

血漿中螢光コルチコイド量に及ぼす ACTH, epinephrine 注射の影響に関する比較

金沢大学医学部第二内科教室(主任日置教授)

金 田 善 三

安 川 栄 一

(昭和30年11月28日受附)

The Comparison of the Effect of ACTH- and Epinephrine-
injection on the Fluorogenic Corticoid Levels in Prasma.

Zenzo Kaneda and Eiichi Yasukawa

*The 2nd Clinic of Internal Medicine, Faculty
of Medicine, Kanazawa University.*

(Director : Prof. Dr. M. Heki)

緒 言

今日下垂体副腎系機能の健否に関する試験の一つとして所謂 Thorn's test は甚だ著聞である。然るに Thorn's test の実施には予め ACTH 25 I. U. を筋注するものと epinephrine 千倍溶液 0.3cc を皮下注射するものとあつて、両様の方法が行われているが、一般には前者を以て行う試験の方がより信用せられている。何れにしてもその際副腎ホルモンの分泌増加が新たに起り、これが嗜エオジン細胞減少の原因をなすものであるという風に信ぜられているものであるが、果して事実かどうか、著者は本報告において或は人体を対象とし、或は実験的に犬を用いて ACTH 乃至 epinephrine 注射の血漿中主として hydrocortisone 含量に及ぼす影響を検討した。

因みにこの問題については先に Sandberg et al¹⁾, Ely et al²⁾ がこれに触れ、彼等は血中、

尿中の所謂 17-hydroxycorticosteroids 量を測定し ACTH 注射ではその増量を認めるが、epinephrine 注射ではかかる結果を得なかつたと報じている。著者の場合血漿中ホルモンのレベルに対する指標として以下述べる如く螢光コルチコイド測定を行つたのであるが、本成績においても一般に ACTH 注射は螢光コルチコイドの増量を来すに反し、epinephrine では Thorn's test に使用せられる如き少量を以てしては何ら螢光コルチコイドの増加を証せず、但しその用量如何によつてはこれ亦著明な増量を証することを観察した。

なお 17-hydroxycorticosteroids 測定法といい、螢光コルチコイド測定法といい、血漿中における主として hydrocortisone (Compound F) を測定対象とすることにおいて多く変りはない。

実験材料及び方法

被検患者及び採血

被検患者は何れも本教室の入院患者である。Thorn's

test 実施に際してはその耳朶血を採り、螢光コルチコイド測定のための採血には肘静脈よりこれを行つた。

試験動物及び採血

実験に用いた犬は何れもラボナル(田辺製 Sodium 5-ethyl-5-(1-methylbutyl) thiobarbiturate 0.8g 乃至 1.5g) の皮下注射による麻酔を施し、熟睡中のものを実験台に固定し、皮下、腹腔内、筋肉内、股動脈内の種々の部に ACTH, epinephrine の種々の量を注射し、10分、1, 2, 3, 4時間後等の時間を割いて採血し、螢光コルチコイドの測定に供した。この場合採血は最も採血し易き股動脈よりこれを行つた。

Thorn's test

前夜8時以後は絶食とし当日に静臥絶食のまま、先ず白血球用メランジュールの0.5目盛迄 Hinkelman 氏液(yellow eosin 0.5g, phenol (95%) 0.5cc, Formalin (conc) 0.5cc, Aq. dest. にて全量 100cc とする) を吸い、振盪後 Fuchs-Rosenthal 計算板(4mm×4mm×0.2mm=3.2mm³) にてエオジン顆粒の黒染せる嗜エオジン細胞数を数え、 x とすれば、1cumm 中の嗜エオジン細胞数は $(x \times 20 \times \frac{1}{3.2} = x \times 6.25)$ により算出せられる。その減少率は処置前の嗜エオジン細胞数に対する ACTH (ARMOUR 製 ACTH 25 I. U.) 筋注、或いは epinephrine (三共製塩化アドリナリン 0.3 cc) 皮下注射後算定せられた細胞減少数の百分率を以つて表わされた。

螢光コルチコイド測定法

試薬

1) クロロホルム。市販特級クロロホルムに $\frac{1}{2}$ 量の D.N.P. 試薬溶液(5% HCl 溶液 100cc 中 2-4-Dinitrophenylhydrazine 50mg を溶解する)を加え数時間還流冷却器を附し煮沸、後冷却する。次いでクロロホルム層を分離し無水芒硝にて脱水後蒸溜を2回行う。

