

## 国立衛生試験所下垂体性性腺刺激ホルモン標準品 (Control 961)

江馬 真・原園 景・宮脇英美子・天野 博夫  
小川 義之・岡田 敏史

### The Human Menopausal Gonadotrophin Reference Standard (Control 961) of the National Institute of Health Sciences

Makoto Ema, Akira Harazono, Emiko Miyawaki, Hiro Amano,  
Yoshiyuki Ogawa and Satoshi Okada

Raw human menopausal gonadotrophin (HMG) material was examined for preparation of the "Human Menopausal Gonadotrophin Reference Standard (Control 961)". The candidate material was assayed its follicle stimulating hormone (FSH) activity and luteinizing hormone (LH) activity against the 3rd International Standard for FSH and LH, urinary (71/264) by the augmented ovarian weight gain assay and the seminal vesicle weight gain test, respectively. The potency of the new standard was defined as 56 international units of FSH activity per mg and 61 international units of LH activity per mg as the result of 13 and 5 assays, respectively, in four collaborative laboratories.

**Keywords:** human menopausal gonadotrophin, follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, biological assay, NIHS reference standard

(Received May 31, 1996)

本品は更年期婦人尿から得た性腺刺激ホルモンを乾燥したもので、卵胞刺激ホルモン (FSH) 作用および黄体形成ホルモン (LH) 作用を有し、間脳性 (視床下部性) 無月経、下垂体性無月経の排卵誘発のために用いられる。下垂体性性腺刺激ホルモンは局外規 (1993) 取載品目であるが、日本薬局方取載品目に指定され、三共(株)より日局原案が提案される予定である。

国立衛生試験所下垂体性性腺刺激ホルモン標準品設定にあたり、国際標準品を対照として、持田製薬(株)、帝国臓器製薬(株)、三共(株)および国立衛生試験所大阪支所生物試験部の4機関による国内共同検定が行われた。

#### 実験材料および方法

##### 1. 標準品原料

オルガノン社 (オランダ) より入手した下垂体性性腺刺激ホルモン (Batch no.: A04421001, Ref. No.: L00005041) を用いた。

##### 2. 力価の検定

本実験には対照標準品として第3回国際標準品 (3rd International Standard for Follicle Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone, Urinary-71/264) を用いた。本候補品および国際標準品は0.1%のウシ血清アルブミンを含むリン酸塩・塩化ナトリウム緩衝液 (pH 7.2) に溶解した。力価の検定は試料溶液および標準溶液の高用量

および低用量の2用量による卵巣および精嚢重量の増加を比較する2-2平行線検定法を用い、日本薬局方「胎盤性性腺刺激ホルモン」の定量法にしたがって行った。使用ラットの系統は特定せず、それぞれの機関において日常的に用いられているウィスター系またはSD系ラットを使用した。また、いずれの機関とも高用量群と低用量群の容量比は2であった。

FSH 活性は幼若雌ラットを用いた卵巣重量増加法により測定した。本候補品および国際標準品を精密に量り、胎盤性性腺刺激ホルモン 80 単位/ml を含む溶液を調製し、2.0~3.0 単位/ml を高用量液とし、1.0~1.5 単位/ml を低用量液とした。各群 10 匹の 4 群の 3 週齢の雌ラットに、第 1 日目の午後 1 回、第 2 日目の午前、正午および午後の 3 回、第 3 日目の午前および午後の 2 回にわたって 1 回 0.2 ml ずつ皮下投与した。第 5 日目に卵巣を摘出して重量を測定した。

LH 活性は幼若雄ラットを用いた精嚢重量増加法により測定した。本候補品および国際標準品を精密に量り、20.0~28.0 単位/ml を高用量液とし、10.0~14.0 単位/ml を低用量液とした。各群 10 匹の 4 群の 3 週齢の雄ラットに、1 日 1 回 0.2 ml ずつ 5 日間皮下投与し、第 6 日目に精嚢を摘出して重量を測定した。

##### 3. 検定結果の集計

4 機関で得られた計 13 回の FSH 活性および計 5 回の

LH 活性測定の結果のそれぞれの加重平均力価を USP の方法<sup>1)</sup>により求めた。

### 試験結果

計 13 回の FSH 活性測定の結果を Table 1 に示した。いずれの試験においても F' 値は 4.119 (df=36) を越えず、また L 値も 0.3 を越えず、本試験結果の精度が確保されていた。これらの結果については分散の均一性が 5% の危険率で否定されなかった。加重平均力価を算出したところ、総平均力価は 55.8 単位/mg となった。その 95% 信頼限界は 53.4~58.3 単位/mg (Lc=0.039) であった。これらの試験結果に基づいて、国立衛生試験所下垂体性性腺刺激ホルモン標準品 (Control 961) の FSH 活性の力価を 56 単位/mg と決定した。

