



Title	飲酒による高比重リポ蛋白(HDL)：コレステロール増加機序の検討：アルコールによるコレステリルエステル転送蛋白活性の抑制
Author(s)	平野, 賢一
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3058281
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

主論文

①

飲酒による高比重リポ蛋白（HDL）-コレ
ステロール増加機序の検討
- アルコールによるコレステリルエステル転
送蛋白活性の抑制 -

Marked Reduction of Cholesteryl Ester
Transfer Protein Activity and Hyperalph-
alipoproteinemia with Polydisperse Low
Density Lipoprotein in Chronic Alcohol
Drinkers

大阪大学医学部第二内科学教室

Second Department of Internal Medicine,

Osaka University Medical School

平野 賢一

Hirano Ken-ichi

Key words

Alcohol

High density lipoprotein

Low density lipoprotein

Cholesteryl ester transfer protein

緒 言

多数の疫学的研究により、高比重リポ蛋白 (HDL) が、動脈硬化を防御する可能性が推察されている。¹⁾ HDLの動脈硬化防御機序は必ずしも明らかにされていないが、HDLがコレステロールを末梢組織からくみ出し、肝臓へと輸送する、いわゆるコレステロール逆転送系において主要な役割をなしていることが知られており、この系が組織における脂質蓄積を防御しているものと考えられる。一方、HDL上昇を来す因子として慢性的アルコール摂取はよく知られており²⁾、その機序としてこれまで肝臓でのHDLの合成亢進³⁾ やリパーゼの関与⁴⁾ などが推察されてきたが、その詳細は明かではなく、またこのHDL増加の動脈硬化防御機構としてのコレステロール逆転送系における意義については検討されていない。

コレステリルエステル転送蛋白 (CETP) は、HDLからコレステロールを TRIGLYCE-

RIDE-RICH リポ蛋白に転送する特異な蛋白⁵⁾で、近年当教室をはじめわが国において原発性高HDL血症の中からCETP欠損症が発見され⁶⁾、その遺伝子異常も一部が明らかにされた。^{7) 8)}当教室の研究によりCETP欠損症では、HDL-Cの著明な上昇のみならず動脈硬化惹起リポ蛋白である低比重リポ蛋白(LDL)の質的異常が存在すること^{9) 10)}が見いだされ、このことからCETPはHDL代謝のみならずリポ蛋白代謝全体において多彩な役割を果たしていることが推察されている。

本研究では、高HDL血症をきたした飲酒家のリポ蛋白代謝異常をコレステロール逆転送系との関連において分析し、アルコール摂取によるHDL-Cコレステロール上昇機序を明らかにするとともに、動脈硬化発症における意義を考察する。

方 法

対 象 は、高 H D L 血 症 (H D L - C 100 mg/dl 以 上) を 呈 し た 20 年 以 上 の 飲 酒 歴 (エ タ ノ ー ル に 換 算 し、80 g / 日 以 上) の あ る 男 性 5 例 (年 齢 42 - 67 才)。数 例 に お い て、ト ラ ン ス ア ミ ナ ー ゼ や γ G T P の 軽 度 高 値 を 認 め た が、胆 汁 う っ 滞 や 肝 生 検 所 見 の 検 討 で 肝 硬 変 の 所 見 は 認 め な か っ た。症 例 1 を 除 い て す べ て 外 来 患 者 で、抗 脂 血 剤 の 投 与 を う け た 例 は い な か っ た。全 例、1、2 回 の 前 採 血 の あ と 禁 酒 を 指 示 し、禁 酒 後 一 ヶ 月 で 採 血 し こ れ ら の 標 本 に つ い て 以 下 の 検 討 を 行 っ た。ま た、症 例 1 で は 飲 酒 を 再 開 し た 後 に も 分 析 し た。

血 清 脂 質 は、酵 素 法。H D L - C は、ヘ パ リ ン カ ル シ ウ ム 沈 澱 法。ア ポ 蛋 白 は、一 元 免 疫 拡 散 法。蛋 白 定 量 は L O W R Y 法。リ ポ 蛋 白 は、分 離 超 遠 心 法 及 び、nondenaturing polyacrylamide gradient gel 電 気 泳 動 法 (G G E)。
¹¹⁾ C E T P 活 性 の 測 定 ¹²⁾ は、コ レ ス テ リ ル

