新生児の尿中に排泄される 3 β -hydroxy- Δ^5 -steroid並びに ACTH負荷によるその変動

東京医科歯科大学医学部小児科学教室

(主任 吉田 久教授)

平 山 靖 子

Urinary Excretion of 3 β -hydroxy- Δ^5 -steroids in the Newborn Infant and the effect of ACTH Administration

Yasuko HIRAYAMA

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine,

Tokyo Medical & Dental University

Tokyo, Japan

(Director: Prof. Hisashi Yoshida)

The urinary 3 β -hydroxy- Δ^5 -steroids excreted during the period of the first week by newborn infants were analyzed by means of gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry to study the changes in the amount of these steroids. The changes in the amount of each steroid after the administration of ACTH were also studied. The results are summarized as follows:

- 1) Seven kinds of 3 β -hydroxy- Δ^5 -steroids were identified in the urine of the newborn infants. 17 α , 21-dihydroxypregnenolone was newly identified.
- 2) The daily changes in the amount of each of these steroids differed. Generally, the amount of the C-19 steroids increased day by day and that of the C-21 steroids decreased during the period of our observation.
- 3) After the administration of ACTH, the amount of these urinary steroids excreted increased at nearly the same rate.

緒 言

新生児の尿中に排泄されるステロイドのパターンは、その後の小児期や成人と著しく異っており、この時期に特有の3 β -hydroxy- Δ^5 -steroidを多量に含んでいるとされ、⁽⁵⁾⁽⁶⁾その理由としては胎生期に引き続き出生後も副腎になお残存する胎児皮質の持つ酵素活性の特徴が重視されてきた。近年になりこの胎児皮質におけるステロイド生合成過程の研究には一段の進歩が見られるようになった。特に1967年に至ってHorning、池川⁽⁶⁾らは尿中のステロイドをmethoximetrimethylsilyl ether 誘導体 (MO-TMSi) にすることによりガスクロマトグラフィーを用いて同一チャート上に一斉分析することに成功し、本法を新生児の尿に応用してそ

のステロイドパターンの解明に大きく貢献した。また最近はガスクロマトグラフ（以下GCと略す）とマススペクトルメーター（以下MS）とを直結する装置（以下GC-MS）が開発され、ガスクロマトグラム上に各ピークとして現わされるステロイドの構造決定も同時に出来るようになった結果さらに新しい知見が得られつつある。⁽⁷⁾⁽⁸⁾しかしながら出生を契機として胎児皮質が急激に退縮して行く時のステロイドの生合成とこれに伴う尿中ステロイドパターンの推移についてはなお不明の点も多く残されているのが現状である。そこで著者は出生直後より1週間までの新生児を対象として尿中のステロイドをGCとGC-MSを用いて分析するとともに、これらの排泄量の推移を経日的に調べた。又、生後3日～5日の新生児を対象として合成ACTHを負荷し、ACTH負荷による排泄量の変動について調べた。その結果対象とした新生児の尿中には17 α , 21-dihydroxypregnenolone が存在するなどの二、三の知見を得たので以下に報告する。

研究対象

正常分娩にて出産した成熟新生児の24時間尿につき検索した。これらの母児は何れも内分泌学的に異常を認めなかったものである。採尿は生後1日、3日、5日、7日に各5例ずつ合計20例（男児11例、女児9例）につきビニールパックを使用して行った。又主として新生児黄疸を治療の目的で合成ACTH-Z（0.25mg/日）を筋注した6例について注射前後の24時間尿を同じ方法で採取して研究の対象とした。これらの尿は蓄尿後直ちに-20℃に凍結保存した後検索に供した。

Urine sample
↓ β -glucuronidase
↓ 50% H_2SO_4
↓ Extraction with ethylacetate
↓ Washing with NaOH
↓ Methoxime amine hydrochloride
↓ Cholesterol butyrate added
↓ Trimethylsilyl imidazole
Steroids trimethylsilyl ether methoxime
for Gas Chromatographic analysis

Fig. 1. Procedure for isolation of urinary steroids.

