

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20790745  
 研究課題名（和文） 小児 PCOS 診断における LC-MS/MS 唾液中ステロイドホルモン一斉分析の有用性  
 研究課題名（英文） Diagnostic usefulness of salivary steroid hormone measurement by LC-MS/MS in girls with PCOS  
 研究代表者  
 天野 直子（AMANO NAOKO）  
 慶應義塾大学・医学部・助教  
 研究者番号：70348689

## 研究成果の概要（和文）：

唾液中には生理活性を有する遊離型ステロイドホルモンが血中から分泌され、高感度な液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC-MS/MS）法のみで測定可能である。肥満思春期女兒、健常非肥満思春期女兒の唾液中アンドロゲン分泌について比較検討した。DHEA、アンドロステンジオンとテストステロンは非肥満群に比較し、肥満群において有意に高かった。肥満思春期女兒において非肥満思春期女兒と比較しアンドロゲン分泌が亢進していると考えられる。

## 研究成果の概要（英文）：

I measured salivary free steroid hormones by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), and compared the steroid hormone levels of obesity girls to non-obesity girls. The levels of DHEA, androstenedione and testosterone in obesity girls were significantly higher than those in non-obesity girls. I think that the secretions of those androgens are increased in obesity girls as well as adult women with polycystic ovary syndrome.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：小児内分泌学、肥満、思春期、ステロイドホルモン

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 疾患概念

多嚢胞性卵巣症候群 (PCOS) とは、1935 年に Stein と Leventhal により、両側卵巣の多嚢胞性変化、月経異常 (無月経、希発月経)、多毛、肥満を主徴とする疾患として報告された。本邦では、成人女性において月経異常 (無月経、希発月経、無排卵周期症など)、LH の基礎分泌値高値および FSH 正常範囲、超音波断層検査での多数の卵胞の嚢胞状変化の 3 項目すべてを満たす場合を PCOS と診断している (1993 年本邦の PCOS 診断基準案)<sup>1)</sup>。PCOS は、成人女性の 5 -10% に認めると推測されている。小児思春期 PCOS の頻度は不明である。尚、小児を対象とした PCOS 診断基準は存在しない。

### (2) 臨床像

臨床像は一律でない。成人 PCOS の典型的症例は、月経異常、排卵障害による不妊、多毛・陰核肥大などの男性化徴候、肥満、両側多嚢胞性卵巣を呈する。日本人小児思春期 PCOS の臨床像の特徴は明らかにされていない。

### (3) 病態生理

PCOS の病態生理は未だ不明である。視床下部におけるゴナドトロピン放出ホルモン分泌のパルス頻度の亢進、卵巣の莢膜細胞のアンドロゲン過剰分泌、副腎皮質のアンドロゲン過剰分泌、インスリン抵抗性がその病態の一部として報告されている。

### (4) アンドロゲンと PCOS

アンドロゲンは男性ホルモン作用を有するステロイドの総称で、女性では卵巣と副腎皮質から産生される。卵巣でのアンドロゲン生合成を図 1 に、副腎皮質でのアンドロゲンの生合成を図 2 に示す。デヒドロエピアンド

ロステンジオン (DHEA)、アンドロステンジオン、テストステロンがアンドロゲンに含まれる。卵巣由来のアンドロゲンは、顆粒膜細胞でエストロゲン (エストロン、エストラジオール) に変換され、血中アンドロゲンは脂肪組織でエストロゲン (エストロン、エストラジオール) に変換される。PCOS では、副腎と卵巣の両方のアンドロゲンが増加し、アンドロゲン過剰により卵胞の発育停止、排卵障害を起こす。血中アンドロゲンが皮膚の 5 $\alpha$ -リダクターゼによりジヒドロテストステロンに変換され、多毛を起こす。PCOS では顆粒膜細胞のアロマターゼ発現は不十分のため、卵巣局所でのエストロゲン産生は低下する。一方、肥満に伴う豊富な脂肪組織のアロマターゼにより血中アンドロステンジオンはエストロンに変換されるため、血中エストロン / エストラジオール比は上昇する。以上の病態が、アンドロゲンと PCOS の関係として考えられている。しかし、小児思春期 PCOS においても同様であるかは不明である。

## 2. 研究の目的

本邦 PCOS の診断基準を満たす思春期女兒、コントロールとして単純性肥満思春期女兒・健常思春期女兒の唾液中ステロイドホルモン一斉分析を行い、副腎皮質・卵巣由来のアンドロゲン分泌過剰およびエストロン / エストラジオール比高値など成人女性で報告されている事項を含め、小児思春期 PCOS 症例における内分泌学的特徴を明らかにする。