2) ベンゼン及び石油エーテル。夫々約 $\frac{1}{10}$ 容の硫酸を加え振盪し、硫酸の着色しなくなる迄繰返す。後水洗し蒸溜する。石油エーテルは 40°C~60°C の部分を探る。

3) n/10 苛性ソーダ溶液。特級苛性ソーダ粒を使用する。

4) 蒸溜水。再蒸溜水を使用する。

抽出

3.8% 枸橼酸ソーダ 1.0cc 又は 1% heparine 溶液 0.1cc を加えて血液 10cc を採り、直ちに遠心して血漿を分離する。血漿 5cc をクロロホルム 25cc にて1回振盪抽出せる後、クロロホルム層に n/10 苛性ソーダ 2cc にて洗滌、短柄コルペンに納め、洗滌に使用した苛性ソーダ溶液はクロロホルム 5cc にて再抽出し、先のクロロホルムに合し、50°C 以下にて減圧蒸溜に付する。斯く一旦乾固せる残渣をあらためてクロロホルム 5cc を使用し溶解、定量的に共栓付遠心管に移し蒸溜乾固させる。乾固物をベンゼン 1cc に溶解、石油エーテル 1cc を追加混和する。これに水 3cc を加え振盪後遠心して水層を分離すること2回、水抽出液 6cc を得る。これよりクロロホルム 4cc にて2回抽出を行い、クロロホルムを反応管に收め、そのまま減圧乾固する。

比螢光

反応管内乾固被検体に 85% 磷酸 4cc を加えよく混和後、沸騰水中にて25分間加熱する。

後水水中にて急冷し、hydrocortisone 2 μ g を標準として島津分光光度計 QB-50 螢光装置にて比螢光する。光源はタンダステン燈で、一次フィルターは K-7 (450 m μ)、二次フィルターは VA-3 (520m μ 以上) である。

計算

血漿中螢光コルチコイド Fluorogenic Corticoids (F. C.) 量は次式により計算される。

$$F.C. = (A - B) \times \frac{2}{100} \times \frac{100}{P} \times C \quad \mu\text{g/血漿}100\text{cc.}$$

A : 検体の螢光の強さ (比螢光度)

B : 盲螢光の強さ

P : 血漿使用量

C : 枸橼酸ソーダの補正

盲螢光。血漿の代りに水を用いる他はすべて同様に行つた場合の盲検値を差引くことにした。盲検値は可検材料につき比螢光を施行するその都度これを測定した。

本測定にかかる人血漿内コルチコイド含量の正常値は 9.56 \pm 0.92 γ /dl (危険率 5%) である。

実験成績

a) 人体実験

第1表には患者につき行つた ACTH 使用

Thorn's test 成績と螢光コルチコイド量の変化を示す。本法による正常人血漿中螢光コルチコ

第1表 患者につき行える ACTH 使用 Thorn's test
と血漿中螢光コルチコイド量の変化

症例 番号	患者, 年令, 性 , 診断	ACTH 量	筋内注 射後 の 間	螢光コルチコイ ド γ /dl	嗜エオジ ン細胞 /cumm	嗜エオジ ン細胞減 少率 %
1	池上, 23, ♀ 肥満, 性器障碍 (脳腫瘍)	25I.U.	前 2 4	14.9 17.6(15.3%) —	468 344 288	26.5 38.4
2	藁, 30, ♀ 多発性関節リウ マチス	25I.U.	前 2 4	11.0 15.8(30.4%) —	294 238 200	19.4 31.9
3	伊藤, 26, ♂ 進行性筋萎縮症	25I.U.	前 2 4	6.2 9.7(56.4%) —	63 6 0	90.4 100.0
4	小寺, 25, ♂ 蕁麻疹	25I.U.	前 2 4	5.7 10.6(85.9%) —	125 94 44	24.8 64.8
5	三枝, 30, ♂ 30日/6月 健康	5I.U.	前 2	11.9 12.8(8.5%)	— —	— —
6	三枝, 30, ♂ 12日/7月	25I.U.	前 2 4	9.3 14.5(55.9%) 9.7	156 88 50	43.6 67.9

