
原 著

インスリン非依存型糖尿病における尿中
セルロプラスミンの排泄

新潟大学医学部第一内科学教室（主任：柴田 昭教授）

宇佐美 明 男

Urinary Ceruloplasmin Excretion in Non-insulin
Dependent Diabetes Mellitus

Akio USAMI

*The First Department of Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Akira SHIBATA)*

Ceruloplasmin levels in serum samples and in timed overnight urine samples were measured in patients with NIDDM and healthy controls by an immunoradiometric assay. Any crossreactivities to several kinds of plasma proteins were not found in this assay. Furthermore, a lineal correlation was seen between ceruloplasmin levels and the serially diluted samples. The findings suggested that ceruloplasmin detected by this assay was ceruloplasmin itself. Urinary excretion rate of ceruloplasmin (CER) increased in parallel with rise of albuminuria ($r=0.86$). It was significantly higher in patients with normoalbuminuria than in healthy controls, higher in patients with microalbuminuria than in ones with normoalbuminuria, and higher in patients with macroalbuminuria than in ones with microalbuminuria. In view of the findings that pI of ceruloplasmin (pI 4.4) is more acidic than pI of albumin and that mean blood pressure in normoalbuminuric patients with enhanced CER were not different from that in normoalbuminuria patients with normal CER, it seems reasonable to think that enhanced CER in a part of non-insulin dependent diabetic patients with normoalbuminuria was not due to intraglomerular hydraulic pressure, but to the changes of charge selectivity in the glomerular basement membrane. Furthermore, the changes of charge selectivity in the glomerular basement membrane may progress in parallel with the exacerbation of diabetic nephropathy.

Key words: Ceruloplasmin, urinary excretion rate, NIDDM, charge selectivity

セルロプラスミン, 尿中排泄率, インスリン非依存型糖尿病, charge selectivity

Reprint requests to: Akio USAMI,
The First Department of Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine,
1-757 Asahimachi-dori, Niigata City,
951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1-757
新潟大学医学部内科学第一講座
宇佐美明男

はじめに

糖尿病性腎症の出現は、臨床的にはアルブミンを含めた尿中の蛋白の出現をもってなされてきた。糖尿病性腎症の病的な状態では、glomerular blood-urine barrierの障害により、蛋白透過性の亢進が起こるとされているが、蛋白漏出の機序としては、1) intraglomerular hydraulic pressureの上昇¹⁾⁻⁴⁾、2) 糸球体基底膜 (GBM)の charge selectivityの障害⁵⁾⁻⁷⁾、3) GBMの pore size selectivityの障害⁸⁾⁹⁾、あるいはそれらの複合などが考えられている。インスリン依存型糖尿病 (IDDM)に関する多くの報告では¹⁾⁻⁷⁾、1)、2)に関する障害が、pore size selectivityの障害に先行するとの結果が示されているが、インスリン非依存型糖尿病 (NIDDM)に関する蛋白漏出の機序と、糖尿病性腎症進展に伴うこれらの変化については、まだ不明の点が多い。

Size selectivity や charge selectivity の障害を調べるために、様々な分子量と等電点 (pI) をもった血漿蛋白の尿中排泄が検討されている。分子量が同じであるが pI の異なる血漿蛋白の尿中排泄の測定により charge selectivity の障害を予測し、pI が同じであるが、分子量の異なる血漿蛋白の尿中排泄を調べることにより、pore size selectivity の障害を推測することが試みられている。

セルロプラスミンは acute phase protein reactant の一つであり¹⁰⁾、その分子量、pI、半減期は、それぞれ 124~134 k dalton、4.4、5~7 日である。セルロプラスミンは、アルブミンの pI (4.4~5.5) と比べるとより陰性に荷電しており、GBM の charge selectivity の障害が顕在化している段階では GBM に存在する生理的な pore (56 Å) を通過して¹¹⁾、尿中への漏出が増加してくると考えられ、尿中セルロプラスミンの測定は、GBM の charge selectivity の障害を示す指標になるのではないかと考えた。

こうした考えに基づき、様々な程度の尿中アルブミン排泄率を示す NIDDM 患者を対象として、尿中セルロプラスミン排泄量の測定を行い、charge selectivity の障害の時期を検討した。

