副腎皮質疾患及び睾丸機能低下症における 尿中 Δ^5 -Pregnenetriol 及び Pregnanetriol の Gas Chromatography による測定

東京大学医学部泌尿器科学教室 松 本 泰
(指導教官: 高安久雄教授)

GAS CHROMATOGRAPHIC ESTIMATION OF URINARY Δ^5 PREGNENETRIOL AND PREGNANETRIOL IN ADRENOCORTICAL DISEASE AND MALE HYPOGONADISM

Yutaka Matsumoto

Department of Urology, Faculty of Medicine, The University of Tokyo

(Director: Prof. H. Takayasu)

Urinary Δ^5 -pregnenetriol (Δ^5 -pregnene-3 β , 17 α , 20 α -triol) and pregnanetriol (5 β -pregnane-3 α , 17 α , 20 α -triol) were measured by the previously reported gas chromatographic method in the following subjects: 26 normal adults (male 16, female 10), 5 cases with primary aldosteronism, 13 with Cushing's syndrome (bilateral adrenal hyperplasia 5, adrenal adenoma 4, adrenal carcinoma 4), 9 with adrenogenital syndrome (congenital adrenal hyperplasia 7, virilizing adrenal adenoma 2) and 5 cases with male hypogonadism. In normal adults, mean values for urinary excretion of Δ^5 -pregnenetriol and pregnanetriol were 0.15 ± 0.09 (S.D.) mg/day and 0.29 ± 0.17 (S.D.) mg/day, respectively. These two steroids were increased by ACTH. The response of Δ^5 -pregnenetriol to ACTH suggests that there exists a biosynthetic pathway of cortisol which goes through 17 α -hydroxypregnenolone. Our observation that urinary Δ^5 -pregnenetriol and pregnanetriol increased by the administration of human chorionic gonadotropin appears to suggest that these two urinary steroids are of testicular origin.

The two steroids were within normal ranges both in primary aldosteronism and in male hypogonadism. Among patients with adrenogenital syndrome, urinary Δ^5 -pregnenetriol and pregnanetriol were equally high in congenital adrenal hyperplasia and in virilizing adrenal adenoma. However, the urinary excretion of pregnanetriolone (5 β -pregnane-3 α , 17 α , 20 α -triol-11-one) and pregnanetetrol (5 β -pregnane-3 α , 11 β , 17 α , 20 α -tetrol) is characteristically high in congenital adrenal hyperplasia, while these steroids were not detected in virilizing adrenal adenoma. With regard to cases of Cushing's syndrome, urinary Δ^5 -pregnenetriol and pregnanetriol were within normal limits in patients with adrenal hyperplasia or adrenal adenoma. However, it was noteworthy that patients with adrenal adenoma excreted lesser amounts of Δ^5 -pregnenetriol compared to those with adrenal hyperplasia. On the other hand, patients with adrenal carcinoma excreted outstandingly large amounts of Δ^5 -pregnenetriol and pregnanetriol, especially the former. From these data it is concluded that the measurement of Δ^5 -pregnenetriol is advisable in cases of Cushing's syndrome, especially in cases with adrenal tumor and that the steroid is characteristically high in carcinoma to an extent enough to warrant differential diagnosis from adenoma.

緒 言

尿中 Δ^5 -pregnenetriol (Δ^5 -pregnene-3 β , 17 α , 20 α -triol) については, Hirshman ら¹⁾が副腎皮質癌の患者で最初に分離して以来, Fotherby²⁾, Nowaczynski ら³⁾, Gall-

agher ら⁴⁾, Thomas ら⁵⁾, Fehér ら⁶⁾, Cox⁷⁾ が thin layer chromatography, paper chromatography 等の種々の方法で測定している. Rosenfeld ら⁸⁾は gas chromatography によつても測定し得ることを報告しているが, その他に

は gas chromatography によるものは、著者ら⁹⁾の報告以外にはみられないようである。この尿中 Δ^5 -pregnenetriol は副腎皮質癌以外でも、先天性副腎皮質過形成⁷⁾、男性化を伴う副腎腺腫¹⁰⁾で高値を示すことが知られている。さらに Lipsett ら¹¹⁾は睾丸の間質細胞癌腫例で高値を示すと報告しており、Cox ら¹²⁾は Stein-Leventhal 症候群で Δ^5 -pregnenetriol がやや高い値を示すものもあると述べている。

一方尿中 pregnanetriol (5β -pregnane- 3α , 17α , 20α -triol)は、1937年Butlerら¹³⁾が先天性副腎皮質過形成の尿中から初めて分離し、その後 Mason ら¹⁴⁾、Bongiovanni ら¹⁵⁾、Cleaveland ら¹⁶⁾、Kinoshita ら¹⁷⁾は、種々の測定方法で先天性副腎皮質過形成において、pregnanetriol が高値を示すことを報告している。また副腎の癌腫による Cushing 症候群、男性化を示す副腎腺腫などでも、pregnanetriolが高値を示すことがある¹⁰⁾¹⁸⁾。pregnanetriol は正常人においても、尿中への排泄がみられることが知られており¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾、著者らの gas chromatography によっても、正常人尿で十分に測定できた⁹⁾。このpregnanetriol は、先天性副腎皮質過形成において高値をとるように、副腎に由来すると考えられるが、そのみでなく、女子においては性周期の変動に併ない、増減することが知られており²¹⁾²²⁾、男子においても性腺由来の報告がみられ²³⁾²⁴⁾、副腎および性腺よりの pregnanetriol がともに存在すると思われる。