エステル部分を ^{14}C でラベルしたHDL₃をドナー、比重 1.063 g/ml 以下のリポ蛋白分画をアクセプターとし、血清 $10\text{ }\mu\text{l}$ を加え、 37°C で18時間インキュベーションし、ドナーの放射活性の減少率から、転送活性を求めるAlbersらの方法、LP L, HTGL活性は野崎らの方法¹³⁾により行った。

結 果

Table 1 に症例の血清脂質、アポ蛋白値を示す。総コレステロールは、 $170-291 \text{ mg/dl}$ 。HDL-C は、 $103-184 \text{ mg/dl}$ と著明に上昇していた。アポ蛋白では、アポA-I、A-II、C-IIが増加していた。また、症例1では、胸部から腹部大動脈にかけて、著しい石灰化像、症例2及び5では角膜輪を認めた。

超遠心法により分離した各リポ蛋白分画のコレステロール、トリグリセリド値をみると、TABLE 2 に示すように、全ての症例でHDL₂分画のコレステロールが著明に高値を示し、HDL₃分画は正常と変わらなかった。

FIGURE 1 に、LDL分画の2-16% POLY-ACRYLAMIDE GRADIENT GEL ELECTROPHORESIS像を示す。症例1、2、3では、直径230Åから290Åにかけて数本のバンドが見られ、著しいpolydispersityを認めた。症例4と5では、LDLは単一のバンドからなっていた。

また、図には示さないが H D L は全例においてその粒子径は拡大していた。

FIGURE 2 に C E T P 活性を示す。L D L が、polydispersity を示した症例 1、2、3 で C E T P 活性は正常者の約 20% 程度に著明に減少していた。L D L が均一であった残りの 2 例では C E T P 活性は正常の約 2 分の 1 であった。

TABLE 3 に、リパーゼ活性を示す。症例 1 と 5 で、H T G L 活性が低下し、症例 2 と 4 で、L P L 活性が増加していた。

FIGURE 3 に一ヶ月間の禁酒が可能であった症例の禁酒前後での C E T P 活性及び H D L - C を示す。全例において禁酒後、C E T P 活性は上昇、H D L - C は低下した。

FIGURE 4 に症例 1 の L D L の G G E 像の変化を示す。禁酒により C E T P 活性は増加、H D L - C は減少、L D L は均一化した。飲酒を再開すると C E T P 活性が再び低下するとともに H D L - C は増加し L D L は

polydispersity を示した。

コレステロール、HDL からアポB含有リポタンパク質へコレステロールを移動、逆にアポB含有リポタンパク質からHDLへトリグリセリドを移動する相反な反応である。近年の報告においてHDL生成の中からCEIとPCEIの生成が見られたこと、HDL-Cの測定因子の一つとして脂質であることが報告されているが、アポB-100濃度によるHDL-Cの上昇とCEIとPCEIとの関係についていまだ報告をみない。本研究により、アポB-100濃度によるHDL-Cの上昇はCEIとPCEIの濃度が関与していることが、はじめに明らかとなった。また、先天性のCEIとPCEI欠損症で観察されるHDL-Cの上昇のみならず、コレステロールに乏しいpolydispersityを示すLDLが出現することが、当教室の報告によって明らかにされており、CEIとPCEIはHDLを代謝だけでなくLDL代謝、特にLDLの均一化においても重要であると考えられている。本研究に

考 察

C E T P は、H D L から アポ B 含有リポ蛋白へコレステリルエステルを、逆にアポ B 含有リポ蛋白から H D L へトリグリセリドを転送する特異な蛋白である。近年わが国において高 H D L 血症の中から C E T P 欠損症が発見されたことから、H D L - C の規定因子の一つとして重要であることが推察されているが、アルコール摂取による H D L - C の上昇と C E T P との関連についてはいまだ報告をみない。本研究により、アルコール摂取による H D L - C の上昇に C E T P 活性の低下が関与していることが、はじめて明かとなった。また、先天性の C E T P 欠損症では著しい H D L - C の上昇のみならず、コレステロールに乏しく polydispersity を示す L D L が出現することが、当教室の報告によって明らかにされており、C E T P は H D L 代謝だけでなく L D L 代謝、特に L D L の均一化においても重要であると考えられている。本研究に