対象と方法

1) 対象：1989年10月~1990年3月までの期間、当科外来通院中であったインスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) 患者 (男性21名：女性26名)、健常者 (男性26名) を対象とした。これらの患者及び健常者に対して、夜間尿を

採取した。採取した尿検体は 4 °C、1500×G で10分間遠沈し、血清とともにその上清を-40°Cにて保存した。当日外来受診時の採血と血圧測定及び、採血後ほぼ1ヶ月の HbA_{1c} を測定した。測定期間中の降圧薬、血糖降下薬、インスリンは継続とした。Radioimmunoassay (RIA) により、尿中アルブミンを測定し、albumin excretion rate (AER) のレベルにより、NIDDM 患者を normoalbuminuria (AER<10 µg/min)、microalbuminuria (AER 10~200 µg/min)、macroalbuminuria (AER≥200 µg/min) の3群に分け、健常者と比較検討を行った。また short duration の症例を除くため、外来患者 176 名の中から眼底検査により網膜症を有している症例47名のみを選択した。心不全、急性及び慢性炎症、悪性腫瘍を有する症例は、可能な限り除外した。(Simple type ; S, pre-proliferative type ; PP, proliferative type ; P)

2) セルロプラスミンの精製と標識：健常者の尿中排泄も定量するために、高い測定感度を有する測定法が必要とされたため、immunoradiometric assay (IRMA 法) を確立し測定を実施した。セルロプラスミンは Human ceruloplasmin (Cosmo Bio Co. Ltd.)、抗ヒト ceruloplasmin 抗体は、goat 抗ヒト ceruloplasmin 抗体 (Cosmo Bio Co. Ltd.) 及び rabbit 抗ヒト ceruloplasmin 抗体 (Dako Co. Ltd.) を用いた。ヒト ceruloplasmin に対する特異的抗体の精製のために、1g の CNBr-activated sepharose-4B (Pharmacia) に 1mg のヒト ceruloplasmin を結合させて sepharose-4B-ceruloplasmin 結合物をつくり、その後抗ヒト ceruloplasmin ウサギ抗体を反応させ、抗体を affinity 精製した。精製後の抗体の蛋白の濃度は Lowry 法によって定量した。これによって得られた抗ヒト ceruloplasmin 抗体は chloramin-T 法 (抗ヒト ceruloplasmin 20 µg, chloramin-T 10 µg, Na¹²⁵I 500 µCi) にて ¹²⁵I 標識を行った後、0.1 M phosphate buffer (pH 7.4, 0.05 % の Tween-20 と 0.3 % の BSA を含む) を溶出 buffer として sephadex G-10 カラムによって標識抗体を分離し、使用した。

3) セルロプラスミンの測定：1,000倍に希釈した goat 抗ヒト ceruloplasmin 抗体を Nunc tube に 0.3ml ずつ加えて、室温で24時間 coating した。その後、washing buffer (pH 7.4, 0.1 M phosphate buffer; 0.05 % の Tween-20 と 0.3 % の BSA を含む) 0.4 ml で3回洗浄し、blocking buffer (pH 7.4, 0.1 M phosphate buffer; 0.45 % の Tween-20 と 0.9 % の BSA を含む) 0.1 ml

を加えた後、0.2 ml の ceruloplasmin standard 及び、0.2 ml の尿サンプル（1:1~1:40に希釈）あるいは血清サンプル（10,000 倍に希釈）を加えて、室温で16時間 incubate した。その後、0.4 ml の washing buffer で3回洗浄し、0.3 ml の標識抗体（washing buffer にて希釈し、100,000 cpm となるように調整）を加え、さらに室温で16時間 incubate した後、0.4 ml の washing buffer で tube を3回洗浄し、 γ カウンターにて測定した。

IRMA 法による尿中セルロプラスミン測定が、セルロプラスミン自体を測定していることの確認として、以下の測定を行った。① 交叉性の検討：他の血漿蛋白（albumin, transferrin, orosomucoid, IgG, IgA, IgM, α_2 macroglobulin）との交叉性をみた。② 尿、血清の希釈：希釈後の検体とセルロプラスミンの測定値との間に直線性関係が認められるか。③ 尿の回収率：尿サンプルに、セルロプラスミンを各 tube あたり、各々 1 ng, 10 ng を加えた後に測定し、回収率をみた。