このように、尿中 Δ^5 -pregnenetriolおよび pregnanetriol を測定することは、副腎皮質および性腺の機能異常を知る上で、有用な一手段となり得ると思われるが、これらのステロイド、特に Δ^5 -pregnenetriol については、系統的な分析はまだその報告をみない。

著者は gas chromatography を用いて、正常人に ACTHあるいは HCG(Human Chorionic Gonadotropin)を投与し、尿中 Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol の反応を検討した。さらに副腎皮質疾患および睾丸機能低下症におけるこれらステロイドの変動を追求した。

対象及び方法

対象は、東大病院泌尿器科に入院した患者で、内分泌疾患がなく、肝機能、腎機能ともに正常な成人男女26名(男16名、女10名)、原発性アルドステロン症5名、Cushing 症候群13名(過形成5名、腺腫4名、癌腫4名)、副腎性器症候群9名(先天性副腎皮質過形成7名、男性化を示した副腎腺腫2名)、および睾丸機能低下症5名である。

24時間尿は、当日午前8時より翌日午前8時までのものを用い、暗所に保存し可及的すみやかに測定した。ACTH 試験は、20国際単位の ACTH-Z (Organon) を午前6時に2日間連日筋注した。HCG 試験は、1,000国際単位の HCG (帝国臓器)を3日間連日同様に筋注した。

方法は既に発表した⁹⁾が、大略次の通りである。

加水分解および抽出：24時間尿の一部をとり、pH 4.5 とし、臓器性 β -glucuronidase (300単位/尿1ml)を加え、37°Cに48時間置いた後エーテルで2回抽出する。次いでエーテルを4%苛性ソーダーおよび蒸留水で洗滌し、減圧下で蒸発乾固する。エーテルで抽出後の尿に solvolysis を行なう²⁵⁾²⁶⁾、濃硫酸を加え1規定濃度とし、20% w/v の割で食塩を加えた後、等量の酢酸エチルを重ねよく混和する。37°Cに48時間置いた後、酢酸エチル層を中性になるまで4%苛性ソーダーでよく洗滌し、次いで蒸留水で洗滌後、減圧下で蒸発乾固する。

Alumina column chromatography: alumina は Woelm 社、活性度 grade 1 のものに蒸留水を 6.5%加え、活性を低下させて使用した。神戸川の方法²⁷⁾に従い glucuronide および solvolysis を行なつた各抽出物を一緒に benzene 5 ml に溶解、2 g の alumina に吸着させ、下記の溶剤を加圧せずに順次加え、下記の4つの fraction を溶出する。

Fraction 1	0.5% ethanol in benzene	35ml
Fraction 2	2 % ethanol in benzene	25ml
Fraction 3	2 % ethanol in benzene	25ml
Fraction 4	6 % ethanol in benzene	45ml

なお溶剤のそれぞれの量は、fraction 2 に pregnanediol (5β -pregnane- 3α , 20α -diol) および Δ^5 -pregnenetriol を含み、fraction 4 には pregnanetriol, pregnanetriolone (5β -pregnane- 3α , 17α , 20α -triol-11-one), pregnanetriol(5β -pregnane- 3α , 11β , 17α , 20α -tetrol)が含まれるように、あらかじめ予備実験でその量を定めた。

Gas chromatography: 溶出後の各 fraction を蒸発乾固した後、trimethylsilyl-ether (TMSi-ether) とする。TMSi-ether の作製は²⁸⁾、試料を pyridin 0.2ml に溶かし、hexamethyldisilazane 0.1ml および trimethylchlorosilane 0.1 ml を加え密栓し、10分間振盪後室温に数時間放置する。これを窒素ガス下に乾固し、tetrahydrofuran の適量で溶解、一部を gas chromatograph に注入する。gas chromatograph は水素炎イオン化検出器つき島津製作所製 GC-1B 型を使用、column は 1.5% SE

30を使用した。

試薬は全て特級を用い、tetrahydrofuran およびpyridine は更に再蒸溜を行なつて使用した。

結 果

各種標準ステロイドの cholestane に対する relative retention time は表1に示した通りである。尿中 Δ^5 -pregnenetriol は fraction 2で溶出され、正常人の尿における1例の gas chromatograph を図1に示した(矢印)。また同一正常人尿でのfraction 4に溶出されたpregnanetriol を図2に示した(矢印)。それぞれは標準ステロイドの retention time とよく一致する。またそれぞれの標準ステロイドを加えると、それに対応してピークの増加がみられ同定される。両ステロイドは24時間尿の10分の1を使用した場合に、10 μ g/day まで検出することができる。

