

Title	Paper Chromatographyによる血中Pregnanediol測定法について
Author(s)	伊藤, 公光
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/28413">http://hdl.handle.net/11094/28413</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	伊藤 公 光 いとう きみみつ
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 209 号
学位授与の日付	昭和 36 年 4 月 26 日
学位授与の要件	医学研究科外科系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	Paper Chromatography による血中 Pregnanediol 測定法について (主査) (副査)
論文審査委員	教授 足高 善雄 教授 須田 正巳 教授 岡野 錦弥

### 論文内容の要旨

#### 研究目的

血中より Progesterone (以下 Prog. と略) そのものを化学的に定量せんとする試みは Edgar (1953), Zander (1954), Hinsberg (1956), Sommerville (1958) 等の努力によって漸くその曙光が見出される様になった。生体での Prog. 代謝についての研究手段としては尿中に排泄される終末代謝産物である pregnanediol (以下 PG と略) の測定法が現在多く用いられ, Venning (1936) 以来幾多の業績が報告されている。然し血中 PG 測定については column chromatography を用いた Sommerville (1958) の報告があるに過ぎない。Prog. 分泌の態度を窺わんには, 資料を比較的簡易に求め得る尿中の PG 排泄量の消長を指標として比較検討するのが適当であるが, 時々刻々の Prog. 代謝の推移を正確に追究するには, 極めて微量の血中 Prog. の化学的定量法と共に血中 PG 定量法の出現が望ましい。

著者は, Bongiovanni (1958) が paper chromatography を尿中 PG 定量法に応用し分離と同定を可能にした事に着目し, 本法を微量の血中 PG 測定に導入せんとして種々検索を試みた。

#### 研究方法

まず paper chromatography による Bongiovanni の尿中 PG 測定法の変法について吟味し, 次いで本法を用いて血中 PG 測定の可能性について検討した。

1. 尿中 PG 測定法; 従来の column chromatography 法 (Guterman-Watteville-Stimmel 氏変法) の分離精製手段以降を paper chromatography (Bongiovanni 法) に換え, paper chromatography の PG 分離能, 回収成績を検討し, 本法による月経周期並びに妊娠についての測定値を, column chromatography 法によるそれと比較した。

#### 2. 血中 PG 測定法;

1) 血漿 10ml の塩酸加水分解

2) アルカリ添加後 ether : methylene chloride (4 : 1) 抽出  
3) 70% methanol と n-hexane による分配  
4) paper chromatography による精製分離 (isooctane: toluene/methanol: water系,  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 2時間半展開),

5) methanol 溶出

6) silica-gel chromatography による精製

7) 硫酸反応(I)硫酸溶液吸光度測定 (Allen の補正式を適用), (II)螢光測定,

上記測定法の回収試験を検討し, Prog. 静注家兔, 妊婦に応用し, 且妊婦血中 PG の同定を行った。

#### 研究成績

##### A) 尿中 PG 測定法について

1) 本法に採用した paper chromatography では PG は Rf 0.55 の mobility を示し, 13種の他の steroid (主に Prog. 代謝経路に属するもの) とは明らかに分離する事が出来た。

2) 男性尿に添加した20~100rの範囲の PG に対しては72.7%以上の回収率を得た。

3) 妊婦の尿中 PG 測定値は 4.7~64.4mg/day であった。又, column chromatography と同時に測定した例では略々一致した成績を得た。

4) 正常婦人の卵胞期の尿中 PG 測定値は 844r/day 以下, 黄体期では1280~2800r/day であり, その PG 同定は paper chromatography 並びに硫酸溶液吸収スペクトルに拠った。

##### B) 血中 PG 測定法について

(I) 硫酸溶液吸光度測定法による成績

1) 男性血漿に標準 PG 10~80r 添加したものでは60~115%の回収率を得た。

2) 去勢家兔に Prog. 60mg を静注した例では, 直後より15分後に至る迄, PG 濃度 (0.3~1.1r/ml plasma) の上昇が認められた。

3) 妊娠後半期婦人では10例中 8例に於いて 0.35~1.55r/ml.plasma の血中濃度を認める事が出来た。

(II) 螢光測定法による成績

1) 男性血漿に標準 PG 5, 10, 20r を添加した回収試験では62~108%の成績を得た。

2) 妊娠前半期の血中 PG は 0.16~0.88r/ml.plasma, 後半期では 0.45~1.28r/ml.plasma の値を示した。

(III) 本法による血中 PG 同定は paper chromatography, 並びにイオン交換樹脂 column chromatography 溶出曲線に拠り完結する事が出来た。

#### 総括

血中 PG 測定に際して従来の column chromatography に代り paper chromatography を応用した一方法を提示し, 本法によって血中 PG 定量の可能なる事を実証した。尚本測定法による血中 PG 測定成績は妊娠前半期 0.16~0.88r/ml.plasma, 後半期 0.45~1.28 r/ml. plasma, である。本法の同定は paper chromatography 及びイオン交換樹脂 column chromatography 溶出曲線によって完結する事が出来た。

## 論文の審査結果の要旨

血中 progesterone (以下 Prog. と略す) の化学的定量については Edgar (1953) 以来の諸家の試みによって漸くその曙光が見出される様になったが血中 pregnanediol (以下 PG と略す) 測定に関しては column chromatography を用いた Sommerville (1958) の報告があるに過ぎない。

Prog. 分泌の態度を窺うためには、従来通り尿中 PG の総排泄量の消長を指標として比較検討するのが適当であるが、更に進んで時々刻々の Prog. 代謝の推移を追究するには極めて微量の血中 Prog. の化学的定量法と共に適切なる血中 PG 定量法の出現が期待される。

著者は、Bongiovanni (1958) が paper chromatography を尿中 PG 定量法に応用し分離と同定を可能にした事に着目し、本法を微量の血中 PG 定量法に導入せんとして種々検索を試みている。

まず第1編に於いて従来の column chromatography 法 (Guteman-Watteville-Stimmel 氏変法) の分離精製手段以降を、前記 paper chromatography (Bongiovanni 法) に換え、paper chromatography の PG 分離能、回収成績を検討し、本法による月経周期並びに妊娠についての測定値を column chromatography 法によるそれと比較して略々満足すべき成果を挙げ得たので、更に第2編に於いて Sommerville の抽出手技に加えて Caspi 等の70% methanol と n-hexane による分配を用い、以後の分離精製過程に前編で検討した paper chromatography を配して血中 PG の測定を企図している。尚、著者は硫酸溶液吸光度測定による定量(I)に加えて螢光測定法(II)をも併せ検討し、

(I) 法に於いて

- 1) 男性血漿に標準 PG10~80r 添加したものでは60~115%の回収率を得。
- 2) 去勢家兎に Prog.60mg を静注した例では、直後より15分後に至る迄 PG 濃度 (0.3~1.1r/ml. plasma) の上昇する事を認めた。
- 3) 妊娠後半期婦人では、10例中8例に於いて 0.35~1.55r/ml. の血中濃度を認めた。

(II) 法に於いて

- 1) 男性血漿に標準 PG 5, 10, 20r を添加した回収試験では62~108%の成績を得。
- 2) 妊娠後半期の血中 PG は、0.16~0.88r/ml. plasma, 後半期では、0.45~1.28r/ml. plasma である事を認めた。

而して著者は、本法による血中 PG の同定を paper chromatography, 並びにイオン交換樹脂 column chromatography 溶出曲線によって確めている。

以上総括すると、著者は血中 PG 測定に際して従来の column chromatography に代って、paper chromatography を応用した一方法を提示し、本法によって血中 PG 量測定の可能であることを実証した。