

女性における血清アミロイド P 成分の動態に関する研究

金沢大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 井上正樹教授)

加藤 三 典

Change of Serum Amyloid P Component Concentrations in Women

Mitsunori KATOU

*Department of Obstetrics and Gynecology, Kanazawa University School of Medicine, Kanazawa
(Director : Prof. Masaki Inoue)*

概要 血清アミロイド P 成分 (Serum amyloid P component, SAP) は血管周囲や腎糸球体基底膜などに浸潤沈着し老化やアミロイドーシス発症, アルツハイマー病に関与する9.5S α_1 -糖蛋白で, 脊椎動物門に広く分布しているが, その機能, ホルモン依存性などまだ充分解明されていない。血中 SAP の年齢的変動, 男女差, 月経周期, 性ステロイドによる影響を明らかにすることを目的とした。SAP 濃度はヒト血清よりホスホリルコリン-セファロース-アフィニティーカラムやゲル濾過を用いて SAP を精製し家兎を用いて抗血清を作製し, 微量一元放射状免疫拡散法で測定した。血中 SAP 濃度は, 年齢と共に増加し, 新生児女児の平均値 \pm 標準偏差は $1.1\pm 0.8\text{mg/dl}$ であり, 80歳代女性のそれは $5.08\pm 1.31\text{mg/dl}$ に上昇していた。また, 15~50歳代においては男性が女性より有意 ($p<0.001$) に高値を示した。次に, 正常月経周期の女性で血中 SAP 濃度の変動をみると月経期には $4.48\pm 0.94\text{mg/dl}$ で排卵期, 黄体期後期に比し有意 ($p<0.05$) に高値を示した。一方, 性ステロイド投与による影響については, 更年期症状を愁訴とする閉経後女性にエストロゲン (estrogen, E), デヒドロエピアンドロステロン (dehydroepiandrosterone, DHEA) を投与したところ, 血中 SAP 濃度は, E 投与で減少し ($p<0.001$), DHEA 投与で増加した ($p<0.001$), 以上より, ヒトでは血中 SAP 濃度は, 年齢と共に増量し, 男性高値の雄性蛋白であり, 月経周期に伴う変動では月経期に高値を示し, 更年期女性についての血中 SAP 濃度の変動から, 血中 SAP 濃度の男女差の発現には E による SAP 濃度下降作用が関与していることが示唆された。

Synopsis Serum amyloid P component (SAP) is a glycoprotein which was shown to be deposited in periarterial tissues and the glomerular basement membrane. It plays a part in aging, and the onset of amyloidosis and Alzheimer's disease. In order to investigate the effects of sex steroids on the SAP level in menopausal women, SAP was purified. Anti-SAP was raised through the immunization of rabbits. The SAP level was assayed by micro single radial immunodiffusion. The SAP levels increased with aging from $1.1\pm 0.8\text{mg/dl}$ (mean \pm S.D.) to $5.08\pm 1.31\text{mg/dl}$ in women. And the SAP level in males was significantly higher in the 15 to 50 year age group than in females of similar ages ($p<0.001$). And in the menstrual cycle, the SAP concentrations were significantly higher in the menstrual period ($p<0.05$). During hormonal therapy in climacteric women, the SAP levels decreased significantly ($p<0.001$) after Premarin treatment (from $5.66\pm 1.45\text{mg/dl}$ to $4.15\pm 0.94\text{mg/dl}$) and increased ($p<0.001$) after dehydroepiandrosterone therapy (from $4.00\pm 0.74\text{mg/dl}$ to $6.07\pm 1.14\text{mg/dl}$).

From these findings, the SAP levels in human were concluded to be age dependently increased, and higher in the menstrual period. And it is suggested that a sex difference in SAP is concerned with the effect of estrogen fluctuation.

