11- β -hydroxylase inhibitorを用いた小児の間脳一下垂体— 副腎皮質系ホルモン分泌機構に関する研究

第二編

間脳一下垂体—副腎皮質系の発達に関する検討と
血中 metyrapone, reduced metyrapone 濃度に基づく metyrapone 試験の検討
—特に, glucocorticoid 系と mineralocorticoid 系との比較を中心として—

慶応義塾大学医学部小児科学教室

(前主任 市橋 保雄教授)
(現主任 小佐野 満教授)

市 村 一 義

Studies on the Hypothalamo-pituitary-adrenocortical Axis in Children Using 11- β -hydroxylase Inhibitors

II. Studies of the age-differences of the development of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis

— A comparison of the glucocorticoid pathway to the mineralocorticoid pathway —

Kazuyoshi ICHIMURA

(Former Director: Professor Yasuo Ichihashi)

(Present Direct: Professor Mitsuru Osano)

Department of Pediatrics,

Keio University School of Medicine,

Tokyo, Japan

This study was designed to investigate the development of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical function in children.

In order to study age-differences, normal subjects were divided into three groups by age (A: 10 y/o – 15 y/o, B: 5 y/o – 9 y/o and C: 6 m/o – 3 y/o).

The time course levels of plasma ACTH, serum 11-deoxycortisol, 11-deoxycorticosterone, cortisol, corticosterone, metyrapone and reduced metyrapone after a single oral or rectal administration of metyrapone were measured simultaneously by radioimmunoassay and gas chromatograph-mass spectrometry. These data were statistically analyzed.

The degree of inhibition of 11- β -hydroxylase activity was expressed by using $\frac{S}{S+F} \times$

10^2 and $\frac{\text{DOC}}{\text{DOC} + \text{B}} \times 10^2$ as the inhibitory indices in the glucocorticoid pathway and mineralocorticoid pathway.

After the administration of metyrapone, both maximum levels of plasma ACTH and the area under the curve (AUC) of plasma ACTH were higher and greater in the A group than in the other younger groups (by AIC). The response of serum 11-deoxycortisol to the increase in plasma ACTH was greater according to age groups $A > B > C$ (by AIC). In marked contrast, the response of serum deoxycorticosterone to the increase in plasma ACTH was greater according to age groups $C > B > A$ (by AIC).

These findings suggest that the hypothalamo-pituitary-adrenocortical function differs with age and also that the development of the glucocorticoid pathway differs from that of the mineralocorticoid pathway in children.

The ratio of the increase of the $\frac{\text{S}}{\text{S} + \text{F}} \times 10^2$ value to the increase of serum total metyrapone (metyrapone plus reduced metyrapone) levels was greater according to age groups $A > B > C$ ($P < 0.05$). In contrast, the ratio of increase of the $\frac{\text{DOC}}{\text{DOC} + \text{B}} \times 10^2$ value to the increase of serum total metyrapone levels showed completely opposite results ($C > B > A$: $P < 0.05$).

The discrepancies in these inhibitory patterns of 11- β -hydroxylase activity suggest the maturation with age and the heterogeneity of the 11- β -hydroxylase between the glucocorticoid and mineralocorticoid pathways.

After discontinuation of more than 1 month of long-term prednisolone therapy, the response of serum 11-deoxycortisol to the metyrapone test did not completely return to normal responses in the control subjects.

This finding indicates that the recovery of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical function may require more than 1 month under such conditions.

In patients with ACTH deficiency, plasma ACTH did not respond to the administration of metyrapone; however, serum 11-deoxycortisol and deoxycorticosterone levels showed a significant increase over the normal serum circadian range of 11-deoxycortisol and deoxycorticosterone ($P < 0.01$).

These findings suggest not only a minute amount of pituitary ACTH secretion but also the autonomous function of the adrenal gland.

Furthermore, in ACTH deficient patients, the inhibitory patterns of $\frac{\text{S}}{\text{S} + \text{F}} \times 10^2$ and $\frac{\text{DOC}}{\text{DOC} + \text{B}} \times 10^2$ to the increase of serum total metyrapone were indicated to be the same as in normal children.

When we analyzed those cases showing a false negative response on the metyrapone test (i.e. cases whose maximum plasma ACTH increase was below 154 pg/ml: $M + 3SD$ circadian ranges of plasma ACTH levels in the controls), the serum total metyrapone levels were found to be below 1.7 $\mu\text{g/ml}$ in all; thus serum maximum levels of total metyrapone in a single metyrapone test must be checked so as to be above 1.7 $\mu\text{g/ml}$ in order to evaluate normal pituitary function.

In the clinical application of a single metyrapone test (50 mg/kg, rectal administration), the demarcation points between the normal control group and the groups with abnormal ACTH secretion were 6.9 μ g/dl for 11-deoxycortisol and 7.2 ng/ml for deoxycorticosterone.

To summarize; simultaneous measurement of metyrapone, reduced metyrapone and other hormones proved to be useful in clinical application and also may be useful to assess 11- β -hydroxylase activity and the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in children.

I 緒 言

間脳一下垂体—副腎皮質系 (以下 H-P-A 系と略す) に関する研究は Sayers らの negative feed back 機構についての報告¹⁰⁾を始めとして現在に至るまで数多くの報告が認められており、小児期における H-P-A 系機能に関する報告^{8) 11) 12)}もなされている。H-P-A 系機能が年齢の増加とともにどのような変化を示すかは、非常に興味ある問題であるが、従来、副腎皮質内生合成に關与する precursor hormone の測定の困難さもあって、明らかでなかった事項も多い。特に、H-P-A 系の個々のホルモン分泌調節の年齢的变化についての報告は少ない。今回、副腎皮質ホルモン合成酵素の活性変化と H-P-A 系関連ホルモン分泌との関連より、H-P-A 系の検討を行うことは意義あることと思われ、副腎皮質生合成酵素の主酵素である 11- β -hydroxylase を中心として、H-P-A 系について glucocorticoid 系と mineralocorticoid 系とに分けて検討を行った。11- β -hydroxylase の活性は 11- β -hydroxylase inhibitor (metyrapone, reduced metyrapone) を用いて調節し、同時に H-P-A 系の関連ホルモンを経時的に測定し、加えて、第一編報告の Gas chromatograph-mass spectrometry (以下 GC/MS と略す) による測定法⁶⁾により血中 metyrapone と reduced metyrapone とを同時測定し、H-P-A 系について、加齢による変化を中心に検討し、又、臨床に広く用いられている metyrapone 試験への応用についての研究を行った結果、興味ある知見を得たのでここに第二編として報告する。

II 対象および方法

1) 対象

臨床症例検討のため、ステロイド多量長期投与群 (prednisolone: 0.5mg 以上/kg/日の2ヶ月間以上投与; n=20) と下垂体 ACTH 分泌不全を伴う特発性下垂体性小人症の症例群 (n=12) を対象として選んだ。正常対照群としては、低身長や色黒などにより、H-P-A 系の異常が疑われ、検査を行った結果、健常と判明した症例を選んだ。又、正常対照群は、加齢による H-P-A 系の変化に関する検討に供するため、若年群 (生後 6 ヶ月～3 才; n=23) と中間年令群 (5 才～9 才; n=28) と年長児群 (10 才～15 才; n=35) の 3 群に分けた。

2) metyrapone の投与方法・投与量及び検査・測定法

metyrapone の投与は午前 0 時 1 回投与とした。

投与経路は、経口投与と坐薬投与法の二経路を用いた。投与量は 30mg/kg, 50mg/kg と、他に dose-response 等を検討するために 35mg/kg～80mg/kg を用いた。経口投与法は、metyrapone の経口摂取可能な年長児群と中間年令群に、体重当り一定量の metyrapone と水 50cc から 100cc を同時摂取をさせて行った。坐薬投与は年長児群、中間年令群及び若年群に対して行った。metyrapone

坐薬は第一編にて報告した方法と同様に⁶⁾、当慶応義塾大学病院薬剤部にて作製したものをを用いた。坐薬は、体重当り上記諸用量を投与した。

検体の採取と処理及び血中 metyrapone, reduced metyrapone, ACTH, 11-deoxycortisol, 11-deoxycorticosterone, cortisol, corticosterone の測定は第一編での報告⁶⁾に基づいて行った。又、血漿レニン活性は Renin RIA kit (ダイナボット社製) を使用した。

