

「視床下部」性無月経の視床下部機能
に関する研究

西 井 修

①

「視床下部」性無月経の視床下部機能 に関する研究

西 井 修

I. 緒言

明らかに中枢が原因と考えられる無月経、神経性食思不振症、薬剤性無月経の一部、高プロラクチン血症性無月経の一部あるいは多嚢胞性卵巣症候群のおそらく一部は、視床下部性無月経でありうる。しかし、高度の卵巣機能低下（原発性卵巣発育不全症など）や明らかに下垂体性異常による無月経を除いた無月経において、LH-RH testによりゴナドトロピン（Gn）放出反応が認められた場合がまた、「視床下部」性無月経と診断されてきた。実際には、高プロラクチン血症の場合を除くと下垂体原発性無月経の頻度は低いので、大部分がこの「視床下部」性無月経の範疇に入れられてきたのである。

以前から、下垂体-卵巣機能は視床下部によって調節されていることが示されてきた¹⁾。この視床下部の調節機能は非常に複雑なものであると考えられるが、最近そのうちの二つが明らかになってきた。一つは、視床下部から適切な間隔で間欠的に LH-RH が放出されることで、これは下垂体から十分な Gn を放出して卵巣を成熟あるいは黄体機能を維持するために必須なのである²⁾。これは下垂体からの LH の間欠的な放出（LH pulse）として反映される³⁾。もう一つは、estrogen positive feedback の機能である。この機能は、成熟卵巣から大量のエストロゲンが分泌される時に、これが視床下部-下垂体に作用して、排卵を起こすに十分な量の LH を一時的に放出させる（LH surge）ものである⁴⁾。しかもこれら二つの機能は排卵を起こすために最小限必要な視床下部の調節機能である。

そこで「視床下部」性無月経が、本当に視床下部の異常により起こるかどうかを、上述の二つの視床下部調節機能を利用して検討した。この検討は、「視床下部」性無月経の治療方針を決定するうえで非常に重要であるといえる。

II. 研究対象

本研究に際しては、対象者にその目的及び内容を説明し了承を得て行った。

1. 正常月経周期婦人

正常排卵周期（月経周期 28~32 日）を有する卵巣期初期（月経周期 2~7 日目）の婦人 10 名を対象とした。平均年齢は 29.1 ± 2.1 （平均 \pm 標準誤差:SE）歳（21~41 歳）であった。平均身長は 156.4 ± 1.3 cm として平均体重は 51.7 ± 1.5 kg であった。

2. 「視床下部」性無月経患者

「視床下部」性無月経とは、LH-RH test により下垂体に反応性を認めた無月経のうち、

明らかに視床下部や上位中枢の異常によると考えられる無月経、高プロラクチン血症性無月経、多嚢胞性卵巣症候群、神経性食思不振症による無月経を除いた無月経のうち、高度卵巣機能低下や子宮異常及び薬剤によると考えられるものや他の内分泌疾患によると考えられるものを除外した無月経とした。また、高度卵巣機能低下とは血中FSH値が高値であり、E₂値は去勢レベルのものである。このような「視床下部」性無月経 56 名を対象とした。平均年齢は 25.4±0.7歳 (18~40歳) であった。平均身長は158.2±0.4cmそして平均体重は 53.8±0.6kgであった。無月経期間は8.4±0.4ヶ月 (6ヶ月~18ヶ月) であった。

III. 研究方法

血中LH pulseを見るために静脈留置針より20分毎に7回採血し、この直後にLH-RH 25 µgを静注して30分後に採血し下垂体の反応性を見た。その後estradiol (E₂) dipropionate 5 mgを筋注して 5日間採血し、estrogen positive feedbackの有無を検索した。また、隔日にLH-RH 25 µgを静注して30分後に採血し下垂体の反応性の変化を見た (図1)。

1. GnRH間欠放出の検討

間欠的に1回に放出される GnRHの量は少なく、末梢血中における GnRH(LH-RH) の濃度を測定することは、現在のLH-RH測定法では困難である。幸いLH-RHの放出に同調して血中黄体化ホルモン (LH) 濃度が上昇し、これは十分に測定可能である。そこでGnRH pulseをLH pulseにより、次のようにして検討した。正常月経周期婦人10名と「視床下部」性無月経患者 56名において午前 9時頃より 2時間にわたり前述のように20分毎に7回採血した。血中LH pulseは、血中LH値の急峻な上昇あるいは緩徐な下降が認められ、かつ血中LHのピークと最低値との差が1.25mIU/ml以上になる時に存在するとした。これは血中LH pulseは急峻な上昇に継ぐ緩徐な下降の形で認められ、その振幅が 1.25mIU/ml 以上になることが知られている⁵⁾からである。

2. LH-RH testによる下垂体の反応性の検討

正常月経周期婦人 10名と「視床下部」性無月経患者 56名において、III-1の採血後、LH-RH 25 µgを静注して30分後に採血し、下垂体のLH放出反応を見た。

3. Estrogen positive feedback の検討

正常月経周期婦人 10名と「視床下部」性無月経患者 56名において estrogen positive feedbackの有無を調べることを目的とし、Ⅲ-2の採血後、E₂ dipropionate 5mgを筋注した。翌日より5日間連日採血してこれらの血中LH濃度とpulse検討のための最後の血中のestradiol濃度を測定した。Estrogen positive feedbackは、血中LH値の増加を認め、かつそのピークがⅢ-1の平均血中LH値より2SD以上の値をもつ時存在するとした。正常月経周期婦人10名と「視床下部」性無月経患者のうちestrogen positive feedbackの存在する14名とestrogen positive feedbackを認めなかった10名において、血中LH-RH濃度を測定した。

4. E₂ dipropionate投与後のLH-RHに対する下垂体の反応性の変化

Ⅲ-3の正常月経婦人10名とⅢ-3「視床下部」性無月経患者24名においては、LH-RHに対する下垂体の反応性の変化をみるために、E₂ dipropionate投与後1日おきに留置針から、LH-RH 25μgを注入し30分後に採血して、この血中LH濃度を測定した。

5. 血清LH、FSHとE₂濃度の測定

採血した血液は4℃で遠沈後、血清を測定まで-60℃で凍結保存した。血清LHとFSH濃度は、それぞれスパック-S LHキット(標準品 1st IRP-LH; 1st International Reference Preparation-Luteinizing Hormone、第一ラジオアイソトープ社製)とスパック-S FSHキット(標準品 2nd IRP-HPG; 2nd IRP-Human Pituitary Gonadotropin、第一ラジオアイソトープ社製)、あるいはLHキット「第一」とFSHキット「第一」(標準品 2nd IRP-HMG; 2nd IRP-Human Menopausal Gonadotropin、第一ラジオアイソトープ社製)を用いradioimmunoassay (RIA)法により測定した。後者のキットによる血中LHとFSHの測定値は、前者のキットの測定値に変換した。LHに関しては前者のキット値=0.265×後者のキット値+0.376(r=0.925)、そしてFSHに関しては前者のキット値=0.717×後者のキット値+0.328(r=0.965)により換算した⁶⁾。血中E₂値の測定はCIS社製のキットを用いRIAにより測定した。検出感度はLHとFSHが0.5mIU/mlそしてE₂が12.5pg/mlであった。これらのintraassay CVとinterassay CVは、LHとFSHが5%以内でありE₂は10%以内であった。

6. 血漿LH-RH濃度の測定

血中LH-RHの測定用の血液は、採血後直ちにEDTA-2Na (1.25mg/ml)とaprotinin (

500IU/ml) を加えた容器に入れ、4℃で遠沈した後、血漿を-60℃で測定まで凍結保存した。Takahashiらの方法⁷⁾に基づき、血漿 2mlを 3倍量の酢酸メタノールで抽出した後、2抗体法による delayed RIA によって測定した(図2)。検出感度は 0.5pg/mlで(図3)、intraassay CVは10%以内、interassay CVは15%以内であった。

7. 統計処理

平均値の差は、Student's t testにより、パーセントの差は χ^2 testによって検定された。

IV. 研究結果

1. 血中LH pulseの有無と血中LH、FSHとE₂値

LH pulseの存在と不在の典型例を図4と図5に示した。LH pulseは正常月経周期婦人全てに認められ、平均血中LH値は 4.8 ± 0.6 mIU/mlであった。「視床下部」性無月経患者の内56例中28例にLH pulseを認め、この平均血中LH値は 6.8 ± 0.5 mIU/mlであった。これは、正常月経周期婦人に比べて有意($p < 0.05$)に高かった。LH pulseを認めなかった「視床下部」性無月経患者の平均血中LH値は 2.5 ± 0.4 mIU/mlであり、これは、正常月経周期婦人そしてLH pulseを認めた例の平均血中LH値に比較して有意に($p < 0.01$)低かった(図6)。平均血中FSH値は正常月経周期婦人、LH pulseを認めた「視床下部」性無月経患者、そしてLH pulseを認めなかった「視床下部」性無月経患者においてそれぞれ 7.3 ± 0.4 mIU/ml、 7.8 ± 0.6 mIU/mlと 3.6 ± 0.6 mIU/mlであった。LH pulseを認めなかった「視床下部」性無月経患者の平均血中FSH値は、正常月経周期婦人とLH pulseを認めた「視床下部」性無月経患者に比べて有意に($p < 0.01$)低かった(図6)。後二者間の平均血中FSH濃度には、有意な差を認めなかった。平均血中E₂値は正常月経周期婦人が 39.4 ± 3.5 pg/mlで、LH pulseを認めた「視床下部」性無月経患者は 27.7 ± 2.6 pg/mlであり、正常月経周期婦人に比べて有意($p < 0.05$)に低かった。LH pulseを認めなかった「視床下部」性無月経患者の血中E₂値は測定感度以下(10.9 ± 1.4 pg/ml)であり、これは正常月経周期婦人とLH pulseを認めた「視床下部」性無月経患者より有意($p < 0.01$)に低かった(図6)。