表1 各種標準ステロイド-Trimethylsilyl-ether の Cholestane に対する Relative Retention Time

Compounds (TMSi-ethers)	1.5% S E 30	3% X E 60
cholestane	1.00	1.00
11-ketoandrosterone	0.46	2.38
11-ketoetiocholanolone	0.47	2.78
11-hydroxyandrosterone	0.70	1.54
11-hydroxyetiocholanolone	0.71	1.80
5 β -pregnane-3 α ,20 α -diol	0.96	0.91
5 β -pregnane-3 α ,20 β -diol	0.87	0.84
5 β -pregnane-3 α ,17 α ,20 α -triol	1.45	1.88
5 β -pregnane-3 α ,17 α ,20 β -triol	1.29	1.77
5 β -pregnane-3 α ,17 α ,20 α -triol-11-one	1.93	4.24
5 β -pregnane-3 α ,11 β ,17 α ,20 α -tetrol	2.38	2.52
Δ^5 -pregnene-3 β ,17 α ,20 α -triol	1.65	2.31

1.5% S E 30 : 1.5m $\times$ 4 mm i.d. column packed with 1.5% SE 30 on Gaschrom P, mesh 80-100. Column temperature 219C. Carrier gas N₂, inlet pressure 2kg/cm², flow rate 90ml/min. Cholestane time 8.7min.

3% X E 60 : Column temperature 208C. Cholestane time 7.3min. Other conditions are the same as with SE 30.

定量性を検討するために、それぞれの標準ステロイドを1~10 μ g の範囲で gas chromatography を行ない、ピーク面積を取つて行くと、直線性が得られた。

回収率は、正常人尿に標準ステロイド 100 μ g を加えたものと、加えないものとの差で計算した。4検体ずつ検討したが、 Δ^5 -pregnenetriol が72%, 80%, 84%, 88

図1 正常人尿による Fraction 2 の Gas Chromatogram

矢印 : Δ^5 -Pregnenetriol-TMSi-ether

Column, 1.5 % SE 30 on Gaschrom P, mesh 80-100, 1.5m $\times$ 4mm, i.d., temperature 213°C, carrier gas N₂, flow rate 90 ml/min.

%で平均81%, pregnanetriol は88%, 87%, 93%, 87%より平均89%であつた。以下の測定値に対しては回収率による補正は行なっていない。

正常成人の尿中 Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol の測定結果は表2に示した。 Δ^5 -pregnenetriol, pregnanetriol の平均値および標準偏差は、それぞれ0.15 $\pm$ 0.09 mg/day, 0.29 $\pm$ 0.17mg/day であり、範囲は Δ^5 -pregnenetriol が0.04~0.33 mg/day, pregnanetriol が0.05~0.74mg/day であつた。

ACTH投与時の反応は、正常成人6名(男4名, 女2名)を対象に行なつたが(表3, 図3, 4), Δ^5 -pregnenetriolおよび pregnanetriol とともに、増加のみられるものもあるが、反応のみられないものもあり、個々でバラツキがある。しかし、これらの平均値をとつてみると、両ステロイド共増加の傾向がみられ、 Δ^5 -pregnenetriol は10%の危険率で有意の増加がある。

HCG 投与時の反応は、成人男子のみ5名を対象に施

図2 正常人尿による Fraction 4 の Gas Chromatogram
矢印：Pregnanetriol-TMSi-ether

Column, 1.5 % SE 30 on Gaschrom P, mesh 80-100 1.5 m × 4 mm, i.d., temperature 213°C, carrier gas N₂, flow rate 90 ml/min.

図3 ACTH 投与による正常人尿中 Δ^5 -Pregnenetriol の変動 (太線, 平均値)

表2 正常人尿中 Δ^5 -Pregnenetriol 及び Pregnanetriol の一日排泄量 (mg/day)

age	sex	Δ^5 -pregnenetriol	pregnanetriol
16	M	0.04	0.34
20	M	0.12	0.32
21	M	0.27	0.62
23	M	0.08	0.05
24	M	0.15	0.27
26	M	0.05	0.38
27	M	0.21	0.46
29	M	0.16	0.10
33	M	0.28	0.53
33	M	0.26	0.22
34	M	0.08	0.09
40	M	0.13	0.25
60	M	0.14	0.10
62	M	0.11	0.13
62	M	0.25	0.21
76	M	0.13	0.34
18	F	0.05	0.21
24	F	0.17	0.74
28	F	0.33	0.49
33	F	0.23	0.25
33	F	0.14	0.45
35	F	0.08	0.20
37	F	0.10	0.10
43	F	0.25	0.29
46	F	0.09	0.07
49	F	0.04	0.15
mean±S.D.		0.15±0.09	0.29±0.17

行したが(表4, 図5, 6), Δ^5 -pregnenetriol, pregnanetriol ともかなりバラツキがみられる. それぞれの平均値で見ると, 両ステロイドともに増加の傾向が伺われる.

原発性アルドステロン症では, Δ^5 -pregnenetriol でやや高い値を取る例もあるが, その他は Δ^5 -pregnenetriol, pregnanetriol ともに正常範囲に含まれる(表5, 図7, 8).