研究方法

尿中のステロイドの測定はHorning、池川の方法を一部変更した坂内の方法⁽²³⁾に従って行った（Fig. 1）。すなわち凍結保存した尿を実験時常温にもどし、その50mlに0.5M磷酸buffer 10mlを加えPHを6.0に調整した後、細菌性 β -glucuronidase（シグマ社）を5000単位とクロロフォルム数滴を加えて37℃で24時間恒温槽中で持続振盪して酵素分解を行う。次に20%フォルマリン 1ml、食塩12.5g、50%硫酸 3ml、酢酸エチル50mlを加え、30℃～34℃にて48時間持続振盪して solvolysis を行う。次に分液漏斗に移し酢酸エチルと尿層を分けた後尿層をさらに50mlの酢酸エチルで2回抽出しこれらの酢酸エチルを合わせ、8%NaOH、10%NaCl混液で3回洗浄し10%NaCl液で2回洗浄後無水硫酸ソーダで脱水、酢酸エチルを減圧除去する。次にこのステロイド抽出物にo-methylhydroxylamine hydrochloride 10mgをピリジン0.5mlにとかした液を加え充分溶解させた後密栓し室温で16時間放置する。この処理によりステロイドのケトン基はメトオキシム化される。ピリジンを N_2 気流で蒸発除去した後酢酸エチル5mlで3回抽出し、これらの酢酸エチルを分液漏斗に合わせ移し4%NaOH、10%NaCl混液で3回、10%NaCl液で2回洗浄し過剰のo-methylhydroxylamine hydrochlorideを除去する。酢酸エチル層を無水硫酸ソーダで脱水し、内部標準物質として cholesterol butyrate の純品50 μ gを正確に加えて減圧乾固する。次にN-trimethylsilylimidazole 100 μ lを加え充分溶解後、100℃2時間加熱する。これによりステロイドの水酸基はTMSi化される。これを10 μ lのマイクロシリンジで2 μ l正確にとりガスクロマトグラフに注入し分析を行う。なお各ステロイドの定量には各ピークにつき

半巾定量法で面積を算定し内部標準物質に対する比を後述のresponse dose で補正し1日排泄量を算出した。回収率は尿に純DHA^{*1}を加えその回収率を調べたところ平均88.4%であった。

$$\begin{aligned} \text{1日排泄量} = & 50\mu\text{g} \times \frac{\text{sampleのpeak area}}{\text{STDのpeak area}} \times \frac{1}{\text{response dose}} \\ & \times \frac{\text{1日の尿量(ml)}}{50} \times \frac{1}{\text{回収率}} \end{aligned}$$

同じ重量のcholesterol butyrate に対する各ステロイドのresponse dose は16 α -OH-DHA : 0.97, 16-oxo-androstenediol : 0.98, 16 α -OH-pregnenolone : 1.00, 21-OH-pregnenolone : 0.96であった。

各ステロイドの同定に当っては、各ステロイドの純品^{*2}の保持時間との一致を見ることばかりでなく各ピークのマススペクトルと各純品のそれとの比較解析によって正確を期した。GC及びGC-MSの条件はFig. 2に示すようである。

Gas Chromatography

(SHIMAZU-GC5APF)

column : 2%OV-1 on Chromosorb W/HP
(80~100mesh), 150_{cm} × 4_{mm}i.d.

column temperature : 180° → 280° (2°/min)

carrier gas : N₂ flow : 100_{ml}/min

detector : FID

range : 128or256

sensitivity : 10³

chart speed : 5_{mm}/min

Gas Chromatography- Mass Spectrometry

(SHIMAZU-LKB 9000)

column : 1.5%OV-1 on Chromosorb W/HP
(100~120mesh), 100_{cm} × 4_{mm}i.d.

column temperature : 180° → 280° (2°/min)

ion source temperature : 270°

ionization energy : 70eV

Fig. 2. Condition of gas chromatography and mass spectrometry.