において、アルコールにより C E T P 活性の著明に低下した例で、C E T P 欠損症と同様著明な H D L - C の上昇と L D L の polydispersity が認められ、禁酒後 C E T P 活性の上昇により L D L が正常化したことから、同一個体においても C E T P が H D L - C のレベルや L D L の成熟に大きく関与していることが確認された。当教室の検討から、C E T P 活性が正常の約 2 分の 1 である C E T P 欠損症のヘテロ接合体では、L D L の polydispersity は認められないことから、L D L の均一化には正常者の約半分の C E T P 活性で充分であることも推察される。

リポ蛋白リパーゼ (L P L) や肝性トリグリセリドリパーゼ (H T G L) は、H D L₂ から H D L₃ の変換に関与すると考えられており¹⁴⁾、これまでもアルコールとリパーゼの関与については多くの報告がみられる¹⁵⁾。本研究でもリパーゼ活性異常は認められ、少なくとも L P L 活性の上昇と H T G L 活性の低下

は検討した症例で見られたHDL-Cの上昇にある程度は関与していると考えられる。しかし、H T G Lが著明に低値でC E T P活性は正常の約半分であった症例5においてLDLの異常は認められなかったことから、polydisperse化したLDLの出現にはC E T P活性の著明な低下が強く関与していると考えられる。

アルコールによるC E T P活性低下のメカニズムは明かではない。C E T P蛋白合成阻害の可能性が推察され今後の検討が必要である。C E T P阻害蛋白存在の可能性¹⁶⁾も推察されるが、少なくとも従来から報告されているC E T P inhibitorの存在は否定的である。なお症例1-3が、症例4、5と異なりC E T P欠損症ホモ接合体に近い活性低下を示したことは、これらの症例でC E T P遺伝子異常を合併している可能性も否定できない。

HDLの動脈硬化防御機構として、末梢組織からコレステロールをくみ出し、肝臓へと

輸送するコレステロール逆転送系が最も重要で、この経路においては先に述べたCETPやリパーゼなどが複雑に関与していると考えられる。今回検討した症例において角膜輪などの脂質蓄積症状が存在したこと生化学的検討によりCETP活性低下やリパーゼ活性異常、LDL粒子の質的異常が認められたことから、アルコールはコレステロール逆転送系を障害する可能性が推察される。当教室において若年性角膜混濁や狭心症を合併した高HDL血症が報告されたこと¹⁷⁾、CETP欠損症及び本研究で示した如くアルコールによる二次性CETP活性低下状態においても動脈硬化惹起リポ蛋白であるLDLの異常が認められたことから高HDL血症はコレステロール逆転送系の異常であり必ずしも好ましい変化とは言えないと考えられる。

総 括

- 1) 全 例 に お い て C E T P 活 性 は 低 下 し て い
た。
- 2) 1 例 で 大 動 脈 壁 の 著 明 な 石 灰 化、 2 例 に
お い て 角 膜 輪 を 認 め た。
- 3) C E T P 活 性 が 著 明 に 低 下 し た 例 で は、
C E T P 欠 損 症 と 同 様 L D L の polydisp-
ersity が 認 め ら れ た。
- 4) 禁 酒 に よ り、 C E T P 活 性 は 上 昇 し、 そ
れ に 伴 い H D L - C は 減 少、 L D L 粒 子 も
正 常 化 し た。

以 上 よ り、 ア ル コ ー ル に よ る H D L - C の
上 昇 に C E T P 活 性 の 低 下 が 関 与 す る こ と が
明 か と な っ た。 ま た、 脂 質 蓄 積 症 状 や L D L
の 質 的 異 常 が 認 め ら れ た こ と か ら、 ア ル コ ー
ル に よ る H D L - C の 上 昇 は、 必 ず し も 好 ま
し い 変 化 で は な い と 考 え ら れ る。

謝 辞

稿を終えるに当たり、大阪大学医学部第2
内科 垂井 清一郎教授に深く感謝致します。
また、直接ご指導頂いた大阪大学医学部第2
内科 松沢 佑次講師に感謝致します。

Table 1
Serum lipids and apolipoproteins in subjects.

