

高リポ蛋白血症 (Ⅱ_a型, Ⅱ_b型, Ⅳ型)

における脂質代謝についての研究

——血液細胞による脂質合成について——

岡山大学医学部第二内科 (主任: 平木潔教授)

平 松 和 子

(昭和50年12月15日受稿)

目 次

第1章	緒言
第2章	対象ならびに実験方法
第1節	対象
第2節	実験方法
第3章	実験成績
第1節	全血における実験成績
第1項	全血の総脂質, 各主要脂質分画への ¹⁴ Cとりこみ
第2項	全血の各主要脂質分画への ¹⁴ Cとりこみ百分率
第3項	全血の各脂酸への ¹⁴ Cとりこみ百分率
第2節	白血球の Krebs Ringer bicarbonate buffer 中培養の実験成績
第1項	白血球の総脂質, 各主要脂質への ¹⁴ Cとりこみ
第2項	白血球の各主要脂質への ¹⁴ Cとりこみ百分率
第4章	考按
第5章	結語

第1章 緒 言

私達臨床家が遭遇する機会の多くなった高脂血症は粥状硬化の発生要因として重要視されている。高脂血症は1967年に Fredrickson¹⁾ によって Type I familial hyperchylomicronemia, Type II familial hyper-beta-lipoproteinemia, Type III familial hyper-beta and pre-beta lipoproteinemia, Type IV familial hyper-pre-beta lipoproteinemia,

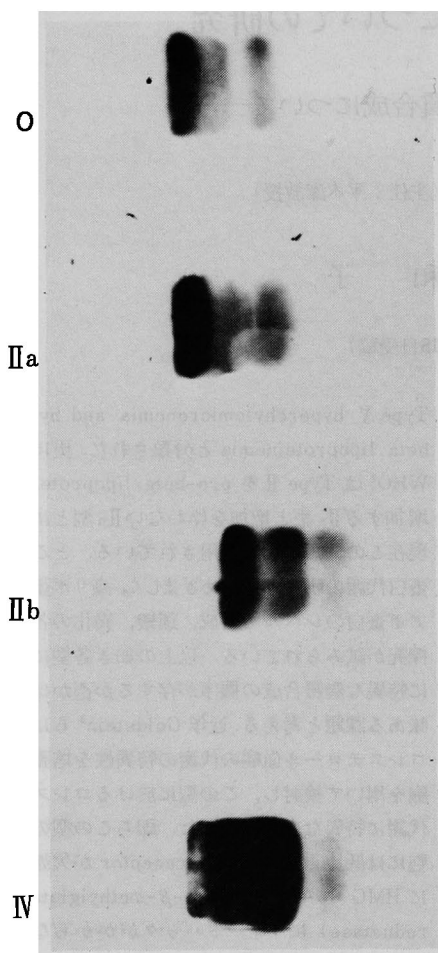
Type V hyperchylomicronemia and hyper-pre-beta lipoproteinemia と分類された。更に1970年に WHO²⁾ は Type II を pre-beta lipoprotein の軽度増加するⅡ_b型と増加を伴わないⅡ_a型とに分類し、現在この分類が広く使用されている。ところでリポ蛋白代謝の研究は最近めざましく、高リポ蛋白血症をアポ蛋白のレベルで合成、運搬、異化の各方面より探究が試みられている。以上の如き各型に於いて型に特異な脂質合成の機序が存するか否かは極めて興味ある課題と考える。近年 Goldstein³⁾ らは家族性高コレステロール血症の代謝の特異性を培養線維芽細胞を用いて検討し、この型に於けるコレステロール代謝に特異な点を見出した。即ちこの型の線維芽細胞には低比重リポ蛋白の receptor が欠如するため HMG CoA (β -hydroxy- β -methylglutaryl CoA reductase) にフィードバックがかからないため起るということを報告した。教室木畑⁴⁾ らはリポ蛋白を運搬する血液の血液細胞が脂質代謝を営み、動脈硬化症、高脂血症、糖尿病で脂質代謝異常を来すと報告している。これらのことより、高リポ蛋白血症の各型につき血液細胞の脂質合成面よりの代謝を明確にする目的で、1-¹⁴C-Acetate を precursor とし各脂質、脂酸への¹⁴Cとりこみを検討した。更に血漿中の脂質影響除去した場合の白血球の脂質合成も併せて検討した。

