

機関番号：16101

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008年度～ 2010年度

課題番号：20591951

研究課題名 (和文) 多嚢胞性卵巣症候群の診断精度の向上に関する検討

研究課題名 (英文) Study for improving the diagnosis of polycystic ovary syndrome

研究代表者

苛原 稔 (IRAHARA MINORU)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授

研究者番号：20160070

研究成果の概要 (和文)：多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)の診断精度向上のため、血中ホルモンの至適評価法を検討した。1)血中LH値の至適測定時期は、無月経の時期または消退出血11日目以降がよい。また、肥満例ではLH/FSH比が有用である。2)頻用されている測定系における高LHの基準値を設定した。3)テストステロン(T)について、最新の測定系での基準値を設定し、以前のものよりもPCOS患者でT高値率が高くなることを明らかにした。今回の研究結果により、PCOSの診断精度が向上するものと思われる。

研究成果の概要 (英文)：We studied appropriate method to estimate hormonal findings for the diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS). Timing of measurement of serum LH is later than 10 days from withdrawal bleeding. LH/FSH rate is better than LH level in obese PCOS patients. We determined the cut of values of LH, LH/FSH ratio and testosterone (T) for the diagnosis of PCOS. T assay has become necessary for the diagnosis of PCOS also in Japan due to recent advance of T. Results of this study would be contribute for better diagnosis of Japanese PCOS patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：多嚢胞性卵巣症候群, PCOS, LH, LH/FSH比, 診断基準, エクルーシス, テストステロン, アンドロゲン

## 1. 研究開始当初の背景

多嚢胞性卵巣症候群 (polycystic ovary syndrome: PCOS) は、女性の3~5%、月経不順患者の7割以上を占める重要な症候群である。研究代表者は、日本人に適した新しい診断基準を作成した (水沼英樹、苛原 稔、他：日本産科婦人科学会誌、2007)。一方、ホルモン測定に用いる標準品の変更や測定

原理、測定機器の革新により、ホルモンの測定系は時代とともに変遷し、複数の測定系が存在するため、LH, FSHおよびテストステロンの測定値の評価基準の設定は急務となっている。

## 2. 研究の目的

PCOSにおける血中LHの再現性、LHカットオフ値、テストステロンの有用性の評価など

を検討し、PCOS の診断精度を向上させるために本研究を計画した

### 3. 研究の方法

#### 1) 多嚢胞性卵巣症候群の血中 LH 値の再現性、測定時期と LH 異常率の検討

PCOS 患者 32 例から非治療期に採血を行い、合計 79 検体について検討した(各症例から各々1~6回)。採血時期と LH 値の関係、および同一症例での LH 値の変動について後方視的に検討した。LH 測定には SPAC-S(第一ラジオアイソトープ研究所)を使用し、血中 LH 値  $\geq 7\text{mIU/mL}$  かつ LH/FSH 比  $\geq 1$  を LH 高値とした。

#### 2) アーキテクト試薬を用いた場合の PCOS 診断における LH、LH/FSH のカットオフ値に関する検討

化学発光免疫測定法 (CLIA 法) のアーキテクト LH、FSH (アボットジャパン株式会社) を用いた場合の高 LH の基準を検討した。正常月経周期女性 87 例(卵胞期)、PCOS 66 例、無排卵周期症・第 1 度無月経 27 例の LH、FSH 濃度をアーキテクトで測定した。正常月経周期女性の LH、LH/FSH 比の平均値 + 1 標準偏差を基準値候補とし、診断における感度、特異度を検討して基準値とした。

#### 3) エクルーシス試薬を用いた場合の PCOS 診断における LH、LH/FSH のカットオフ値に関する検討

正常月経周期女性 72 例(卵胞期)、PCOS 症例 128 例の LH、FSH 濃度をエクルーシスで測定した。正常月経周期女性の LH または LH/FSH 比の測定値の対数正規分布を確認の上、平均値 + 1 標準偏差の値を基準値として検討する。

#### 4) PCOS 診断におけるテストステロンのカットオフ値の検討

エクルーシス試薬テストステロンの PCOS 診断における有用性を検討した。対象は正常月経周期女性 90 名、治療を行っていない時期の PCOS 患者 142 名(高 LH で診断)の血液検体とした。