Key words: Serum amyloid P component • Sex, Age difference • Human • Estrogen • Dehydroepiandrosterone

緒 言

血清アミロイド P 成分 (Serum amyloid P

component, SAP) は血清中に存在する糖蛋白の一つであるがヒトだけでなく, 脊椎動物門に広く

分布しており¹²⁾, その機能, ホルモン依存性など興味があるが, その生物学的重要性は不明である. ハムスターでは SAP は雌性蛋白 (female protein) であって雌の方が高値であり, テストステロン (testosterone, T) 投与で SAP 濃度が著明に減少することが報告されている³⁾. また, SAP と胎盤の成熟老化との関係が議論されており, 胎盤の胎児側血管壁に SAP が沈着し, その量は妊娠月数の進行と共に増量すると報告されている⁴⁾. さらに最近, SAP はアルツハイマー病にも深く関与するといわれ⁵⁾⁶⁾, 大脳神経細胞, 血管周囲や腎糸球体基底膜などに浸潤沈着し老化やアミロイドーシス発症に関与する⁷⁾⁸⁾. SAP は, 急性期蛋白質の C-reactive protein (CRP) と同じく電子顕微鏡により五角形の粒子 (pentagonal) として認められる pentraxin family⁹⁾に属しているが, CRP は 5 量体 (pentamer) 分子であるのに対し, SAP は正常ヒト血清中には 5 角形の面を二つ重ねた十量体分子として存在し, 9.5S_{α₁}-糖蛋白とも呼ばれる¹⁰⁾. 血清蛋白としては, SAP は, CRP と遺伝子上共通の起源であり, 性質も類似しているが, CRP は糖鎖を含まず, 抗原性も異なる¹¹⁾. ヒト SAP は肝細胞で合成され¹²⁾, その血中濃度は 0.8~7.2mg/dl といわれ¹³⁾, 急性期(手術, 分娩, 炎症など)には増量する¹⁴⁾. この SAP の増量はサイトカイン(インターロイキン-I, VI) の関与によるものであり¹⁵⁾, 増量した SAP は補体や大食細胞(マクロファージ)の殺菌・貪食作用を増強し¹⁶⁾¹⁷⁾, 凝固系(血小板, ヘパリン)に関与し¹⁸⁾, 生体防御に重要な働きを演じる. 本研究では, 血中 SAP の年齢による変動, 男女差, 正常月経周期に伴う変動, 性ステロイドによる影響などを明らかにするために正常ヒト血清中の SAP を精製し抗血清を作製し, 血中 SAP 濃度を微量一元放射状免疫拡散法によって測定し, SAP と性ステロイドとの関連性について考究した.

材料及び方法

I. 材料

実験には, 臍帯血及び83歳までの正常ヒト血清及び更年期障害のため性ステロイド投与された45~64歳婦人血清を用いた. 標準試料としては

QS 血清(ヘキストジャパン)を使用した. 家兎(日本白色種, 三共ラボ, 富山)は4カ月齢, 体重2.95 kg の雌兎を用いた.

II. ヒト SAP の精製

1. ホスホリルコリン-セファロースの合成

橋本ら¹⁹⁾の方法と同様である. 略記すれば, Chesebro and Metzger²⁰⁾に従ってまずホスホリルコリンを合成した. 材料としてジメチルアミノエタノール, ヨウ化メチル, エーテル, アセトニトリル, キノリン, メタノール, パラジウム炭素, 亜硝酸ソーダ(以上和光純薬, 大阪), パラニトロフェニールホスホジクロリデート(メルク社, Darmstadt, ドイツ), アンバーライト MB-3(室町化学, 東京)カラム(3×13cm)を用いた. 次にセファロース6B (Sephacrose 6B: Pharmacia LKB, Uppsala, Sweden) をシアン化臭素(和光純薬)により活性化し, グリシルチロシン(和光純薬)を結合させ, これに合成したホスホリルコリンを室温で18時間反応させてジアゾフェニールホスホリルコリン-セファロースを得た.

2. アフィニティークロマトグラフィー

橋本ら¹⁹⁾の方法と同様である. 略記すれば, ジアゾフェニールホスホリルコリン-セファロース80 ml を0.05M 塩化カルシウムと3mM アジ化ナトリウムを含む0.1M トリス緩衝液(pH 7.0)に平衡化してカラムにつめ, 3名の健康男性ボランティアより採血して得られた血清240ml を流しよく洗った後に, 0.1M EDTA を含むトリス緩衝液により溶出した. 各試験管に4.5ml ずつ採集し蛋白濃度を吸光度(OD280)で測定し, 第2ピークをプールして濃縮した(図1).