3) 血中 metyrapone, reduced metyrapone 及びホルモン濃度の推計学的処理

測定物質の各投与群間の比較検討は、母分散の検定 (F 検定) と t 検定を用いた。各測定物質間の相互関係及び年齢差の検討は、第一編に報告した AKAIKE'S INFORMATION CRITERION (以下 AIC と略す)⁶⁾ を用いて推計学的処理を行った (以下 AIC を用いての分析は by AIC と示す)。

metyrapone 投与後の血中 metyrapone, reduced metyrapone 各種ホルモンの経時的变化の全体量を表わすために、午前 0 時より午後 4 時までの間の血中濃度—時間曲線下面積 (Area under the concentration—time curve : 以下 AUC と略す) を用いた⁴⁾。年齢差に関する検討は、metyrapone の代謝が等しい坐薬投与群⁶⁾について行った。

11- β -hydroxylase の抑制指標としては、 $\frac{S}{S+F} \times 10^2$ と $\frac{DOC}{DOC+B} \times 10^2$ ^{20, 25)} を用いた (但し、S は 11-deoxycortisol を、F は cortisol を、DOC は deoxycorticosterone を、B は corticosterone を示した)。

III 成 績

1) 11- β -hydroxylase inhibitor の副腎皮質ステロイドホルモン合成抑制効果

11- β -hydroxylase inhibitor の F 産生抑制効果の検討のため、metyrapone とその主要代謝還元物質の reduced metyrapone を合せた血清 total metyrapone⁶⁾ (以下 total M と略す) の AUC と血清 F 濃度抑制時間 (血清 F 濃度が正常対照群 (n=86) の F の日内変動値の mean-1 SD 以下であった時間) との関係について検討した結果 (Table 1-a)、総ての年齢群において明らかな相関 ($P < 0.01 \sim 0.05$) が認められ、血中 total M は血中 F を対数比関係で抑制することが示された。

年齢による差についてみると、年長児は若年群に較べ、抑制を有意に強く、長く受けた (by AIC)。

血中 total M の血中 B への影響の検討のため、血清 total M 濃度の AUC と血清 B 濃度の AUC との関係を分析した結果 (Table 1-b)、総ての年齢群において相関 ($p < 0.05$) が認められた。即ち、total M は血中 B 濃度に対して対数比に抑制した。但し、total M の B 産生抑制制度には、年齢差は認められなかった (by AIC)。

2) 血清 F 濃度低下及び血清 total M による ACTH 分泌への影響

negative feedback system を介しての血漿 ACTH 分泌刺激をみるため、血清 F 濃度抑制時間と血漿 ACTH の AUC との関係について検討した結果 (Table 1-c)、良い相関 ($p < 0.01 \sim 0.05$) が認められた。又、年齢が高いほど F の抑制時間に対する血漿 ACTH の ACU は有意に大きい値を示していた (by AIC)。即ち、F の抑制時間が等しい場合、年齢の高い群ほど血漿 ACTH の ACU が大きい値を示した。

血中 total M の下垂体 ACTH 分泌に及ぼす影響をみるため、血清 total M の AUC と血漿 ACTH の AUC との関係について検討した。その結果、Table 1-d の如く総ての年齢群において相関 ($p < 0.01 \sim 0.05$) が認められた。一方、年齢差は認めなかった (by AIC)。

Table 1. Data on age difference based on AIC analysis.

Age	1-a AUC of Total M vs suppressive time.	1-b AUC of Total M vs AUC of B
10Y/O-15Y/O	$y = 6.184 + 1.095 \log X (r = 0.709, P < 0.01; n = 13)$	$y = 95.424 - 14.876 \log X (r = -0.569, P < 0.05; n = 13)$
5Y/O-9Y/O	$y = 3.143 + 1.405 \log X (r = 0.723, P < 0.05; n = 10)$	$y = 144.226 - 27.345 \log X (r = -0.701, P < 0.05; n = 10)$
6M-3Y/O	$y = 3.223 + 1.571 \log X (r = 0.596, P < 0.01; n = 18)$	$y = 128.957 - 19.872 \log X (r = -0.517, P < 0.05; n = 18)$
	X: AUC of Total M ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$). y: suppressive time (hrs).	X: AUC of Total M ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$). y: AUC of B ($\text{ng}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$)
	1-c suppressive time vs AUC of ACTH	1-d AUC of Total M vs AUC of ACTH
10Y/O-15Y/O	$y = -936.120 + 368.135X (r = 0.8496, P < 0.01; n = 13)$	$y = 515.305 + 726.772 \log X (r = 0.815, P < 0.01; n = 13)$
5Y/O-9Y/O	$y = 920.919 + 166.543X (r = 0.674, P < 0.05; n = 10)$	$y = 725.106 + 594.86 \log X (r = 0.678, P < 0.05; n = 10)$
6M-3Y/O	$y = 132.988 + 216.693X (r = 0.579, P < 0.05; n = 18)$	$y = -750.540 + 1088.363 \log X (r = 0.901, P < 0.01; n = 18)$
	X: suppressive time (hrs.). y: AUC of ACTH ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$)	X: AUC of Total M ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$). y: AUC of ACTH ($\text{pg}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$)
	1-e AUC of ACTH vs AUC of S	1-f AUC of ACTH vs AUC of DOC
10Y/O-15Y/O	$y = 34.444 + 0.026X (r = 0.623, P < 0.05; n = 13)$	$y = 70.220 + 0.0316X (r = 0.602, P < 0.05; n = 13)$
5Y/O-9Y/O	$y = 27.856 + 0.026X (r = 0.651, P < 0.05; n = 10)$	$y = -44.823 + 0.067X (r = 0.723, P < 0.05; n = 10)$
6M-3Y/O	$y = 14.614 + 0.0292X (r = 0.628, P < 0.01; n = 18)$	$y = -20.169 + 0.093X (r = 0.651, P < 0.05; n = 18)$
	X: AUC of ACTH ($\text{pg}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$). y: AUC of S ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{dl}^{-1}$)	X: AUC of ACTH ($\text{pg}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$). y: AUC of DOC ($\text{ng}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$)
	1-g Cmax of ACTH vs Cmax of S	1-h Cmax of ACTH vs Cmax of DOC
10Y/O-15Y/O	$y = 6.848 + 0.010X (r = 0.626, P < 0.05; n = 13)$	$y = 8.187 + 0.025X (r = 0.558, P < 0.05; n = 13)$
5Y/O-9Y/O	$y = 3.174 + 0.025X (r = 0.680, P < 0.05; n = 10)$	$y = -8.444 + 0.077X (r = 0.648, P < 0.05; n = 10)$
6M-3Y/O	$y = 2.973 + 0.024X (r = 0.585, P < 0.05; n = 18)$	$y = -3.802 + 0.113X (r = 0.722, P < 0.01; n = 18)$
	X: Cmax of ACTH (pg/ml). y: Cmax of S ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	X: Cmax of ACTH (pg/ml). y: Cmax of DOC (ng/ml)
	1-i AUC of Total M vs AUC of $\frac{S}{S+F} \times 10^2$	1-j AUC of Total M vs AUC of $\frac{\text{DOC}}{\text{DOC}+B} \times 10^2$
10Y/O-15Y/O	$y = 226.285 + 166.064 \log X (r = 0.636, P < 0.05; n = 13)$	$y = 162.869 + 247.793 \log X (r = 0.591, P < 0.05; n = 13)$
5Y/O-9Y/O	$y = -0.648 + 177.423 \log X (r = 0.709, P < 0.05; n = 10)$	$y = 218.32 + 239.854 \log X (r = 0.671, P < 0.05; n = 10)$
6M-3Y/O	$y = -156.867 + 234.703 \log X (r = 0.712, P < 0.01; n = 18)$	$y = 107.743 + 306.093 \log X (r = 0.860, P < 0.01; n = 18)$
	X: AUC of Total M ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$). y: AUC of $\frac{S}{S+F} \times 10^2$	X: AUC of Total M ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$). y: AUC of $\frac{\text{DOC}}{\text{DOC}+B} \times 10^2$
	1-k Total M vs $\frac{S}{S+F} \times 10^2$	1-l Total M vs $\frac{\text{DOC}}{\text{DOC}+B} \times 10^2$
10Y/O-15Y/O	$y = 72.574 + 23.503 \log X (r = 0.7545, P < 0.01; n = 65)$	$y = 102.891 + 33.981 \log X (r = 0.742, P < 0.01; n = 22)$
5Y/O-9Y/O	$y = 65.226 + 19.621 \log X (r = 0.786, P < 0.01; n = 45)$	$y = 100.772 + 30.151 \log X (r = 0.646, P < 0.01; n = 19)$
6M-3Y/O	$y = 61.021 + 20.102 \log X (r = 0.84, P < 0.01; n = 36)$	$y = 116.345 + 38.082 \log X (r = 0.841, P < 0.01; n = 30)$
	X: Total M ($0.1-1 \mu\text{g}/\text{ml}$). y: $\frac{S}{S+F} \times 10^2$	X: Total M ($0.15-0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$). y: $\frac{\text{DOC}}{\text{DOC}+B} \times 10^2$
AUC: area under the concentration-time curve. Total M: metyrapone+reduced metyrapone Suppressive time: times required for recovery to diurnal F levels (M-1SD) in normal controls. F: cortisol. B: corticosterone. S: 11-deoxycortisol. DOC: deoxycorticosterone Cmax: maximum levels. P.R.: rectal administration S.D.: significant difference. N.D.: no difference		

