

《ノート》

Radioimmunoassay による血中 luteinizing hormone releasing hormone 濃度の測定

Radioimmunoassay of Luteinizing Hormone Releasing Hormone in Human Plasma

石原 睦夫* 石飛 和幸* 原田 義道*

Mutsuo ISHIHARA*, Kazuyuki ISHITOBI* and Yoshimichi HARADA*

*The Third Department of Internal Medicine, Tottori University School of Medicine

はじめに

1971 年 luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) が単離合成され, (pyro) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-HN₂ である事が明らかにされた¹⁾が, この合成 LH-RH を用いて, 間脳-下垂体-性腺系疾患の病態生理学的研究, 診断ならびに治療的应用等, 幅広い研究が進められている。

一方, 生体試料中の LH-RH 濃度測定には, 従来種々の bioassay²⁾ が試みられていたが, 感度と精度が悪く, 操作も複雑で, 臨床应用には多くの問題を残していた。1973年 Arimura ら³⁾, Keye ら⁴⁾, Jeffcoate ら⁵⁾, Kerdellhue ら⁶⁾ は合成 LH-RH の特異抗体を作製し, radioimmunoassay (RIA) による LH-RH の測定を可能とし, 本邦においても 1974 年以来, 多数の研究者が RIA により immunoreactive-LH-RH (IR-LH-RH) を測定し, 生体試料中の濃度について報告している。

著者らも抗 LH-RH 抗体を作製し, 血漿中の IR-LH-RH を測定する RIA system の開発を試み, 健常成人, 思春期前および思春期初期小児の他,

特発性下垂体性 こびと症, 特発性思春期早発症, Sheehan 症候群等, 各種内分泌疾患患者における末梢血中 IR-LH-RH 分泌動態を追求したので報告する。

実験材料

合成 LH-RH 及び TRH は田辺製薬より, LH-RH 誘導体は武田薬品より, FOY-007 (gabexate mesilate) は小野薬品より提供された。標識用 ¹²⁵I は The radiochemical centre (5 mCi/ml) 製を, benzidine dihydrochloride は Sigma 社製を, chloramine-T は半井化学薬品社製を, Sephadex G-25 は Pharmacia 社製を, 牛血清アルブミン (BSA) は第一化学薬品社製をそれぞれ用いた。

実験方法

1. LH-RH-bis-diazotized-benzidine-BSA (LH-RH-BDB-BSA) conjugate 作製

Benzidine dihydrochloride 0.23 g を 0.2 N 塩酸 45 ml に溶解し, これに 5 ml の再蒸留水に溶解した 0.175 g の硝酸ナトリウムを加え, 60 分間氷冷中で攪拌しながら反応させ, BDB を作製した。30 ml の BDB を 10 ml の 0.16 M borate, 0.15 M NaCl buffer (pH 9) で溶解した LH-RH 10 mg と BSA 100 mg に加え, 0°C で攪拌しながら 120 分

Key words: radioimmunoassay, luteinizing hormone releasing hormone, puberty.

* 鳥取大学医学部第三内科

受付: 55 年 3 月 17 日

最終稿受付: 55 年 5 月 2 日

別刷請求先: 鳥取県米子市西町 36-1 (☎ 683)

鳥取大学医学部第 3 内科

石原 睦 夫

間反応させた。この反応物をイオン交換水に対して3日間、さらに0.15 M NaClに対して24時間、いずれも4°Cで透析しLH-RH-BDB-BSA conjugateを得た。

2. 抗 LH-RH 抗体の作成

LH-RH-BDB-BSA conjugate 1.0 ml と Freund's complete adjuvant 1.0 ml を混じ、1~2週間毎に家兎 foot pads に注射し、3ヶ月後に抗 LH-RH 抗体を得た。

3. LH-RH の標識および精製

^{125}I -LH-RH の作製は Greenwood & Hunter の方法¹⁵⁾に準じ、chloramine-T 法で作成した。即ち ^{125}I 0.5 mCi と LH-RH 5 μg を chloramine-T 25 μg で20秒間反応させ、 ^{125}I を LH-RH に標識した。 ^{125}I -LH-RH の精製には Sephadex G-25 medium column (1×20 cm) を用い、0.5% BSA, 0.01 M phosphate, 0.15 M NaCl buffer (pH 7.5) で溶出し、1.0 ml/ずつ分画採取した。