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5	Control**
Age	67	53	42	42	55	42±15
Sex	M	M	M	M	M	M
T. chol. *	194	254	291	249	170	170±17
HDL-chol. *	115	123	184	135	103	52±11
TG*	81	127	136	53	99	88±29
Apo A-I*	189	226	300	242	202	134±16
Apo A-II*	36	45	57	45	43	33±4
Apo B*	94	95	61	98	62	83±16
Apo C-II*	7.0	17.2	5.9	6.5	2.6	3.0±1.0
Apo C-III*	14.0	21.8	22.6	16.2	8.3	6.8±0.9
Apo E*	18.1	5.2	5.3	7.0	3.7	3.5±0.9

* mg/dl ** Mean±S.D.

Table 2
Concentrations of cholesterol and triglyceride
in lipoprotein fractions

Cholesterol*	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5	Control**
VLDL	7.3	14.2	21.2	7.3	2.0	10 ± 4
IDL	6.1	3.4	4.6	4.8	2.7	6 ± 2
LDL	100.4	119.6	68.4	77.1	50.4	102 ± 22
HDL ₂	79.6	90.3	145.5	51.3	75.9	33 ± 11
HDL ₃	21.7	31.6	26.9	32.3	21.4	24 ± 5
Triglyceride*	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5	Control**
VLDL	21.7	61.5	71.9	51.1	15.0	42 ± 21
IDL	10.2	7.2	5.2	5.5	3.2	7 ± 3
LDL	22.2	20.6	13.5	12.2	11.9	16 ± 4
HDL ₂	11.2	13.9	17.7	7.2	14.4	10 ± 6
HDL ₃	5.5	11.9	5.5	9.5	6.4	3 ± 2

* mg/dl ** Mean ± S. D.

Table 3

Postheparin lipolytic activities

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5	Control**
LPL*	9.1	16.8	10.0	18.8	12.4	9.4 ± 2.3
HTGL*	6.8	18.1	26.1	10.5	3.6	20.1 ± 10.4

* micromolar of FFA/ml/hr ** Mean ± S.D

Case 1 Case 2 Case 3 Case 4 Case 5 Control CETP Deficiency

Figure 1

3-15% polyacrylamide gradient gel electrophoretic patterns of LDL fraction in subjects.

Ultracentrifugally separated low density lipoprotein fraction was run on 3-15% polyacrylamide gradient gel electrophoresis.