注1. 本文において以下のsteroidのtrivial nameを用いた。

DHA : 3 β -hydroxyandrost-5-en-17-one

16 α -OH-DHA : 3 β , 16 α -dihydroxyandrost-5-en-17-one

androstenediol : 3 β , 16 α , 17 β -trihydroxyandrost-5-ene

16-oxo-androstenediol : 3 β , 17 β -dihydroxyandrost-5-en-16-one

16 α -OH-pregnenolone : 3 β , 16 α -dihydroxypregn-5-en-20-one

21-OH-pregnenolone : 3 β , 21-dihydroxypregn-5-en-20-one

17 α , 21-dihydroxypregnenolone : 3 β , 17 α , 21-trihydroxypregn-5-en-20-one

DOC : 21-hydroxypregn-4-en-3, 20-dione

注2. ステロイドの純品はProfessor W. Klyne: Medical Research Council, Steroid Reference, Collection, Chemistry Department, Westfield College, London より分与して頂いたものを使用した。

Fig. 3. Steroid profile of MO-TMSi derivatives of urinary steroids of newborn infant for 3 days of life.

The compounds are; (I) 16α -OH-DHA, (II) 16-oxo-androstenediol, (III) androstenediolone (1) (IV) androstenediolone (2), (V) 17α , 21-dihydroxypregnenolone, (c.h.) cholesterol, (C.B.) cholesterol butyrate.

成 績

分析結果の1例としてFig. 3に生後3日の新生児尿中ステロイドのガスクロマトグラムを示した。図中におけるピークI～VIIのステロイドにつき同定並びに定量を行った。

(I) 各ピークのステロイドの同定

ピークI, II, VI, VIIはそれぞれ 16α -OH-DHA 16-oxo-androstenediol, 16α -OH-pregnenolone, 21-OH-pregnenoloneで、これらは各純品とガスクロマトグラムの保持時間、及びマススペクトルが完全に一致することにより同定した。

ピークVはGC-MS分析の結果その親ピーク M^+ が593であり、562 (M^+-31)のフラグメントはOMe基(31)の存在を、503 (M^+-90), 472 ($M^+-90-31$)などのフラグメントはOTMS基(90)が2個以上存在することを示している。また129のフラグメントは $\Delta^5-3\beta$ -OTMSに特徴的なものであることはどからOH基を3個持ったpregnenoloneであることが想定され、さらに578 (M^+-15)のフラグメントが認められず、562 (M^+-31)のフラグメントが強く現れているパターンは 17α -OH-20-one体に多く見られることから 17α , 21-dihydroxypregnenoloneであると推定した。そこで 17α , 21-dihydroxypregnenoloneを東京工業大学池川研究室の協力で合成し、その純品のガスクロマトグラムの保持時間及びマススペクトルを尿中ステロイドのガスクロマトのピークVのそれと比較検討した。その結果Fig. 4に示すように両者のマス

ベクトルはよく一致したことからピークVは 17α , 21-dihydroxypregnenolone であると決定した。ピークIII, IVについてはFig. 5に示したマススペクトルによれば, 親ピーク M^+ が565で550 (M^+-15)は18又は19位のメチル基(15)が1個なくなったフラグメントと考えられる。534 (M^+-31)のフラグメントはOMe基の存在を示しこれによりケトン基が1個存在することが予測され, フラグメント129は前に述べたように Δ^5 - 3β -OTMSに特徴的であること, 又親ピーク565が 16α -OH-DHA, 16 -oxo-androstenediol の親ピークよりOTMSが一つ多いことを示していることなどから1個のケトン基と3個のOH基をもったandrostenetrioloneであることが推定されるが完全な構造決定には至っていない。

Fig. 4. A comparison of the mass spectra of peak V and reference 17α , 21-dihydroxypregnenolone.

Fig. 5. Mass spectra of peak III and IV.

Table 1. Urinary steroids excretion in newborn infants.
($\mu\text{g}/24\text{h}$)

