

乳腺腫瘍患者の尿中 Estriol 分劃排泄の消長について

京都大学医学部外科学教室第2講座（指導：青柳安誠教授）

松 井 章

〔原稿受付 昭和34年7月23日〕

STUDIES ON URINARY ESTRIOL EXCRETION IN PATIENTS WITH NEOPLASTIC DISEASES OF THE BREAST

by

AKIRA MATSUI

From the 2nd Surgical Division, Kyoto University Medical School
(Director : Prof. Dr. YASUMASA AOYAGI)

It is generally accepted that the growth of some neoplastic diseases of the breast is influenced by estrogens.

WANKE has reported the decreased excretion of estrogens in several patients with chronic cystic mastitis, while TAYLER, BUCHER and GESCHICKTER could find no gross abnormality in the total output of estrogen excretion in these patients but noted atypical curves in a certain type of chronic cystic mastitis. In Japan, FUJIMORI reported increased blood estrogen levels in the majority of patients with chronic cystic mastitis and cancer of the breast. On the otherhand, MASUDA and NISHIYA showed that the presence of urinary hyperestrogism was unexpectedly small in both benign and malignant breast diseases.

These great discrepancies may possibly be due to differences in the technique of assay employed by the various investigators, and differences in the point of observation. NISHIYA, in our laboratory, has determined the total levels of urinary estrone and estradiol taking estrone as the standard.

In the present investigation, urinary excretion in patients with neoplastic diseases of the breast was determined by fluorophotometer. The Estriol fraction was extracted from 24 hour collections of urine by a modification of BROWN's method (1955).

The results obtained were as follows.

1. The daily urinary excretion of estriol in nine normal women was studied through the menstrual cycle. In the typical excretion curve of estriol, there were two peaks of excretion showing 40γ — 110γ , one at midinterval considered to bear some relationship to ovulation and the other preceding menses considered to be at the height of corpus luteum function. These findings are in agreement with results reported by many investigators. However, it was observed that in two of the nine women with normal menstrual cycles, the excretion curve of estriol was atypical in

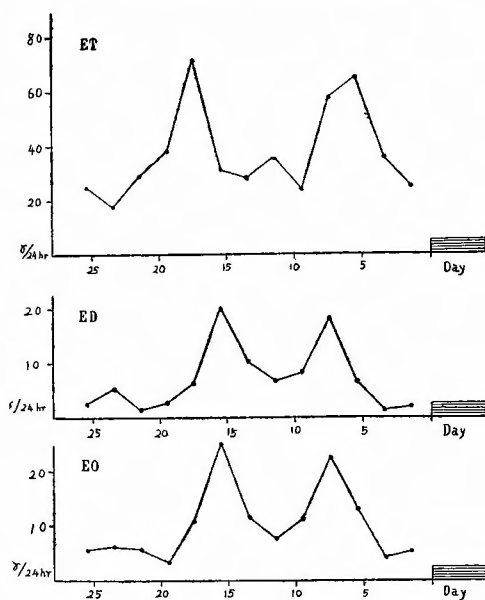


Fig. The typical excretion curve of urinary estrone, estrone and estradiol in a normal woman (26 year old).

that the peak of estrone excretion was absent or some irregular peaks appeared. These findings suggest that a part of the estrone fraction may be a metabolite of estrone and estradiol. The average value of estradiol at the peaks was 79.5 γ .

2. The determination of urinary estrone excretion was carried out in 16 patients with chronic cystic mastitis (mastopathia chronica). The configuration of the monthly curve of estrone excretion resembled that of normal controls in 10 of the 16 cases, but the average value of estrone at the peaks was 61.06 γ . These findings show that the monthly excretion curves of estrone were normal in the majority of the cases and daily excretion levels were normal or slightly low.

3. Studies of urinary excretion of estrone were carried out in 19 patients in the pre-menopause with breast cancer. The configuration of the monthly curve of estrone excretion was atypical in 10 of the 17 cases and the average value of estrone excretion at the peaks was 56.3 γ . The excretion levels of estrone were lower than those in normal subjects.

4. The excretion levels of urinary estrones were higher than those of estrone and estradiol which were determined by my coworker KURITA. The configuration of the estrone excretion curve in patients with mastopathia chronica and breast cancer both resembled those of estrone and estradiol, but the levels of estrone at the peaks were more variable than those of estrone and estradiol.

5. From the results of these observations, it can be concluded that there was no evidence of hyperexcretion of urinary estrone either in mastopathia or breast cancer, but ovarian dysfunction was present in the patients with neoplastic diseases of the breast.

目 次

緒 言

第1章 Estriol の測定法

第1節 結晶 Estriol の蛍光反応

I 硫酸蛍光法

II 標準曲線

III クロマトグラフィー

第2節 尿中 Estriol 分割の抽出法

第3節 補正法及び回収率

I 補 正 法

II 回 収 率

小 括

第2章 尿中 Estriol の排泄値

第1節 健康婦人

第2節 乳腺腫瘍患者

I マストパッチー患者

II 乳癌患者

小 括

総括及び考察

結 語

緒 言

戦後われわれの臨床を訪れる乳腺腫瘍患者は年を追って増加の傾向にあり、しかもこれらの患者の性生活環境を詳細に調査すると、未亡人とか、夫婦別居生活にある人とか、主人が病気になるいは老令で別居に近い性生活の人とか、または人為妊娠中絶を行つたものなどが多いという事実から、乳腺腫瘍の発生と性生活、ひいては性ホルモ代謝と何らかの関係があるのではなからうかという疑問に端を発し、われわれの教室では乳腺腫瘍患者の尿中性ホルモ排泄値状況を系統的に追求してきた。

既に協同研究者西谷、伊勢田は乳腺腫瘍患者の尿中 Estrogen, 17KS 排泄値を測定し、マストパッチー患者では 17KS の低下、Estrogen 排泄曲線の不規則なことを確かめ、マストパッチーの発生が男女両性ホルモ系のアンバランス、即ち性腺系の Dysfunktion によるものであろうことを推論したのである。併し当時は未だ Estrogen の各分割の測定を行うに至らず、Estriol を除いた Estrone, Estradiol の総和を Estrone を標準にして測定したので、果してこの際、Estriol 分割にも排泄異常があるものか、また Estriol が他の 2 分割と平行して増減するものかどうかという点は未だ明らかにされていない、そこでわれわれは Estrogen 3 分割中の Estriol の排泄値を測定して乳腺腫瘍患者と健康婦人との間で果して如何なる差違があるかを検索したのである。

第1章 Estriol の測定法

Estrogen (卵胞ホルモン) が婦人尿中に存在することは既に約30年前に発見され、その測定には生物学的方法と化学的方法の2つの方法が用いられている。

生物学的方法は1923年 Allen の発表以来幾多の改良が行われて来たが、多数の動物を必要とし、判定に

も主観の入るのを防ぎ得ないために臨床的に用いるにはやや不便である。

化学的測定法は1930年 Wieland が Lieberman-Burchard 反応を発見したことに始まり、その後 Marrian も純粋な Estriol の結晶に濃硫酸を加えて加温すれば同様の呈色反応を呈することを指摘した、ついで Kober 反応 (Kober) も発見されて定量に用いられる様になつた。しかし、その後 Bierry (1936年) は Estriol の硫酸蛍光反応を定性的に応用し、これに次いで Jailer, Finkelstein, Bates 等はこの蛍光反応が定量的に利用出来ることを報告した。

さて、今日までに自然界から分離された Estrogen は化学的には Estrone, α -Estradiol, β -Estradiol, Estriol, Equilin, Equilenin, Hippulin, 17-Dihydro-Equilenin 等多数あるが、人尿中に排泄される主なるものは Estrone, Estradiol, Estriol の3種で、何れも硫酸によつて蛍光を発生し、この蛍光を用いて微量定量が行われていることは既に西谷が報告した通りである。したがつて尿中より Estriol のみの定量を行うには先ず他の2分割を除去した上で測定しなければならない、しかも Estriol の蛍光を呈する程度は他の2分割と多少差があるので、われわれは先ず標準結晶 Estriol の蛍光反応について検討したのである。

第1節 結晶 Estriol の蛍光反応

Estriol の蛍光反応については種々の報告があるが、これを大別すると硫酸を用いる方法、磷酸を作用させる方法及び無水フタル酸を反応させる方法の3種類であるが、現在一般的に用いられている方法は硫酸法で、われわれは増田、西谷の実験に準じ、硫酸蛍光法の反応条件を検討し、蛍光測定には Pfaltz 社の Fluorophometer とその Filter Combination を使用した。即ち総蛍光測定には Lamp filter として Corning glass filter 5113, 3389を、Photocell filter としては Corning glass filter 3489, 9780 を用いた。不純蛍光測定は

Lamp filter を UVD filter に変えることにより測定した。従つて総蛍光値から不純蛍光値を除いた値が Estriol の純蛍光値である。尚本 Fluorophotometer の Cuvette の容量は 15cc である。