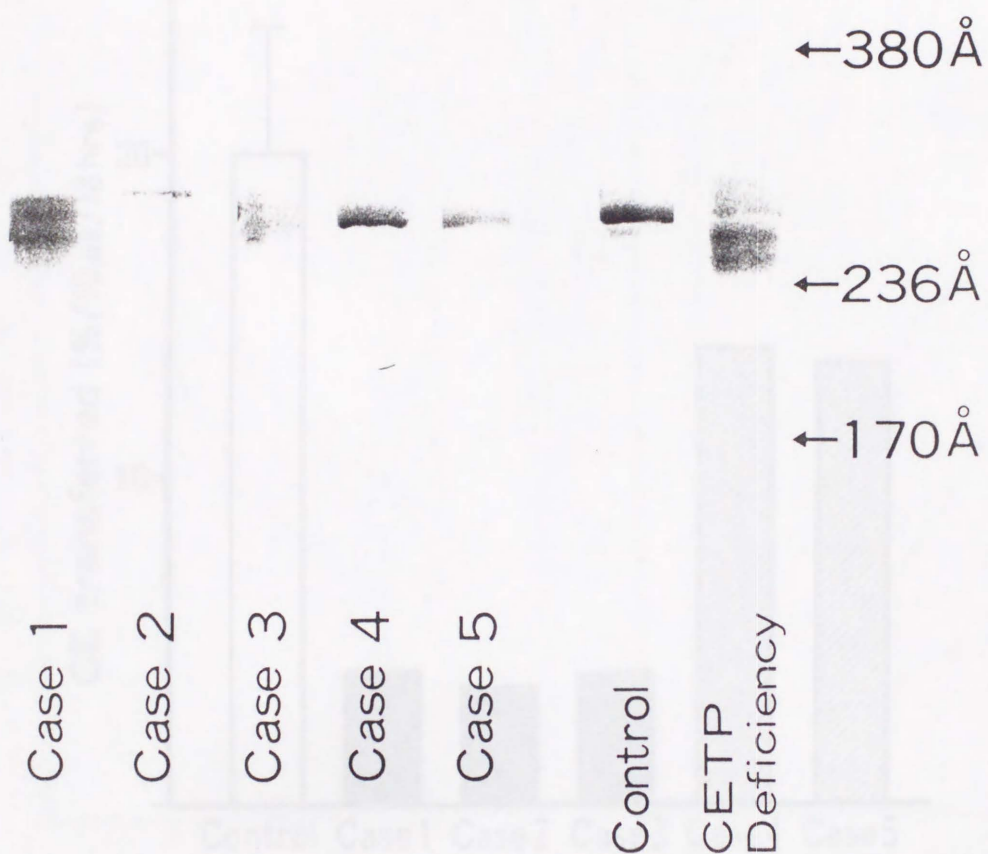


Figure 1
 2-16% polyacrylamide gradient gel electrophoretic patterns
 of LDL fraction in subjects.
 Ultracentrifugally separated low density lipoprotein
 fraction was run on 2-16% polyacrylamide gradient gel
 electrophoresis.

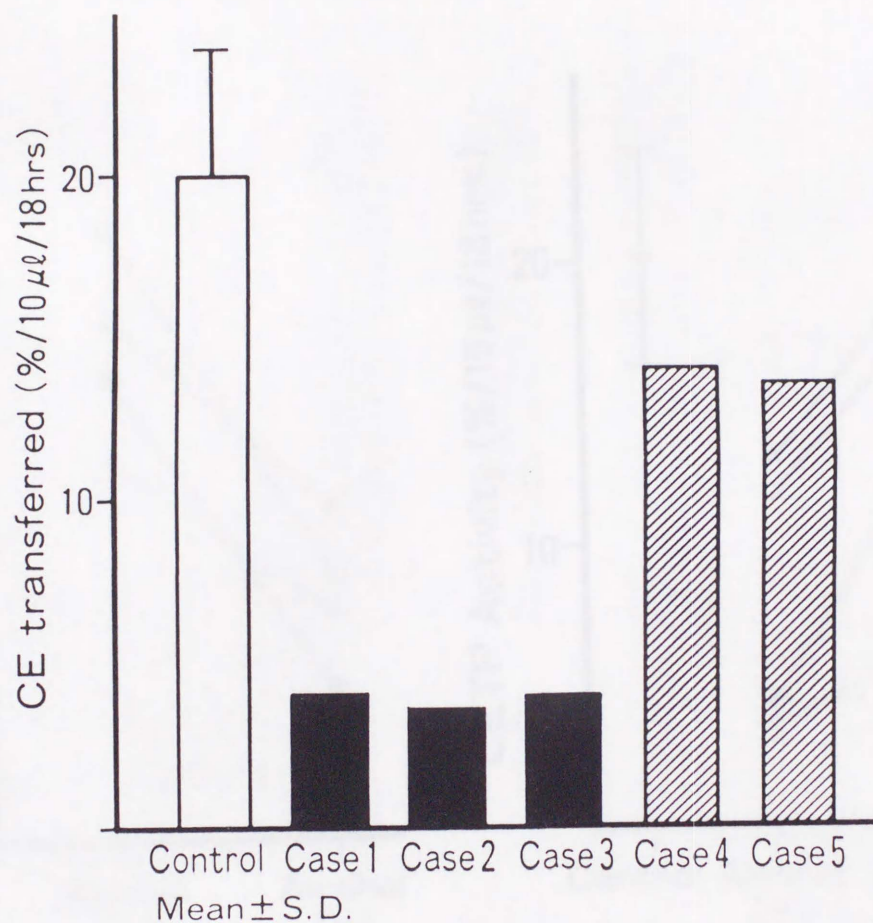


Figure 2
Cholesteryl ester transfer protein activity in subjects.
S.D. = standard deviation.

