ヒト血清中の遊離型ステロイドホルモン濃度 に及ぼす脂肪酸の影響

渡辺 貞夫

神奈川県衛生研究所

Effects of Free Fatty Acids on Free Form Fraction of Steroids in Human Serum

Sadao Watanabe*

Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory, 1-1-1 Nakao-cho, Asahi-ku, Yokohama 241-0815, Japan

(Received August 31, 1998: Accepted January 16, 1999)

Steroids are transported in free forms and also in bound forms with β -globulin and/or with albumin in serum, and bind to with an intracellular specific 'receptor' protein after permeation through the cell membrane of target cell. Albumin and globulin cannot permeate through the cell membrane, so it has been generally assumed that the concentration of steroids in free forms determines the uptake rate and its bioavailability. In this report, the effects of the addition of such free fatty acids as palmitic acid, oleic acid and linoleic acid to the fractions of free β -estradiol and testosterone in serum were examined *in vitro*. It was found that the concentration of free steroids did not vary at the normal levels (when the range of the molar ratios of free fatty acid/albumin in serum was from 0.5 to 2) in men and women, but when the molar ratios of free fatty acid/albumin exceeded 3 the concentration of free steroids increased by the addition of free fatty acids. The effects of free fatty acids on the increase of the concentration of free steroids fraction were in the following order: linoleic acid, oleic acid > palmitic acid. These results suggest that the elevation of the concentration of free fatty acids in serum, amplified by high fat consumption, obesity and stress, may cause the increases of physiologically active β -estradiol and testosterone.

Key words — human serum, free form steroid, free fatty acid, β -estradiol, testosterone, serum protein-bound form

緒 言

乳癌、前立腺癌は、欧米などでは代表的な癌である。従来、我が国での発症率は欧米の1/5—1/10と低いといわれていたが、¹⁾最近急増している。これらの癌の発生、進行に性ホルモンが強く関わり、乳癌には β -エストラジオールが、前立腺癌にはテストステロンが最も重要なホルモンと考えられている。²⁾これらの癌の各国での発症率の違いから、その発生と脂肪摂取量との間に強い相関があることが疫学的に指摘されている。^{3,4)}動物実験でも、高脂肪食は低脂肪食に比べてこれらの癌の進行を促進することが報告されている。⁵⁾

癌発症と脂肪摂取量との因果関係について、そのメカニズムに関して種々の学説があるが、⁶⁾いまだ明確とはなっていない。特定の臓器で産生されたステロイドホルモンは、血流を介し標的細胞内のステロイドホルモン受容体（レセプター）に結合し、ホルモン作用を発現するため、⁷⁾一般的には血清タン

パクに結合していない非結合型（遊離型）だけが細胞膜を通して細胞内に入ることができると考えられている。

一方、摂取された脂肪はトリグリセライドの形で脂肪組織に貯えられ、リパーゼの作用により遊離脂肪酸（free fatty acid, FFA）として血液中に放出される。⁸⁾高脂肪食と、それに伴う肥満は血中のFFAを増加させるといわれている。⁹⁾長鎖のFFAはほとんど水に不溶のため、血液中で存在する大部分はアルブミン画分に結合している。¹⁰⁾Bruningら¹¹⁾は、*in vivo*及び*in vitro*の系でヒト血清中のFFAを増加させた場合、全 β -エストラジオール中の遊離型画分を増加させることを実験的に確かめ、このことが乳癌、子宮内膜癌を長年にわたって促進するのではないかと報告している。FFAの増加が遊離型ステロイドの比率を増加させるという実験結果と、癌発症との関連は現時点では明確とはなっていないが、少なくともホルモンのバランスが変わるといふ観点から生体への影響は無視できない。そこで、 β -エストラジオール及びテストステロンについて、FFAの増加がステロイド遊離型画分に及ぼす影響を*in vitro*で詳細に検討した。さらに、ステロイドは、血清中で3種類の血清タンパクであるテストス

*To whom correspondence should be addressed: Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory, 1-1-1 Nakao-cho, Asahi-ku, Yokohama 241-0815, Japan., Tel.; +81-45-363-1030; Fax: +81-45-363-1037