第2章 対象ならびに実験方法

第1節 対象

対象の WHO の分類型決定にはセルロースアセテート膜電気泳動法⁵⁾を用いた。表1に各型の泳動パ

表1 C A 膜 電 気 泳 動



O型は平均年齢65.1才で総コレステロール値平均191.87±17.08 mg/dl 中性脂肪平均102.87±30.95 mg/dl の8名とした。II_a型は平均年齢45.7才で総コレステロール平均値266.60±45.53mg/dl 中性脂肪平均102.6±21.81mg/dl の16名とした。II_b型は平均年齢58.5才で総コレステロール平均249.0±15.98 mg/dl 中性脂肪平均233.2±65.59mg/dl の11名とした。IV型は平均年齢58.9才で総コレステロール値平均204.4±14.21mg/dl 中性脂肪平均247.5±67.44 mg/dl の10名である。疾患としては主に脳動脈硬化症、冠動脈硬化症であり明らかな二次性高脂血症と思われる症例は除外した。次に白血球の Krebs Ringer bicarbonate buffer 中培養に用いた被験対象の血清脂質値を表3に示す。O型は平均年齢49.6才で総コレステロール平均値149.2±32.1mg/dl 中性脂肪平均86.8±19.5mg/dl の5名、II_a型は平均年齢49.6才で総コレステロール平均値261.61±33.53mg/dl 中性脂肪平均98.76±21.43mg/dl の21名、II_b型は平均年齢51.3才で総コレステロール平均値228.07±76.23mg/dl 中性脂肪平均値255.2±25.53mg/dl の14名、IV型は平均年齢58.6才で総コレステロール平均値178.0±22.06mg/dl で中性脂肪平均値237.87±91.20mg/dl の8名である。血清脂質測定法は総脂質(以下TLと略す)は Sulfo-Phospho-Vanillin 法⁸ 総コレステロールは cholesterol-Zak-Henly 変法⁹ 中性脂肪(以下TGと略す)はアセチルアセトン法¹⁰ 磷脂質(以下PLと略す)は Fiske-subbarow の方法¹¹ 遊離脂酸は(以下FFAと略す)は Duncombe 変法¹² βリポ蛋白は免疫沈降法¹³ を用いた。

第2節 実験方法

表2 SERUM LIPIDS ANALYSIS OF EACH TYPE OF HYPERLIPIDEMIAS
(WHOLE BLOOD WAS USED FOR EXPERIMENT)

	TLmg/dl	TGmg/dl	CHmg/dl	PLmg/dl	NEFA	B-LIPO
O (8)	591.75 ± 79.63	102.87 ± 30.95	191.87 ± 17.08	250.0 ± 34.06	0.37 ± 0.15	2.37 ± 0.52
II _a (16)	650.1 ± 52.41	102.6 ± 21.81	266.6 ± 45.53	223.2 ± 25.73	0.33 ± 0.18	2.00 ± 0.37
II _b (11)	827.5 ± 84.49	233.2 ± 65.59	249.0 ± 15.98	262.2 ± 8.88	0.35 ± 0.10	2.57 ± 0.76
IV (10)	738.7 ± 75.79	247.5 ± 67.44	204.4 ± 14.21	243.8 ± 15.19	0.45 ± 0.15	2.38 ± 0.48

ターンを示した。上段より正常型(O型)高βリポ蛋白血症(II_a型)高β, pre-βリポ蛋白血症(II_b型)高pre-βリポ蛋白血症(IV型)である。それと同時に血清脂質値も参考に用いた。全血細胞についての実験に用いた被験対象の血清脂質値を表2に示す。

早朝空腹時に採血したヘパリン加全血5mlを1-¹⁴C-Acetate Na 5μCi (specific Activity 50mc/mM)とともに5% CO₂ 95% O₂飽和下37℃で4時間静かに振盪培養後 medium を含めて脂質を抽出した。一方実験に用いた白血球の採取は以下の手順に従っ

表 3 SERUM LIPIDS ANALYSIS OF EACH TYPE OF HYPERLIPIDEMIAS
(INCUBATION IN KREBS-RINGER BICARB.)

