合成コルチコイド大量療法と 尿コルチコステロイドの排泄動態

京都府立医科大学第二内科

三品 頼甫 中村 充男 松岡 謙二 溝淵 健介
赤松 春義 杉島 聖章 丸本 晋

URINARY CORTICOSTEROID EXCRETION IN MASSIVE-DOSE THERAPY WITH SYNTHETIC CORTICOID

Yoritoshi MISHINA, Mitsuo NAKAMURA, Kenji MATSUOKA, Kensuke MIZOBUCHI,
Haruyoshi AKAMATSU, Kiyoaki SUGISHIMA and Susumu MARUMOTO
The Second Department of Internal Medicine, Kyoto
Prefectural University of Medicine

概要 合成コルチコイド投与中の尿Porter-Silberクロモゲン, Zimmermannクロモゲンの排泄にかんしては, 本邦では西川らの波動説に代表されるごとく, すべてこれが抑制をうけた内因性 17-OHCS 分泌量を反映して減少するとする見解が圧倒的に多い. 急性白血病のprednisolone 200mgを初回量とする大量療法のわたくしどもの経験から, 投与されたプレドニソロン量のおよそ20~60%に及ぶ平均排泄量をもつて尿Porter-Silberクロモゲンが排泄され, しかもその内容は外因性ともいふべき, prednisolone, prednisone, 20 α , β -dihydroprednisoloneによつて占められている. したがつて合成コルチコイド投与中の尿中の外因性ともいふべき, 投与合成コルチコイドの存在を無視しては彼治療患者の内因性コルチコステロイドの動態, いい換えれば医原性下垂体副腎皮質機能不全の実態は把握しえない. 本論文では合成コルチコイドの生体内代謝, 尿中への排泄動態について述べる.

I. はじめに

わたくしどもは急性白血病に対してプレドニソロン大量 (1日量 200mg) 投与による治療を行ないつつあるが, 薬物の性質とその使用量との関係から当然のことながら, その副作用とくに医原性の下垂体副腎皮質機能不全の問題にはきわめて神経質であつて, これに対する検討も慎重に行なつてきた.

合成コルチコイド療法が下垂体副腎皮質系機能に及ぼす影響については, 治療によつて17-OHCSおよび17-KSの尿中排泄が減少し, 下垂体副腎皮

質機能が低下することについてはいまさら異論をさしはさむところはない. しかしながら本邦の研究者による成績のほとんどが治療の開始とともにいかなる場合にも尿17-OHCS, 17-KSが減少しはじめるとしている. その典型として西川らの波動説^{1)~4)}をあげることができる. すなわち合成コルチコイド投与中の尿 17-OHCS⁵⁾あるいは 17-KS 量は投与開始7日ごろに極小となり, 14日ごろには再び増加してくる. その後はおおむね2週間の周期をもつて波動状に推移し, その波高は次第に減衰するというのがその概略である. このような推

移は合成コルチコイド療法をうけつつある患者の下垂体副腎皮質系の機能を如実に反映したものであつて、使用した合成コルチコイドの如何にかかわらず当てはまると考えられており、現在に至るまでこれに反論を加えたものはない。また西川らは合成コルチコイド大量療法にはこの波動説は適用されないとしている。それは大量療法時の患者の下垂体副腎皮質機能は完全に抑制されてしまつて、尿17-OHCSおよび17-KSは低下したまま波動を示さなくなるためであるという。しかるにわたくしどもの実験では、プレドニソロン1日200mgの投与をうけつつある患者の尿中には1日60～80～100mgのn-ブタノール抽出性のPorter-Silberクロモゲンが証明されたのである。

この論文は合成コルチコイド大量療法時の患者の下垂体副腎皮質機能を判定する基準となる尿17-OHCSおよび17-KSの消長の実態と、合成コルチコイド投与中の尿Porter-Silberクロモゲンの内容の主成分は外因性ともいふべき投与したコルチコイドそのものであることを証明したいきさつについて述べる。したがつて合成コルチコイド投与中の尿Porter-Silberクロモゲン排泄量は、これをもつてそのまま被治療患者の下垂体副腎皮質機能の反映とみなすべきではなく、むしろ合成コルチコイドの投与量を反映したその尿中への排泄が主成分で、今後医原性下垂体副腎皮質機能不全に対する真に客観的な認識、これに対する適格なる対策を樹立するためには、これら合成コルチコイドの生体内代謝を含めた尿中排泄動態の正しい把握が必要と考えられ、以下これらについて述べる。