### 3. 研究の方法

#### 【方法の概要】

当院小児科内分泌外来で診断され、通院中の小児思春期PCOS患者、小児思春期単純性肥満患者および健常思春期女兒で同意の得られた患者の唾液を収集する。収集した唾液中のステロイドホルモン(DHEA、テストステロン、ジヒドロテストステロン、アンドロステンジオン、エストロン、エストラジオール、プロゲステロン、17ヒドロキシプロゲステロン、17ヒドロキシプレグネノロン、コルチゾール)をLC-MS/MSで分析する。各々のステロイドホルモン結果について、小児思春期PCOS患者、小児思春期単純性肥満患者および健常思春期女兒間で統計学的有意差の有無について検討し、小児思春期PCOS症例の唾液中ステロイドホルモン分泌の特徴を抽出し、内分泌学的特徴を把握する。

#### 【LC-MS/MSによる唾液中ステロイドホルモンの測定方法】

LC-MS/MSは、採取試料を液体クロマトグラフで各成分に分離し、分離した成分をイオン室に導入・イオン化し、第一の質量分析計でイオン選択・解離し、解離させたイオンを第二の質量分析で分析する方法である。この分析法は、特定の化合物を高い選択性で、かつ高感度に分析することのできる方法である。すなわち、従来の免疫学的測定法より、正確に化合物濃度を測定することが可能となる。

【対象】思春期女兒22例。年齢9.9~17.9歳(中央値13.5歳)。乳房Tanner - 度(中央値 度)。明らかな男性化徴候のある症例、副腎および性腺機能不全疾患、ステロイド内服例およびステロイド内服既往例、性腺抑制

療法例および性腺抑制療法既往例は除外した。

【方法】AM9~15時に唾液採取を行い、LC-MS/MS法で唾液中遊離型アンドロゲン、すなわちDHEA、アンドロステンジオン(A)、テストステロン(T)、エストロン(E<sub>1</sub>)、エストラジオール(E<sub>2</sub>)を測定した。DHEA、A、T値を肥満群(O群;BMI95パーセントイル以上)と非肥満群(NO群;BMI95パーセントイル未満)間でマンホイットニーのU検定を用いて比較検討した。

### 4. 研究の成果

#### 【結果】

##### (1) 対象の背景

	NO 群	O 群	P 値
症例数(例)	13	9	
BMI(%ile)	1.7-91.9 (25.5)	96.1-99.9 (99.3)	<0.001
年齢(歳)	9.9-16.7 (13.3)	10.7-17.9 (14.6)	0.482
乳房(度)	- ( )	- ( )	0.597
初経+(例)	8	6	

範囲(中央値)

##### (2) 唾液中アンドロゲン濃度

	NO 群	O 群	P 値
DHEA	37.9-277.4 (91.0)	94.3-522.7 (191.7)	0.015
A	10.6-77.7 (60.1)	56.9-124.8 (68.4)	0.015
T	1.0-4.5 (3.0)	3.3-9.2 (5.8)	0.002

範囲(中央値) 単位: pg/ml

### (3) アンドロゲン比

	NO 群	O 群	P 値
DHEA/A 比	0.7-5.2 (2.0)	1.3-6.8 (2.4)	0.301
A/T 比	10.0-39.2 (16.8)	8.4-19.7 (13.5)	0.035

範囲(中央値)

(4) エストロン濃度、エストラジオール濃度、 $E_1/E_2$ 比は非肥満群と肥満群間で有意差を認めなかった。

#### 【考案】

(1) DHEA、アンドロステンジオン、テストステロンは肥満群において有意に高かった。肥満思春期女兒において非肥満思春期女兒と比較し、アンドロゲン分泌が亢進している。

(2) A/T 比は肥満群において有意に低かった。肥満ではインスリン抵抗性による代償性インスリン分泌過剰により肝臓における SHBG 産生が低下する。その結果、血中遊離型テストステロンが増加し、唾液中へのテストステロン分泌が増加したと考える。

#### 【今後の展望】

肥満思春期女兒は、月経不順を認めていなくても既に PCOS の病態の一部は存在していると考えられる。今後の検討課題として、肥満女兒と非肥満女兒の思春期開始前からの唾液中アンドロゲン濃度を縦断的に分析し、比較検討することにより、思春期前から副腎由来アンドロゲン分泌に有意差があるか、肥満の程度により唾液中アンドロゲン濃度が変化するかについて検討していく必要があると考える。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計1件)

発表者名：天野 直子

発表標題：肥満思春期女兒の唾液中遊離型 Androstenedione と Testosterone は高値である - LC-MS/MS 法による検討 -

学会名：第43回日本小児内分泌学会

発表年月日：2009年10月1日

発表場所：栃木県総合文化センター

### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

天野 直子 (AMANO NAOKO)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：70348689

(2) 研究分担者  
なし

(3) 連携研究者  
なし