4) その他の測定：尿中 β_2 microglobulin は RIA 法により、HbA_{1c} は HPLC 法にて測定した（HbA_{1c} の正常上限は 5.4 %）。血圧は尿検体採取当日の外來にて、仰臥位にて測定した。拡張期血圧の測定は Korotokoff's sound の消失（Phase V）にて行った。

5) 統計：各群の有意差の検定は、等分散の F 検定後、Student's t-test あるいは Welch's t-test にて行った。危険率 5 % 以下を有意差ありと判定した。

結 果

IRMA 法によるセルロプラスミンの標準曲線を Fig. 1 に示した。albumin, transferrin, orosomucoid, IgG, IgA, IgM, α_2 macroglobulin との交叉性は認めなかつ

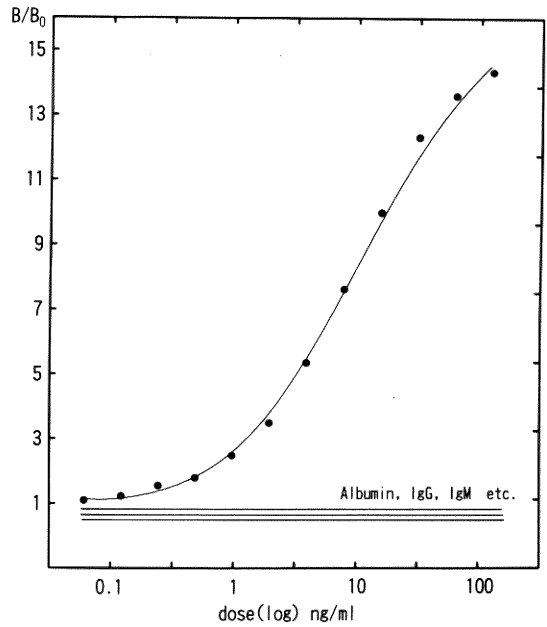


Fig. 1 セルロプラスミンの標準曲線
他の plasma protein との交叉性は認められなかつた（一で示す）。

Table 1 対象の臨床像と測定結果

	健常者	Normoalbuminuria	Microalbuminuria	Macroalbuminuria
N(男性/女性)	26(26/0)	17(5/12)	17(8/9)	13(8/5)
年齢(歳)*	47±5	57±9*	59±10*	56±10*
網膜症(S/PP/P)		8/2/7	9/0/8	0/1/12
BMI(kg/m ²)*	20.6±1.6	22.3±2.0*	22.8±2.3*	23.7±2.3*
HbA _{1c} (%)*	5.1±0.1	6.7±1.0*	8.2±2.0**	7.4±1.3
平均血圧(mmHg)*	86±9*	90±6*	91±5*	102±7**
AER(μ g/min)**	2.1(0.8~6.3)	3.7(1.7~7.6)	30.8(10.5~142.1)	812.1(219.0~1744.9)
s-クレアチニン(mg/dl)*		0.6±0.2*	0.7±0.2*	1.6±1.4**
CER(ng/min)**	0.29(0.11~0.84)	1.18(0.13~19.85)	12.79(1.35~224.45)	557.02(33.79~2719.96)
Ccerulo. (10 ⁻³ ml/min)**	1.9(0.7~3.9) × 10 ⁻³	8.7(2.2~76.3) × 10 ⁻³	4.6(0.79~76.6) × 10 ⁻²	4.1(0.2~10.8)
s-ceruloplasmin(μ g/ml)**	2.5(108.2~183.6)	200.3(105.6~284.4)	200.1(140.1~280.7)	190.6(130.8~248.0)

* : (mean ± SD), ** : 50 percentile (5~95 percentile), * : NS, ** : p < 0.01

Table 2 尿及び血清の希釈検討

		1:4	1:2	1
尿濃度 (ng/ml)	sample 1	5.18	9.76	18.17
	sample 2	2.65	5.23	10.52
	sample 3	20.49	41.66	86.52
	sample 4	15.58	36.47	74.12
	sample 5	9.65	18.17	34.57
		1:40,000	1:20,000	1:10,000
血清濃度 (ng/ml)	sample 1	4.17	9.65	18.12
	sample 2	4.97	9.47	20.65
	sample 3	3.65	8.5	16.08
	sample 4	7.64	14.33	27.62
	sample 5	6.01	11.78	22.94

