

原 著

思春期の排卵障害とメラトニン分泌動態

東京女子医科大学 産婦人科学教室 (主任：武田佳彦教授)

サイ トウ リ エ
斉 藤 理 恵

(受付 平成9年8月15日)

A Study of Melatonin Secretion in Pubertal Patients
with Menstrual Disorder

Rie SAITO

Department of Obstetrics and Gynecology (Director: Prof. Yoshihiko TAKEDA)
Tokyo Women's Medical College

Melatonin is involved in the onset of puberty, and is considered to suppress the functions of reproductive organs. To investigate diurnal changes in serum melatonin, LH, FSH, prolactin and estradiol levels in pubertal patients with menstrual disorders and age-matched normal females, we determined the serum levels of these hormones every 2 hours for 24 hours. The area under curve (AUC) of nocturnal serum melatonin levels in patients with menstrual disorders was significantly higher than that of normal controls. After clomiphene treatment of the secondary amenorrheic patients, the AUC of serum melatonin was lower in the ovulation subgroup than in the anovulation subgroup. Although the estradiol level in the ovulation group was marginally higher than in the anovulation group, there was a negative correlation between the serum estradiol level and serum melatonin in the anovulation subgroup. To study this correlation, we treated 5 week-old female Wistar-Imamichi strain rats with FSH and determined serum estradiol levels and the pineal melatonin content 48 hours later. FSH increased serum estradiol levels while decreasing the melatonin content of the pineal body. This FSH effect was reversed by coadministration of an aromatase inhibitor. Again, there was a negative correlation between serum estradiol levels and the pineal body melatonin content in rats. These results suggest that the high melatonin levels observed in patients with menstrual disorders were decreased by induction of ovulation through increasing serum estradiol levels.

緒 言

メラトニン (melatonin: MT) は主に松果体で産生されるホルモンで、内分泌的な意義はまだ十分に解明されていないが、日内リズムがあり、季節的発情を示す動物では日照時間の変化を視床下部・下垂体・性腺系に伝える作用があることが知られている。人においては、季節周期性はないが、加齢とともにその濃度が低下するという報告¹⁾²⁾が多く、思春期発来以前の女子では分泌量が多く、第2次性徴とともに低下することから、思

春期発来に関与していると示唆されている^{1)~3)}。また、性機能の抑制作用があるといわれている^{1)~5)}。

我々は性的成熟の過渡期である思春期でのMT分泌動態の月経障害、体格、排卵による影響、特にエストロゲン濃度の上昇とMT分泌の変化を調べるために、月経障害をきたす疾患別と体格別のMT分泌動態、第1度無月経における排卵誘発の治療に伴うMT分泌量の変化と高エストロゲン環境下での実験動物モデルを用いてMTの

分泌量を検討した。

対象および方法

1. 対象

月経障害をきたして当科思春期外来を受診した15歳以上21歳未満の女性のうち、明らかな基礎疾患がなく、初診時の午後の採血でプロラクチン(PRL)、甲状腺機能に異常のないものを対象とした。なお、染色体異常、先天奇形、卵巣性無月経は除外した。

2. 臨床的検討

1) 疾患別のMTの分泌と日内変動

月経障害をきたす疾患別のMTの分泌の相異をみるため、治療をしていない周期に以下の分類で検討を行った。月経異常を認めない群を正常対照群(n=5)とし、3カ月以上の無月経を主訴とした続発性無月経群(n=13)、16歳以降18歳までに初経のみられた遅発月経群(n=7)とした。続発性無月経群はgestagenテストにより第1度無月経群(n=6)、第2度無月経群(n=7)に分類した。

2) 体格によるMT分泌量の相違

体格によるMT分泌量を検討するために肥満度(body mass index: BMI=体重(kg)/身長(m)²)により分類を行った。なお、BMIは東京女子医大病院産婦人科思春期外来患者(n=773)の標準のBMIの分布より算出し、1.5SDの18未満を「やせ」、1.5SDの24以上を「肥満」とした。