また、実験に使用する試薬は良質のもので、而も常に同一条件のものを使用しなければならないから、同一規格の最純品を使用し、有機溶媒は常に精製して使用した。

1) エーテル

化学用エーテルを 1% 硫酸鉄で充分洗滌し過酸化物を除いてから再蒸留したもの。

2) 石油エーテル

一般製品をエーテルと同様に洗滌し、40°C から 60°C の間に蒸留されたもの。

3) ベンゼン

一般製品を再蒸留したもの。

4) エタノール

一般製品に苛性ソーダを加えて蒸留し、脱アルデヒドをしたもの。

5) デメチル硫酸

特級品を再蒸留したもの。

6) 苛性ソーダ、重炭酸ソーダ、硼酸、塩酸、硫酸、

30% 過酸化水素水

同一会社の特級製品。

7) クロマト用吸着剤

200mesh の和光製クロマト用アルミナ。

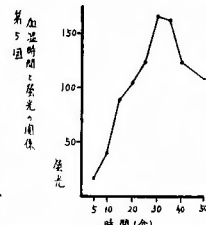
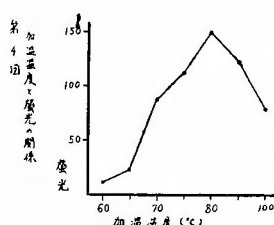
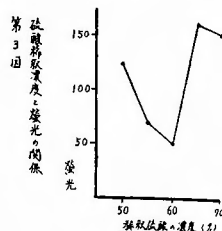
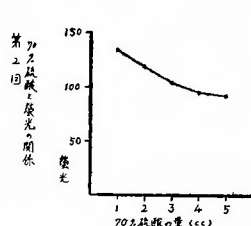
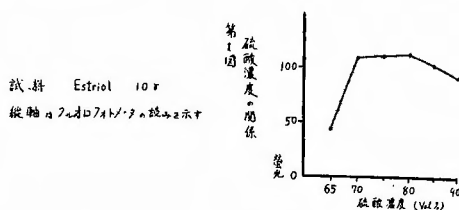
8) 結晶 Estriol

帝國臓器株式会社より贈与を受けた製品。

I 硫酸蛍光反応

Estriol の硫酸蛍光反応の条件を決定する目的で、まず Estriol 10 γ 含有エタノール溶液を調製し、次にこのエタノールを蒸発した乾固物について 65% より 90% までの各濃度の硫酸を夫々 15cc 加えて 80°C 温浴中で 30 分間加熱した時の蛍光反応の成績は第 1 図の如く 70% 硫酸を使用した場合に最もよく蛍光が現われた。したがつて蛍光を発現させる為に加える硫酸の濃度は 70% のものが最適であることを知つた。

次にこの 70% 硫酸の適量を決定する目的で、同様に処置した Estriol 乾固物に 70% 硫酸をそれぞれ 1cc より 5cc まで加え、80°C 温浴中で 30 分間加熱し、冷水で急激に冷した後、更に 65% 硫酸を加えて全量を 15cc にして測定した。成績は第 2 図のように、70% 硫酸 1cc を加えて加温、冷却後、65% 硫酸 14cc を加えたときに最高の蛍光を示した。即ち 70% 硫酸は 1cc が最



Estriol の硫酸蛍光反応の関係

適量であることがわかつたのである。

併し、測定に用いる Cuvette は容量が 15cc であるから、全量が 15cc になるように、更に硫酸 14cc を加えなければならない。この加えるべき硫酸の最適濃度を決定する目的で、Estriol の乾固物に 70% 硫酸 1cc を加え 80°C 温浴中で 30 分間加温し、冷水で冷却した後、50% より 70% までの硫酸 14cc を加えて蛍光を測定した。その成績は第 3 図のように 65% 硫酸で希釈した場合に最高の蛍光を示した。

次に、最適加温温度を知る目的で Estriol 乾固物に 70% 硫酸 1cc を加え、60°C より 90°C までの温浴中で 30 分間加温し、65% 硫酸 14cc で各々を希釈測定した結果は第 4 図のように 80°C 温浴中で加温した場合に最高の蛍光を示し、加温は 80°C 温浴中で行うのが最適であることがわかつたのである。

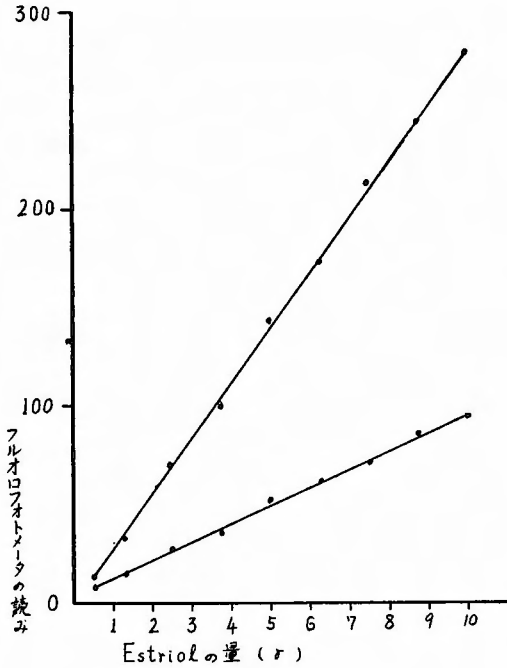
次に、最適加温時間を知る目的で Estriol 乾固物に 70% 硫酸 1cc を加え、80°C 温浴中でそれぞれ 5 分より 50 分まで加温した成績は第 5 図の如く、30 分間加温した場合が最高の蛍光を示し、加温時間は 30 分間が至適時間であることがわかつた。

以上の実験成績から Estriol 乾固物に 70% 硫酸 1cc を加え、80°C 温浴中で 30 分間加温した後、冷水で冷

却し、65%硫酸 14cc を加えて稀釈した場合、最高の螢光が得られることを確認したのである。

II 標準曲線

結晶 Estriols を 0.5 γ から 10 γ まで含有するエタノール溶液について、その溶媒を蒸発乾固した後、硫酸



第6図 Estriol の標準曲線

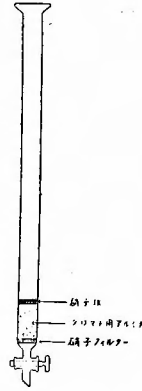
螢光反応を行つて測定した結果は第6図に示すように、総螢光、不純螢光共に略々直線的関係を示した。

III Chromatography

Brown 氏法による 測定過程中、われわれが特に留意改良した点はこの Chromatography の過程であつた。

本実験に使用したクロマト管 (第7図) は長さ約35cm, 内径 13mm の細長い硝子管の下部に No. 2 のガラスフィルターをつけ、更にその下方に展開液の落下速度を2秒に1滴の割合に調節するための括弧を附したものである。

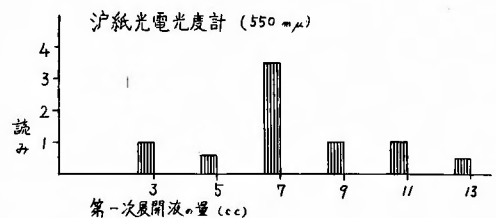
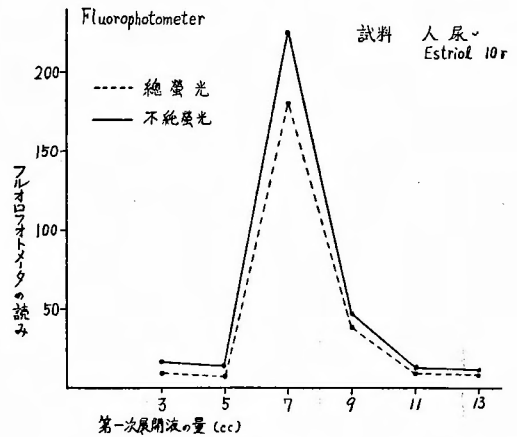
Brown の原法は吸着アルミナに水を添加して、その活性度を調節しているが、アルミナが吸湿性であるため操作が煩雑となる欠点があるので、水を添加する代りにその展開溶媒を調節する方法を検討した。先ずクロマト用アルミナはその活性度を常に一定に保つために無水磷酸を乾燥剤とした陰圧デシケーターに保存した。又試料は結晶 Estriol 含有エタノール溶液を蒸



第7図 クロマト管

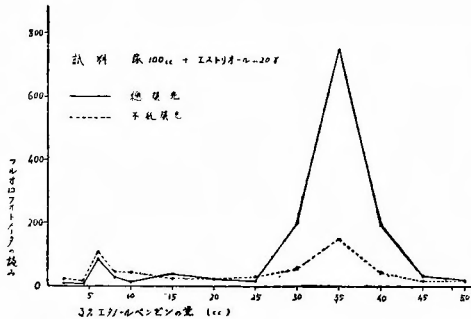
溜水 50cc に、又は人尿 100cc に加えたものについて、それぞれ Methylate、及び全操作を行つたものを使用した。

ベンゼンをクロマト管の下方より吸引した後、予め用意したアルミナ 2g を少量ずつ投入充填し、その上によく洗滌した小硝子片を重ね、ベンゼンを2秒に1滴の割合で流し、この殆んどが流下した時に、前記試料より得た Estriol-methyl-ether 含有ベンゼンを静かにクロマト管内に注入すると、前記の割合で流下してアルミナ柱に吸着帯を作る。



第8図 第1次展開液の不純螢光

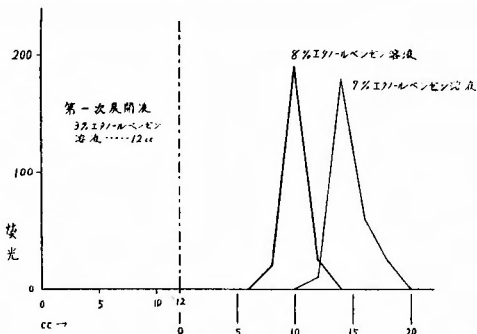
次に1.4%より10%までのエタノールベンゼン溶液を展開液として展開し、その時の色素吸着帯の下方移動の状態を肉眼的に観察し、また、その流下液を2ccづつ試験管に分注して、その各試験管について硫酸蛍光法、及び濾紙光電光度計で検討した。3%エタノールベンゼン溶液で継続的に展開すると、色素吸着帯は約5ccでアルミナ柱の下端に達し、その分注試験管を硫酸蛍光法で測定した不純蛍光は第8図の如く、5ccより上昇して、7ccで最高、9ccで下降し、色素吸着帯の移動と良く一致していた。又 Estriol は第9図の如



