女性における estrogen 投与および stress の血清蛋白に及ぼす影響

金沢大学医学部産科婦人科学講座（主任：西田悦郎教授）
橋　本　　茂

（昭和57年3月29日受付）

閉経後女性について，estrogen と血清蛋白分画との関連性を検索する目的で，45～65歳の20名の閉経後女性に，結合型 estrogen (E) を21日間経口投与し，血清の約40種の蛋白分画を測定した．血清蛋白分画測定には，micro single radial immunodiffusion 法が用いられた．E投与後，増加するものとしては，α_2-AP-glycoprotein, α_1-antitrypsin, ceruloplasmin, β_2-glycoprotein III, Gc-globulin があり，α_2-AP-glycoprotein はE投与後急増した．軽度上昇するものでは，α_1-lipoprotein, α_2-HS-glycoprotein などがあった．E投与後，減少するものとしては，α_1-acid glycoprotein, haptoglobin, β-lipoprotein, Cls-inhibitor, hemopexin, antithrombin IIIがあり，軽度減少するものでは，prealbumin, Clq-component, β_2-glycoprotein I, retinol-binding-protein などがあった．ほとんど全く変化しないものに，albumin, immunoglobulin G, C5-component, α_2-macroglobulin, α_1B-glycoprotein その他があった．次いで，婦人科手術が行なわれた5名について，手術前日，手術終了直後，第1，3，5，7，14，30病日の血清蛋白分画の変動を検討した．手術後の血清蛋白分画濃度の変動によって3群すなわち，増加群，減少群，不変群に分けられた．また，増加群はその増加 pattern によってさらに急増群と緩徐増加群の2つに分けられた．急増群に属するものは，α_1-antitrypsin, α_1-acid glycoprotein, haptoglobin, ceruloplasmin であり，これらは手術後第1病日にはかなり急増し，第3～5病日に peak となり，その後漸減した．緩徐増加群に属するものは，β-lipoprotein, β_2-glycoprotein III, Clq-component, Cls-inhibitor であり，これらは第1病日には急激な上昇をせず，緩徐に上昇して，第3～7病日に peak に達し，その後漸減した．減少群では，第1病日では術前に比し著変なく，その後低下し，第3～5病日で，最低値となり，第7病日には術前値に復した．不変群には，albumin, immunoglobulin G, A, M, α_1-lipoprotein, β_2-microglobulin その他があった．これらの変動と種々内分泌機能との関連性の有無について検討され，また，E投与と手術時との血清蛋白分画の変動についても比較検討された．

Key words　serum protein, estrogen, operation, female, post menopause

女性において estrogen は中枢や神経系などに対して種々の重要な機能的役割を演じているが，また，性器および性器外 extragenital の各種組織における形態学的変化に関連して大きな生物学的作用を有している．女性の思春期における2次性徴や妊娠時における種々の著しい形態学的変化の多くの部分は卵巣または胎盤からの estrogen の作用に依存している．一方，閉経後女性の性器および extragenital の形態学的退行性変化は，estrogen の減少に由来する面が大きい．

これら estrogen が組織の形態学的変化いわば蛋白代謝の変動を惹起せしめる機構の詳細については，近年，種々検討が進められているが，なお明らかでない面が極めて多い．

estrogen はその target organ としての子宮筋層，子宮内膜，膣上皮などに特異な作用を有し，それらの組織における estrogen に対する receptor との関連性も重要な問題であるが，，他方，estrogen は全身的に皮膚，血管壁，毛髪などの結合組織にも重要な作用を呈して

Effects of estrogen and stress on serum protein in women. **Shigeru Hashimoto,** Department of Obstetrics and Gynecology (Director: Prof. E. Nishida), School of Medicine, Kanazawa University.

いる[1].

われわれは，これらの問題の一端を窺い知る目的で，estrogen 投与時の血清中の各種蛋白分画の変動について検索を加えた．あるホルモンの影響の検討には，該ホルモンの欠乏状態の対象に該ホルモンを投与して，その影響の有無を検するのが一般的に適切な方法である．われわれは，閉経後女性を対象として，これに estrogen を投与し，その場合の血清蛋白分画の変動を約 40 種の蛋白分画について検索し，各々の変動を数種の pattern に分類し，estrogen の血清蛋白分画に及ぼす作用について検討を加えた．

estrogen 投与の全身面に対する作用としては，さらに estrogen 投与が一種の stress として全身的に作用するという一面があげられる．動物に estrogen を大量長期投与すると，副腎皮質は肥大し，全身的には cortisol を投与した場合に類似した状態を示すに至る．

女性においても，性周期や妊娠の存在は全身的 stress として作用し，内分泌面では estrogen の作用が関与しているとされ，閉経は，ある面では estrogen による全身的 stress からの開放という面もあるとみなされている．

種々の stress の加わった場合の血清蛋白分画の変動については種々の報告がなされているが[2)~7)]，われわれはさらに，婦人科領域における手術的 stress の加わった場合の血清蛋白分画の変動を測定し，それらの変動 pattern と cortisol の変動 pattern とを比較し，さらに，stress 時副腎皮質から分泌され，かつ，estrogen の precursor である副腎性 androgen，とくに dehydroepiandrosterone (DHA)，DHA sulfate (DHA - S)，11 - deoxy - 17 - keto - steroid (11 - deoxy - 17 - KS) などの婦人科手術時における変動 pattern[8)~12)]などと比較し，これらについて検討を加えた．

対象および方法

閉経後女性における estrogen (E) 投与の血清蛋白分画の変動に及ぼす影響の検索では，とくに疾患を認めない 45～65 歳の閉経後女性 20 名を選び，結合型 E を 1 日 1.25 mg を 21 日間経口投与し，投与第 7，14，21 日の血清蛋白分画濃度を測定し，投与前の値と比較検討した．採血は各 10 ml 採血し，血清を分離した．

血清蛋白分画濃度測定に供する血清は，測定まで－80°Cに保存され，他の一部は総蛋白濃度測定，血清 estradiol (ED)，triglyceride 値，Ca，P 値測定に供した．

血清蛋白分画は，40 の分画について測定され，測定法としては，微量放射免疫拡散法 micro single radial immunodiffusion (MSRID) 法[13)14)]が用いられた．本法における抗体を含む，アガロースゲル agarose gel 板の作製には，特製の流し型 mould が使用された．すなわち，6.5×10 cm の 2 枚のガラス板の間に，厚さ 1 mm で，底辺 6.5 cm，高さ 10 cm，わく巾 1 cm の U 字型のアルミニウム製わく frame を挟み，クリップで固定して流し型が作られた．

この流し型に下記の如き，2 %agarose 液を注入，凝固して，抗体寒天板 antibody agar plate が作製された．agarose (A - 37，半井化学薬品 K. K.) は，0.5 M barbiturate buffer (pH 8.6，イオン強度 μ=0.05) に 2 %の濃度に溶解され，57°Cに保たれ，これに適量の抗血清が混和された．抗血清の量は，蛋白分画により異なり 0.03～0.4 ml であった．