3) 排卵現象に伴うMT分泌の変化

排卵によるMT分泌の変化をみるために、続発性無月経のうちgestagenテスト陽性の第1度無月経例で、消退出血の5日目より、clomiphene citrate(クロミフェン)100mg/day経口投与を5日間行い、投与後の血中ホルモン(LH, FSH, PRL, MT, E₂)を測定した。その後、排卵の有無を基礎体温(basal body temperature: BBT)で確認し、BBTが上昇したものを排卵群(n=7)とし、BBTが上昇しなかったものを無排卵群(n=3)とした。また、未治療周期のBBT低温期に血中ホルモンを測定し、未治療群(n=5)とした。

4) ホルモン・メラトニンの測定

入院のうえ、明暗条件は午後10時消灯、午前6時起床とした。入院に際しては本人と母親の双方より事前に口頭でインフォームドコンセントを得た。床上安静、仰臥位で上腕末梢静脈に留置カテーテルを挿入し、明条件では2時間ごと、暗条件では1時間ごとに採血を行った。採血時は最小限の光源を用い(懐中電灯:10ルクス以下)、極力暗視野で行った。ホルモンの分泌量は午後10時~午前8時までの曲線下面積(area under curve: AUC)を求め、夜間総分泌量として比較した。

LH, FSH, PRL, はダイナボット社製キット(EIA法)を用い、MTはNichols Institute社製キット(RIA法)を用い、E₂は日本DPC社キット(RIA法)で測定した。

3. 思春期ラットの性腺刺激に関する実験的検討

MT分泌とエストロゲン濃度との関係を知るためにWistarイマミチ系雌ラット(5週齢)を用い、ヒトと同様に明暗条件を設定して飼育し、以下に示すような性腺刺激のモデルを作製した。ラットを対照群(n=6)、FSH投与群(n=6)、FSH+アロマトーゼインヒビター(AI)投与群(n=4)に分けた。

FSH 0.2mlは皮下投与、AIはラット頸部皮下にALZET osmotic mini pumpを埋めこみAIを833 μ g/200 μ l注入し、12 μ l/dayで投与した。対照群ではそれぞれの実験系に応じて同量の生理食塩水・セサミオイル合剤を同様な方法で投与した。

なお、開始時のラットの性周期は腔部細胞診で確認し、そのほとんどが発情休止期であった。

投与開始48時間後の明条件時に、体重を測定後、断頭し、同時に血液を採取し、開腹後、子宮・卵巣・松果体を摘出し、重量を測定し、松果体は測定まで-20°Cに保存した。組織中MT測定には、組織を細切後、4°C、0.1M過塩素酸1ml中で十分に混和し、クロロホルム:メタノール抽出によって2回精製し、水層を0.2mm径フィルターで濾過後、5,000Gで遠心分離した上清を試料とした⁶⁾。

MT測定は高速液体クロマトグラフィー(high performance liquid chromatography: HPLC,

表1 疾患別の背景

	正常対照群 (n=5)	1度無月経群 (n=5)	第2度無月経群 (n=10)	遅発月経群 (n=7)
平均年齢(歳)	17.8±1.1	18.6±1.4	18.1±1.4	19.0±1.8
BMI (体重/身長 ²)	20.0±1.9	20.0±3.8	16.6±1.7*	19.1±1.7**
初経年齢(歳)	12.8±1.5	12.3±2.2	12.8±1.1	

*vs 正常対照群 p<0.05, ** vs 第2度無月経 p<0.05.

IRIKA QC Pak C18カラム) により測定した。測定ごとに50, 100, 200, 400pg/mlのMTコントロール液で基準曲線を作り, サンプルのMT濃度を求めた。

血中ステロイドホルモンはアマシャム社ラットLH, FSHキット, 日本DPC社エストラジオールキット(RIA法)で測定した。MT標準試薬はN-acetyl-5 methoxytryptamine(SIGMA社), AIは塩酸ファドロゾール(日本チバガイキ社), ゴマ油は日本薬局方ごま油(小堺製薬)を用いた。

4. 統計処理

結果は平均±標準偏差で示した。統計処理はStudent's t-test, 回帰分析で行い, p<0.05をもって有意差とした。

結 果

1. 月経障害時のMTの分泌と日内変動

表1に示すように対照群, 続発性無月経群, 遅発月経群で年齢に差は認めなかった。初経年齢は, 対照群, 続発性無月経群の間に差はなかった。BMIは対照群, 第1度無月経群, 遅発月経群に比べ第2度無月経群は明らかに低かった。

