

《原 著》

Thyrotropin-releasing hormone (TRH) 負荷試験による血中プロラクチン濃度の速度論的解析

吉田 泰子* 川崎 幸子* 森川 則文** 田邊 正忠*
佐藤 功* 塚本 豊久** 中野 節**

要旨 速度論解析を用いてプロラクチン分泌機構の推定を試みた。健常男子に Thyrotropin-releasing hormone (以下 TRH と略) 500 µg を肘静脈より投与しイムノラジオメリックアッセイにより血中プロラクチン濃度を測定した。TRH 負荷によるプロラクチン分泌速度変化に対応する速度論モデルを構築し、血中プロラクチン濃度解析を行った。理論値と実測値は良く適合し ($r=0.995$)、モデルの妥当性が確認できた。TRH 負荷後 1.97 ± 0.57 分で分泌亢進が開始され 12.7 ± 2.1 分で最高値となった。また、負荷による総分泌量は 75.4 ± 18.4 ng/ml であり、これは平常分泌量の 4.3 時間分に相当した。解析により求めたプロラクチンの血中半減期は 40.8 ± 13.8 分であり、これまでの報告とほぼ一致した。すでに報告した TRH 負荷における TSH の分泌機構と比較すると分泌開始はほとんど同時に起こるが、プロラクチンの方が短時間に放出を終えることが示めされた。

I. 緒 言

プロラクチンは下垂体前葉のプロラクチン産生細胞から分泌される分子量約 22,000 のペプチドホルモンで羊水、乳汁、髄液¹⁾、尿²⁾、精液³⁾など血液以外の体液にも存在することが知られており、女性においては乳腺の発育、乳汁分泌に関与する。また、下垂体プロラクチンの分泌は視床下部によって調節されるが、他の下垂体ホルモンと異なり、通常の状態ではプロラクチン分泌は抑制された状態にある^{3,6)}。

1970 年代にプロラクチンのラジオイムノアッセイが確立^{7,8)}されて以来、プロラクチンの血中動態が次第に明らかとなった^{8,13)}。また、下垂体

機能検査法として血中プロラクチン濃度測定、あるいは下垂体前葉のプロラクチン細胞を直接刺激し、その分泌を促進する^{14,16)} Thyrotropin-releasing hormone (以下 TRH と略) を用いた負荷試験による血中プロラクチン濃度測定が広く臨床に応用されている。これによりプロラクチン分泌異常の成因究明と障害部位の鑑別が行われるようになった。

われわれは TRH 負荷試験による血中プロラクチン濃度変化から、さらに臨床に応用できる指標となり得るパラメータの獲得を最終目的とし、第一段階として、今回健常人ボランティアを用いた TRH 負荷試験における血中プロラクチン濃度変化を速度論的に解析し、健常人におけるプロラクチン分泌機構の推定を試みた。

まず分泌速度形態のモデルを構築し、このモデルの妥当性を検討した。次に、解析により得られたパラメータからプロラクチンの分泌機構を推定した。さらに、すでに報告した TRH 負荷試験後の Thyroid-stimulating hormone (以下 TSH と略) 分泌機構¹⁷⁾と比較検討した。

* 香川医科大学医学部附属病院放射線科
** 同 薬剤部

受付：2年12月7日

最終稿受付：3年2月13日

別刷請求先：香川県木田郡三木町大字池戸 1750-1
(郵 761-07)

香川医科大学医学部放射線医学教室
吉田泰子

II. 対象と方法

1) 対象および測定方法

被験者は健常人男子18名で年齢、身長、体重のmean \pm SDはそれぞれ28.1 \pm 3.9歳、168.8 \pm 4.6cm、59.4 \pm 4.6kgであった。負荷および採血は8時間の絶食後、TRH 500 μ gを肘静脈より投与し投与前、3, 6, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 160, 200, 240分後に採血を行った。