テロン結合グロブリン (TeBG), コルチコステロン結合グロブリン (CBG) 及びアルブミン (HSA) との結合型と非結合型 (遊離型) が平衡状態で存在している。¹²⁾ そこで, ステロイドの主結合体である HSA に対する親和性に, FFA が及ぼす影響を検討し, 実際の血清中での影響を血清タンパクレベルで解析した。

実験方法

1. 血清 採血後, 遠心分離により血清を分離した。血清は約 50 人分混合し, 5℃で保存し, 2 週間以内で使用した。

2. 試薬 ヒト血清アルブミン (Sigma A-1887, フラクション V アルブミン含量 96%以上, 脱脂処理により FFA を除去した製品), β -エストラジオール, テストステロン, パルミチン酸, オレイン酸及びリノール酸はシグマ社製を用いた。2(4'-ヒドロキシベンゼンアゾ)安息香酸 (HABA) はナカライテスク社製を用いた。その他試薬は和光純薬(株)製試薬特級を用いた。

3. 装置及び器具 高速液体クロマトグラフ装置: 島津製作所(株)製 LC-9 A (紫外及び蛍光検出器付)。

ガスクロマトグラフ装置: 島津製作所(株)製 GC-7 A (FID 検出器付)。

4. ステロイド, アルブミン及び FFA の測定 ステロイドの測定は, 高速液体クロマトグラフ (HPLC) により次の条件で測定した。

HPLC 測定条件: カラム Inertsil ODS-2 (ジェールサイエンス社製) 4.6 mm $\times$ 250 mm; 溶離液, アセトニトリル-水 (50:50, v/v); 流速, 1 ml/min。

β -エストラジオールは蛍光 (Ex. 285 nm, Em. 305 nm) で, テストステロンは紫外吸収 (240 nm) で測定した。

血清中のアルブミン含量は HABA 法¹³⁾で求めた。

血清中あるいは試薬アルブミン中の FFA 含量は, Dole の方法¹⁴⁾に準じ酸性下イソプロピルアルコール及びイソオクタンで抽出し, ジアゾメタンでメチル化後, ガスクロマトグラフ (GC) で測定した。

GC 測定条件: カラム, Unisole 3000; 担体, Uniport C 80/100 mesh, 2 m $\times$ 3 mm i.d.; 温度, カラム 200℃, 注入-検出器 250℃; キャリヤガス, 窒素 60 ml/min。

なお, 血清中のアルブミン及び試薬のヒト血清アルブミンは両方とも HSA と略したが, 文中ではどちらの場合かわかるように記載した。

5. 血清中の遊離型ステロイドの測定法 ヒト血清中の総 β -エストラジオール (女性の場合) 濃度は 10^{-10} M オーダー, 総テストステロン (男性) は

10^{-8} M オーダーという極微量のため,¹²⁾ 通常の機器分析では今回目的としている存在形態別のステロイドの正確な測定ができない。そこで, 一定量のステロイドを添加した血清を次のように調製し, 実験を行った。

a: 血清は HABA 法¹³⁾でアルブミン含量 (ヒトでは通常 3.5—5.5% w/v) を測定し, アルブミン含量が 1% (w/v) となるような希釈率を求めた。

b: 1/15 M リン酸緩衝液は 1 l の水に 0.012 mol KH_2PO_4 と 0.055 mol Na_2HPO_4 を溶解 (pH 7.4 に調整) した。

c: ステロイドは水に難溶なため, 一定濃度に溶解することは難しい。そこで, 1/15 M リン酸緩衝液に β -エストラジオールあるいはテストステロンを約 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 程度となるように加え, 超音波洗浄器 (Branson 社製 B-12) 中で 3 分間溶解した後, ろ過した。このろ液 0.5 ml を分取し, アセトニトリル 0.5 ml を加え, HPLC でステロイド濃度を正確に測定した。

希釈血清 (アルブミン含量 1% w/v) 中のステロイド濃度が 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように, 血清, ステロイド含有水溶液及びリン酸緩衝液の混合率を求めた。3 者を混合後, 均一化及び血清タンパクにステロイドを平衡的に結合させるため 15 分間スターラーで攪拌した。