凝固した抗体寒天板は，わくからはずされ，32.5×20 mm の長方形に切られ，それに 6 つ穴があけられ，2 つは標準血清 (抗原) 用，他は被検血清用とされた．穴の直径は一般には 1 mm で，これに 0.4 μl の被検血清が注入された．穴あけには特製の注射針を用い，血清注入には 10 μl Hamilton microsyringe と反復分注器 repeating dispenser (Dispenser PB 600，Hamilton Co.) が用いられた．血清蛋白分画濃度の一般に低いものの場合には穴の直径を 3 mm とし，注入血清量を 10 μl にまで増加した (分画としては，CRP，IgD，Clq，Cls，SP3 などであった．)．

標準血清としては，多用途日本人標準血清である QS 血清 (Hechst - Jap. Co.) が用いられた．本血清は，数千人の正常人新鮮血清を pool し，これを微量づつアンプル内で凍結乾燥し，－80°Cで保存されたもので，これを用に応じて，一定量の，一般には 50 μl の蒸留水に溶解し，100%標準血清とした．また，同時に，倍の血清濃度の 200%標準血清を作製し，両者を標準血清として寒天板の 2 つの穴に注入した．

被検血清注入後，湿箱中に 3 日間 72 時間静置した．この間に反応は終点に達した．次いで，さらに 3 日間 72 時間の間，脱蛋白液である 0.02 M，pH 8.0 のホウ酸緩衝生理的食塩水 borate - buffered saline (0.85% NaCl) に浸した後，寒天板を蒸留水で湿した濾紙で被い，そのまま放置して乾燥させた．

乾燥後，寒天板をコマジーブリリアントブルー Coomassie brilliant blue (G - 250，半井化学薬品 K. K.) で染色し，乾燥させてから，拡散輪の直径を測定した．直径の測定は，計測器 Scale Counter (Beldex type BS - 105) 附の陰影拡大投影器 Profile Projector (Nikon 6C) で投影拡大して計測した．被検血清の拡散輪の直径を 2 乗した数値を標準血清のそれらと比較して，蛋白分画の相対濃度を算出した．

次いで，手術時の女性血清蛋白分画濃度の変動の検

Table 1. Serum protein fractions, their abbreviations, and concentrations in postmenopausal women

Serum protein fractions	Abbreviations	Average values of concentrations *
prealbumin	Prealb	29.8 mg/dl
albumin	Alb	3881.1 mg/dl
α_1-acid glycoprotein	α_1AG	78.1 mg/dl
α_1-lipoprotein	α_1Lipo	428.4 mg/dl
α_1-antitrypsin	α_1AT	201.4 mg/dl
α_1-antichymotrypsin	α_1X	
9.5S-α_1-glycoprotein	9.5S-α_1	
retinol binding protein	RBP	
Gc-globulin	Gc	47.2 mg/dl
inter-α-trypsin inhibitor	IαTI	
antithrombin III	ATIII	30.7 mg/dl
ceruloplasmin	Cp	34.6 mg/dl
Zn-α_2-glycoprotein	Znα_2	
α_2-HS-glycoprotein	α_2HS	63.3 mg/dl
Cls inactivator	ClsI	34.1 mg/dl
Cls-component	Cls	4.3 mg/dl
C9-component	C9	7.6 mg/dl
haptoglobin	Hp	168.7 mg/dl
α_2-AP glycoprotein	SP3	
α_2-macroglobulin	α_2M	265.2 mg/dl
α_1B-glycoprotein	α_1B	34.1 mg/dl
Plasminogen	Pmg	
β-lipoprotein	βLipo	796.2 mg/dl
hemopexin	Hx	109.1 mg/dl
C3-component	C3	83.5 mg/dl
C4-component	C4	24.6 mg/dl
C5-component	C5	
transferrin	Tf	293.9 mg/dl
C-reactive protein	CRP	
β_2-glycoprotein I	β_2I	20.0 mg/dl
C3-proactivator	C3PA	
β_2-glycoprotein III	β_2III	8.5 mg/dl
β_2-microglobulin	$\beta_2$mic	
Clq-component	Clq	13.4 mg/dl
C3c-component	C3c	
immunoglobulin G	IgG	1598.5 mg/dl
immunoglobulin A	IgA	295.5 mg/dl
immunoglobulin M	IgM	296.4 mg/dl
immunoglobulin D	IgD	
immunoglobulin E	IgE	

*Concentrations determined by the author.
The blanks: not yet determined.

索の場合の被検対象および検索方法は，次の如くであった．被検者は，輸血の行われなかった主に中等度の手術侵襲とみなされた婦人科開腹手術を受け，術後の感染もみられなかった患者5名であった．麻酔は笑気・halothaneによる全身麻酔であった．被検者の選択については予め血清蛋白分画が測定され，とくに異常値の多い患者は被検者から除かれ，選択された被検者についても，1，2異常値のあるものは，データ分析の際，その点について充分留意された．

採血は手術前日，手術終了直後，第1，3，5，7，14，30病日に肘静脈より約4 ml採血された．血液の一部は直ちにhematocrit値，白血球数測定に供され，他は遠心後血清を採取し，−80°Cに保存し，血清蛋白濃度，cortisol (COL) 濃度，elastase活性などの測定に供された．なお，採血は一般に早朝空腹時に行なわれ，また，手術前の値は，手術前々日，前日，当日など2〜3回の値を測定しその平均値をもって手術前値とされた．

血清蛋白分画濃度測定は，上記同であった．COL測定は，radioimmunoassay kit (Daiichi Isotope Labor.) を用いて行った．

血清elastase活性測定にはBieth[15]変法が用いられ，標準elastaseとしては，豚elastase (エーザイ K. K.) が使用され，基質としては，N - succinyl - L - alanyl - L - alanyl - L - alanine - P - nitroanilide (Suc - $(Ala)_3$- NA) (蛋白研究所・大阪) が用いられた．被検血清250 μlを試験管にとり，2.25 mlの0.05 M Tris - HCl緩衝液 (pH 8.9) を加え，さらに，180 mM Suc -$(Ala)_3$- NA methylpyrrolidone溶液20 μlを加え，充分攪拌混和し，25°Cで2時間反応した後，氷酢酸100 μlを加えて反応を停止させ，遊離P - nitroanilineを光電比色計 (Beckman，DB型) で410 mmで測定した．

測定された血清蛋白分画の種類，略号，閉経後女性における濃度の平均値は第1表の如くであった．平均値は，別に45名の閉経後女性について測定した濃度の平均値であり，空欄は実濃度が未測定で，実験では相対的増減比のみを測定したものを示している．

成　　　績

I．閉経後女性の血清蛋白分画濃度に及ぼすestrogen投与の影響

特別の疾患を有しない閉経後女性に，Eを投与すると，各血清蛋白分画濃度は種々の変動を示すが，これらの動態を，増量，減少，不変の3つの群に大別すると，次の如くであった．

A．E投与により増加する閉経後女性の血清蛋白分画

その主なものは，α_1AT，Cp，β_2III，Gc，SP3などであった．

これらの濃度は個体差による変動範囲が大きく，その濃度の平均値による検討は，やや妥当を欠く面があると考えられたので，投与前値に対する増加の比率をもって，個々の増加率および平均的増加率を比較して，E投与の効果について検討を行った．そのようにして得られた結果は図1に示す如くであった．図では投与前の値を100%としてE投与後の値を%で示した．また下記の如く増加曲線は，各分画により，投与日数と共に一定の曲線を画くが，本図ではその間の最高値を代表値として図示した．