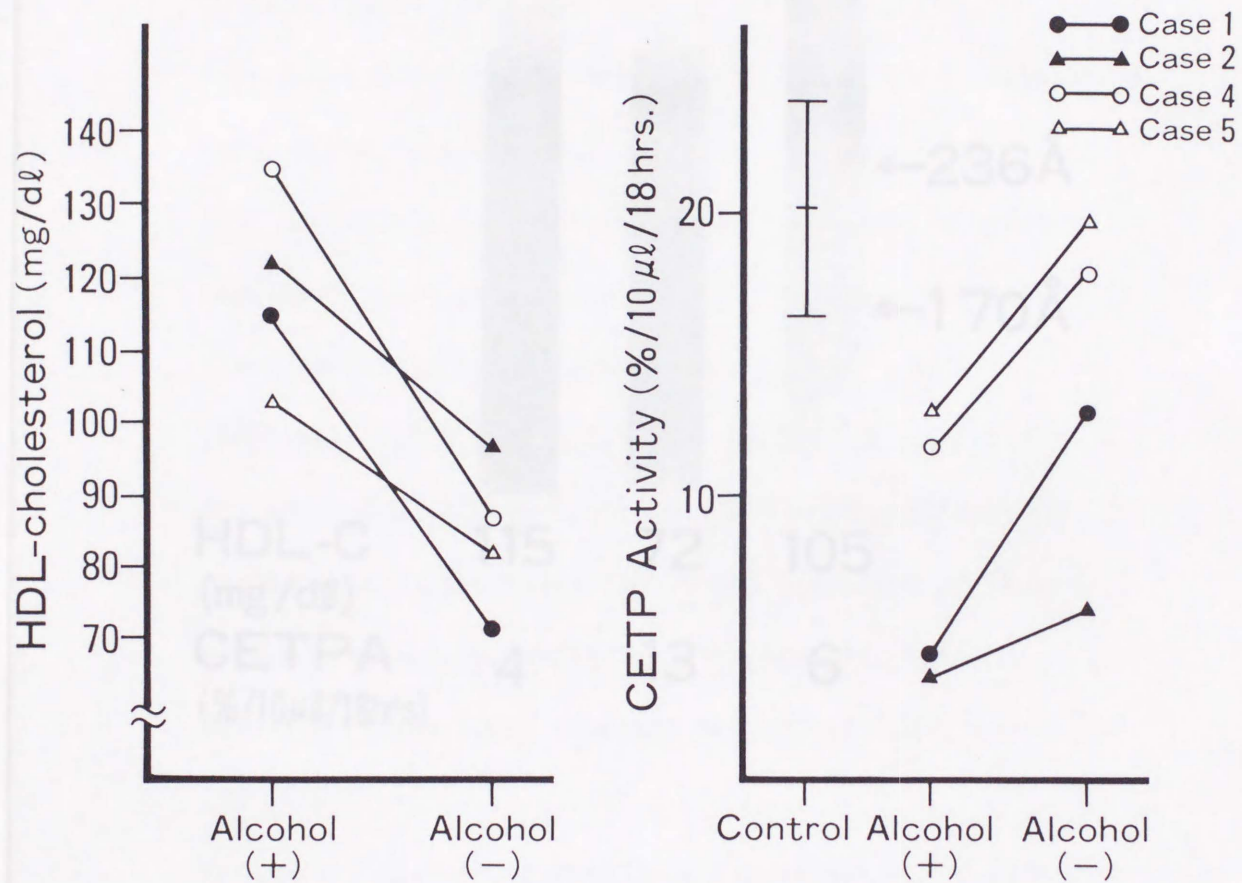


Figure 3
Effect of one-month's abstinence on HDL-cholesterol(right panel) and CETP activities (left panel).