第9図 無水アルミナを吸着剤とし3%エタノールベンゼンで展開した時の蛍光

く30cc目の試験管以降に証明され、35ccの部分で最高の値を示した。

次に蒸留水50ccにEstriol 20 γ 含有エタノール溶液を加え、これを methylate し chromatography を行つた。まず3%エタノールベンゼン溶液12ccを流した後、7%及び8%エタノールベンゼン溶液を2cc宛24cc用いて展開した時のEstriolの溶出状態を硫酸蛍光法で測定した結果は第10図のように、7%エタ



第10図 エストリオール 20 γ を試料とし第一次展開液 12cc で展開した後7%及び8%エタノールベンゼンで展開した時の蛍光

ノールベンゼン溶液では12ccから18ccまでに、8%エタノールベンゼン溶液では6ccから12ccまでに証明された。

以上の実験結果から、無水アルミナを吸着剤とし、第1次展開液に3%エタノールベンゼン溶液12cc、第2次展開液に8%エタノールベンゼン溶液15ccを使用することが適当であると判定した。

また、試料含有ベンゼン溶液をクロマト管に注入する際に、洗滌水が誤入すると、分割の目的を充分達成することが出来ない。しかもベンゼンを水と充分に分離するには長時間を要する上に、ベンゼンの損失が起るから、その点を考慮して Estriol-methyl-ether 含有ベンゼン溶液23ccをクロマト管に通すことにした。

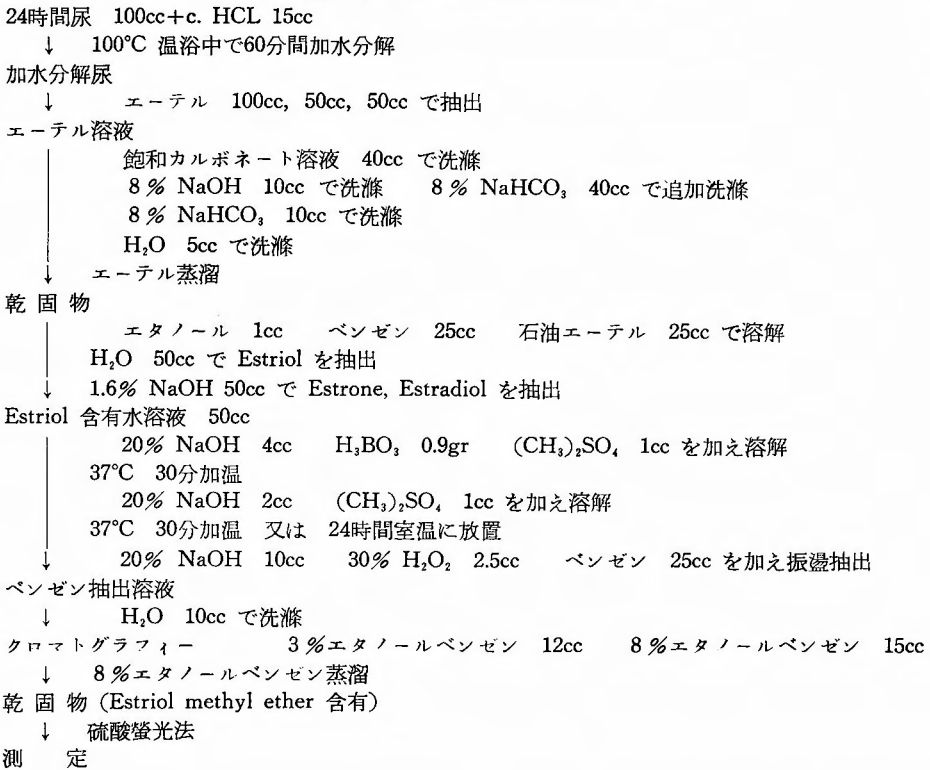
第2節 尿中 Estriol 分割の抽出法

尿中の Estrogen 各分割の抽出法は多数あるが、結局は加水分解により結合型の Estrogen を遊離型 Estrogen にして、有機溶媒で抽出するもので、この加水分解法は生物学的方法 (Oneson, Cohen, Katzman et al) と、化学的方法とに2大別されるが、一般的には化学的方法、即ち塩酸を使用している。この塩酸加水分解についてもその濃度、時間等の条件については複雑な問題があり、多くの人々によつて至適条件が検討されている。

われわれは採集した尿について先ず Estriol 分割を分離し、その後の資料から Estrone, Estradiol 分割を分離したのである。

即ち、第1表に示すように、24時間尿100ccに濃塩酸15ccを加え、100°C 温浴中で60分間加水分解した後、直ちに急冷し、100cc、50cc、50ccのエーテルで、3回抽出する。このエーテル層を飽和カルボネート溶液(20% NaOH 150cc と 8% NaHCO₃ 1000cc との混合溶液)40ccで洗滌し、洗滌液を捨て、残つたエーテル層を8% NaOH 水10ccで洗滌、更に8% NaHCO₃ 水40ccを追加して洗滌する。これ等の洗滌液を捨てた後、残つたエーテル層を再び8% NaHCO₃ 水10ccで洗滌、この洗滌液を捨てた後、蒸留水5ccで洗滌して、更にこの洗滌液を除いたエーテル層を蒸溜装置を用いてエーテルを除去する。この時残つた乾固物中には Estrogen を始め他のホルモンが含有されているから、この乾固物にエタノール1cc、ベンゼン25cc、石油エーテル25ccを加えて溶解し、更に蒸留水50ccを加えて振盪、水溶液を有機溶媒から分離すると、フェノール性水酸基を余分にもち親水性の Estriol 分割は Estrone, Estradiol 分割より分離して水

第1表 尿中 Estriol の分劃抽出法



溶液中に移行抽出される。併しこの際分離抽出された Estriol 含有水 50cc 中には phenolic fraction も含有されているから、これに20% NaOH 水 4cc, 硼酸 0.9 gr, デメチル硫酸 1cc を加えて充分混和溶解し, 37°C 温浴中で30分間加温, 更にこの溶液に20% NaOH 水 2cc, デメチル硫酸 1cc を加えて1昼夜室温に放置して, 又は再び 37°C 温浴中で30分間加温して, 2回の methylate を行い, Estriol を Estriol-methyl-ether にする。次にこの Estriol-methyl-ether 含有水溶液に20% NaOH 水 10cc, 30% H₂O₂ 2.5cc 及びベンゼン 25cc を加えて振盪し, ベンゼン中に Estriol-methyl-ether を移行させ, このベンゼン層のみをとり, 蒸溜水 10cc で洗滌した後, ベンゼン層 23cc について elution-chromatography を行う。この elution-chromatography については前述のように, 3%及び8% エタノールベンゼン溶液を展開液として, 夫々 12cc, 15cc を使用した。第2次展開液を温浴中で注意深く乾固し, その乾固物について前述の硫酸螢光法を行い, その螢光を Fluorophotometer で測定した。

第3節 補正法及び回収率

I 補正法

尿中より Estriol 分劃を抽出した場合には, 抽出に当つて分離出来ない若干の非 Estriol 性の物質が混入するのをまぬがれない。しかもこの不純物質は多少螢光を発する。この不純螢光を除去するために前記のような Filter Combination を用いたのであるが, この Filter Combination については増田, 西谷が既に検討したように現在では著しい過評価はまぬがれうるものである。即ち, 健常男子小児尿 100cc に Estriol 10γ 含有エタノール溶液を添加し, 抽出過程の全操作を行つてその螢光を測定した値より, 同男子小児尿 100cc について抽出操作を行つてその螢光を測定した値を差引いた螢光値を, 10γ で除した結果, Estriol 1γ の読みは 12.9を得たので, これを補正值として増田, 西谷の補正式に適用すると, 次のような補正式になる。

$$\frac{\text{試料 (A-B)}}{12.9} \times \frac{V}{100}$$

A……435mμ の Lampfilter を用いた時の読み

B……365mμ の Lampfilter を用いた時の読み

V……24時間尿の尿量 (cc)

この補正法は前述のように完全ではないが, 甚しい誤差はないものとする。

II 回収率

尿中から抽出した Estriol は methylate されており、測定に際しては Estriol-methyl-ether の螢光を測定することになって、Estriol そのものの螢光は測定していない、従つて結晶 Estriol-methyl-ether の螢光を標準にしなければ、真の回収率は求められないのであるが、この Estriol-methyl-ether の結晶は入手出来なかつたので、結晶 Estriol を標準として、測定過程終了後の回収率を決定したのである。その回収率は75%で他の抽出方法に比較して比較的良好成績である。

小 括

人尿から Estriol を分割する方法は前述のように種々考察されているが、Brown 法は OH 基に由来する親水性の差を利用して比較的早期に Estriol を Estro-ne 及び Estradiol から分瀾し、Chromatography で Estriol と phenolic fraction とを分別する方法で、Estriol を単独に定量するには極めて便利であり、その回収率も諸家の報告に比較して比較的良好であつた。Chromatography においては Brown 原法に比較してアルミナを常に一定条件下に容易に保存が出来、且つその操作に煩雑さがはぶかれており、比較的便利で確実な方法と考えられる。