3) metyrapone 投与後の副腎皮質11- β -hydroxylated steroidのprecursorについての分析

内因性 ACTH の副腎皮質糖質ステロイド分泌刺激をみるため、血漿 ACTH の AUC と血清 S の AUC との相関 (Table 1-e) 及び、血漿 ACTH の最高血中濃度 (以下 C max と略す) と血清 S の C max との相関 (Table 1-g) について検討した結果、AUC 及び C max に関して、相関 ($p < 0.05 \sim 0.01$) が認められた。又、年齢差による ACTH と S の相関関係の差異が、AUC, C max に認められた (by AIC)。即ち、内因性 ACTH に対して、S の C max は若年群で高濃度となり、一方、16 時間を通しての平均でみると、年長児群が高濃度であった。次に、内因性 ACTH の副腎皮質鉱質ステロイド分泌刺激をみるため、血漿 ACTH の AUC と血清 DOC の AUC (Table 1-f) 及び、血漿 ACTH の C max と血清 DOC の C max との相関 (Table 1-h) について検討を加えた結果、血漿 ACTH 濃度と血清 DOC 濃度とは、C max 及び AUC に関して良好な相関 ($p < 0.01 \sim 0.05$) が認められた。又、年齢差が C max と AUC 各々についての血漿 ACTH と血清 DOC との相関関係に認められた (by AIC)。即ち、若年群の内因性血漿 ACTH 濃度に対する血清 DOC 濃度の比は、他の二群に比べ高値を示した。

4) Total M の11- β -hydroxylation 抑制作用についての検討

11- β -hydroxylase の total M に対する感受性をみるため、血清 total M と11- β -hydroxylation 抑制指標 $\left(\frac{S}{S+F} \times 10^2\right)$, $\left(\frac{DOC}{DOC+B} \times 10^2\right)$ との関係について検討した。glucocorticoid 系では、血清 total M 濃度の対数を X 軸方向にとり、 $\frac{S}{S+F} \times 10^2$ 値を Y 軸方向にとると Fig. 1 の如く concentration-response 曲線が得られた。平均値でみると、年齢の高い群ほど抑制度が高く、 $\frac{S}{S+F} \times 10^2$ の平均値50%が得られる血清 total M 濃度は、年長児群で $0.38 \mu\text{g/ml}$ 、中間年齢群で $0.50 \mu\text{g/ml}$ 、若年群で $0.56 \mu\text{g/ml}$ であり、年齢の高い群ほど強い抑制を受けていた。又、血清 total M 濃度と $\frac{S}{S+F} \times 10^2$ との相関関係は、血清 total M 濃度の $0.10 \mu\text{g/ml}$ から $1.00 \mu\text{g/ml}$ の領域において、Table 1-k の如く相関 ($p < 0.01$) を認めた。mineralocorticoid 系について、同様の検討を行った。 $\frac{DOC}{DOC+B} \times 10^2$ と血清 total M 濃度の対数との間には、glucocorticoid 系で認められたと同様の concentration-response 曲線が得られた (Fig. 2)。平均値でみると、年齢の低い群ほど抑制度が高く、 $\frac{DOC}{DOC+B} \times 10^2$ の平均値50%が得られる血清 total M 濃度は、年長児群が $0.20 \mu\text{g/ml}$ 、中間年齢群が $0.18 \mu\text{g/ml}$ 、若年群が $0.15 \mu\text{g/ml}$ と、年齢の低いほど強い抑制を受けていた。又、血清 total M 濃度と $\frac{DOC}{DOC+B} \times 10^2$ との相関関係は、血清 total M 濃度 $0.08 \mu\text{g/ml}$ から $0.50 \mu\text{g/ml}$ の領域において求めると Table 1-l の如く相関 ($p < 0.01$) を示した。

metyrapone 投与後の11- β -hydroxylation 抑制度についての量 (強さ、持続時間) 的検討のため、血清 total M 濃度の AUC と11- β -hydroxylation 抑制指標 $\left(\frac{DOC}{DOC+B} \times 10^2, \frac{S}{S+F} \times 10^2\right)$ の AUC との関係について検討した結果、glucocorticoid 系において良好な相関 ($p < 0.01 \sim 0.05$) 関係が認められ、年長児群は他の二群に比べ強い抑制を有意 (by AIC) に受けることが示された (Table 1-i)。mineralocorticoid 系においても同様に、血清 total M と抑制指標との間には良好な相関 ($p < 0.01 \sim 0.05$) 関係が認められた。抑制は、年齢によって有意に差異があり (by AIC)、若年群では他の二群に比べ強い抑制を受け glucocorticoid 系とは逆であった (Table 1-j)。以上、11- β -hydroxylase は11- β -hydroxylase inhibitor に対して、glucocorticoid 系と mineralocorticoid 系では、その抑制効果の程度は、年齢差に於て異っていることが示された。

Fig. 1. Concentration-effect curves for total M (metyrapone + reduced metyrapone) on the 11- β -hydroxylase in the various age-groups.

Fig. 2. Concentration-effect curves for total M (metyrapone + reduced metyrapone) on the 11- β -hydroxylase in the various age-groups.

Table 2. Statistical analysis of the various methods in the three different age-groups.

Total metyrapone		N	C _{max} ($\mu\text{g/ml}$)		T _{max} (hrs.)		AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{ml}^{-1}$)		T 1/2 (hrs.)	
15 Y/O	50mg/kg·P.O.	6	68.18±12.03	**	1.45±0.92	N.D.	163.08±48.00	**	1.94±0.28	N.D.
	30mg/kg·P.O.	7	20.88±7.69		1.66±0.51		88.83±7.55		2.28±0.32	
	50mg/kg·P.R.	6	6.68±1.32		1.28±0.48		24.07±9.05		2.49±0.29	
	30mg/kg·P.R.	7	1.65±0.34		1.33±0.54		7.30±2.33		2.76±0.35	
10 Y/O	50mg/kg·P.O.	5	23.88±10.06	N.D.	1.12±0.17	N.D.	78.52±34.43	N.D.	2.27±0.28	N.D.
	30mg/kg·P.O.	5	12.38±1.86		1.48±0.54		35.44±6.21		2.35±0.24	
	50mg/kg·P.R.	5	6.20±1.68		1.52±0.63		25.28±12.21		2.51±0.24	
	30mg/kg·P.R.	5	2.58±1.24		1.23±0.54		8.05±1.65		2.65±0.35	
6M-3Y/O	50mg/kg·P.R.	9	7.71±4.15	N.D.	1.57±0.78	N.D.	24.88±9.76	N.D.	2.54±0.32	N.D.
	30mg/kg·P.R.	9	2.08±0.78		1.23±0.33		7.60±2.94		2.58±0.34	

★: $P < 0.05$, ★★: $P < 0.01$, S.D.: significant difference estimated by Akaike's Information Criterion (AIC)
 N.D.: no difference, P.O.: oral administration, P.R.: rectal administration, C_{max}: maximum concentration,
 T_{max}: times required for C_{max}, AUC: area under serum concentration versus time curve.