II. 方 法

当内科に入院して、合成コルチコイド大量療法、すなわち初回量prednisolone 200mg、以後漸減投与を行なつた急性白血病患者について治療の前、中、後の尿Porter-Silberクロモゲン（以下P-Sクロモゲンと略す）およびZimmermannクロモゲン（以下Zクロモゲンと略す）を測定、併せて投与前を対照とした合成コルチコイド投与中の尿コルチコステロイドの分析を行なつた。

尿P-Sクロモゲン測定にはReddy-Jenkins-Thorn法の熊谷変法⁵⁾、ZクロモゲンはSobel法⁶⁾の岡田変法⁷⁾を用いた。

尿コルチコステロイドの分析はクロロホルム抽出による遊離分画、Sigma社製 β -glucuronidaseでpH6.2、38°C 24時間水解した後醋酸エチルで抽出したグルクロン酸結合分画、pH 1.0、38°C 48時間水解した後醋酸エチルで抽出した酸水解分画の3分画に分け、それぞれの分画はまずflorisil column chromatographyで前処置した後、東洋濾紙No. 51Aを用いたBush B₅ systemにより濾紙クロマトグラフィー⁸⁾をおこない、これをultraviolet photocopyした。濾紙クロマトグラフィーによる各分画について一方では濾紙上での定性反応、すなわちblue tetrazolium, triphenyltetrazolium, 2:4 dinitrophenylhydrazine, antimony trichloride, soda fluorescence および Zimmermann の諸反応をおこない、他方では各分画をエタノールで抽出、その紫外線吸収スペクトル、硫酸クロモゲンスペクトルを、reference substanceのそれと比較することにより総合的に同定をおこなつた。

III. 成 績

1) prednisolone 大量療法時の尿Porter-SilberクロモゲンおよびZimmermannクロモゲン排泄量

図1, 2は急性白血病患者のprednisolone 200mgを初回量とし、以後150mg, 100mg……と漸減投与した経過における尿P-SクロモゲンならびにZクロモゲン1日排泄量をそれぞれの投与量（横軸）に対比させたものである。これらはいずれも完全緩解にもたらした症例であるが、尿P-Sクロモゲン排泄量は治療中には投与前値を上回つて極端に増量し、排泄量はその変動の幅は大きいが投与したprednisolone量に比例して増減していることがわかる。

尿P-Sクロモゲン排泄量とprednisolone投与量が比例して消長するという傾向は図3にまとめた6症例の漸減した各投与量ごとの尿P-Sクロモゲン平均排泄量の推移からもうかがえる。図3からは個々の症例間には個体差があるが、同一個体では

図 1. プレドニソロン大量療法中の尿Porter-SilberクロモゲンおよびZimmermannクロモゲン排泄量

図 2. プレドニソロン大量療法中の尿Porter-SilberクロモゲンおよびZimmermannクロモゲン排泄量

投与したprednisoloneと尿P-Sクロモゲンの比はかなり一定して、投与量の減少によつて排泄率が減少しないことがわかる。

しかるに prednisolone 大量投与中の尿Zクロモゲン排泄量はP-Sクロモゲンのように増量することなく、ほとんどが図2に示すようにprednisolone投与中は低下したまま経過する。しかし図1のようにZクロモゲンが投与前値のままでほとんど

図 3. プレドニソロン大量療法漸減投与中の各投与量ごとの平均尿P-Sクロモゲン排泄量

低下しない症例もある。これは prednisolone 大量療法後でもきわめて良好な下垂体副腎皮質機能を維持した症例であつた。

このように、prednisolone大量療法をうけつつある患者の尿Zクロモゲン排泄量は投与前値より低下するのに反し、尿P-Sクロモゲンは投与前値をはるかに上回る排泄を示すばかりでなく、その排泄量が投与prednisolone量ときわめて強い相関性をもつことは、prednisolone治療中の患者の尿P-Sクロモゲンの内容はprednisoloneそのものに由来したコルチコステロイドではないかという考えを抱かせるのである。