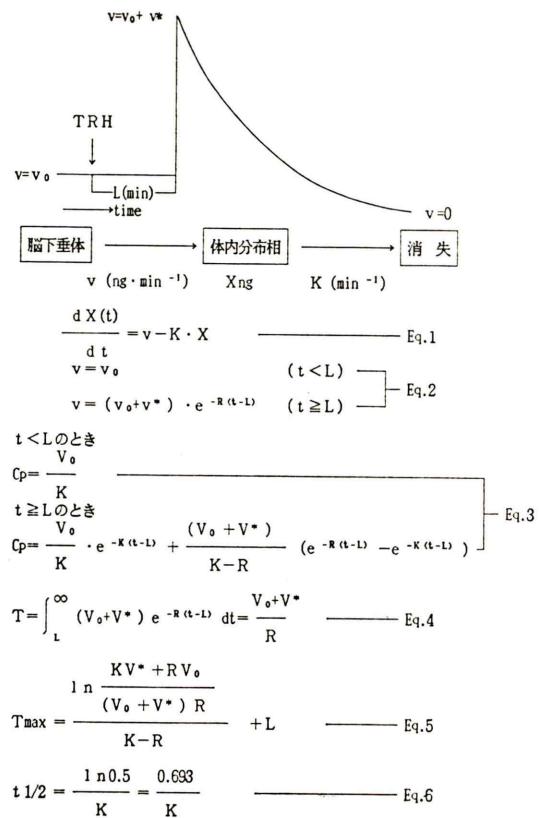
プロラクチンの測定はプロラクチン・リアビーズII(ダイナボット社製)を用いた。測定方法は測定試験管に検体25 μ l, 125 I標識プロラクチン抗体200 μ lおよびプロラクチン抗体ビーズを加え室温で3時間インキュベーションを行う1ステップサンドイッチ法である。測定装置にはALOKA AUTO WELL GAMMA SYSTEM ARC-605を用いた。

2) 速度論的解析

TRH負荷後のプロラクチン分泌機構を表すモデルを構築し、Scheme. 1に示す。

TRH負荷前の脳下垂体から体内へのプロラクチン分泌速度は一定であり、TRHを負荷することによりスパイク状にプロラクチンは分泌され、その後分泌は指數関数的に減衰すると仮定した。すなわち負荷前の分泌速度を v_0 (ng/min)とし、負荷後L分後に分泌速度は v_0+v^* (ng/min)に高まり、その後、減衰速度定数R(min $^{-1}$)に従い一次速度論的に減衰し、分泌速度は0に漸近すると仮定した。(cf. Eq. 1, Eq. 2)また、血中からの消失は消失速度定数K(min $^{-1}$)に従い一次速度論的に減少すると仮定した。ただし、血中の分布容積をV(ml)とし、TRH負荷前後で変わらないものと仮定した。また $V_0 (=v_0/V)$ ng/ml \cdot min, $V^* (=v^*/V)$ ng/ml \cdot minは単位容積当たりの分布速度を表す。(cf. Eq. 3)

以上のモデルに従い、マイクロコンピュータによる非線型最小二乗法プログラムMULTI¹⁸⁾に実測値を入力し、パラメータ V_0 , V^* , K , R , L を推定し、さらに血中プロラクチン濃度推移の理論曲線を求めた。この他に、時間Lから無限大まで



Scheme. 1 Compartmental model describing the kinetics of prolactin after TRH administration. $X(t)$ (ng/min): Concentration of prolactin in central compartment, K (min $^{-1}$): first-order elimination rate constant of prolactin, v_0 (ng/min): prolactin secretion rate in steady state, v^* (ng/min): prolactin secretion rate in excited state, R (min $^{-1}$): first-order decline rate constant of prolactin secretion rate, L (min): start time of excited prolactin secretion, C_p (ng/ml): Concentration of prolactin in serum, V_0 (ng/ml \cdot min): prolactin secretion rate at unit distribution volume in steady state, V^* (ng/ml \cdot min): prolactin secretion rate at unit distribution volume in excited state, t (min): time, T (ng/ml): The total amount of prolactin released in response to TRH injection. T_{\max} (min): The time which the serum prolactin concentration becomes at the maximum. $t^{1/2}$: calculated half-life-time.

