報 文

遊離脂肪酸を結合したウシ血清アルブミン
を担体とするステロイドホルモンの輸送

渡辺貞夫*・谷 孝之*・渡辺重信*・妹尾 学**

* 神奈川県衛生研究所 (〒241 横浜市旭区中尾町 52-2)

** 東京大学生産技術研究所 (〒106 東京都港区六本木7-22-1)

Facilitated Transport of Steroid Hormone
by Free Fatty Acid-Bound Serum Albumin

Sadao WATANABE*, Takayuki TANI*, Shigenobu WATANABE*, and Manabu SENŌ**

* Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory

(52-2, Nakao-cho, Asahi-ku, Yokohama-shi, 〒241)

** Institute of Industrial Science, University of Tokyo

(7-22-1, Roppongi, Minato-ku, Tokyo, 〒106)

The affinity of bovine serum albumin(BSA) to progesterone, testosterone and androsterone was found to increase significantly by the binding of free fatty acids(FFA) such as myristic acid, palmitic acid and stearic acid, to BSA, while the binding of FFA to BSA affected differently the transport of these hormones through an aqueous membrane containing BSA from a hexane source phase (I) to a hexane receiving phase (II). The main factor governing transport is thought to be the partition coefficient of hormones between the water and hexane phases. The rate constant of hormone transport from the hexane phase (I) to the water phase was defined as k_1 and that from the water phase to the hexane phase (II) as k_2 . In the case of a hormone with a lower partition coefficient such as progesterone, the binding of FFA to BSA increased both k_1 and k_2 , and accelerated hormone transport. For testosterone with a higher partition coefficient, k_1 did not change, but k_2 decreased to cause decrease in rate of hormone transport. For androsterone with a moderate partition coefficient, k_1 increased, but k_2 decreased so that the binding of FFA had no effect on hormone transport flux.

During transfer from the water to hexane phase (II), the transport rate constant of BSA-binding was 0.05~0.1 that of the free hormone transport from the water to hexane phase (II) indicating decrease of the rate by the binding of BSA to the hormone. The transport rate constant of BSA-binding was noted to increase for progesterone, to show no change for other hormones by the binding of FFA to BSA.

1 緒 言

血しょう(漿)中タンパク質であるアルブミン及びリポタンパクなどは不溶性のトリグリセリドあるいはコレステロール、コレステロールエステルなどと結合して親水性タンパク質複合体を形成し、これら脂質の輸送及び代謝に重要な役割を果たしている¹⁾。このほかにも、ステロイドホルモンなども血液中では遊離形で存在するのみでなく、主に性ステロイド結合グロブリンやアルブミン

と結合した形で存在し、ともに移送されている²⁾。一方、薬物を投与する場合、一般的には血漿タンパクと結合していない薬物のみが薬理的有効性をもつ場合が多く、薬物と血漿タンパク〔主としてウシ血清アルブミン(BSA)について〕との結合性を調べた報告がある^{3),4)}。最近、遊離脂肪酸(FFA)⁵⁾、胆汁酸及びローズベンガル⁶⁾でアルブミン結合型の肝臓内への促進的取り込みが報告されているが、アルブミン等の血漿タンパクの輸送特性はまだ充分には明らかにされていない。著者らは、水-ヘキ

サン2相系で構成される液膜系で、ステロイドホルモン⁷⁾、カルバメート系農薬⁸⁾について、BSAを担体とする液膜輸送実験を行い、ホルモンにおいてまた農薬においても水-ヘキサン2相系への分配係数が、この系での輸送挙動を支配する最も重要な要因であることを明らかにした。血液中のアルブミンはFFAを結合して存在し⁹⁾、アルブミンに対するFFAの結合は、アルブミンとステロイドホルモンとの親和性を低下させるとの報告¹⁰⁾がある。著者らは、BSAとステロイドホルモンの親和性に対するFFAの影響を調べ、プロゲステロン、テストステロン及びデヒドロイソアンドロステロンでは、先の報告¹⁰⁾とは逆にBSAに対するFFAの結合は、BSA-ホルモンの親和性を増大させ¹¹⁾、さらにこれらの会合体のゲル汙過クロマトグラフィーから、プロゲステロン及びテストステロンの場合に、BSAが本来有するホルモンに対する結合サイトより、結合性が強いサイトが生じることを報告した¹²⁾。本報は、FFAを結合したBSAを担体としてステロイドホルモンの液膜輸送実験を行い、FFA結合の輸送挙動に及ぼす影響を調べた。