() 内は増加率を示す。

イド含有量の範囲は 8—147/100ml で, 症例中
には伊藤例, 小寺例に見るが如く低い値を示し
ているものもあるが, 兎も角被検症例全部にお
いて注射前時の値より 2 時間後の値は上昇して
いる. Thorn's test はこれ亦何れも明らかに注射
後の嗜エオジン細胞減少が認められるが, 第 1,
第 2 例では減少率が稍々低値 (30%以下) であ
り, コルチコイドの増加率は共に少なく, 恰も
エオジン細胞の減少率とコルチコイドの増量と

大体比例関係にあるが如き成績である. 症例 5
は ACTH 5 I. U. 筋注による成績であつて,
この量ではコルチコイドの増量が顕著でない.
症例 6 では注射後 4 時間目には最早コルチコイ
ドの増量が元に復していることを示している.
又嗜エオジン細胞の減少は 2 時間後では 4 時間
後に比し充分でない.

次いで第 2 表には同じく人体につき行つた
epinephrine 使用 Thorn's test 成績と血漿中螢光

第 2 表 患者につき行える epinephrine 使用 Thorn's test 成績と
血漿中螢光コルチコイド量の変化

症例 番号	患者, 年令, 性 , 診断	epinephr ine 量	皮下注射 後の時間	螢光コルチコイ ド γ /dl	嗜エオジ ン細胞 /cumm	嗜エオジ ン細胞減 少率 %
1	米島, 37, ♀ 肺結核	0.3mg	前 10分 4時間	14.0 10.1 12.8	138 138 56	0 59.3
2	武苗, 23, ♂ 尿崩症	0.3mg	前 10分 4時間	10.6 9.9 9.9	150 138 81	8.0 46.0
3	吉本, 51, ♂ 肺壞疽	0.3mg	前 10分 4時間	10.5 7.5 8.4	413 425 200	2.8* 51.5

* 増加

コルチコイド量の変化を示す。嗜エオジン細胞は注射後4時間に予期の如く著明な減少を来せるに拘わらず、被検3例共にコルチコイド含量は何ら変化を示さない許りか、植物神経系を介し急速なその作用が到来するであろうと思惟される注射後10分値においては却つて注射前値より低値である。而して注射10分後の嗜エオジン細胞の減少は殆んど取るに足らぬものである。

b) 動物実験

第3表は成犬につき行つた ACTH による、第4表は epinephrine による血漿中螢光コルチコイドの消長を示す。ACTH の場合は A 例の如く徐々に増量するものもあり、C 例の如く速かに既に注射後10分において顕著なる増量を見

るものもあるが、何れも増量を来すことに变りはない。epinephrine では体重 kg 当り 10γ 注射のものでは、処置前値に比し注射後は何れも低値を示し、F 例では10分後既に顕著なる減量を来している。E 例はその動注例であるが、これは注射後10分には既に増量を来し、4時間にして元値に復している。而うしてその10倍量の動注に至つては D 例の如く著しい増量を来している。C 例については epinephrine を kg 当り 20 γ 皮下注射したが、10分後一時減量を認めているが1時間後には増量を見ている。10γ では前述の通り増量を認めない。嗜エオジン細胞は F 例に示せる如く減少を示した。これは前記人体実験と等しい成績である。

第3表 成犬について行える ACTH 注射前後の血漿中螢光コルチコイド量の変化

番号	動物記号	体重kg	性	ACTH量	注射部位	血漿中螢光コルチコイド γ/dl				
						注射前	注射後10分	1時間	2時間	4時間
1	A	20.0	♀	20 I.U.	腹腔内	14.5	16.1	17.9	25.7	—
2	B	9.6	♂	10 I.U.	筋肉内	6.2	9.0	—	8.4	5.9
3	C	10.0	♂	5 I.U.	筋肉内	8.4	20.7	—	19.4	18.9

第4表 成犬について行える epinephrine 注射前後の血漿中螢光コルチコイド量の変化

番号	動物記号	体重kg	性	epinephrine量	注射部位	血漿中螢光コルチコイド γ/dl				
						注射前	注射後10分	1時間	3時間	4時間
1	D	10.0	♀	1mg	股動脈内	18.0	33.0	47.6	30.4	—
2	E	10.0	♀	0.1mg	股動脈内	3.9	6.4	4.6	—	3.9
3	C	10.0	♂	0.2mg	皮下	12.8	8.8	16.7	—	20.1
4	C	10.0	♂	0.1mg	皮下	5.9	5.9	4.4	—	4.4
5	F	8.2	♂	0.1mg	皮下	5.3	2.6 (0.8%)	2.6 (35.6%)	— (44.5%)	— (49.2%)