day after birth (cases)	Steroid	16 α -OH-DHA	16-Oxo-androstene-diol	Androstene-triolone(1)	Androstene-triolone(2)	17 α -21-Dihydroxypregnenolone	16 α -OH-pregnenolone	21-OH-pregnenolone	Total
1 day (5)	Mean (Range)	1 2 9 (89-169)	8 7 (53-105)	1 3 3 (85-178)	2 4 0 (103-347)	2 2 9 (168-302)	2 3 1 (180-345)	8 1 (59-144)	1 1 3 0 (859-1460)
3 days (5)	Mean (Range)	1 2 9 (87-163)	1 2 1 (92-197)	2 2 7 (171-295)	2 5 1 (150-370)	2 0 8 (145-298)	2 4 2 (160-369)	7 1 (37-109)	1 1 7 8 (866-1665)
5 days (5)	Mean (Range)	1 4 3 (97-217)	1 4 5 (97-202)	1 7 0 (102-237)	2 4 9 (156-308)	1 4 2 (104-177)	2 1 1 (116-311)	6 6 (24-94)	1 1 2 6 (767-1459)
7 days (5)	Mean (Range)	1 3 6 (93-231)	1 9 0 (138-290)	1 6 8 (146-193)	1 8 5 (154-214)	1 2 5 (77-189)	1 4 2 (69-196)	6 3 (31-108)	1 0 0 9 (797-1284)

Fig. 6. Urinary steroids excretion in newborn infants.

Table 2. Urinary excretion of C-19 steroids, C-21 steroids and 21-OH-pregnenolone + 17 α , 21-dihydroxypregnenolone in newborn infants.

Steroid	day after birth	1 day	3 days	5 days	7 days
C ₁₉ Steroids ($\mu\text{g}/24\text{h}$)		5 8 9	7 2 8	7 0 7	6 7 9
C ₁₉ Steroids / Total		0.5 2	0.6 2	0.6 3	0.6 7
C ₂₁ Steroids ($\mu\text{g}/24\text{h}$)		5 4 1	5 2 1	4 1 9	3 3 0
C ₂₁ Steroids / Total		0.4 8	0.3 8	0.3 7	0.3 3
21-OH-pregnenolone + 17 α , 21-Dihydroxypregnenolone ($\mu\text{g}/24\text{h}$)		3 1 0	2 7 9	2 0 8	1 8 8
21-OH-pregnenolone + 17 α , 21-Dihydroxypregnenolone / Total		0.2 7	0.2 4	0.1 8	0.1 8

(2) 各 3β -hydroxy- Δ^5 -steroid の排泄量の推移

生後1日, 3日, 5日, 7日における各 3β -hydroxy- Δ^5 -steroid の尿中排泄量はTable 1のごとくこれを図示すれば Fig. 6 のようになる. まずこれら各ステロイドの排泄量の和すなわち総排泄量についてみると各個体によって相当大きな差があったが, これを平均値でみると生後1日: $1100\mu\text{g}$, 3日: $1200\mu\text{g}$, 5日: $1100\mu\text{g}$, 7日: $1000\mu\text{g}$ となり観察期間中における総排泄量に著しい増減は認められなかった. 次に各ステロイド別に検討すると, 個々のステロイドによって相当異り例えば 16α -oxo-androstenediol のように増加の傾向を示すものと反対に 17α , 21-dihydroxypregnenolone のように減少の傾向を示すものがあった. そこでこれらのステロイドをC-19ステロイドとC-21ステロイドの2群に大別して比較したところ, C-19ステロイドではむしろ増加の傾向がみられ反対にC-21ステロイドでは減少して行く傾向がみられた (Table 2). なおC-21ステロイドのうちの21-OH-pregnenolone と 17α , 21-dihydroxypregnenolone の和のみについても同じく減少していく傾向がみられた.

(3) ACTH負荷による各ステロイド排泄量の変動

ACTH 負荷による各ステロイドの排泄量の変動はTable 3, Fig. 7に示すごとくになった. すなわち平均値でみると負荷後総量では負荷前の2.1倍に増加した. これを各ステロイド別にみると増加の程度に多少の変動はみられたが何れのステロイドも全て増加し, 増加率は1.8倍から2.8倍を示した. またこの増加の程度はC-19ステロイドとC-21ステロイドの2群に大別して比較しても, 前者では1.8~2.8倍, 後者では1.8~2.4倍であり, 両者の増加率に大きな差は認められなかった.