2 実験

2.1 試薬

BSAはシグマ社製(フラクションV A-8022, 純度96~99%)を使用した。アンドロステロン(3 α -hydroxy-5 α -androstane-17-one), テストステロン(17 β -hydroxyandrostane-3-one)は(株)和光純薬製, エチニルエストラジオール(19-nor-17 α -pregna-1,3,5(10)-trien-20-yne-3,17-diol)は(株)東京化成製を, プロゲステロン(4-pregnene-3,20-dione)はシグマ社製を使用した。ミリスチン酸(C_{14:0}), パルミチン酸(C_{16:0})及びステアリン酸(C_{18:0})はシグマ社製を使用した。

2.2 分析機器及び測定条件

試料中のステロイドホルモン濃度は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で測定した。使用機種は(株)島津製作所製LC-4 A〔紫外分光光度計(UV)検出器LPD-2 AS及び蛍光検出器RF-500 LC付き〕で、エチニルエストラジオールは蛍光検出器(*Ex* 285 nm, *Em* 305 nm), プロゲステロン及びテストステロンはUV 240 nm, アンドロステロンはUV 295 nmで測定した。測定条件は、既報¹¹⁾に準じ、カラムはLiChrospher 100, RP-18 (4.0 $\times$ 250 mm)を使用し、移動相はアセトニトリル:水(65:35, vol/vol)で溶離した。また、BSAに結合しているFFAはChenの方法¹³⁾に準じ、イソプロピルアルコール:イソオクタン:1 N 硫酸(40:10:1, vol/vol/vol)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ィーで測定した。

2.3 輸送実験

ヒトのアルブミンに結合している主な脂肪酸は、C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0}, オレイン酸(C_{18:1})及びリノール酸(C_{18:2})^{14),15)}で、これらの脂肪酸は市販のBSAからも検出される⁷⁾。ヒトにおいて、FFA/アルブミンのモル比が4を越えることはまれで、多くは0.5~2の範囲^{16),17)}である。市販のBSAは製品によりかなりFFAの結合量が異なり、BSA 1 mol 当たり FFA が0.1~2 mol 程度結合しており¹³⁾、最大6~13 mol の FFA を結合すると報告されている¹⁸⁾。著者らが輸送実験で使用するBSAの結合脂肪酸量は、BSA 1 mol 当たり 0.01~0.04 mol である。そこで、FFA 結合の影響をみるために、BSA 1 mol に対し3種類の脂肪酸C_{14:0}, C_{16:0}及びC_{18:0}を、0.2ないし2 mol を結合させて、これを担体として液膜輸送実験を行った。1/15 Mリン酸緩衝液(0.012 M KH₂PO₄及び0.055 M Na₂HPO₄, pH は7.4に調整)に溶解した3.5% BSA水溶液100 mL (5.3 $\times$ 10⁻⁵ M)をフラスコに入れ、21.2 $\times$ 10⁻⁶あるいは21.2 $\times$ 10⁻⁶ mol/mLの濃度のFFAを溶解したメタノール溶液を0.5 mL (BSA 1 mol に対し、FFA 2あるいは0.2 molに相当する)加え、幾分激しくかくはんした。加えた脂肪酸は、最初水中で懸濁しているが、水相にBSAが存在すると、C_{14:0}では速やかに、最も遅いC_{18:0}でも2~3 hで水相は透明になった。

輸送実験は、既報^{7),8)}で使用した装置、すなわちFig.-1に示したような二重円筒型のガラス容器を用いた。内管の断面積(*S*₁)は外管と内管で囲まれたドーナツ形の断面積(*S*₂)の1/2である。実験は、FFAを結合させたBSA水溶液100 mLを容器に入れ、その上に内管内にホルモンを溶かしたヘキサン20 mL〔ヘキサン原相(I)〕を加え、内管と外管の間には、ヘキサン40 mL〔ヘキサン受相(II)〕を加え、25 $^{\circ}$ C定温条件下で下部をスターラーで一定速度でかくはんしながら、

Fig.-1 Liquid membrane apparatus for BSA-facilitated transport of steroid hormone.