3. ゲル濾過及び SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)

橋本ら¹⁹⁾の方法と同様である. 略記すれば, ゲルカラム(直径16mm, 長さ99cm, Ultragel AcA-54(Pharmacia LKB, Uppsala, Sweden))を0.1M トリス緩衝液(pH 7.4)にて平衡化して作製した. これに, アフィニティークロマトグラフィーにて溶出した分画から, 分子量の大きい夾雑蛋白分画を除き, SAP 分画を分離した. この SAP 分画をプールして濃縮し電気泳動すると α_1 に単一

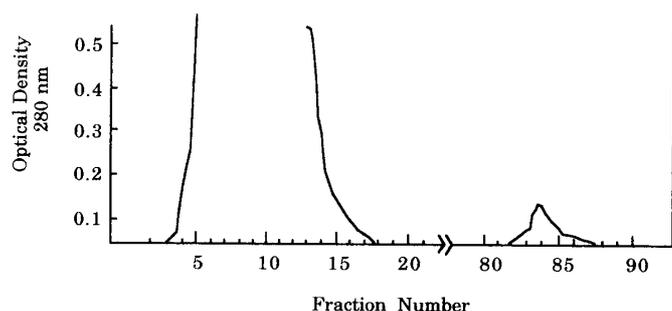


図1 ホスホリルコリン-セファロース Affinity Chromatography による SAP の溶出パターン

ピークが得られた。

次に Weber and Osborn²¹⁾の方法に従い、SDS-PAGE を行った。分子量マーカーとしてチトクローム C(オリエンタル酵母工業, 東京)を用いた。その結果、分子量30,000の SAP モノマーが観察された。

4. 抗ヒト SAP 免血清の作製

精製された SAP を Freund 完全アジュバント (Difco, Detroit, USA) と共に家兎に免疫した。その後、2 週間間隔で、精製された SAP を Freund 不完全アジュバントと共に 3 回追加免疫を行った。その 2 週後に耳静脈より採血し、3,000 rpm, 10分間遠心後、血清を分離した。

5. オクタロニー (Ouchterlony) 法による抗ヒト SAP の確認

寒天ゲルの試料孔に精製したヒト SAP を入れ 2 時間電気泳動を行った。次に Dr. Pepys より取得した抗 SAP 抗体と今回作製した抗血清を試料孔より 5mm 離して作製した試料溝に注入し、反応箱に室温で 1 晩放置し沈降線を観察すると共通の抗原性をもった抗体であることが確認された (図 2)。

III. 検体採取時期と方法

年齢に伴う変動、男女差については、新生児から 85 歳までの男女 527 人を対象に (有経女性では原則として月経期をさけて卵胞期に) 採血し、月経周期に伴う変動については、正常月経周期の女性 5 名について基礎体温曲線を参考とし、月経期、卵胞期、排卵期、黄体前期及び黄体後期で採血した。また、性ステロイド投与の影響については、更年期症状を愁訴とする閉経後女性 34 名 (45~64

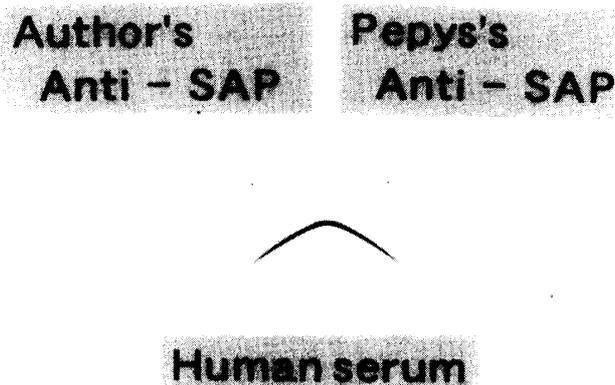


図2 Ouchterlony 法による抗ヒト SAP の確認

歳) に患者の同意を得てエストロゲン (estrogen, E) としてプレマリン® (旭化成, 大阪) 1.25mg/日, また, デヒドロエピアンドロステロン (dehydroepiandrosterone, DHEA : Kanebou, 東京) 60mg/日を 3 週間経口投与し, 投与前, 投与後 7 日, 14日, 21日に肘静脈より採血を行い比較検討した。なお, 血中 DHEA, Estradiol (E2) の濃度は第一ラジオアイソトープキット (第一ラジオアイソトープ研究所, 東京) を用いて RIA で測定した。

IV. SAP 濃度の定量

1. 微量一元放射状免疫拡散法 (Micro single radial immunodiffusion method, MSRID)