		TLmg/dl	TGmg/dl	CHmg/dl	PLmg/dl	NEFAmg/l	B-LIPO
O	(5)	488.2 ± 102.5	86.8 ± 19.5	149.2 ± 32.1	163.8 ± 62.9	0.43 ± 0.18	1.28 ± 0.71
Ⅱ _a	(21)	634.3 ± 57.63	98.76 ± 21.43	261.61 ± 33.53	213.9 ± 29.63	0.36 ± 0.13	2.91 ± 0.43
Ⅱ _b	(14)	783.14 ± 64.27	228.07 ± 76.23	255.2 ± 25.53	252.92 ± 34.65	0.83 ± 0.23	2.82 ± 0.63
Ⅳ	(8)	737.96 ± 170.3	237.87 ± 91.20	178.0 ± 22.06	233.5 ± 40.63	0.41 ± 0.15	2.15 ± 0.41

た。同じく早朝空腹時にヘパリン処理したデイスボ注射器に20mlを採血し6% Dextran T 250 (分子量250000, Pharmacia 製)を加えよく混和し37℃孵卵器に45~60分垂直に立てておく。上層の白血球層のみを採取する。下層には赤血球と共に血小板も沈降している。白血球層を1000回転5分間遠沈して下層を採り更に培養液 (Krebs Ringer bicarbonate buffer PH 7.4) で1回洗浄する。再度遠沈を行い下層 (白血球層)を採り5mlの培養液中に浮遊させ1-¹⁴C-Acetate Na 5 μ Ciを加え同じくCO₂ 5% O₂ 95%飽和下37℃で振盪培養。同時に白血球数を計算する。ほぼ4000~6000ヶ/ml採取出来る。脂質処理の方法は栗井の方法¹²⁾によって行った。すなわち脂質の抽出はFolch¹³⁾の方法に準じて行いChloroform: methanol (2:1)を用いて粗脂質を抽出し0.73%食塩水で3回水洗し、減圧乾固した。得られた総脂質の1部をBjörntorp¹⁴⁾の方法により10 N-KOH 0.5ml, ethanol: ethylether (3:1) 50mlの中で4時間鹼化し、石油エーテルを用いて非鹼化分画を抽出した。残った鹼化分画に1.5 N HCl 10mlを加えて酸性にし、石油エーテルを用いて総脂酸を抽出した。得られた総脂酸をMetcalfおよびSchmitz¹⁵⁾の方法により5% BF₃methanol 3mlの中でメチル化した。又総脂質の1部をKieselgnhr Gの薄層クロマトグラフィーによって主要脂質 (PL,

FFA, コレステロール (cho), TG, エステル型コレステロール (chE)) に分画し、各分画を採取した。次にメチル化した脂酸をガスクロマトグラフィーにより, chromosorp P に20% diethylene glycol-succinate を coating したカラム (3mm×300cm)に通じて個々の脂酸に分離した。各ピークにおいて流出する各脂酸メチルを脱脂後シリコン処理した特殊フィルターを用いて trap しその放射活性を測定した。総脂質, 総脂酸, 非鹼化分画 (主としてコレステロール) 主要脂質分画および各脂酸の¹⁴C放射活性を液体シンチレーションカウンターにより POPOP (1-4-bis-2-(5-phenyloxazolyl)-benzene)) PPO (2-5-diphenyloxazole) トルエン系シンチレーターを用いて測定した。¹⁴Cは白血球10⁶ヶあたりのCPMで表現し百分率も合わせ表現した。

第3章 実験成績

第1節 全血における実験成績

第1項 全血細胞による総脂質, 各主要脂質分画への¹⁴Cとりこみ (表4)