α_1ATでは閉経後女性血清中濃度の平均値は201.4 mg/dlであった．これにEを投与した場合の投与後第7，14日の相対的増加率は，投与前を100%とすると，それぞれ平均129±16，144±29%と増加したが，第21日では120±14%と低下した．

Cpの血清中濃度は平均34.6 mg/dlであり，E投与後第7，14，21日の値は147±20，151±28，156±24%で，第7日までは急増したが，その後の増加は軽度であった．

β_2IIIの血清中濃度は平均8.5 mg/dlで，E投与後第7，14，21日の値は平均111±15，119±18，128±20%で直線的に増加した．

Gcの閉経後女性血清中濃度の平均は47.2 mg/dlで，E投与後第7，14日の値は平均109±11，128±22%と増加したが第21日では109±14%と低下した．

SP3では，E投与後は急増し，第7，14，21日の各平均値は，172±69，238±109，337±95%と直線的に著明に増加した．

α_1Lipoでは，血清中濃度の平均は，428.4 mg/dlであり，E投与第7，14日の値は平均110±7，122±13%と漸増したが，第21日では120±9%とほぼPlateauに達した．

α_2HSでは，血清中濃度は平均63.3 mg/dlであった．E投与では，α_1Lipoとほぼ同様の傾向を示し，第7，14日では平均109±10，123±22%と漸増し，第21日では124±35%と第14日のそれとほぼ同値を保った．

B．E投与により減少する閉経後女性の血清蛋白分画

閉経後女性の血清蛋白分画のうち，E投与をすると減少するものの主なものは，α_1AG，Hp，βLipo，ClsIなどであった．これら低下例の場合も，E投与日数に伴って，漸減するものや，比較的急速に低下し，その後不変のものなどいくつかの型がみられた．図2では一応，各分画の21日間の最低値を代表値として示した．

α_1AG の閉経後女性血清中濃度平均値は 78.1 mg/dl であり，E を投与すると第 7，14 日では，平均 73±10, 65±14% となり，かなりの減少を示したが，第 21 日では 69±13% であり，ほぼ減少の最低値に達したものとみなされた．

Hp の血清中濃度は平均 168.7 mg/dl であり，E 投与後第 7 日では 68±15% と急減したが，その後ほぼ一定値を保ち，第 14, 21 日では 65±14, 65±15% であった．

βLipo の血清中濃度は平均 796.2 mg/dl であり，E 投与後第 7，14, 21 日の値は 81±16, 80±14, 76±22% と漸減した．

補体成分である Cl 関連蛋白分画，ClsI, Cls, Clq では，その閉経後女性における血中濃度は，それぞれ平均 34.1, 4.3, 13.4 mg/dl であった．E 投与により，第 7 日までは漸減し，その後ほぼ一定値を保った．E 投与後第 7，14, 21 日の値はそれぞれ，ClsI では，73±9, 68±13, 67±12% であり，Cls では 86±22, 84±23, 69±25% であり，Clq では 84±13, 78±17, 53±28% であった．

Znα_2 では E 投与後第 7，14, 21 日では，87±11, 88±10, 82±15% と漸減した．

β_2I では血清中濃度は平均 20.0 mg/dl で，E 投与後第 7，14 日では 92±7, 84±11% と漸減し，第 21 日では 87±10% と一定値を保った．

Hx では，血清中濃度の平均値は 109.1 mg/dl で E 投与後第 7，14, 21 日では，それぞれ平均 83±10, 77±12, 75±23% と減少した．

AT III では血清中濃度は 30.7 mg/dl で E 投与後は第 7 日では，77±10% と低下したが，その後は第 14, 21 日 78±40, 78±12% と一定値を維持した．

Prealb では閉経後女性血清中濃度は 29.8 mg/dl で，E 投与後第 7 日では 78±13% と低下し，第 14, 21 日では平均 78±20, 75±15% とほぼ一定の値を保った．

RBP では，E 投与後第 7 日で 85±12% と低下し，第 14, 21 日では 84±16, 81±22 であった．

C．E 投与により著変のない閉経後女性の血清蛋白分画

閉経後女性に E を投与しても，ほとんど全く変動を示さない血清蛋白も少なくなかった．その主なものに，血清 Alb, IgG, C5, IgM, α_2M, α_1B, C9 などがあっ

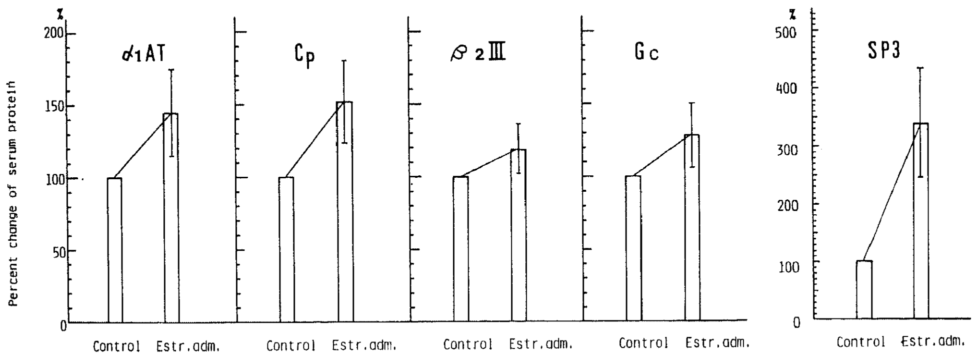

Fig. 1. Effects of conjugated estrogen on serum protein fractions in postmenopausal women: Increased serum protein fractions after the administration of estrogen.

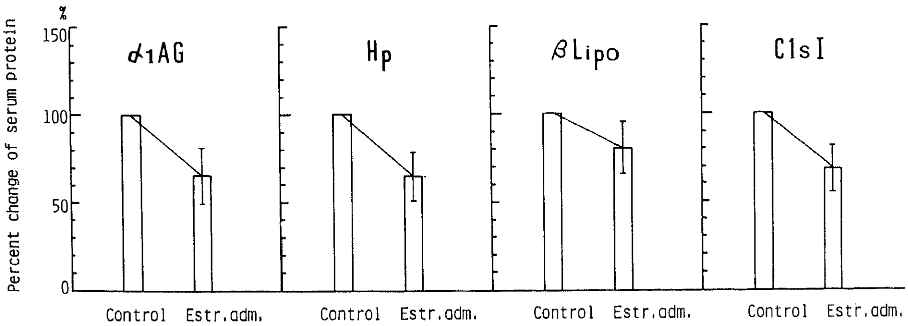

Fig. 2. Effects of conjugated estrogen on serum protein fractions in postmenopausal women: Decreased serum protein fractions after the administration of estrogen.