MTの分泌動態をみるとすべての症例で午後10時頃より上昇し, 午前1~3時の間にピークを示し, 午前6~9時には下降するという夜間上昇するパターンを示した(図1)。各時間帯でのMT濃度を比較すると, 3時の時点で遅発月経群は75.8±14.9pg/mlと対照群39.8±4.8kg/mlに比し明らかに高く, これは6時においても遅発月経群は59.3±10.0pg/mlと正常対照群20.7±3.8pg/ml, 第2度無月経群25.4±4.3kg/mlに比し, 明らかに高く, 遅発月経群において高濃度の持続が認められた。同時に測定したPRL分泌も夜間に上昇したが, MTのピーク値とPRLのピーク

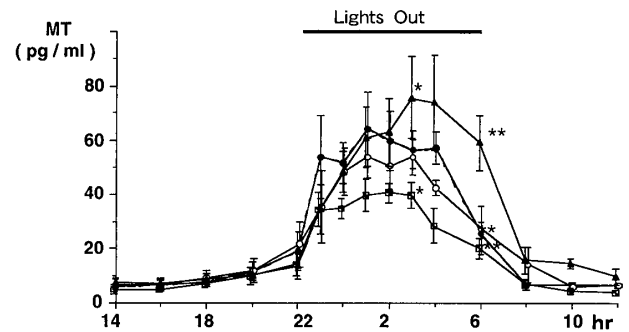


図1 疾患別のMTの日内変動

□: 対照群 (n=5), ▲: 遅発月経群 (n=7), ●: 第2度無月経群 (n=10), ○: 第1度無月経群 (n=5).
*: p<0.05, **: p<0.005, m±SD.

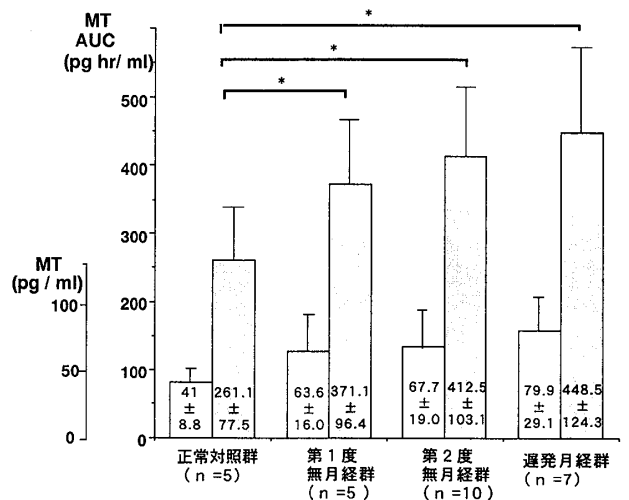


図2 疾患別にみたMTのピーク値と夜間分泌量(AUC)

□: Melatonin (MT) ピーク値, ▨: 曲線下面積(AUC), m±SD, *: p<0.05.

値の間に規則性を持った時間のずれはなかった。

疾患別の夜間MTピーク値をみると, 図2に示すように正常対照群, 第1度無月経群, 第2度無月経群, 遅発月経群の間に明らかな差はなかった。夜間分泌量(AUC)は第1度無月経群, 第2度

表2 続発性無月経におけるホルモンの夜間分泌量(AUC)

	未治療群 (n=5)	排卵群 (n=7)	無排卵群 (n=3)
LH (mIU hr/ml)	62.7± 34.5	125.0± 41.8*	52.2±19.2**
FSH (mIU hr/ml)	45.7± 15.0	50.5± 35.5	56.7±10.8
PRL (ng hr/ml)	162.8± 52.9	145.9± 34.8	146.0±51.7
E ₂ (pg hr/ml)	172.6±112.0	1,241.0±1,102.0	227.6±68.7

*vs 未治療群 p<0.05, **vs 排卵群 p<0.05.