2) 尿中の遊離、グルクロン酸結合、および酸水解諸分画

急性白血病患者の prednisolone 大量療法前および投与第5～6日の尿から、さきの操作に従つて分画し分析したのが表1である。いわゆる正常のP-Sクロモゲン排泄パターンを呈した表1のS.K.例に代表されるように、投与前のP-Sクロモゲン排泄動態と異なり、prednisolone 200mg投与中の尿コルチコステロイド排泄パターンの最も特徴的な変化は遊離分画P-Sクロモゲンの極端な増量である。表1に示したようにprednisolone投与中に増加する尿P-Sクロモゲンの大部分は遊離分画中に認められ、グルクロン酸結合、あるいは酸水解分画中には認められないことがわかる。prednisolone投与に対する、n-ブタノール抽出性のP-S

表1. プレドニソロン 200mg投与中尿の各分画からのPorter-Silberクロモゲン回収率

症例	性	年齢	投与前 抽出性P-S クロモゲン (mg/day)	遊離 分画 (γ /day)	グルクロ ン酸結合 分画 (γ /day)	酸水解 分画 (γ /day)	三分画の和 (γ /day)
S.K.	♂	39	15.9	498	3652	332	4482
			62.4(31.2%)	32908	3892	974	37774(18.9%)
H.T.	♀	16	93.0(46.5%)	34666	2667	0	37333(18.7%)
M.T.	♂	15	72.6(36.3%)	40600	8300	1300	50200(25.1%)
Y.Y.	♀	41	118.3(59.2%)	56300	8900	0	65200(32.6%)

* ()内は投与量に対する回収率をあらわす

図4. Bush B₅ systemで展開した遊離分画の濾紙クロマトグラムの紫外線吸収

クロモゲン回収率と分画中P-Sクロモゲンの和の回収率との間にはかなりのへだたりがみられる。

3) 尿中遊離分画の濾紙クロマトグラフィーとその定性反応

Prednisolone投与時にえた尿クロロホルム抽出成分を濾紙クロマトグラフィーに展開し、これをultraviolet photocopyしたのが図4で原線近くからかなり明瞭なP₁, P₂, P₃の3紫外線吸収帯がみられた。これらのうちsolvent frontに最も近いP₃は

reference prednisoneのRf=0.43と一致し、最も大きい紫外線吸収帯であるP₂はprednisoloneのRf=0.21と一致し、P₁のRfは0.05であつた。これら紫外線吸収帯について濾紙切片上でおこなつた定性反応の成績が表2である。

P₂, P₃のblue tetrazolium, triphenyl tetrazoliumの両反応は陽性で、2:4 dinitrophenyl hydrazine, antimony trichloride, soda fluorescence, Zimmermannなどの諸反応はいずれも陰性で、P₁はantimony trichloride反応のみ陽性で、他はいずれも陰性であつた。

P₁, P₂, P₃のいずれもが紫外線吸収性をもちながら、2:4 dinitrophenyl hydrazineあるいはsoda fluorescence反応が陰性であることはもしこれらがステロイド核をもつと仮定した場合、そのA環が $\Delta_{1,4}$ -3-keton構造をもつことが推定できるのである。表2の成績はP₂をprednisolone, P₃をprednisone, P₁を20-dihydroprednisoloneと推定させるに足るところのものである。P₁がantimony trichloride反応のみに陽性で他はいずれも陰性であるという成績はすでにdihydroxyacetone側鎖が代謝されて、水酸基を多くもつたprednisoloneの代謝産物であることを思わせる成績といえよう。いうまでもなく、P₂, P₃抽出液のPorter-Silber反応は陽性、P₁は陰性である。

4) 紫外線吸収スペクトラムならびに硫酸クロモゲンスペクトラム

さきのクロロホルム抽出遊離分画の一部を前と

表2. 濾紙切片による定性反応

	P ₁	P ₂	P ₃
ultraviolet absorption λ_{max}	++	+++ 243m μ	++ 238m μ
blue tetrazolium reaction	—	++	+
triphenyltetrazolium reaction	—	++	+
2:4 dinitrophenylhydrazine r.	— $\sim$ ±	— $\sim$ ±	— $\sim$ ±
antimony trichloride r. in chloroform in nitrobenzene	++ ++	— $\sim$ ± — $\sim$ ±	— —
soda fluorescence r.	—	—	—
Zimmermann r.	—	—	—