た．さらに，C3PA，C3，9.5S－α_1もほとんど不変であった．

なおこれら蛋白分画の中には，閉経前後で著変のないもの，閉経後上昇するもの，閉経後減少するものなどがあった．

D．E投与による閉経後女性血清総 cholesterol, triglyceride，estradiol 値その他に及ぼす影響

閉経後女性にEを14日間投与した場合は，血清総 cholesterol では，投与前の 191±27 mg/dl に比し，E投与後は 175±23 mg/dl と減少傾向を示した．

triglyceride では投与前の 96±22 mg/dl に比しE投与後は 128±72 mg/dl と増加傾向となった。

血清 estradiol 値は投与前値 10.4±0.5 pg/ml から，E投与後 66.0±15.6 pg/ml と増加した．

血清 Ca，P はそれぞれ投与前値 7.54±1.27 mg/dl，4.18±0.70 mg/dl に比しE投与後は，それぞれ 7.49±0.71 mg/dl，3.64±0.40 mg/dl と減少傾向を示した．

血清総蛋白濃度では投与前および後でそれぞれ 6.46±0.88 および 6.33±0.64 g/dl で著変なく，体重も前 51.9±6.9 kg，後 52.7±7.2 kg で著変なかった．

II．婦人科手術の血清蛋白分画濃度に及ぼす影響

婦人科手術侵襲後の血清蛋白分画濃度の変動は，蛋白分画により種々の動態を示したが，大別すると，増加群，減少群，不変群の3群となり，また，増加群は急増群と緩徐増加群の2群に分けられることができるとみなされた．

A．手術後増加する血清蛋白分画

手術後，血清蛋白分画濃度が増加するものでは，術後第1病日にかなり急増し，第3～5病日に Peak に達する型と，第1病日には急激な上昇をせず緩徐に増加して第3～7病日に peak に達する型の2群のものが認められた．急増群には α_1AT，α_1AG，Hp，Cp などが属し，緩徐増加群には βLipo, β_2III，Clq，ClsI などが含まれた．

1．手術後急速に増加する血清蛋白分画

この急増群では図3に示す如くに，術後第1病日では平均値で 50～90%の増加を示した．

α_1AT では術後第1，3，5，7，14，30病日の値は術前値を 100%とすると，それぞれ平均 190±52，185±22，177±23，188±48，137±39，105±8%であり，第1病日ですでに平均 90%増と約2倍に急増しその後は第7病日までほぼ同様の値を示し，第14病日では，かなりの低下を示し，第30病日では，ほぼ術前値にまで復した．

α_1AG では術後第1，3，5，7，14，30病日の値は 151±32，169±20，168±22，157±34，131±33，100±12%で，第1病日に平均約 50%の増加を示し，第3，5病日に peak を示し，その後，減少，第30病日には全く術前値の値と同一となった．

Hp では術後第1，3，5，7，14，30病日の値は，187±52，184±24，209±37，197±8，162±64，112±26%で第1病日で約 90%増と2倍近い急増を示し，第5～7病日に peak となった．第14病日には，なお平均 60%増とかなり高い値を示し，第30病日にはほぼ術

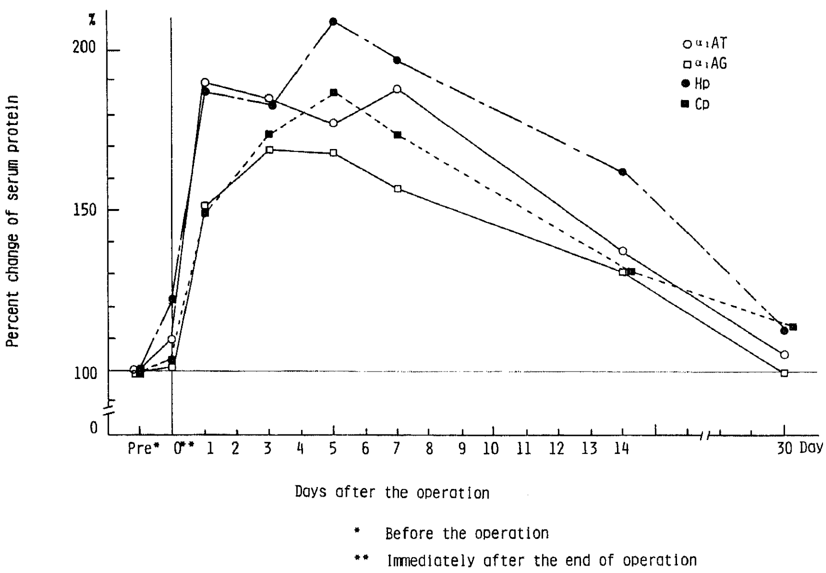

Fig. 3. Effects of gynecological operation on serum protein fractions: Increased serum protein fractions after the operation.

前値に復した.

Cpでは, 術後第1, 3, 5, 7, 14, 30病日の値は149±30, 174±49, 187±17, 174±43, 131±37, 113±18%で第1病日に約50%増となり, 第5病日に peak となり, その後低下した.

すなわち, 本群では, 第1病日に術前値の1.5倍以上の増加を示し, また, 第1病日にすでに peak 値の2/3以上, あるいは, peak 値に近い値に達してしまっていた. また減少も比較的速やかで, 第30病日には術前値にまで回復するものが多かった.

2. 手術後, 緩徐に増加する血清蛋白分画

この緩徐増加群では, 図4に示す如くに, 第1病日では約30%程度の増加を示すにすぎず, 第3～7病日に約60%程度増加する peak を示した. この群では第1病日の値は, 術前値の1/3程度の値の増加を示し, また, 第3病日には, peak 値の増加度の1/2程度の増加をした. なお, 第14病日においても peak 値に比しなおかなりの値を保っており, 第30病日になっても術前値まで回復しないものが多くみられた. すなわち, 上昇も緩徐であり下降も緩徐な傾向が認められた.

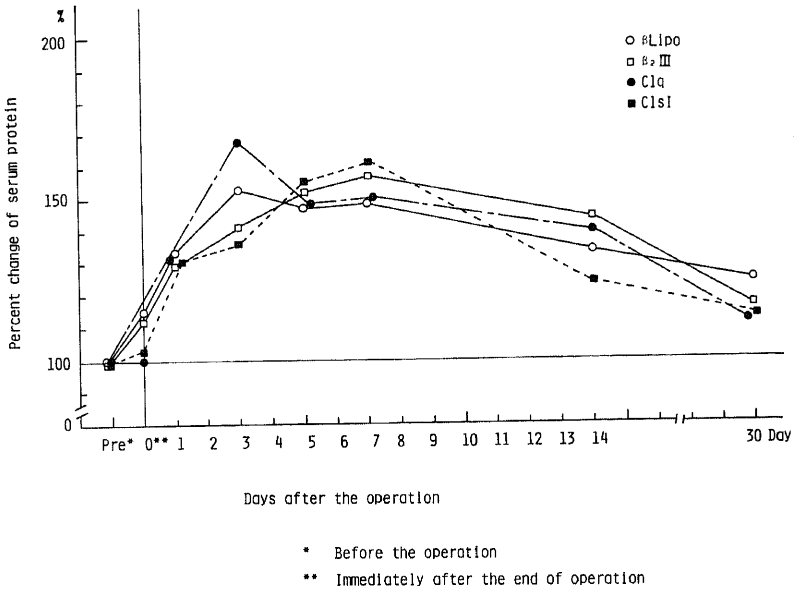

Fig. 4. Effects of gynecological operation on serum protein fractions: Moderately increased serum protein fractions after the operation.