2. LH-RH testによる下垂体の反応性

正常月経周期婦人におけるLH-RH testによる血中LHの負荷後30分値と負荷前値の差は、 24.3 ± 6.0 mIU/mlであり、LH pulseを認めた「視床下部」性無月経患者では 31.8 ± 8.3 mIU/ml、そしてLH pulseを認めなかった「視床下部」性無月経患者では 15.9 ± 5.3 mIU/mlであり、正常月経周期婦人とこれらの間に有意な差は認められなかった。

3. Estrogen positive feedback

① 正常月経周期婦人

正常月経周期婦人においては、E₂ dipropionate投与により全例に estrogen positive feedbackを認めた。平均血中LH値は E₂ dipropionate投与後1日目に、 4.4 ± 0.7 mIU/mlとなり、投与後2日目に 8.1 ± 3.2 mIU/ml、そして投与後3日目に 15.0 ± 2.7 mIU/mlとなった。投与後3日目の値は、投与前(4.8 ± 0.6 mIU/ml)に比較して有意に ($p < 0.01$) 高値であった。投与後4日目は 8.9 ± 2.1 mIU/ml、投与後5日目には 6.9 ± 1.7 mIU/mlとなりこれらは投与前の値とは有意に異ならなかった。全例において血中E₂値は、E₂ dipropionate 投与後1日目には300 pg/ml以上に達した。平均血中E₂値は、E₂ dipropionate投与前(39.4 ± 3.5 pg/ml)に比べて投与後1、2、3、4と5日目(それぞれ 867.5 ± 67.9 pg/ml、 780.5 ± 60.2 pg/ml、 703.8 ± 54.8 pg/ml、 539.2 ± 53.5 pg/ml、 363.8 ± 57.1 pg/ml)に有意 ($p < 0.001$) な高値を示した。投与後1、2と3日目の平均血中E₂値間に有意な差はなく、4日と5日目の平均血中E₂値は、1日目に比べて有意 ($p < 0.01$) に低値であった(図7)。

② LH pulseを認めた「視床下部」性無月経患者

LH pulseを認めた「視床下部」性無月経患者28例の全例に estrogen positive feedbackを認めた。平均血中LH値は、E₂ dipropionate 投与後1、2、3、4と5日目はそれぞれ 4.5 ± 0.4 mIU/ml、 7.2 ± 0.7 mIU/ml、 17.2 ± 2.7 mIU/ml、 13.4 ± 1.7 mIU/ml、 9.1 ± 1.5 mIU/mlであった。投与後3日目と4日目は、投与前(6.8 ± 0.5 mIU/ml)と比べて有意な ($p < 0.001$) 上昇を示した。血中E₂値は、E₂ dipropionate 投与後正常月経周期婦人と同様の変化を示した。E₂ dipropionate 投与前、投与後1、2、3、4と5日目の平均血中E₂値はそれぞれ 27.7 ± 2.6 pg/ml、 834.2 ± 108.3 pg/ml、 749.0 ± 55.1 pg/ml、 695.3 ± 51.6 pg/ml、 497.4 ± 65.4 pg/mlと 357.1 ± 45.6 pg/mlであった(図8)。

③ LH pulseを認めなかった「視床下部」性無月経患者

LH pulseを認めなかった「視床下部」性無月経患者28例のうち8例にestrogen positive feedbackを認め、平均血中LH値は、E₂ dipropionate 投与後1、2、3、4と5日目は、それぞれ2.5±0.3mIU/ml、3.7±0.5mIU/ml、7.8±1.3mIU/ml、6.3±1.8mIU/ml、3.2±0.6mIU/mlであった(図9)。投与後3日目は、投与前(2.9±0.3mIU/ml)と比べて有意な(p<0.02)上昇を示した。また、LH pulseを認めなかった「視床下部」性無月経患者28例のうち20例に、estrogen positive feedbackを認めなかった。そして、この平均血中LH値は、E₂ dipropionate投与後1、2、3、4と5日目はそれぞれ1.7±0.4mIU/ml、1.7±0.4mIU/ml、1.8±0.2mIU/ml、1.8±0.1mIU/ml、1.7±0.2mIU/mlとなったが、投与前(1.9±0.2mIU/ml)と比べて有意な変化は示さなかった(図10)。血中E₂値はestrogen positive feedbackを認めた例において、E₂ dipropionate 投与後正常月経周期婦人と同様の変化を示した。E₂ dipropionate投与前、投与後1、2、3、4と5日目の平均血中E₂値は、それぞれ18.8±4.5pg/ml、833.3±125.7pg/ml、794.0±90.3pg/ml、720.6±87.9pg/ml、538.2±37.3pg/mlと322.1±46.9pg/mlであった(図9)。Estrogen positive feedbackの存在しなかった例においても、E₂ dipropionate投与後正常月経周期婦人と同様の変化を示した。E₂ dipropionate投与前、投与後1、2、3、4と5日目の平均血中E₂値は、それぞれ8.7±0.9pg/ml、926.2±79.5pg/ml、806.9±45.6pg/ml、735.3±78.6pg/ml、540.2±50.4pg/mlと322.1±57.7pg/mlであった(図10)。

E₂ dipropionate投与後1、2、3、4と5日目の平均血中E₂値は、正常月経周期婦人、estrogen positive feedbackを認めた「視床下部」性無月経とestrogen positive feedbackが存在しなかった「視床下部」性無月経との間において有意な差を認めなかった。

4. E₂ dipropionate投与後のLH-RHに対する下垂体の反応性の変化(LH-RH test)

E₂ dipropionate 投与前における LH-RH 投与前後の血中 LHの差を Δ_0 LH、そして、E₂ dipropionate投与後における1、3と5日目のLH-RH投与前後の血中LHの差を Δ_1 LH、 Δ_3 LHと Δ_5 LHとして示した。

① Estrogen positive feedback存在例

正常月経周期婦人のE₂ dipropionate投与後の LH-RHに対する下垂体の反応性は、 Δ_1 LHが25.4±7.5mIU/ml、 Δ_3 LHが62.3±11.8mIU/ml、そして Δ_5 LHが36.7±7.5mIU/mlであり、投与後3日目の値は投与前(Δ_0 LH;24.3±6.0mIU/ml)に比較して有意に(p<0.02)高値であった(図11)。Estrogen positive feedbackを認めた「視床下部」性無月経においては、

Δ_1 LHが 30.0 ± 9.7 mIU/ml、 Δ_3 LHが 70.5 ± 11.3 mIU/ml、そして Δ_5 LHが 28.6 ± 4.8 mIU/mlであり、 E_2 dipropionate 投与後3日目の値は投与前 (Δ_0 LH; 31.8 ± 8.3 mIU/ml)に比較して有意に ($p < 0.01$) 高値であった (図12)。

② Estrogen positive feedback不在例

Estrogen positive feedbackを認めなかった「視床下部」性無月経における E_2 dipropionate投与後のLH-RHに対する下垂体の反応性は、 Δ_1 LHが 12.6 ± 3.5 mIU/ml、 Δ_3 LHが 10.9 ± 3.9 mIU/ml、そして Δ_5 LHが 13.0 ± 5.6 mIU/mlであり、 Δ_0 LH(15.9 ± 5.3 mIU/ml)を含めてこれらの間に有意な差は認められなかった (図13)。

5. 血中LH-RH値

① Estrogen positive feedback存在例の血中LH-RHの変動

E_2 dipropionate 投与前の平均血中LH-RH値は、 1.5 ± 0.3 pg/mlであった。 E_2 dipropionate投与後1日目は 1.4 ± 0.4 pg/ml、投与後2日目は 1.9 ± 0.6 pg/ml、そして投与後3日目には 2.2 ± 1.0 pg/mlと上昇傾向を認めたが有意な変化ではなかった。その後下降傾向を示した (図14)。投与後2～3日目に血中LH-RH値が 2.5 pg/ml以上になった症例は24例中11例 (45.8%)であった。