5) 臨床応用のための検討

I) 正常反応群の分析

single metyrapone 試験について、年齢群別、投与経路別、投与量別の三点について検討を加えた。total M 濃度は Table 2 に示す如く、経口投与の場合、同一投与量/kg の場合でも、年齢が異なると血中濃度及び AUC が有意 ($p < 0.01 \sim 0.05$) の差を示した。一方、坐薬投与法では同一投与量/kg の場合に、年齢が異なっても、血中濃度並びに AUC 共に有意差が認められなかった。

血中 total M 頂値到達時間、total M の生物学的半減期 (Table 2) は、年齢、投与量、投与経路に関することなく有意差はなかった。

Table 2 に示す如く、投与量、投与経路、年齢により血中 total M の C_{max} が変化 ($p < 0.01 \sim 0.05$) することより、metyrapone 試験の評価を行う際には血中 total M 濃度の測定をすることが大切であることが判明した。又、経口投与法においては、異なる年齢群間の比較評価は、血中 total M 濃度測定抜きでは出来ないと分かった。

metyrapone 投与後の血中 F, B 濃度の最低血中濃度、最低血中濃度到達時間、AUC、抑制時間 (B も F と同様に定めた。) について Table 3, 4 に示した。F は、坐薬投与法で、AUC と抑制時間値に年齢による有意差 ($p < 0.01 \sim 0.05$) を示した。年長児群は他の二群に比べて、強い F の生産抑制を受けたと推測される。

B は、30mg/kg 深夜一回坐薬投与法において、AUC の値に年齢差 ($p < 0.05$) が認められたが、他の測定値に年齢差を認めなかった。

metyrapone 投与後の血漿 ACTH、血清 S, DOC について Table 5, 6, 7 に示した。それぞれ、C_{max} と最高血中濃度到達時間と AUC と血中濃度の経時的変化について検討を加えた。なお、血漿 ACTH、血清 S, DOC の血中濃度の経時的変化を表わす近似式は、回帰二次曲線が最良のモデル式であることが AIC によって確かめられた為、血中濃度の経時的変化の分析は回帰二次曲線を用いた (AIC: 第一編参照)。⁶⁾

Table 3. Statistical analysis of the various methods in the three different age-groups.

Cortisol	N	Cmin ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	Tmin (hrs.)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{dl}^{-1}$)	Suppressive Time (hrs.)
15 Y/O	6	1.14 $\pm$ 0.57	1.40 $\pm$ 0.46	82.90 $\pm$ 17.06	12.50 $\pm$ 2.15
30mg/kg·P.O.	7	0.83 $\pm$ 0.47	2.83 $\pm$ 1.33	77.51 $\pm$ 22.31	10.20 $\pm$ 1.72
10 Y/O	6	1.41 $\pm$ 1.24	2.14 $\pm$ 0.61	87.74 $\pm$ 24.74	9.53 $\pm$ 0.87
30mg/kg·P.R.	7	1.43 $\pm$ 0.99	1.96 $\pm$ 1.39	110.39 $\pm$ 25.94	8.23 $\pm$ 1.14
5 Y/O	5	1.67 $\pm$ 1.75	2.01 $\pm$ 1.40	80.15 $\pm$ 14.35	10.60 $\pm$ 0.28
30mg/kg·P.O.	5	1.28 $\pm$ 0.55	1.81 $\pm$ 0.45	125.43 $\pm$ 32.32	9.05 $\pm$ 1.55
30mg/kg·P.R.	5	2.54 $\pm$ 1.50	2.60 $\pm$ 0.89	138.40 $\pm$ 32.36	7.17 $\pm$ 1.53
30mg/kg·P.R.	5	2.89 $\pm$ 1.60	2.01 $\pm$ 0.63	153.67 $\pm$ 33.40	6.28 $\pm$ 0.81
6M-3Y/O	9	2.26 $\pm$ 1.41	2.28 $\pm$ 0.95	151.85 $\pm$ 54.40	7.81 $\pm$ 2.03
30mg/kg·P.R.	9	2.57 $\pm$ 1.20	1.88 $\pm$ 0.33	180.19 $\pm$ 40.54	6.22 $\pm$ 1.19

★: $P < 0.05$, ★★: $P < 0.01$, S.D.: significant difference estimated by Akaike's Information Criterion (AIC).
 N.D.: no difference, P.O.: oral administration, P.R.: rectal administration, Cmin: minimum concentration.
 Tmin: times required for Cmin, AUC: area under serum concentration versus time curve.
 Suppressive time: times required for recovery to diurnal F levels (M $\pm$ 1SD) in normal controls.

Table 4. Statistical analysis of the various methods in the three different age-groups.

Corticosterone	N	Cmin (ng/ml)	Tmin (hrs.)	AUC (ng·hr·ml $^{-1}$)	Suppressive Time(hrs.)
15 Y/O	6	0.66 $\pm$ 0.33	2.33 $\pm$ 0.86	25.62 $\pm$ 8.92	7.92 $\pm$ 0.29
30mg/kg·P.O.	7	0.62 $\pm$ 0.23	2.33 $\pm$ 0.82	48.33 $\pm$ 14.11	1.07 $\pm$ 2.61
10 Y/O	6	0.49 $\pm$ 0.25	2.01 $\pm$ 0.32	51.88 $\pm$ 13.50	2.11 $\pm$ 3.61
30mg/kg·P.R.	7	0.67 $\pm$ 0.15	2.33 $\pm$ 0.82	64.26 $\pm$ 22.91	1.83 $\pm$ 3.13
5 Y/O	5	0.44 $\pm$ 0.40	2.06 $\pm$ 0.38	28.78 $\pm$ 15.87	8.15 $\pm$ 0.78
30mg/kg·P.O.	5	0.34 $\pm$ 0.25	2.10 $\pm$ 0.31	27.12 $\pm$ 9.06	4.16 $\pm$ 3.17
30mg/kg·P.R.	5	0.38 $\pm$ 0.28	2.40 $\pm$ 0.89	70.61 $\pm$ 32.39	3.12 $\pm$ 2.80
30mg/kg·P.R.	5	0.43 $\pm$ 0.17	2.12 $\pm$ 0.92	79.17 $\pm$ 17.72	0.28 $\pm$ 0.69
6M-3Y/O	9	0.91 $\pm$ 0.76	2.21 $\pm$ 0.52	57.77 $\pm$ 22.73	1.49 $\pm$ 3.01
30mg/kg·P.R.	9	0.63 $\pm$ 0.38	1.77 $\pm$ 0.44	96.78 $\pm$ 22.03	0 $\pm$ 0

★: $P < 0.05$, ★★: $P < 0.01$, S.D.: significant difference estimated by Akaike's Information Criterion (AIC).
 N.D.: no difference, P.O.: oral administration, P.R.: rectal administration, Cmin: minimum concentration.
 Tmin: times required for Cmin, AUC: area under serum concentration versus time curve.
 Suppressive time: times required for recovery to diurnal B levels (M $\pm$ 1SD) in normal controls.

Table 5. Statistical analysis of the various methods in the three different age-groups.