図5. P_2 の硫酸クロモゲンスpektrum 図6. P_3 の硫酸クロモゲンスpektrum

同じBush B_5 systemで濾紙半面を使つてクロマトグラフィーし、溶媒が流れただけの残り半分で同じ R_f の等面積の濾紙をブランクとして、それぞれの紫外線吸収スペクトラムと硫酸クロモゲンスpektrumを画くと、表2、図4、5のようになり、これをさきの定性反応の成績と合わせ考えると、 P_2 は投与したprednisoloneそのもの、 P_3 はprednisoloneの C_{11} が酸化されたprednisoneと同定、 P_1 は今回reference substanceもなくおそらく

20 α -, 20 β -dihydro prednisoloneのいずれか、あるいはその両者の混合体であろうと推定するにとどめたい

5) 尿グルクロン酸結合分画および酸水解分画についての分析

すでに表1に示したように、グルクロン酸結合分画と酸水解分画のP-Sクロモゲン量はそれほど多くはない。これらグルクロン酸結合および酸水解分画についてもさきの濾紙クロマトグラフィー展開後の定性反応を試みたが、明らかにコルチコステロイドという成分は証明されず、尿クロモゲンによるPorter-Silber反応への干渉が推定された。

IV. 考 案

急性白血病を対象とした合成コルチコイド療法のわたくしどもの経験からは少なくともプレドニソロンにかんするかぎり表1のように、n-ブタノール抽出性のP-Sクロモゲンの排泄量からは投与量の31.2~59.2%が、遊離分画、 β -glucuronidase水解、酸水解各分画中P-Sクロモゲンの和からは18.7~32.6%が証明され、これP-Sクロモゲンが外因性ともいふべき投与prednisoloneそのもの、およびその代謝産物ともいふべきprednisoneから成り、患者自身の内因cortisolおよびその代謝産物はほとんど認められない。

しかるにさきに述べた西川ら¹¹⁻¹⁴⁾のいわゆる“波動説”では2週を周期とする尿P-SおよびZクロモゲンの波動は合成コルチコイド投与中の患者の内因性コルチコイドステロイドの分泌動態を如実に反映したものであるとし、その際投与された外因性合成コルチコステロイドの干渉は無視しようとしている。

これはわたくしどもが用いたn-ブタノール抽出と、西川らが用いた β -glucuronidase (Sigma) エーテルによる竹本法との差によるものでもない。私どももクロロホルム抽出と β -glucuronidase (Sigma) 水解法により18.7~32.6%というかなり高いP-Sクロモゲンの回収率を得ているのである。西川らが外因性コルチコステロイドによる干渉を

無視しうると判定した根拠は、内因性P-Sクロモゲン排泄値が0であったシモンズ病、Jailer試験で抑制をうけなかつた腺腫によるCushing症候群を対象とした投与コルチコイド薬そのものの尿中出现という特殊な少数例の実験において、プレドニソロン 100mg投与では13.8mg (回収率13.8%)、40mg投与では 2.1mg (5.8%)、20mg投与では 0.6~0.7mg (3~3.5%)、メチルプレドニソロンでは 0.6mg (2.3%) の尿P-Sクロモゲンが排泄されるとし、この成績から「合成ステロイド薬普通投与量ではその尿中への排泄はきわめて少ないと考え、投与コルチコイドによる尿17-OHCSの増加よりも内因性コルチコイドの減少による尿17-OHCSの減少の方が著明で全体として減少を示す」¹⁾と判定したところに出発点を見いだすことができる。

わたくしどもが用いたn-ブタノール法の回収率はプレドニソロンにかんするかぎりはかなり多数例について検討を加えているが、かなりの個体差があるとはいへ20~60%という成績で、これはプレドニソロンの投与量15mgから200mgまでの範囲ではほぼ同率に回収され(図3)、またクロロホルム抽出、 β -glucuronidase水解、酸水解醋酸エチル抽出P-Sクロモゲンの和としてもやや低率とはいへ同様に回収されることをみている。このことはただに急性白血病ばかりでなく、常用量を用いたネフローゼ症候群においてもまったく同じで投与量に比例した尿P-Sクロモゲンの排泄をみたことから裏づけられた。

西川らの波動説の根拠となつてゐる臨床成績をつぶさに検討してみると、(i)尿P-Sクロモゲン、Zクロモゲンを連日測定したものではなく、すべてが1~2日おきの測定であり、(ii)投与7日に極小に達し、14日に極大に達するとする波動もわずかに0.5~1~2mgのP-Sクロモゲン排泄量の差に過ぎず、(iii)これを多数症例について集計した場合その変動係数がきわめて大きく、周期性をもつた波動とは考えられないような性質のものである。したがつてこのような実験根拠から性