Cushing 症候群13名の内訳は, 副腎皮質の過形成5名, 腺腫4名, 癌腫4名であるが(表6, 図7, 8), 過形成例では Δ^5 -pregnenetriol, pregnanetriol ともに正常範囲の上限かやや高い値を示した. 腺腫例では, 両ステロイドともに正常範囲に含まれるがやや低い値を示し, Δ^5 -pregnenetriolの平均値および標準偏差は, 0.17 ± 0.11 mg/day であった. 過形成例における Δ^5 -pregnenetriol

表3 ACTH 投与時の正常人尿中 Δ^5 -Pregnenetriol 及び Pregnanetriol の反応 (mg/day)

Age	Sex	Δ^5 -Pregne- netriol	Pregnan- etriol	Treatment
16	M	0.04	0.34	None
		0.33	0.65	ACTH 20IU
		0.44	0.77	ACTH 20IU
21	M	0.27	0.62	None
		0.32	0.25	ACTH 20IU
		0.29	0.72	ACTH 20IU
24	M	0.12	0.27	None
		0.37	0.03	ACTH 20IU
		0.65	0.44	ACTH 20IU
29	M	0.16	0.10	None
		0.42	0.04	ACTH 20IU
		0.60	0.06	ACTH 20IU
35	F	0.08	0.20	None
		0.35	0.51	ACTH 20IU
		0.10	0.30	ACTH 20IU
43	F	0.25	0.29	None
		0.61	0.47	ACTH 20IU
		0.26	0.75	ACTH 20IU
Mean $\pm$ S.D.		0.15 $\pm$ 0.08	0.30 $\pm$ 0.16	None
		0.40 $\pm$ 0.09	0.32 $\pm$ 0.23	ACTH 20IU
		0.39 $\pm$ 0.16	0.50 $\pm$ 0.25	ACTH 20IU

図4 ACTH 投与による正常人尿中 Pregnanetriol の変動 (太線, 平均値)

表4 HCG 投与時の 正常人尿中 Δ^5 -Pregnenetriol 及び Pregnanetriol の反応 (mg/day)

Age	Sex	Δ^5 -Pregne- netriol	Pregnan- etriol	Treatment
20	M	0.12	0.32	None
		0.06	0.58	HCG 1000IU
		0.08	0.42	HCG 1000IU
		0.13	0.08	HCG 1000IU
33	M	0.28	0.53	None
		0.33	0.93	HCG 1000IU
		0.14	1.25	HCG 1000IU
		0.17	1.47	HCG 1000IU
34	M	0.08	0.09	None
		0.13	0.11	HCG 1000IU
		0.14	0.11	HCG 1000IU
		0.16	0.15	HCG 1000IU
34	M	0.26	0.22	None
		0.05	n. d.	HCG 1000IU
		0.49	0.92	HCG 1000IU
		0.68	0.67	HCG 1000IU
40	M	0.13	0.25	None
		0.31	0.44	HCG 1000IU
		0.48	1.04	HCG 1000IU
		0.37	0.59	HCG 1000IU
Mean S.D.		0.17 $\pm$ 0.08	0.28 $\pm$ 0.14	None
		0.17 $\pm$ 0.12	0.41 $\pm$ 0.27	HCG 1000IU
		0.26 $\pm$ 0.18	0.74 $\pm$ 0.41	HCG 1000IU
		0.30 $\pm$ 0.20	0.59 $\pm$ 0.49	HCG 1000IU

n.d.: not detectable at 0.01mg/day

図5 HCG 投与による正常人尿中 Δ^5 -Pregnenetriol の変動 (太線, 平均値)

表5 原発性アルドステロン症における尿中 Δ^5 -Pregnenetriol 及び Pregnenetriol(mg/day)

Age	Sex	Δ^5 -Pregnenetriol	Pregnenetriol
20	M	0.46	0.34
32	M	0.22	0.31
30	F	0.09	0.15
39	F	0.05	0.10
41	F	0.27	0.36

図6 HCG 投与による正常人尿中 Pregnenetriol の変動(太線, 平均値)

の平均値および標準偏差は $0.30 \pm 0.18 \text{ mg/day}$ であり、これと比較すると低い値を示している。癌腫例では、pregnenetriol が1例において正常範囲を示したが、その他は両ステロイド共高値を示した。特に Δ^5 -pregnenetriol は全例が非常な高値であつた。

副腎性器症候群において(表7, 図7, 8), 先天性副腎皮質過形成によるものでは、 Δ^5 -pregnenetriol および pregnenetriol ともに高値を示したが、特に pregnenetriol の高値が著しい。そしてこの際、正常人尿中に検出されない pregnenetriolone および pregnanetriol も pregnanetriol と同時に測定され²⁹⁾、それぞれpregnenetriolone

表6 Cushing 症候群における尿中 Δ^5 -Pregnenetriol 及び Pregnenetriol (mg/day)

Cushing's syndrome	Age	Sex	Δ^5 -Pregnenetriol	Pregnenetriol
adrenal hyperplasia	33	F	0.35	0.58
	41	F	0.49	0.60
	42	F	0.24	0.49
	44	F	0.24	0.42
	56	F	0.16	0.36
adrenal adenoma	2	M	0.36	0.25
	31	F	0.12	0.05
	32	F	0.07	0.49
	54	F	0.14	0.36
adrenal carcinoma	6	F	4.00	0.32
	20	F	2.59	3.63
	23	F	56.2	4.65
	41	F	4.24	3.18

図7 正常人及び各種疾患における尿中 Δ^5 -Pregnenetriol

表7 副腎性器症候群における尿中 Δ^5 -Pregnenetriol, Pregnanetriol, Pregnanetriolone 及び Pregnanetetrol (mg/day)