Table 3. Urinary steroids excretion in newborn infants before and after the administration of ACTH. ($\mu\text{g}/24\text{h}$)

Steroid ACTH administration		16 α -OH- DHA	16-Oxo- androstene -diol	Androstene -trione(1)	Androstene -trione(2)	17 α , 21-Di- hydrone- pregnenolone	16 α -OH- pregnenolone	21-OH- pregnenolone	Total
Before ACTH (6 cases)	Mean (Range)	1 4 7 (104~210)	1 5 5 (98~269)	2 1 6 (178~280)	2 0 7 (142~258)	1 6 4 (87~231)	1 6 8 (120~252)	7 5 (58~86)	1 1 3 0 (941~1233)
After ACTH (6 cases)	Mean (Range)	4 1 0 (302~546)	2 7 3 (134~454)	4 4 6 (329~594)	3 6 6 (221~548)	2 9 0 (231~376)	3 7 0 (265~376)	1 7 8 (107~271)	2 3 3 4 (1981~2579)
Increase Ratio	Mean (Range)	2.8 (2.2~4.4)	1.8 (1.3~2.8)	2.1 (1.5~3.1)	1.8 (1.2~2.4)	1.8 (1.2~3.6)	2.2 (2.0~2.5)	2.4 (1.2~4.0)	2.1 (1.8~2.8)

考 按

以下においてはまず著者が本研究を企てた背景である副腎の胎児皮質の機能の特徴につき従来の知見を簡単に述べた後, 新生児の尿中ステロイドについての先人の成績と対比しつつ, 著者のえた成績に関し若干の考察を加えたい.

(1) 胎児皮質のステロイド生合成についての従来の知見

胎児皮質のステロイド生合成酵素系の特徴としては, 永久皮質にみられるようなpregnenolone やDHAを基質とする 3β -hydroxysteroid-dehydrogenase (以下 3β -HSDと略す), $\Delta^{4,5}$ isomerase の活性が弱いことがまずあげられる.⁽²⁾⁽²⁰⁾ 胎児皮質はこのために大量の 3β -hydroxy- Δ^5 -steroid を分泌すると考えられ, 事実羊水, 臍帯血, 新生児の尿中からはいくつかの 3β -hydroxy- Δ^5 -steroid がすでに証明されてきた⁽¹⁾⁽⁴⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾. これらのステロイドがどんな役割を果しているかは従来ほとんど不明であったが, 1960年代の後半にはDiczfalusy⁽³⁾ などにより, 胎児の皮質は胎盤とともにfeto-plazental unitを形成し, 妊娠中のestrogen生合成に重要な役割を果していることが明かとされた. すなわち胎生期に胎児皮質で合成されたpregnenolone はまず胎児組織, とくに肝と副腎で 17α -hydroxylase の働きを受けて 17α -hydroxypregnenolone と

なりついでDHAに変換され、さらに16 α -OH-DHAとなった後いくつかの経路をへて、胎盤で $\Delta^{4,5}$ isomerase, aromatizing-enzyme の働きを受けて estriol が合成されるという⁽¹⁸⁾。一方cortisol, corticosterone, DOCなどの生合成は成人と同じくprogesteroneを基質として行なわれるが、このprogesteroneは主に胎盤より胎児に供給されるとされてきた⁽¹⁵⁾。しかし近年になりPasqualini^(19, 20)らは妊娠中期の胎児の灌流実験により胎児皮質においてpregnenolone (Δ^5 p) $\rightarrow$ 21-OH- Δ^5 p $\rightarrow$ DOC $\rightarrow$ corticosteroneあるいは17 α -OH- Δ^5 p $\rightarrow$ 17 α , 21-diOH- Δ^5 p $\rightarrow$ cortisolの変換も行なわれうること、換言すれば胎児皮質にも21-OH- Δ^5 p, 17 α -21-diOH- Δ^5 pを基質とする3 β -HSD及び $\Delta^{4,5}$ isomeraseの存在することを実証し、この胎児皮質に特有と考えられる経路を Δ^5 -pathwayと名づけるとともに上述のprogesteroneを介する経路を Δ^4 -pathwayと呼んだ。すなわち出生によって胎児皮質が退縮するとともにこれらの両経路のうち Δ^5 -pathwayは消滅し、一方永久皮質の発達とともに Δ^4 -pathwayのみによって上述のcorticosteroidを合成するようになるとした。而してこのような考え方の妥当性はその後多くの人によって容認されるようになったが、⁽⁸⁾⁽¹¹⁾⁽¹⁷⁾なお実証を欠くところも残されているのが現状である。

Fig. 7. Urinary steroids excretion in newborn infants before and after the administration of ACTH.