② Estrogen positive feedback不在例の血中LH-RHの変動

E_2 dipropionate 投与前の平均血中LH-RH値は、 1.3 ± 0.5 pg/mlであった。 E_2 dipropionate投与後1、2、3と4日目はそれぞれ 1.1 ± 0.3 pg/ml、 1.5 ± 0.6 pg/ml、 1.3 ± 0.6 pg/mlと 1.3 ± 0.4 pg/mlであり、これらの間に有意な差は認められなかった (図15)。投与後2～3日目に血中LH-RH値が 2.5 pg/ml以上になった症例は10例中1例 (10%)であった。これは、estrogen positive feedback 存在例の投与後2～3日目に血中LH-RH値が 2.5 pg/ml以上になった症例の比率 (45.8%) に比べて有意 ($p < 0.05$) に低かった。

6. 「視床下部」性無月経の分類

以上の結果より「視床下部」性無月経を、視床下部の下垂体-卵巣の調節機能すなわちLH pulseとestrogen positive feedbackの有無から分類すると3型になる (表1)。LH pulseとestrogen positive feedbackの両方とも存在するもの (I)、LH pulseが認めら

れず estrogen positive feedbackが存在するもの(Ⅱ)、そしてこれら両方とも存在しないもの(Ⅲ)である。LH pulseが存在して estrogen positive feedbackが認められない場合はなかった。それぞれの型における血中LH、FSHとE₂の濃度を表1に示した。

V. 考察

正常月経周期婦人の卵胞期においては、LH pulseは約1.5時間に1回の頻度で認められることが知られてきている¹⁾。これは、GnRHのpulse状放出を反映するものである³⁾。今回の研究においても、前述の定義により正常月経周期婦人の全例の卵胞期において、LH pulseを認めることができた。これらの正常月経周期婦人においては、当然のことながら25 μ gのLH-RH投与により、下垂体からのLHとFSHの放出反応が認められた(Ⅳ-2)。そして正常月経周期婦人においてE₂ dipropionate投与後、血中E₂値は全例において投与後3日目まで、300pg/ml以上の上昇が認められた。平均血中E₂値においては投与後1日目に有意な上昇が認められ、この高値は3日目まで持続したが、この値は投与後4日目から有意に低下した。これらの正常月経周期婦人の全てに、E₂ dipropionate投与後の5日以内に血中LH値の上昇が認められた。今回の研究において、下垂体の反応性をみる目的で施行したLH-RH testは25 μ gと少量投与であり、また2日に1回の単回投与であるため、E₂ dipropionate投与後の血中LH値の上昇への影響はないと考えられ、E₂ dipropionate投与後の血中LH値の上昇はestrogen positive feedbackの結果と判定された。平均血中LH値は、E₂ dipropionate投与後1日目には低下傾向が認められたが、血中E₂値が高値である2日目からは上昇し始め3日目にピークに達した(図7)。正常月経周期婦人の卵胞期においても、estrogen positive feedbackが認められることはよく知られている⁸⁾。今回の研究においても、正常月経周期婦人の卵胞期においてestrogen positive feedbackの存在が認められることが明らかに示された。

さて、Knobilのグループ⁹⁾は、視床下部の一部の作用部位を破壊して、GnRHの放出を起こらなくしたサルに、LH-RHを間欠投与しながらestrogenを投与したところ、estrogen positive feedbackが認められることを発表した。これは、estrogen positive feedbackが視床下部を介さずに起こりうることを示唆するものである。しかし、視床下部には、甲状腺や副腎の機能を調節する中枢が近くに存在するのであるが、これに対する上述の視床下部破壊の影響は、Knobilのグループの論文には示されていない。また、かかる研究の追

試が他の研究者によって発表されていない。したがって、Knobilのグループの結果を直ちに信ずることはできない。

一方、Normanら¹⁰⁾は、LH-RH 非通過性のテフロン板を下垂体柄切断部に挿入したサルにおいては、LH-RHの間欠投与時のestrogen投与により、estrogen positive feedbackが発現しないことを示した。しかも、estrogen投与後血中E₂値が150pg/ml以上の値を2日間続いた後に、LH-RHの間欠投与に加えて同濃度のLH-RHの持続的投与を追加すると、estrogen positive feedbackが起こることを報告した。また、Neilら¹¹⁾は、サルにおいてLH-RHは末梢血中においては測定しえないが、下垂体門脈血中には測定しうる範囲のLH-RHが存在することを報告し、これが自然排卵前とestrogen投与後に増加することを証明した。Carmelら¹²⁾は、去勢サルにestrogenを投与すると、下垂体門脈中においてLH-RHのpulse状放出が認められ、pulseの高さが増加するものがあることを示した。これらの結果を考慮すると、サルにおけるestrogen positive feedbackは、中枢(視床下部)を介して起こると考えられる。ヒトにおいても、末梢血中のLH-RH濃度は非常に低く、これを正確に測定することは現在のところ困難である。それにもかかわらず排卵前¹³⁾あるいはestrogen投与¹⁴⁾にほぼLH surgeに一致して末梢血中のLH-RH値が上昇したという報告がある。これは数pg/mlから10pg/ml程度の増加であることが示された。

今回の研究においてestrogen positive feedbackが認められた婦人において、血中LH-RH値はE₂ dipropionate投与後3日目までに上昇し、その後下降する傾向を示した(図14)。これは有意な変化ではなかった。一方、estrogen positive feedbackが認められなかった婦人において、E₂ dipropionate投与後血中LH-RH濃度は有意な変化も変化の傾向も示さなかった(図15)。測定された血中LH-RH濃度は、前述の報告と同様に数pg/mlのものであるが、これは標準曲線(図3)の端の方のレベルであり、現在の血中LH-RHの測定法からみてもその精度は疑わしいと言わざるを得ない。また1日に1回の採血により血中LH-RHの変動を十分に捕捉できたとは考えにくい。しかし、それでもなお血中LH-RH値がE₂ dipropionate投与後3日間に2.5pg/ml以上になった症例の割合は、estrogen positive feedbackが認められた場合(45.8%)において、estrogen positive feedbackが認められなかった場合(10%)よりも有意に高頻度であった(IV-5-②)。これらはestrogen positive feedbackの発現に、視床下部からのLH-RH分泌の増加が関与していることを示唆する。すなわちヒトにおいてもestrogen positive feedbackが中枢を介して起こることを物語っている。

緒言で述べたように明らかに視床下部性、下垂体性または卵巢性と分かる無月経を除いた場合に、「視床下部」性無月経は、LH-RH testに対する下垂体のgonadotropin放出反応が認められた場合に診断されてきた。今回研究された56例の「視床下部」性無月経婦人の全例において、LH-RHに対する下垂体の反応性は当然のことながら認められ、これらの反応の程度は正常月経周期婦人と異ならなかった(IV-2)。しかし、E₂ dipropionate投与後のLH-RHに対する反応性は、正常月経周期婦人と estrogen positive feedbackが認められた「視床下部」性無月経患者の場合においては、estrogen positive feedbackが認められなかった「視床下部」性無月経患者の場合とは異なった。LH pulseを認めた「視床下部」性無月経患者28例の全例と、LH pulseが認められなかった「視床下部」性無月経患者28例中の8例に estrogen positive feedbackが認められた。正常月経周期婦人とこれらの estrogen positive feedbackが認められた「視床下部」性無月経患者の場合においては、E₂ dipropionate投与後の血中LH値は3日目に有意に高値を示すと同時に(図7、8)、LH-RHに対する下垂体のLH放出反応がまた、この時にピークとなった(図11、12)。この estrogenによる下垂体のLH-RHに対する反応性の亢進の一部は、内因性のLH-RH放出の増加によると考えられる。LH-RHは下垂体に対するそれ自身の反応を増加させ、これはLH-RHのpriming effectとしてよく知られている⁴⁾。Estrogen positive feedbackが認められなかった「視床下部」性無月経患者(図10)においては、E₂ dipropionate投与後、LH-RHに対する下垂体の反応の亢進は認められなかった(図13)。これは、かかる無月経においてはestrogenにより内因性のLH-RH放出の増加がなかったことを示唆し、これらの結果は、前述の血中LH-RH測定の結果を支持するものである。

前述したように、LH pulseはLH-RH pulseを反映したものであり³⁾、LH-RH pulseのための信号は、視床下部のpulse generatorによって発現される。おそらくestrogen positive feedbackは、dopamineやopioids作動性ニューロンを介しているものと考えられる¹¹⁾¹⁵⁾。一方、estrogen positive feedbackは、中枢を介するものであると考えられる。ヒトあるいは動物の視床下部のある部分の神経細胞にestrogen受容体の存在することが知られてきている¹⁶⁾¹⁷⁾が、estrogenの中枢における作用機構は明らかではない。

さて、ここで下垂体-卵巢機能を調節するこれらの視床下部の二つの機能を基準にして「視床下部」性無月経を分類すると(表1)のようになる。LH pulseが認められた全例にestrogen positive feedbackが発現したので、LH pulseが存在してestrogen positive feedbackが認められない例はなかった。