計 5 回の LH 活性測定の結果を Table 2 に示した。いずれの試験においても F' 値は 4.119 (df=36) を越えず、また L 値も 0.3 を越えず、本試験結果の精度が確保されていた。これらの結果については分散の均一性が 5% の危険率で否定されなかった。加重平均力価を算出したところ、総平均力価は 60.6 単位/mg となった。その 95% 信頼限界は 54.5~67.4 単位/mg (Lc=0.093) であった。これらの試験結果に基づいて、国立衛生試験所下垂体性性腺刺激ホルモン標準品 (Control 961) の LH 活性の力価を 61 単位/mg と決定した。

### 結 論

国際標準品を対照として 4 機関による共同検定を行った結果、本標準品候補品の FSH 活性は 55.8 単位/mg とな

Table 1. Summary of the collaborative biological assay for follicle stimulating hormone activity of the candidate Human Menopausal Gonadotrophin Reference Standard

| Exp. no. | Lab. code | No. of rats | Log unit (M) | L     | F'    | w (4 t <sup>2</sup> /L <sup>2</sup> ) | Potency (IU/mg) |
|----------|-----------|-------------|--------------|-------|-------|---------------------------------------|-----------------|
| 1        | A         | 40          | 1.762        | 0.154 | 0.002 | 693                                   | 57.8            |
| 2        | A         | 40          | 1.785        | 0.136 | 0.215 | 885                                   | 61.0            |
| 3        | A         | 40          | 1.753        | 0.237 | 3.564 | 291                                   | 56.7            |
| 4        | B         | 40          | 1.786        | 0.123 | 1.596 | 1091                                  | 61.1            |
| 5        | B         | 40          | 1.638        | 0.243 | 1.117 | 278                                   | 43.4            |
| 6        | B         | 40          | 1.790        | 0.163 | 0.911 | 619                                   | 61.7            |
| 7        | B         | 40          | 1.769        | 0.160 | 0.769 | 644                                   | 58.7            |
| 8        | C         | 40          | 1.704        | 0.109 | 0.041 | 1380                                  | 50.5            |
| 9        | C         | 40          | 1.762        | 0.101 | 0.112 | 1604                                  | 57.8            |
| 10       | C         | 40          | 1.748        | 0.075 | 1.059 | 2957                                  | 55.9            |
| 11       | C         | 40          | 1.720        | 0.065 | 1.887 | 3921                                  | 52.5            |
| 12       | D         | 40          | 1.833        | 0.266 | 0.372 | 233                                   | 68.1            |
| 13       | D         | 40          | 1.770        | 0.170 | 0.141 | 570                                   | 58.8            |

Approx.  $\chi^2 = 15.850 < 21.026$  ( $p=0.05$ ,  $df=12$ )

Weighted mean of M=1.747

Combined potency=55.8 IU/mg

Lc=0.039 (53.4~58.3 IU/mg,  $p=0.95$ )

Table 2. Summary of the collaborative biological assay for luteinizing hormone activity of the candidate Human Menopausal Gonadotrophin Reference Standard

| Exp. no. | Lab. code | No. of rats | Log unit (M) | L     | F'    | w (4 t <sup>2</sup> /L <sup>2</sup> ) | Potency (IU/mg) |
|----------|-----------|-------------|--------------|-------|-------|---------------------------------------|-----------------|
| 1        | A         | 40          | 1.764        | 0.062 | 0.431 | 4217                                  | 58.1            |
| 2        | B         | 40          | 1.849        | 0.107 | 4.057 | 1458                                  | 70.7            |
| 3        | B         | 40          | 1.769        | 0.240 | 0.284 | 286                                   | 58.8            |
| 4        | C         | 40          | 1.785        | 0.111 | 0.089 | 1325                                  | 60.9            |
| 5        | C         | 40          | 1.749        | 0.172 | 0.932 | 555                                   | 56.0            |

Approx.  $\chi^2 = 8.633 < 9.488$  ( $p=0.05$ ,  $df=4$ )

Weighted mean of M=1.783

Combined potency=60.6 IU/mg

Lc=0.093 (54.5~67.4 IU/mg,  $p=0.95$ )

り、その95%信頼限界は53.4~58.3単位/mgと算出され、LH活性は60.6単位/mgとなり、その95%信頼限界は54.5~67.4単位/mgと算出された。これらの結果に基づいて、国立衛生試験所下垂体性性腺刺激ホルモン標準品(Control 941)のFSH活性の力価を56単位/mg、LH活性の力価を61単位/mgと決定した。

終わりに、本標準品の製造のために御協力頂いた日本オルガノン(株)(沢村勝文薬事・法規室長)、持田製薬(株)(酒井

喜代志クオリティ担当副部長、鴨西啓司静岡クオリティ・チーフ)、帝国臓器製薬(株)(竹崎孝行品質管理部長、三枝 衛主席研究員)および三共(株)(外岡弘道品質管理部長、湯浅 正、吉崎忠雄品質管理課長)に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) US Pharmacopoeia 23, pp. 1705~1715 (1995)