分泌速度を積分して求めた総分泌量 T (cf. Eq. 4), 血中プロラクチン濃度が最高となる時間 T_{max} (cf. Eq. 5), この時の血中プロラクチン濃度 C_{max} , プロラクチンの血中半減期 $t_{1/2}$ (cf. Eq. 6) を求めた。なお、マイクロコンピュータによるこれらの計算に要する時間は一症例当たり約3分であった。

III. 結 果

Figure 1 に、被験者18名の TRH 負荷後の脳下垂体からのプロラクチン分泌速度のシミュレーション (A) と、血中プロラクチン濃度変化の実測値とその標準偏差および平均理論曲線、また最高血中濃度と最低血中濃度を示した各被験者の実測値および理論曲線 (B) に示す。各点は実測値で、各曲線は推定したパラメータからシミュレーションした理論曲線である。

血中プロラクチン濃度は TRH 負荷後3分ですでに上昇が認められ、約13分後には最高濃度に達した。その後血中濃度は一次速度論的に消失し、240分では TRH 負荷前値以下の値を示した。

血中プロラクチン濃度には個人差が認められたが、血中濃度の個人差に関係なく、分泌パターンは仮定したモデルによく適合した。モデル解析により得られた血中プロラクチン濃度の理論値と実測値との相関係数は $r=0.995$ ($n=17 \times 18 = 306$) と良好な相関を得た。

解析の結果から推定された V_0 , V^* , K , R , L の各パラメータ値とその他の計算値を Table 1 に示す。

消失速度定数 K , 分泌速度の減衰定数 R , 血中半減期 $t_{1/2}$ は個人差が小さく、分泌速度の初期値 V_0 , 最大値 V^* および総分泌量 T は個人差が大きかった。TRH 負荷後、分泌が亢進するまでの時間 L は 1.97 ± 0.573 分であり、血中プロラクチン濃度の最大値が約 12.7 ± 2.14 分後に現れることから、TRH 負荷後は速やかに作用発現がなされ、また分泌亢進状態は少なくとも10分間以上続くと考えられた。TRH 負荷による総分泌量 T は 75.4 ± 18.4 ng/ml であり、これは、平常分泌量の

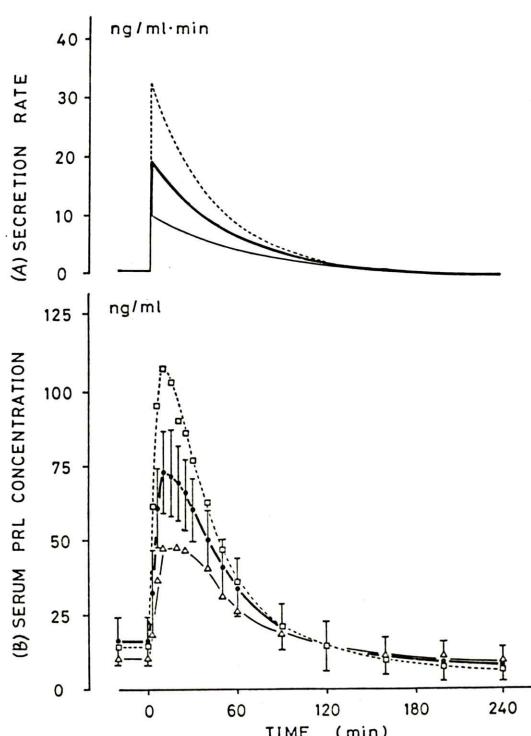


Fig. 1 Upper panel (A): secretion rates calculated from the kinetic model. Lower panel (B): measured and calculated serum concentrations of prolactin. Closed circles and vertical lines represent the mean and SD for 18 subjects, respectively. Dark line (—) is the mean for all subjects. Individual data for subjects E (□: ...) and R (△: —) are also shown.