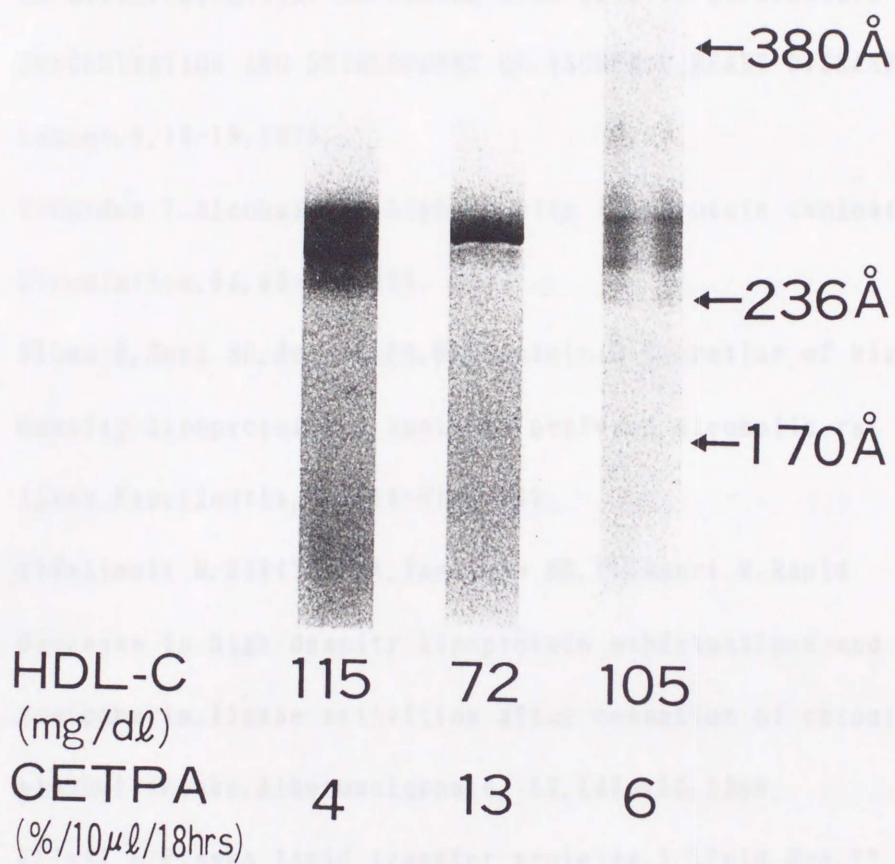


Figure 4

Changes in 2-16% polyacrylamide gradient gel electrophoretic patterns of LDL fraction in Case 1.

lane 1; sample obtained during drinking alcohol

lane 2; sample obtained after one-month's abstinence.

lane 3; sample obtained when resuming alcohol.

文献

- 1) Miller GJ, Miller NE. PLASMA HIGH DENSITY LIPOPROTEIN CONCENTRATION AND DEVELOPMENT OF ISCHEMIC HEART DISEASE. Lancet, 1, 16-19, 1975.
- 2) Gordon T. Alcohol and high density lipoprotein cholesterol. Circulation, 64, 63-70, 1981.
- 3) Lee H, Noel SP, Hosein EA, Rubinstein D. Secretion of high density lipoprotein by isolated perfused alcoholic rat liver. Experientia, 38, 914-915, 1982.
- 4) Valimaki M, Nikilla EA, Taskinen MR, Ylikahri R. Rapid decrease in high density lipoprotein subfractions and postheparin lipase activities after cessation of chronic alcohol intake. Atherosclerosis, 59, 147-153, 1986.
- 5) Tall A. Plasma lipid transfer proteins. J Lipid Res, 27, 359-365, 1986.
- 6) Koizumi J, Mabuchi H, Yoshimura A, Michishita I, Takeda M, Itoh H, Sakai T, Ueda K, Takeda R. Deficiency of serum cholesteryl ester transfer activity in patients with familial hyperalphalipoproteinemia. Atherosclerosis, 58, 175-186, 1985.
- 7) Brown ML, Inazu A, Hesler CB, Agellon LB, Mann A, Whitlock ME,

Marcel RW, Koizumi J, Mabuchi H, Takeda R, Tall AR. Molecular basis of lipid transfer protein deficiency in a family with increased high density lipoproteins. *Nature*, 342, 448-451, 1989.

8) Yamashita S, Hui DY, Sprecher DL, Matsuzawa Y, Sakai N, Tarui S, Kaplan D, Wetterau JR, Harmony JA. Total deficiency of plasma cholesteryl ester transfer protein in subjects homozygous and heterozygous for the intron 14 splicing defect. *Biochem Biophys Res Commun*, 170, 1346-1351, 1990.

9) Yamashita S, Matsuzawa Y, Okazaki M, Kako H, Yasugi T, Akioka H, Hirano K, Tarui S. Small and polydisperse low density lipoproteins in familial hyperalphalipoproteinemia with complete deficiency of cholesteryl ester transfer activity. *Atherosclerosis*, 70, 7-12, 1988.

10) Sakai N, Matsuzawa Y, Hirano K, Yamashita S, Nozaki S, Ueyama Y, Kubo M, Tarui S. Detection of two species of low density lipoprotein particles in patients with cholesteryl ester transfer protein deficiency. *Arteriosclerosis*. In press.

11) Nichols AV, Krauss RM, Musliner TA. Non-denaturing polyacrylamide gradient electrophoresis. *Method In Enzym*, 158,

417-431, 1986.