5において () 内は嗜エオジン細胞減少率を示す。

考 按

ACTH 投与により、又これに代つて間脳、引続き脳下垂体前葉を刺激して ACTH を放出せしめるものとして epinephrine を用いた場合、結果として等しく嗜エオジン細胞の減少を来す

ことに注目し、その減少率の多寡により下垂体副腎系機能の健否を知ることは所謂 Thorn's test の原理をなすものである。しかしこの場合嗜エオジン細胞の減少に係わる因子は何である

うか、今日これについては種々議論の存する所である。

そもそも下垂体前葉より ACTH が分泌されるには stress 及び stress 様の状態が考えられ、これは、或は視丘下部を中継所^{9), 10), 11)}として、兎に角下垂体前葉に達し、斯くて刺戟を受けた下垂体前葉は専ら ACTH を増産し、次いで副腎皮質ホルモンの分泌を促すものといわれている。

而も stress, 外多くの stress 様状態は何れも副腎髓質から epinephrine を放出せしめ、交感神経興奮を惹起することがその実態をなすものであるとも説かれる^{7) 8)}。

若しこれを事実とするならば epinephrine 注射による Thorn's test の成績は ACTH による同試験と同価値であるということになる。

しかし一方 Sayers 等は epinephrine は末梢における副腎皮質ホルモンの利用を促進する故に、これらのステロイドの減量を来し、結果として下垂体前葉が刺戟されて ACTH の分泌を行うとした^{9) 10) 11)}。更に Vogt^{12) 13)} は下垂体除去動物 (ラット, マウス) について epinephrine が夫々淋巴球、嗜エオジン細胞の減少を来すことから、下垂体を介せず直接副腎の刺戟が行われることを示唆したが、河原等¹⁴⁾ の成績では白鼠において不定の成績を得、又 epinephrine-eosinopenie の発生機転については兎に角これにより脳下垂体経由の ACTH 分泌過程を否定することは出来まい。

今 Thorn's test を下垂体副腎系機能活動の指標たらしめんとするとき、epinephrine 投与が下垂体前葉を介して ACTH の分泌を亢進せしめ、以て副腎機能を賦活するものと考えれば、当然血漿中蛍光コルチコイドに何らかの増量を認めねばならぬ筈である。にも拘わらず本実験において見る如く epinephrine を注射しては ACTH 注射時におけるが如く何ら蛍光コルチコイドの増量を認めず却つてその減量をさえ認めたことは、正に Ely et al, Sandberg et al. の成績に一致する。

著者は更に成犬について Thorn's test に使用する epinephrine 量をその体重当りに換算し、これを皮注してその血漿中蛍光コルチコイド量に及ぼす影響を観察したが、これ亦患者についての結果と同じく決してコルチコイド量の増量を認め得なかつた。

Ely, Bray, Raile, Kelly²⁾ はその対象を何れも小児に置き、epinephrine 0.01mg/kg 皮注、ACTH 25 I. U. 筋注により 2 時間後の血漿中 17-OH-corticosteroids を Nelson-Samuels の法により測定し、ACTH によつては増量を示したが、epinephrine には認むべき変化のないことを記録した。又 Sandberg, Nelson, Palmer, Samuels, Tyler¹⁾ は同じく ACTH, epinephrine の種々の量を 250cc の食塩水にて稀釈し、徐々に数時間に亘り静脈内に投与し、血漿中 17-OH-corticosteroids, 尿中 17-OH-corticosteroids, 及び 17-ketosteroids を測定しているが、その結果 ACTH では増量を示し、epinephrine では認むべき変化を示さなかつたと報告した。

然らば著者が上記人体試験に認めたが如き epinephrine 少量注射の場合におけるコルチコイドの若干の減少が ACTH 分泌の刺戟となり、嗜エオジン細胞の減少を促すものであろうか、若し然りとすれば犬の実験において経験したように比較的大量の epinephrine 注射が血漿中コルチコイドの増量を伴つて顕著な eosinopenie を来すことと矛盾する。

なお epinephrine を比較的少量注射せる場合に血漿中蛍光コルチコイドの顕著な増量を来したことは上記の如くであるが、前述 Sandberg 等は epinephrine の大量を与えても特に血漿中 17-OH-corticosteroids の増量を認めないことを報告した。しかしこれは epinephrine を徐々に長時間を費して注入したためのものであり、著者の如く一挙に注入した場合と条件を異にしている。

