The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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 Hyperalphalipoproteinemia 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－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ＨＤＬ血症（ＨＤＬ－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、８０ｇ／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γＧＴＰ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。ＨＤＬ－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LOWRY法。リポ蛋白は、分離超遠心法及び、nondenaturing polyacrylamide gradient gel 電気泳動法（ＧＧＥ）。[11]ＣＥＴＰ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HDL_3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10μlを加え、37℃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、LPL, 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 mg/dl。HDL－Cは、103-184 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HDL$_2$分画のコレステロールが著明に高値を示し、HDL$_3$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230Aから290A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ＨＤＬは全例においてその粒子径は拡大していた。

ＦＩＧＵＲＥ ２にＣＥＴＰ活性を示す。ＬＤＬが、polydispersity を示した症例１、２、３でＣＥＴＰ活性は正常者の約２０％程度に著明に減少していた。ＬＤＬが均一であった残りの２例ではＣＥＴＰ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、ＨＴＧＬ活性が低下し、症例２と４で、ＬＰＬ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ＣＥＴＰ活性及びＨＤＬ－Ｃを示す。全例において禁酒後、ＣＥＴＰ活性は上昇、ＨＤＬ－Ｃは低下した。

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

polydispersity を示した。

考察

ＣＥＴＰは、ＨＤＬ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ＨＤＬ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ＨＤＬ血症の中からＣＥＴＰ欠損症が発見されたことから、ＨＤＬ－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ＨＤＬ－Ｃの上昇とＣＥＴＰ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ＨＤＬ－Ｃの上昇にＣＥＴＰ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ＣＥＴＰ欠損症では著しいＨＤＬ－Ｃの上昇のみならず、コレステロールに乏しく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、ＣＥＴＰはＨＤＬ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

おいて、アルコールによりＣＥＴＰ活性の著明に低下した例で、ＣＥＴＰ欠損症と同様著明なＨＤＬ－Ｃの上昇とＬＤＬの polydispersity が認められ、禁酒後ＣＥＴＰ活性の上昇によりＬＤＬが正常化したことから、同一個体においてもＣＥＴＰがＨＤＬ－ＣのレベルやＬＤＬ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、ＣＥＴＰ活性が正常の約２分の１であるＣＥＴＰ欠損症のヘテロ接合体では、ＬＤＬの polydispersity は認められないことから、ＬＤＬの均一化には正常者の約半分のＣＥＴＰ活性で充分であることも推察される。

リポ蛋白リパーゼ（ＬＰＬ）や肝性トリグリセリドリパーゼ（ＨＴＧＬ）は、HDL_2からHDL_3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ＬＰＬ活性の上昇とＨＴＧＬ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、ＨＴＧＬが著明に低値でＣＥＴＰ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ＣＥＴＰ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ＣＥＴＰ活性低下のメカニズムは明かではない。ＣＥＴＰ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。ＣＥＴＰ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ＣＥＴＰ 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ＣＥＴＰ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ＣＥＴＰ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ＣＥＴＰ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）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。

4）禁酒により、ＣＥＴＰ活性は上昇し、それに伴いＨＤＬ－Ｃは減少、ＬＤＬ粒子も正常化した。

以上より、アルコールによるＨＤＬ－Ｃの上昇にＣＥＴＰ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ＬＤＬの質的異常が認められたことから、アルコールによるＨＤＬ－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