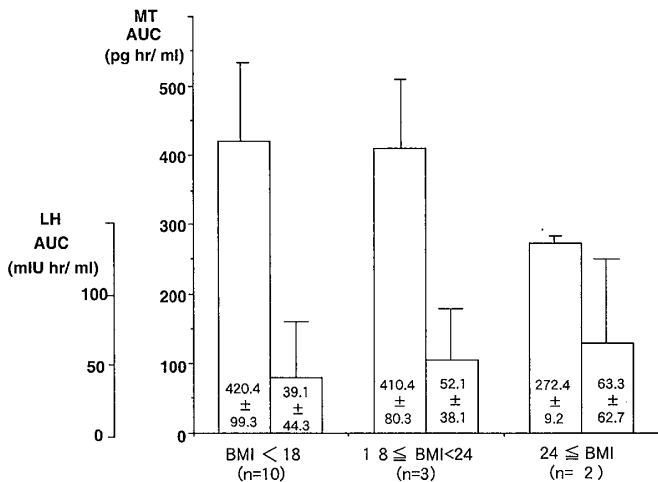


図3 続発性無月経でBMI別にみたMTとLHの夜間分泌量

□: メラトニンの夜間分泌量(AUC), ■: 黄体化ホルモン夜間分泌量(AUC), m±SD.

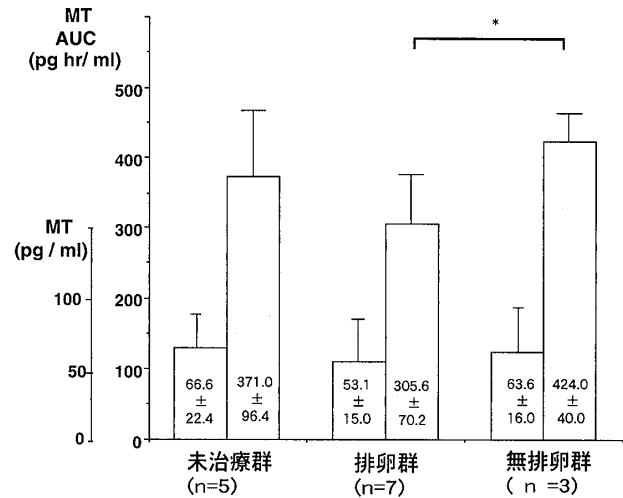


図4 第1度無月経での治療の有無と治療効果からみたMTのピーク値と夜間分泌量(AUC)

□: メラトニン(MT)ピーク値, ■: 曲線下面積(AUC), m±SD, *: p<0.05.

無月経群, 遅発月経群のいずれにおいても未治療群に比較して有意に高値を示した. 第1度無月経群と第2度無月経群の間に差はなかった(表2).

2. 体格によるMT分泌量の相違

続発性無月経の未治療時のMT分泌とBMIの関係を検討した. 第2度無月経の9割が「やせ」に分類され, MT分泌は「肥満」に比し「やせ」で高い傾向を認めたが, 差はなかった. LH分泌では両群に差はなかった(図3).

3. 排卵現象に伴うMT分泌の変化

排卵誘発効果とMT濃度の変動との関係をみると未治療群と無排卵群の間にピーク値, 夜間分泌量の差はないが, 排卵群の夜間分泌量は無排卵群に比し有意に低値であった(図4).

MT以外のホルモンの分泌量をみると夜間LH

分泌は, 未治療群, 無排卵群に比し排卵群で有意な増加を認めた. 一方, FSH, PRLの分泌には差を認めなかった. E₂の分泌は, 未治療群, 無排卵群からみると排卵群で高値を示したが, 個体差が大きく有意差は得られなかった(表3).

MT分泌とLH, FSH, PRLおよび, E₂の相関を夜間(午後10時~午前8時)の時間ごとの実測値でみると排卵群でPRLとの間に相関係数r=0.17と相関性は低いが正の相関を認め, 逆に無排卵群ではE₂との間にr=-0.54と有意な負の相関を認めた(表3, 図5). 排卵群では明らかな差はなかった.