尿、血清ともに希釈後の検体とセルロプラスミンの測定値には直線性がみられた。

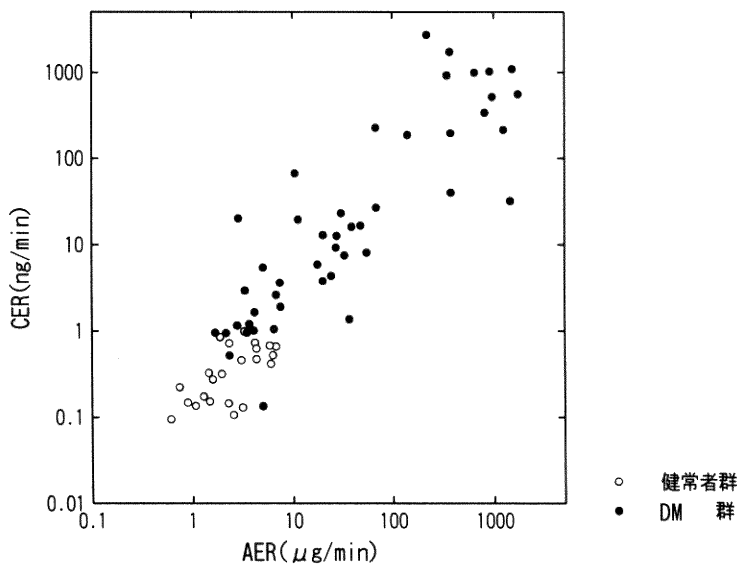


Fig. 2 AER と CER の相関

CER は AER の増加と相関し、相関係数は 0.86 ($p < 0.05$) であった。

た。本 assay 系における intra-assay の coefficient of variation (CV) は 10%, inter-assay の CV は 13%, 最小検出感度は 60 pg/ml であった。尿、血清の希釈には直線性が認められた (Table 2)。尿検体によるセルロプラスミンの回収率は、1 ng, 10 ng を加えた場合、

それぞれ 88%, 85% であった。

尿中セルロプラスミン排泄率 (ceruloplasmin excretion rate: CER) の 50 percentile は、健常者, normoalbuminuria, microalbuminuria, macroalbuminuria 各群でそれぞれ 0.29 ng/min, 1.18 ng/min, 12.79 ng/min,

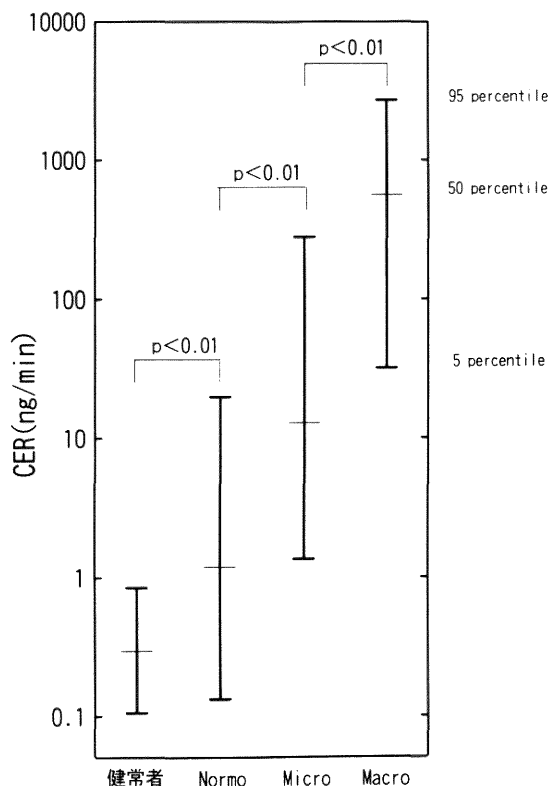


Fig. 3 健常者群および各 NIDDM 患者群の CER
セルロプラスミン排泄率は、健常者群 < normoalbuminuria 群 < microalbuminuria 群 < macroalbuminuria 群、の順に増加した。