第2章 尿中 Estriol の排泄値

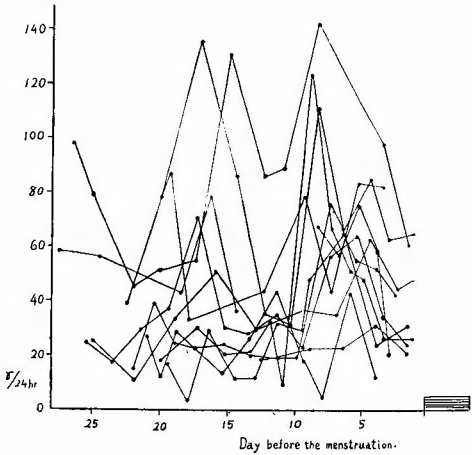
乳腺が女性生殖器の一部として他の生殖器と同じく、ホルモンの支配関係を受けていることは、発情期、妊娠期、月経閉止期等の乳腺の変化をみても明白であり、これに関与するホルモンとして Estrogen の占める役割は大きいと考えられる。この Estrogen が尿中に排泄されることは約30年前に知られ、既述のように

幾多の実験報告があるが、尿中 Estrogen の排泄状態は日による変動があり、特に月経中間期と月経末期に大きな変動を示すから、1月経週期の間を通じ、又は少くとも比較的長期間を通じて連続的に測定し、排泄曲線を全体的に綜合観察しなければならない。

われわれは緒言に述べた目的をもつて乳腺腫瘍患者、就中マストバチー婦人患者、乳癌婦人患者の尿中の Estriol 排泄量を長期間連続測定し、その排泄状態を健常婦人の排泄状態と比較検討した。

第1節 健常婦人に於ける尿中 Estriol 排泄値

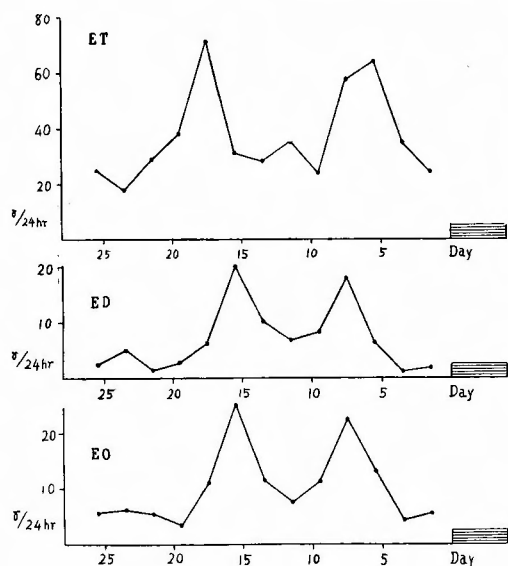
正常月経週期をもつ健常婦人9例について24時間尿、48時間尿を連続的に測定した結果を次の月経を基準にして一括図示すると、第11図に示すようであつて、その測定値は第2表に示すようである。又その中の1例の Estriol, Estradiol 及び Estrone 各分割の排



第11図 健常婦人の尿中エストリオール分割の排泄曲線 (9例)

氏名	年令	月 経 前 の 日																												
		29	28	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
西 O	26				25.2	17.8	29.6	37.2	70.8	30.1	27.8	35.7	23.0	57.4	64.9	35.1	24.4													
川 O	25		58.1		56.1				43.2	79.0	37.1	18.7	19.3	19.5	48.5	65.0	23.4	31.1												
豊 O	23							74.4		135.6	86.4	34.8	31.0	11.2	65.9	85.2	62.6	64.8												
加 O	49							27.9	12.0	28.3		13.6	26.2	44.2	18.3	4.1	43.1	10.7												
井 O	28			98.4	79.0		44.7	51.8		55.2	130.0		85.2	89.0	142.2	114.0	98.2	60.3												
香 O	38				24.9		11.3	34.5		51.3		29.7	36.8	34.3	43.9	63.0	48.0													
辻 O	27							17.0	3.1	28.8	6.8	6.9	32.0	28.9	95.7	55.0	52.3	42.74												
山 O	44							18.7	30.7	20.7	21.8	32.7	8.8	123.8	66.5	51.4	48.1	26.2	26.5											
松 O	34				73.5	39.5		87.9	33.5				44.1		77.5	43.6	84.0	82.4												

第2表 健常婦人の尿中エストリオール分割の測定値



第12図 健康婦人の Estriol Estrone Estradiol の排泄曲線の1例 (26才)

排泄曲線は第12図に示すようであつた。既述したように

婦人尿中の Estrogen 排泄量は卵巣機能と週期的相關関係を示すと考えられ、尿中 Estriol の排泄曲線も第12図のように2つのピークが発現する。われわれが測定した健康婦人のこれ等ピークが発現時期に關しては、中間期ピークは8例が14日から18日の間に、月経開始直前のピークは月経前2日から9日の間に、中7例は月経前3日から8日の間に発現し、それぞれ排卵期、並びに黄体完成期に相当する時期と考えられる。この2つの時期にピークが発現することは Jailer 等の報告した結果と良く一致している。発現したピークの多くは急に上昇し、するどく下降する曲線を示しているが、このピーク時の値に關しては第11図、第3表に示したように相当の個人差が認められた。測定した9例のピークの平均値に關しては第3表のように、前のピークの平均値は73.1 γ 、後のピークの平均値は85.87 γ で、この両者のピークの平均値は79.5 γ であつた。又これ等ピークの標準偏差は29.78 γ 、補正した標準偏差は31.41 γ であつた。このピークの平均値を10 γ を単位にして分類すると第4表、第13図のようで、40 γ より110 γ までの間に比較的多数分布しており、この範

第3表 ピーク時値

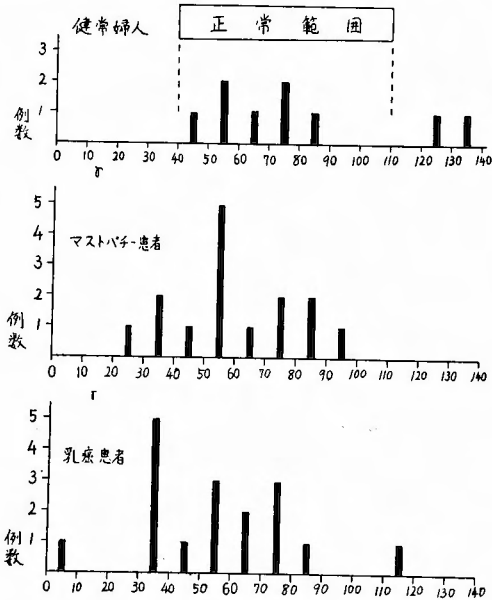
	健康婦人			オーストバチー患者			乳癌患者		
	排卵期 ピーク	黄体完成 期ピーク	平均値	排卵期 ピーク	黄体完成 期ピーク	平均値	排卵期 ピーク	黄体完成 期ピーク	平均値
1	70.8	64.9	67.85	39.26	54.8	47.0	46.98	29.0	37.99
2	28.8	75.7	52.25	26.7	25.1	25.9	38.1	35.59	36.84
3	79.0	65.0	72.0	56.9	43.8	50.3	15.5	4.57	10.03
4	87.9	84.0	85.95	46.5	56.45	51.4	45.06	25.9	35.48
5	130.0	142.2	136.1	60.1	50.0	55.5		45.67	45.67
6	30.0	123.8	77.25	54.9	20.5	37.7	38.02	28.7	33.36
7	44.2	43.1	43.65	63.0	62.9	62.9	49.8	96.02	79.2
8	135.6	111.2	123.4	68.2	54.2	61.2	69.0	72.29	70.6
9	51.3	63.0	57.15	72.0	76.6	74.3	43.0	67.2	55.1
10				71.3	103.1	87.2		115.3	115.3
11				23.1	47.1	35.1	57.3	77.5	67.2
12				100.9	78.0	89.4	65.6	49.7	57.6
13					57.6	57.6	59.4		59.4
14				102.4	80.58	91.5	33.9	37.3	35.6
15					74.0	74.0	35.04	67.6	51.34
16							83.1	76.0	79.5
17							92.3	83.4	87.8
平均	73.1	85.87	79.5	60.4	58.94	61.06	55.5	56.98	56.3

第 4 表 ピーク時平均値分類表

分 類		0 ～ 10	10.1 ～ 20	20.1 ～ 30	30.1 ～ 40	40.1 ～ 50	50.1 ～ 60	60.1 ～ 70	70.1 ～ 80	80.1 ～ 90	90.1 ～ 100	100.1 ～ 110	110.1 ～ 120	120.1 ～ 130	130.1 ～ 140	
エスト ロリ オール	N	0 %	0 %	0 %	0 %	11.1% (1)	22.25% (2)	11.1% (1)	22.25% (2)	11.1% (1)	0 %	0 %	0 %	11.1% (1)	11.1% (1)	
	M	0 %	0 %	6.7% (1)	13.3% (2)	6.7% (1)	33.3% (5)	6.7% (1)	13.3% (2)	13.3% (2)	6.7% (1)	0 %	0 %	0 %	0 %	
	K	5.9% (1)	0 %	0 %	29.4% (5)	5.9% (1)	17.6% (3)	11.8% (2)	17.6% (3)	5.9% (1)	0 %	0 %	5.9% (1)	0 %	0 %	
	N	0 % (0)					77.8% (7)					22.2% (2)				
	M	20.0% (3)					80.0% (13)					0 % (0)				
	K	35.3% (6)					58.8% (10)					5.9% (1)				
エト ロ スン	N	0 %	56.0%	33.0%	11.0%	0 %	N 健常婦人 M マストパチー患者 K 乳癌患者									
	M	24.0%	43.0%	33.0%	0 %	0 %										
	K	50.0%	50.0%	0 %	0 %	0 %										
エヂ スオ トリ ラル	N	22.0%	67.0%	11.0%	0 %	0 %										
	M	38.0%	48.0%	14.0%	0 %	0 %										
	K	82.0%	18.0%	0 %	0 %	0 %										