ACTH	N	Cmax (pg/ml)	Tmax (hrs)	AUC (pg·hr·ml ⁻¹ × 10 ³)	Regression curve
10 - 15 Y/O	50mg/kg·P.O.	6 611.71±202.86	8.43±2.02	6.11±1.59	-41.02+157.56X-8.88X ²
	30mg/kg·P.O.	7 438.83±117.85	6.60±2.61	3.81±0.85	-67.80+94.25X-5.16X ²
	50mg/kg·P.R.	6 558.42±88.79	6.33±1.51	3.24±0.56	-56.90+72.21X-3.67X ²
	30mg/kg·P.R.	7 221.57±101.77	6.33±1.03	2.04±0.80	-26.56+56.06X-3.45X ²
5 - 10 Y/O	50mg/kg·P.O.	5 498.80±98.11	8.20±2.32	5.01±2.13	-23.56+85.87X-4.07X ²
	30mg/kg·P.O.	5 374.80±69.80	7.75±0.50	2.57±0.90	-33.87+64.30X-3.66X ²
	50mg/kg·P.R.	5 337.62±45.53	7.75±1.50	2.61±0.35	-34.24+58.23X-3.10X ²
	30mg/kg·P.R.	5 228.50±59.18	6.25±2.36	2.07±0.63	-18.15+49.72X-2.80X ²
NM - 3Y/O	50mg/kg·P.R.	9 345.28±85.90	7.00±2.65	2.83±0.57	-31.16+59.70X-3.13X ²
	30mg/kg·P.R.	9 151.11±71.35	7.42±2.76	1.25±0.46	-31.66+59.32X-2.33X ²

★: P<0.05, ★★: P<0.01, S.D.: significant difference estimated by Akaike's Information Criterion (AIC).
 N.D.: no difference, P.O.: oral administration, P.R.: rectal administration, Cmax: maximum concentration,
 Tmax: times required for Cmax, AUC: area under serum concentration versus time curve.

Table 6. Statistical analysis of the various methods in the three different age-groups.

11-deoxycortisol	N	Cmax (μg/dl)	Tmax (hrs.)	AUC (μg·hr·dl ⁻¹)	Regression curve
10 - 15 Y/O	50mg/kg·P.O.	6 17.36±3.65	8.50±2.35	165.53±28.52	-0.930+3.177X-0.159X ²
	30mg/kg·P.O.	7 13.42±2.89	9.00±1.67	128.32±19.60	-2.282+2.887X-0.153X ²
	50mg/kg·P.R.	6 11.46±2.18	8.57±2.22	114.15±20.88	-1.254+2.350X-0.127X ²
	30mg/kg·P.R.	7 9.54±2.41	7.00±1.50	74.88±21.61	-0.419+1.984X-0.122X ²
5 - 10 Y/O	50mg/kg·P.O.	5 15.20±3.68	8.20±1.90	156.87±24.70	-1.617+3.635X-0.207X ²
	30mg/kg·P.O.	5 14.20±2.17	7.40±0.89	120.70±10.72	-1.950+2.955X-0.150X ²
	50mg/kg·P.R.	5 10.05±3.51	7.20±1.30	97.33±25.18	-2.451+2.451X-0.126X ²
	30mg/kg·P.R.	5 9.90±2.68	5.25±1.40	78.71±21.23	-1.065+2.226X-0.187X ²
NM - 3Y/O	50mg/kg·P.R.	9 12.16±4.24	6.33±2.87	106.88±27.54	-0.909+2.191X-0.125X ²
	30mg/kg·P.R.	9 7.94±3.23	4.88±1.76	45.13±23.76	-0.501+1.813X-0.100X ²

★: P<0.05, ★★: P<0.01, S.D.: significant difference estimated by Akaike's Information Criterion (AIC).
 N.D.: no difference, P.O.: oral administration, P.R.: rectal administration, Cmax: maximum concentration,
 Tmax: times required for Cmax, AUC: area under serum concentration versus time curve.

Table 7. Statistical analysis of the various methods in the three different age-groups.

deoxy-corticosterone	N	Cmax (ng/ml)	Tmax (hrs.)	AUC (ng·hr·ml ⁻¹)	Regression curve
15 Y/O	6	45.13±8.54	7.33±3.01	378.47±125.68	1.917+6.317X-0.349X ²
30mg/kg·P.O.	7	31.88±9.10	8.66±3.01	287.02±86.25	-1.352+6.809X-0.403X ²
10 Y/O	6	18.47±9.80	10.28±3.90	148.42±68.59	-1.682+3.151X-0.167X ²
30mg/kg·P.R.	7	14.66±5.25	8.21±2.31	120.47±58.16	-1.502+2.918X-0.163X ²
5 Y/O	5	42.91±3.68	8.00±2.20	365.12±88.67	1.861+9.423X-0.522X ²
30mg/kg·P.O.	5	33.30±16.65	8.02±3.21	250.90±132.41	0.816+5.909X-0.383X ²
50mg/kg·P.R.	5	19.16±14.22	8.80±1.78	158.66±85.94	-3.682+5.367X-0.308X ²
30mg/kg·P.R.	5	12.69±7.45	7.02±1.21	91.83±47.68	-3.252+1.484X-0.106X ²
3 Y/O	9	40.53±12.94	6.57±3.41	276.42±124.20	1.517+5.291X-0.329X ²
30mg/kg·P.R.	9	11.92±10.56	6.66±2.00	87.80±56.37	0.940+1.665X-0.163X ²

★: $P < 0.05$, ★★: $P < 0.01$, S.D.: significant difference estimated by Akaike's Information Criterion (AIC).
N.D.: no difference, P.O.: oral administration, P.R.: rectal administration, Cmax: maximum concentration,
Tmax: times required for Cmax, AUC: area under serum concentration versus time curve.

Table 8. Data on the cases showing a poor response to administration of metyrapone.

ACTH (pg/ml)	Total M (μg/ml)	S (μg/dl)	DOC (ng/ml)	Method of administration	Age
90	0.39	1.8	3.9	30mg/kg P.R.	3 Y/O
104	1.66	0.8	4.1	30mg/kg P.R.	2 Y/O
30	1.09	2.7	1.1	50mg/kg P.R.	1 Y/O
60	1.40	2.3	5.6	30mg/kg P.R.	9 Y/O
60	1.28	6.6	4.7	30mg/kg P.R.	13 Y/O
69±29	1.16±0.48	2.9±2.2	3.9±1.7		

★★: $p < 0.01$ vs. normal response-group.
P.R.: rectal administration.

血漿 ACTH は, 30mg/kg 深夜一回坐薬投与法の AUC と経時的変化に年齢による差異 ($p < 0.05$, by AIC) が認められた。血清 S は 30mg/kg 深夜一回坐薬投与法の経時的変化に年齢差が認められた。血清 DOC の C max は, 50mg/kg 深夜一回坐薬投与法に年齢差 ($p < 0.01 \sim 0.05$) が認められ, 又, 血中 DOC 濃度の経時的変化は 30mg/kg, 50mg/kg 深夜一回坐薬投与法に年齢差を示した (by AIC)。

血中 total M 濃度の低い 30mg/kg 深夜一回坐薬投与法は年齢差を最も鋭敏に反映する方法であった。

II) metyrapone 試験にて false negative を示した症例の分析

metyrapone 投与後の血漿 ACTH 最高血中濃度が正常対照群 ($n=86$) の ACTH の日内変動値の最高値 ($59.72 \pm 32.28 \text{ pg/ml}$: $M \pm SD$; $n=86$) の $M+3SD$ (156.34 pg/ml) 以下であった症例の各測定値を Table 8 に示した。血清 total M の C max は $1.16 \pm 0.48 \mu\text{g/ml}$: $M \pm SD$; $n=5$, ($0.39 \sim 1.66 \mu\text{g/ml}$) の範囲であり, Table 2 に示した 30mg/kg 深夜一回坐薬投与の年長児群, 中間年齢

群以外の群のC maxに較べ有意 ($p < 0.01 \sim 0.05$) に低値であった。一方、第一編において報告の血清F濃度を $5 \mu\text{g/dl}$ 以下に抑制する血中total M濃度 $2.5 \mu\text{g/ml}$ 以上の例はもちろん、 $1.7 \mu\text{g/ml}$ 以上の例において、血漿ACTH値は総て 156.34 pg/ml 以上の値を示した。false negative例を投与別にすると、 30 mg/kg 深夜一回坐薬投与群が4例/21例 (19.0%)、 50 mg/kg 深夜一回坐薬投与群が、1例/20例 (5.0%)、経口投与群には一例も認められなかった。以上、血漿ACTH値が、血中total M濃度に大きく左右されることが示された。