4. LH-RH free 血漿の作成

凍結保存された健常成人血漿 1.0 ml に activated charcoal (Noroit A) 30 mg を加え、24時間室温で攪拌した後12,000 rpm で30分間遠沈し、上澄を採取した。この操作を再度繰り返した後、濾過した血漿を LH-RH free 血漿とした。

5. 血漿 LH-RH の抽出

血液 6 ml を、あらかじめヘパリン塗布した注射器に採取し、直ちに FOY-007 0.02 M とよく混和し、4°Cの低温下で血漿を分離した。血漿 3 ml に10 ml の冷酢酸酸性メタノールを加え混和後、遠沈した上澄をガラス試験管に移し、室温で減圧乾燥させた。測定時0.5 ml の0.5% BSA, 0.01 M phosphate, 0.15 M NaCl buffer (pH 7.5) にて溶解し、その0.1 ml を測定に供した。

6. 測定方法

プラスチック試験管 (15×80 mm) に、標準溶液 (3 pg/tube から1,000 pg/tube) および LH-RH free 血漿抽出物 0.1 ml または検体 0.1 ml をそれぞれ加え、次に全試験管に0.1% gelatin, 0.01 M phosphate, 0.15 M NaCl buffer (pH 7.5) で希釈した抗 LH-RH 抗体 (最終希釈度 25,000 倍) 0.1 ml およ

び ^{125}I -LH-RH 0.1 ml (10,000 cpm/tube 相当) を加えた。全試験管の液量を 0.9 ml に調製し、4°C、24時間孵置後、同 buffer で20倍に希釈した抗家兎 γ -globulin 山羊血清 0.1 ml を加え、さらに4°C、24時間放置後、3,000 rpm にて30分間遠沈し、free form (F) と bound form (B) に分離した。B の比放射能を well-type- γ -scintillation counter で測定し、全カウントに対する B カウントの比 (B/T) から該当する IR-LH-RH 量 (pg/tube) を算出し、これを1.67倍して理論上の血漿 IR-LH-RH 濃度 (pg/ml) を求めた。

7. 有意差の検定

スチューデント-t テストを用いた。

対 象

対象は鳥取大学医学部第三内科の医師、研究員等健常成人7例(22~27歳)、ならびに当科外来および入院患者のうち臨床症状および臨床検査所見から正常短軀者と診断した小児23例(6~10歳で、二次性徴を認めない思春期前の5例、11~13歳で Tanner II 度の二次性徴を認めた思春期初期の18例)、特発性下垂体こびと症22例、特発性思春期早発症、特発性多毛症、Sheehan 症候群、橋本病および成人型糖尿病各1例、cretinism 2例、Basedow 病8例の計67例で、成熟女子は卵胞期を選んだ。

成 績

1. ^{125}I -LH-RH の精製

前述の方法で得た ^{125}I -LH-RH を Sephadex G-25 medium column でゲル濾過し、図-1 に示した如く二峰性の radioactivity を得た。Fraction (Fr) 別に抗 LH-RH 抗体との immunoreactivity をみると、最初の峰は抗体との結合能を認めず、第 II の峰に結合能を認め、 ^{125}I -LH-RH と考えられた。Fr 20 の immunoreactivity が最も良く、この部分の immunoreactivity を 100% とすれば Fr 7 は 0%, Fr 14 は 30%, Fr 16 は 86%, Fr 24 は 93% で、以後の実験には Fr 19~86 の分画を ^{125}I -LH-RH とし、4°C 保存により、1 ケ

2. 抗体の特異性

2. 抗体の特異性

3. 標準曲線

relative immunoreactivity

Fr. 7	0%
Fr. 14	30%
Fr. 16	86%
Fr. 20	100%
Fr. 24	93%

radioactivity $\times 10^5$ cpm/ml

fraction number (ml)

Fig. 1 Result of purification of ^{125}I -LH-RH on 1×20 cm column of Sephadex G-25, using 0.5% BSA, 0.01 M phosphate and 0.15 M NaCl buffer (pH 7.5)

4. 回收率

5. 再現性

Figure 1 is a semi-logarithmic plot showing the binding of ^{125}I -LH-RH to rat pituitary membranes. The y-axis represents the ratio of bound to total radioactivity, B/T (%), ranging from 0 to 60. The x-axis represents the concentration of LH-RH in pg/tube on a logarithmic scale, ranging from 1 to 1000. Two data series are plotted: LH-RH + LH-RH free plasma (solid line with filled circles) and LH-RH + buffer (dashed line with open circles). Both curves show a decrease in B/T as LH-RH concentration increases, with the buffer curve being slightly higher at lower concentrations.