LH pulseとestrogen positive feedbackが共に認められる無月経(Ⅰ)は、この二つの視床下部機能に関してみるかぎりには正常であると考えられ、現在この二つの機能以外に視床下部の下垂体-卵巣系の調節機能を臨床的に知る確定的方法はないので、「視床下部」性というのは妥当ではないと考えられる。しかもこの二つの機能は正常月経周期を維持する上で重要なものである。したがって、かかる無月経はむしろ卵巣機能の軽度低下に起因すると考えた方が妥当である。このことは、この型の無月経において平均血中 E_2 値は正常月経周期の卵泡期初期におけるよりも有意に低く、一方血中LH値が、正常月経周期における卵泡期初期の血中LH値よりも有意に高いことに反映されている。しかし、これはLHのbioactivityに関する問題や他の視床下部機能についての問題を否定する訳ではない。

LH pulseが認められない無月経は、視床下部性である。これは、この無月経における血中LH、FSHと E_2 値が、正常月経周期婦人よりも有意に低いことに反映されている(図6)。

LH pulseが認められずestrogen positive feedbackが認められる無月経(Ⅱ)は、視床下部機能の軽度低下性無月経と考えられる。血中LHとFSH値のいずれも正常月経周期の卵泡期初期におけるよりも有意に低いことは、視床下部性無月経であることを示唆する。LH pulseもestrogen positive feedbackも認められない無月経(Ⅲ)は、視床下部機能の高度低下性無月経と考えられる。これらの血中LH、FSHそして E_2 値は、正常月経周期の卵泡期初期における値よりも有意に低い。さらにこの無月経(Ⅲ)の血中LHと E_2 値は、Ⅱの型の無月経におけるよりも有意に低値なのである。

Clomiphene citrateは主に視床下部を介して作用を発揮する排卵誘発剤と考えられている¹⁸⁾。すなわちclomiphene citrateは視床下部機能が正常である場合に排卵効果を発揮する。LH pulseもestrogen positive feedbackも認められる無月経(Ⅰ)患者の約90%は、このclomiphene citrateによりLH surgeが発現する。LH pulseが認められずestrogen positive feedbackが認められる無月経(Ⅱ)患者とLH pulseもestrogen positive feedbackも認められない無月経(Ⅲ)患者において、clomiphene citrateによりLH surgeが発現する患者の割合は、それぞれ約20%と0%である(未発表データ)。これらのclomiphene citrateの結果は、LH pulseとestrogen positive feedbackによる「視床下部」性無月経の再検討の妥当性と治療法の選択に重要なヒントを与えるものであると考えられる。

以上総括すると、ヒトにおいても排卵時のLH surgeのトリガーとなるestrogen positive feedbackの発現には、視床下部が関与すると考えられる。視床下部機能として、このestrogen positive feedbackと視床下部からのLH-RHのpulse分泌を反映するLH pulseの

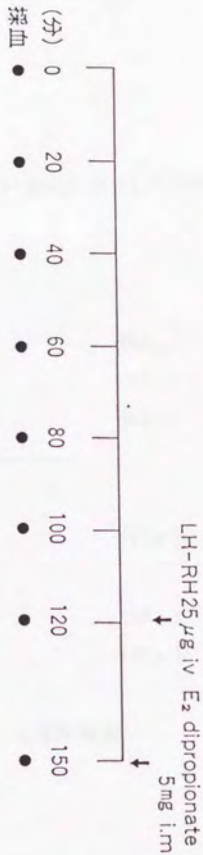
二つの機能から、従来の「視床下部」性無月経を分類すると3型に分けられる。すなわち
卵巣機能軽度低下性（Ⅰ）、視床下部機能軽度低下性（Ⅱ）そして視床下部機能高度低下
性（Ⅲ）である。この検討は「視床下部」性無月経の治療方針を決定する上で非常に重要
であると考えられる。

VI. 文献

- 1) Yen, S.S.C. The human menstrual cycle: Neuroendocrine regulation. In: Yen, S.S.C., and Jaffe, R.B., eds, Reproductive Endocrinology. Philadelphia: Saunders Company, 1991: 273-308.
- 2) Pfaff, D.W., and Schwartz-Giblin, S. Cellular mechanism of female reproductive behaviors. In: Knobil, E., and Neill, J., eds, The Physiology of Reproduction, Chapt. 35. New York: Raven Press 1988: 1487-1568.
- 3) Clarke, I.J., and Cummins, J.T. The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. Endocrinology 1982; 111: 1737-1739.
- 4) Fink, G. Gonadotropin secretion and its control. In: Knobil, E., and Neill, J., eds, The Physiology of reproduction, Chapt. 32. New York: Raven Press 1988: 1349-1377.
- 5) Yen, S.S.C., Tsai, C.C., Naftolin, F., Vandenberg, G., and Ajabor, L. Pulsatile patterns of gonadotropin release in subjects with and without ovarian function. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1972; 34: 671-675.
- 6) 苛原 稔、安井敏之、東敬次郎、青野敏博、：下垂体性ゴナドトロピン標準品を用いたLHおよびFSHのImmunoradiometric測定法（スパック-S LH, スパック-S FSH）の基礎的検討。ホと臨。1988; 36: 1223-1230
- 7) Takahashi, M., Hashimura, E., Shin, S., Imagawa, K., and Suzuki, Y. Preovulatory changes in luteinizing hormone releasing hormone concentrations in peripheral plasma in constant estrous rats at induced ovulation. Endocrinol. Japon. 1982; 29: 113-120
- 8) Yen, S.S.C., and Tsai, C.C. Acute gonadotropin release induced by exogenous estradiol during the mid-follicular phase of the menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1972; 34: 298-305
- 9) Knobil, E., Plant, T.M., Wildt, L., Belchetz, P.E., and Marshall, G. Control of the rhesus monkey menstrual cycle: permissive role of the hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. Science 1980; 207: 1371-1373.

- 10) Norman, R.L., Gliessman, P., Lindstrom, S.A., Hill, J., and Spies, H.G. Reinitiation of ovulatory cycles in pituitary stalk-sectioned rhesus monkeys: evidence for a specific hypothalamic message for the preovulatory release of luteinizing hormone. *Endocrinology* 1982; 111:1874-1882.
- 11) Neill, J.D., Patton, J.M., Dailey, R.A., Tsou, R.C., and Tindall, G.T. Luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) in pituitary stalk blood of rhesus monkeys: relationship to level of LH release. *Endocrinology* 1977; 101:430-434.
- 12) Carmel, P.W., Araki, S., and Ferin, M. Pituitary stalk portal blood collection in rhesus monkeys: evidence for pulsatile release of gonadotropin-releasing hormone (GnRH). *Endocrinology* 1976; 99:243-248.
- 13) Elkind-Hirsch, K., Ravnikar, V., Tulchinsky, D., Schiff, I., and Ryan, K.J. Episodic secretory patterns of immunoreactive luteinizing hormone-releasing hormone (IR-LH-RH) in the systemic circulation of normal women throughout the menstrual cycle. *Fertil. Steril.* 1984; 42:56-61.
- 14) Miyake, A., Tasaka, K., Sakumoto, T., Kawamura, Y. and Aono, T. Estrogen induces the release of luteinizing hormone-releasing hormone in normal cyclic women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1983; 56:1100-1102.
- 15) Knobil, E. The GnRH pulse generator. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1990; 163:1721-1726.
- 16) Blaustein, J.D., Lehman, M.N., Turcotte, J.C., Greene, G. Estrogen receptors in dendrites and axon terminals in the guinea pig hypothalamus. *Endocrinology* 1992; 131:281-290.
- 17) Stopa, E.G., Hauser, S.H., King, J.C., Blaustein, J.D. Estrogen receptor immunoreactivity in human hypothalamus. Abstract of the 19th Annual meeting of the Society for Neuroscience. Phoenix 1989; 250.8.
- 18) Huppert, L. Induction of ovulation with clomiphene citrate. *Fertil. Steril.* 1979; 31:1-8.