III) prednisolone 長期投与例のH-P-A系回復について (Fig. 3)

prednisolone (以下PSLと略す) 投与例 ($n=20$) の血清total M濃度は、十分な濃度が得られており又、頂値、半減期共に健常者群と比べ有意の差は認めず、健常者群と同様に扱えることを確認した。metyrapone投与後の血漿ACTH値は、全例において測定感度以下であったが、血清Sは、健常者深夜基礎値に近い値 ($0.29 \pm 0.24 \mu\text{g/dl}$: $M \pm SD$; $n=10$) を示した症例と軽度ではあるが濃度上昇 ($4.17 \pm 0.76 \mu\text{g/dl}$: $M \pm SD$; $n=10$) を示した症例とに分けられた。濃度上昇を示さなかった症例は、PSL長期 (2ヶ月以上) 投与漸減中止後2週間以内の症例であり、血中Sの上昇を軽度ながら認めた症例は全例PSL投与中止後1~2ヶ月の例であった。この事より、長期PSL投与例の場合、下垂体ACTH分泌は投与中止後1ヶ月以上において、副腎皮質ステロイドホルモン産生を刺激する程度の量まで回復がなされることが分かった。

Fig. 3. Serum cortisol (F) and 11-deoxycortisol (S) in patients treated with prednisolone (2mg/kg) after rectal administration of metyrapone (50mg/kg).

IV) ACTH 分泌不全群の分析

Fig. 4 の下段に、血清F, B, S, DOC濃度の経時的変化を示し、又、加えて11- β -hydroxylation抑制指標 ($\frac{S}{S+F} \times 10^2$), ($\frac{DOC}{DOC+B} \times 10^2$) の経時的変化を上段に示した。なお、血中total M濃度が $2.5 \mu\text{g/ml}$ 以上の十分高い濃度であることを確かめた上で以下の検討を加えた。

血清SのC maxは $1.21 \pm 0.48 \mu\text{g/dl}$: $M \pm SD$; $n=12$ であり、血清DOCのC maxは $3.27 \pm 0.34 \text{ ng/ml}$: $M \pm SD$; $n=12$ であった。一方、血清F値は $0.15 \pm 0.08 \mu\text{g/dl}$: $M \pm SD$; $n=12$ と低値を維持していた。他方、血清B値は、前値 $0.59 \pm 0.15 \text{ ng/ml}$: $M \pm SD$; $n=12$ より metyrapone 投与8時間後に $0.94 \pm 0.55 \text{ ng/ml}$: $M \pm SD$; $n=12$ と有意ではないが軽度上昇が認められた。又、血漿ACTHは 25 pg/ml 以下の測定感度以下であった。頂値でみる限り、血清S及びDOC値は健常者の深夜S基礎値 ($0.08 \pm 0.08 \mu\text{g/dl}$: $M \pm SD$; $n=86$), DOCの深夜基礎値 ($0.08 \pm 0.08 \text{ ng/ml}$: $M \pm SD$;

n=86)を大きく上回っており、明らかな上昇を示していた。その上、健常者における ACTH 負荷試験 ($1-24$ ACTH $0.5\text{mg}/\text{m}^2$ iv; n=16) での血中 S の頂値 ($0.65 \pm 0.19 \mu\text{g}/\text{dl}$ M $\pm$ SD; n=16) 及び血中 DOC の頂値 ($1.42 \pm 1.03\text{ng}/\text{ml}$ M $\pm$ SD; n=16) と比べても明らかに高濃度 ($p < 0.01$) であった。

11- β -hydroxylation 抑制指標でみると、11- β -hydroxylation の total M に対する感受性は、健常群と同じく mineralocorticoid 系が鋭敏であり、長期間の ACTH 分泌不全状態においても、total M に対する反応性に変化のないことが示された。

The suppressive effects on the 11- β -hydroxylation in the glucocorticoid and mineralocorticoid pathways ($\frac{S}{S+F} \times 10^2$, $\frac{DOC}{DOC+B} \times 10^2$) in pituitary dwarfism with ACTH deficiency after rectal administration of metyrapone ($50\text{mg}/\text{kg}$).

Fig. 4. Serum cortisol (F), 11-deoxycortisol (S), corticosterone (B), and 11-deoxycorticosterone (DOC) concentrations in pituitary dwarfism with ACTH deficiency after rectal administration of metyrapone ($50\text{mg}/\text{kg}$).

IV 考 按

今回、metyrapone 坐薬¹⁰⁾とcapselを用いて、生後6ヶ月から15才までの小児にmetyrapone試験を施行した結果、11- β -hydroxylase inhibitorのH-P-A系への作用に年令差が認められた為、年令差を中心に検討を加えた。

1) 下垂体 ACTH 分泌に関する諸因子について

血漿 ACTH の AUC は血清 F の抑制時間の長さと良く相関しており、又、年令の高い程 F 抑制時間当りの ACTH の AUC は大きかった (by AIC)。

この事は、negative feedback 機構を中心とする H-P-A 系の変化が小児期において生ずることを示唆するものである。一方、negative feedback 機構に関し、Dexamethasone 試験では年令による抑制差は認められず、同じであった¹¹⁾との報告がある。以上の事を考慮すると、H-P-A 系の下垂体 ACTH の分泌促進と抑制機構の成熟度に差があり、小児期では、分泌促進機構は未熟であると思われる。

血清 total M 濃度の AUC と血漿 ACTH の AUC との間には正の相関 ($p < 0.01 \sim 0.05$) が total M (AUC) の 0 から $40 \mu\text{g} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$ の範囲において認められた。この高い相関は metyrapone のヒト脳サイトゾールの glucocorticoid 受容体への glucocorticoid の結合阻害作用^{10, 23)}が臨床結果として表われたとも考え得るものであり、metyrapone 投与後の下垂体 ACTH 分泌は単なる血中 F 濃度低下のみによって説明するのではなく、metyrapone の下垂体 ACTH 分泌直接作用^{17, 24)}や glucocorticoid 受容体結合阻害作用などの要因による作用機転をも十分考慮の上での評価が必要と思われた。

2) total M の 11- β -hydroxylase 活性への影響

血清 total M 濃度と 11- β -hydroxylase 抑制指標との間には、concentration-response の関係が認められた。glucocorticoid 系、mineralocorticoid 系共に、血清 total M 濃度と 11- β -hydroxylation 抑制度とは高い相関 ($p < 0.01$) が認められ、血清 total M の AUC と $\frac{S}{S+F} \times 10^2$ の AUC との間にも同じく高い相関 ($p < 0.01 \sim 0.05$) が認められた。この事は、11- β -hydroxylase の活性の変化は、血中 total M 濃度をよく反映しており、血中 total M 濃度から 11- β -hydroxylase の活性状態をも推測出来ることをも示している。total M でみた 11- β -hydroxylation 抑制は、glucocorticoid 系では年令の高い群ほど高い抑制度を示していた。F の半減期 (70~90 分¹⁰⁾, 114 分¹³⁾, 76~131 分⁸⁾, 80 分)²⁶⁾ と S の半減期 (71 ± 20 分)¹⁴⁾ の間に大きな差はなく、F の metabolic clearance は 1 才以上では成人に比べ有意の差が認められない事より¹⁾, metyrapone 投与後の $\frac{S}{S+F} \times 10^2$ の年令による差は、11- β -hydroxylase の total M に対する反応の年令差を反映していると考えられた。

mineralocorticoid 系では、glucocorticoid 系とは逆に、年令の低い群ほど強い抑制を示した。B の半減期は 76.2 ± 18.0 分¹⁵⁾ で DOC の半減期 (70 分)¹⁹⁾ と略々近似しており、代謝による 11- β -hydroxylation 抑制指数 $\left(\frac{\text{DOC}}{\text{DOC} + \text{B}} \times 10^2 \right)$ への影響は無視出来るものと考えられた。