ステロイドホルモンの輸送実験を行った。スターラーのかくはんは水-ヘキサン界面が波打つ程度に行い、3.5% BSA 水溶液、及び BSA を加えないリン酸緩衝液についても同一条件下で同時に行い、定時的にヘキサン相 (I) 及び (II) から一定量を採取し、HPLC でホルモン濃度を測定した。ヘキサン相 (I) 及び (II) のホルモン濃度を経時的にグラフに描き、ホルモン濃度の減少速度及び増加速度をグラフより求めた。

3 結果及び考察

3.1 BSA のステロイドホルモンに対する親和性及び FFA の影響

水相中でのホルモン-BSA の結合性を評価するために、水-ヘキサン 2 相系へのホルモン分配係数 (水相中のホルモン濃度/ヘキサン相中の濃度) の変化から、結合係数 K (BSA 結合型ホルモン濃度/遊離型ホルモン濃度) を求める方法を報告した¹¹⁾。すなわち、水相として BSA を含まないリン酸緩衝液を用いたとき、及び BSA を加えたときの分配係数をそれぞれ P^0 及び P とすると、結合係数 K は

$$K=(P/P^0)-1 \quad (1)$$

として求められる。ただし、この式は P^0 が一定値をもつ濃度範囲内で成立する。200 $\mu\text{g/mL}$ でステロイドホルモンを溶解したヘキサン溶液 (エチニルエストラジオールでは 32.3 $\mu\text{g/mL}$) 10 mL と 3.5% BSA 水溶液 50 mL の間で平衡分配に達した時の分配係数 P の値から、式(1)を用い結合係数 K を求めた。同様にして、前もって BSA に FFA を結合させた時の結合係数を求め、その結果を Table-1 に示した。プロゲステロン、アンドロステロン及びテストステロンの場合、1 mol の BSA に対し FFA 0.2 mol 結合させた場合、ホルモンに対する結合係数が 10% 程度、FFA 2 mol で 50~60

% 高まることが認められた。一方、エチニルエストラジオールでは有意な増加は認められなかった。

3.2 FFA を結合した BSA を担体とするステロイドホルモンの輸送

BSA に FFA を結合させ、それを担体としてステロイドホルモンの液膜輸送を行った結果を、Fig.-2 にプロゲステロン、Fig.-3 にアンドロステロン、Fig.-4 にテストステロンについて示した。実験は、BSA 1 mol に対し、 $C_{14:0}$ 、 $C_{16:0}$ あるいは $C_{18:0}$ を 0.2 ないし 2 mol 結合させて行った。図には BSA 1 mol に対し、 $C_{16:0}$ を 2 mol 結合させた時の結果のみを示した。

BSA を加えないリン酸緩衝液について得られるホルモン輸送挙動をコントロールとして、BSA を加えた場合の結果を表すと、プロゲステロンの場合、コントロールのヘキサン相 (I) の減少速度を 100 とすると、3.5% BSA 水溶液では初め 850 で、急速にプロゲステロンの水相への移行が認められる。しかし、4~8 h するとこの移行速度は徐々にではあるが低下する。 $C_{16:0}$ を結合した BSA の場合、ヘキサン相 (I) から水相へのホルモン移行はコントロールに比べ 1100 となり、 $C_{16:0}$ の BSA に対する結合が、ヘキサン相 (I) から水相へのプロゲステロンの移行を加速した。図には示さなかったが $C_{16:0}$ /BSA の mol 比 0.2 の場合にも、BSA 単独の場合よりも移行速度が幾分高まることが認められた。一方、ヘキサン相 (II) のプロゲステロン増加は数時間の遅れをもって始まり、その後はほぼ一次直線に従い増加した。コントロールの場合のヘキサン相 (II) の増加を 100 とすると、3.5% BSA 水溶液で 230、 $C_{16:0}$ を結合した BSA の場合 320 となり、明らかに BSA に対する $C_{16:0}$ の結合はヘキサン相 (II) のプロゲステロン増加を加速した。図には結合脂肪酸として、 $C_{16:0}$ の結果のみを示したが、 $C_{14:0}$ 及び $C_{18:0}$ の場合でも、 $C_{16:0}$

Table-1 Effects of binding of FFA to BSA (3.5% solution) on affinities of steroid hormones at 25°C.