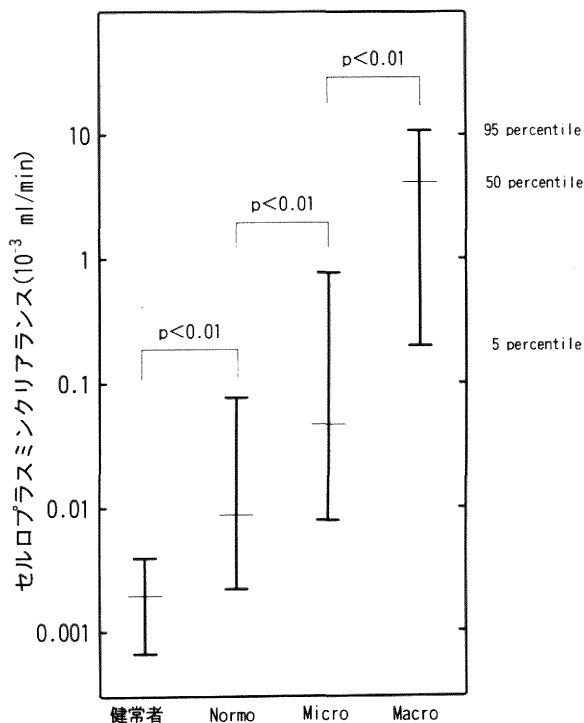


Fig. 4 健常者群および各 NIDDM 患者群の Ceruloplasmin clearance

セルロプラスミンクリアランスは、健常者群 < normoalbuminuria 群 < microalbuminuria 群 < macroalbuminuria 群、の順に高値を示した。

557.02 ng/min であり、各群とも有意な差を認め (Fig. 3), 患者群においては、尿中アルブミン排泄率 (albumin excretion rate: AER) と高い正の相関を示した ($r=0.86$; $p<0.05$) (Fig. 2). セルロプラスミンクリアランス ($C_{cerulo.}$) でも同様な傾向を認め (Fig. 4), 50 percentile はそれぞれ 0.0019, 0.0087, 0.046, 4.1 (10^{-3} ml/min) であり、同様に各群とも有意差を認めた. CER, $C_{cerulo.}$ ともに、normoalbuminuria 群ですでに健常者に比較して高値を示す群が、CER で 65%, $C_{cerulo.}$ では 70% にみられ、micro-, macroalbuminuria 両群では、全例 normoalbuminuria 群の上限を越えていた。

平均血圧は、normo-, microalbuminuria 両群ともに健常者と有意差はなかったが、macroalbuminuria 群では、 102.5 ± 7.9 mmHg (mean \pm SD) と他群に比較して、明らかに高値を示した (Table 1). また、

normoalbuminuria 群においては、健常者の CER の上限を越えた群と越えない群とでは、平均血圧に差は認められなかった。

HbA_{1c} は、microalbuminuria 群で normo-, macroalbuminuria 両群よりも有意に高かった (Table 1). Normoalbuminuria 群で、CER が健常者の上限を上回った群とそうでなかった群とでは HbA_{1c} には差を認めなかった。

血清セルロプラスミン濃度は、健常者に比べて患者群では有意に高かったが、患者群間では差を認めなかった (Fig. 5).

尿中 β_2 microglobulin は、macroalbuminuria 群で高値を示した例があったが、normo-, microalbuminuria 両群ではすべて正常範囲内であり、セルロプラスミン濃度の上昇とは関係がみられなかった。