LH-RH (pg/tube)	B/T (%) (LH-RH + LH-RH free plasma)	B/T (%) (LH-RH + buffer)
1	60	55
2	58	54
5	56	53
10	54	52
20	52	50
50	48	45
100	42	40
1000	15	14

Fig. 2 Standard curve with extract of LH-RH-free human plasma or with buffer.

Table 1 Cross reactivity of various compounds with anti-LH-RH serum

LH-RH Analogues	% Cross Reactivity
pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH ₂ (LH-RH)	100.00
pGlu-Phe-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH ₂	2.63
pGlu-His-Trp-Ala-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH ₂	0.50
pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Cly-Ile-Arg-Pro-Gly-NH ₂	0.50
pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Val-Arg-Pro-Gly-NH ₂	3.45
pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Lys-Pro-Gly-NH ₂	0.02
pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-NH-CH ₃	0.03
pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-NH-CH ₂ -CH ₃	<0.02
pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-NH-(CH ₂) ₂ -CH ₃	<0.02
pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-N-CH ₂ -CH ₃ CH ₂ -CH ₃	<0.02

Table 2 Recoveries of added synthetic LH-RH after extraction from pooled human plasma

LH-RH added (pg/ml)	N	IR-LH-RH recovered (pg/ml)	Recovery (%)
7.9	3	8.7±1.4	110±16
15.8	3	16.0±3.3	101±21
31.6	3	24.3±4.1	77±17
63.2	3	43.9±0.5	70±1

Table 3 Clinical and experimental data for the 4 normal male adults and the 3 normal female adults during the follicular phase of the menstrual cycle.

Patient No.	Age (yr)	Sex	IR-LH-RH (pg/ml)
N1	22	F	ND
N2	22	M	35.0
N3	22	M	30.4
N4	23	F	20.0
N5	23	M	46.4
N6	27	F	ND
N7	27	M	3.5

6. 血中 IR-LH-RH の測定成績

血中 IR-LH-RH 値は、健常成人 7 例 (22~27 歳) の ND~46.4 pg/ml, 平均 19.3 ± 17.3 pg/ml (ND は 0 pg/ml として計算した) に比べ (Table 3), 11~13 歳の思春期初期の小児 18 例は ND~36.8 pg/ml, 平均 12.2 ± 11.2 pg/ml で (Table 4), 健常成人に比べ若干低値の傾向を示した (Fig. 3). これに対し 6~10 歳の思春期前の小児 5 例は ND~5.1 pg/ml, 平均 1.6 ± 2.1 pg/ml の明らかな低値であった ($p < 0.05$).

特発性下垂性こびと症 22 例 (8~28 歳) の血中 IR-LH-RH 値は ND~52.8 pg/ml, 平均 11.0 ± 14.3 pg/ml と、健常成人に比べ低値の傾向 ($P = 0.1$) を認めた (Table 5).

特発性思春期早発症 (D1) は 60 pg/ml の高値を示し、特発性多毛症 (D7), Sheehan 症候群 (D13) および成人型糖尿病 (D14) は、いずれも ND の低値であり、Basedow 病 8 例 (D4, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 15) は 4.0~69.6 pg/ml, 平均 21.4 ± 22.0 pg/ml で、cretinism 2 例 (D2, 3) は、それぞれ 40.0 お

Table 4 Clinical and experimental data for the 23 normal variant small children. Basal LH and FSH levels and their peak levels after LH-RH (200 μ g, i.v.) injection were evaluated by a radioimmunoassay.