4. 思春期ラットの性腺刺激に関する実験的検討

表4に示すように対照群, FSH投与群, FSH+

表3 メラトニンと各ホルモンとの関係

	排卵の有無	曲線の傾き	相関係数(r)	危険率(p)
LH	+	14.6-0.016x	0.53	0.54
	-	5.6+0.03x	0.24	0.06
FSH	+	5.8-0.014x	0.089	0.3
	-	8.3+3.8x	0.21	0.8
PRL	+	12.2+0.7x	0.17	0.05
	-	14.9+0.05x	0.23	0.06
E ₂	+	219.3-1.2x	0.11	0.4
	-	30.9-0.13x	-0.54	0.002

排卵(+) 7例(n=77), 排卵(-) 3例(n=33)の各症例について, 午後10時~午前8時までの間の11ポイント測定した。

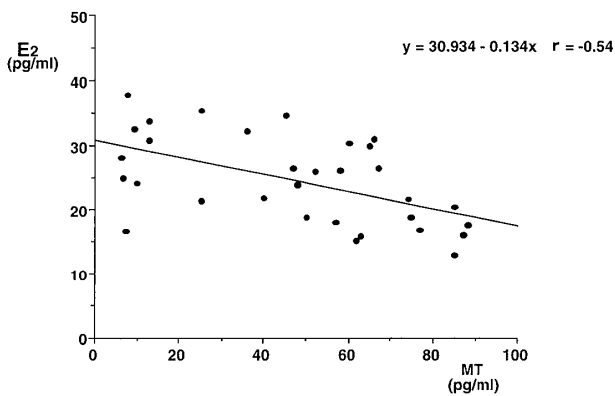


図5 第1度無月経(無排卵群)におけるMTとE₂の関係

AI投与群の体重に差はなかった。子宮重量は, 対照群に比しFSH投与群では明らかに増加し, AIを加えた群では低下した。卵巢重量は, FSH投与により増加したが, 明らかな差はなかった。血中E₂値は対照群に比しFSH投与群で有意に高値であり, AI添加で明らかに抑制された。視床下部, 下垂体中のMT値は, 測定感度以下であった。松

果体中MT濃度は, 対照群に比し, FSH投与群が明らかに低値を示した。

松果体中MT濃度と血中E₂値の相関関係をみると, 図6に示されるようにFSH投与群において $r = -0.52$ の有意な負の相関を示した。

考 察

1998年 Heubner が性早熟を示す4歳の患者に松果体腫瘍を認めたと報告⁷⁾して以来, 性機能と松果体が注目されるようになり, 1958年に Lerner らによってMTが分離されてから⁸⁾, 性機能だけでなく, 睡眠, 日内変動, 鬱病, 免疫, 腫瘍など種々な分野での研究が行われている²⁾。

MTは脊椎動物では脳の松果体でトリプトファンをへてセロトニンから合成されるアミン誘導体であり夜間に合成・分泌され, 昼間はほとんど分泌されないという特徴をもつ。また, この分泌が光刺激のみに依存するのではないことは洞窟内の生活での日内リズムは継続する³⁾ことから裏づけられている。MTの受容体は, 中枢神経系(視床下部, 松果体)⁹⁾, 腸管¹⁰⁾, 血管壁¹¹⁾, 卵巢(顆粒膜細胞)¹²⁾にあり, 視床下部の受容体はサーカデアリズムの調整に関与し, 松果体や卵巢の受容体は生殖系を調整し, 腸管, 血管に局在した受容体は循環系や体温調節に関わっていると考えられている。また, 卵巢内ではMTは顆粒膜細胞におけるプロゲステロン産生を刺激するという報告もある¹³⁾。

人の思春期におけるMT分泌動態に関しては, 思春期早発症では同年齢の子供よりMT濃度が低く, 思春期遅発症では同年代の子供より濃度が

表4 ラットの体重, 組織重量と血中ホルモン値(FSH, アロマトラーゼ阻害薬の効果)

	対照群 (n=6)	FSH投与群 (n=6)	FSH+AI投与群 (n=4)
48時間後体重(g)	109.8±3.0	108.7±5.5	108.3±2.4
子宮重量(mg)	233.2±39.7	304.3±16.5*	170.8±2.4**
左右卵巢重量(mg)	96.0±15.9	141.2±98.4	65.3±27.6
血中E ₂ 濃度(pg/ml)	23.8±15.9	220.2±147.1*	11.1±1.4**
松果体MT濃度 (pg/gland)	272.8±43.7	143.6±84.3*	186.3±77.0

FSH: follicle stimulating hormone, AI: aromatase inhibitor.