4.3 時間分に相当する。 K より求めたプロラクチンの血中半減期は 40.8 ± 13.8 分であった。

IV. 考 察

脳下垂体機能検査の一つとして TRH 負荷試験による TSH やプロラクチンの分泌機能を観察し、その分泌異常の成因究明と障害部位の鑑別が臨床的に広く行われている。これにより TSH やプロラクチンの血中動態は徐々に明らかになりつつあるが、TRH 負荷による脳下垂体でのプロラクチン分泌機構に関しては、まだ不明な点が多い。今回われわれは、モデル解析による速度論的解釈を用い、血中プロラクチン濃度推移から脳下垂体で

Table 1 Evaluated values for each subjects

Subject	V_0 ng/ml min	V^* ng/ml min	K min^{-1}	R min^{-1}	L min	T ng/ml	T_{\max} min	C_{\max} ng/ml	$t_{1/2}$ min
A	0.172	16.9	0.0207	0.215	2.62	78.6	14.2	67.8	33.5
B	0.336	13.0	0.0228	0.230	2.43	56.5	12.6	55.4	30.4
C	0.146	22.7	0.0146	0.359	2.64	63.2	11.5	64.0	47.5
D	0.322	26.8	0.0218	0.407	2.18	65.8	9.3	68.4	31.8
E	0.327	32.2	0.0222	0.273	1.04	117.9	10.6	106.3	31.2
F	0.146	25.7	0.0218	0.286	2.41	89.9	11.9	78.1	31.8
G	0.519	19.5	0.0221	0.301	1.13	64.8	9.5	72.0	31.4
H	0.292	15.4	0.0175	0.190	1.54	81.1	14.4	76.9	39.6
I	0.362	18.1	0.0087	0.351	1.65	51.6	10.8	85.4	80.1
J	0.194	21.3	0.0188	0.229	2.56	93.0	14.0	82.7	36.9
K	0.571	13.6	0.0220	0.134	2.64	101.5	17.1	89.7	31.5
L	0.120	12.2	0.0118	0.173	0.75	70.5	12.0	43.2	58.7
M	0.358	22.5	0.0204	0.314	1.87	71.7	10.5	73.9	34.0
N	0.361	21.9	0.0184	0.237	2.18	92.4	13.1	90.5	37.7
O	0.368	16.4	0.0233	0.192	1.77	85.4	13.4	75.8	29.7
P	0.343	16.2	0.0182	0.248	1.92	65.3	12.3	68.6	38.1
Q	0.193	12.8	0.0109	0.223	2.12	57.4	15.2	64.4	63.6
R	0.151	9.9	0.0148	0.195	2.05	50.9	15.4	49.5	46.8
mean	0.293	18.7	0.0184	0.253	1.97	75.4	12.7	72.9	40.8
SD	0.129	5.86	0.0045	0.072	0.57	18.4	2.1	15.3	13.8
CV(%)	43.9	31.3	24.3	28.3	29.1	24.4	16.9	20.9	33.9

C_{\max} : The concentration at the maximum.

のプロラクチン分泌機構の推論を試みた。

今回構築したモデルは、個人差の大きい血中プロラクチン濃度推移に適合し、実測値と理論値は高い相関性を示した。また、プロラクチンの血中半減期も G. Perret ら¹⁹⁾ や ME. Molitch ら²⁰⁾ の報告とほぼ一致し、構築したモデルの妥当性が示唆された。

モデル解析より推定されたパラメータと計算値から、分泌速度の減衰やプロラクチンの血中半減期は個人差が小さいが、通常の分泌量や負荷時の駆出力は個人差が大であることが推察された。また、プロラクチンは脳下垂体で通常分泌の約4時間分が蓄積されており、TRHなどの刺激により、速やかにスパイク状の分泌が開始されることが確認できた。

通常の負荷試験で用いられる120分までの測定結果では負荷後のプロラクチン濃度は基礎値に漸近するように見られるが^{21,22)}、240分まで測定することによって負荷後のプロラクチン濃度は基礎

値以下に低下した。このことは、プロラクチンにはフィードバック機構がなく、蓄積されたプロラクチンのほぼ全量が負荷後の一時期に分泌された後は、脳下垂体でのプロラクチンの再蓄積に時間が必要であることを示している。また、この現象は他の下垂体ホルモンと異なりプロラクチンが脳下垂体で通常、抑制的な支配を受けていることにもらかの関わりがあると推定された。

