OUKA
Osaka University Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | 肝性リパーゼの研究 : 活性測定法の開発とリポ蛋白代謝における役割の研究 |
| Author(s) | 野﨑, 秀一 |
| Citation | 大阪大学, 1986, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/35250 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【28】

| | |
|---|---|
| 氏名・（本籍） | 野崎秀一（のざきしゅういち） |
| 学位の種類 | 医学博士 |
| 学位記番号 | 第7219号 |
| 学位授与の日付 | 昭和61年3月25日 |
| 学位授与の要件 | 医学研究科　内科系専攻<br>学位規則第5条第1項該当 |
| 学位論文題目 | **肝性リパーゼの研究—活性測定法の開発とリポ蛋白代謝における役割の研究** |
| 論文審査委員 | （主査）<br>教授　垂井清一郎<br>（副査）<br>教授　田川　邦夫　　教授　鎌田　武信 |

## 論文内容の要旨

（目　的）

血管壁に存在し，生体内でリポ蛋白代謝に関与すると考えられている二種のリパーゼ，リポ蛋白リパーゼ（LPL）および肝性リパーゼ（HL）のうち，前者は，カイロミクロンやVLDLの中性脂肪を水解し，また，その欠損症は，カイロミクロンの著増するⅠ型高脂血症を呈することがよく知られている。しかし，後者の肝性リパーゼについては，HDLやIDL（intermediate density lipoprotein）の代謝に関与すると考えられているものの，未だ，その生理的役割は明らかとなっていない。その原因の1つとして，HLの正確な測定が困難であったことが考えられる。

これらのリパーゼの測定は，通常，ヘパリン静注後に遊離するリパーゼ活性（Postheparin lipolytic activity）として測定されているが，従来のradioisotope（RI）によらない測定系では，酵素反応により遊離する脂肪酸（FFA）をDoleの滴定法で測定していたため，感度が低く，大量のpostheparin plasma（PHP）を用したが，HLは，血清自身やアポ蛋白により抑制される性質があるため正確には測定し得なかった。一方，RIによる方法では，特別な設備，施設を要するとともに，放射活性の測定において，抽出の際にFFA以外に中性脂肪等の放射活性の共存することが，測定結果を修飾する可能性があった。本研究では，脂肪酸測定に酵素法を導入した結果，RIを用いないで，しかも血清の影響をうけない感度のよい正確な測定系を確立し，さらに本法により測定されたHL活性と，近年，虚血性心疾患のリスクファクターの1つとして注目されているIDL分画との相関について分析した。

（方法ならびに成績）

1）HLおよびLPL活性の測定

Postheparin plasma（PHP）は，ヘパリン50IU／kgを静注し，15分後に採血して得た。

基質は，トリオレインに15％のアラビアゴムを加え，sonicationを施し，作成した。

PHPは，LPLとHLを含むため，LPLの測定においては，PHPと等量の100 mM SDSを加え，26℃，60分間賦置することにより，HLを抑制して酵素液とし，この10 $\mu\ell$を反応液A（15mM triolein, 0.2 M Tris−HC$\ell$, 0.1 M NaC$\ell$, 5％albumin, 28％ serum, pH 8.2）0.49 m$\ell$に加え，28℃，60分間賦置した。反応後，Doleの方法でFFAを抽出し，$N_2$気流下で固化したのち，tritonX−100で可溶化して，FFAを酵素法で測定した。その際，抽出液に含まれるトリオレインと可溶化する際に用いたtritonX−100による混濁をとりのぞくため，クロロホルムを加え5500 g，30分間遠心した。

HLの測定は，5 $\mu\ell$ PHPを反応液B（15mM triolein, 0.2 M Tris−HCl, 0.75 M NaC$\ell$, 5％albumin）0.495 m$\ell$に加え，60分間賦置し，LPLを抑制し，以下は，LPLと同様の方法で活性を求めた。

本法は，血清5 $\mu\ell$の少量で測定可能なため，高脂血症の血清を用いてもHL活性に影響を及ぼさなかった。本測定系の変動係数は，intra−assayが，LPL 2.1％，HL 3.3％，inter−assayが，LPL 12.3％，HL 4.9％であった。

2）高脂血症各型におけるリパーゼ活性とリポ蛋白分画

Ⅱa型31名，Ⅱb型20名，Ⅳ型21名，Ⅴ型9名，正脂血症31名，甲状腺機能低下症5名において，リパーゼ活性測定と血清リポ蛋白分析をした。リポ蛋白は，Havelの方法に従い，5分画に分画し，それぞれのコレステロール，中性脂肪，リン脂質を測定した。

LPL活性（$\mu$mo$\ell$／m$\ell$／hr）は，Ⅱb型（6.7 ± 2.4），Ⅳ型（7.4 ± 2.8），甲状腺機能低下症（4.9 ± 3.3）において，正常（10.0 ± 3.2）に比し低値をとったが，他の型は正常と差がなかった。

HL活性（$\mu$mo$\ell$／m$\ell$／hr）は，甲状腺機能低下症において，4.6 ± 4.5と正常19.6 ± 9.7に比し，著明な低値を示したが，他の型は正常と差がなかった。次に，リパーゼ活性と各リポ蛋白分画の相関関係を検討した結果，VLDLの増加のないⅡa型および正脂血症では，HLとIDL−Cholesterol（Chol）の相関が認められないのに対し，VLDLの増加するⅡb型（$r = -0.69$，$P < 0.001$）およびⅣ型＋Ⅴ型（$r = -0.66$，$P < 0.0001$）では，有意なHLとIDL−Cholの逆相関を認めた。IDLは，VLDLより生成されるため，VLDLが増加する状態では，HL活性に比し基質（IDL）が過剰となり，IDLの蓄積を来すと考えられた。

（総　括）

1）脂肪酸の測定に酵素法を導入した結果，従来のHL活性の測定法の欠点を補う正確な測定法を開発した。本法は，RIを用いない方法であり，自然基質（VLDL，カイロミクロン等）の水解も測定できる応用範囲の広い測定法であり，今後のリポ蛋白代謝の研究に役立つものと考えられる。

2）本法を用いて測定したHL活性とIDL分画との関係を検討した結果，VLDLの増加するⅡb，Ⅳ，Ⅴ型で，HL活性とIDL分画との強い逆相関関係を認め，このことは，HLがIDL代謝に関与していることを示唆すると思われた。

## 論文の審査結果の要旨

本論文は，従来正確な測定が困難であった肝性リパーゼの簡便で正確な測定系を確立するとともに，これを用いてその生理的役割を明らかにしたものである。測定法については，肝性リパーゼ反応により生成した脂肪酸を，酵素法を用い至適条件で測定した点が新しく，また，臨床的には，肝性リパーゼ活性の低下が，IDL分画の増加に強く関連することを見出し，その結果，生理的意義の不明であった肝性リパーゼが，動脈硬化発症に関与するIDL分画の代謝に一定の役割を果していることを明らかにしたもので，リポ蛋白代謝上重要な研究であり，博士論文に値すると判断される。