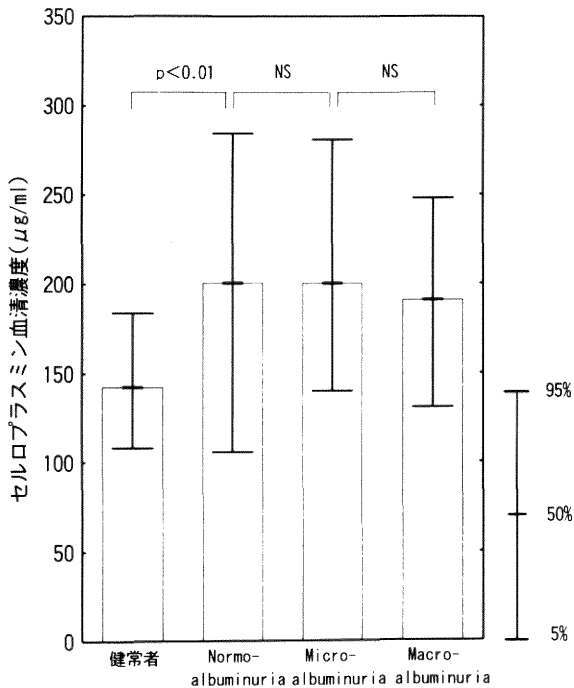


Fig. 5 健常者群および NIDDM 患者群の血清セルロプラスミン

健常者群に比して、NIDDM 患者群では有意に高値を示したが、患者群では、差がなかった。

考 案

尿中セルロプラスミンの測定においては、その測定感度が問題となる。本 assay 系での測定感度は 60 pg/ml であり、健常者においても測定可能であった。また、尿、血清の希釈及び、尿回収試験においても満足する結果が得られ、他の血漿蛋白との交叉性も認めなかったため、十分に測定に耐える assay 系であると考えられる。しかし、尿中セルロプラスミンが、糸球体由来であるのか、尿管由来であるのかについては明らかにできなかった。セルロプラスミンの代謝に関しては、不明な点が多く、これまでに健常者を含めた尿中セルロプラスミンを測定した報告はみられていない。しかし、糸球体由来と考えられる AER と CER には、 $r=0.86$ という高い相関があり、その尿中排泄が尿管障害の指標とされている β_2 microglobulin は、macroalbuminuria 群の一部以外は正常範囲にあり、セルロプラスミン排泄率との間には相関がなかった。こうしたことから尿中セルロ

ラスミンは、糸球体由来と考えるべきであろうと考えた。

CER, C_{cerulo} ともに、normoalbuminuria 群では、健常者よりも有意に高かった。このことは、アルブミンよりも分子量の大きいセルロプラスミンが、糖尿病性腎症の初期より既に尿中に出現していることを意味する。なぜ、分子量 132 k dalton のセルロプラスミンが、分子量 67 k dalton のアルブミンよりも多く、尿中に出現するのであろうか。尿管での蛋白の再吸収は、陰性荷電のより高いものの方が、それよりも陰性荷電の低い蛋白や neutral のものよりも抑えられていることが報告されている¹²⁾¹³⁾。セルロプラスミン ($pI=4.4$) はアルブミン ($pI=4.4\sim 5.5$) よりも強く陰性に荷電しており、尿管から再吸収されにくいことがこの現象をもたらしたと考えられる。

さらに CER, C_{cerulo} ともに normo-, micro-, macroalbuminuria 群と糖尿病性腎症が進展するにしたがって上昇している。これまでに、糖尿病性腎症の蛋白漏出機序については、transglomerular hydraulic pressure の上昇、GBM の charge selectivity の障害、GBM の pore size selectivity の障害などが報告されている。これらのうちのどれが初期糖尿病性腎症で先行するののかについては諸家での報告には違いがあるが、IDDM では、transglomerular hydraulic pressure の上昇^{1)~4)} と charge selectivity の障害^{5)~7)} が先行し、pore size selectivity の障害⁸⁾⁹⁾ は糖尿病性腎症末期に至り出現するという点では一致している。しかし、前者のうちにいずれの変化がより先行するののかについては一致した見解が得られていない。

セルロプラスミンはアルブミンよりも強く陰性に荷電しており、normoalbuminuria 群の 65% は健常者より高い CER を示していた。このことは AER が 0~10 $\mu\text{g}/\text{min}$ の NIDDM 患者の normoalbuminuria 群の一部に、GBM の charge selectivity の障害が存在することを示唆する。さらに normoalbuminuria 群の全例に網膜症を認めており、何らかの網膜症を有する NIDDM 患者では、GBM の charge selectivity の障害が存在することも伺われる。

GBM の charge selectivity の障害を調べる方法として、最近では Selectivity Index ($SI = \text{clearance of IgG} / \text{clearance of IgG}_4$) が導入されている^{14)~16)}。これは、分子径が等しく (Stokes radius: 55 Å), pI が異なる蛋白 ($\text{IgG}=7.4$, $\text{IgG}_4=5.4$) を調べることによって、陰性荷電の蛋白が尿中に早期から出現し得ることをみるものである。SI は有用な指標となり得ると考えら