	Partition coefficient $P=[S]_w/[S]_h$	Binding coefficient $K=[S]_b/[S]_f$							
		$C_{14:0}$				$C_{16:0}$		$C_{18:0}$	
	Phosphate buffer(no BSA)	0 *1	0.2*1	2*1		0.2	2	0.2	2
Progesterone	0.004	16.1*2	17.0	28.3		18.0	26.6	17.0	28.3
Androsterone	0.017	29.0	30.2	38.4		32.5	43.1	30.8	38.4
Testosterone	0.27	10.3	11.0	16.2		11.5	15.8	12.0	17.1
Ethynylestradiol	0.51	10.5	10.9	11.3		10.9	11.3	10.9	11.2

$[S]_w$, total concentration of hormone in water phase ; $[S]_h$, concentration in hexane phase ;

$[S]_b$, concentration of BSA-bound form in water phase ; $[S]_f$, concentration of free form in water phase ; $C_{14:0}$, myristic acid ; $C_{16:0}$, palmitic acid ; $C_{18:0}$, stearic acid

*1 Moles of bound FFA per mole of BSA

*2 Binding coefficients were determined for a 3.5% BSA solution except the case of ethynylestradiol, where a 0.35% BSA solution was used.

Fig.-2 Effect of binding of palmitic acid to BSA on transport of progesterone.

Fig.-3 Effect of binding of palmitic acid to BSA on transport of androsterone.

の場合とほぼ同じ傾向の結果が得られた。なお、実験終了時ヘキサン相及び水相中の FFA（水相については Chen の方法¹³⁾で抽出した）を測定した結果、加えた FFA の大部分は水相に検出された。FFA はほとんど水に溶解しないので、水相中で FFA は BSA に結合して存在し、この形で担体として作用したものと考えられる。

Fig.-3 のアンドロステロンの場合、プロゲステロンの場合に比べてヘキサン相 (I) から水相へのホルモン移行は速まった。これはアンドロステロンの水-ヘキサ

ン 2 相系への分配係数がプロゲステロンに比べて高いため、BSA を加えるとさらに速やかにホルモン移行が起こり、ほぼ 30 h で平衡に達する。ヘキサン相 (I) のホルモン濃度の低下は、コントロールの値を 100 とすると、3.5% BSA 水溶液で 450、 $C_{16:0}$ を結合した BSA ($C_{16:0}$ /BSA mol 比 2) で 500 となり、わずかではあるが $C_{16:0}$ が BSA に結合することにより、ヘキサン相 (I) から水相へのホルモン移行を速めた。一方、ヘキサン相 (II) のアンドロステロン増加は、コントロールの場合に比べて 3.5% BSA 水溶液で 110、 $C_{16:0}$ を結合した BSA の場合でも 110 であった。 $C_{14:0}$ あるいは $C_{18:0}$ が BSA に結合した場合にも、 $C_{16:0}$ の場合と同じ傾向の結果が得られた。

Fig.-4 のテストステロンの場合、アンドロステロンの場合に比べてさらに分配係数が高く、BSA がなくても、24 h で平衡に達する。ヘキサン相 (I) のホルモン濃度低下は、コントロールの値を 100 とすると、3.5% BSA 水溶液で 230、また $C_{16:0}$ を結合した BSA 水溶液でも 230 で、 $C_{16:0}$ の BSA に対する結合の影響はほとんど認められなかった。一方、ヘキサン相 (II) のホルモン増加は、コントロールを 100 とすると、3.5% BSA 水溶液で 33、 $C_{16:0}$ を結合した BSA の場合は 26 と、 $C_{16:0}$ が BSA に結合することにより、ヘキサン相 (II) のホルモン増加量は FFA を結合していない BSA の場合に比べ低下した。

エチルエストラジオールでは、FFA が BSA に結合しても、水-ヘキサン 2 相系への分配係数は、ほとんど変化しなかった (Table-1)。液膜によるホルモン輸送実験においても、FFA が BSA に結合した場合でも、BSA 単独の場合の輸送挙動とほぼ同じ挙動を示し、

Fig.-4 Effect of binding of palmitic acid to BSA on transport of testosterone.