血清中の遊離型ステロイドは直接限外ろ過などして求めるのではなく, 既報^{15,16)}に準じ Fig. 1 に示したようにヘキサン/血清 2 相間のステロイド平衡分配法から求めた。希釈血清 25 ml を 50 ml の共栓付三角フラスコに入れ, ヘキサン 5 ml を加え, 25℃の恒温下 10 時間以上スターラーで攪拌した。この条件でステロイドは 2 相間に平衡分配に達していることは確認した。実験後, ヘキサン層 2 ml を分取し, ヘキサンを風乾後, 0.5 ml のアセトニトリル-水 (50:50, v/v) に溶かした後, HPLC によりヘキサン層中のステロイド濃度を求めた。

別に血清を加えないリン酸緩衝液について, 同様な実験を行い, ステロイドのヘキサン相中の濃度及び水相中の濃度から, ヘキサン相/水相 2 相間の分配率 P の検量線を求めておく。血清を加えた場合, 血清中の遊離型ステロイド濃度は, ヘキサン相中のステロイド濃度と分配率 P で平衡分配に達していると考えられるから, 先に求めたヘキサン相中の濃度と, 得られたステロイドの 2 相間の分配率 P の検量線から, 遊離型ステロイド濃度を求めた。

6. 脂肪酸添加による遊離型ステロイドに及ぼす影響 FFA をヘキサン相に溶かし, 上に述べた方法と同様にステロイドのヘキサン/水相 2 相間の分配率 P から遊離型ステロイド濃度を求めた。FFA 量は, 実験終了後に水相 1 ml を分取し, Dole 法¹⁴⁾に準じ抽出後, GC で測定した。なお, 実験結果については一元配置分散分析を行い, 有意差を認めたもの

Fig. 1. Schematic Representation of Experiment and Method of Measurement of Free Steroid in Serum

については多重比較（ダンカン法¹⁷⁾）で検定した。

結果

1. 脂肪酸の添加による血清中の遊離型ステロイド画分の変化

FFAはHSAに結合して血液中を循環している。¹⁰⁾ また、その結合量は通常ヒト血清でFFA/HSAのモル比が0.5—2といわれ、¹⁸⁾ 最大6—13まで結合するといわれている。¹⁹⁾ そこで、FFA負荷量は生理的濃度を考慮して対アルブミンのモル比で1—5モルとなるようにヘキサン相に溶解して実験を行った。FFAは、血清中の濃度が最も高いパルミチン酸、オレイン酸及びリノール酸の3種類で行った。血清にFFAを添加した時の β -エストラジオール遊離型画分の変化をFig. 2に示した。

血清に取り込まれたと考えられるFFAは、血清中のHSA画分に結合していると考えられるため、FFA量是对HSAのモル比で表した。パルミチン酸、オレイン酸、リノール酸いずれの脂肪酸の場合も、FFA/HSAのモル比が2までは、その変化はほとんど認められないが、モル比が3を超えるとその影響が強く現れ、いずれのFFA添加の場合にもコントロール（FFA無添加）の場合に比べて危険率5%で有意差が認められた。さらにFFAの増加に伴って急激に β -エストラジオール遊離型画分の増加が認められた。増加率は添加脂肪酸がパルミチン酸<オレイン酸、リノール酸の順であった。今回、対HSAのモル比でFFAを約4モル添加すると、 β -エストラジオール遊離型はパルミチン酸の場合で22%、リノール酸の場合は50%の増加（3回繰り返しの平均）が認められ、いずれのFFAの場合もコントロールに比べて危険率1%で有意差が認められ

Fig. 2. Effect of Increasing FFA on Free β -Estradiol Fraction in Diluted Serum

□, palmitic acid; ◇, oleic acid; ○, linoleic acid. Each point represents the mean of three determinations $\pm$ S.D. * p <0.05 vs. control (no added FFA), ** p <0.01 vs. control, *** p <0.05 vs. added palmitic acid.