(1) 1日目 (LH pulse と下垂体の反応性の検討)



(2) 2日目以後 (Estrogen positive feedback と下垂体の反応性の変化の検討)

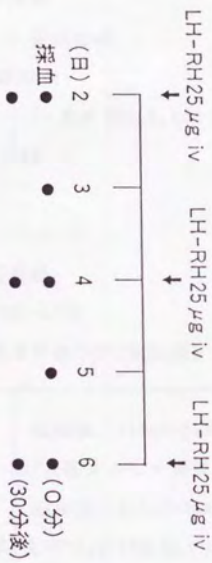


図 1 方法

(1) LH-RH 抽出法

| | |
|---------------------------|------------|
| 血漿 (EDTA-2Na + aprotinin) | 2.0ml |
| メタノール | 6.0ml |
| 0.1N 酢酸 | 50 μ l |

混和 (Vortex mixer) 後、インキュベーション (氷冷中、30分)

遠心分離 (3900rpm、30分、4℃)

上清液

蒸発乾固

フックイ用緩衝液 500 μ l

(0.01M PBS, 0.15M NaCl, 0.05M EDTA-2Na, 0.1% BSA, 0.01% NaN₃; pH7.6)

ラジオイムノアッセイ

(2) LH-RH ラジオイムノアッセイ法

| | |
|------------------|-------------|
| フックイ用緩衝液 | 200 μ l |
| 抗血清 (OAL-513) | 100 μ l |
| 検体又は標準液 (メダフ研究所) | 200 μ l |

混和後、インキュベーション (4℃、48時間)

¹²⁵I-LH-RH (大塚アッセイ研究所) 100 μ l

混和後、インキュベーション (4℃、6時間)

第二抗体 (抗ウサギIgG 血清; 日本抗体研究所) 100 μ l

正常家兎血清 (IBL) 100 μ l

混和後、インキュベーション (4℃、24時間)

遠心分離 (3000rpm、30分、4℃) 後、上清液除去

放射能測定 (γ -カウンター)