Patient No.	Age (yr)	Sex	LH (mIU/ml)		FSH (mIU/ml)		IR-LH-RH (pg/ml)
			basal	max.	basal	max.	
C1	6	F					ND
C2	9	F					ND
C3	10	F	6		7		ND
C4	10	M	4	28	9	22	3.0
C5	10	M					5.1
C6	11	F					9.0
C7	11	F					7.1
C8	11	F	7		3		5.8
C9	11	M					ND
C10	11	M	4		5		6.0
C11	11	M	6	54	15	17	10.4
C12	11	M	7	74	6	15	5.1
C13	12	F	9		8		6.0
C14	12	F	17		11		33.0
C15	12	F	14		5		36.8
C16	12	M	10	78	12	18	6.6
C17	12	M	6	38	13	85	7.0
C18	12	M	5	54	9	13	ND
C19	12	M	9	62	12	22	29.5
C20	13	M					20.5
C21	13	M	9		6		6.5
C22	13	M	8	69	2	10	4.2
C23	13	M	9	52	10	18	26.4

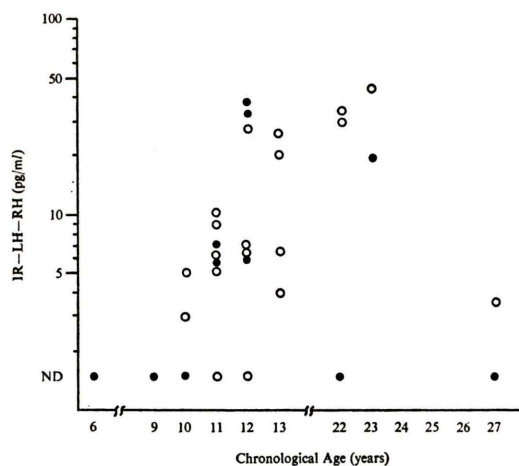
**Fig. 3** The correlation between plasma IR-LH-RH and chronological age in normal-variant small children, normal adult males and normal adult females during the follicular phase of the menstrual cycle (male: ○, female: ●).

Table 5 Clinical and experimental data for the 22 idiopathic pituitary dwarfs. Basal LH and FSH levels and their peak levels after LH-RH (200 μ g, i.v.) injection were evaluated by a radioimmunoassay. Isolated GH deficiency:*

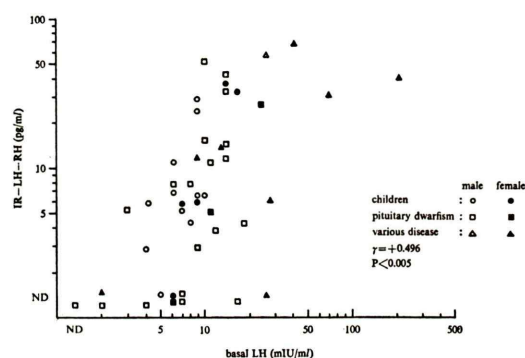
Patient No.	Age (yr)	Sex	LH (mIU/ml)		FSH (mIU/ml)		IR-LH-RH pg/ml
			basal	max.	basal	max.	
P 1	8	F	6	9	10	16	ND
P 2	9	M	2	8	3	10	ND
P 3	10	F	11	24	10	19	5.2
P 4	11	M	9	22	5	13	2.8
P 5*	11	M	7	28	9	21	ND
P 6	12	M	7	14	10	23	ND
P 7*	12	F	10	46	8	22	15.0
P 8*	13	F	18	195	9	21	4.3
P 9	13	M	4	63	6	8	ND
P10*	14	F	14	120	9	31	12.0
P11	16	M	12	39	5	9	3.7
P12	17	M	11	12	5	7	10.3
P13	17	M	6	7	7	11	7.5
P14	18	M	ND	5	3	5	ND
P15	18	M	3	6	5	9	5.1
P16	18	M	13	26	2	9	14.5
P17*	19	F	23	120	14	42	25.6
P18	21	M	17	38	12	30	ND
P19	22	M	14	96	17	23	41.6
P20	22	M	10	23	13	18	52.8
P21	26	M	14	66	21	38	33.0
P22	28	M	8	11	11	14	7.9

および 13.6 pg/ml, 橋本病 (D 10) は 21.6 pg/ml であった (Table 6).

小児(正常短軀者), 特発性下垂体こびと症, Basedow 病等における血中 IR-LH-RH 値と血中 LH 基礎値は, 相関係数 +0.496 の比較的良好な相関を示した (Fig. 4).