Adrenogenital syndrome	Age	Sex	Δ^5 -Pregnenetriol	Pregnanetriol	Pregnanetriolone	Pregnanetetrol
congenital adrenal hyperplasia	4	F	0.59	10.5	2.59	0.29
	6	F	1.02	6.84	2.15	0.48
	6	F	2.00	19.5	4.14	0.53
	11	F	1.32	24.9	4.02	0.72
	19	F	3.10	27.3	4.50	0.52
	25	F	4.12	25.4	6.70	1.33
	27	F	1.03	15.4	4.02	1.30
virilizing adrenal adenoma	32	F	0.84	0.47	(—)	(—)
	37	F	4.81	2.58	(—)	(—)

(—) : not detectable at 0.01 mg/day

図8 正常人及び各種疾患における尿中 Pregnanetriol

が2.15~6.70mg/day, pregnanetetrol が0.29~1.33 mg/day と検出された(表7). また副腎腺腫によるものでは, 1例で pregnanetriol が正常上限を示したが, その他は両ステロイド共高値を示した. しかしこの場合には, 先天性副腎皮質過形成でみられた pregnanetriolone, pregnanetetrol は検出されなかつた(表7).

睾丸機能低下症では, Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol ともに正常範囲に含まれるが, 全例, 両ステロイドともにやや低い値を示した(表8, 図7, 8).

表8 睾丸機能低下症における尿中 Δ^5 -Pregnenetriol 及び Pregnanetriol (mg/day)

Age	Sex	Δ^5 -Pregnenetriol	Pregnanetriol
14	M	0.04	0.09
18	M	0.05	0.23
20	M	0.12	0.13
23	M	0.10	0.01
24	M	0.07	0.03

考 按

Cortisol の生合成は(図9), cholesterol から pregnenolone を通り, progesterone あるいは 17α -hydroxypregnenolone を経る経路をとり³⁰⁾³¹⁾, androgen の生合成も(図10), 17α -hydroxypregnenolone から dehydroepiandrosterone を経る経路と, progesterone を経る経路とを通るとされている³²⁾³³⁾. この中間代謝産物である 17α -hydroxypregnenolone は, 代謝されて尿中に Δ^5 -pregnenetriol として排泄される¹⁸⁾. 同様に 17α -hydroxyprogesterone は, pregnanetriol として排泄される³⁴⁾. したがってこれらの中間代謝産物を測定することは, pregnenolone から cortisol への代謝経路に何らかの異常がある場合, 例えば副腎皮質の酵素異常を有する疾患において, あるいは hypercortisolism の場合に, これらのステロイドを測定することは, 病因を把握する点で役立つであろうと思われる. また性腺の機能異常を知る上からも有用であろう.

正常成人における尿中 Δ^5 -pregnenetriol の1日排泄量の平均値および標準偏差は, 0.15 ± 0.09 mg/day であつ

図9 Cortisol の生合成

図10 Androgen の生合成

た。 Δ^5 -pregnenetriol の正常人における尿中1日排泄量については、主に paper chromatography によつて測定しているが、Nowaczynski ら³⁾が 0.29 ± 0.06 mg/day, Wilson ら³⁵⁾が $0.1 \sim 0.4$ mg/day, Fehér ら⁶⁾が男子は $0.01 \sim 0.41$ mg/day (平均 0.17 mg/day), 女子は $0.01 \sim 0.35$ mg/day (平均 0.12 mg/day) であるとしている。また Kirschner ら³⁶⁾は gas chromatography によつて trace ~ 0.4 mg/day と報告している。それぞれ方法は異なっているが、著者の gas chromatography の結果とはば一致している。

21-hydroxylase 障害による先天性副腎皮質過形成において、特に高値を示す pregnanetriol は^{15) 17) 37) 38)}, 正常人においても測定し得ることは諸家の報告にも見られ、column chromatography を用いた Herrmann ら³⁹⁾は、男子が trace ~ 1.7 mg/day, 女子が $1.3 \sim 2.4$ mg/day, Thomas ら⁴⁰⁾は $1.2 \sim 1.7$ mg/day であると報告しており、paper chromatography によつた Cox⁷⁾は $0.4 \sim 0.5$ mg/day, Lipsett ら¹¹⁾は 0.5 mg/day, Fehér ら⁶⁾は男子が $0.02 \sim 0.82$ mg/day (平均 0.39 mg/day), 女子が $0.04 \sim 0.82$ mg/day (平均 0.31 mg/day) であるとしている。また gas chromatography で測定した Rivera ら⁴¹⁾は、男子が $0.17 \sim 1.67$ mg/day (平均 0.90 mg/day), 女子が $0.18 \sim 1.83$ mg/day (平均 1.06 mg/day), Berger ら⁴²⁾は男子が $0.01 \sim 0.27$ mg/day (平均 0.13 mg/day), 女子が $0.01 \sim 0.21$ mg/day (平均 0.10 mg/day) であつたと述べている。著者の gas chromatography による正常人尿中 pregnanetriol の1日排泄量の平均値および標準偏差は、 0.29 ± 0.17 mg/day であり、方法が異なると、それぞれ違った値が報告されている。gas chromatography 法によると、他の測定法よりも値が低く出る傾向がある。この原因としては、発色の問題、他のステロイドの混在の問題等が考えられる。