れるが、健常者の IgG₄ を測定するためにはその測定感度は十分でないことから、一般的な測定となるには問題がある。IgG₄ の測定感度については、Deckert らは 2 ng/ml¹⁷⁾、Parving らは 3 ng/ml¹⁸⁾ と報告しているが、全ての健常者の尿中 IgG₄ を検出するには不十分である。本 assay 系でのセルロプラスミンの測定感度は、60 pg/ml であり、健常者全員の尿中セルロプラスミンを測定することが可能であった。したがって、本 assay 系におけるセルロプラスミンの測定は GBM の charge selectivity の障害の程度をみるのに有用な方法であると考えられる。

Deckert ら¹⁷⁾ は、SI の減少が24時間尿中アルブミン排泄が 30~100 mg の段階から認められることより、charge selectivity の障害が先行することを報告しているが、今回のセルロプラスミンの測定もこれを裏付けている。しかし、Gall らの報告¹⁸⁾ では、NIDDM 患者では、網膜症の有無に関わらず SI の低下はみられなかったと報告している。今回の測定の結果と Gall らの成績の相違は何に起因しているのかは明らかではないが、Gall らの測定では、網膜症の有無に関わらず、患者群では健常者に比べていずれも有意に血圧の上昇を認めたのに対し、本測定では normo-, microalbuminuria 両群ではいずれも健常者と血圧の差がなかったことが原因かも知れない。

分子量 123~134 k dalton の蛋白は、既に生理的に存在する GBM の pore を通過し得るため、transglomerular hydraulic pressure の上昇が CER の増加に影響を及ぼしている可能性がある。しかしながら、健常者、normo-, microalbuminuria 両群ではその平均血圧に差がなく、また健常者よりも高い CER を示した normoalbuminuria 群と、CER において健常者と差がなかった normoalbuminuria 群とでの平均血圧にも差がなかったことから、CER の増加は、transglomerular hydraulic pressure の上昇ではなく、charge selectivity の障害であると考えられる。

normoalbuminuria 群においては、健常者よりも高い CER を示した群とそうでなかった群とでの HbA_{1c} には差がなかったことにより、normoalbuminuria 群での CER の増加は、直接的には高血糖や glycosylated ceruloplasmin によるものではないと考えられる。

健常者の CER を上回る CER を示した normoalbuminuria 群と、健常者と差がない CER を示した normoalbuminuria 群とではどのような違いがあるのか、その臨床的な意義は不明であるが、これがこの両群の予後に関

係する可能性もあり、今後検討していきたいと考える。

血清セルロプラスミンは、NIDDM のすべての群において健常者よりも有意に高かったが、各群間の差は認められなかった。血中セルロプラスミンの濃度の上昇は、妊娠¹⁹⁾、感染症²⁰⁾、慢性関節リウマチ²¹⁾²²⁾、悪性腫瘍²³⁾などで報告されているが、今回の対象からはこれらの状態が考えられる患者は除外した。糖尿病患者で血中セルロプラスミンが上昇していることは、Donald¹⁰⁾ の報告と一致するが、その臨床的意義の詳細は不明であり、今後の検討が待たれる。

本稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました柴田 昭教授、終始ご指導を賜りました伊藤正毅助教授に、深く感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Zatz, R., Meyer, T.W., Rennke, H.G. and Brenner, B.M.: Predominance of hemodynamic rather than metabolic factors in the pathogenesis of diabetic glomerulopathy. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 5963~5967, 1985.
- 2) Viberti, G.C. and Keen, H.: The patterns of proteinuria in diabetes mellitus. Relevance to pathogenesis and prevention of diabetic nephropathy. Diabetes, 33: 686~692, 1984.
- 3) Hostetter, T.H., Rennke, H.G. and Brenner, B.: The case for intrarenal hypertension in the initiation and progression of diabetic and other glomerulopathies. Am. J. Med., 72: 375~380, 1982.
- 4) Anderson, S. and Brenner, B.: Pathogenesis of diabetic glomerulopathy: hemodynamic considerations. Diabetes Metab. Rev., 4: 163~177, 1988.
- 5) Deckert, T., Feldt-Rasmussen, B., Mathiesen, E.R. and Baker, L.: Pathogenesis of incipient nephropathy; a hypothesis. Diabetic Nephropathy, 3: 83~88, 1984.
- 6) Gausch, A., Deen, W.M. and Myers, B.D.: Charge selectivity of the glomerular filtration barrier in healthy and nephrotic humans. J. Clin. Invest., 92: 2774~2282, 1993.
- 7) Nakamura, Y. and Myers, B.D.: Charge selectivity of proteinuria in diabetic glomerulopa-