考 察

1973 年頃より, LH-RH を polyvinylpyrrolidone^{3,7)}, human albumin¹³⁾, BSA^{4,5,9,10,11,12)} 等と結合させた conjugate を抗原として, 動物に注射

**Fig. 4** The correlation between plasma IR-LH-RH and plasma LH.**Table 6** Clinical and experimental data for the 15 patients with various diseases. Basal LH and FSH levels and their peak levels after LH-RH (200 μ g, i.v.) injection were evaluated by a radioimmunoassay. Blood samples from mature females were obtained during the follicular phase of the menstrual cycle

Patient No.	Age (yr)	Sex	LH (mIU/ml)		FSH (mIU/ml)		IR-LH-RH pg/ml	Diagnosis
			basal	max.	basal	max.		
D 1	10	F	16	230	12	24	60.0	pubertas precox
D 2	16	F	210	480	13	87	40.0	cretinism
D 3	18	F	13	70	13	20	13.6	cretinism
D 4	23	F	9	114	12	27	11.5	Basedow's disease
D 5	25	F					5.1	Basedow's "
D 6	28	F					4.0	Basedow's "
D 7	31	F	27	81	23	33	ND	hirsutism
D 8	38	F					38.4	Basedow's disease
D 9	42	F	40	260	13	26	68.6	Basedow's "
D10	46	F					21.6	Hashimoto's "
D11	47	F					5.1	Basedow's disease
D12	49	M	28	342	13	18	6.0	Basedow's "
D13	50	F	2	11	3	11	ND	Sheehan's "
D14	60	M					ND	diabetes mellitus
D15	69	F	70	282	94	145	31.2	Basedow's disease

し、LH-RH に特異的な抗体を作製し、LH-RH の測定が可能な RIA system が報告されている。著者らは LH-RH-BDB-BSA を抗原として、家兎に免疫して作製した抗体を用い、LH-RH の末梢血中動態を検討可能な RIA の開発を試みた。

得られた抗体は LH-RH に特異的に結合し、各種 LH-RH 誘導体をはじめ TRH, hLH, hFSH 等のホルモンとの免疫学的交叉性はほとんど認められず、LH-RH に対して極めて特異性が高い事が知られた (Table 1)。

LH-RH は Greenwood & Hunter の方法¹⁵⁾に準じて ^{125}I で標識し、Sephadex G-25 column で精製した。Gammaspectrogram には二つの放射性ピークが得られ、第二のピークを過ぎた部分が抗 LH-RH 抗体を最も良く結合した (Fig. 1)。本研究では放射能および結合能の両面で満足できる Fr 19~21 の分画を用いた。 ^{125}I -LH-RH は冷所保存により 1 ヶ月間安定であったが、用時精製すればさらに長期間有効な事が推察された。

末梢血中の LH-RH 濃度の測定にあたり、RIA 系に及ぼす血漿の非特異的影響を除外するため、charcoal 処理した LH-RH free 血漿抽出物を、標準曲線に添加した。Arimura ら⁹⁾は血漿 4.0 ml に 500 mg の activated charcoal を加えれば、LH-RH はほぼこれに 99% 吸着されると報告している。Saito ら⁹⁾は血漿 10 ml に activated charcoal 50 mg を添加して、同様の回収率を示している。著者らは Saito ら⁹⁾の方法に準じて操作した事により、ほぼ LH-RH を含まない血漿を作製し得たと考えられる。

採血後血中 LH-RH 濃度は経時的に低下するが、その程度は体液の条件に近い 37°C, pH 7.0 で最大で、time dependency を示しており^{9,11)}、蛋白分解酵素などの enzyme system が関与している可能性が強い。Keye ら⁴⁾は採血後直ちに氷冷し、4°C で血漿分離し、採血後 14 日以内に測定する事で、血漿を直接 assay に用いている。しかし、通常は採血後直ちに LH-RH を抽出し^{3,6,9-14)}、凍結保存し、buffer に溶かして測定される。血漿から LH-RH を抽出する為には、3 倍量以上のメタノールを用いれば、80% 以上^{7,11)}を回収出来ると言われる。著者らは冷酢酸酸性メタノールを 3.3 倍量用い、平均 90% の回収率を得た (Table 2)。

本 RIA system の最少検出量は 3 pg/tube で、諸家の報告した結果 1 pg/tube 以下^{3,7,13,14)}、2 pg/tube⁴⁾、3 pg/tube⁹⁾、10 pg/tube¹¹⁾、20 pg/tube⁵⁾、50 pg/tube^{6,8)} 等に比べ、ほぼ満足しうる成績と考えられた。LH-RH RIA system の同一 assay 内での再現性は、Saito ら⁹⁾ 6.4%、熊坂ら⁷⁾ 6%、衣笠ら¹¹⁾ 6.8—12.9%、著者ら 13% であり、assay 間での再現性は Saito ら⁹⁾ 9.6%、衣笠ら¹¹⁾ 2.3—9%、著者ら 16% であり、著者らの RIA system は、再現性について今後さらに改善する必要性が示唆された。