FFA の結合はほとんど影響を与えなかった。

3.3 輸送速度の解析

ヘキサン相 (I) でのホルモン濃度の減少及びヘキサン相 (II) での増加の速度を, BSA の存在しないリン酸緩衝液の場合 (コントロール) の値を 100 としたときの相対値で表し, Table-2 にまとめて示した。ヘキサン相 (I), (II) 及び水相中のホルモン濃度をそれぞれ $[S]_h^I$, $[S]_h^{II}$ 及び $[S]_w$ とし, ヘキサン相 (I) から水相へのホルモン移行速度定数を k_1 , 水相からヘキサン相 (II) への移行速度定数を k_2 とすると

$$-d[S]_h^I/dt = k_1[S]_h^I \quad (2)$$

$$d[S]_h^{II}/dt = k_2[S]_w \quad (3)$$

と表される。水相中のホルモンを BSA 結合型 (濃度: $[S]_b$) 及び遊離型 (濃度: $[S]_f$) に区別すると,

$$[S]_w = [S]_f + [S]_b \quad (4)$$

となる。いま, 水相からヘキサン相 (II) へのホルモン移行を, 水相中の BSA 結合型によるもの及び遊離型によるものとして, Fig.-5 に示した様に輸送を表すと,

$$d[S]_h^{II}/dt = k_2'[S]_f + k_2''[S]_b \quad (5)$$

となる。ここで, k_2' 及び k_2'' は遊離型及び結合型ホルモンの輸送速度定数である。例えば Fig.-2 に示したプロゲステロンの場合で, 水相中のホルモン濃度 ($[S]_f$) と, その時のヘキサン相 (II) のホルモン増加量 ($d[S]_h^{II}/dt$) から, 速度定数 k_2' が求められる。水相中に BSA が存在する場合に, 水相中ではホルモン遊離型及び BSA 結合型が常に平衡にあるという仮定のもとで,

$[S]_h^I$ and $[S]_h^{II}$: concentrations of hormone in hexane phases (I) and (II), respectively,
 $[S]_w$, $[S]_f$, and $[S]_b$: same as in Table-1,
 k_1 , k_2 , k_2' and k_2'' : rate constant of transport

Fig.-5 Scheme of transport process.

Fig.-2 より水相中の総ホルモン濃度, 及び Table-1 からその時のホルモン遊離型及び結合型濃度がそれぞれ求まるので, これからすべて遊離型で輸送されるコントロールの場合と比較して, ヘキサン相 (II) のホルモン増加に対する遊離型の割合 ($k_2'[S]_f$) が求められ, したがって結合型による割合 ($k_2''[S]_b$) も求められる。このようにして他のホルモンについても, 遊離型のみで輸送されるコントロールの場合を 100 とした時, ヘキサン相 (II) のホルモン増加量のうち, 水相中を遊離型及び結合型で輸送される割合を求め, Table-2 に示した。さらに式(5)の両辺を $[S]_f$ で除して,

$(d[S]_h^{II}/dt)/[S]_f = k_2' + k_2'' \times ([S]_b/[S]_f) \quad (6)$
と表される。そこで, おおののホルモンについて k_2' を 1 とした時, $(d[S]_h^{II}/dt)/[S]_f$ を遊離型でのみ輸送されるコントロールで得られる結果と比較し, 結合係数

Table-2 Relative rates of the decrease in hexane source phase (I) and the increase in hexane receiving phase (II)

Hormone	Initial hormone concentration in hexane (I) ($\mu\text{g/mL}$)	Moles of binding $\text{C}_{16:0}$: per mole of BSA	Relative rate against control (without BSA) as 100			
			Decrease in hexane (I)	Increase in hexane (II)		
				Total	Free form	BSA-bound form
Progesterone*1	200	0	850	230	95	135
		0.2	900	240	95	145
		2	1100	320	85	235
Androsterone	200	0	450	110	20	90
		0.2	450	110	20	90
		2	500	110	17	93
Testosterone	200	0	230	33	18	15
		0.2	230	31	17	14
		2	230	26	13	13
Ethinylestradiol	32.3	0	100	20	10	10
		0.2	100	20	10	10
		2	100	20	10	10

*1 A 3.5% BSA solution was used as the water phase except for the case of ethinylestradiol, where a 0.35% BSA solution was used

Table-3 Relative values of transport rate constant.