近年、11- β -hydroxylase が heterogeneity を有するとの知見が 11- β -hydroxylase deficiency の症例を中心に認められている。Levine ら⁹⁾ は 11- β -hydroxylase が球状層と束状層の二層に存在し、別別に機能していると報告しており、Sizonenko ら²¹⁾ によっても同様の事を示唆する可能性のある症例が報告されている。又、11- β -hydroxylase は unique enzyme で二つの異なる receptor を持つ²⁷⁾との報告や、二つの 11- β -hydroxylation pathway の存在を示唆する報告が low renin essential hypertension の症例³⁾, 11- β -hydroxylase deficiency の小児例²⁷⁾, 成人例⁵⁾等に散見される。これらの考え方は、本成績結果と良く相応するものであり、本成績は、11- β -hydroxylase の heterogeneity が一般健常小児にも認められることを示唆しており、注目すべき結果と思われる。

3) ACTH 分泌不全患者での副腎皮質ステロイド分泌に関して

先天性 ACTH 分泌不全群では、metyrapone 投与にも拘らず血漿 ACTH 分泌が日内変動基礎値同様に認められなかったが、血清 S 値及び血清 DOC 値の上昇が認められた。この事は、ACTH 分

泌不全症でも、副腎ステロイドホルモンの分泌は起きている事を示しており、多少なりとも ACTH の分泌が存在していると考えられた。

この様に H-P-A 系の予備能は存在しており、ACTH 分泌不全に更に 11- β -hydroxylase への抑制が加わった様な特別な事態では、わずかではあるが、確実な S 及び DOC の上昇で示される副腎皮質ステロイド分泌予備能があり、生命維持にも何らかの役割をはたしている可能性も考えられる。いずれにしろ、血漿 ACTH では表わしきれない H-P-A 系の動きを、血清 S、DOC で示し得たことより、metyrapone 試験における血清 S、DOC の占める役割は、大きいと思われる。

4) H-P-A 系の PSL 抑制からの回復

PSL 長期投与群の血清 S 濃度上昇は、PSL 投与中止後 2 週間以内の群と 1~2 ヶ月の群とで比べると、1~2 ヶ月の群のみに軽度反応が認められた。このことは、PSL 長期大量投与後の H-P-A 系の回復には 2 週間以内では不十分であることを示しており、又、反応を認めた群においても正常対照群の反応値までの回復を示しておらず、H-P-A 系での完全回復にはなお多くの月日を要する事が考えられた。

これら PSL 長期投与群の血漿 ACTH 日内変化は、全例において測定感度以下の 25pg/ml 以下であり、又、metyrapone 投与による血漿 ACTH の濃度の上昇は、PSL 投与中止 2 週間以内の群、1~2 ヶ月の群共に同様に認められなかった。この様に、血漿 ACTH 値によって、H-P-A 系の回復を比較することは不可能であったが、血清 S 値は、それぞれの PSL 投与中止群において、異なった値を示しており、両群の H-P-A 系回復の差とは言えないまでも、H-P-A 系の反応の差を示した。この場合も、血漿 ACTH では表わせない H-P-A 系の回復を血中 S が示し得たと考えられる。

臨床面での H-P-A 系の回復の指標として、血漿 ACTH を用いるか、血中 S を用いるかの問題があるが、stress の程度やその他の生活環境の要因との関わりにおいて、今後、なお検討が必要と思われる。

5) Single metyrapone 試験について

坐薬投与群の血中 total M の C max、AUC は、metyrapone の体重当りの投与量が等しい時は、年令に関わらず略々等しい値を示しており、坐薬投与法は同一血中 total M 濃度条件を得る方法と言える。一方、経口投与群の血中 total M の C max、AUC は年長児ほど高濃度となり、年令による影響がで、年令差の検討に際しては血中 total M 濃度の測定が必要といえる。metyrapone 試験の判定の為の採血は、午前 8 時前後で血漿 ACTH、血清 S、DOC の頂値が認められることより、午前 8 時が最適な時間と思われる。

次に、時に遭遇する false negative の例について検討を加えたところ、全ての例で、血中 total M 濃度が十分な濃度に達していない為と判明した。臨床における場合、消化管障害、代謝異常などを伴った患者を扱う機会も多く、生体内での metyrapone の薬物動態を予想する事は困難と思われる、故に、metyrapone 試験の評価に際しては、血中 total M 濃度のチェックを行うことは有用であり、特に正確な判定が要求される場合や、false negative が疑われる場合には欠くことが出来ないと考えられる。

metyrapone 投与後の血中 S、血中 DOC は、血中 ACTH を反映し、共に ACTH 分泌状態を知る良い指標であった。しかし、血漿 ACTH に対する血清 S、DOC の濃度比は年令により異なり、評価の際には年令を考慮に入れる必要があり、S は年令の高いほど高反応となり、DOC は年令の低いほど濃度増加が著しく、このような S と DOC の反応傾向も評価の際には考慮する必要があると考えられる。

DOCがACTHのみを反映しているかという点、mineralocorticoid系でのステロイドホルモン産生には、レニン-アンギオテンシン系が大きな役割をしており、これを無視しての評価は危険であるが、BとDOCはAldと異なりレニン-アンギオテンシン系支配よりもACTHによる分泌調節支配が強く²⁾ ACTHの動きを十分表わし得ると考えられる。本成績における metyrapone 投与後の plasma renin activity (以下 PRA と略す) は深夜基礎値 $0.85 \sim 0.62 \text{ ng/ml/hr}$ ($n=30$) より午前8時に $1.65 \sim 1.43 \text{ ng/ml/hr}$ ($n=30$) と日内変動を示し、従来の報告の日内変動値⁷⁾ と略々同じ結果であった。又、電解質 K, Na, Cl の metyrapone 投与後の日内変動も正常対照群との間に有意の変化は認められず、高血圧なども認められなかった。以上、 $11\text{-}\beta\text{-hydroxylase}$ 抑制下では、mineralocorticoid 系の DOC, B に対するレニン-アンギオテンシン及び血中 K, Na 濃度の影響はほとんどないものと考えられた。

次に、metyrapone 50 mg/kg 深夜一回坐薬投与法における血中 S, DOC 値について検討を行った。

前述の ACTH 分泌不全群、PSL 長期投与群で軽度の反応を示した群、正常対照群の血清 S, DOC の最大血中濃度の $\text{mean} \pm 1 \sim 3 \text{ SD}$ をもってそれぞれの群の反応領域とすると、ACTH 分泌不全群は S が $0 \sim 2.65 \mu\text{g/dl}$ ($\text{mean} \pm 3 \text{ SD}$)、DOC が $0 \sim 3.62 \text{ ng/ml}$ ($\text{mean} \pm 1 \text{ SD}$)、PSL 長期投与軽度反応群は S が $2.65 \sim 5.65 \mu\text{g/dl}$ ($\text{mean} \pm 2 \text{ SD}$)、DOC が $3.62 \sim 4.08 \text{ ng/ml}$ ($\text{mean} \pm 1 \text{ SD}$)、正常対照群は S が $6.31 \sim 18.40 \mu\text{g/dl}$ ($\text{mean} \pm 1 \text{ SD}$)、DOC が $7.18 \sim 37.18 \text{ ng/ml}$ ($\text{mean} \pm 1 \text{ SD}$) であった。PSL 長期投与軽度反応群と正常対照群との間を subnormal response とすれば、S が $5.66 \sim 6.30 \mu\text{g/dl}$ で、DOC が $4.09 \sim 7.17 \text{ ng/ml}$ であった。正常域 cut-off point は S が $6.30 \mu\text{g/dl}$ 、DOC が 7.17 ng/ml であった。

判定に際し、血清 total M が $2.5 \mu\text{g/ml}$ 以上であることを前提とした場合、false negative の判定を受けた例は一例もなかった。

V 結 語

以上、 $11\text{-}\beta\text{-hydroxylase}$ を中心として、H-P-A 系機構について glucocorticoid 系と mineralocorticoid 系とについて検討し以上の結果を得た。

1) cortisol-suppression time の ACTH 分泌に及ぼす影響を調べた結果、小児期では加齢に伴って、ACTH 分泌増加が認められ、H-P-A 系の加齢による maturation が示唆された。