総脂質への¹⁴CとりこみはO型に比しⅡ_aⅡ_bならびにⅣ型とも低下しているが中でもⅡ_bは危険率0.05%以下で有意であった。TGへの¹⁴Cとりこみは各型ともO型より低下していた。choへの¹⁴CとりこみはO型362.37に比しⅡ_aで599.88Ⅱ_bで429.29Ⅳで

表 4 ¹⁴C incorporation from ¹⁴C-acetate in major lipid classes of whole blood
(mean CPM/10⁶WBC and standard deviation)

		TL	CHE	TG	FFA	CHO	PL
O	(8)	7956.18 ± 2560.50	188.18 ± 148.86	1462.98 ± 605.04	3090.15 ± 1424.90	362.37 ± 182.05	2427.85 ± 959.65
Ⅱ _a	(16)	6513.84 ± 1718.94	218.31 ± 137.21	1267.22 ± 598.63	2295.60 ± 937.49	599.88 ± 416.48	2128.52 ± 805.96
Ⅱ _b	(11)	5667.16** ± 1963.59	209.40 ± 119.89	1329.04 ± 987.75	2105.24* ± 862.30	429.29 ± 165.18	1749.02 ± 616.13
Ⅳ	(10)	5941.03 ± 2201.67	208.80 ± 155.47	1237.48 ± 683.30	2279.76 ± 1004.69	682.06* ± 425.28	1889.36 ± 644.75

() number of experiments ** 0.05 > P > 0.02 * 0.1 > P > 0.05

表5 Percentage of ^{14}C incorporation from ^{14}C -acetate into major lipid classes of whole blood

	CHE	TG	FFA	CHO	PL
O (8)	2.30 ±1.12	18.37 ±3.86	38.50 ±4.29	4.17 ±1.04	32.63 ±6.12
II _a (16)	3.90 ±2.62	20.00 ±7.55	34.40 ±10.05	9.70 ±6.79	31.70 ±5.65
II _b (11)	4.30* ±2.11	16.90 ±1.91	33.10 ±10.45	8.50* ±4.41	33.00 ±7.99
IV (10)	3.90 ±2.43	19.30 ±3.94	35.40 ±11.43	10.90** ±4.05	30.40 ±4.56

() number of experiments

** 0.001>P

* 0.05>P>0.02

表6 Percentage of ^{14}C -acetate incorporation into fatty acids by whole blood
(The mean percentage is given together with the standard deviation)

Type	Number of experiments	14:0>	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:4	20:4<
O	7	3.26 ±1.13	11.95 ±1.49	23.60 ±4.30	1.71 ±0.38	9.90 ±1.17	9.72 ±3.58	1.53 ±0.53	0.90 ±0.29	18.35 ±2.77
II _a	10	2.25** ±0.61	10.32 ±1.97	22.29 ±3.61	1.48 ±0.45	11.07* ±1.28	10.55 ±3.73	1.30 ±0.45	1.45** ±0.58	19.12 ±3.40
II _b	9	2.92 ±1.04	10.45 ±1.86	21.04 ±3.90	1.22*** ±0.23	12.88*** ±2.07	12.36 ±2.10	1.47 ±0.50	1.20 ±0.48	18.62 ±2.25
IV	9	2.77 ±1.03	11.01 ±1.95	18.92* ±4.44	1.13* ±0.09	9.93 ±2.00	11.30 ±3.23	1.18 ±0.30	1.39 ±0.82	21.41 ±3.50

14:0> indicates fatty acids with retention time shorter than that of myristic acid (14:0)

20:4< indicates fatty acids with retention time longer than that of arachidic acid (20:4)

*** 0.01>P>0.005

** 0.05>P>0.02

* 0.1>P>0.05

表7 ^{14}C incorporation from ^{14}C -acetate in Krebs Ringer of white blood cells in major lipid classes (The mean CPM/10⁶ white blood cells and standard deviation)