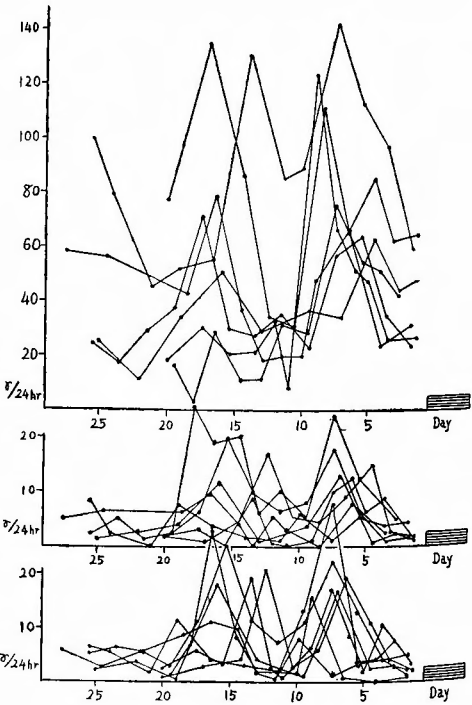
N 健常婦人
M マストバチー患者
K 乳癌患者

興味深い。
月経週期間の Estriol 排泄曲線を2つのピークが明瞭に区別出来る定型的曲線（第14図）と、然らざる非

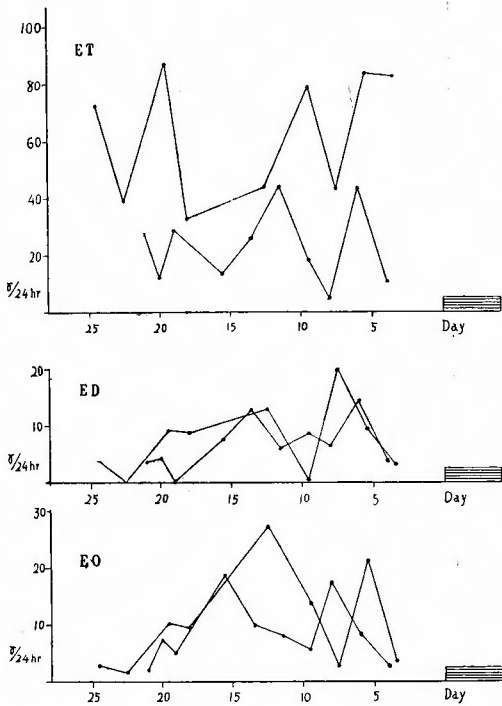


第13図 ピーク時平均値散佈図

囲にあるものが9例中7例を占めていた。また、月経週期間の Estriol 排泄曲線は必ずしも定型的なものばかりではなく、2つ以上のピークを示すものも認められる。この傾向は Estrone, Estradiol の曲線に比べて特徴的で、Estriol が Estrone, Estradiol の代謝産物ではないかと疑をもたせるような成績であつたことは



第14図 健常婦人（定型曲線）



第15図 健康婦人で非定型的曲線を示したもの

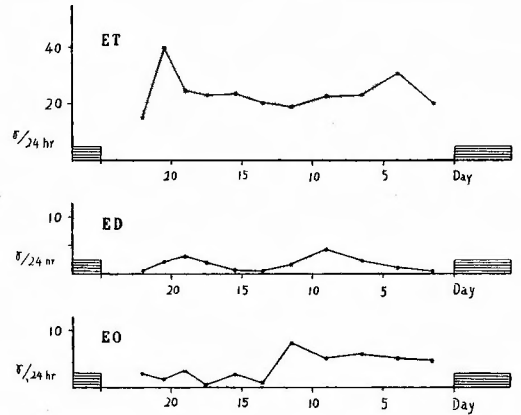
定型曲線（第15図）とに区別すると、測定した健康婦人9例中、非定型曲線を示したものが2例あつた。

Estriol と同時に測定した Estrone 及び Estradiol の曲線と Estriol の排泄曲線との相関関係を検討すると、Estrone 及び Estradiol の排泄量は共に Estriol に比べて極めて低く、そのピークの平均値も第4表に示すように低い値を示しているが、Estriol の排泄曲線に比較的平行する曲線を示している。排卵期及び黄体期ピークの発現時期については、全体的には3者共に大差はないが、この3者が常に一致した時期に発現するとは限らず、1～3日前後のずれが認められる場合もあつた。しかも Estrone 及び Estradiol が比較的規則正しい2つのピークを示すのに反して、Estriol の排泄曲線の中にピークの発現が多少前後するものがあつたことは、前述のように Estriol の一部が Estrone, Estradiol の代謝産物と関係があるのではなかろうかと考えられる。

また、日常生活上、健康婦人と考えられていた婦人の中にも次のように異常曲線を示したものがあつた。

第1例は32歳の婦人で、月経は28日型、3～4日持続し、出血量も中等度で順調な月経をもち、月経困難

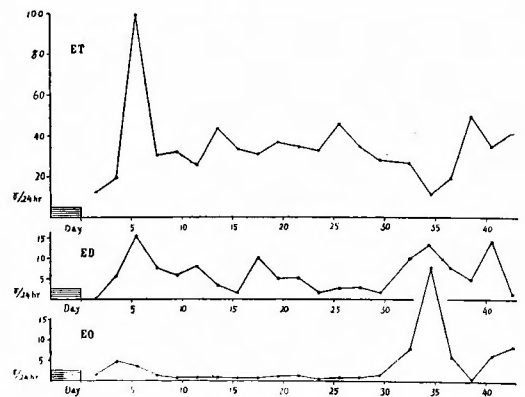
症もなく、月経そのものは勿論、日常生活に於ても特別な異常を認めなかつたが、既往症に特別の理由と考えられるものなしに最近2回続けて流産し、習慣性流産の傾向を示していた。この婦人の尿中 Estriol 分割を測定した結果は第16図の如く、その排泄曲線は全体



第16図 健康婦人と考えられていたが内分泌的異常を認められた婦人

的に平坦化し、ピークも著明でなく僅かにその存在を認めることが出来た程度であり、このような排泄曲線の平坦化は卵巢機能不全を示し、習慣性流産に関係があるのではないかと考えられる。

第2例は25歳の婦人で、規則正しい30日型月経週期を保ちながら、特別の原因と思われるものなしに、次の月経が遅れ、月経終了後43日になつても月経がなかつた。この婦人の尿中 Estriol 排泄曲線は第17図のように全く乱れており、月経終了直後に示したかなり高いピークが排卵期に相当するものかと考えられる



第17図 健康婦人と考えられていた婦人で内分泌学的に異常を認められた例

が、全体的には月経週期との関連性を推定することは不可能であつた。この婦人の Estrone 分割は Estriol 分割と全く同様な曲線を示しており、わずかに Estradiol 分割の排泄曲線が定型的曲線に近い曲線を示していたが、全体的には不規則な曲線を描いていた。即ち以上のように一見健常と思われる婦人の中にも、尿中 Estriol 排泄曲線が不規則なものがあつたが、これは卵巢機能や、下垂体機能の性腺系に何らかの異常があることを示すものと考えられる。

総括的に健常婦人の月経週期間の Estriol 排泄曲線を考察すると、大部分は定型的曲線を示したが、一部には生物学的動揺と考えられる範囲内で少し乱れた傾向の曲線を示すものも認められた。またこの定型的曲線に規則的に発現する2つのピークに関しては、ピークの平均値は 40γ から 110γ までの値を示し、排卵期のピークは来るべき月経の前14日から18日の間に発現し、黄体完成期のピークは月経前3日から8日の間に発現すると考えられた。即ち尿中 Estriol の排泄曲線には Estrone 及び Estradiol の排泄曲線と同様、卵巢機能の週期に対応した消長を示し、そのピークの発現時期についても、1～3日前後のずれが認められる場合もあつたが、3者の間に大差は認められなかつた。

第II節 乳腺腫瘍患者

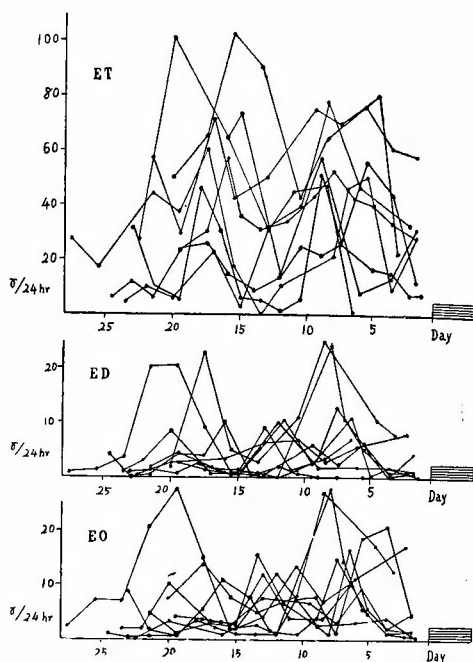
I マストパチー患者

月経週期をもつたマストパチー患者16例について尿中 Estriol 分割を測定したが、この中、定型的曲線を示したものは10例(62.5%)、非定型的曲線を示したものは6例(37.5%)で、健常婦人に比較して非定型的曲線が多少増加している。