図2 LH-RH 測定操作手順

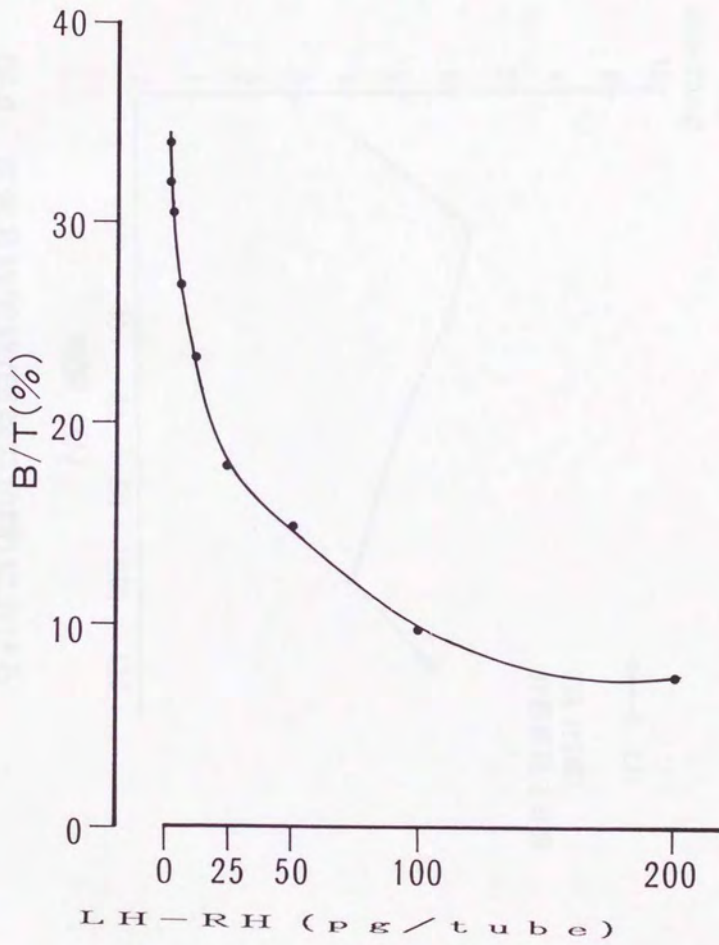


図 3 . LH-RH標準曲線

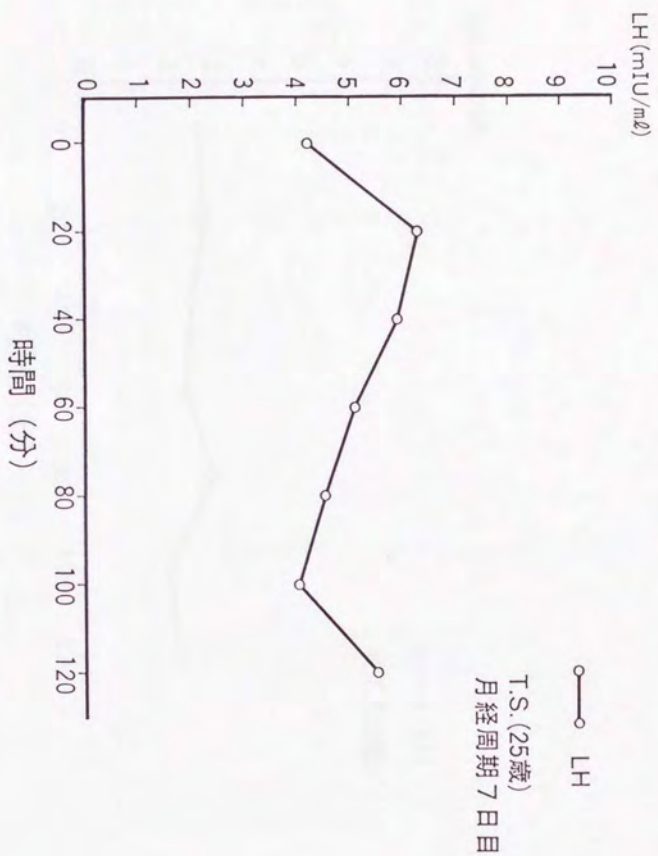


図4 正常月経周期(卵胞期初期)における LH pulse の典型例

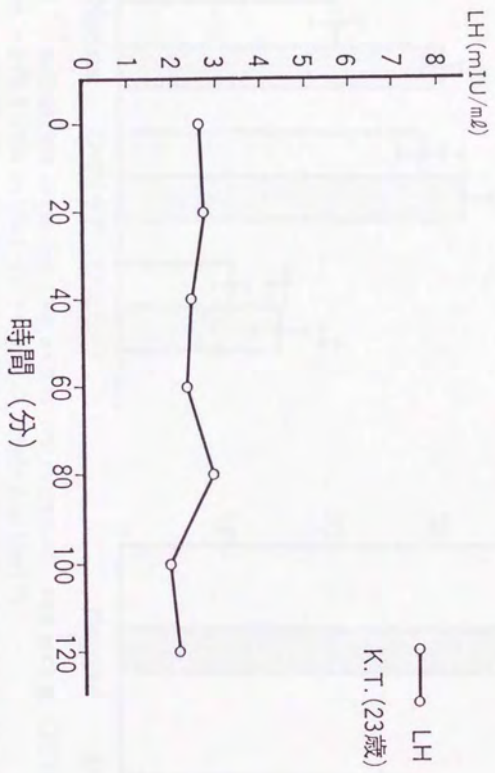


図5 LH pulse を認めなかった「視床下部」
性無月経の典型例

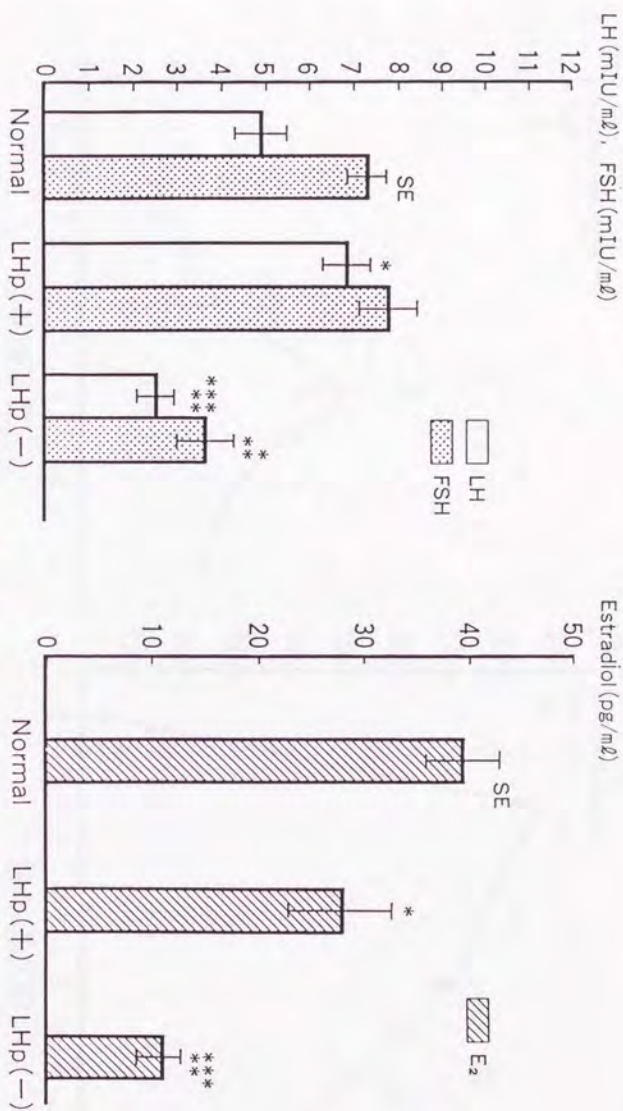
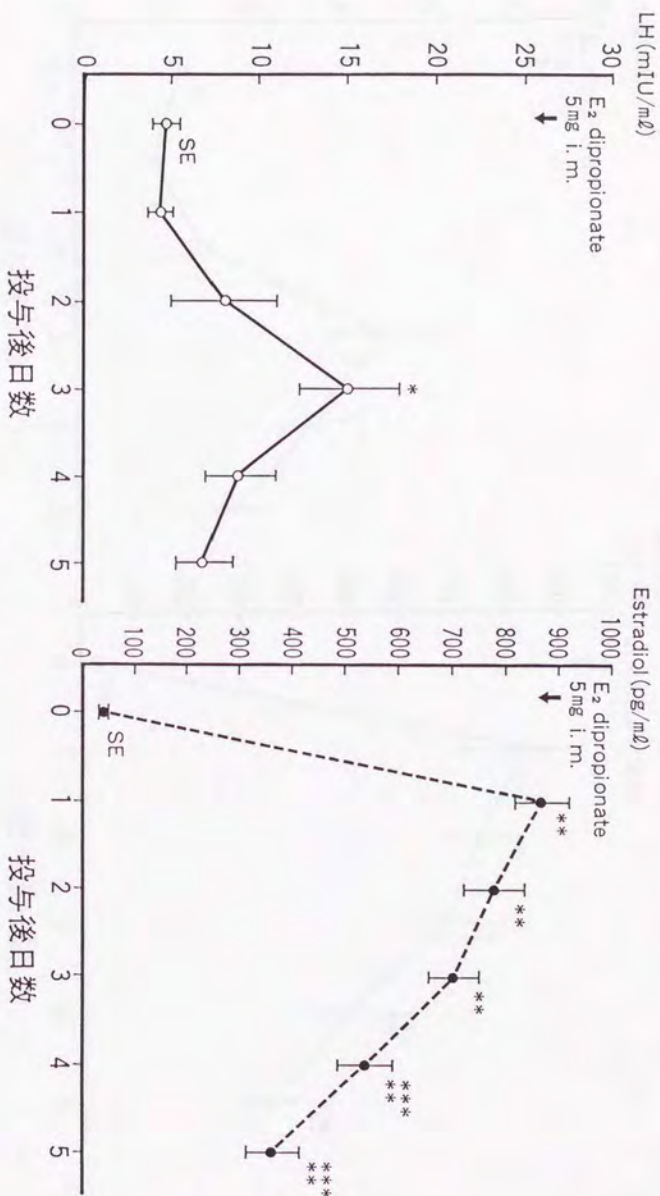
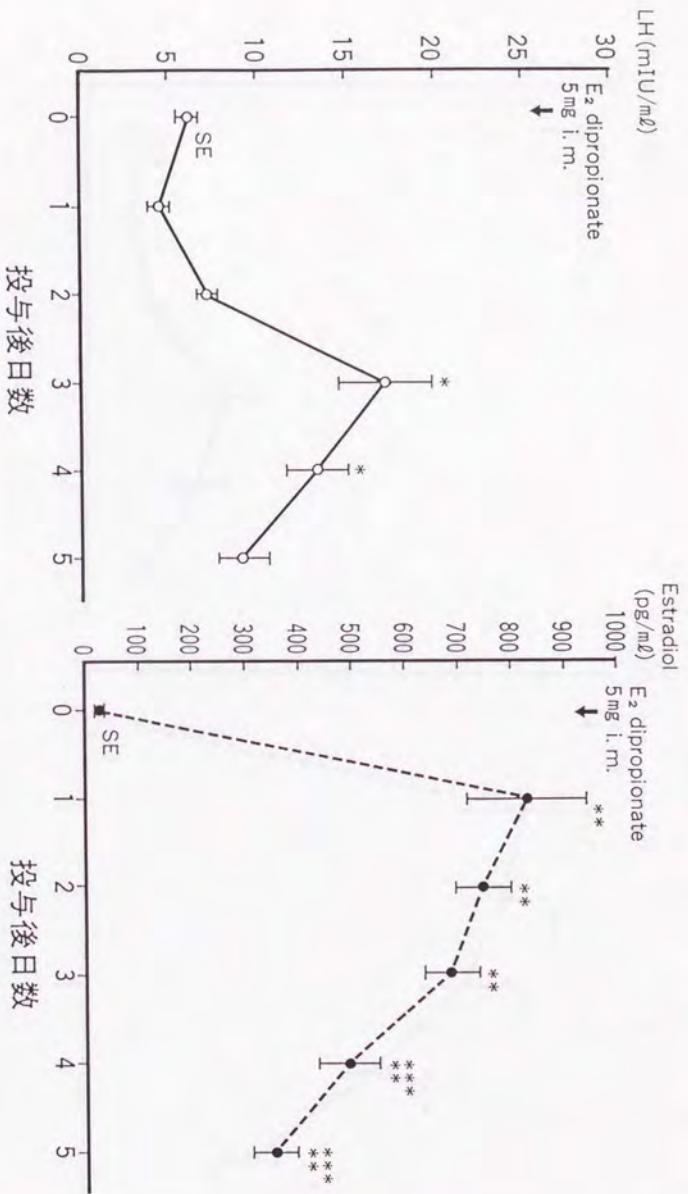


図6 正常月経周期婦人, LH pulse を認めた「視床下部」性無月経患者と
 LH pulse を認めなかった「視床下部」性無月経患者の平均血中
 LH, FSH と E₂ 濃度



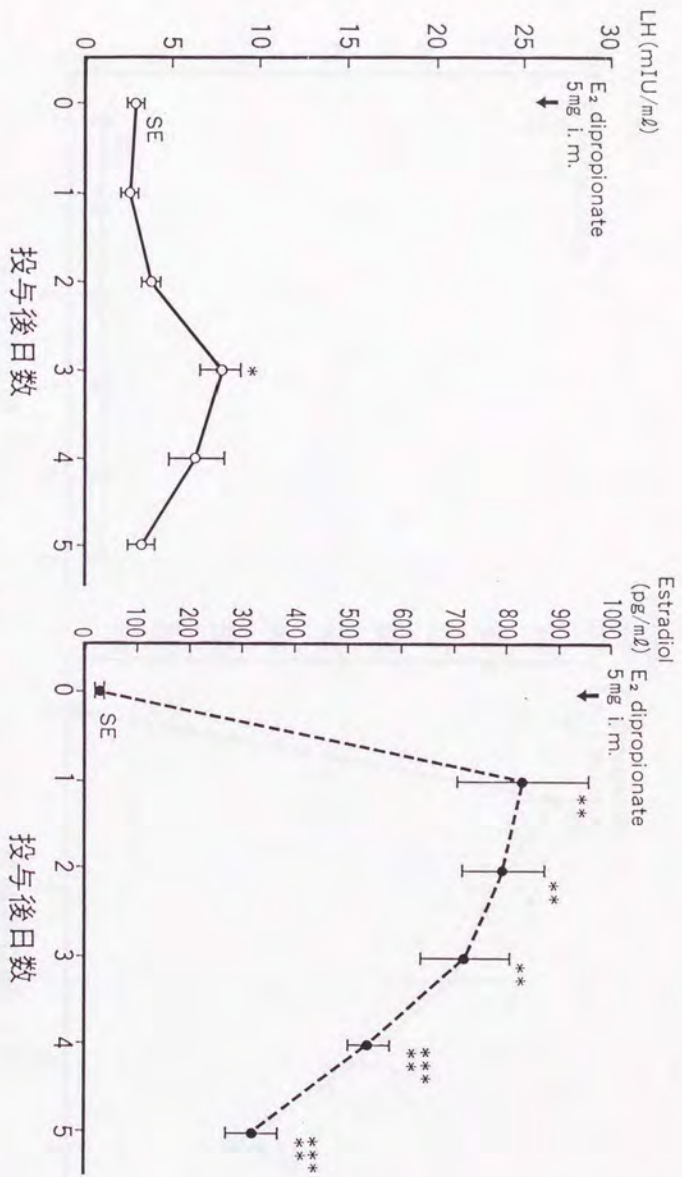
※ LH: * $p < 0.01$ (0日との比較)。
 E₂: ** $p < 0.001$ (0日との比較)。*** $p < 0.01$ (1日との比較)

図7 正常月経周期婦人(卵胞期初期)におけるE₂ dipropionate
 投与後の平均血中LHとE₂濃度の変化 (n=10)