#### 5) 特異度を改善したテストステロン試薬の精度と PCOS 患者における検討

DHEA-S との交差反応を改善したエクルーシス試薬テストステロン II (新キット) が開発された。新キットの基準値を策定した上で、更に、新旧両キットでの PCOS 患者等における高 T 陽性率を比較した。正常月経周期女性、閉経女性、成人男性の計 235 検体を新旧両キットで測定しその相関を検討した。また、3 検体は LC-MS/MS 法で T を再測定し新旧キットの値と比較した。

## 4. 研究成果

### 1) 多嚢胞性卵巣症候群の血中 LH 値の再現性、測定時期と LH 異常率の検討

血中 LH 値  $\geq 7\text{mIU/mL}$  は全検体 (n=79) の 55.7%。消退出血周期別に検討すると、1~10 日 (n=42) で 42.9%、11~20 日 (n=18) で 66.7%、21 日以上 (n=19) で 73.7%。LH/FSH 比  $> 1$  は全検体の 62%で、周期 1~10 日で 47.6%、11~20 日で 66.7%、21 日以上では 89.5%であった。複数回の採血(平均 3.4 回(2~6 回))を行った 13 症例のうち、全ての検体が LH/FSH 比  $\geq 1$  であった症例は 46.2%(6/13)にとどまった。また、肥満例では LH 基礎値が低く、LH/FSH 比が有用であった。以上より、PCOS 症例の血中 LH 値は、消退出血を起こした周期の 10 日目以内では必ずしも高値とは限らないこと、無月経の時期に採血するのがよく、消退出血を起こした場合は 11 日目以降に検査をすると検出率が高いことがわかった。

### 2) アーキテクト試薬を用いた場合の PCOS 診断における LH、LH/FSH のカットオフ値に関する検討

測定値は対数正規分布をとり、LH  $7\text{mIU/mL}$ 、LH/FSH 比 1 が基準値候補となった。PCOS 診断における LH  $7.0\text{mIU/mL}$ 、LH/FSH 比 1.0 の感度は 60.6%、77.3%、特異度は 55.6%、66.7%と高く、アーキテクトを用いた PCOS の診断では、LH 値  $\geq 7\text{mIU/mL}$  かつ LH/FSH 比  $\geq 1$  を高 LH の基準値として設定した。この基準値を用いることで、国内のアーキテクトを用いる各施設で PCOS の判定が同一になると思われる。

### 3) エクルーシス試薬を用いた場合の PCOS 診断における LH、LH/FSH のカットオフ値に関する検討

平均値 + 1 標準偏差の値、LH  $8.548\text{mIU/mL}$ 、LH/FSH 比 1.253 を基準値とした。PCOS 患者における LH 高値率は、LH が 69.5%、LH/FSH 69.5%で、過去の報告と同等であった。PCOS の診断における LH 基礎値高値の基準として、エクルーシス試薬を用いた場合には、LH 値  $\geq 8.55\text{mIU/mL}$  かつ LH/FSH 比  $\geq 1.25$  が妥当であると考えられた。この基準により、国内のエクルーシスを用いる各施設で PCOS の判定が同一になると思われる。

### 4) PCOS 診断におけるテストステロンのカットオフ値の検討

正常女性測定値の対数正規分布を確認し、平均値 + 1.96 標準偏差の値、 $0.69\text{ng/mL}$  を今回の検討の基準値とした。PCOS 患者におけるテストステロン高値率は 33.8%(48/142)であった。過去の報告の 14.3%よりも高く、エクルーシス試薬テストステロンは、PCOS 患者のホルモン測定に適していると考えられる。

5)特異度を改善したテストステロン試薬の精度とPCOS患者における検討

正常女性検体で新キットは旧キットに比して約40%低値を示した。LC-MS/MS法の測定値は、新キットの値に近かった。新キットでのT基準値は、正常女性群で0.11~0.47 ng/ml、閉経女性群で0.04~0.43 ng/ml、男性群で1.4~8.7 ng/mlと算出した。また、新旧キットのT非高値率は正常月経周期女性で共に98.9%、PCOS以外の排卵障害患者で共に96%であった。PCOS患者でのT異常高値率は旧キットで30.2%、新キットで44.2%と、新キットで高かった。新キットはTに対する特異度が高く、旧キットに比べ女性でのT測定値が約40%低くなり、LC-MS/MSの測定値と近い値を示すことから、女性のT測定に適していること、また、PCOS患者でのT高値率が高く、PCOSの診断において有用性が高いと考えられた。