- thy. *Diabetes*, **37**: 1202~1211, 1988.
- 8) **Winetz, J.A., Goldbets, H.V., Spencer, R.J., Lee, J.A. and Myers, B.D.**: Glomerular function in advanced human diabetic nephropathy. *Kidney Int.*, **21**: 750~756, 1982.
 - 9) **Myers, B.D., Wintz, J.A., Chui, F. and Michales, A.S.**: Mechanism of proteinuria in diabetic nephropathy; A study of glomerular barrier function. *Kidney Int.*, **21**: 633~641, 1982.
 - 10) **Donald, E.M.**: Increased levels of acute-phase serum proteins in diabetes. *Metabolism*, **38**: 1042~1046, 1989.
 - 11) **Deen, W.M., Bridges, C.R., Brenner, B.M. and Myers, B.D.**: Heteroporous model of glomerular size selectivity; application to normal and nephrotic humans. *Am. J. Physiol.*, **249**: F374~389, 1985.
 - 12) **Christensen, E.I., Rennke, H.G. and Carone, F.A.**: Renal tubular uptake of protein: effect of molecular charge. *Am. J. Physiol.*, **244**: F436~F441, 1983.
 - 13) **Christensen, E.I., Carone, F.A., Rennke, H.G.**: Effect of molecular charge on endocytic uptake of ferritin in renal proximal tubule cells. *Lab. Invest.*, **44**: 351~358, 1981.
 - 14) **Gambardell, S., Morano, S., Cancelli, A., et al.**: Urinary IgG₄: An additional parameter in characterizing patients with incipient diabetic nephropathy. *Diabetic Res.*, **10**: 153~157, 1987.
 - 15) **Morano, S., Cancelli, A., Mancuso, M., et al.**: Sensitive immunoenzymatic assay for urinary immunoglobulin subclasses of different pH: It's significance in diabaetic patients. *Diabetic Res.*, **10**: 153~157, 1989.
 - 16) **Mario, U.D., Morano, S., Cancelli, A., et al.**: New parameters to monitor the progression of diabetic nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.*, **13**: 45~48, 1989.
 - 17) **Deckert, T., Kofoed-Enevoldsen, Vidal, P., Norgaard, K., Andreassen, H.B. and Feldt-Rasmussen.**: Size- and charge selectivity of glomerular filtration in Type 1 (insulin-dependent) diabaetic patients with and without albuminuria. *Diabetologia*, **36**: 244~251, 1993.
 - 18) **Gall, M.A., Possing, P., Kofoed-Enevoldsen, Nielsen, and Parving, H.H.**: Glomerular size- and charge selectivity in Type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetologia*, **37**: 195~201, 1994.
 - 19) **Disilvestro, R.A.**: Plasma levels of immunoreactive ceruloplasmin and other acute proteins during lactation. *Proc. Soc. Exep. Biol. Med.*, **183**: 257~261, 1986.
 - 20) **Emmett, M., Miller, J.L. and Crowle, A.J.**: Protein abnormalities in adult respiratory distress syndrome, tuberculosis, and cystic fibrosis sera. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **109(6)**: 631~636, 1987.
 - 21) **Surrall, K.E., Bird, H.A. and Dixon, J.S.**: Caeruloplasmin, prealbumin and alpha 2-macroglobulin as potential indices of disease activity in defferent arthritides. *Clin. Rheumatol.*, **6(1)**: 64~69, 1987.
 - 22) **Dixon, J.S., Greenwood, M. and Lowe, J.R.**: Caeruloplasmin concentration and oxidase activity in polyarthritis. *Rheumatol. Int.*, **8(1)**: 11~14, 1988.
 - 23) **Margerison, A.C.F. and Mann, J.R.**: Serum copper, serum ceruloplasmin, and erythrocyte sedimentation rate measurements in children with Hodgkin's disease, non-Hodgkin's lymphoma, and nonmalignant lymphadenopathy. *Cancer*, **55**: 1501~1506, 1984.

(平成6年8月2日受付)