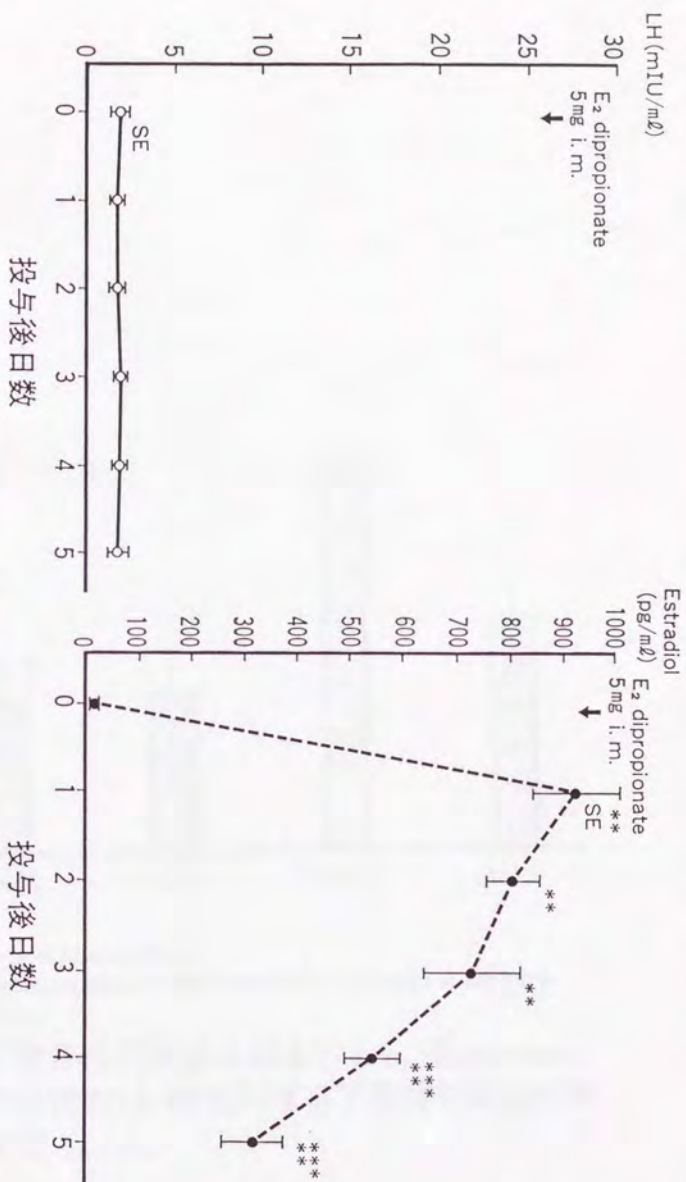
※ LH: * p<0.001(0日との比較)。
 E₂: *** p<0.001(0日との比較)。*** p<0.01(1日との比較)

図8 LH pulse と Estrogen positive feedback の両方とも存在する「視床下部」性無月経患者における E₂ dipropionate 投与後の平均血中 LH と E₂ 濃度の変化 (n=28)



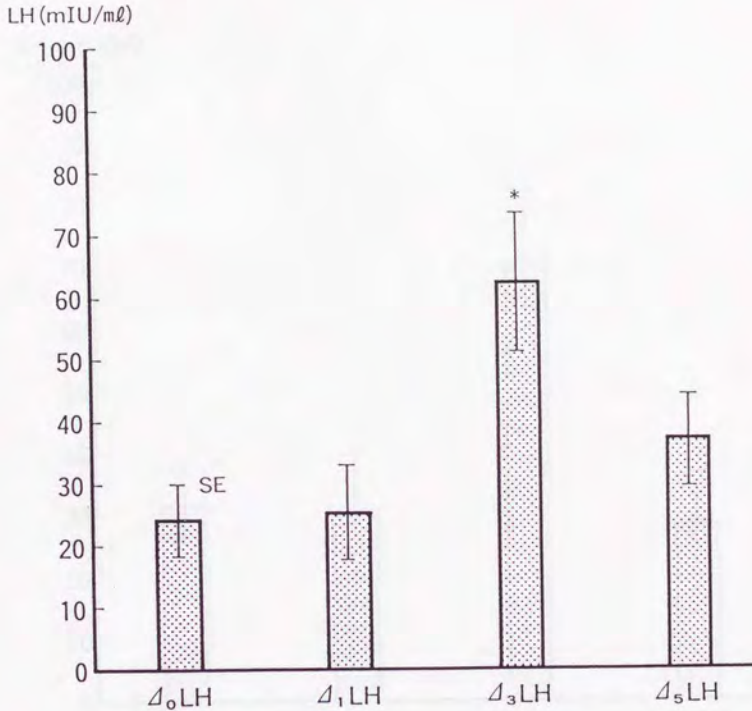
※ LH: * p<0.02(0日との比較)。
 E₂: *** p<0.001(0日との比較)。*** p<0.01(1日との比較)

図9 LH pulse が認められず Estrogen positive feedback が認められる
 「視床下部」性無月経患者における E₂ dipropionate 投与後の
 平均血中 LH と E₂ 濃度の変化 (n=8)



※ E₂; ** p < 0.001 (0日との比較)。*** p < 0.01 (1日との比較)

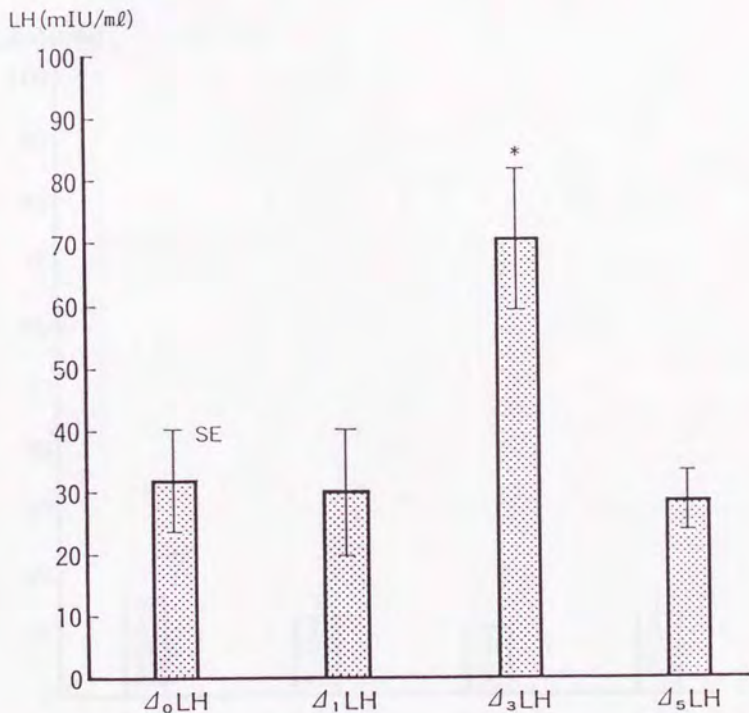
図10 LH pulse も estrogen positive feedback も認められない
 「視床下部」性無月経患者における E₂ dipropionate
 投与後の平均血中 LH と E₂ 濃度の変化 (n=20)



* $p < 0.02$ (Δ_0 LH との比較)

Δ_n LH は n 日における血中 LH 値の LH-RH 投与後と投与前との差

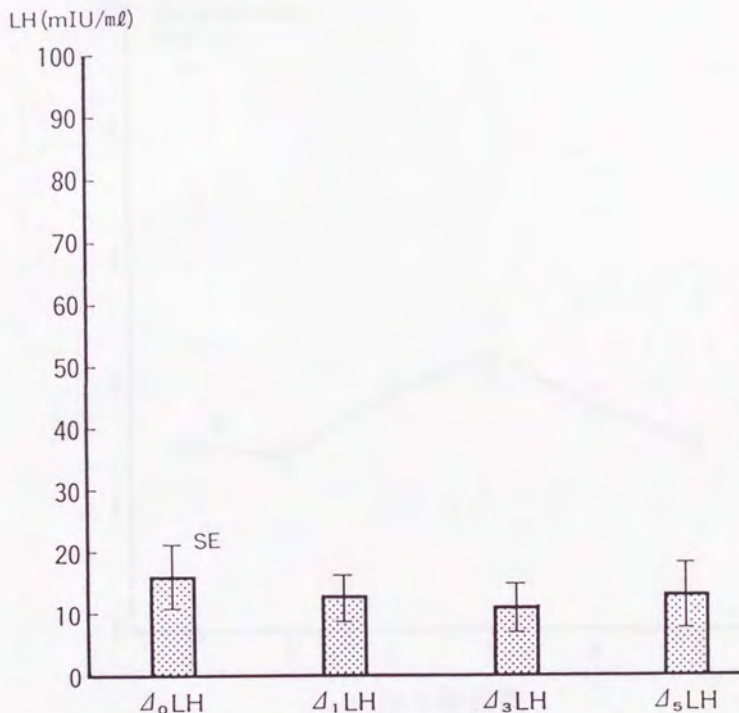
図11 正常月経周期婦人における E_2 dipropionate 投与後の LH-RH に対する下垂体の反応性の変化 (n=10)



* $p < 0.01$ (Δ_0 LH との比較)

Δ_n LH は n 日における血中 LH 値の LH-RH 投与後と投与前との差

図12 Estrogen positive feedback を認める「視床下部」性無月経患者における E_2 dipropionate 投与後の LH-RH に対する下垂体の反応性の変化 (n=14)