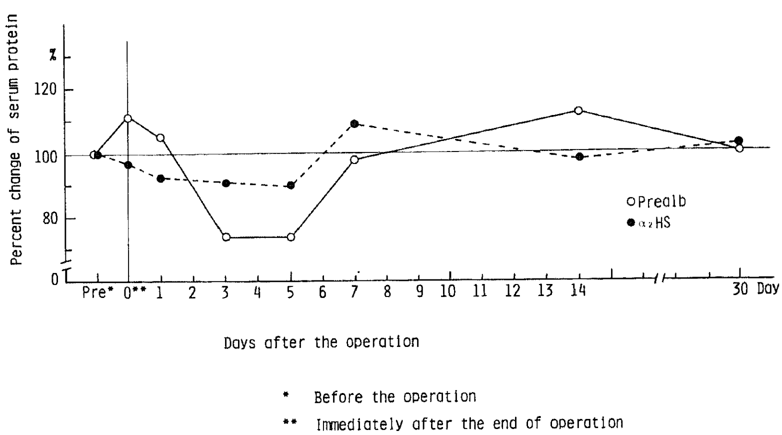

Fig. 5. Effects of gynecological operation on serum protein fractions: Decreased serum protein fractions after the operation.

βLipo では，術後第1，3，5，7，14，30病日の値は，術前値を100%とすると，それぞれ平均133±35，152±35，147±39，148±39，134±43，125±34%で第3病日まではほぼ直線的に増加し，その後はほぼplateauに達し，その後徐々に低下したが，第30病日でもなお術前値に復さなかった．

β_2IIIでは，術後第1，3，5，7，14，30病日の平均値は，129±31，141±43，152±43，157±33，144±41，117±13%で，第7病日のpeakまで漸次上昇し，次で漸減した．

Clqでは，術後第1，3，5，7，14，30病日の値は，131±25，167±62，148±26，150±34，140±26，112±11%で第3病日にpeakがありその後は漸減した．

ClsIでは，術後第1，3，5，7，14，30病日の値は，130±4，136±11，155±29，161±18，124±29，113±14%で，第7病日のpeak値まで次第に増加し，その後減少した．

B．手術後減少する血清蛋白分画

手術後，血清中濃度が減少する蛋白分画には，Prealb，α_2HSなどがあり，その結果は図5に示す如くであった．

Prealbでは，術後第1，3，5，7，14，30病日の血清中濃度は，術前値を100%とすると，105±20，74±13，74±8，98±13，112±28，100±5%であり，第1病日は術前値とほぼ同様であり，第3，5病日には低下を示したが，第7病日には術前値に回復した．

α_2HSでは，その低下や変化の度合はPrealbに比して小さく，術後第1，3，5，7，14，21病日の値は92±17，91±15，90±12，109±15，98±11，102±2%であった．

C．手術後著変のない血清蛋白分画

手術後血清中濃度不変の血清蛋白分画には，Alb，IgG，A，M，D，Eがあげられ，Gc，α_1Lipo，β_2I，AT III，Hxなどにもほとんど変動が認められなかった．

D．手術後の血清中cortisol濃度，流血中白血球数などの変動

Cortisolでは，術前，術後3時間，術後第1，3，5，7，14，30病日の値は10.5±2.2，46.6±11.9，27.2±15.6，16.1±7.2，12.2±6.4，13.1±3.3，8.5±2.8，11.2±3.2 μg/dlであり，術後3時間にpeakがあった．

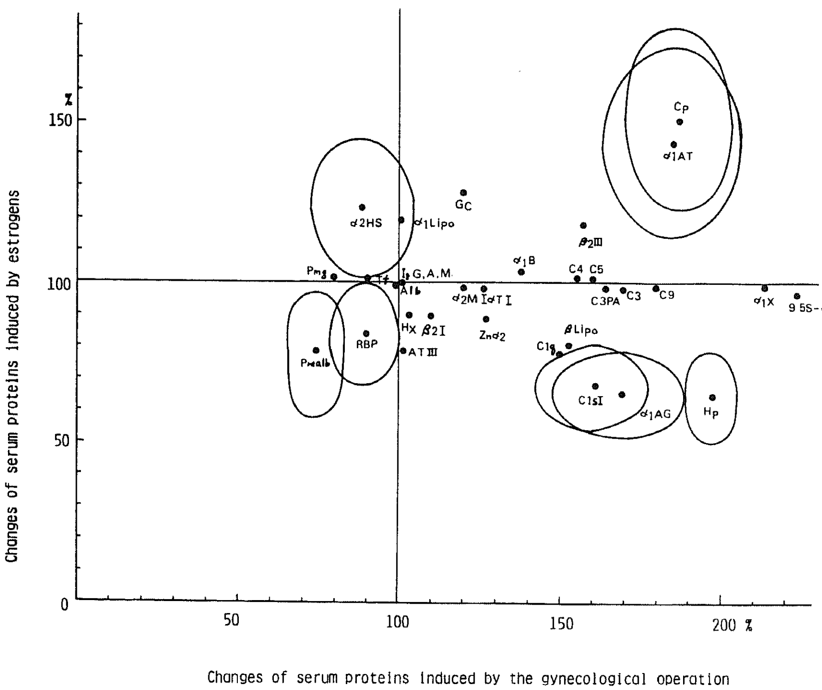

Fig. 6. Comparison between the changes in serum proteins after the administration of estrogen and those after the gynecological operation.

Elastase 活性では，術前，術後3時間，術後1，5病日の値は 32.7±15，36.9±15，16.2±8.2，13.7±8.6 ng/ml であり，術後3時間が活性が高く，術後第1，5病日では活性が低下していた．

白血球数では，術前，術後3時間，術後第1，3，5病日の値は，5450±449，18700±424，13050±636，7650±1909，6250±777/mm³であり術後3時間が最も白血球数が多かった．

III．E 投与後および手術後の血清蛋白分画変動の比較

血清蛋白分画濃度の変動をE投与の場合と，手術後の場合と比較し，各蛋白分画の特徴や相互関連性を検討する目的で，E投与の場合の投与後第14日の値と，手術後変動の最大値とを図表の形で表現して，図6の如き結果を得た．横軸には手術時の変動比率をとり，縦軸にはE投与時の変動比率をとり，処置前の値を100%として示した．

Cp，α_1AT は両処置で共に上昇し，相互にかなり近似的な値を示した．Hp，α_1AG，ClsI，βLipo，Clq は，共通して手術時上昇し，E投与で低下し，これらは，一定の範囲内で類似の反応態度を示すものとみなされた．

Prealb，RBP は手術，E投与両処置の場合共低下した．

考　　察

血清中には100種以上の蛋白成分が存在するが，これらのかなりのものの動態は，性差 Sex difference に影響される[16)~19)]．いわゆる female protein[20)~22)]（女性蛋白）や妊娠関連の蛋白とされる SP1，SP3[23)~26)]など女性に特に密接な関連性を有する蛋白分画もすくなくない．また産科婦人科内分泌面からみると妊娠時の human chorionic gonadotropin ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン（hCG），human placental lactogen ヒト胎盤性催乳ホルモン（hPL）や，follicle stimulating hormone 卵胞刺激ホルモン（FSH）や luteinizing hormone 黄体化ホルモン（LH）乳汁分泌ホルモン prolactin（PRL）などの蛋白体ホルモンも，女性特有の消長を示す．