SAP 濃度の定量は MSRID で行った²²⁾。6.5×10×0.1cm の鋳型に下記のごとく, 2%寒天液 4.1ml を注入, 凝固させて抗体寒天板 (antibody agar plate) を作製した。寒天 (agarose GP36, 半井化学薬品, 京都) を 0.5M ベロナール緩衝液 (barbiturate buffer, pH 8.6) に溶解して 2%W/V 濃度の寒天板とし, 57°C に保持し, これに 0.1 ml/4.1ml の抗血清を混和した。凝固した抗体寒天板は枠からはずし, 直径 2.0mm の穴をあけ, 反復分注器 (Dispenser PB600, Hamilton, USA) と 10μl 微量注入器とを連結したものを使用して, 一定量 (0.4μl) の被検血清を各穴に注入した。基準としては QS 血清 (SAP 5.43mg/dl を含有する) を使用した。被検血清注入後, 湿箱中に 72 時

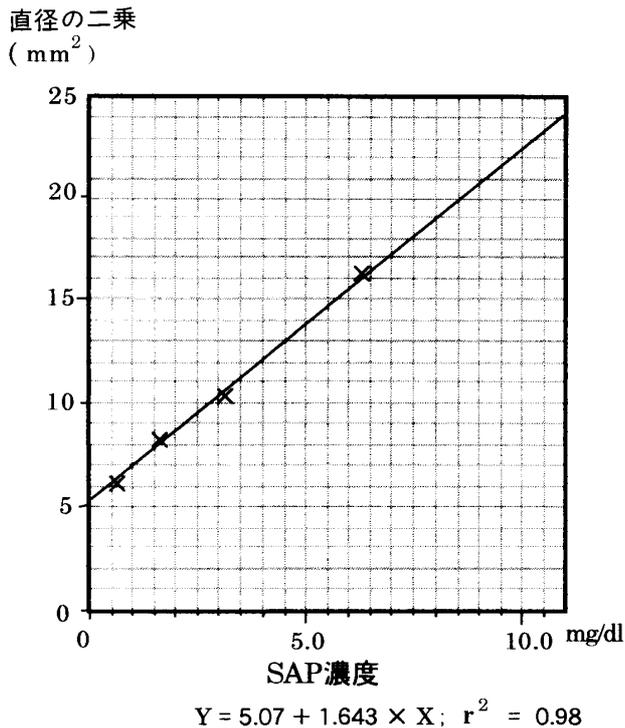


図3 SAP標準曲線の1例

間静置した。次いで、さらに72時間、脱蛋白液である0.02M, pH 8.0ホウ酸緩衝生理的食塩水 (borate-buffered saline, 0.85%NaCl) に浸した後、寒天板を蒸留水で湿した濾紙で被い、そのまま放置して乾燥させた。乾燥後、寒天板をCoomassie brilliant blue G-250 (半井化学薬品, 京都) で染色し、乾燥させてから、拡散輪の直径を計測器付きの陰影拡大器 (Profile Projection Nikon 6C, 日本光学, 大阪) で投影拡大して測定した。被検血清の拡散輪の直径を二乗した数値を基準のそれらと比較して、SAPの相対濃度を算出した。基準の検量曲線はQS血清の25%溶液, 50%溶液, 100%溶液, 200%溶液を用いて作製した(図3)。

2. MSRIDでの測定値の再現性

SAP濃度が既知 (3.10mg/dl) の検体を20本の試験管に分注し、その濃度をMSRIDで測定したところ、各測定値のすべては2.95~3.28mg/dl(既知濃度の95~106%)の範囲内に存在した。

