

本態性高血圧症患者血漿中螢光發生

コルチコイド含量について

金沢大学医学部第二内科学教室(主任日置教授)

織田 邦夫 安川 栄一

Kunio Oda

Eiichi Yasukawa

(昭和30年10月5日受附)

緒 論

各様の副腎疾患において血圧の異常を来すことは周知であるが、未だ人の本態性高血圧症において副腎の果している役割については決定した説がない。特に密接な関係がないようにもいわれているが、実験的に副腎皮質ホルモンの一つである DOCA と食塩水投与により高血圧を惹起させ得ること、本症患者血液中ナトリウムの増加を見ること、或いは本症患者に副腎剔除を敢行して血圧の降下を来さしめ得ること等、本症と副腎との何らかの関連につきなお一片の示唆を与える事実が少なくない。

而うして glucocorticoids と本症との関係については、最近所謂血中 17-hydroxycorticosteroids 測定法その他主として glucocorticoids に関する化学的定量の進展を見るにつれ漸くその各種疾患における測定が実施せられるに至つたが、未だ特に本症を中心として詳細にその関係を極めたものは稀である。

これより先き本症患者尿中 corticosteroids の分泌如何を論じたものがないでないが、由来尿中の同物質測定といえども最近刻々に進歩し確實さを加えつつある程度で、いささか年代の古い文献はこれを信ずるに由ない。先に教室竹田²⁾織田¹⁾は偶々人血漿中 corticoids を解析するに際し、材料として高血圧症患者の瀉血血液について検討をすすめたるに、その成績では少なくとも hydrocortisone の増量を見ることになか

つた。しかし乍ら本実験は極めて限られた例から得られた血液材料を以て行われたものであつたので、本報において著者等は更に多数例につき血中 glucocorticoids 含量の微量測定を行ふことを試みた。即ち実験に際して、著者の一人織田¹⁾の報告せる螢光測定法をこれに適用したが、本法は被検材料として用うるに血漿 5ml 前後を以てすれば足りるので、実験上少なからぬ便宜を吾々に提供した。総じてしかし乍ら斯る微量定量法を以て真に血中皮質ホルモンの絶対量を知らんとするには、今なお吾々は甚だ慎重であらねばならない。米国学者の多く用いる血中 17-hydroxycorticosteroids 測定法にしても、その測定値は可成りの動搖を示しており、又嘗て著者等が上述の如く大量血液を以て分析した結果に徴してその値のいささか高きに過ぎる感があることを蔽い難い。一方吾々の現在採つた方法にしても、これが吟味を行える際に記せるが如く、hydrocortisone を主とすることは間違いないが、螢光發生コルチコイドは決してその全部が hydrocortisone でない。唯従来におけるよりも遙かに進歩せりと信ぜられる斯る測定方法によつて得られた結果と、先に竹田、織田の大量血液を用いて解析し得たる成績とがよく一致して何らの矛盾を覚えしめざる所に、結論の正鵠を失っていないであろう所以を見出すものである。

臨床材料

検索の対象となつた患者は、その大部分が本教室の外来で本態性高血圧症の診断をうけた者である。

採血はそれらの人の肘静脈より概ね昼食2時間前に施行し、直ちに下記抽出を行つた。

螢光発生コルチコイド測定方法

本測定方法の詳細は別紙¹⁾に述べられるが、ここにその大様を記せば次の如くである。

A) 試薬

1. クロロホルム 2,4-dinitrophenylhydrazine から再蒸溜する。
2. ベンゼン及び石油エーテル硫酸洗滌及び水洗後再蒸溜する。
3. $\frac{N}{10}$ 苛性曹達溶液
4. 磷酸 85%。
5. 比螢光用標準溶液hydrocortisone (free alcohol, Merck) 10mg をアルコール(2,4-dinitrophenyl hydrazine から再溜精製した) 1ml に一旦溶解後水にて 200 ml にした。冷暗所に保存し、比螢光に際しその 0.04 ml を用いた。即ちこれに磷酸 4ml を加えて沸騰水中にて25分間加熱したものを、比螢光の標準とした。