(2) 新生児尿中の3 β -hydroxy- Δ^5 -steroidとACTH負荷によるその変動について

上述してきたことから新生児の尿中に排泄される3 β -hydroxy- Δ^5 -steroidは古くから注目されていたが、ことに分析法に急速な進歩のみられた1960年代になってからはいくつかの注目すべき報告が見られるようになった。以下これらの先人の報告と対比しながら著者の成績につき若干の考察を加えたい。

まず新生児期における3 β -hydroxy- Δ^5 -steroidの総排泄量についてみると既往には松本ら、⁽¹⁴⁾Shackleton⁽²⁴⁾らの報告がみられる。何れも生後約1週間の排泄量を調べているが前者は観察期間中に約800 μ g/日から500 μ g/日に減少したと述べ後者によると、この間の排泄量(約5000ないし6000 μ g/日)に大きな変動はなかったとされる。このような従来の成績にみられる差は測定方法の差(前者:カラムクロマトグラフィー、後者:薄層クロマトグラフィー)によるところが大きいと思われる。今回我々がガスクロマトグラフィーに

よって得た総排泄量がShackletonらに比べて少なかったのは一部の物質の不安定性に基く可能性が考えられるが、観察期間中の排泄量に大きな変動を認めなかった点については彼らと同じ結果であった。

次に新生児尿あるいは臍帯血に從來証明しえたというステロイドについてみると、この場合も測定方法や目的によって異なるが、これを列挙すればpregnenolone,⁽²⁴⁾ DHA,⁽²⁴⁾ 21-OH-pregnenolone,⁽¹¹⁾ 16-oxo-androstenediol,⁽²¹⁾ 16 α -OH-DHA⁽²²⁾ 16 α -OH-pregnenolone⁽²²⁾ androstenetriol⁽²²⁾ などが記載されている。従って今回著者が分析した7種のステロイドのうち16 α -OH-DHA, 16-oxo-androstenediol, 16 α -OH-pregnenolone, 21-OH-pregnenoloneの4種は先人によりすでに確認されているものと一致する。又他の3種のステロイドのうち今回分析で構造を決定しえなかった2種のandrostenetrioloneは既述の性状からおそらくShackleton⁽²³⁾らの同定したandrostenetriolone, すなわち15 β , 16 α -dihydroxy-DHAと16 β , 18-dihydroxy-DHAに近い物質と思われる。これらの各ステロイドと異って新生児尿中から17 α , 21-dihydroxypregnenoloneを同定しえたという報告はまだみられておらず、わずかに臍帯血についてのEberlein⁽⁴⁾の記載をみ出しえたのみであったが、このステロイドは先に述べたごとく胎児皮質でのcorticosteroid生合成の主要なprecursorの一つとされている⁽¹⁹⁾。従って今回の検討において出生後の新生児尿中よりこれを証明しえたことは、胎児新生児期のcorticosteroid生合成過程の解明に大きく寄与するものと考ええる。なおこれらの個々のステロイドの排泄量の推移についてみた著者の成績は各個体、各ステロイドにより異り、Mitchell⁽¹⁷⁾らの述べたところと一致したが、著者がこれらのステロイドをC-19ステロイドとC-21ステロイドとに分け排泄量の経日的変動をみたところ前者にはむしろ増加の傾向がみられ、一方後者には減少していく傾向がみられた。又胎児皮質の Δ^5 -pathwayによるcortisol, corticosteroneなどの生合成に必要なステロイドとされている21-OH-pregnenoloneと17 α , 21-dihydroxypregnenoloneの和も減少傾向を示した。この結果は胎児皮質の持つ機能を仮にestrogen生合成とcortisol corticosteroneなどの生合成という二つの働きに分けて考えた場合、出生後に起るその退縮過程において前者に比し後者の機能がより早期に衰退することを示唆するもので興味深いと思う。なおこの結果は先天性副腎皮質過形成児の食塩喪失症状が生後比較的早期に発症してくること⁽⁹⁾も符合すると考えられる。