V. 統計的処理

平均値の差の検定は、等分散検定の後t検定 (Student t test) 又は Welch 法により行った。

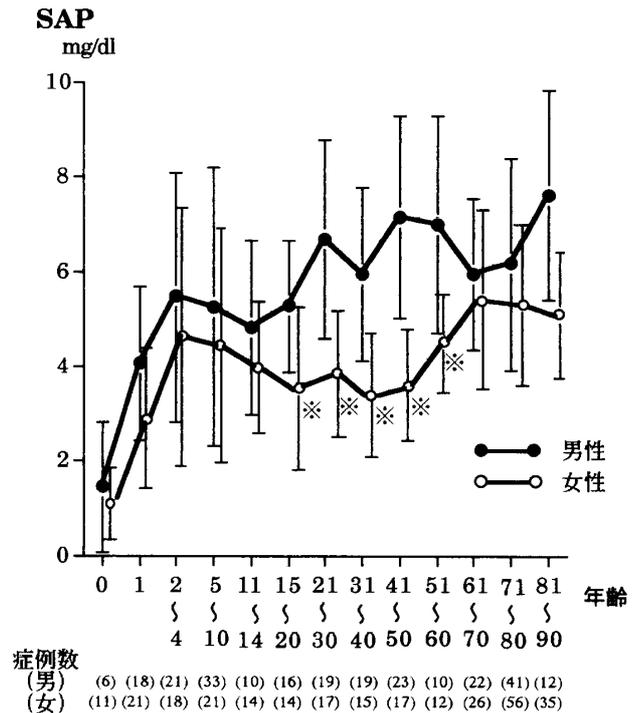


図4 ヒト血中SAP濃度の年齢推移及び男女差

※: $p < 0.001$, 女性群対男性群

成 績

1. 年齢による変動及び男女差

SAPの血中濃度は年齢と共に増加した。男性では10歳代で 5.10 ± 1.54 mg/dl (平均値 \pm 標準偏差) から80歳代で 7.62 ± 2.23 mg/dlへと、女性では10歳代で 3.76 ± 1.58 mg/dlから80歳代で 5.08 ± 1.31 mg/dlへと年齢と共に増加し、その相関係数は男性で0.49 ($p < 0.01$), 女性で0.50 ($p < 0.01$)だった。また、20歳代から50歳代においては男性が女性より有意 ($p < 0.001$) に高値を示した。また、10歳代を前半と後半に分けて検討してみると前半では男性 4.82 ± 1.82 mg/dl, 女性 3.98 ± 1.72 mg/dl, 後半では男性 5.28 ± 1.31 mg/dl, 女性 3.53 ± 1.72 mg/dlと10歳代前半では男女差はないが、10歳代後半では男女差が認められた ($p < 0.001$)。14歳以下、及び61歳以上では有意の差が認められなかった ($0.5 > p > 0.1$) (図4)。

2. 月経周期に伴う変動

対象は正常月経周期を有する20歳代の学生ボランティア5人で、基礎体温を測定し排卵周期を確認している。月経期のSAPの血中濃度は $4.48 \pm$

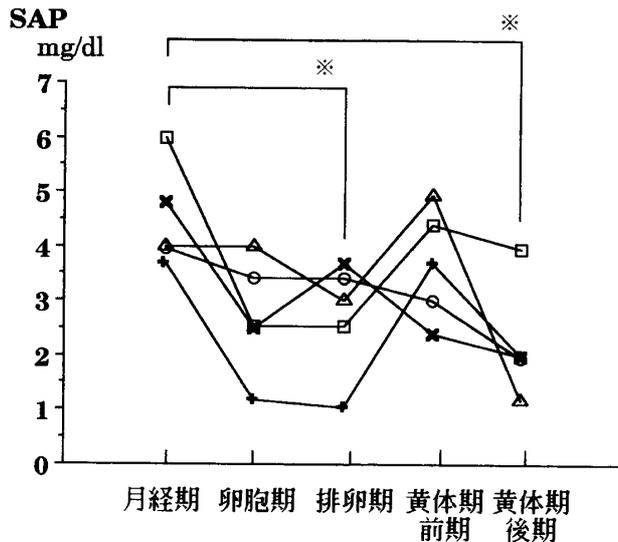


図5 月経周期に伴う血中SAP濃度の変動

※： $p < 0.05$ ，月経期と比較して排卵期，黄体期後期は有意な差を示した。

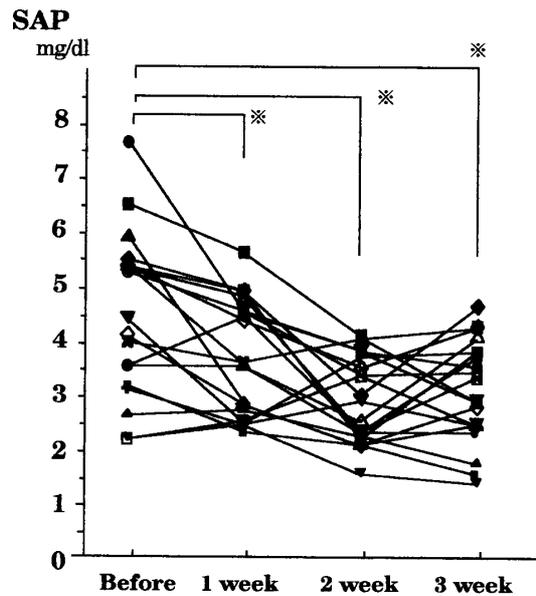


図6 Estrogen投与による血中SAP濃度の変動

※： $p < 0.001$ compared with control value

0.94mg/dlで，排卵期 (2.74 ± 1.04 mg/dl)，黄体期後期 (2.23 ± 1.03 mg/dl) に比べて，有意に高値を示した ($p < 0.05$) (図5)。