また，種々の血清蛋白分画に対して，sex steroid hormone，すなわち，estrogen や androgen が種々の蛋白分画の増減などの動態にかなりの影響を及ぼしている[27)~33)]．一般に性差の根本は，女性では estrogen が優位であり，男性では androgen が優位であることに由来するとされている．一方，女性にも androgen があり，一面相反する estrogen と androgen の balance と両者のいわば協力的作用とによって，女性の sexual な内分泌面や，それに伴なう全身的内部環境の調整や動的平衡が行われているものと思考される．この女性における androgen とくに副腎性 androgen の生物作用などについては，われわれの教室における一連の研究がある[8)~12)]．

血清蛋白分画の性差については，α_1Lipo，α_1AT，Cp，α_2M，Hx，IgM などの血清中濃度は，女性の方が男性よりも高い．臨床的には estrogen の大量長期投与は血栓症の危険性を招来するとされるが，これは estrogen により antithrombin 濃度が低下し，prothrombin 時間を短縮させることによる[34)35)]．閉経後では α_1Lipo が低下し，動脈硬化を促進する．従って閉経の早い女性では心筋硬塞が多いとされる[36)~44)]．また，閉経後女性への estrogen 投与は SP3 の増加や Hp の減少などを来す．

本実験において，E投与により，SP3 は急増したが，これはE投与日数の増加にはほぼ正比例して，著増した．一方，Cp は投与第7日以降は，ほぼ plateau に達し，α_1AT では第14日以降は逆に減少した．このことは，血清蛋白の変動は，血中 estrogen 濃度の変動に必ずしも平行するものばかりではなく，それぞれの蛋白の特性に従って固有の動態を呈することを示している．

一方，E投与により減少する蛋白分画の場合は，早かれ遅かれ，ある一定値まで低下したら，その後は一定値を保つ一定の pattern を示した．

また，これら閉経後Eを投与した場合の血清蛋白分画の変動 pattern によって，血清蛋白分画をいくつかに分類することができるとみなされる．すなわち，閉経後減少し，E投与により増加回復するものや，逆に閉経後増量してE投与により低下するものなどである．本実験結果からは，前者の群には α_1AT，α_1Lipo，α_2HS，Gc，SP3，β_2IIIなどが属し，後者の群には，α_1AG，Hp，βLipo，Cl 成分などが属した．性差では，前者に属するものでは女性値＞男性値であり，後者に属するものでは逆に女性値＜男性値であった．これらからも，性差と閉経を通じて，生体内の estrogen や androgen の相対的な量的差異やその変動に多くの血清蛋白分画の動態が影響されていることが知られた．

手術侵襲，分娩，急性炎症，癌などの場合も血清蛋白濃度は著しく変化する[45)~48)]．それら個々の蛋白分画の詳細な動態や意義はなお不明な点が多い．α_1AT は白血球由来 elastase を不活性化するが[49)~51)]，急性期蛋白および白血球由来の elastase の増量と，補体の活性化の3者間には密接な関連性の存在が推定される[52)~55)]．本実験では血中 elastase 活性は術後3時間では増加し，術後第1～5病日では，α_1AT が増量し，elastase 活性は低下した．elastase は α_1AT に結合した場合には活性を失うが，α_2M に結合した場合には，活性を維

持するとされる[49)~51)].

血清蛋白分画を術後の変動 pattern によりいくつかの群に分けたが，その境界領域のものでは，いずれの群に入れるべきかは必ずしも明確ではないが，典型的な pattern を示すものでは，このような群分けは，それら蛋白分画の動態や相互の類似性やその本態などの検索に明らかに有意義なことと思考される．

急増群は，急激に増加して，比較的急速に元の値に回復するが，この pattern は術後の血中 dehydroepiandrosterone (DHA) 値の変動 pattern の傾向に類似している[8)]．また，緩徐増加群のそれは血中 11-deoxy-17-ketosteroid 値や DHA sulfate 値の変動 pattern の傾向と類似点を有している[11)]．

さらに，減少群の変動 pattern は手術後の testosterone 値の変動 pattern とある面共通する所がある．これらの相互関連性の詳細な検索は，これら女性における血清蛋白分画の内分泌的研究面で重要な示唆を与えると思考される．

Alb, IgG などは，E 投与によっても，手術侵襲によっても変動しなかった．このことから，これらの値を求めることは，血液が稀釈あるいは濃縮された場合の各蛋白分画の相対濃度を算出する場合の基準蛋白の役割を果すものとみなされた．

結　　論

閉経後女性に結合型 estrogen (E) を 21 日間投与し，血清中の蛋白分画濃度を測定し次の結果を得た．E 投与による変動については，上昇群，下降群，不変群の 3 群に分けることができた．上昇群では急増するものに SP3 があり，中等度上昇のものに α_1AT，Cp，β_2III，Gc があり，軽度上昇のものでは，α_1Lipo，α_2HS などがあった．投与日数との関係では，日数と共に上昇するもの，一定日数で plateau に達するもの，一定日数で極大に達し，その後下降するものの 3 型がみられた．

下降群には，α_1AG, Hp, βLipo, ClsI, Hx, AT III などが含まれ，軽度下降するものでは Prealb, Clq, β_2 I，RBP などがあった．下降群では，第 7～14 日投与で一定値に達し，その後は著変は認められなかった．

不変群には Alb，IgG があり，その他 C5，α_2M，α_1 B なども著変が認められなかった．

婦人科手術後の血清蛋白分画濃度の変動でも，増加群，減少群，不変群の 3 群に分けられた．増加群のうち急増群には α_1AT，α_1AG，Hp，Cp が含まれ，手術後第 1 病日にかなりの急増を示し，第 3～5 病日に peak となり，その後は比較的急速に減少した．緩徐増加群には，βLipo，β_2III，Clq，ClsI などが属し，手術後第 1 病日ではそれほどの増加は示さず漸増して，第 3～7 病日の peak 値に達し，その後漸減した．手術後不変のものには，Alb，IgG，Gc，α_1Lipo などがあった．

E 投与および婦人科手術の両処置で，共に上昇増加するものには，α_1AT，Cp があり，共に減少するものには Prealb, RBP があり，共に不変のものには Alb, IgG があった．また，E 投与で低下し，手術後増加するものに α_1AG，Hp，ClsI などがあった．

これら血清蛋白分画濃度の変動と副腎性 androgen の動態との関連性について検討が加えられた．

謝　　辞

終りに指導と校閲をいただいた西田悦郎教授に深甚の謝意を表します．また，種々協力いただいた井本博士，石多・原田学士，山崎・宍田・相川・中川各技術員に感謝し，併せて技術面の指導を賜った本学がん研究所分子免疫部，右田教授に感謝致します．

本論文の要旨の一部は，3rd International Congress on the Menopause (1981, Belgium) において発表した．

文　　献

1）**Burgos, M. H. & Wislocki, G. B.**: The cyclical changes in the mucosa of the guinea pigs uterus, cervix, and vagina and in the sexual skin, investigated by the electron microscope. Endocrinology, **63**, 106 - 121 (1958).

2）**Crockson, R. A., Payne, C. J., Ratcliff, A. P. & Soothill, J. F.**: Time sequence of acute phase reactive proteins following surgical trauma. Clin. Chim. Acta., **14**, 435 - 441 (1966).