ACTH投与時の反応をみるために、正常成人6名(男4名, 女2名)を対象として検討したが、尿中 Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol とともに、多少のパラツキがみられるものもあつたが、増加の傾向を示した。ACTHにより pregnanetriol が増加することは、既に報告されているが^{6) 20) 21)}, Δ^5 -pregnenetriol に関しては、Fehér ら⁶⁾の報告をみるのみである。この Δ^5 -pregnenetriol が10%の危険率で有意の増加を示したことは、副腎皮質における cortisol の合成過程で、 17α -hydroxypregnenolone を経る経路も存在するという説を支持するものである⁴³⁾。

HCG 投与による反応は、 Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol とともにパラツキが多かつたが、平均値で見ると、ともに増加の傾向がみられた。pregnanetriol に関しては、性腺由来の報告がみられ^{22) 23) 24)}, Δ^5 -pregnenetriol に関しても、睾丸の間質細胞癌腫例¹¹⁾や Stein-Leventhal 症候群¹²⁾で測定し、性腺由来を思わせる報告があるが、正常人に HCG を投与してその反応をみたものはない。HCG 投与により Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol とともに増加の傾向を示したことは、性腺由来のこれらのステロイドが存在すると推定される。

原発性アルドステロン症においては、aldosterone の生合成が、pregnenolone, progesterone, 11-deoxycorticosterone, corticosterone, aldosterone という経路をとり³³⁾, cortisol や androgen のそれとは異なることから、また aldosterone の分泌は高値である場合でも他のステロイドに比し微量であるため、 Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol の値に変動をもたらさないと思われる。したがつて両ステロイドともに正常範囲を示すことは当然といえよう。

副腎性器症候群においては、pregnanetriol のみならず、 Δ^5 -pregnenetriol も高値を示すことは Cox⁷⁾ も報告しているが、pregnanetriol 程の高値は示していない。副腎皮質における酵素障害に起因する先天性副腎皮質過形成において、中でも最も多い 21-hydroxylase の障害により、pregnanetriol が高値を示すことは早くから知られており^{13) 15) 29) 37) 39) 44) 45)}, これは前駆物質である 17α -hydroxypregesterone が 21-hydroxylase の障害により、大量に蓄積され尿中に pregnanetriol として代謝され、排泄されると考えられている^{13) 37)}。この際に、正常人尿中にはほとんど認められない 21-deoxycortisol の代謝産物である、pregnanetriolone および pregnanetetrol が検出され^{7) 46)}, 著者らの gas chromatography による方法では、pregnanetriol と同じ fraction に含まれ測定された^{9) 47)}。また男性化を示す副腎腺腫においても、 Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol とともに高値を示すことは知られている¹⁰⁾。しかしこの際には、先天性副腎皮質過形成において検出された pregnanetriolone, pregnanetetrol は検出されなかつた。このことは Finkelstein ら⁴⁸⁾も指摘しており、先天性副腎皮質過形成と副腎腺腫との鑑別に非常に役立つ。

Cushing 症候群において、過形成例で Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol とともに正常上限か高値を示し、腺

腫例では両ステロイドともに正常範囲を示したが、 Δ^5 -pregnenetriol はやや低い値を示した。Yamaji ら⁴⁹⁾は、副腎腺腫による Cushing 症候群において、末梢血中の dehydroepiandrosterone sulfate が低値を示し、過形成によるものでは高値であつたという結果を報告している。その前駆物質が Δ^5 -pregnenetriol と同じ 17α -hydroxypregnenolone であるということから、著者の結果とは同じ関係にあると思われる。

癌腫による Cushing 症候群において、 Δ^5 -pregnenetriol が高値を示した例を、Hirschman ら⁴⁾、Wilson ら³⁵⁾、Okada ら⁵⁰⁾、Cox⁷⁾ らは報告しているが、この場合癌腫中における cortisol の生合成過程が、通常の経路を充分に利用していないか、あるいは Δ^5 -pregnenetriol の前駆物質である 17α -hydroxypregnenolone の過剰産生によるためであろうとしている。そしてこれは、 17α -hydroxypregnenolone を経由すると考えられている尿中 dehydroepiandrosteron が高値を示すことからもうなずけることである。また Lipsett ら¹⁸⁾は、癌腫例における Δ^5 - 3β -hydroxysteroid の排泄増加から、 3β -hydroxysteroid dehydrogenase の活性が低下、あるいは欠損しているのではないかと考え、Goldman ら⁵¹⁾は 3β -hydroxysteroid dehydrogenase の比較的欠乏を、組織学的および生化学的に証明している。一方 pregnanetriol のみならず、pregnenediol も癌腫例において高値を示すことが、Lipsett ら¹⁸⁾の報告にもみられる。このように C_{21} -methylsteroid の増加のみみられることは、 21 -hydroxylase の比較的欠乏をも意味していると思われる。その他、 11β -hydroxylase の活性の低下を示していると思われる 3α 、 17α 、 21 -trihydroxypregnane-20-one が高値を示したという報告もあり⁵²⁾、 17α -hydroxylase の比較的欠乏があるという報告もみられる¹⁸⁾。これらのことから考えて、癌腫においてはステロイド生合成に関与する酵素全体の、前駆物質に対する比較的欠乏が考えられる。