Δ_n LHはn日における血中LH値のLH-RH投与後と投与前との差

図13 Estrogen positive feedback を認めない「視床下部」性無月経患者における E_2 dipropionate 投与後の LH-RH に対する下垂体の反応性の変化 (n=10)

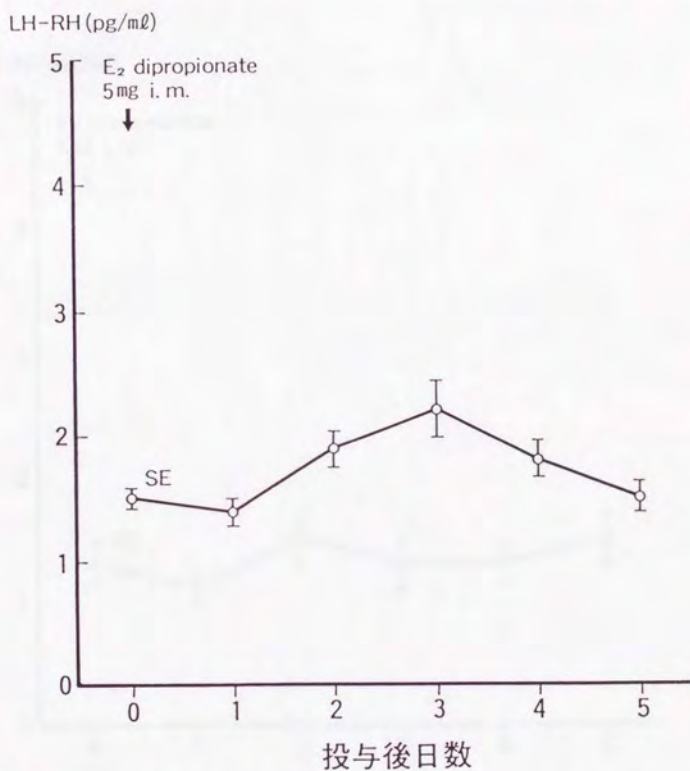


図14 正常月経周期婦人と Estrogen positive feedback を認める「視床下部」性無月経患者における E₂ dipropionate 投与後の平均血中 LH-RH 濃度の変化 (n=24)

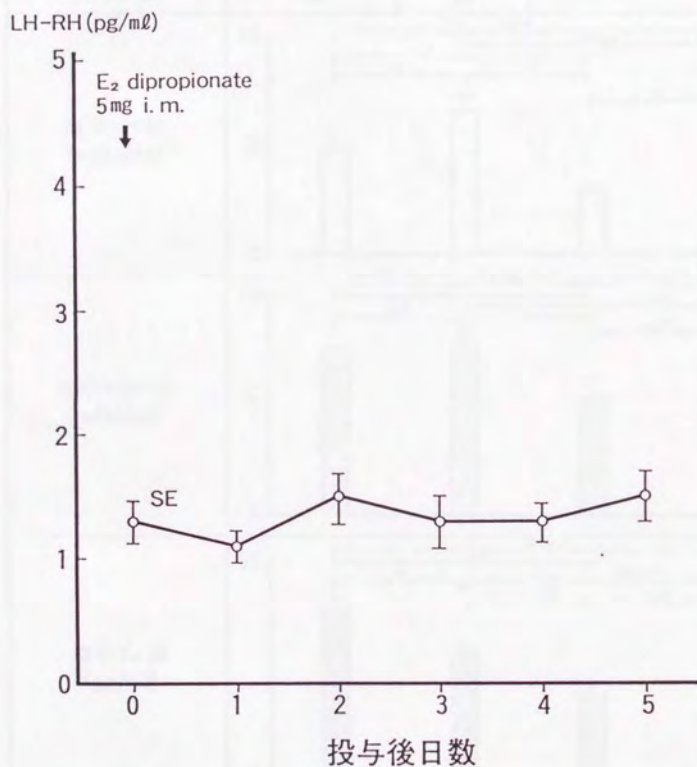
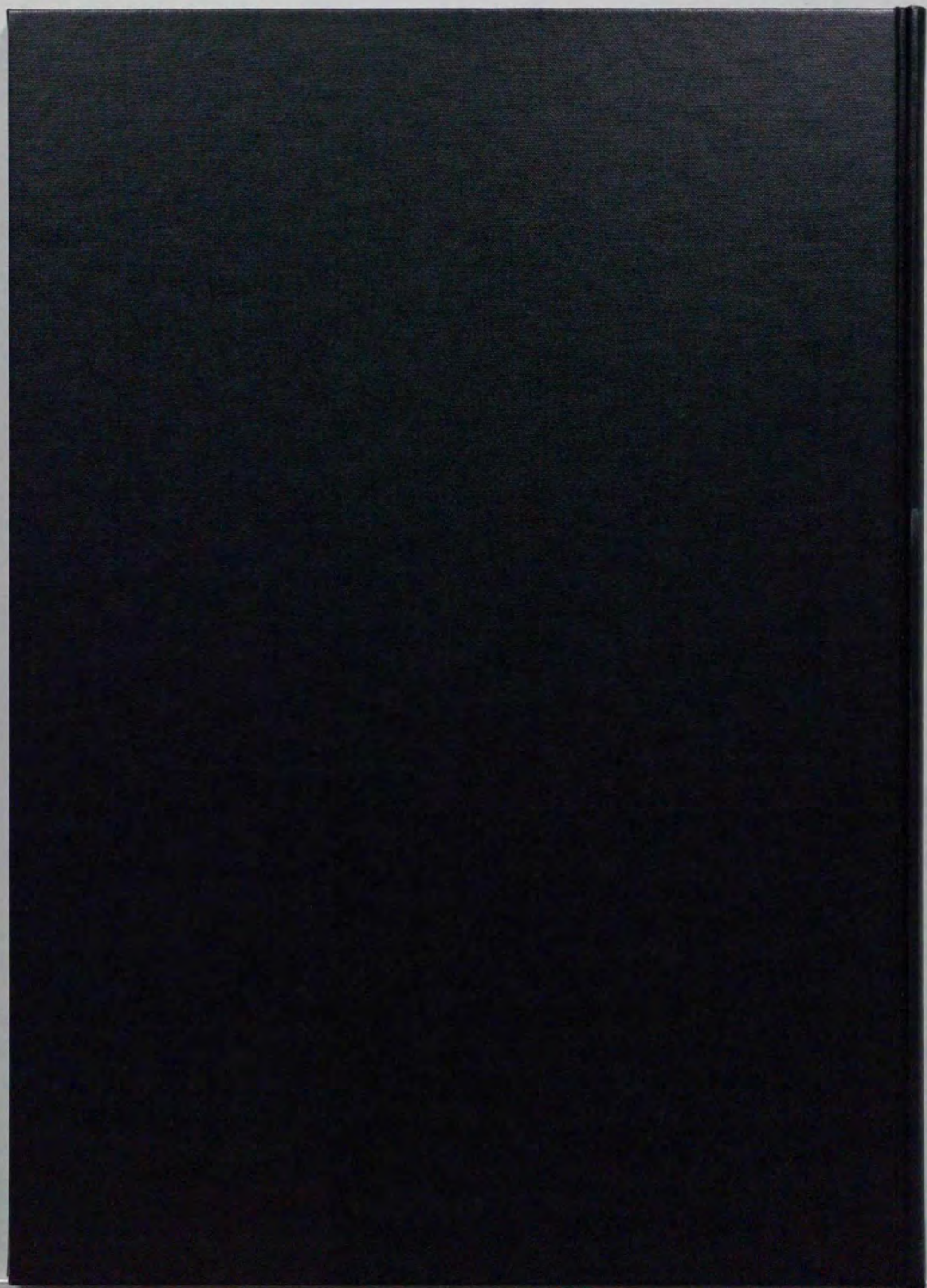


図15 Estrogen positive feedback を認めない「視床下部」性無月経患者におけるE₂ dipropionate投与後の平均血中LH-RH濃度の変化 (n=10)

| | 正常月経周期婦人 (卵胞期初期) | 「視床下部」性無月経 | | |
|-------------------------------|---------------------|---------------|-----------------|-----------------|
| | | I | II | III |
| LH pulse | + | + | - | - |
| Estrogen positive feedback | + | + | + | - |
| 症例数 | 10 | 28 | 8 | 20 |
| 血中LH値 (mIU/ml) | | | | |
| 血中FSH値 (mIU/ml) | | | | |
| 血中E ₂ 値 (pg/ml) | | | | |
| 「視床下性」性無月経 の分類 | | 卵巣機能 軽度低下性 | 視床下部機能 軽度低下性 | 視床下部機能 高度低下性 |

* $p < 0.05$, ** $p < 0.02$, *** $p < 0.01$, **** $p < 0.001$
 NS: not significant

表1 「視床下部」性無月経の分類



inches
1 2 3 4 5 6 7 8
cm
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM Kodak

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