た。なお、オレイン酸の場合はパルミチン酸と添加量が同じであるので、両者の比較では危険率5%で有意差が認められた。

同様な実験をテストステロンについて行った結果をFig. 3に示した。 β -エストラジオールの場合とはほぼ同様な傾向が認められた。血清へのFFAの1—4モル（対HSA）の添加は、遊離型を20%（パルミチン酸）—52%（リノール酸）増加させた（3回繰り返しの平均）。

なお、使用した血清の内因性FFA含有量は、GCで測定した結果、対アルブミンのモル比で表すと、

Fig. 3. Effect of Increasing FFA on Free Testosterone Fraction in Diluted Serum

□, palmitic acid; ◇, oleic acid; ○, linoleic acid. Each point represents the mean of three determinations $\pm$ S.D. *,** and ***: Symbols are the same as shown in Fig. 2

Fig. 5. Effect of Increasing FFA on Free Testosterone Fraction in 1% (w/v) HSA Solution

□, palmitic acid; ◇, oleic acid; ○, linoleic acid. Each point represents the mean of three determinations $\pm$ S.D. *,** and ***: Symbols are the same as shown in Fig. 2

Fig. 4. Effect of Increasing FFA on Free β -Estradiol Fraction in 1% (w/v) HSA Solution

□, palmitic acid; ◇, oleic acid; ○, linoleic acid. Each point represents the mean of three determinations $\pm$ S.D. *,** and ***: Symbols are the same as shown in Fig. 2

パルミチン酸 0.19, オレイン酸 0.11, リノール酸 0.13 が主たるもので、総 FFA でも 0.5 であった。なお、Fig. 2 及び Fig. 3 の X 座標の FFA/アルブミンのモル比には内因性 FFA は含まれていない。

2. FFA 添加による HSA 溶液中の遊離型ステロイド画分の変化

試薬 HSA (Sigma 社製) 1% (w/v) 水溶液を用いて、HSA 1 モルに対して FFA を 1—4 モル添加した時のステロイド遊離型画分の変化を、Fig. 4 に β -エストラジオールの場合、Fig. 5 にテストステロンについての結果を示した。その結果、FFA の添加量対 HSA モル比で 0—2 程度まではほとんど変化がないが、それ以上に FFA が添加されると遊離型の増加が、危険率 5% あるいは場合によっては 1% で認められた。また、その増加量からすると、ほぼ血清の場合と比較して同程度であり、添加脂肪酸ではパルミチン酸 < オレイン酸、リノール酸の順で影響が強く表れた。また、その増加率は血清の場合と同程度であった。このことから、FFA 添加の影響が試薬 HSA を用いても血清の場合と同様な結果が再現された。テストステロンでも同様の結果が得られ、FFA/HSA のモル比 4 の FFA 添加により、遊離型 β -エストラジオールを 25% (パルミチン酸)—48% (リノール酸)、遊離型テストステロンを 21% (パルミチン酸)—44% (リノール酸) 増加させた。

考 察

この実験では、生理的ステロイド濃度下でのステロイドの存在形態ごとに測定するのは非常に困難であったので、意図的にステロイドを添加し、その条件下での結果を得た。その結果を用いて、生体内濃度レベルでの遊離型ステロイドに及ぼす FFA の影

響についてコンピューターを使いシミュレーションした。

女性では平常時の血清中の総 β -エストラジオール(0.29 nM)中、3種の血清タンパク(TeBG, CBG, HSA)との結合は、TeBG結合型で37.3%、CBG結合型は<0.1%、HSA結合型に60.8%及び遊離型が1.81%で平衡状態で存在し、¹²⁾ またその文献ではTeBG, CBG及びHSA量は女性でそれぞれ37 nM, 0.7 μ M及び0.56 mMとの値を用いている。^{12,20)} そこで、このような β -エストラジオール低濃度下では、 β -エストラジオールと各血清タンパクとの結合は1分子:1分子で生じていること、及びCBGに対する結合量が少ないのでステロイドの遊離型に及ぼす影響を無視すると仮定した上で、次のような議論を進める。

ここで、ステロイドを結合していない血清タンパクHSA及びTeBGの濃度を[HSA]及び[TeBG]、ステロイドとの結合型濃度をそれぞれ[S·HSA]及び[S·TeBG]、遊離型ステロイド濃度を[S]で表すと、ステロイドとHSAの会合定数 K_a は上に示した文献値を用いて次式より求まる。