3. 性ステロイド投与による変動

対象は閉経後の女性で，45～64歳の年齢であり，更年期障害の治療開始前のSAPの血中濃度はE投与群では 5.66 ± 1.45 mg/dl，DHEA投与群では 4.00 ± 0.74 mg/dlで，投与3週後の血中SAP濃度は，E投与群で 4.15 ± 0.94 mg/dlと減少し ($p < 0.001$)，DHEA投与群で 6.07 ± 1.14 mg/dlと増加した ($p < 0.001$) (図6，図7)。

E投与前血中E2濃度は 10.4 ± 0.5 pg/mlであった。血中E2濃度はE投与で著明に増量し，投与14日目に 66 ± 15.6 pg/mlとなった。DHEA投与前血中DHEA濃度は 2.5 ± 1.0 ng/mlであった。血中DHEA濃度はDHEA投与で漸増し，投与14日目に 5.3 ± 2.4 pg/mlとなった。E2，DHEAとSAPの相関についてはE2とSAPとのSpearmanの相関係数は $r = -0.44$ ($p < 0.05$)と有意な負の相関を認めた。DHEAとSAPとのSpearmanの相関係数は $r = 0.66$ ($p < 0.05$)と有意な正の相関を認めた。

考 察

微量血漿蛋白 (Trace protein) の一つであるSAPは各種の脊椎動物でも証明されており¹²⁾，こ

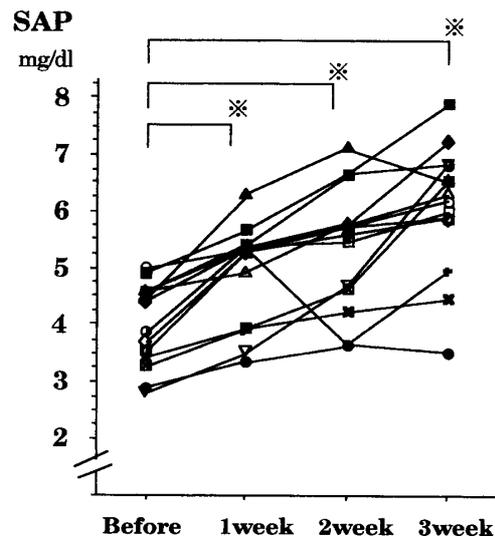


図7 Dehydroepiandrosterone投与による血中SAP濃度の変遷

※： $p < 0.001$ compared with control value

の広い分布はSAPの生理的重要性を示唆しているが，その機能やホルモン依存性などの詳細は不明である。SAPはカルシウムイオン存在下にアガロースゲルやホスホリルコリンと可逆的に結合するが，後者の方が収率がよい⁸⁾ため，ヒトSAPの精製にはホスホリルコリンを使用した。

ヒトSAPの血中濃度は今回の測定では $0.3 \sim 6.8$ mg/dlであり他の報告¹³⁾と同様であっ

た。また、以前より SAP と老化の関係が注目されており、ヒト SAP は加齢老化に伴ってその血中濃度の増加が報告されている¹⁴⁾が、今回の測定でも血中 SAP 濃度は年齢に伴って上昇したが10歳代未満までは男女差はなかった。10歳代で男女差がみられたため10歳代を前半と後半に分けて検討してみると、前半では男女差は認められなかったが、後半では男女差が認められた。20歳代から50歳代までは男性が有意に高値を示した。これは、ラットでみられた雌雄差¹⁹⁾とは逆であったが、性ステロイドによる何らかの制御のあることが推測される。

また SAP は、CRP と共に感染や物理的刺激によって増加する急性期蛋白で五角形構造を示し補体活性を増加させたり¹⁶⁾、クロマチンに結合する²³⁾が、最近、CRP と SAP はそれぞれ核の異なった部位に結合することが報告されており²⁴⁾機能的な面から興味深い。