最後にACTH負荷による各 3β -hydroxy- Δ^5 -steroidの変動について言及したい。胎生期の胎児皮質がACTHの支配をうけていることは、ACTH投与による無脳児胎児皮質の萎縮の回復⁽¹²⁾や妊婦の尿中estriolの増加など⁽¹⁰⁾から明らかとされてきた。しかし出生後における胎児皮質のACTHに対する反応性について検討した成績は、はなはだ少いようであり、手許の文献ではLauritzenら⁽¹³⁾によるものをみるに止った。彼らも5例の新生児にACTHを負荷して尿中のステロイド排泄量を検索し、16 α -OH-DHAなどにおいて若干の増加(著者のratioに換算すると2.8倍以下)を認めたという。今回著者が同報告中には記載のない17 α , 21-dihydroxypregnenolone, 2種のandrostenetrioloneを含む7種の 3β -hydroxy- Δ^5 -steroidの尿中排泄量について調べたところ、これらの排泄量はACTH負荷により何れも増加し、その際の増加率は平均約2倍で、この増加率は各ステロイド間、あるいはC-19ステロイドとC-21ステロイドの間で大差を認めなかった。従って胎児皮質のACTH反応性は出生直後の退縮過程においても、estrogen系とcortisol, corticosterone系の如何を問わず相当、かつほぼ同程度に保持されているように思われる。

要 約

生後1日から7日にいたる新生児20例を対象として尿中の 3β -hydroxy- Δ^5 -steroidをgas chromatographyとgas chromatography-mass spectrometryによって分析し、出生後における排泄量の推移を調べた。また別に他の新生児6例を対象としてACTHを負荷したときの変動を調べた。えられた結果は次のように要約される。

(I) 新生児の尿中には本法によって7種の 3β -hydroxy- Δ^5 -steroidを証明し、その一つとして從來記載

のなかった 17 α , 21-dihydroxypregnenolone を同定することが出来た。

(2) 新生児期におけるこれらのステロイドの排泄量の経日的推移は各ステロイドにより異ったが、これらのステロイドを C-19ステロイドと C-21ステロイドとに大分すると、観察期間中における前者の排泄量にはむしろ増加の傾向がみられ、後者の排泄量には減少して行く傾向がみられた。

(3) ACTH を負荷するとこれらのステロイドの排泄量は何れも増加し、その際各ステロイドにおける増加の程度に大きな差はみられなかった。

本研究の要旨は第50回日本内分泌学会総会(1977)及び第79回日本小児科学会総会(1976)で発表した。擧筆に当たり御指導御助言頂いた恩師東京医科歯科大学小児科吉田久教授、東京工業大学理学部天然物化学研究施設池川信夫助教授、日本専売公社東京病院小児科水沼寛医長に深謝いたします。測定に当りステロイド合成その他で御協力いただいた池川研究室の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) Birchall, K. and Mitchell, F.L.: The isolation of 21-hydroxypregnenolone in the urine of newborn infants. *Steroid* 6: 421-436, 1965.
- 2) Bloch, E. and Benirschke, K.: Steroidogenic capacity of fetal adrenals in vitro. In Curie, A.R., Symington, T. and Grant, J. K., *The Human Adrenal Cortex*, Edinburgh, Livinstone, 1962, 589-595.
- 3) Diczfalusy, E.: Endocrine function of the human fetoplacental unit. *Fed. Proc.*, 23: 791-798, 1964.
- 4) Eberlein, W.R.: Steroids and sterols in umbilical cord blood. *J. clin. Endocr.*, 25: 1101-1118, 1965.
- 5) Gardiner, W.E., Brooks, C.J.W., Horning, E.C. and Hill, R.H.: Urinary steroid pattern of the human newborn infant. *Biochim. Biophys. Acta*, 130: 278-281, 1966.
- 6) Horning, E.C., Horning, M.G., Ikekawa, N., Chambay, E.M., Jaakonmaki, P.I. and Brooks, C.J.W.: Studies of analytical separations of human steroids and steroidglucuronides. *J. of Gas Chromatography*, 283-389, 1967.
- 7) Horning, M.G., Hung, A., Hill, R.M. and Horning, E.C.: Variation in urinary steroid profiles after birth. *Clinica Chimica Acta*, 34: 261-268, 1971.
- 8) 五十嵐良雄: 胎児胎盤の内分泌学, 現代小児科学大系年刊追補 '73-B, 中山書店, 東京 307-378, 1973.
- 9) 五十嵐良雄: 先天性副腎過形成の発症よりみた胎児副腎機能, 日本新生児学会誌 10, 270-277, 1975.
- 10) Jost, A., Jacquot, R. and Coher, A.: The pituitary control of the foetal adrenal cortex. *The Human Adrenal Cortex*. In Currie, A.R., Symington, T. and Grant, J.K. and S. Livingston, Edinburgh & London, 569-579, 1962.
- 11) 興水 隆: 新生児及び幼若乳児における cortisol の分泌及び代謝に関する研究, 日本小児科学会誌, 76: 820-841, 1972.
- 12) Lanman, J.T.: An interpretation of human foetal adrenal structure and function. *Human Adrenal Cortex*. In Currie, A.R., Symington, T. and Grant, J.K. and S. Livingston, Edinburgh & London, 547-558, 1962.
- 13) Lauritzen, C., Shackleton, C.H.L., and Mitchell, F.L.: The effect of exogenous corticophin on steroid excretion in the newborn. *Acta Endocrinologica*, 58: 655-663, 1968.
- 14) Matsumoto, K., Okano, K., Uozumi, T. and Seki, T.: Analysis of steroids in human urine by elution chromatography on cation-exchange resins with special reference to urinary steroids of newborns. Reprinted from *steroid dynamics*, Academic Press inc, New York, 379-384, 1966.

