

Title	Large and Cholesteryl Ester-Rich High-Density Lipoproteins in Cholesteryl Ester Transfer Protein
Author(s)	石神, 真人
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/40389
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏 名	石 神 眞 人
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 7 4 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 12 月 4 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Large and Cholesteryl Ester-Rich High-Density Lipoproteins in Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP) Deficiency Can Not Protect Macrophages from Cholesterol Accumulation Induced by Acetylated Low-Density Lipoproteins (コレステロールエステル転送蛋白質(CETP)欠損症における高密度リポ蛋白(HDL)の細胞内コレステロール蓄積抑制能の検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 沢 佑 次 (副査) 教 授 谷 口 直 之 教 授 荻 原 俊 男

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

高比重リポ蛋白(HDL)の抗動脈硬化機序として末梢組織からコレステロールを抜き出し、コレステロールエステル転送蛋白質(CETP)を介して肝臓に運びもどす、いわゆるコレステロール逆転送系の主役をなすためであると考えられている。私たちはこの過程で重要なCETPの欠損症の病態と遺伝子異常を明らかにしてきたが、本症において増したHDLの機能やその意義は必ずしも明らかではない。本研究では、CETP欠損症におけるHDLの抗動脈硬化作用を*in vitro*において検討し、CETPの生理的意義を明らかにすることを目的とした。

【方法ならびに成績】

著しい高HDL血症を呈し、CETPの活性、蛋白ともに完全に欠損したCETP欠損症ホモ接合体2例(Case 1, 50歳, 男性, HDLコレステロール200 mg/dl; Case 2, 54歳, 女性, HDLコレステロール164 mg/dl)および正脂血症の健常者5例の血漿より超遠心法にてHDL₂およびHDL₃を分画した。HDL₂分画はさらにヘパリンセファロース親和性カラムを通し、アポリポ蛋白BおよびE含有リポ蛋白を除去した。HDL₂およびHDL₃の粒子サイズをポリアクリルアミドグラディエントゲル電気泳動にて定量したところ、CETP欠損症ホモ接合体症例のHDL₂粒子径は、Case 1で12.3 nm, Case 2で11.8 nmと健常者の平均9.8 nmに比し著しく拡大していた。各リポ蛋白の脂質組成を検討したところCETP欠損症ホモ接合体症例のHDL₂は対照に比べてコレステロールエステルに富み、トリグリセリドに乏しいことが明らかになった。HDL₃に関しては患者と健常者で差を認めなかった。次に、HDL₂およびHDL₃の抗動脈硬化作用についてマウス腹腔マクロファージを用いて検討した。無水酢酸によりアセチル化したLDL(アセチルLDL)を作成し、マクロファージにコレステロールを負荷した。はじめにマクロファージを無血清培地で24時間培養後、50 µg/mlのアセチルLDLと250 µg/mlのHDLを同時に添加し、マクロファージを24時間培養し、コレステロール蓄積抑制能を検討した。培養液を除去し、細胞を洗浄後、細胞の脂質をヘキサン・イソプロピルアルコールの混合溶液により抽出し、Heiderらの酵素蛍光法により細胞内総コレステロールおよび遊離コレステロールを定量し、コレステロールエステルを両者の差として求めた。細胞蛋白量をLowry法により測定し、各細胞内コレステロール量を補

正した。健常者の HDL₂ は、アセチル LDL による細胞内コレステロールエステルの増加を約40%抑制したが、CETP 欠損症の HDL₂ には抑制効果を認めなかった。HDL₂ の濃度を50 $\mu\text{g/ml}$ から500 $\mu\text{g/ml}$ まで増加させたが、いずれの濃度においても健常者の HDL₂ だけが細胞内コレステロールの増加を抑制し、CETP 欠損症患者の HDL₂ には抑制能がなかった。次に、マクロファージをアセチル LDL と12時間培養し泡沫化させた後、250 $\mu\text{g/ml}$ の HDL と24時間培養し、HDL のコレステロール引き抜き能を検討した。健常者の HDL₂ は約27%細胞内コレステロールエステルを減少させたが、CETP 欠損症の HDL₂ にはコレステロール引き抜き能を認めなかった。HDL₃ に関しては、健常者、CETP 欠損症の間でコレステロール蓄積抑制能およびコレステロール引き抜き能ともに差を認めなかった。

【総括】

本研究により、CETP 欠損症で見られるコレステロールエステルに富んだ大粒子 HDL はアセチル LDL によるマクロファージの細胞内コレステロール蓄積抑制能が低く、CETP 欠損症がコレステロール逆転送系の障害された病態であることが示された。また、今回の検討により HDL が高値であっても抗動脈硬化作用が障害された病態があり、HDL の量的な評価だけでなく機能的な評価も重要であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

近年、ライフスタイルの欧米化に伴い、我が国においても狭心症、心筋梗塞などの動脈硬化性疾患が重大な死亡原因のひとつとなっている。高密度リポ蛋白質 (HDL) は末梢組織に蓄積したコレステロールをコレステロールエステル転送蛋白質 (CETP) を介して肝臓に運び戻すコレステロール逆転送系で主役をなし、動脈硬化防御機構において重要な働きをしている。CETP 欠損症では、HDL が著しく高値となるがこの増加した HDL の意義はこれまで明らかではなかった。

申請者らは CETP 欠損症患者血清から HDL を分離し、患者の HDL がコントロールの HDL に比べコレステロールエステルに富み大粒子化している事を示した。さらに HDL のマクロファージにおけるコレステロール蓄積抑制能を検討し、患者 HDL はコントロール HDL に比べ、抑制能が著しく低下していることを明らかにした。また、患者血清に精製した CETP を添加することにより HDL がより密度の高い超高密度リポ蛋白質 (VHDL) 様リポ蛋白質に変換されること、またこの VHDL 様リポ蛋白質はマクロファージにおけるコレステロール蓄積を強力に抑制することも明らかにし、CETP が抗動脈硬化作用の強い小粒子 HDL の生成において重要であることを示した。

CETP 欠損症は HDL が高値であっても動脈硬化防御機構が障害された病態であり、日常診療において HDL の量的な評価だけでなく、機能的な評価が重要であることを示した研究であり、学位論文に値すると思われる。