*vs 対照群 $p < 0.05$, **vs FSH投与群 $p < 0.05$.

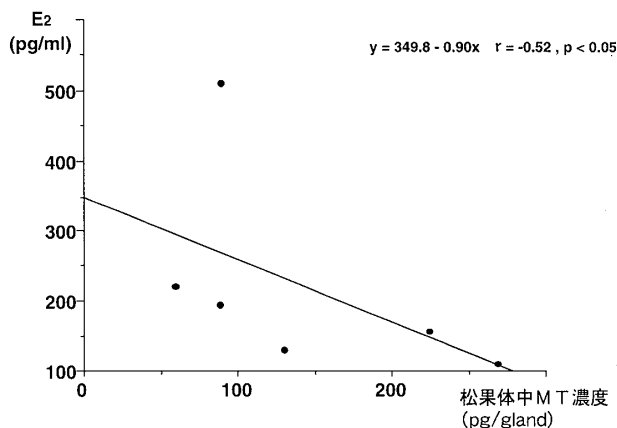


図6 FSH投与ラットの松果体中MT量と血中E₂値の関係

高い⁴⁾⁵⁾。また学童において性器の成熟度とMT濃度が逆相関することが報告されている¹⁾。更に視床下部性の性腺機能低下を伴う遅発月経患者においてMTの分泌は高く、自然のMT分泌の低下が思春期の初来をもたらす¹⁵⁾、思春期前半には濃度が高く、思春期後半に分泌が低下することで視床下部・下垂体への抑制が低下し、思春期の初来に関与していると考えられている¹⁾¹⁵⁾¹⁶⁾。

今回の検討でも遅発月経群では対照群に比し、明らかに高い分泌を示し、第1度、第2度無月経群でも対照群に比し高値を示したことは、規則性月経のある対照群ではその月経の周期性がMT分泌に関して抑制的に働くのに反し、遅発月経でMT分泌が明らかに高く、持続時間が長いことが月経発来に抑制的に働いているのかもしれない。

月経発来後には月経周期に伴うMTの日内変動には変化がないと報告されている¹⁷⁾。分泌量に関しては月経異常と関連があり、視床下部性無月経において上昇し¹⁸⁾¹⁹⁾、続発性無月経においては第1度無月経より、第2度無月経の方がMTのピーク値と分泌量が高く¹⁹⁾、男性においても視床下部性の性機能障害でMT濃度は高値をとり、治療により改善したという報告がある²⁰⁾。

思春期の月経障害では続発性無月経がもっとも多く、その中では体重減少性が多いとされるが、BMIの低い体重減少性無月経はMT分泌は高いと報告されている¹⁷⁾。今回の検討では第2度無月経は第1度無月経よりも「やせ」が多く、体重減

少性無月経の存在を暗示したが、MT分泌においては明らかな差はなかった。

MTの性機能への影響については、ラットやハムスターなどの動物ではMT投与によって下垂体前葉ホルモンが抑制され、性腺や甲状腺の萎縮が報告され、これはゴナドトロピン産生に対する負のフィードバック効果による¹⁾²⁾と考えられている。MTは視床下部のGnRHの反応を阻害するか、GnRH pulse generator に対して pulse 頻度を阻害するように作用し、これが性腺抑制作用となっていると報告されている²²⁾。人でも視床下部性無月経の例で夜間MTが高値をとること、正常月経婦人へのMTの大量継続投与はLHサージを抑制し、その結果不規則に排卵を抑制し、黄体ホルモンを同時投与した群でその効果は助長されると報告され²¹⁾、MT分泌の増加は性ステロイドの分泌を阻害すると考えられている³⁾。