さらに、すでに報告した TRH 負荷後の TSH 分泌機構¹⁷⁾と比較すると、まず、パラメータ値において、TRH に刺激されて分泌が亢進するまでの時間 L は TSH、プロラクチンとも約2分で差はなく、血中からの消失速度定数 K も TSH $0.0167 \pm 0.0037 \text{ min}^{-1}$ 、プロラクチン $0.0184 \pm 0.0045 \text{ min}^{-1}$ とほぼ同じであった。減衰速度定数 R は TSH $0.0634 \pm 0.0145 \text{ min}^{-1}$ 、プロラクチン $0.253 \pm 0.072 \text{ min}^{-1}$ とプロラクチンが大きく、血中濃度が最大値となる時間 T_{\max} は TSH 31.4 ± 5.7 分、プロラクチン 12.7 ± 2.1 分とプロラクチン

の方が速かった。これは、TSH とプロラクチンの分泌開始はほとんど同時に起こるが、プロラクチンの方が TSH よりも分泌開始から短い時間に刺激による放出を終えることを示唆するものと考えられた。

TRH 負荷時の総分泌量は TSH で通常分泌量の 8 時間分、プロラクチンでは 4.3 時間分に相当した。これは貯蔵量の差、すなわち分泌能力の差と考えられた。

また、プロラクチンは TSH 同様に脳下垂体で蓄積されており、TRH などの刺激によりスパイク状に分泌されることはあるが、TSH の分泌濃度は TRH 負荷前値に戻りそれ以下に低下しないが、プロラクチンは TRH 負荷前値より低下する点が異なった。これは、TSH の調節には下垂体前葉—甲状腺間で負のフィードバック機構が存在するが、プロラクチンの調節にはこの様なフィードバック機構が存在しないためと推察され、また TSH とプロラクチンの蓄積方法にも違いがあるものと考えられた。

今回モデル解析を行うことで、直接解明の困難な脳下垂体での TSH やプロラクチンの分泌機構の解明が可能となり、両者の分泌機構の違いが明らかとなった。

モデル解析は、ホルモン分泌のように直接観察の不可能な現象を血中濃度変化などから推測することが可能であり、生理機能解明に有益な手段と成りうると考えられる。今後、下垂体疾患等の病態について健常人と比較する等、モデル解析により得られたパラメータが負荷試験による診断の指標になりうるか検討を重ねてゆく予定である。

謝辞：稿を終えるにあたり、本研究にご協力を頂きました本学麻醉・救急医学教室塚本郁子助手に深謝致します。またプロラクチン・リアビーズIIをご提供頂きましたダイナボット社に深謝致します。