	TL	CHE	TG	FFA	CHO	PL
O (5)	3742.60 ±709.06	252.63 ±50.09	1381.92 ±189.40	152.92 ±31.30	220.41 ±20.06	1266.41 ±332.81
II _a (17)	2793.88** ±1075.20	201.17 ±72.21	1360.47 ±618.28	109.51 ±55.48	215.44 ±112.34	940.11 ±442.85
II _b (11)	3915.45 ±1251.66	347.53** ±97.37	1921.81** ±346.55	140.12 ±51.85	258.93** ±91.37	1333.15 ±629.64
IV (8)	3193.77 ±1805.22	327.44 ±151.85	1474.78 ±646.53	177.23 ±64.29	253.84 ±127.82	1040.37 ±591.99

() number of experiments

** 0.1>P>0.05

682.06と増加を示した。PLでは各型ともO型よりとりこみは低かった。各脂酸とエステル化せずにFFAとして残っているものはO型に比し各高脂血症共低く特にII_bでは有意に低いことが示される。

第2項 全血の各主要脂質分画への ^{14}C とりこみ百分率(表5)

前項について百分率で検討してみると chE, choへのとりこみ百分率はII_aII_bIVとも増加している。

特に cho での増加は各型共に有意であった。他の脂質分画(TG, FFA, PL)では著変なかった。

第3項 全血の各脂肪酸への ^{14}C とりこみ百分率(表6)

高脂血症各型についてみるとO型に比し、ミリスチン酸以下の脂酸(<C14:0)ミリスチン酸(C14:0)パルミチン酸(C16:0)パルミトオレイン酸(C16:1)の ^{14}C とりこみ百分率は各型共

低く、逆にステアリン酸(C18:0)オレイン酸(C18:1)アラキドン酸(C20:4)アラキドン酸以上の長鎖脂肪酸(C20:4<)へのとりこみは高い傾向を認めた。中でもII_b型ではパルミトオレイン酸へのとりこみ低下とステアリン酸へのとりこみの増加が有意であり、又II_a型ではミリスチン酸

以下の脂酸へのとりこみ低下とステアリン酸への¹⁴Cのとりこみの増加は有意であった。

第2節 白血球の Krebs Ringer bicarbonate buffer 中培養の実験成績

第1項 白血球の総脂質, 各主要脂質への¹⁴Cとりこみ (表7)

各型とも TL への¹⁴Cとりこみは約3000CPM/10⁶ WBCで全血でのとりこみを白血球10⁶単位で算定した場合の約半分のカウントを示した。FFA では全血では2000~3000CPM/10⁶ WBCであるのに比し150 CPM/10⁶ WBCと著しい差異を示した。PL は全血の約半分のカウントであった。以上の如く全血と比較してみると全く異なる合成パターンを示した。次に各型についてみると TL はⅡ_a以外は全血と同じくⅡ_a型, Ⅳ型とも低下傾向を示した。chE, cho へのとりこみはⅡ_a型Ⅳ型で亢進しており, 特にⅡ_a型では危険率0.1%以下で有意であった。PL はⅡ_a以外はⅡ_a型Ⅳ型とも O 型に比し低下していた。注目せられるのは TG の変化でⅡ_a型ではむしろ低下するが, Ⅱ_b型Ⅳ型では増加を認めた。

第2項 白血球の各主要脂質への¹⁴Cとりこみ百分率 (表8)

表8 Percentage of ¹⁴C incorporation from ¹⁴C-acetate of white blood cells in Krebs Ringer into major lipid classes (mean and standard deviation)

	ChE	TG	FFA	Cho	PL
O (5)	5.92 ±0.39	41.18 ±2.74	4.43 ±0.55	6.35 ±1.06	38.30 ±3.76
Ⅱ _a (21)	6.64 ±0.41	47.81 ±2.25	4.13 ±0.43	6.87 ±0.67	34.05 ±1.94
Ⅱ _b (14)	8.59** ±0.51	47.64 ±2.80	3.27** ±0.35	6.38 ±0.90	34.32 ±2.77
Ⅳ (8)	6.81 ±0.97	48.17 ±3.26	4.68 ±0.53	8.81 ±1.07	32.85 ±2.92