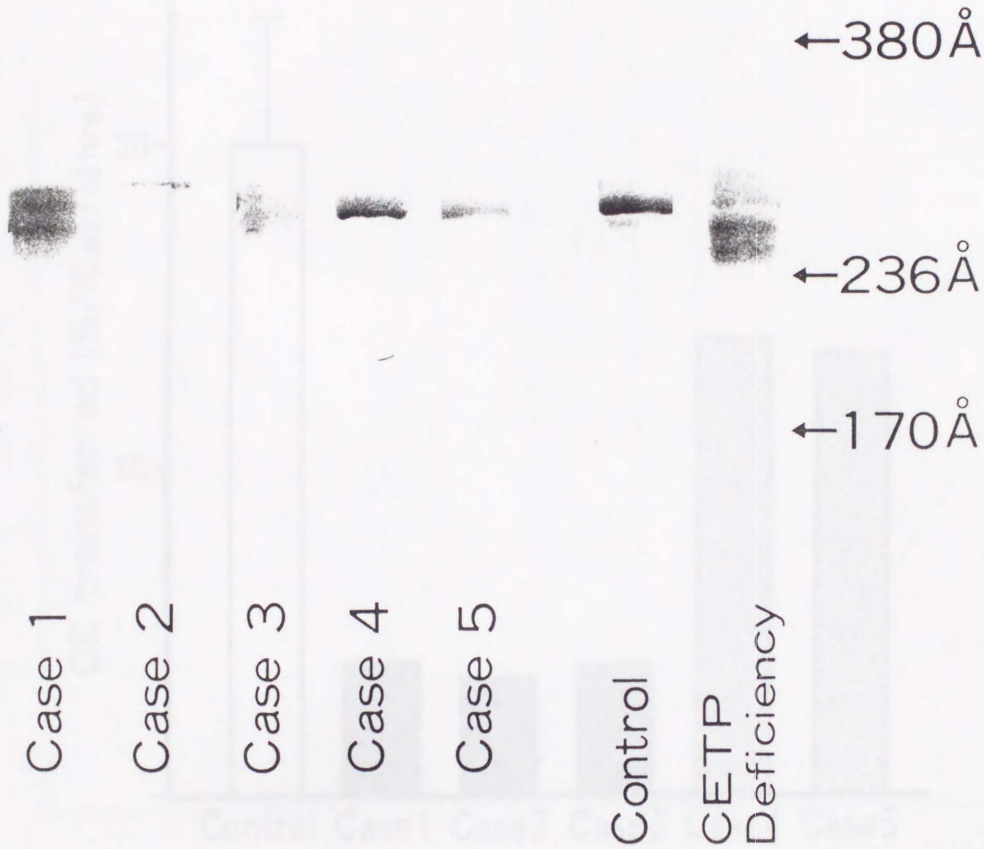

Figure 1
2-16% polyacrylamide gradient gel electrophoretic patterns of LDL fraction in subjects.
Ultracentrifugally separated low desnity lipoprotein fraction was run on 2-16% polyacrylamide gradient gel electrophoresis.