$$[S \cdot HSA]/[S][HSA] = 6.0 \times 10^4 M^{-1} \quad (1)$$

同様にステロイドに対するTeBGの結合は

$$[S \cdot TeBG]/[S][TeBG] = 5.6 \times 10^8 M^{-1} \quad (2)$$

と表される。なお、 β -エストラジオールの対HSAに対する会合定数 K_a は、当実験の試薬HSAを用いてもほぼ同じ値が得られたので、以後この値を用いた。以上の関係から、これらはFig. 6のような平衡状態にあると表すことができる。今、総ステロイド濃度を[X]とすると

$$[X] = [S] + [S \cdot HSA] + [S \cdot TeBG] \quad (3)$$

となる。また式(1)及び(2)より

$$[S \cdot HSA] = 6.0 \times 10^4 [S][HSA] \quad (4)$$

$$[S \cdot TeBG] = 5.6 \times 10^8 [S][TeBG] \quad (5)$$

と表せる。

また、我々の実験条件下(1 μ g/ml(3.7×10^{-6} M)のステロイド負荷)でも、HSAはステロイドより高濃度ゆえ大多数の分子はステロイド非結合状態と考えられるから[HSA] $\gg$ [S·HSA]であると仮定できる。そこで、計算の簡略化のため[HSA] = 0.56×10^{-3} Mと代入すると、遊離型ステロイド濃度[S]は総ステロイド濃度[X]を用いて

$$[S] = \frac{[X]}{34.6 + 5.6 \times 10^8 [TeBG]} \quad (6)$$

と表わすことができる。

今、試薬HSAに関する β -エストラジオール実験結果(Fig. 4)から、4モルのリノール酸がHSA1モルに結合したとすると、(1)で求まる β -エストラジオールに対する会合定数 K_a は $3.9 \times 10^4 M^{-1}$ に低下する。一方、血清及び試薬HSAに関する添加FFAの β -エストラジオール遊離型画分の影響を検討した結果(Fig. 2及びFig. 4)から、実験濃度下ではTeBG/ β -エストラジオールの結合性は、添加FFAには影響されないと考えられる。この時の遊離型濃度[S]は

$$[S] = \frac{[X]}{22.8 + 5.6 \times 10^8 [TeBG]} \quad (7)$$

と表すことができる。

ここで、総ステロイド中の遊離型画分比率([S]/[X])をFと置き換えると、式(6)は

$$[TeBG] = \frac{1 - 34.6 F}{5.6 \times 10^8 \times F} \quad (8)$$

と表せる。また、TeBGについてはステロイド結合体と非結合体の総濃度が37 nMであるので

$$[S \cdot TeBG] = 37 \times 10^{-9} - [TeBG] \quad (9)$$

と表せる。以上の関係式から、Fに適当な値を入れれば、式(8)、(9)、(5)及び(6)の順で計算することにより、Fと[X]の関係が求まる。さらに、[TeBG]の範囲は

Fig. 6. Transport of Endogenous β -Estradiol in Women in the Follicular Phase of the Menstrual Cycle
Association constants, K_a , between β -estradiol and serum proteins were estimated from the values in the literature.¹²⁾

Fig. 7. Effect of Altering β -Estradiol Concentration on Free β -Estradiol Fraction in Serum of the Normal Women at the Physiological Level and the Experimental Level, as Predicted by Computer Simulation

In the case of FFA added, 4 mols of linoleic acid were added per mol of albumin.

$0 \leq [\text{TeBG}] \leq 37 \times 10^{-9}$ より式(6)で示される総ステロイド中の遊離型画分比率 ($[S]/[X] = F$) は

$$0.018 \leq F \leq 0.029 \quad (10)$$

の範囲内であることになる。そこで、 F を 0.018 から 0.029 まで 0.001 間隔で変化させた時の $[X]$ の値をコンピューターを用いて計算した。得られた結果について、総 β -エストラジオールの濃度 $[X]$ を 10^{-10}M から 10^{-5}M まで変化させた時、求められた総ステロイド中の遊離型画分比率 (F) がどう変化するかを Fig. 7 に示した。図には、式(7)で求められるリノール酸添加した場合の結果も同様に処理して示した。この結果、HSA 溶液に対して 4 モルのリノール酸を添加することにより、実験条件下の濃度では総 β -エストラジオール中の遊離型画分が 50% 増加するが、生理的濃度では 27% 増加するという結果になる。