急に被治療患者の下垂体副腎皮質系の機能をうかがうことは妥当性を欠き、誤まつた結論や対策をみちびく危険なしとしない

わたくしどもはより客観性をもつて被治療患者の下垂体副腎皮質機能をとらえ、より適切な対策を練り直すためには、まず投与した合成コルチコイドの動態を知る必要がある。外因性コルチコステロイドの排泄や干渉について、これらを明確に峻別しえたときにはじめて目的とする真に正しい下垂体副腎皮質系機能への判定を下しうるものと考えてる。

わたくしどもがすでに報告¹⁰⁾したように、現在市販されている合成コルチコイド薬のすべてはC₁₇のところにdihydroxyacetoneをもち、Porter-Silber反応を呈する。とりわけprednisone, prednisolone, 6 α -methyl prednisolone, paramethasone, dexamethasoneなどはPorter-Silber反応の呈色率が高く、この反応に対する干渉性をもつものである。市販の合成コルチコイド薬の中ではtriamcinoloneのPorter-Silber反応呈色率がきわめて低いこともすでに報告した。しかしこの合成コルチコイド投与が尿P-Sクロモゲンに干渉性をもつことにかんしては、この呈色率のみをもつて性急に論ずることはできない。合成コルチコイドが吸収され、代謝され、排泄されるところの動態が問題となり、わたくしどもが¹¹⁾¹²⁾検討したところではdexamethasone, betomethasoneはそのままの構造、言い換えればP-Sクロモゲンとしてはほとんど尿中に排泄されてこないのである。この両者は生体内代謝によつて、尿P-Sクロモゲンへの干渉性を失なつたと解釈された。

ところが上に述べた急性白血病を対象としたprednisolone大量療法の経験からは、投与した合成コルチコイドそのものであるprednisolone、およびその代謝産物であるprednisone、20-dihydro-prednisoloneが証明され、しかもこれらのほとんどがクロロホルム抽出性の遊離分画から回収された。投与されたプレドニソロンの生体内代謝にかんしては、すでにGray, Vermeulen, Slaunwhite,

Caspiらが報告しているが、わたくしどもと異なり、遊離分画と同時にグルクロン酸結合分画にも prednisolone, prednisone, glycerol side-chainをもつた17-KGSが証明されるとするGray¹³⁾¹⁴⁾, Vermeulen¹⁵⁾¹⁶⁾, Slaunwhite¹⁸⁾¹⁹⁾らの成績、また生体内代謝によるprednisoloneから17-KSへの転化が認められるとするGray¹³⁾, Vermeulen¹⁶⁾, Caspi¹⁷⁾, Slaunwhite¹⁸⁾¹⁹⁾らの成績がある。またVermeulen¹⁵⁾はcortisolが還元されてTHE, THFが出来ると同様prednisoloneから Δ^1 THE, Δ^1 THFが形成される可能性を主張し、プレドニソロン投与中の患者尿から7種類のコルチコステロイドを証明したCaspiら¹⁷⁾はその中に17 α , 21-dihydroxy-1-pregnane-3,11, 20-trione, 3 α , 11 β , 17 α , 21-tetrahydroxy-pregnane-20-one, 3 α , 11 β , 17 α , 21-tetrahydroxyall-opregnane-20-oneなどが含まれていたところから、内因性cortisolとまったく同質のprednisoloneのA環還元過程を想定し、まず Δ_4 , 次いで Δ_1 -3-ketoneが還元されると考えた。またその中にはさらに3 α , 11 β -dihydroxyetiocholan-17-one, 3 α -hydroxyetiocholan-11, 17-dioneなどが存在することからprednisoloneの17-KSへの転換を証明しえたとしている。同様にVermeulen¹⁶⁾も投与prednisoloneの2%以下の17-KS, すなわち Δ^1 -andrenosterone, $\Delta_{1,4}$ -androsteradiene-11 β -ol-3, 17-dioneが存在すると主張した。しかしその後のVermeulenとCaspi, の共著の報告²⁰⁾にはprednisone, prednisoloneのC₁₁における酸化還元反応, C₂₀における還元反応のみをとりあげて論じている。