Sandberg 等は彼等の実験によつて epinephrine は脳下垂体を刺戟して ACTH を放出するものでもなく、又 epinephrine 投与により末梢にお

いてコルチコイドの利用が充満して下垂体をして ACTH を生産せしめるものでもないとし、又 epinephrine が直接副腎を刺戟するというに至っては到底これを認むべきでないとしたが、著者は如上の実験結果から epinephrine の少量皮下注射が eosinopenie を来す機転は決して血漿中コルチコイドの増量にあるのでもなく、又その末梢における消費増加にあるのでもないということは認めるとして、epinephrine の同量を一挙に動注して多少とも血漿コルチコイドの増量を惹起せる事実は、epinephrine が下垂体を経て ACTH の分泌を促すであろうことを未だに全く否定せしめない。但し kg 当り 10 γ 動注に相当するが如き (又はそれ以下であつても宜しい)

結 論

人又は成犬を対象とし、その血漿中螢光コルチコイド量に及ぼす ACTH 乃至 epinephrine 注射の影響を検討し次の結論を得た。

1) Thorn's test に使用せられる量の ACTH 筋注乃至 epinephrine 皮注を行い、共に顕著なる嗜エオジン細胞の減少を来さしめたる場合、前者において血漿中螢光コルチコイドの増量を見るに拘わらず、後者においてその増量がない。

しかし epinephrine の同上量を犬において動

epinephrine の血中増加が実際に行われるものであるかどうか、これはよく検討すべき問題である。

これを要するに、epinephrine の血漿内に導入せられる量の如何により ACTH 分泌が促され、そして血漿中コルチコイドの増量を見るであろうことは否定出来ないが、普通 Thorn's test に使用せられる量では血漿コルチコイド増量を来すものでないから、その際に認められる嗜エオジン細胞の減少、乃至 ACTH 刺戟による同現象は所謂 glucocorticoids の代表たる hydrocortisone ここにいう螢光コルチコイド、(乃至血漿中 17-hydroxycorticosteroids) の直接与かる所ではなく、別の因子に基因するのである。

注すれば血漿中螢光コルチコイドの増量が証せられた。

2) 従つて epinephrine が ACTH 分泌を促すであろうことを否定する根拠はないが、Thorn's test における eosinopenie の主原因は血漿中コルチコイド、ここではその主なる測定対象たる既知 glucocorticoids の増量によるものでなく、他の因子の介入によるものである。

撰筆するに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜わつた恩師日置教授に謝意を表する。

文 献

- 1) Sandberg, A. A., et al. : J. Clin. Endocrinol. & Metab., 13, 629, 1953. 2) Ely, R. S., et al. : J. Clin. Invest. 33, 1587, 1954. 3) Harris, G. W. : The hypothalamus and regulation of ACTH secretion in Adrenal Cortex. Tr. Third Conf. 1951. E. P. Ralli, New York. Josiah Macy, Jr. Foundation, 1952, pp. 54-88. 4) DE Groot. J., and Harris, G. W. : J. physiol. 111, 325, 1940. 5) Hume, D. M., and Wittenstein, G. J. : The relationship of the hypothalamus to pituitary-adrenocortical function, In Proc. First Clinical ACTH Conference, J. R. Mote, Ed., Phila., The Blakiston Co., 1950, pp. 134-146. 6) Simms, E. :

- Enderinol, 49, 45, 1951. 7) Cannon, W. B. : The Wisdom of the Body, New York, W. W. Norton and Company, Inc. 1939. 8) Cannon, W. B. : Am. J. Physiol., 89, 84, 1929. 9) Sayers, G., and Sayers, M. A. : Endocrinol. 40, 265, 1947. 10) Sayers, G. : Physiol. Rev. 31, 241, 1950. 11) Sayers, G., and Sayers, M. A. : Recent Prog. Hormone Research, 2, 81, 1948. 12) Vogt, M. : J. Physiol. 103, 317, 1944. 13) Pickford, M., and Vogt, M. : J. Physiol. 112, 133, 1951. 14) 河原他 : ホルモンと臨床, 2, 967, 1953. 15) 織田邦夫 : 内分泌, 2, 465, 1955.