Hormone	Water phase	Relative rate constant of transport			
		k_1^{*2}	k_2^{*2}	k_2'	$k_2''^{*3}$
Progesterone	Phosphate buffer	1	1	1	—
	3.5% BSA	8.5	0.23	1	0.07-0.1
	3.5% BSA binding FFA ^{*1}	11	0.32	1	0.12-0.14
Androsterone	Phosphate buffer	8.6	0.81	1	—
	3.5% BSA	39	0.16	1	0.09-0.1
	3.5% BSA binding FFA	43	0.12	1	0.09-0.1
Testosterone	Phosphate buffer	95	0.58	1	—
	3.5% BSA	220	0.08	1	0.04-0.07
	3.5% BSA binding FFA	220	0.06	1	0.04-0.06
Ethinylestradiol	Phosphate buffer	240	0.33	1	—
	0.35% BSA	240	0.053	1	0.05-0.06
	0.35% BSA binding FFA	240	0.053	1	0.05-0.06

k_1 , k_2 , k_2' and k_2'' are the same as defined in Fig.-5

^{*1} 2 moles of binding C_{14:0}, C_{16:0} or C_{18:0} per mole of BSA

^{*2} Refer the values of k_1 and k_2 of rate of progesterone (without BSA) as 1, respectively

^{*3} Value of k_2'' is a relative value to the value of k_2'

$K(K=[S]_f/[S]_b)$ の値を用いて k_2'' の値が求められる。 k_1 及び k_2 についても、プロゲステロンのコントロール（リン酸緩衝液）で得られた k_1 及び k_2 値をそれぞれ1とした時、他のホルモンについての k_1 及び k_2 の相対値を求め、 k_2' 、 k_2'' の結果とともにTable-3に示した。 k_2'' の値は k_2' の値に対する相対値である。 k_2'' はいずれのホルモンの場合にも、 k_2' の0.05-0.1程度であり、遊離型に比べBSA結合型ホルモンは水相からヘキサン相（Ⅱ）への移行速度を低下させることが明らかである。BSAに対するFFAの結合は、プロゲステロンの場合に k_2' 値を高くしたが、その他のホルモンでは著しい変化は認められなかった。

著者らは、先に6種類のステロイドホルモンについての液膜輸送で、分配係数の低いプロゲステロンの場合、BSAの添加により輸送が促進されるが、分配係数の高いテストステロン、エチニルエストラジオールなどでは、BSAの添加により逆に輸送が阻害されることを見いだした⁷⁾。さらにホルモンの水-ヘキサン2相系への分配係数と k_1 の間に正の相関性、 k_2 との間に負の相関性が認められ、BSAを担体とする液膜輸送では、輸送挙動を支配する最も重要な要因は分配係数で、分配係数が低い場合に k_1 段階が律速となり、輸送が促進されるが、分配係数が高くなるに従って、 k_2 段階が律速となることを報告した¹⁹⁾。FFAが結合したBSAを担体とした場合を考えると、プロゲステロンの場合のように分配係数が低いと、FFAが結合することにより律速段階の k_1 値をさらに高め、 k_2 値をも高めるために輸送は促進さ

れる。分配係数の高いテストステロンでは、BSAへのFFA結合は k_1 値に変化を与えず、一方輸送挙動を支配する要因が k_2 段階へと移行し、BSAのみを担体とする場合よりも、 k_2 値が低下し、輸送量は逆に低下するようになると考えられる。分配係数がこれらの中間のアンドロステロンではFFAの結合により k_1 値は幾分高まるが、 k_2 値は低下し、ホルモン輸送量($d[S]_b/dt$)には変化を生じない。

以上の結果から、BSAに対してFFAが結合(mol比2/1)することにより、プロゲステロン、アンドロステロン及びテストステロンの場合に、BSA-ホルモン結合係数は50-60%上昇するが、その液膜輸送挙動は異なった結果を与えることが明らかとなり、水-ヘキサン2相系への分配係数が輸送挙動を支配する主たる要因であることから、分配係数が低い場合に、BSAに対するFFAの結合がホルモン輸送をさらに促進することになる。