MTの分泌調節と性ステロイドの影響に関しては、第2次性徴を惹起するために投与された卵胞ホルモンがMT代謝産物の尿中への排出を減少させたり²²⁾、第2度無月経症例に対する結合型エストロゲン投与は、MTの夜間分泌量を低下させ、子宮内膜症患者でGnRH agonist投与中はE₂濃度は低く、夜間MT分泌は有意に増加し、投与後月経が回復すると正常群と同様に夜間MT分泌は低下した²³⁾などの報告があり、エストロゲン濃度との関連が示唆されている。

臨床例において用いたクロミフェンは、抗エストロゲン作用をもち、視床下部のGnRH pulse generator に対して pulse 頻度を高めるように作用し、GnRH、LH pulse の頻度を高め、エストロゲンの産生を促す。これがLHサージにつながり、排卵を惹起するとされ²⁴⁾、第1度無月経の治療に用いられている。

今回、クロミフェンは排卵現象を起こす負荷目的で用いたが、クロミフェンが有効でBBT上排卵現象の確認された排卵群では夜間MTの分泌量は低下し、クロミフェンの無効であった無排卵群のMT濃度は対照群と差はなかった。ただ、無排卵群でもMTとE₂の間に負の相関を認めており、これはクロミフェンによりE₂分泌が刺激され

たためと考えられる。排卵群では LH は明らかに上昇し、エストロゲンも個体差が大きく明らかな差はなかったが上昇し、夜間 MT 分泌は低下していた。このことから、クロミフェンにより排卵の惹起された状態ではホルモンの高 LH・エストロゲンと異なり、この性ステロイド分泌の増加が MT 分泌の抑制をもたらしたと考えられた。

ラットは 4 週齢半ばから膣開口が始まり、6 週齢には性周期が確立する。そこで、思春期の過渡期にあたる 5 週齢のラットを用い、エストロゲン産生を促進したステロイドホルモン環境と MT 分泌の変化について検討した。

FSH 投与群で子宮重量、卵巣重量が増加したことは、FSH 刺激により卵胞が E_2 を分泌していることを示している。また、AI により FSH によって刺激されたエストロゲン産生は阻害されたと考えられる。松果体中 MT 濃度は、対照群と比較すると FSH 投与群で最も低い値を示し、FSH+AI 投与群は差がなかった。松果体中 MT 濃度と血中 E_2 値の関係では FSH 投与群で松果体中 MT 濃度と血中 E_2 値の逆相関を示したことから、MT 分泌が高エストロゲン環境で抑制されたため、松果体中 MT 濃度が、対照群に比し低値を示したと考えられた。

以上より、人の思春期においては月経の発来とともに夜間 MT 濃度上昇の持続時間が短縮され、その夜間の分泌量が低下し、続発性無月経において排卵を惹起させる治療の成功が MT の分泌量の減少をもたらすことが示された。思春期ラットを用いた実験でも FSH 投与によって引き起こされた高エストロゲン環境下で、松果体中 MT 濃度は減少することが示唆され、LH、エストロゲン濃度が MT 分泌に対する調節因子になっていることが示唆された。

結 論

月経障害を引き起こす病態によって思春期における MT 分泌は異なり、遅発月経群では MT 分泌量、夜間濃度上昇の持続時間のどちらも対照群との間に差を認めた。

第 1 度無月経では治療により排卵が促されることにより LH は明らかに増加し、MT 分泌は無排

卵群に比し減少することが示された。

ラットを用いた実験から、FSH 刺激による E_2 の明らかな増加により、ラット子宮重量は増加し、松果体 MT 濃度は減少することが示された。

思春期での MT 分泌は高 LH、高エストロゲン下で抑制され、高 LH、高エストロゲン環境が MT 分泌に対する調節因子になっていることが示唆された。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました武田佳彦教授に深謝いたします。また、本研究に直接御指導を賜った、黒島淳子教授に心より感謝いたします。

本論文の要旨は第 46 回日本産婦人科学会総会学術講演会 (1994 年 千葉) および、第 47 回日本産婦人科学会総会学術講演会 (1995 年 名古屋) において発表した。