健康成人男子における血中 IR-LH-RH 値は、用いた assay system により異なり、著者らの IR-LH-RH 値は平均 19.3 ± 17.3 pg/ml で、Keye ら⁴⁾の 67.9 ± 12.3 pg/ml より低値で、Saito ら⁹⁾の 20 pg/ml 以下、衣笠ら¹¹⁾の 10 pg/ml 以下、橋村ら¹³⁾の 1.73 ± 0.47 pg/ml に比べ高値であった。このことは、本 RIA system の特異性に若示の問題が残された事を示唆している。

成熟婦人における血中 IR-LH-RH 値は、成人男子とほとんど同様な値^{4,9,11)}だが、midcycle の時期には増加する^{9,11)}事、高齢男子、閉経後婦人および去勢後成人では、血中 IR-LH-RH 値は高値を示すものが多く^{9-11,13)}、小児では低値^{4,9,10)}を示す事が報告されている。本研究では、6~10 歳の思春期前小児における血中 IR-LH-RH 値は 1.6 ± 2.1 pg/ml、11~13 歳の思春期初期の小児は 12.2 ± 11.2 pg/ml であり、11 歳を境として著明な LH-RH 分泌の増加がみられる事を明らかにした (Fig. 3)。この LH-RH 分泌は、既に諸家により示されて来た思春期初期の gonadotropin 分泌増加^{16,17)}と、時期的に一致している。また血中 IR-LH-RH 濃度には、LH と同様に思春期年齢以降 pulsatile pattern の変動¹²⁾が報告されており、著者らの思春期初期の小児および成人における血中 IR-LH-RH 値が、本 assay 系の変動係数 13~16% を著しくこえるばらつきを示した事と符合

する。

血中 IR-LH-RH 値は polycystic ovary¹¹⁾, Turner 症候群¹¹⁾ および第二度無月経¹¹⁾ では高値, Fröhlich 症候群¹⁰⁾では低値を示す事が報告されている。本研究では, 特発性下垂体性こびと症例22における血中 IR-LH-RH は低値の傾向を示すこと, ならびに特発性思春期早発症1例は高値, 特発性多毛症および Sheehan 症候群各1例は低値であることを報告した。

血中 LH 基礎値と血中 LH-RH 生物活性が正の相関を示す事は, 既に Malacara ら²⁾により報告されているが, 著者らも本 assay system により同様の結果を得ており (Fig. 4), 末梢血中 IR-LH-RH 値は, 下垂体門脈血中 LH-RH 濃度と平行する事が示唆され, 血中 IR-LH-RH の測定は, 視床下部-下垂体-性腺系の機能ならびに病態生理の解明に有用な方法であると考ええる。

ま と め

1. 合成 LH-RH を BDB-BSA と結合した conjugate で家兎を免疫し作成した抗 LH-RH 抗体を用いて, ヒト末梢血中 LH-RH immunoreactivity (IR-LH-RH) を測定した。

2. 抗 LH-RH 抗体は LH-RH と特異的に結合し, 最少検出量は 3 pg/tube で, 回収率は平均 90%, 同一 assay 内の変動係数は平均 13%, assay 間の変動係数は平均 16% であった。

3. 本法で測定した血漿中 IR-LH-RH 値は, 健康成人 7 例 (22~27 歳, 成熟婦人は卵胞期) で感度以下 (ND)~46.4 pg/ml, (19.3 ± 17.3 pg/ml; 平均値 \pm SD), 6~10 歳の思春期前の小児 5 例で ND~5.1 pg/ml (1.6 ± 2.1 pg/ml), 11~13 歳の思春期初期の小児 18 例で ND~36.8 pg/ml (12.2 ± 11.2 pg/ml), 特発性下垂体性こびと症 22 例 (8~28 歳) で ND~52.8 pg/ml (11.0 ± 14.3 pg/ml), 特発性思春期早発症女子 (10 歳) は 60.0 pg/ml, 特発性多毛症女子 (31 歳) および Sheehan 症候群 (50才) は共に ND を得た。