同様に、テストステロンについて男性血清中では総テストステロン (23 nM) 中、TeBG 結合型 44.3%、CBG 結合型 3.56%、HSA 結合型 49.9% 及び遊離型 2.23% で存在し、かつ TeBG、CGB 及び HSA 量は男性でそれぞれ 28 nM、 $0.7 \mu\text{M}$ 及び 0.56 mM との値^{12,20)}を用いて、同様に計算した。FFA の負荷されないコントロールの血清の場合、及びリノール酸/アルブミンのモル比で 4 のリノール酸が添加された場合、遊離型ステロイド濃度 $[S]$ は総ステロイド濃度 $[X]$ を用いてそれぞれ式(11)及び(12)で表される。なお、途中の計算は省略した。

$$[S] = \frac{[X]}{25 + 1.1 \times 10^9 [\text{TeBG}]} \quad (11)$$

Fig. 8. Effect of Altering Testosterone Concentration on Free Testosterone Fraction in Serum of the Normal Men at the Physiological Level and the Experimental Level, as Predicted by Computer Simulation

In the case of FFA added, 4 mols of linoleic acid were added per mol of albumin.

$$[S] = \frac{[X]}{16.1 + 1.1 \times 10^9 [\text{TeBG}]} \quad (12)$$

これらの計算式に基づき、 β -エストラジオールの場合と同じようにコンピューターによりシミュレーションした結果を Fig. 8 に示した。この結果、総テストステロン中の遊離型画分が実験濃度下では 52%、生理的濃度条件では 23% の増加となる。

β -エストラジオールについては、Bruning ら¹¹⁾が *in vitro* の系で $[\text{H}]$ β -エストラジオールを用い、生理的濃度レベルで血清及び HSA 溶液について、FFA の添加により遊離型画分の増加をすでに報告しているが、今回、新たに生理学的に重要なテストステロンに対しても、添加 FFA がテストステロン遊離型画分に対してほぼ同じような影響を及ぼす実験結果が得られた。特に HSA 溶液について得られた結果 (Fig. 4 と Fig. 5) から、HSA のこの両ステロイドに対する結合サイトがほぼ同じかあるいは非常に近接しているために、FFA 添加の影響が両ステロイドに対して同じように現れたのではないかとということが強く示唆された。

HSA は、そのアミノ酸配列の類似性から 3 つのドメイン構造 (I, II 及び III) で表す²¹⁾と、テストステロンの HSA に対する第 1 優先結合サイトがドメイン II にあると報告されている。^{22,23)} 一方、長鎖脂肪酸の HSA に対する結合は、ドメイン III に 2 つの強い結合サイト (会合定数 K_a , 10^8 M^{-1} オーダー)、及びドメイン II にそれよりはやや弱い 2 つの結合サイト (10^6 M^{-1} オーダー) と報告されている。²⁴⁾ これら

のことから、対アルブミンのモル比3以上のFFAの添加により、HSA分子のドメインIIに結合していたテストステロン (β -エストラジオールの場合もほぼ同じ状況と考えられる) が脱離した結果、遊離型画分を増加させ、なおかつ本実験系の濃度ではTeBGに結合しているステロイド量は全結合量のわずかに数パーセント (Fig. 2 及び Fig. 3 と数式(4)及び(5)から試算) に低下していたため、HSA溶液の結果がそのまま血清の場合に反映されたのではないかと考えられる。リガンドであるテストステロン及びFFAのHSAに対する会合定数 K_a 値は、100倍ほどFFAの方が高いため、HSA分子上での同一サイトの競合だとすると、ステロイド遊離型画分は実験結果 (Fig. 4 及び Fig. 5) よりはるかに増加することになるため、むしろ添加FFAによるHSA分子のコンフォメーション変化によりリガンドに対する親和性が変化して、このような結果になったと思われる。

これらの計算は実験濃度下でのものである。今回、試薬として入手可能なHSAについては個別にFFAの影響を実験した。他の血清タンパクについては、CGBに対しては両ステロイドとも生理的濃度レベルでの結合体の存在量がわずかなため、¹²⁾ 仮にFFAの影響があったとしても、血清全体への影響はほとんどないと考えられる。一方、ステロイド/TeBGの間の親和性に対して、FFAの及ぼす影響に関する定量的な議論をする報告がほとんどないため、ここでは不可能であった。仮に、ステロイドの生理的濃度下でTeBGとステロイドの結合性が添加FFAにより影響を受けることがあるならば、先にシミュレーションで用いた数式は修正を加える必要はある。