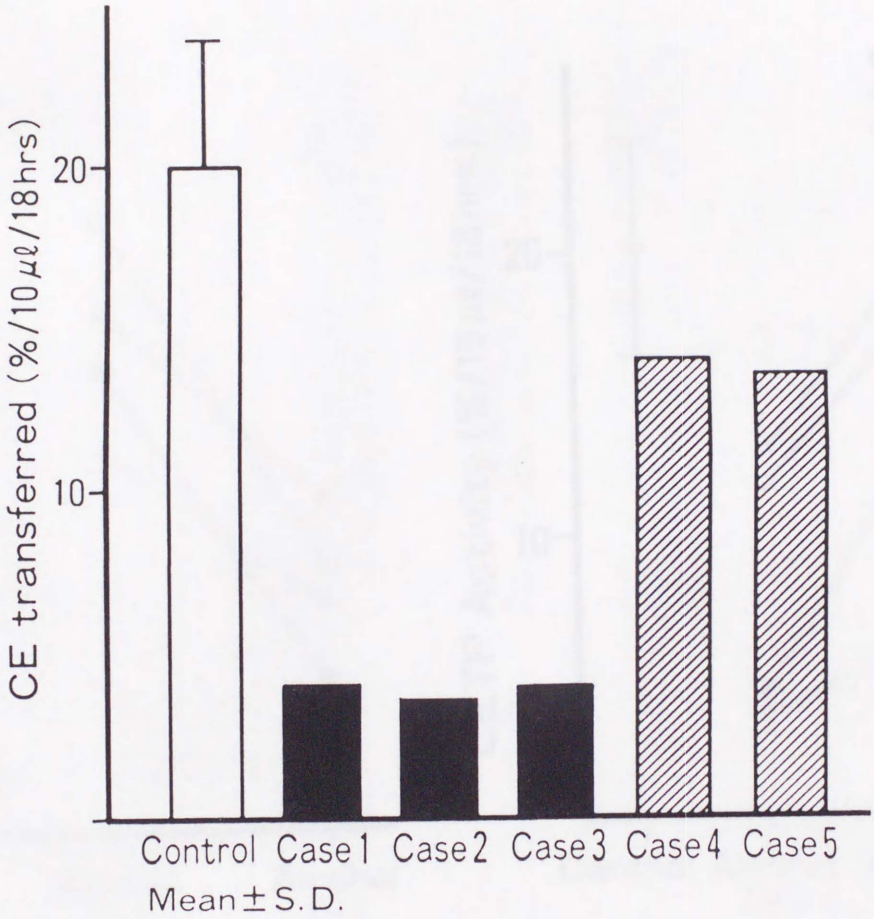

Figure 2
Cholesteryl ester transfer protein activity in subjects.
S.D. = standard deviation.