排泄曲線におけるピーク発現時期については排卵期のピークは来るべき月経の前14日から18日の間、黄体完成期のピークは月経前4日から8日の間に発現し健常婦人との差は認められなかつた。

測定した16例のピーク値の平均値は 61.06γ (第3表)で、健常婦人の平均値に比較して相当な低下を示しているが、ピーク時平均値を 10γ を単位にして分類すると、第4表、第13図に示したように、 40γ から 110γ に属する百分率は80.0%で、健常婦人の百分率に比較して差は認められなかつたが、その散布度はマストパチー患者では健常婦人に比較して低い値の方に多く、 40γ 以下の低い値を示したものが増加し、全体的に健常婦人に比較して低い値を示す傾向を認めた。

次に Estriol 排泄曲線を詳細に観察すると、定型的曲線を示した10例は第18図に示したように、前後のピ



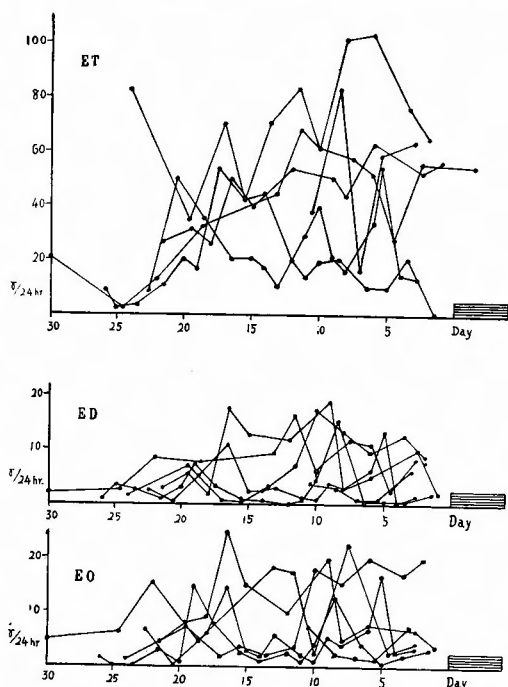
第18図 マストパチー患者で定型的曲線を示したもの

ークの発現時期に関しては、多少の差はあるが略々同時期に出現し、健常婦人の関係とよく一致していた。ピーク時の値に関しては、排卵期のピークで3例、黄体完成期のピークで1例に於て 25γ 以下の低い値を示したが、他のピーク時の値は 40γ より 100γ の間に存在し、特別の差異は認められなかつた。

非定型的曲線を示した6例の患者の月経については記録上特記すべきものは認めなかつたが、第19図に示したように曲線は乱れ一定の傾向を認めることは不可能で、尿中への Estriol 排泄には大きな動揺があることを示していた。

総括的にマストパチー患者の Estriol 排泄曲線を健常婦人の曲線に比較すると、ピーク時の平均値が 40γ より 110γ の間にある百分率には著しい差はないが、全体的には低い値を示す傾向を認め、又非定型的曲線を示したものが多少増加し、尿中に排泄する Estriol の量に変動の多いことを示した。

Estriol 分割と同時に測定した Estrone 及び Estradiol 各分割の排泄曲線に於ては、そのピークの発現の時期は、マストパチー患者の際も3分割の間に略々同一の傾向を示し、1～3日前後のずれを示すものも存在し、健常婦人に於ける関係と全く同様で、健常婦人との差異は認めなかつた。



第19図 マストパッチ患者で非定型的曲線を示したもの

II 乳癌患者

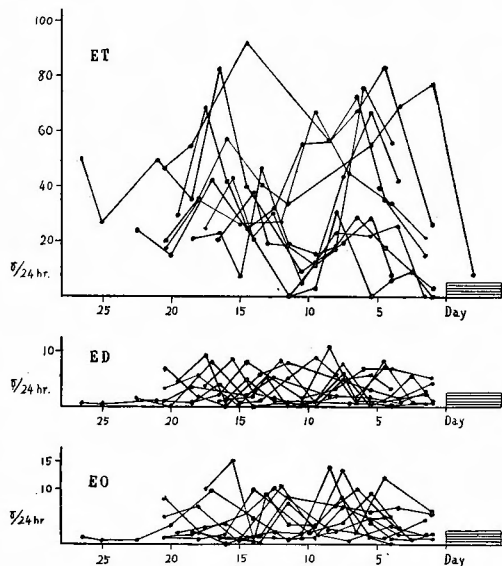
月経閉止前期の乳癌患者17例について尿中のEstriol分割を測定した結果、定型的曲線を示したものは10例(58.9%)、非定型的曲線を示したものは7例(41.1%)で、マストパッチ患者の示した傾向と極めて類似し、健常婦人に比較して非定型的曲線を示すものが増加していることを認めた。

月経週期間中のピークの発現時期については、定型的曲線を示したものの中1例を除いては排卵期のピークは月経前14日から17日の間に、黄体完成期のピークは月経前4日から7日の間に発現し、健常婦人との差異は認められなかった。

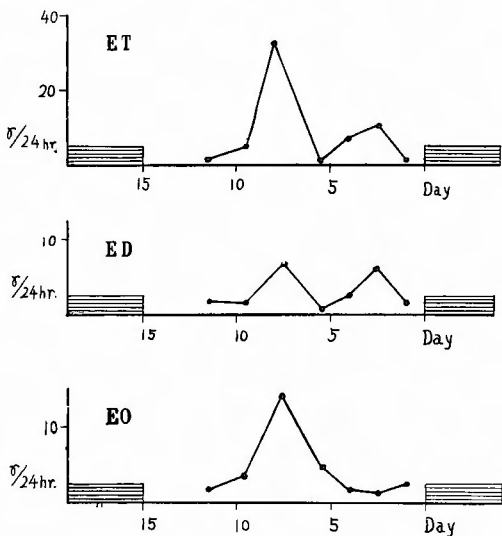
測定した17例のピーク時の平均値は 56.3 γ で、健常婦人の平均値 79.5 γ に比べて相当低下しており、マストパッチ患者に比較しても多少の低下が認められる。Estriol, Estrone, Estradiol 各分割のピーク時の平均値を健常婦人、マストパッチ患者、乳癌患者について比較すると第4表、第13図の如く、乳癌患者の Estriol 分割では 40 γ から 110 γ の間にある百分率は 58.8%、40 γ 以下の低い値を示したものは 35.3%で健常婦人に比較して低い値のものが増加する傾向が認められ、又マストパッチ患者に比べても多少の差が認められた。

この関係は程度の差はあるが、3分割共にマストパッチ患者では健常婦人に比べてむしろ多少低いものが増加し、乳癌患者では更にその低い値を示したものの発現率が増加していた。

次に Estriol 排泄曲線を詳細に観察すると、定型的曲線を示した10例は第20図に示したようで、その中の1例(第21図)は月経困難症等の既往症はなかったが、月経週期が一定せず20~30日型で、7日間持続し、出



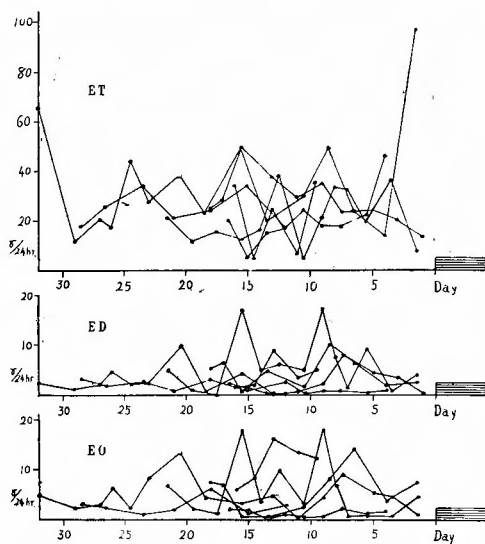
第20図 乳癌患者で定型的曲線を示したもの



第21図 乳癌患者で月経週期の短縮した1例

血量中等度の51歳の乳癌患者で、測定時の月経週期は19日に短縮され、月経と月経の間は15日間であつたが、その間に2つのピークを認め、排卵期のピークは月経前8日に、黄体完成期のピークは月経前3日に発現し、Estradiolと同様な排泄曲線を示した。他の9例のピークの発現時期に関しては、前述したように、多少の差はあるが略々同時期に発現し、健常婦人における関係とよく一致していたが、ピーク時の排泄量については40%以下の低い値を示しているものが増加している。