#### 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)

[雑誌論文] (計20件)

1. Kiyokawa M, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 10th out of 10) Neuropeptide Y mediates orexin A-mediated suppression of pulsatile gonadotropin-releasing hormone secretion in ovariectomized rats. J Med Invest. 2011 Feb;58(1-2):11-18. Peer-Reviewed
2. Iwasa T, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 9th out of 9) Sensitivities of mRNA expression levels of Kiss1 and its receptor, Kiss1r, to nutritional status are changed during the developmental period in female rats. J Endocrinol. 2010 Nov;207(2):195-202. Peer-Reviewed
3. 松崎利也, 苛原 稔, 他3名(5名中5番目): プロラクチン 産婦人科検査マニュアル、診断と治療社、東京 P.P.121-127, 2010, Vol.77, Suppl. 査読: 無
4. 木内理世, 松崎利也, 岩佐 武, 三室卓久, 苛原 稔 エクルーシス試薬テストステロンII, LH, FSHの基準値の検討 医学と薬学 2010; 64: 87-93. 査読: 無
5. 苛原 稔, 松崎利也, 岩佐 武, 桑原 章 不妊治療と多嚢胞性卵巣症候群 産婦人科の実際 2010;59:705-710. 査読: 無
6. Iwasa T, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 9th out of 9) Effects of intrauterine undernutrition on hypothalamic Kiss1 expression and the timing of puberty in female rats. J Physiol. 2010 Mar 1;588(Pt5):821-829. Peer-Reviewed.
7. Iwasa T, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 9th out of 9) Neonatal LPS injection alters the body weight regulation systems of rats under non-stress and immune stress conditions. Int J Dev Neurosci. 2010 Feb; 28(1): 119-124. Peer-Reviewed
8. 清川麻知子, 松崎利也, 苛原 稔, 他5名(8名中8番目) 続発性無月経と高プロラクチン血症を呈したマクロプロラクチン血症の1例 現代産婦人科 2009;Vol.58, No.2, 171-175 (2010年2月28日発行) 査読: 有
9. 清川麻知子, 松崎利也, 苛原 稔, 他9名(12名中12番目) 胚盤胞を用いた単一胚移植で発生した一絨毛膜性二羊膜性双胎の検討 現代産婦人科 2009;Vol.58, No.2, 255-259 (2010年2月28日発行) 査読: 有
10. Ogata R, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 8th out of 8) Hypothalamic Ghrelin suppresses pulsatile secretion of luteinizing hormone via beta-endorphin in ovariectomized rats. Neuroendocrinology. 2009;90(4):364-70. Peer-Reviewed
11. Iwasa T, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 8th out of 8) Neonatal immune challenge affects the regulation of estrus cyclicity and feeding behavior in female rats. Int. J. Dev Neurosci. 2009 Feb;27(1):111-114. Peer-Reviewed
12. Iwasa T, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 7th out of 7) Reproducibility of luteinizing hormone hypersecretion in different phases of the menstrual cycle in polycystic ovary syndrome. J Obstet Gynaecol Res. 2009 Jun;35(3):514-519. Peer-Reviewed
13. Iwasa T, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 8th out of 8) Neonatal lipopolysaccharide exposure attenuates the homotypic stress-induced suppression of LH secretion in adulthood in male rat. Int. J. Dev Neurosci. 2009 Jun;27(4):345-349. Peer-Reviewed
14. 苛原 稔, 松崎利也, 他3名(5名中1番目) やせと生殖内分泌障害の病態 Pharma Media Vol. 27 No. 10, 2009; 41-44.

