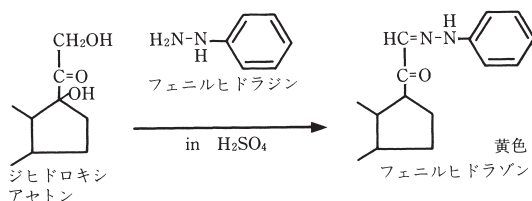


a. 尿中ステロイドホルモン

① 17-OHCS (17-ヒドロキシコルチコステロイド)

【原理】 側鎖にジヒドロキシアセトンの構造をもつステロイドは、硫酸溶液中でフェニルヒドラジンと反応して黄色に呈色する (Porter-Silber 反応) のでこれを 410 nm で比色定量する。



【操作】 ① 水解：グルクロン酸抱合をはずすため、24 時間尿の一部 5 ml を 2.5 mol/l 酢酸緩衝液 0.5 ml で pH 5.0 に調整し、硫酸ナトリウム 0.8 g を加え、 β -グルクロニダーゼ (500 U/ml) を 0.2 ml 添加し、48°C, 30 時間静置する。

② 抽出：ジクロロメタン 30 ml を加え、30 秒振とうし、上層を吸引除去する。

③ アルカリ、水洗浄：0.1 N 水酸化ナトリウム-15%硫酸ナトリウム 3.0 ml で洗浄し、次に 0.1 N 水酸化ナトリウム 1.0 ml で洗浄し、硫酸ナトリウムで脱水する。

④ Porter-Silber 反応：抽出液 10 ml ずつを 2 本の栓付試験管にとり、本試験用にはエタノール 1 ml と、62%フェニルヒドラジン-硫酸 1.5 ml を加え、ブランク測定用にはエタノールと硫酸を加え、それぞれ 1 分間振とう後、抽出層の半分を除去し、60°C, 30 分間加温ののち冷却し、410 nm で比色し、吸光度をそれぞれ E_A , E_{AB} とする。別に試薬盲検 (精製水) 5 ml と標準液 (1 mg/dl F または THF) 5 ml について尿と同様に各操作を行い、吸光度を E_B , E_S とする。

⑤ 計算

$$17\text{-OHCS (mg/日)} = (E_A - E_{AB} - E_B) / (E_S - E_B) \times 0.01 \times 1 \text{ 日尿量 (ml)}$$

干渉物質の補正：Allen の式より 370, 410, 450 nm の吸光度から：

$$E_{410\text{nm}} - \frac{E_{370\text{nm}} + E_{450\text{nm}}}{2}$$

より 410 nm の吸光度の補正を行う (図 8-5)。

【注】 17-OHCS はアルカリに不安定であるから、ジクロロメタン抽出液をアルカリ液で洗うとき速やかに処理し、呈色液を入れる。

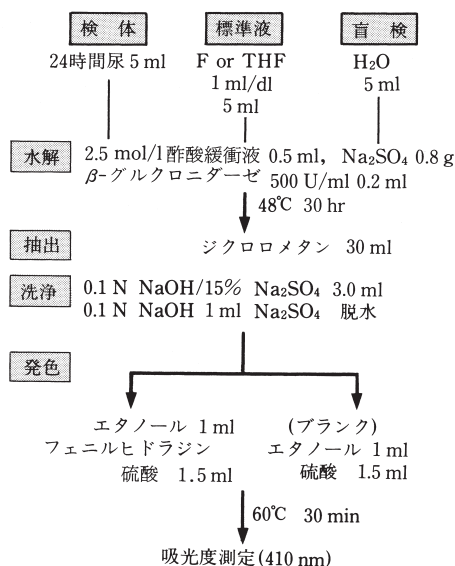


図 8-5 17-OHCS 測定法