3）**Werner, M.**: Serum protein changes during the acute phase reaction. Clin. Chim. Acta., **25**, 299 - 305 (1969).

4）**Dickson, I. & Alper, C. A.**: Changes in serum proteinase inhibitor levels following bone surgery. Clin. Chim. Acta., **54**, 381 - 385 (1974).

5）**Fischer, C. L., Gill, C., Forrester, M. G. & Nakamura, R.**: Quantitation of "acute - phase proteins" postoperatively. Am. J. Clin. Pathol., **66**, 840 - 846 (1976).

6）**Rem, J., Nielsen, O. S., Brandt, M. R. & Kehlet, H.**: Release mechanisms of postoperative changes in various acute phase proteins and immunoglobulins. Acta Chir Scand, 502, 51 - 56 (1980).

7）**Laurell, C.- B. & Rannevik, G.**: A comparison of plasma protein changes induced by danazol, pregnancy, and estrogen. J. Clin. Endocrinol.

Metab., **49, 719 - 725 (1979).**

8) **Akasofu, K., Tomita, Y., Araki, K., Shinohara, H., Seki, K., Yamashiro, G. & Nishida, E.**: Effects of surgical stress on concentrations of serum androgens in women. Acta Obst. Gynaec. Jpn., **31**, 737 - 746 (1979).

9) **Akasofu, K., Tomita, Y., Araki, K., Shinohara, H., Seki, K., Yamashiro G. & Nishida, E.**: Influence of aging on serum dehydroepiandrosterone, DHA sulfate and 11 - deoxy - 17 - ketosteroids in women. Acta Obst. Gynaec. Jpn., **31**, 1871 - 1876 (1979).

10) **西田悦郎**: 産科婦人科学領域における老年医学的研究, とくに閉経後婦人における副腎性 androgen の意義と応用. 日産婦誌, **21**, 887 - 894 (1969).

11) **富田嘉昌**: 女性における血中 11 - Deoxy - 17 - Ketosteroid の動態に関する研究. 十全医会誌, **88**, 210 - 232 (1979).

12) **荒木克己**: 女性における血中 Dehydroepiandrosterone の動態に関する研究. 十全医会誌, **89**, 852 - 876 (1980).

13) **Mancini, G., Carbonara, A. O. & Heremans, J. F.**: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochem., **2**, 235 - 254 (1965).

14) **右田俊介**: 一元放射状免疫拡散法の実施, 臨床検査, **20**, 259 - 271 (1976).

15) **Bieth, J., Spiess, B. & Wermuth, C. G.**: The synthesis and analytical use of a highly sensitive and convenient substrate of elastase. Biochem. Med., **11**, 350 - 357 (1974).

16) **Cox, D. W.**: Factors influencing serum ceruloplasmin levels in normal individuals. J. Lab. Clin. Med., **68**, 893 - 904 (1966).

17) **Ganrot. P. O. & Scherten, B.**: Serum α_2-macroglobulin concentration and its variation with age and sex. Clin. Chim. Acta., **15**, 113 - 120 (1967).

18) **Adham, N. F., Wilding, P., Mehl, J. & Haverback, B. J.**: Alpha - 2 macroglobulin levels in human serum. J. Lab. Clin. Med., **71**, 271 - 282 (1968).

19) **Weeke, B. & Krasilnikoff, P. A.**: The concentration of 21 serum proteins in normal children and adults. Acta med. Scand., **192**, 149 - 155 (1972).

20) **Pepys, M. B., Dash, A. C., Markham, R. E., Thomas, H. C., Williams, B. D. & Petrie, A.**: Comparative clinical study of protejn SAP (amyloid P component) and C - reactive protein in serum. Clin. exp. Immunol., **32**, 119 - 124 (1978).

21) **Skinner, M., Cohen, A. S., Shirahara, T. & Cathcart, E. S.**: P - component (pentagonal unit) of amyloid: Isolation, characterization, and sequence analysis. J. Lab. Clin. Med., **84**,604 - 614 (1974).

22) **Binette, P., Binette, M. & Calkins, E.**: The isolation and identification of the P - component of normal human plasma proteins. Biochem. J., **143**, 253 - 254 (1974).

23) **Damber, M. G., Schoultz, B. V. & Stigbrand, T.**: Induction of the "Pregnancy zone" protein by conjugated oestrogen. Acta Obstet Gynecol Scand., **55**, 321 - 323 (1976).

24) **Than, G. N., Csaba, I. F., Szabó, D. G., Karg, N. J. & Novák, P. F.**: Quantitative immunological study of pregnancy - associated α_2- globulin antigen. Vox Sang., **30**, 134 - 138 (1976).

25) **Horne, C. H. W., Bohn, H., Mclay, A. L. C., Wood, E. H. & Thompson, W. D.**: Serum pregnancy - associated α_2- glycoprotein (α_2- PAG)- an acute - phase reactant ? Behring Inst. Mitt., **58**, 50 - 53 (1975).

26) **Bohn, H.**: Immunochemical determination of human pregnancy protein. Arch. Gynak., **21**, 219 - 231 (1974).

27) **Seal, U. S., Doe, R. P., Byar, D. P. & Corle, D. K.**: Response of serum haptoglobin to hormone treatment and the relation of pretreatment values to mortality in patients with prostatic cancer. Cancer, **42**, 1720 - 1729 (1978).

28) **Klinger, V. G., Günther, E. Günther, M. & Gerlach, D.**: Zur Initialwirkung synthetischer Sexualsteroide auf die Serum -Haptoglobin - Konzentration. Zbl. Gynakol., **103**, 41 - 45 (1981).

29) **Johnson, J. F.**: Changes in plasma prothrombin, Ac - globulin, and antithrombin concentration following intravenous administration of estrogens. P. S. E. B. M., **94**, 92 - 94 (1957).

30) **Pogmore, J. R. & Jequier, A. M.**: Sex hormone binding globulin capacity and postmenopausal hormone replacement therapy. Br. J. Obstet. Gynaecol., **86**, 568 - 571 (1979).

31) **Vermeulen, A., Verdonck, L., Van der Straeten, M. Orie, N.**: Capacity of the testosterone - binding globulin in human plasma and

influence of specific binding of testosterone on its metabolic clearance rate. J. Clin. Endocr., 29, 1470 - 1480 (1969).

32) **Bergink, E. W., Wolf, D. L., Wittliff, J. L., Bruining, G. J., Bryson, M. F. & Forbes, G. B.**: Testosterone - estradiol - binding globulin in patients with Turner's syndrome: Effects of estrogens and acute growth hormon administration. J. Clin. Endocr. Metab., **42**, 1018 - 1023 (1976).

33) **Pardridge, W. M., Mietus, L. J., Frumar, A. M., Davidson, B. J. & Judd, H. L.**: Effects of human serum on transport of testostrone and estradiol into rat brain. Am. Physiol. Soc, 103 - 108 (1980).

34) **Coope, J., Thomson, J. M. & Poller, L.**: Effects of "natural oestrogen" replacement therapy on menopausal syptoms and blood clotting. British Medical Journal, **4**, 139 - 143 (1975).

35) **Gitel, S. N. & Wessler, S.**: Do natural estrogens pose an increased risk of thrombosis in postmenopausal women? Thrombosis Research, **13**, 279 - 283 (1978).