文 献

- 1) Waldhauser F, Boepple PA, Schemper M et al: Serum melatonin in central precocious puberty is lower than in age matched prepubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 73(4): 793-796, 1991
- 2) Brzezinski A: Melatonin in humans. *N Engl J Med* 336(3): 186-195, 1997
- 3) 岡野俊行, 深田吉孝: 動物の胎内時計. *科学* 67(1): 48-56, 1997
- 4) Cavallo A: Plasma melatonin rhythm in disorders of puberty: Interactions of age and pubertal stages. *Horm Res* 36(1-2): 16-21, 1991
- 5) Berga SL, Jones KL, Kaufmann S et al: Nocturnal melatonin levels are unaltered by ovarian suppression in girls with central precocious puberty. *Fertil Steril* 52(6): 936-941, 1991
- 6) Vieira R, Miguez J, Lema M et al: Pineal and plasma melatonin as determined by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal Biochem* 205: 300-305, 1992
- 7) Heubner O: Tumor der glandula pinealis. *Dtsch Med Wochenschr* 24: 2141, 1989
- 8) Lerner AB, Case JD, Takahashi Y et al: Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocyte. *J Am Chem Soc* 80: 2587, 1958
- 9) Stankov B, Fraschini F, Reiter RJ: Melatonin binding sites in the central nervous

- system. *Brain Res Brain Rev* 16 : 245-256, 1991
- 10) **Lee PPN, Pang SF**: Melatonin and its receptor in gastrointestinal tract. *Biol Signals* 2 : 181-193, 1993
 - 11) **Viswanathan M, Laitinen JT, Saavedra JM**: Expression of melatonin receptors in arteries involved in thermoregulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 : 6200-6203, 1990
 - 12) **Yie SM, Niles LP, Younglai EV**: Melatonin receptors on human granulosa cell membrane. *J Clin Endocrinol Metab* 80 : 1747-1769, 1995
 - 13) **Webley GE, Luck MR**: Melatonin directly stimulates the secretion of progesterone by human and bovine granulosa cells in vitro. *J Reprod Fertil* 78 : 711-717, 1995
 - 14) **Preslock J**: The pineal gland; basic implications and clinical correlations. *Endocr Rev* 5 : 282, 1984
 - 15) **Cavallo A**: Plasma melatonin rhythm in normal puberty: Interactions of age and pubertal stages. *Neuroendocrinology* 55(4) : 372-379, 1992
 - 16) **Brzezinski A, Lynch HJ, Seibel MM et al**: The circadian rhythm of plasma melatonin during the normal menstrual cycle and amenorrheic women. *J Clin Endocrinol Metab* 66 : 891-895, 1988
 - 17) **Pung Domingo M, Webb SM, Serrano J et al**: Melatonin-related hypogonadotropic hypogonadism. *N Engl J Med* 327 : 1356-1359, 1992
 - 18) **Brzezinski A, Cohen M, Ever Hadani P et al**: The pattern of serum melatonin levels during ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Int J Fertil Menopausal Stud* 39(2) : 81-85, 1994
 - 19) **Berga SL, Mortola JF, Yen SSC**: Amplification of nocturnal melatonin secretion in women with functional hypothalamic amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 66 : 242-244, 1988
 - 20) **Luboshitzky R, Wagner O, Lavi S et al**: Abnormal melatonin secretion in male patients with hypogonadism. *J Mol Neurosci* 7(2) : 91-98, 1996
 - 21) **Voordouw BCG, Euser R, Verdonk RER et al**: Melatonin and melatonin-progestin combinations alter pituitary-ovarian function in women and can inhibit ovulation. *J Clin Endocrinol Metab* 74 : 108-117, 1992
 - 22) **Arendt J, Labib MH, Bojkowski C et al**: Rapid decrease in melatonin production during successful treatment of delayed puberty [letter]. *Lancet* 1(8650) : 1326, 1992
 - 23) **Okatani Y, Sagara Y**: Amplification of nocturnal melatonin secretion in women with functional secondary amenorrhea: Relationship to endogenous estrogen concentrations. *Clin Endocrinol* 41 : 763-770, 1994
 - 24) **Adashi EY**: Clomiphene citrate: Mechanism and site of action a hypothesis revisited. *Fertil Steril* 42 : 331-344, 1984