- 15) 松本圭史, 魚住 徹: 胎児胎盤系におけるステロイドホルモン, 代謝, 7: 32—39, 1970.
- 16) 水沼 寛, 皆川 和: 新生児尿中のステロイドについて—ガスクロマトグラフィーによる分析—, 最新医学, 22: 2409—2416, 1967.
- 17) Mitchell, F.L. and Shackleton, C.H.L.: The investigation of steroid metabolism in early infancy. *Advances Clin. Chem.*, 12: 141—215, 1969.
- 18) 中山 徹: 人の胎児—胎盤系における estriol 生合成経路, 日本内分泌学会誌, 46: 758—767, 1970.
- 19) Pasqualini, J.R., Lowy, J., Wigvist, N. and Diczfalussy, E.: Biosynthesis of cortisol from 3β , 17α , 21-trihydroxypregn-5-en-20-one by the intact human foetus at midpregnancy. *Biochim. Biophys. Acta*, 152: 648—650, 1968.
- 20) Pasqualini, J.R., Lowy, J., Albepart, T., Wigvist, N. and Diczfalussy, E.: Studies on the metabolism of corticosteroids in the human foeto-placental unit. *Acta Endocrinologica*, 63: 11—20, 1970.
- 21) Reynolds, J.W.: The isolation of 16-keto androstenediol from the urine of a newborn infant. *Steroid*, 3: 77—83, 1964.
- 22) Reynolds, J.W.: Excretion of 16-hydroxylation steroids by premature infants. *J. Clin. Endocr.*, 26: 1251—1250, 1971.
- 23) 坂内 昇, 林 明, 金井洋子: Gaschromatography 法, 日本臨床, 29: 1449—1455, 1971.
- 24) Shackleton, C.H.L. and Mitchell, F.L.: The measurement of 3β hydroxy- Δ^5 -steroids in human fetal blood, amniotic fluid, infant urine and adult urine. *Steroid*, 10: 359—385, 1967.
- 25) Shackleton, C.H.L., and Taylor, N.F.: Identification of the androstenetriolone and androstenetetolols present in the urine of infants. *J. Steroid Biochem.* 6: 1393—1399, 1975.
- 26) Villee, D.B., Engel, L.L., Loring, J. M. and Villee, C.A.: Steroid hydroxylation in human fetal adrenals: Formation of 16α -hydroxyprogesterone, 17α -hydroxyprogesterone and deoxycorticosterone. *Endocrinol.*, 69: 354—372, 1961.