今回の結果でも、1例で pregnanetriol が正常範囲を示したが、その他は Δ^5 -pregnenetriol、pregnanetriol とともに高値を示し、特に Δ^5 -pregnenetriol が全例で非常に高値を示した。副腎の癌腫による Cushing 症候群において、尿中 Δ^5 -pregnenetriol が高値を示した場合に、癌腫による可能性が高く、低値を示した場合に、腺腫であるといえよう。

睾丸機能低下症においては、 Δ^5 -pregnenetriol、pregnanetriol とともに正常範囲に含まれるが、両ステロイド共に低い値を示した。睾丸間質におけるステロイド生合成の低

下によるものと思われるが、睾丸機能低下症におけるこれらステロイドの測定報告はほとんどなく、さらに副腎由来のものも存在するため問題が複雑となる。この疾患における副腎機能は現在検討中であり、dexamethasone 投与等により副腎機能を抑制した場合、さらに明らかな結果を得られると思われるが、今後の検討に俟ちたい。

結 語

特異性の高い gas chromatography を用いて、 Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol を系統的に測定した報告はない。著者は正常人および各種疾患に関してこれらステロイドの変動を追求し、次の結果を得た。

1. 正常人尿中 Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol とともに gas chromatography によつて十分に測定され、尿中1日排泄量の平均値および標準偏差は、 Δ^5 -pregnenetriol が 0.15 ± 0.09 mg であり、pregnanetriol が 0.29 ± 0.17 mg であつた。

2. 正常成人に ACTH を投与し、 Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol の増加をみた。この ACTH 投与による Δ^5 -pregnenetriol の反応に関しては、現在までにその報告は1つしかみられない。 Δ^5 -pregnenetriol が増加を示したことは、cortisol の生合成において、 17α -hydroxypregnenolone を経る経路が存在するとの説を支持する。

3. 正常成人男子のみを対象として施行した HCG 投与時の反応では、 Δ^5 -pregnenetriol は増加の傾向を示した。この Δ^5 -pregnenetriol の HCG による反応に関しては報告がない。また pregnanetriol も同様増加の傾向を示した。これらのことから、性腺由来の pregnanetriol のみならず、 Δ^5 -pregnenetriol の存在も示唆された。

4. 原発性アルドステロン症では、 Δ^5 -pregnenetriol でやや高い値を示す例もあるが、その他は Δ^5 -pregnenetriol、pregnanetriol とともに正常範囲を示した。

5. Cushing 症候群においては、 Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol とともに、副腎の過形成例では、正常範囲の上限かやや高値を示し、腺腫例では、正常範囲に含まれるがやや低い値を示した。特に Δ^5 -pregnenetriol は過形成例と比較して、腺腫例では低い値を示した。癌腫例では pregnanetriol は1例で正常範囲を示したが、他の3例では高値を示した。また Δ^5 -pregnenetriol は全例で非常に高値を示した。このことから癌腫による Cushing 症候群において、 Δ^5 -pregnenetriol が高値を示した場合に、癌腫の可能性が高く、低値を示した場合に、腺腫であるといえよう。この腺腫例で低値を示すことは新

知見である。

6. 副腎性器症候群では、男性化を示した副腎腺腫の1例で pregnanetriol が正常範囲を示した以外は、先天性副腎皮質過形成例、腺腫例とも Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol とともに高値を示した。またこの際先天性副腎皮質過形成例においては、pregnanetriolone および pregnanetetrol も同時に測定されたが、腺腫例においては、この pregnanetriolone, pregnanetetrol は検出されなかった。

7. 睪丸機能低下症では、 Δ^5 -pregnenetriol および pregnanetriol とともに正常範囲に含まれるが、両ステロイドともにやや低い値を示した。

終りに、御指導御校閲を賜った高安久雄教授に深謝致します。また御協力いただきました木下健二講師をはじめ教室員諸兄に感謝致します。尚癌腫による Cushing 症候群4例中3例は、国立がんセンターの症例であり、検体を御提供下さいました国立がんセンター内分泌部の諸先生に厚く御礼申し上げます。

本論文の要旨は、昭和43年4月第41回日本内分泌学会総会、昭和44年5月第42回日本内分泌学会総会、及び昭和45年4月第58回日本泌尿器科学会総会において発表した。