B) 実施

1) 抽出

血液 10ml (anticoagulant として 3.8% 枸橼酸曹達溶液 1ml 又は 1% heparin 溶液 0.1ml を使用する) を採り、直ちに遠心血漿を分離する。ここに得たる血漿 5ml をクロロホルム 25ml にて 1 回抽出、クロロホルム層を $\frac{n}{10}$ NaOH 溶液 2ml にて洗滌後短柄コルペンに收め、減圧蒸溜 (50°C 以下) に附す。NaOH 溶液はクロロホルム 5ml で反り抽出し、先のクロロホルムに合する。かくてクロロホルムを 50°C 以下で減圧乾固せる後、新たに クロロホルム 5ml を使用し定量的に共栓付遠心管に移し、同じく蒸溜乾固させる。乾固物をベンゼン 1ml に溶解、石油エーテル 1ml を追加混和する。これに水 3ml 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 6ml を得る。これより更めてクロロホルム 4ml にて 2 回抽出を行い、クロロホルムはこれを反応管に收め、その中で減圧乾固せしめる。

2) 比螢光

反応管内乾固被検体を一旦極めて少量のアルコールに溶解し、85%磷酸 4ml を加えよく混和後 (アルコールに溶解する操作は省略することが出来る)、沸騰水中にて 25 分間加熱する。氷水中にて急冷後、hydrocortisone 2 μ g を標準として島津光電分光々度計 QB-50 螢光装置 (一次フィルターは k-7, 450m μ ; 二次フィルターは YA-3, 520m μ 以上) の示度を 100 に調整、比螢光を行ふ。而して血漿 100ml 中の螢光発生コルチコイド量の算出は次式によつた。

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

A : 検体の螢光の強さ

B : 盲螢光の強さ

P : 血漿使用量

C : 枸橼酸曹達の補正

盲螢光 血漿の代りに水を用いる外はすべて同様に行つた場合の盲検値をここでは差引くことにした。この値(B)は検体の螢光(A)に比し充分小で且つ一定でなければならない。著者等はこの盲螢光値を10マイクロアンペア目盛以下になし得た場合に各試薬を略々精製せられたものと見做したが、盲検値の原因をなした最も主なものはクロロホルムの純度由来するもののように思われる。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。

実験成績

正常人12名27回測定により得た螢光発生コルチコイド値は表1に示す如く 6~14 μ g/dl の動搖を示し平均値は 9.6 μ g/dl であつた。

本態性高血圧症患者10名の測定値は表2に示

す如く 7~13 μ g/dl 平均値 10.1 μ g/dl であつて、正常人との間には推計学的に何ら有意の差を認めしめない。

第1表 正常人血漿中螢光發生コルチコイド含量

No.	氏名	性	年齢	螢光發生コルチコイド量 $\mu\text{g}/\text{dl}$
1				10.7
2				8.2
3				10.9
4				12.3
5	飯芝	♂	21	8.4
6				13.2
7				8.0
8				8.4
9				7.4
10				7.5
11				7.5
12	鈴木	♂	29	6.2
13				6.2
14				12.8

15	西田	♂	30	6.3
16				6.6
17	織田	♂	28	14.0
18				12.3
19	小村	♂	28	9.2
20				9.2
21	金田	♂	28	12.5
22	安川	♂	27	9.4
23	玉井	♂	27	11.4
24	西村	♀	23	10.8
25	黒口	♀	23	8.4
26	辻村	♀	31	10.3
27	今井	♀	23	10.0
平均値及び95%信頼限界				9.56±0.92

第2表 本態性高血圧症患者血漿中螢光發生コルチコイド含量

No.	氏名	性	年齢	血圧 mmHg	尿所見		血漿中コルチコイド量 $\mu\text{g}/\text{dl}$	合併症並註
					蛋白	糖		
1	勝見	♂	53	180~130	—	—	13.1	線内障 尿沈渣所見：赤血球(±)白血球(++)上皮(+)円柱(—) 卒中後遺症 糖尿病
2	中山	♂	63	182~104	—	—	11.5	
3	吉田	♂	57	180~98	—	—	7.7	
4	鈴木	♀	72	240~120	—	—	12.6	
5	日置	♀	47	220~100	—	—	9.0	
6	前田	♀	36	168~112	—	—	8.4	
7	寺田	♂	63	160~85	—	—	7.6	
8	天谷	♀	56	200~110	±	—	12.3	
9	山内	♀	56	242~128	—	—	7.8	
10	田川	♀	51	240~100	—	+	11.2	
平均値及び95%信頼限界							10.12±1.41	

結 論

本態性高血圧症患者血漿につき、副腎皮質ホルモン就中主として hydrocortisone を螢光法によつて測定し、健康人血漿中同含量との間に差

動あるを見出さなかつた。

攞筆するに臨み恩師日置教授の御懇篤な御指導並びに御校閲を衷心より深謝します。

文 献

1) 織田邦夫：内分泌，2，465，1955.

2) 竹田亮祐：内分泌，1，498，1954.