文 献

- 1) Latvala M, Liira J, Langvik VA, et al: Homogeneous distribution of prolactin in human cerebrospinal fluid. *Life Sciences* **26**: 1479-1484, 1980
- 2) Goldhaber G, Shani J: Direct radioimmunoassay of human prolactin in semen, serum and urine. *J Endocrinol* **72**: 391-392, 1977
- 3) Talwalker PK, Ratner A, Meites J: In vitro inhibition of pituitary prolactin synthesis and release by hypothalamic extract. *Am J Physiol* **205**: 213-218, 1963
- 4) Butler WR, Krey LC, Lu KH, et al: Surgical disconnection of the medical basal hypothalamus and pituitary function in the rhesus monkey. *Endocrinology* **96**: 1099-1105, 1974
- 5) Everett JW: Luteotropic function of autografts of the rat hypophysis. *Endocrinology* **54**: 685-690, 1954
- 6) Woolf PD, Laurence SJ, Robert D, et al: Secondary hypopituitarism: Evidence for continuing regulation hormone release. *J Clin Endocrinol Metab* **38**: 71-76, 1974
- 7) Hwang P, Guyda H, Friesen H: A radioimmunoassay for human prolactin. *Proc Nat Acad Sci USA* **68**: 1902-1906, 1971
- 8) Sinha YN, Selby FW, Lewis UJ, et al: Homologous radioimmunoassay for human prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* **36**: 509-516, 1973
- 9) 大島一洋, 斎藤史郎, 西庄かほる, 他: プロラクチンと内分泌疾患. 小児内科 **10**: 533-538, 1978
- 10) 加藤 譲, 千原和夫, 大郷勝三, 他: ヒトにおける血中プロラクチンの動態. 代謝 **12**: 995-1006, 1975
- 11) Jon FS, Andrew GF, Sheld K, et al: The nocturnal rise prolactin is dependent on sleep. *J Clin Endocrinol Metab* **37**: 436-447, 1973
- 12) 河野 登, 宮尾益英, 大島一洋, 他: 小児における高プロラクチン血症の病態生理. 小児科 **22**: 133-140, 1981
- 13) Roger WT: Human prolactin. *The American Journal of Medicine* **53**: 389-394, 1972
- 14) Marvin CG: Thyrotropin-releasing hormone action: Mechanism of calcium-mediated stimulation of prolactin secretion. *Recent Prog* **41**: 607-646, 1985
- 15) Thomas FJ, Judith AK: Evidence for the role of calcium and diacylglycerol as dual second messengers in thyrotropin-releasing hormone action: *Endocrinol* **115**: 1517-1526, 1984
- 16) Paul RA, Armen HT: Relationship of thyrotropin-releasing hormone-induced spike and plateau phases in cytosolic free Ca^{2+} concentration to hormone secretion. *J Biol Chem* **259**: 15350-15363, 1984
- 17) Tsukamoto I, Satou K, Kojima K, et al: A kinetic study on secretion and elimination of endogenous thyrotropin in the thyrotropin-releasing hormone test. *Annals of Nuclear Medicine* **3**: 9-13, 1989
- 18) Yamaoka K, Tanigawara Y, Nakagawa T, et al:

- A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer. *J Pharm Dyn* 4: 879-885, 1981
- 19) Perret G, Valensi P, Hugues JN, et al: Use of pharmacokinetic model to characterize the thyrotropin and prolactin response to thyrotropin-releasing hormone in man. *Meth and Find Exptl Clin Pharmacol* 10: 387-391, 1988
- 20) Mark EM, Salvatore R, Gerhard B, et al: Pharmacokinetic studies of highly purified human prolactin in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 65: 299-304, 1987
- 21) 加藤 譲: プロラクチン分泌機能検査. ホルモンと臨床 31(増刊): 17-22, 1983
- 22) 加藤 譲, 大郷勝三, 千原和夫, 他: 合成 TRH のヒトプロラクチン (HPr) 分泌におよぼす影響. 日本内分泌学会雑誌 49 (9): 1215-1222, 1973

Summary

A Kinetic Study on Serum Prolactin Concentration in the Thyrotropin-Releasing Hormone Test

Yasuko YOSHIDA*, Yukiko KAWASAKI*, Norifumi MORIKAWA**,
Masatada TANABE*, Katashi SATOH*, Toyohisa TSUKAMOTO**
and Misao NAKANO**

*Department of Radiology, **Department of Pharmacy Kagawa Medical School

In order to estimate the mechanism of prolactin secretion using the kinetic model, serum prolactin concentrations in normal young men were measured by an immunoradiometric assay before and after intravenous administration of 500 µg of thyrotropin-releasing hormone (TRH).

The kinetic model was applied to evaluate the secretion rate both before and after the administration of TRH.

A good correlation between the calculated values and measured values of serum concentration was observed ($r=0.995$); and the adequacy of the model was confirmed.

A few minutes (1.97 ± 0.57 min) after the administration of TRH, the secretion of prolactin

was stimulated, and serum prolactin concentration was maximum at 12.7 ± 2.1 min. The total amounts of secreted prolactin was 75.4 ± 18.4 ng/ml, which corresponded to the amount that was secreted in 4.3 hours at the normal rate. The half-life of prolactin was 40.8 ± 13.8 min, which is in good agreement with the previously reported values.

We have already reported on the kinetic study on the TSH secretion after TRH. Comparing the concentration change of prolactin and TSH, which were reported previously, it was found that the stimulated secretion started almost simultaneously, but lasted longer with respect to TSH.

Key words: Prolactin secretion, TRH test, Kinetic model, Half-life.