- 査読：無
15. 苛原 稔、松崎利也 女性とメタボリックシンドローム 第3回メタボリックシンドロームとしてのPCOS Reproductive Medicine 2008;32:2-3. 査読：無
  16. 苛原 稔 5) PCOSの新しい診断基準 日本産科婦人科学会雑誌 2008;60:185-190. 査読：無
  17. Murakami M, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 5<sup>th</sup> out of 7) Hypophysiotropic role of RFamide-related peptide-3 in the inhibition of LH secretion in female rats. J Endocrinol. 2008 Oct; 199(1): 105-112. Peer-Reviewed
  18. Iwasa T, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 7<sup>th</sup> out of 7) Decreased expression of kisspeptin mediated acute immune/inflammatory stress-induced suppression of gonadotropin secretion in female rat. J Endocrinol Invest. 2008 Jul;31(7):656-659. Peer-Reviewed
  19. Shimizu F, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 9<sup>th</sup> out of 9) Estradiol suppresses NMU mRNA expression during sexual maturation in the female rat pituitary. Int J Devl Neuroscience. 2008 May-Jun;26(3-4): 381-384. Peer-Reviewed
  20. Shimizu F, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 9<sup>th</sup> out of 9) Transition of leptin receptor expression during pubertal development in female rat pituitary. Endocrine Journal 2008 Mar; 55(1); 191-198. Peer-Reviewed

〔学会発表〕(計7件)

1. Minoru Irahara. Complications in laparoscopy. IFFS 20<sup>th</sup> World Congress on Fertility & Sterility Munich, Germany, 2010. 9. 12
2. 苛原 稔 多嚢胞性卵巣症候群の診断と治療 Update 第122回近畿産婦人科学会総会ならびに学術集会 平成22年6月20日、京都市
3. Iwasa T, Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 6<sup>th</sup> out of 6) Effects of Intra-Uterine Undernutrition on Hypothalamic Kiss1 Expression and the Timing of Puberty in Female Rats. The Endocrine Society's 92<sup>nd</sup> Annual Meeting, June 19-22, 2010, San Diego, CA, USA.
4. Minoru Irahara. New Criteria of polycystic ovary syndrome in Japan. Polycystic ovary syndrome 14<sup>th</sup>

- International congress of endocrinology. Kyoto, 2010. 3. 28.
5. Matsuzaki T, Irahara M, et al. (the 6<sup>th</sup> out of 6) Assessment of serum LH level and LH/FSH ratio using electrochemistry luminescence immunoassay method for the diagnosis of polycystic ovarysyndrome, The International Ovarian Conference 2009. December 5, 2009, Tokyo.
  6. Irahara M. Physiological roles of cytokines in ovulation and follicular atresia. International congress on Bio-immunoregulatory mechanisms associated with reproductive organs: relevance in fertility and in sexually transmitted infections. February 9-13, 2009. New Delhi, India
  7. Irahara M. Assessment of serum LH and androgen levels for the diagnosis of polycystic ovary syndrome in Japan. First International Asia pacific meeting on polycystic ovary syndrome. January 17-18. 2009, Hong Kong.

〔図書〕(計6件)

1. 松崎利也：月経異常・排卵障害 今日の治療指針第6版(金澤一郎、永井良造 総集編)、医学書院、東京。P. P. 423-425. 2010
2. 苛原 稔：ゴナドトロピン系 下垂体腫瘍のすべて 医学書院 2009 ; 46-51
3. 苛原 稔：インフォームドコンセントのための図説シリーズ不妊症・不育症 改訂版 医薬ジャーナル社 2009 ; 6-11.
4. 苛原 稔：女性ホルモン剤 治療薬ハンドブック 2008 -薬剤選択と処方のポイント- 2008;623-629.
5. 苛原 稔：その他のホルモン剤-排卵誘発治療 治療薬ハンドブック 2008 -薬剤選択と処方のポイント- 2008;645-649.
6. 苛原 稔：無排卵に対する排卵誘発 第1章排卵障害 別冊・医学のあゆみ 不妊症-臨床と研究の最前線 2008;5-10.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

苛原 稔 (IRAHARA MINORU)  
徳島大学・大学院バイオサイエンス研究部・教授  
研究者番号：20160070

(2) 研究分担者

松崎 利也 (MATUZAKI TOSHIYA)  
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・講師  
研究者番号：70294692