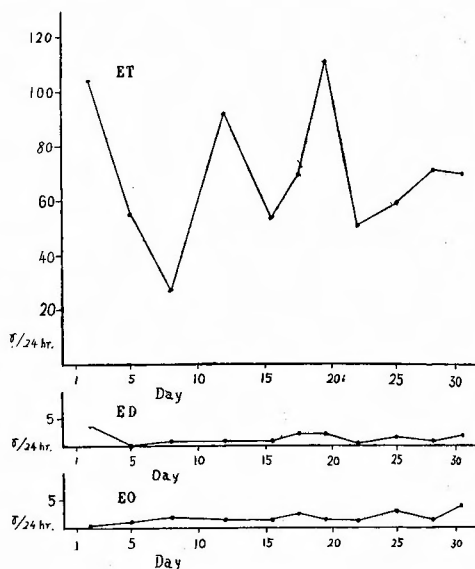
非定型的曲線を示した7例は第22図に示したよう



第22図 乳癌患者で非定型曲線を示したもの

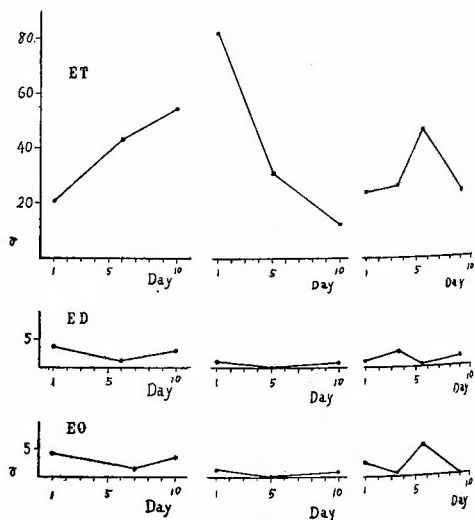
に、全体的に尿中の Estriol 排泄量は減少し、その排泄曲線も乱れ、就中、34歳で30日型の月経週期が延びて43日になつた症例ではその乱れが著明であつた。

また過去8ヵ月米無月経の38歳の乳癌患者の症例に於ては、Estriol 排泄曲線は第23図の如く非定型曲線を示し、排泄曲線中における排卵期、黄体完成期との関係は不明である。この患者の Estrone 及び Estradiol 排泄曲線は Estriol が高い排泄値を示したのに反して極めて低く、且つピークを示さなかつた。かくの如く Estriol が高い排泄値を示しているのに、Estrone 及び Estradiol が平坦化していた婦人において無月経であつたことは、生理的作用の強い Estrone 及び Estradiol の消長が卵巣機能を支配し、且つ Estriol が Estrone 及び Estradiol の代謝産物ではないかと疑をもたせるような一症例であつた。



第23図 38才の無月経の乳癌患者婦人

総括的に月経閉止期前の乳癌患者の Estriol 排泄曲線を健常婦人の曲線に比較すると、非定型的曲線が増加し、そのピーク値も40%以下のもの、乃至は40%に近い低い値のものが増加していた。また Estriol 分割と Estrone 及び Estradiol 分割との関係は、ピークの発現時期については3分割の間に略々同一の傾向を認めるが、矢張り1~3日前後のずれが認められたのである。またピーク時の平均値は3分割共に、前述したように、乳癌患者は健常婦人はもとよりマストパチ



第24図 閉経期の乳癌患者(3例)

—患者に比べても低い値の傾向を示していた。排泄曲線を全体的に考察すると非定型的曲線を示す傾向が乳癌患者に於いては比較的多く、3分割共に同様な態度を示していた。

また、月経閉止期の乳癌患者3例について数回測定した結果は第24図の如くで、排卵機能の終了したこれら婦人の、尿中 Estriol 排泄量に変動があつたことは、Estriol が Estrone 及び Estradiol の代謝産物ではなからうかと考えられると共に、更に下垂体、副腎等のホルモンの代謝産物に関係があるのではなからうかという疑をもたせるような成績であつた。

小 括

以上のように、健康婦人に比べてマストパッチー、乳癌患者共に尿中 Estriol の排泄値は特に高いと言う傾向は認められず、むしろ低いものが少なくなく、しかも排泄曲線の不規則なものが多かつた。これはさきに西谷が Estrone 及び Estradiol について報告した成績とよく一致している。即ち、Estriol が Estrone 及び Estradiol の代謝産物であるか否かは兎も角として、矢張りそれに似た排泄曲線を示す事がわかつたわけである。したがつてマストパッチー患者においては、伊勢田が報告したように、17KS 値の低下するものが多い事、また黒田が証明したように 17KS 分割中性腺分割の低下するものが多い事など考え合せて、矢張り Estrogen の絶対量が生体内に増加するのではなく、antagonist である Androgen の低下による相対的な Estrogenism のものが多く、これは性腺系の Dysfunction に由来するものであろう事はわれわれの Estriol の排泄値からも容易に想像されるのである。

総 括 及 び 考 察

乳腺腫瘍患者の尿中 Estrogen 排泄値に関しては、既に欧米では Wanke, Tayler, Buckner and Geschickter, Nathanson 等が報告し、我国では増田、西谷、藤森、山本等が報告しているが、その成績は必ずしも一致していない。即ち Wanke はマストパッチー患者の尿中 Estrogen の排泄値は低下していると報告しているのに反し、Tayler, Bucher and Geschickter 等は健康婦人との間に著しい差異を認めないとし、Nathanson は排泄値よりもその排泄曲線に不規則なものがある事を認めている。また藤森、山本は尿中 Estrogen 値が高い事を報告したが、増田、西谷等は尿中 Estrone 及び Estradiol 分割は高いものはむしろ少なく、正常範囲もしくは低いものが多く、排泄曲線が不規則

な事を注目している。このような意見の差は血中、尿中をとわず Estrogen の量が非常に微量であることと、測定方法が異なることによるものと考えられる。

しかも以上の報告は何れも Estrogen 全体として、生物学的測定によるものや、Estrogen を全体にして Estrone, Estradiol の総和を測定したものであつて、Estrogen の主な分割である Estrone, Estradiol, Estriol 各分割について月経週期に互に詳細に測定したものはない。

そこでわれわれは Estrogen の各分割を測定することにしたのであるが、その一部として Estriol 分割の分離測定を探索したのである。そして前記の如く Brown の抽出法を改良して比較的満足すべき回収率を得て、乳腺腫瘍患者、就中、マストパッチー、乳癌患者の尿中 Estriol 排泄値の消長を観察したのであるが、Estriol の生理的作用は Estrone 及び Estradiol に比較すれば極めて弱く、しかも生体内で占める役割はまだ明らかでない。まして尿中に排泄される Estriol がそのまま生体内の、特に乳腺組織中の Estriol と平衡するか否かは全く不明で、尿中 Estriol の排泄量のみを通して、マストパッチーや乳癌の関係を直接に覗く事は困難であるとも考えられるが、健康婦人の排泄量と比べると矢張り或程度の差異を認めたのである。併し、決して異常に排泄増加を示してはいなかつた。しかもその排泄曲線の不規則なものがマストパッチー患者では多く、乳癌患者でも同様に多かつたのである。

これは西谷の報告や、協同研究者栗田が Estrone 及び Estradiol 各分割を個々に測定して得た成績とも略々一致したのである。しかし Estrone, Estradiol の排泄曲線が常に Estradiol の排泄曲線と平行した消長を示すとは限らず、数日のずれがあつたり、時に全く逆の曲線を示すことがあつた。これは Estriol が性腺あるいは副腎から Estrone 及び Estradiol などと平行して分泌される以外に、Estriol の一部には Estrone 及び Estradiol あるいはその他のホルモン代謝産物が含まれているとも考えられ、その発情作用が Estrone と Estradiol に比べて著しく低く、その排泄量は著しく多いことなども非常に興味のある点ではあるが、これは今後に残された問題である。

いずれにせよわれわれの測定した Estriol の排泄曲線は、前に西谷が Estrone 及び Estradiol の総和を測定して得た成績に略々似た傾向を示したことは、やはり乳腺腫瘍患者、就中、マストパッチー患者の性ホルモンバランスは絶対的な Estrogen 過剰にあるのでは

なく, Androgen 低下による相対的なものであることを再び確め得たことになり, 要するに Estrogen の一つの分割である Estriol のみでは乳腺腫瘍発生を説明するだけの変化は認めがたく, antagonist である Androgen の低下, さらに下垂体の Mammotrophin 等の作用と相まつて, 下垂体, 性腺等の Dysfunktion が根底にあるものと考ええる。

結 語

1) われわれは Brown による Estriol の抽出, 測定方法, 特に Chromatography 過程を検討改良し, 硫酸螢光法を用いて, 健常婦人, 及び乳腺腫瘍患者48例について尿中 Estriol を測定した。

2) Estriol の1日排泄量は Estrone 及び Estradiol に比べて著しく多い。

3) Estriol 分割の排泄曲線を比較すると, 健常婦人が示した曲線よりも乱れた非定型的の曲線を示したものはマストバチー患者では 37.5%, 乳癌患者では 41.1% で, マストバチー患者および乳癌患者の尿中 Estriol 排泄曲線に乱れがあることを示していた。

4) ピーク時の平均値に関しては, 正常範囲と考えられる 40 γ から 110 γ の間にある百分率はマストバチー患者 80.0%, 乳癌患者 58.8% であり, 40 γ 以下の比較的低値を示した百分率はマストバチー患者 20.0%, 乳癌患者 35.3% で, マストバチー患者より乳癌患者の方が低い値を示すものが増加していた。尿中 Estriol の排泄曲線を全体的に考察すると健常婦人とマストバチー患者との間ではあまり大差はないが, 排泄値をピーク値を中心にして検討すると, 正常範囲内にあつてもマストバチー患者は健常婦人より低い値を示すものが多く, 乳癌患者は更に低い値を示す傾向を認めた。