ハムスターでは SAP は雌性蛋白であって、雌の方が高値であり、T 投与で血中 SAP 濃度が著明に減少すると報告されている³⁾。ラットでも SAP はハムスターと同様、雌性蛋白であるが、T 投与では変動を示さないことが報告されている¹⁹⁾。ヒトにおいても性成熟期では血中 SAP 濃度に男女差がみられたが、ヒトでは SAP はハムスターやラットと異なり雄性蛋白 (male protein) であり、男性の方が高値であった。

また、月経周期に伴う変動についてはほかに報告例はみられないが月経期に有意に増量した。これは、急性期蛋白として SAP が損傷組織の修復、再生に関与しているためではないかと推測される。

次に、幼若雄ラットにおいては血中 SAP 濃度が E 投与で上昇し、成熟雌ラットでは DHEA 投与で血中 SAP 濃度が減少した¹⁹⁾が、ヒト(更年期障害婦人)では作用機序は不明であるがラットとは逆に、血中 SAP 濃度は E 投与により減少し、DHEA 投与により増加した。その動物種による差の意味に関しては不明である。最近、アルツハイマー病に E が有用との報告があり²⁵⁾、これは E 投与により脳神経細胞の SAP の沈着を妨害するこ

とによりアルツハイマー病の治療に効果があるのではないかと推論されている。DHEA は男性ホルモン様作用と女性ホルモン様作用の両方を示すがホルモン環境によってその働きが異なるとされ²⁶⁾、男性では DHEA 高値は心血管系疾病のリスクを防御しているのに対し、女性では DHEA 高値は心血管系疾病のリスクを高める因子の一つであると報告されている²⁷⁾。今回の更年期障害女性における結果からも DHEA 投与に伴って血中 SAP 濃度が増加しており、心血管系疾病のリスクを高める可能性が示唆された。しかし、一方において閉経後のホルモン補充療法として、インスリンの作用増強因子としての DHEA の作用が注目されている²⁸⁾。

以上よりヒトでは血中 SAP 濃度は、年齢につれて増量し男性高値の雄性蛋白であった。月経周期による変動でみると、月経期に増量がみられた。性ホルモン投与による結果から、SAP 沈着による老化の予防には E によるホルモン補充療法が期待される。

稿を終えるに当たり、御指導と御校閲を賜りました井上正樹教授に謹んで謝意を表します。また、SAP の精製及び測定に貴重な御助言を頂きました金沢大学癌研究所右田俊介名誉教授に深謝いたしますと共に、終始直接御指導頂きました橋本 茂講師ならびに研究面で御協力頂きました教室員各位に深く感謝致します。

文 献

1. *Pepys MB, Dash AC, Fletcher TC, Richardson N, Munn EA, Feinstein A.* Analogues in other mammals and in fish of human plasma proteins, C-reactive protein and amyloid P component. *Nature* 1978; 273: 168-170
2. *Murata M, Onuma M, Kodama H.* Isolation and characterization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) serum amyloid P component (SAP). *J Vet Med Sci* 1994; 56: 661-665
3. *Rudnick CM, Downton SB.* Serum amyloid P (female protein) of the Syrian hamster. Gene structure and expression. *J Biol Chem* 1993; 268: 21760-21769
4. *Khan AM, Walker F.* Amyloid P component in normal human placenta. *Placenta* 1985; 6: 551-554
5. *Hamazaki H.* Ca(2+)-dependent binding of human serum amyloid P component to Alzheimer's beta-amyloid peptide. *J Biol Chem* 1995; 270: 10392-10394