12) Albers JJ, Tollefson JH, Chen CH, Steinmetz A. Isolation and characterization of human plasma lipid transfer proteins. *Arteriosclerosis*. 4, 49-58, 1984.

13) Nozaki S, Kubo M, Matsuzawa Y, Tarui S. Sensitive nonradioisotopic method for measuring lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase in postheparin plasma. *Clin Chem*, 30, 748-751, 1984.

14) Deckelbaum RJ, Eisenberg S, Oschry Y, Granot E, Sharon I, Bengtsson-Olivecrona G. Conversion of human plasma high density lipoprotein-2 to high density lipoprotein-3. *J Biol Chem*, 261, 5201-5208, 1986.

15) Hatung GH, Foreyt JP, Reeves RS, Krock LP, Patsch W, Patsch JR, Gotto AM. Effects of alcohol dose on plasma lipoprotein subfractions and lipolytic enzyme activity in active and inactive men. *Metabolism*, 39, 81-86, 1990.

16) Morton RE, Zilversmit DB. A plasma inhibitor of triglyceride and cholesteryl ester transfer activities. *J Biol Chem*. 256, 11992-11995, 1981.

17) Matsuzawa Y, Yamashita S, Kameda K, Kubo M, Tarui S, Hara I.

Marked hyper-HDL2-cholesterolemia associated with premature
corneal opacity. Atherosclerosis. 53, 207-212, 1984.

抄 録

アルコール摂取により高比重リポ蛋白 (HDL) - コレステロールの上昇を来すことはよく知られているが、その機序の詳細は明かではない。本研究は、飲酒家にみられた高HDL血症のリポ蛋白分析を行った。対象は、年齢42才から67才の男性5例。血清総コレステロールは171-291mg/dl、HDL-Cは103-184mg/dl。2例に角膜輪を認めた。コレステリルエステル転送蛋白 (CETP) 活性は全例で低下していた。CETP活性が著明に低下した例では、CETP欠損症と同様、LDLの polydispersity が認められた。1ヶ月間の禁酒により、CETP活性は増加しLDL粒子も正常化した。以上より、アルコール摂取はCETP活性を低下させ、コレステロール逆転送系を障害する可能性が推察された。

Abstract

High density lipoprotein (HDL) has been speculated to play an anti-atherogenic role in reverse cholesterol transport system, in which cholesterol is delivered from peripheral tissues to liver. Alcohol intake is well known to raise the serum level of HDL-cholesterol. The mechanism underlying this increase is fully understood, some investigators have suggested the possible roles of triglyceride-rich lipoproteins and of the abnormal lipases activity. In order to elucidate the mechanism for this increase, we studied the lipoprotein metabolism in five male chronic alcohol drinkers with marked hyperalphalipoproteinemia. Their serum HDL-cholesterol levels ranged from 103 to 184 mg/dl and their serum levels of apolipoprotein A-I, A-II and C-II were elevated. The activity of cholesteryl ester transfer protein (CETP) was reduced in all subjects. Especially in three of them (Case 1-3) this activity was less than one-fifth the control value. The analysis of low density lipoprotein (LDL) on 2-16% polyacrylamide gradient gel electrophoresis revealed

polydisperse LDLs in these three patients, similar to that of the genetically CETP-deficient patients described previously. The polydisperse LDL became homogeneous concomitant with elevation of CETP to about 60% of the control value after one-month's abstinence in a patient (Case 1). Polydisperse LDL was not observed in two other subjects (Case 4 and 5) with one-half the normal CETP activity. These observations shows that the chronic alcohol intake may reduce CETP activity which is one cause of hyperalphalipoproteinemia in alcohol drinkers. This study also confirms that CETP plays an important role in the formation of normal homogeneous LDL.

polydipsic LBLs in these three patients, similar to that
of the genetically CYP-deficient patients described
previously. The polydipsic LBL because homozygous
concomitant with elevation of CYP is about 10% of the
control value after one-month's abstinence in a patient
(Case 1). Polydipsic LBL was not observed in two other
patients (Cases 4 and 5) with one-half the normal CYP
activity. These observations show that the chronic alcohol
intake may reduce CYP activity which is one cause of
hypothalamic-pituitary dysfunction in alcohol drinkers. This study
also confirms that CYP plays an important role in the
formation of normal homozygous LBL.