文 献

- Hirschmann, H. and Hirschmann, F.B.: J. Biol. Chem., **187**, 137, 1950.
- Fotherby, K.: Biochem. J., **69**, 596, 1958.
- Nowaczynski, W., Koiw, E. and Genest, J.: J. Clin. Endocr., **20**, 1503, 1960.
- Gallagher, T.F., Fukushima, D.K. and Hellman, L.: Metabolism, **11**, 1155, 1962.
- Thomas, F.J. and Steinbeck, A.W.: Acta Endocrin., **60**, 657, 1969.
- Fehér, T. and Koref, O.: Eur. J. Steroids, **2**, 3, 1967.
- Cox, R.I.: J. Biol. Chem., **234**, 1693, 1959.
- Rosenfeld, R.S., Lebeau, M.C., Jandorek, R.D. and Salumaa, T.: J. Chromatog., **8**, 355, 1962.
- Kinoshita, K., Isurugi, K., Matsumoto, Y. and Takayasu, H.: Steroids, **11**, 1, 1968.
- Roberts, K.D., Wiele, R.L.V. and Lieberman, S.: J. Clin. Endocr., **21**, 1522, 1961.
- Lipsett, M.B., Sarfaty, G.A., Wilson, H., Bardin, C.W. and Fishman, L.M.: J. Clin. Invest., **45**, 1700, 1966.
- Cox, R.I. and Sheqrman, R.P.: J. Clin. Endocr., **21**, 586, 1961.
- Butler, G.C. and Marrian, G.F.: J. Biol. Chem., **119**, 565, 1937.
- Mason, H.L. and Kepler, E.J.: J. Biol. Chem., **161**, 235, 1945.
- Bongiovanni, A.M., Eberlein, W.R. and Cara, J.: J. Clin. Endocr., **14**, 409, 1954.
- Cleaveland, W.W., Nikezic, M. and Migeon, C.J.: J. Clin. Endocr., **22**, 281, 1962.
- Kinosita, K., Isurugi, K., Kumamoto, Y. and Takayasu, H.: J. Clin. Endocr., **26**, 1219, 1966.
- Lipsett, M.B. and Wilson, H.: J. Clin. Endocr., **22**, 906, 1962.
- Cox, R.I. and Marrian, G.F.: Biochem. J., **54**, 353, 1953.
- Childs, B., Grumbach, M.M. and Van Wyk, J.J.: J. Clin. Invest., **35**, 213, 1956.
- Nabarro, J.D.N. and Moxham, A.: The Lancet, **273**, 624, 1957.
- 坂倉啓夫, 中居光生: ホと臨床, **9**, 104, 1961.
- Landau, R.L. and Laves, M.L.: J. Clin. Endocr., **19**, 1399, 1959.
- 岩動孝一郎: 日泌尿会誌, **55**, 1180, 1964.
- Burstein, S. and Lieberman, S.: J. Biol. Chem., **233**, 331, 1958.
- 高安久雄, 木下健二, 熊本悦明, 池川信夫: ホと臨床, **12**, 895, 1964.
- 神戸川明: ホと臨床, **9**, 151, 1961.
- Camberlain, J., Knights, B.A. and Thomas, G.H.: J. Endocrin., **26**, 367, 1963.
- 木下健二: 日泌尿会誌, **58**, 1191, 1967.
- Cox, R.I.: Acta Endocr., **33**, 477, 1960.
- Berliner, D.L. and Dougherty, T.F.: Pharmacol. Review, **13**, 329, 1961.
- Brooks, R.V.: J. Endocrin., **21**, 277, 1960.
- 大沢仲昭: ホと臨床, **18**, 779, 1970.
- Fotherby, K. and Love, D.N.: J. Endocrin., **21**, 129, 1960.
- Wilson, H., Lipsett, M.B. and Ryan, D.W.: J. Clin. Endocr., **21**, 1304, 1961.
- Kirschner, M.A., Powell, R.D. and Lipsett, M.B.: J. Clin. Endocr., **24**, 947, 1964.
- Jailer, J.W., Gold, J.J., Wiele, R.V. and Lieberman, S.: J. Clin. Invest., **34**, 1639, 1955.
- Fukushima, D.K., Bradlow, H.L., Hellman, L., Zumoff, B. and Gallagher, T.F.: J. Clin. Endocr., **21**, 765, 1961.
- Herrmann, W. and Silverman, L.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **94**, 426, 1957.
- Thomas, F.J. and Steinbeck, A.W.: Acta Endocr., **60**, 645, 1969.
- Rivera, R., Dorfman, R.I. and Forchielli, E.: Acta Endocr., **54**, 37, 1967.
- Berger, H., Fink, M., Fritz, H.J., Gleispach,

- H., Heidemann, P. and Wolf, J.: *Chromatographia*, **2**, 515, 1969.
- 43) Bradlow, H.L., Fukushima, D.K., Hellman, L. and Gallagher, T.F.: *J. Clin. Endocr.*, **24**, 359, 1964.
- 44) 市川篤二, 熊本悦明, 広瀬欽次郎, 浅野美智雄, 木下健二, 岩動孝一郎, 横山正夫: *ホと臨床*, **11**, 845, 1963.
- 45) 高安久雄, 木下健二: *最新医学*, **22**, 2455, 1967.
- 46) Finkelstein, M.: *Nature*, **171**, 254, 1953.
- 47) 木下健二, 岩動孝一郎: *日内分泌会誌*, **40**, 978, 1964.
- 48) Finkelstein, M. and Goldberg, S.: *J. Clin. Endocr.*, **17**, 1063, 1957.
- 49) Yamaji, T. and Ibayashi, H.: *J. Clin. Endocr.*, **29**, 273, 1969.
- 50) Okada, M., Fukushima, D.K. and Gallagher, T.F.: *J. Biol. Chem.*, **234**, 1688, 1959.
- 51) Goldman, A.S., Bongiovanni, A.M., Yakovac, W.C. and Prader, A.: *J. Clin. Endocr.*, **24**, 894, 1964.
- 52) Fukushima, D.K., Gallagher, T.F., Greenberg, W. and Pearson, O.H.: *J. Clin. Endocr.*, **20**, 1234, 1960.

(1971年1月9日受付)