36) **Nachtigall, L. E., Nachtigall, R. H., Nachtigall, R. D. Beckman, E. M.**: Estrogen replacement therapy II: A prospective study in the relationship to carcinoma and cardiovascular and metabolic problems. Obstertrics and Gynecology, **54**, 74 - 79 (1979).

37) **Castelli, W. P., Doyle, J. T., Gordon, T., Hames, C. G., Hjortland, M. C., Hulley, S. B., Kagan, A. & Zukel, W. J.**: HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. Circulation, **55**, 767 - 772 (1977).

38) **Barr, D. P., Russ, E. M. & Eder, H. A.**: Protein - lipid relationships in human plasma. Am. J. Med., **11**, 480 - 493 (1951).

39) **Glueck, C. J., Fallat, R. W., Spadafora, M., & Gartside, P.**: Longevity syndromes. Supple II, Circulation, **51**, 272 (1975).

40) **Gofman, J. W., Young, W. & Tandy, R.**: Ischemic heart disease, atherosclerosis, and longevity. Circulation, **34**, 679 - 697 (1966).

41) **Fredrickson, D. S., Levy, R. I. & Lees, R. S.**: Fat transport in lipoproteins - an integrated approach to mechanisms and disorders. New Engl. J. Med., **276**, 34 - 44 (1967).

42) **Barclay, M.**: Lipoprotein class distribution in normal and diseased states, p585 - 704. In G. J. Nelson (ed.), Blood lipids and lipoprotein: Quantitation, composition, and metabolism. Wiley - interscience, New York, 1972.

43) **Rosenberg, L., Hennekens, C. H., Rosner, B., Belanger, C., Rothman, K. J. & Speizer, F. E.**: Early menopause and the risk of myocardial infarction. Am. J. Obstet. Gynecol., **139**, 47 - 51 (1981).

44) **Centerwall, B. S.**: Premenopausal hysterectomy and cardiovascular disease. Am. J. Obstet. Gynecol., **139**, 58 - 61 (1981).

45) **Yen - Watson, B. & Kushner, I.**: Rabbit CRP response to endotoxin administration: Dose - response relationship and kinetics. Proc. Soc. for Exp. Biol. Med., **146**, 1132 - 1136 (1974).

46) **Laurell, C. B. & Jeppsson, J. O.**: Protease inhibitors in plasma, p229 - 264. In F. W. Putnam (ed.), The plasma proteins. 2nd ed. Academic Press, New York, 1975.

47) **Natsuume - Sakai, S., Kondo, K. & Migita, S.**: Quantitative estimation of serum Ss level: Changes upon the development of autoantibodies, environment and acute inflammation in inbred mice. Jpn. J. Exp. Med., **47**, 117 - 123 (1977).

48) **Takahashi, M., Kawachi - Takahashi, S. & Yamamoto, K.**: Synthesis of the ninth component of guinea pig complement (C9) in response to experimentally induced inflammation. Int. Arch. Allergy, **47**, 887 - 893 (1974).

49) **Meyer, J. - F., Bieth, J. & Metais, P.**: On the inhibition of elastase by serum. Some distinguishing properties of α_1- antitrypsin and α_2- macroglobulin. Clin. Chim. Acta., **62**, 43 - 53 (1975).

50) **Twumasi, D. Y., Liener, I. E., Galdston, M. & Levytska, V.**: Activation of human leukocyte elastase by human α_2- macroglobulin. Nature (Lond.), **267**, 61 - 63 (1977).

51) **Ohlsson, K.**: α_1- Antitrypsin and α_2- macroglobulin. Interactions with human neutrophil collagenase and elastase Ann. New York Acad. Sci., 409 - 419 (1974).

52) **Kaplan, M. H. & Volanakis, J. E.**: Interaction of C - reactive protein complexes with the complement system. J. Immunol., **112**, 2135 - 2147 (1974).

53) **Claus, D. R., Siegel, J., Petras, K., Skor, D.**,

Osmand, A. P. & Gewurz, H.: Complement activation by interaction of polyanions and polycations. J. Immunol., **118**, 83 - 87 (1977).
54) **Ohlsson, K. & Olsson, I.**: The neutral proteases of human granulocytes. Eur. J. Biochem., **42**, 519 - 527 (1974).
55) **Osmand, A. P., Friedenson, B., Gewurz, H., Painter, R. H., Hofmann, T. & Shelton, E.**: Characterization of C - reactive protein and the complement subcomponent Clt as homologous proteins displaying cyclic pentameric symmetry (pentraxins). Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **74**, 739 - 743 (1977).

Effects of Estrogen and Stress on Serum Protein in Women Shigeru Hashimoto, Department of Obstetrics and Gynecology (Director: Prof. E. Nishida), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 – J. Juzen Med. Soc., **91**, 671 – 683 (1982)

Key words: serum protein, estrogen, operation, female, post menopause

Abstract

In order to investigate the effects of estrogen on serum protein fractions in postmenopausal women, twenty postmenopausal women had conjugated estrogen administered per os for 21 days. Serum concentrations of 40 protein fractions were measured by the micro single radial immunodiffusion method. Serum concentrations of α_1-antitrypsin, ceruloplasmin, β_2-glycoprotein III, and Gc-globulin increased after estrogen administration. Serum concentrations of α_2-AP-glycoprotein increased remarkably. Serum proteins such as α_1-lipoprotein and α_2-HS-glycoprotein increased slightly. Serum concentrations of α_1-acid glycoprotein, haptoglobin, β-lipoprotein, Cls-inhibitor, hemopexin, and antithrombin III decreased after estrogen administration. Serum protein fractions such as prealbumin, Clq-component, β_2-glycoprotein 1, and retinol-binding-protein decreased slightly. Other protein fractions such as albumin, immunoglobulin G, C5-component, α_2-macroglobulin, and α_1B-glycoprotein were not changed.

And then, five women, undergoing gynecological operations, were sampled on the preoperative day, on the 1st, 3rd, 5th, 7th, 14th and 30th postoperative days. From the changing patterns after operation, serum protein fractions were classified into 3 groups, increasing group, decreasing group and unchanging group. Increasing group was devided into 2 subgroups, acutely increasing subgroup and slowly increasing subgroup. Serum concentrations of acutely increasing subgroup, α_1-antitrypsin α_1-acid glycoprotein, haptoglobin and ceruloplasmin, increased remarkably on the 1st postoperative day, and reached their peaks on the 3rd or 5th postoperative day, and thereafter decreased. Serum concentrations of the slowly increasing group, β-lipoprotein, β_2-glycoprotein III, Clq-component, and Cls-inhibitor, increased slightly, and reached their peaks on the 3rd or 7th postoperative day, and thereafter decreased gradually. Serum concentrations of the decreasing group remained on the same levels as that of the preoperative values on the 1st postoperative day, and afterwards decreased, and the lowest levels were on the 3rd or 5th postoperative day, and restored the preoperative values on the 7th postoperative day. Other proteins, such as albumin, immunoglobulin G, A, M, α_1-lipoprotein and β_2-microglobulin did not show any significant change.

Relationships between serum protein changes and endocrine functions were discussed. And comparison between the changes of serum protein fractions after the administration of estrogen and those after the gynecological operation was performed.