2) total M の $11\text{-}\beta\text{-hydroxylase}$ 抑制は、血中 total M 濃度 $0 \sim 35.0 \mu\text{g/ml}$ の領域において、年令差があり、glucocorticoid 系では年令が高いほど抑制が強く、逆に mineralocorticoid 系では、年令の低いほど抑制が強い、即ち、 $11\text{-}\beta\text{-hydroxylase}$ に加齢変化があり、glucocorticoid 系と mineralocorticoid 系の $11\text{-}\beta\text{-hydroxylase}$ に heterogeneity が存在する可能性が示唆された。

3) prednisolone (0.5 mg 以上/ kg/日) を 2 ヶ月間以上投与後の H-P-A 系の回復には、部分回復でも 1 ヶ月以上を要する事が示された。

4) 先天性 ACTH 分泌不全群例で、 $11\text{-}\beta\text{-hydroxylase}$ 抑制を行った結果、S 及び DOC の有意 ($p < 0.05$) の上昇が認められ、他方、血中 ACTH 濃度は測定感度以下であった。このことは、H-P-A 系に正常とは異なった内分泌学的平衡が成立している可能性が示唆された。

5) metyrapone 試験の false negative の ACTH 分泌不全例の分析の結果、血清 total M の頂値が $0.39 \sim 1.66$ (1.16 ± 0.48) $\mu\text{g/ml}$; $n=5$ と低値であった。このことより、臨床上 ACTH 分泌試験の為には、血中 total M 濃度は $1.7 \mu\text{g/ml}$ 以上である事が必要であることが示唆された。

6) metyrapone 深夜一回坐薬投与法において、血中 S や DOC 濃度の上昇は ACTH 分泌の良き指標であり、特に、血清 DOC 値に鋭敏な反応が示された。

7) metyrapone 50mg/kg 深夜一回坐薬投与法の正常域の cut-off point は、血清 S 値が $6.30\mu\text{g/dl}$ 、血清 DOC 値が 7.17ng/ml であった。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜った恩師小佐野満教授並びに市橋保雄教授、山梨医科大学小児科加藤精彦教授に心から深謝致します。また、終始直接御指導、御助言をいただいた山梨医科大学小児科野崎豊博士に深謝致します。又、御協力、御援助戴きました研究室の諸先生に感謝致します。猶、本論文の要旨は、第53回日本内分泌学会総会、第30回アメリカ質量分析学会総会、第84回日本小児科学会総会、第5回医用マス研究会、第14回小児内分泌学研究会に於て発表した。

文 献

- 1) Bongiovanni, A.M., Eberlein, W.R., Westphal, M. and Boggs, T.: Prolonged turnover rate of hydrocortisone in the newborn infant, *J. Clin. Endocrinology*, 18: 1127—1130, 1958.
- 2) 福地総逸: ミネラコルチコイド, ホと臨床, 80夏季増刊号: 250—260, 1980.
- 3) Ganguly, A., Meikle, A.W. and West, C.D.: Selective 11- β -hydroxylase deficiency of corticosterone (B) and/or aldosterone pathway in essential hypertension, *The Endocrine Society Program and Abstract*, 55th Annual Meeting, 556: 335, 1976.
- 4) Gibaldi, M. and Perrier, D.: *Drugs and the pharmaceutical sciences*, vol. 1, MARCEL DEKKER, INC., New York, 1975, 293—296.
- 5) Gregory, T. and Gardner, L.: Hypertensive virilizing adrenal hyperplasia with minimal impairment of synthetic route to cortisol, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43: 769—774, 1976.
- 6) 市村一義: 11- β -hydroxylase inhibitor を用いた小児の間脳一下垂体—副腎皮質系ホルモン調整機構に関する研究, 日内分泌会誌, 59: 715—737, 1983.
- 7) Katz, F.H.: Episodic secretion of aldosterone in supine man: relationship to cortisol, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 35: 178—181, 1972.
- 8) Kohlberg, I.J. and Doret, A.M.: Assessment of the pituitary adrenal axis in children by a single dose metyrapone test, *Helv. Pediat. Acta*, 27: 432—447, 1972.
- 9) Levine, L.S., Rauh, W., Gottesdiener, K., Chow, F., Cunczler, P., Rapaport, R., Pang, S., Schneider, B. and New M.I.: New studies of the 11- β -hydroxylase and 18-hydroxylase enzymes in the hypertensive form of congenital adrenal hyperplasia, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 50: 258—263, 1980.
- 10) Migeon, C.J., Sandberg, A.A., Decker, H.A., Smith, D.F., Paul, A.C. and Samuels, L.T.: Metabolism of 4- C^{14} -cortisol in man: body distribution and rates of conjugation, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 16: 1137—1150, 1956.
- 11) 野々田昶: 小児期における間脳一下垂体副腎皮質系の feedback 機構に関する研究, 日内分泌会誌, 53: 235—249, 1977.
- 12) 野田正紀: 小児における 11- β -hydroxylase inhibitor (metyrapone) 負荷試験の改良, 日本小児科学会雑誌, 83: 1663—1672, 1979.
- 13) Plager, J.E., Samuel, L.T., Ballard, A., Tyler, F. and Hecht, H.: The rate of metabolism of cortisol in a normal human males, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 17: 1—7, 1957.
- 14) Plager, J.E., Schmidt, K.G. and Staubitz, W.J.: Plasma levels of corticosterone as a function of the adrenal corticosterone production rate, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 25: 499—505, 1965.

- 15) Peterson, R.F. and Pierce, C.: The metabolism of corticosterone in man. *J. Clin. Invest.*, 39: 741–757, 1959.
- 16) 阪本 登, 坪井誠吉: 脳のグルココルチコイドレセプター, ホと臨床, 27: 843–849, 1979.
- 17) Sawano, S., Saito, T. and Shizume, K.: Simultaneous determination of plasma ACTH and GH levels after an oral metyrapone, *Endocrinol. Japon.*, 19: 477–481, 1972.
- 18) Sayers, G. and Sayers, M.A.: Regulation of pituitary adrenocorticotrophic activity during the response of the rat to acute stress, *Endocrinology*, 40: 265–273, 1947.
- 19) Schambelan, M. and Bigliéri, E.G.: Deoxycorticosterone production and regulation in man, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34: 695–763, 1972.
- 20) Schöneshöfer, M., Läge, M. and Oelker, W.: Short time kinetics of deoxycorticosterone, deoxycortisol, corticosterone cortisol, during single dose metyrapone test, *Acta Endocrinol.*, 85: 109–117, 1977.
- 21) Sizonenko, P.C., Riondel, A.N., Kohlberg, I.J. and Paunier, L.: 11- β -hydroxylase deficiency: steroid response to sodium restriction and ACTH stimulation, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 35: 281–287, 1972.
- 22) Stahl, M., Kapp, J.P., Zachmann, M. and Girard, J.: Effect a single oral dose of metyrapone on secretion of growth hormone and urinary tetrahydro-11-deoxycortisol and tetrahydro-11-deoxycorticosterone excretion in children, *Helv. Paediat. Acta*, 27: 147–153, 1972.
- 23) Stith, R.D., Person, R.J. and Dand. R.C.: Metyrapone inhibition of ^3H -hydrocortisone uptake and binding in various brain regions of the pig, *Neuroendocrinology*, 22: 183–192, 1976.
- 24) Takahara, J., Ogawa, N. and Ofuji, T.: Extra-adrenal action of metyrapone upon human growth hormone secretion in man, *Endocrinol. Japon.*, 19: 197–201, 1972.
- 25) Vermeulen, A., Verdonck, G., Van der Straeten, M. and Daneels, R.: Evaluation of the efficiency of 11 β -hydroxylation of 11-deoxycortisol in human subjects, *J. Clin. Endocr.*, 27: 365–370, 1967.
- 26) Weitzman, E.D., Fukushima, D., Nogeire, C., Roffwarg, H., Gallagher, T.F. and Hellman, L.: Twenty-hours pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects, *J. Clin. Endocrinology*, 33: 14–22, 1971.
- 27) Zachmann, M., Völlmin, J.A., New, M.I., Curtius, H.C. and Prader, A.: Congenital adrenal hyperplasia due to deficiency of 11- β -hydroxylation of 17 α -hydroxylated steroid, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 33: 501–508, 1971.
- (受付日: 57. 12. 6)