血液中のFFAの増加原因は、脂肪摂取量、肥満、精神的ストレスなどといわれており、この実験結果から、ヒトの通常レベル (0.5—2 モル) での血清中のFFAでは、血清中のステロイド遊離型の比率には影響は与えないが、血清中のFFA濃度がこれ以上になると遊離型ステロイド画分が増加するということが *in vitro* の実験により明らかとなった。しかし、このことがすぐに何らかの病的症状の原因となるのかは現在明らかではないが、今後ともこの方面のさらなる研究が必要と思われる。

謝辞 血清の収集並びに有意なご助言をいただきました神奈川県衛生研究所 ウイルス第2科長吉田芳哉氏に感謝致します。

REFERENCES

- 1) Nagasawa H., "Gan To Horumon," Kodansha, Tokyo, p. 1, 1981.
- 2) Matsumoto K., Nishizawa Y., "Taisha 24 Rinjizoukan: Gan'87," 29—34, 1987.
- 3) Carroll K.K., Hopkins G.J., Kennedy T.G., Davidson M.B., *Progr. Lipid Res.*, **20**, 685—690 (1981).
- 4) Carroll K.K., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **61**, 1888—1893 (1984).
- 5) Gammal E.B., Carroll K.K., Plunkett E.R., *Cancer Res.*, **27**, 1737—1742 (1967).
- 6) Ministry of Health and Welfare, Japan (ed.), "Diet and Health—Implication for Reducing Chronic Disease Risk," Japan Food Hygiene Association, Tokyo, pp. 202—203, 1992.
- 7) Jensen E.V., DeSombre E.R., *Science*, **182**, 126—134 (1973).
- 8) Yamamura Y. (ed.), "Igaku Jikkenhou Kouza Volume 3 Section B," Nakayamashoten, Tokyo, pp. 162—170, 1973.
- 9) Schlieff G., Reinheimer W., Stossberg V., *Nutr. Metab.*, **13**, 80—91 (1971).
- 10) Saifer A., Goldman L., *J. Lipid Res.*, **2**, 268—270 (1961).
- 11) Bruning P.F., Bonfer J.M.G., *Cancer Res.*, **46**, 2606—2609 (1986).
- 12) Dunn J.F., Nisula B.C., Rodbard D.J., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **53**, 58—68 (1981).
- 13) Rutstein D.D., Ingenito E.F., Reynolds W.E., *J. Clin. Invest.*, **33**, 211—216 (1954).
- 14) Dole V.P., *J. Clin. Invest.*, **35**, 150—154 (1956).
- 15) Watanabe S., Sato T., *Biochim. Biophys. Acta*, **1289**, 385—396 (1996).
- 16) Watanabe S., Tani T., Watanabe S., Senō M., *Jpn. Oil Chem. Soc.*, **39**, 949—956 (1990).
- 17) Duncan D.B., *Biometrics*, **11**, 1—7 (1955).
- 18) Havel R.J., Ekelund L.G., Holmgren A.A., *J. Lipid Res.*, **8**, 366—373 (1967).
- 19) Spector A.A., John K., Fletcher J.E., *J. Lipid Res.*, **10**, 56—67 (1969).
- 20) Nisula B.C., Loriaux D.L., Wilson Y.A., *Steroids*, **31**, 681—686 (1978).
- 21) Brown J.R., "Albumin Structure, Functions and Uses," Rosenoer U.M., Orntz M. and Rotschild M.A. (eds.), Pergamon Press, Oxford, pp. 27—35, 1977.
- 22) Kragh-Hansen U., Minchiotti L., Brennan S.O., Sugita O., *Eur. J. Biochem.*, **193**, 169—174 (1990).
- 23) Fisher M.J.E., Bos O.G.M., Van der Linden R., Wilting J., Jansen L.M.H., *Biochem. Pharmacol.*, **45**, 2411—2416 (1993).
- 24) Kragh-Hansen U., *Pharmacol. Rev.*, **33**, 17—53 (1981).

1) Nagasawa H., "Gan To Horumon," Kodansha,