4. 末梢血中 IR-LH-RH の測定は, LH-RH 分泌動態を知るうえに重要な意義を有し, 視床下部-

下垂体-性腺系の機能ならびに病態生理の解明に有用な方法である。

稿を終るにあたり, 御指導をいただいた徳島大学医学部中央検査部, 斎藤史郎教授に深謝致しますとともに, 御助言と御校閲をいただいた同部, 大島一洋講師に心から感謝致します。

本稿要旨の一部は第53回日本内分泌学会, 秋期大会および The Second Asia Oceania Congress of Nuclear Medicine に於て報告した。

本研究の一部は, 厚生省特定疾患調査研究費補助金によったことを附記し, 感謝します。

文 献

- 1) Matsuo H, Baba Y, Nair RMG, et al: Structure of the porcine LH- and FSH- releasing hormone. *Biochem Biophys Res Commun* **43**: 1334-1339, 1971
- 2) Malacara J, Seyler LE, Reichlin S: Luteinizing hormone releasing factor activity in peripheral blood during the midcycle luteinizing hormone ovulatory surge. *J Clin Endocr* **34**: 271-278, 1972
- 3) Arimura A, Sato H, Kumasaka T, et al: Production of antiserum of LH-releasing hormone (LH-RH) associated with gonadal atrophy in rabbits. Development of radioimmunoassay of LH-RH. *Endocrinology* **93**: 1092-1103, 1973.
- 4) Keye WR, Kelch RP, Niswender GD and Jaffe RB: Quantitation of endogenous and exogenous gonadotropin releasing hormone by radioimmunoassay. *J Clin Endocrinol Metab* **36**: 1263-1267, 1973.
- 5) Jeffcoate SL, Fraser HM, Gunn A and Holland DT: Radioimmunoassay of luteinizing hormone releasing factor. *J Endocr* **57**: 189-190, 1973.
- 6) Kerdelhúe B, Jutisz M, Gillesse D and Studer RO: Obtention of antisera against a hypothalamic decapeptide (luteinizing hormone/follicle stimulating hormone releasing hormone) which stimulates the release of pituitary gonadotropins and development of its radioimmunoassay. *Biochem Biophys acta* **297**: 540-548, 1973.
- 7) 能坂高広, 斎藤 幹, 矢追良正, 他: LH-RH の radioimmunoassay に関する検討. *日内分泌誌* **50**: 180, 1974.
- 8) 玉田太郎, 小沼誠一, 荒木重雄, 五十嵐正雄: A radioimmunoassay of LH-RH. *日内分泌誌* **50**: 1144, 1974.
- 9) Saito S, Musa K, Oshima I, et al: Radioimmunoassay for luteinizing hormone releasing hormone

- in plasma. *Endocrinol Japon* **22**: 247-253, 1975.
- 10) 山本鈴代, 撫佐公孝, 船戸豊彦, 他: Luteinizing hormone releasing hormone の分泌とその機序. 日内分泌誌 **51**: 303, 1975.
- 11) 衣笠隆之, 谷沢 修, 山地建二, 倉智敬一: LH-RH の radioimmunoassay に関する研究. 日内分泌誌 **54**: 305, 1978
- 12) 山本鈴代, 大島一洋, 船戸豊彦, 斎藤史郎: LH-RH の分泌調節に関する研究. 日内分泌誌 **52**: 327, 1976
- 13) 橋村悦郎, 申 貞均, 今川健一, 他: LH-RH radioimmunoassay の臨床への応用, とくに血中 LH-RH の婦人の加齢に伴う変化について. 日内分泌誌 **54**: 305, 1978
- 14) 川村泰弘, 三宅 侃, 青野敏博, 他: 去勢後の血中 LH-RH の推移. 日内分泌誌 **55**: 297, 1979
- 15) Greenwood FC and Hunter WM: The preparation of ^{125}I -labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem J* **89**: 114-123, 1963
- 16) Winter JS and Faiman C: Pituitary-gonadal relations in male children and adolescents. *Pediat Res* **6**: 126-135, 1972.
- 17) August GP, Grumbach MM and Kaplan SL: Hormonal changes in puberty. III. Correlation of plasma testosterone, LH, FSH, testicular size, and bone age with male pubertal development. *J Clin Endocr* **34**: 319-326, 1972