6. *Duong T, Doucette T, Zidenberg NA, James RW, Scheibel AB.* Microtubule-associated proteins tau and amyloid P component in Alzheimer's disease. *Brain Res* 1993; 603: 74—86
7. *Hawkins PN, Wootton R, Peppys MB.* Metabolic studies of radioiodinated serum amyloid P component in normal subjects and patients with systemic amyloidosis. *J Clin Invest* 1990; 86: 1862—1869
8. *al-Mutlaq H, Wheeler J, Robertson H, Watchorn C, Morley AR.* Tissue distribution of amyloid P component as defined by a monoclonal antibody produced by immunization with human glomerular basement membranes. *Histochem J* 1993; 25: 219—227
9. *Pepys MB, Baltz ML.* Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (Pentaxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol* 1983; 34: 141—182
10. *Bauer K.* Antigenic structure of four human plasma proteins, retinol-binding protein, 9.5S- α_1 -glycoprotein, α_2 -pregnancy-associated glycoprotein and histamine-rich α_2 -glycoprotein. *Exp Clin Immunogenet* 1986; 3: 130—223
11. *Emsley J, White HE, O'Hara BP, Oliva G, Srinivasan N, Tickle IJ, Blundell TL, Pepys MB, Wood SP.* Structure of pentameric human serum amyloid P component. *Nature* 1994; 367: 338—345
12. *Le PT, Mortensen RF.* Mouse hepatocyte synthesis and induction of the acute phase reactant: Serum amyloid P component. *In Vitro* 1984; 20: 505—510
13. *Nelson SR, Tennent GA, Sethi D, Gower PE, Balladie FW, Chantler SA, Pepys MB.* Serum amyloid P component in chronic renal failure and dialysis. In: *Natvic JB, Førrø φ, Husby G,* eds. *Amyloid and amyloidosis 1990* Oslo: Kluwer academic publishers, 1991; 902—905
14. *Hashimoto S, Miwa M, Akasofu K, Nishida E.* Changes in forty serum proteins of postmenopausal women. *Maturitas* 1991; 13: 23—33
15. *Lin BF, Ku NO, Zahedi K, Whitehead AS, Mortensen RF.* IL-1 and IL-6 mediate increased production and synthesis by hepatocytes of acute phase reactant mouse serum amyloid P component. *Inflammation* 1990; 14: 297—313
16. *Hicks PS, Saunero-Nava L, Du Clos TW, Mold C.* Serum amyloid P component binds to histones and activates the classical complement pathway. *J Immunol* 1992; 149: 3689—3694
17. *Siripont J, Tebo JM, Mortensen RF.* Receptor mediated binding of the acute phase reactant mouse serum amyloid P component to macrophages. *Cell Immunol* 1988; 117: 239—252
18. *Williams EC, Huppert BJ, Asakura S.* Neutralization of the anticoagulant effects of glycosaminoglycans by serum amyloid P component: Comparison with other plasma and platelet proteins. *J Lab Clin Med* 1992; 120: 159—167
19. 橋本 茂, 加藤三典, 董 玉貞, 寺田 督, 井上 正樹. ラットにおける血清アミロイド P 成分 (雌性蛋白) の性ステロイドによる影響. *日産婦誌* 1995; 47: 1041—1047
20. *Chesebro B, Metzger H.* Affinity labelling of a phosphoryl choline binding mouse myeloma protein. *Biochem* 1972; 11: 766—771
21. *Weber K, Osborn M.* The reliability of weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *J Biol Chem* 1969; 244: 4406—4412
22. 右田俊介. 一元放射免疫拡散法の実施. *臨床検査* 1976; 20: 259—271
23. *Saunero Nava L, Coe JE, Mold C, Du Clos TW.* Hamster female protein binding to chromatin, histones and DNA. *Mol Immunol* 1992; 29: 837—845
24. *Pepys MB, Booth SE, Tennent GA, Butler PJG, Williams DG.* Binding of pentraxins to different nuclear structures; C-reactive protein binds to small nuclear ribonucleoprotein particles, serum amyloid P component binds to chromatin and nucleoli. *Clin Exp Immunol* 1994; 97: 152—157
25. 大蔵健義, 矢追良正, 斉藤 幹, 一瀬邦弘, 内山 真, 田中邦明, 黒田章史, 赤澤憲治, 高森久純, 濱本 眞, 五十嵐博中, 宮崎徳蔵, 萩野信義. アルツハイマー型痴呆に対するエストロゲン療法の可能性について—エストロゲン療法の根拠と臨床例報告—. *産婦人科の世界* 1990; 42: 1087—1095
26. *Ebeling P, Koivisto VA.* Physiological importance of dehydroepiandrosterone. *Lancet* 1994; 343: 1479—1481
27. *Barrett CE, Khaw KT.* Absence of an inverse relation of dehydroepiandrosterone sulfate with cardiovascular mortality in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1987; 317: 711
28. *Morales AJ, Nolan JJ, Nelson JC, Yen SSC.* Effects of replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 1360—1367

(No. 7763 平8・4・19受付)