4 総 括

BSAへのFFA(C_{14:0}、C_{16:0}及びC_{18:0})の結合によって、プロゲステロン、アンドロステロン及びテストステロンの場合に、BSA-ホルモン結合係数は有意に増大するが、液膜輸送に対しては異なった影響を示した。この挙動を支配する主たる要因として分配係数が考えられる。ヘキサン相（Ⅰ）から水相、及び水相からヘキサン相（Ⅱ）のホルモン移行速度定数を k_1 及び k_2 とすると、分配係数の低いプロゲステロンでは、FFAの

BSA に対する結合によって、 k_1 及び k_2 値はともに高くなり、輸送が促進される。一方、分配係数の高いテストステロンでは、FFA の結合によって k_1 値には変化は認められないが、 k_2 値が低下し、輸送は阻害される。分配係数がこの中間のアンドロステロンでは、 k_2 値は低下するが、 k_1 値が上昇するため、全体として輸送量は変化しなかった。いずれのホルモンについても、水相からヘキサン相 (Ⅱ) への移行過程で、BSA 結合型の輸送速度定数は遊離型ホルモンの輸送速度定数の 1/10 以下であり、BSA 結合型になることにより水相からヘキサン相 (Ⅱ) への移行性が低下することが明らかとなった。また FFA の結合により、プロゲステロンの場合には、BSA 結合型ホルモンによる輸送速度定数の増加が認められたが、その他のホルモンでは変化は認められなかった。

〔平成元年 (1989 年) 12 月 25 日受理〕

文 献

- 1) 原 一郎, 化学総説, 6, 197 (1974)
- 2) 日本生化学会編, “生化学データブック [I]”, 東京化学同人, 東京, (1979) p.1371
- 3) 後藤 茂, 吉富博則, 岸 征恵, 薬誌, 97, 1219 (1977)
- 4) J. Nishijo, N. Morita, S. Asada, H. Nakae, E. Iwamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, 33, 2648 (1985)
- 5) R. Weisiger, J. Gollan, R. Ockner, *Science*, 211, 1048 (1981)
- 6)a) E.L. Forker, B.A. Luxon, *J. Clin. Inv.*, 67, 1517 (1981)
- b) E.L. Forker, B.A. Luxon, *J. Clin. Inv.*, 72, 1764 (1983)
- 7) 渡辺貞夫, 谷 孝之, 渡辺重信, 妹尾 学, 薬誌, 109, 12 (1989)
- 8) 渡辺貞夫, 谷 孝之, 渡辺重信, 妹尾 学, 油化学, 38, 421 (1989)
- 9) 馬場茂明, 奥田 清編, “医化学実験法講座第 3 巻 B<臨床化学Ⅱ>” 中山書店, 東京, (1977) p.269
- 10) 山川民夫編, “生化学実験講座 16 ホルモン上”, 東京化学同人, 東京, (1977) p.269
- 11) 渡辺貞夫, 谷 孝之, 渡辺重信, 妹尾 学, 油化学, 38, 710 (1989)
- 12) S.Watanabe, T. Tani, S. Watanabe, M. Senō, *Lipids* in press, “Effects of Free Fatty Acids on the Binding of Steroid Hormones to Bovine Serum Albumin”
- 13) R.F. Chen, *J. Biol. Chem.*, 242, 173 (1967)
- 14) A. Saifer, L. Goldman, *J. Lipid Res.* 2, 268 (1961)
- 15) D. Watson, *Adv. Clin. Chem.*, 8, 237 (1965)
- 16) D.S. Fredrikson, R.S.Jr. Gordon, *J. Clin. Inv.*, 37, 1504 (1958)
- 17) R.J. Harvel, L.G. Ekelund, A. Holmgren, *J. Lipid Res.*, 8, 366 (1967)
- 18) A.A. Spector, K. John. J.E. Fletcher, *J. Lipid Res.*, 10, 56 (1969)
- 19) S. Watanabe, T. Tani, S. Watanabe, M. Senō, submission to *Biochim. Biophys. Acta* “Transport of Steroid Hormones by Serum Proteins as Carrier”