わたくしどもの実験ではprednisolone, prednisone, 20-dihydroprednisolone以外の代謝産物の存在を不明とし、n-ブタノール抽出性P-Sクロモゲン量とクロロホルム抽出性P-Sクロモゲン量の差、グルクロン酸結合分画の大部分を非ステロイド性の尿クロモゲンとみなした。これら尿クロモゲンの干渉にさまたげられて、上記のprednisolone代謝産物以外の代謝産物の検出は困難である。したがってさらに明確な裏づけによつてprednisolone代謝過程を知るためには放射性のprednisolo-

neを用いた追跡が必要であろう

V. むすび

合成コルチコイド投与中の尿P-SクロモゲンZクロモゲンの排泄にかんしては、本邦では西川らの波動説に代表されるごとく、すべて抑制をうけた内因性17-OHCS分泌量を反映し減少するとする見解が圧倒的に多い

しかるにわたくしどもの急性白血病のprednisolone 200mgを初回量とする大量療法の経験からは、prednisolone投与中の尿P-Sクロモゲン排泄量はむしろ投与前値より増加していることが多く、そのn-ブタノール抽出性P-Sクロモゲン排泄は投与されたprednisolone量の約20~60%の平均排泄量をもつて尿中に排泄される。いわゆるその排泄率は症例によつて個体差がみとめられたが、同一症例の投与prednisolone量15~200mgの間ではほぼ一定であつた。しかしそのときの尿Zクロモゲンはprednisolone投与中は減少したまま経過するものが多い

プレドニソロン投与中の尿を遊離分画、グルクロン酸結合分画、酸水解分画に分けて抽出したものを分析したところ、さきに増量したとしたP-Sクロモゲンの大部分は遊離分画に存在すること、これをフロリジルカラムクロマトグラフィーさらに濾紙クロマトグラフィーによつて3紫外線吸収分画P₁, P₂, P₃に分けて、その濾紙切片についてblue tetrazolium反応, triphenyl tetrazolium反応, 2:4 dinitrophenyl hydrazine反応, antimony trichloride反応, soda fluorescence反応, Zimmermann反応などを行ない、またP₁, P₂, P₃それぞれをエタノール抽出したものについて紫外線吸収スペクトラム、硫酸クロモゲンスペクトラムを検討、P₂は投与したprednisoloneそのもの、P₃はprednisone, P₁はおそらく20 α , 20 β -dihydroprednisoloneのいずれか、あるいはその混合体であろうと同定することができた。

このようにわたくしどもは西川らの波動説に対して polemical な論旨を展開させることによつて、合成コルチコイド治療中の尿P-Sクロモゲン

中における外因性ともいべき投与合成コルチコイドの存在を強調し、これを無視しては被治療患者の内因性コルチコステロイドの動態を知りえないこと、したがって医原性下垂体副腎皮質機能不全の適切な予防法、治療対策を確立するためには投与した合成コルチコイドの生体内での代謝、尿中への排泄動態の解明が必要であることを力説したい

文 献

- 1) 坂内昇：新潟医学会誌，74：1291，1960。—2) 西川光夫 シンポジウム ステロイドホルモンの臨床，日内会誌，51：725，1962。—3) 西川光夫他 最新医学，16：1190，1961。—4) 西川光夫：第16回日本医学会総会学術講演集Ⅳ，日本医書出版協会，東京，1963。—5) 熊谷朗他：内科，8：879，1961。—
- 6) Sobel, C. et al.: J. clin. Endocr. 18：208，1958。—7) 岡田弘二，他：日内分泌誌，41：856，1965。—8) Neher, R.: Steroid Chromatography, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1964。—9) Callow, R.K. et al. (Editors): Physical Properties of the Steroid Hormones, Pergamon Press, Oxford, 1963。—10) 三品頼甫他：ホルモンと臨床，14：465，1966。—11) 丸本晋他：日本内分泌誌，41：315，1965。—12) 中村充男他：日本内分泌誌，42：265，1966。—13) Gray, C.H. et al.: Lancet ii：1067，1955。—14) Gray, C.H. et al.: J. Endocr. 14：146，1956。—15) Vermeulen, A.: J. clin. Endocr. 16：163，1956。—16) Vermeulen, A.: Lancet ii：79，1957。—17) Caspi, E., et al.: J. biol. Chem. 230：845，1958。—18) Slaunwhite, R. Jr., et al.: Fed. Proc. 15：357，1956。—19) Sandberg, A.A., et al.: J. clin. Endocr. 17：1040，1957。—20) Vermeulen, A., et al.: J. biol. Chem. 234：2295，1959。