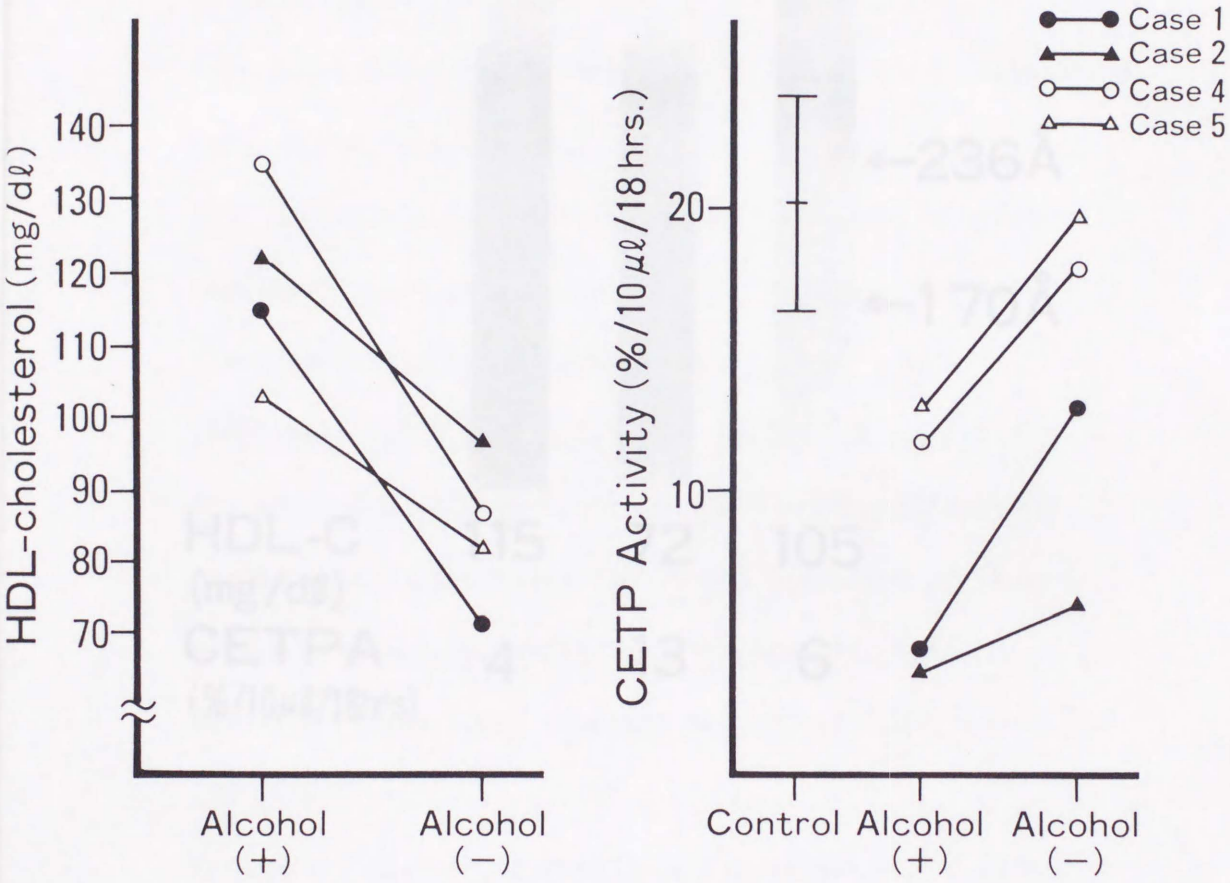

Figure 3
Effect of one-month's abstinence on HDL-cholesterol(right panel) and CETP activities (left panel).

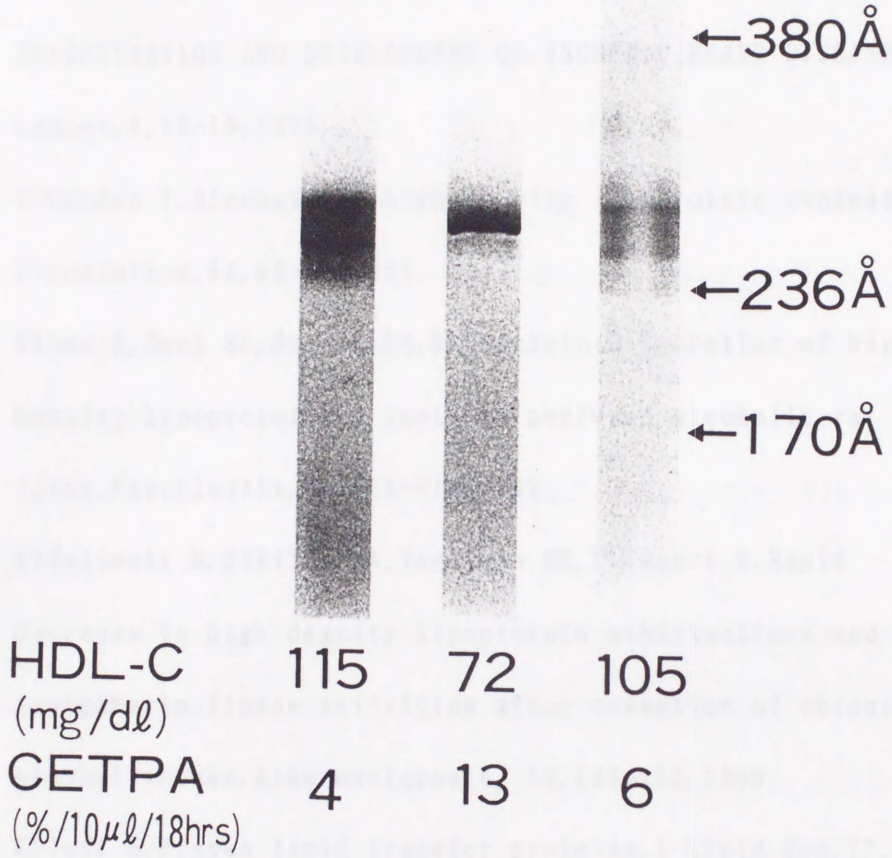

Figure 4
Changes in 2-16% polyacrylamide gradient gel elctrophoretic patterns of LDL fraction in Case 1.
lane 1; sample obtained during drinking alcohol
lane 2; sample obtained after one-month's abstinence.
lane 3; sample obtained when resumpting alcohol.

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 desnity lipoprotein subfrtactions 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 cholesterylester 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 lipoporoteins. 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 lipoprtoein particles in patients with cholesterly 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 lipoportien-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 ofalcohol dose on plasma lipoprotein subfractions and lipolytic enzyme activity inactive 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,Yamshita 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）ー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 studies 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.