5) ピーク発現の時期は, 排卵期ピークは次の月経の前14日から18日の間に, 黄体完成期のピークは次の月経の前3日から8日の間に発現するものが多い。

6) Estriol の排泄曲線と, Estrone 及び Estradiol の排泄曲線との関係については, ピークの発現時期は大体相前後して発現するが1~3日前後のずれが認められる場合が多い。

本論文の要旨の一部は第30回日本内分泌学会に於いて発表した。

稿を終るに臨み, 終始御懇切な御教示を賜った教室増田強三講師, 並びに実験の便宜と貴重な装置の使用を許され, 事に臨み適切な御教示を賜った衛生学教室三浦運一教授, 藤原元典教授に謹んで深く感謝致します。

す。又ホルモン剤を提供して戴いた帝国臓器株式会社に深謝致します。

文 献

- 1) Allen, E. & Doisy, E. A.: An Ovarian Hormone; Preliminary Report on its Localisation, Extraction and Partial Purification and Action in Test Animals. J. A. M. A., 81, 819, 1923.
- 2) 浅野 繁: 尿中 estrogen の螢光反応に依る微量定量について。内分泌, 2, 455, 1955.
- 3) Bates, R. W. and Cohen, H.: Experimental Basis for Selecting the Optimal Conditions for Quantitative Fluorometry of Natural Estrogens., Endocrinol. 47, 166, 1950.
- 4) Bates, R. W. and Cohen, H.: Fluorescence Spectra of Natural Estrogens and their Application to Biological Extracts. Endocrinol. 47, 182, 1950.
- 5) Bauld, W. S.: Separation of Oestrogens in Urinary Extracts by Partition Chromatography. Bioche. J. 59, 294, 1955.
- 6) Bierry, H. et al.: Detection des hormones oestrogens, dans l'urine de la femme enceinte, par une reaction de fluorescence. Compt. rend. Soc. de biol. 122, 147, 1936.
- 7) Bierry, H. et al.: Extraction et detection spectrale de l'oestriol dans l'urine de la femme enceinte, Compt. rend. Soc. de biol. 124, 320, 1937.
- 8) Braunsberg, H.: Fluorimetric Determination of Estrogens. J. Endocrinol. 8, 11, 1952.
- 9) Brown, J. B.: Some Observation on the Kober Colour and Fluorescence Reactions of the Natural Estrogens. J. Endocrinol. 8, 196, 1952.
- 10) Brown, J. B.: A Chemical Method for the Determination of Oestriol, Estrone and Estradiol in Human Urine. Biochem. J. 60, 700, 1955.
- 11) Brown, J. B., Kloppe, A. and Loraine, J. A.: The Urinary Excretion of Oestrogens, Pregnadiol and Gonadotrophins During The Menstrual Cycle. J. Endocrinol. 17, 401, 1958.
- 12) Bucher, N. L. R. and Geschickter, C. F.: Corpus Luteum Studies. II Pregnadiol and Estrogen Output in the Urine of Patients with Chronic Mastitis. J. Clin. Endocrinol., 1, 58, 1941.
- 13) Engel, L. L. et al.: The Separation of Natural Estrogens by Counter Current Distribution. J. B. C., 185, 255, 1950.
- 14) Escher, G. C.: Hormone Therapy in Advanced Mammary Carcinoma. The Med. Clin. North America, 36, 681, 1952.
- 15) Finkelstein, M. et al.: Estimation of Steroid

- Estrogens by Fluorimetry. Proc. Soc. Exper. Bio. & Med., **64**, 64, 1944.
- 16) Finkelstein, M.: Microdetermination of Steroid Estrogen in Urine by Fluorometry. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., **69**, 181, 1948.
- 17) Friedgood, H. B. et al: A New Method for the Separation of Androgens from Estrogens and for the Partition of Estriol from Estrone-Estradiol Fraction. J. B. C., **174**, 523, 1948.
- 18) 藤森正雄: 前癌性変化としての慢性乳腺症とその内分泌変調. 治療, **36**, 29, 1954.
- 19) Iseda, Y.: Endocrinological Studies on Neoplastic Disease of the Breast in the Light of the Excretion of Urinary 17-Ketosteroids. Arch. für Jap. Chir. **25**, 443, 1956.
- 20) Jailer J. W.: A Fluorometric Method for the Clinical Determination of Estrone and Estradiol. J. Clin. Endocrinol. **8**, 564, 1948.
- 21) Jailer, J. W.: The Metabolism of the Estrogens. J. Clin. Endocrinol. **9**, 557, 1949
- 22) Kier, L. S. et al.: Endocrine Relationships in Benign Lesions of the Breast. Ann. Surg., **135**, 782, 1952.
- 23) 小林賀雄: 産婦人科領域に於ける尿中エストロゲン殊にその分割の意義について. 日産婦誌., **13**, 1457, 1956.
- 24) Kober, S.: Eine Kolorimetrische Bestimmung des Brusthormons. Biochem. Ztschr., **239**, 209, 1931.
- 25) 越 哲也, 他: テストステロンの乳腺に及ぼす影響. 日本内分泌誌, **32**, 190, 1956.
- 26) Marrian, M. G. F. and Bauld, W. S.: The Isolation of Epioestriol from the Urine of Pregnant Women. Biochem. J., **59**, 136, 1955.
- 27) 増田強三, 他: マストパチーと性ホルモン. 診療, **6**, 891, 1953.
- 28) 増田強三, 西谷奎吾: エストロゲンの化学的定量法. 最新医学, **9**, 80, 1954.
- 29) 増田強三: 乳癌と性ホルモン. ホと臨床, **3**, 1203, 1955.
- 30) 増田強三: 乳腺腫瘍と卵巣, 副腎皮質の関係. 癌の臨床, **2**, 459, 1956.
- 31) 増田強三: 乳腺腫瘍と性ホルモン. 日本臨床, **14**, 1522, 1956.
- 32) 増田強三: 乳癌及びマストパチーのホルモン療法. 総合医学, **13**, 1195, 1956.
- 33) 増田強三: Mastopathie. 内分泌のつどい, **8** 集, 346, 1956.
- 34) 増田強三: 乳腺腫瘍の形態発生と内分泌. 臨床外科, **12**, 1522, 1957.
- 35) 増田強三: 乳癌と乳腺症 (マストパチー). 診療, **10**, 972, 1957.
- 36) 森 茂樹: ステロイドホルモンと腫瘍. ホと臨床, **4**, 303, 1956.
- 37) Nathanson, I. T.: The Relationship of Hormones to Diseases of the Breast. Endocrinology of Neoplastic Disease; **138**: 1947. Oxford Univ. Press., New York.
- 38) Nathanson, I. T.: Hormonal Treatment in Cancer. Med. Clin. North A., **34**, 1409, 1950.
- 39) Nishiya, K.: Endocrinological Studies on Neoplastic Disease of the Breast in the Light of the Excretion of Urinary Estrogens. Arch. für Jap. Chir., **26**, 249, 1957.
- 40) 落合京一郎: 発癌と性ホルモン特に発情ホルモン. 日本臨床, **3**, 697, 1954.
- 41) Pearlman, W. H. et al.: Estrogen Metabolism in Human Pregnancy A Study with the Aid of Deuterium. Journal of biological chemi. **209**, 803, 1954.
- 42) Procter, I. M. et al.: The Relation of Chronic Cystic Mastitis to Malignancy. Surg. Gynec. & Obst., **70**, 671, 1940.
- 43) Ross, M. and Dorfman, R. I.: The Urinary Excretion of Estrogens and Androgens by Woman with Carcinoma of the Breast. Cancer Research, **1**, 52, 1941.
- 44) Salzstein, H. C. et al.: Benign Tumors of the Breast. J. A. M. A., **140**, 997, 1949.
- 45) Shimkin, M.: Hormones and Neoplasma. Cancer, **1**, 161, 1957.
- 46) Stimmel, B. F.: Utilization of a Color Correction Equation with the Kober Reagent for the Estimation of the Estrogens in Human Urine with Low Estrogen Content (Abstract). J. B. C.: **165**, 73, 1946.
- 47) Stimmel, B. F.: The Effect of Zinc-Hydrochloric Acid Hydrolysis on the Estrogens in Human Urine., J. B. C.: **178**, 217, 1947.
- 48) 鈴木 雅洲, 森滋: 尿中 Estrone Estradiol および Estriol の化学的測定法. 内分泌, **1**, **522**, 1954.
- 49) 鈴木 雅洲: Estrogen の化学的測定法, 特に Chromatography について. ホと臨床, **4**, **546**, 1956.
- 50) Taylor, H. C.: The Relation of Chronic Mastitis to Certain Hormones of the Ovary and Pituitary and to Coincident Gynecological Lesions; Part II, Clinical and Hormone Studies. Surg. Gynec. & Obst., **62**, 562, 1936.
- 51) Venning, E. et al.: The Determination of Estrin in Urine with the Photoelectric Colorimeter. J. B. C. **120**, 225, 1937.
- 52) Wanke, R.: Die Mastopathia chronica in neueren Betrachtung. Deutsch. Zeitschr. Chir., **250**, 234, 1938.
- 53) Willibald, Pschyrembel und Gunter Halder,: Ein neues Verfahren zur getrennten Bestimmung der Östrogen Hormone auf der Grundlage des Kober Tests. Nature, **306**, 154, 1957.
- 54) 山本 武: 乳腺腫瘍に関する研究. 第3編, 乳腺腫瘍の内分泌学的研究, 特に性ホルモンとの関係. 名古屋市大医学雑誌, **66**, 7, 1956.