acta Endocrinol.* 17 : 100, (1954) 75) KAWAHARA, H. : *J. Clin. Endocrinol.* 18 : 325, (1958) 76) HILLMAN, D.A. and GIROUD, C.J.P. : *J. Clin. Endocrinol.* 25 : 243, (1965)