() number of experiments

** 0.1 > P > 0.05

前項に示した取り込み絶対値を, 主要脂質分画への取込みの比率を百分率で示したものである。Ⅱ_a型Ⅱ_b型Ⅳ型で TG の亢進が認められる。FFA では各型とも O 型に比し低下の傾向を示した。chE ではⅡ_a型Ⅳ型ともやや増加するがⅡ_a型では有意の増加であった。cho ではⅣ型にて増加の傾向が認められた。

第4章 考 按

高リポ蛋白血症の発生メカニズムについて合成, 運搬, 異化の各方面から研究されている。WHO 分

類による高リポ蛋白血症は主に各リポ蛋白の泳動パターンによって分類された phenotype であるが, 同時に cholesterol, 及び Triglyceride の異常値を伴っている。著者は血液中の種々の細胞が脂質合成脂質代謝を営むことに留意し, これら各型に於いて種々血球が特長のある脂質代謝を行うか否かに興味を抱き検討を行った。血球のうち積極的に脂質, 脂肪酸を合成するものは, 各種白血球, 幼若赤血球, 血小板であるが先ずこれら全てを含む全血について検討を行い, 次いで白血球のみをとり出して行ってみた。全血での総脂質合成は O 型に比しⅡ_a, Ⅱ_b, Ⅳ型とも低下し逆に cho 合成は亢進している。これは教室の木畑¹⁶⁾らが高脂血症としてまとめた症例を対象とし行った実験成績, 水川¹⁷⁾の血小板を用いた実験成績と一致している。全血における脂酸合成については各型とも O 型に比しミリスチン酸, パルミチン酸の減少とステアリン酸, オレイン酸, アラキドン酸以上の長鎖の脂肪酸の増加が認められた。これは高脂血症, 糖尿病, 動脈硬化症の脂酸合成^{16) 17)}パターンと同じ傾向と考えられる。その成因について水川は電子伝達系阻害実験等から ATP の不足が de novo synthesis を低下させ相対的に elongation system の増加を起すと説明している。更に pentose cycle よりの NADPH 電子伝達系阻害による NADH 消費低下による余剰がモノ不飽和化亢進を招き, オレイン酸の増加を来すと述べている。著者の扱った各型高脂血症でこれらの機構の存在の有無は明らかにしていない。

次に血漿脂質の影響を除去した白血球の脂質合成パターンと全血のそれとは大きく異なる。すなわち全血では TG 約20% FFA 40%白血球では TG 約40% FFA 約4%である。この成績に関して比較するのに教室の他の成績を考慮してみた。河内¹⁸⁾の rat の全血では TG 約3%, FFA 40%で肝組織では TG 約3% FFA 約4%である。水川¹⁷⁾の人の血小板では TG 約5% FFA 約60%である。藤井¹⁹⁾のマウスの肝臓組織では TG 約22% FFA 約7%と報告している。1960年 Marks, P. A²⁰⁾は白血球, 血小板, 赤血球の¹⁴C-Acetate よりのとりこみをみたところ, 単位細胞数当りでは白血球は血小板の80倍の能力を有するが, 血小板と白血球の生体内に存する数を考慮すると単位血液量では白血球の方がせいぜい2~3倍或いは逆に血小板の方が多いたとも報告している。これ等のことから Krebs Ringer 中培養白血球の成績では血小板の FFA 合成が含まれぬため FFA と

りこみが著しく少ないものと考えられる。そしてこのことが更に TL へのとりこみも約半分に減少したのもこのことに起因するのとも考えられる。第2に Krebs Ringer 中には FFA と結合する Albumin²¹⁾ HDL 等が存在しないため、もしそれらが存在すれば、血球中で合成された FFA が血球外へ遊出する機作が働き、FFA が全体として増加すると思われるが、この場合 FFA を血球外で捕捉するものがないので FFA へのとりこみが落ちたとも推察される。事実水川の報告でも明らかな如く FFA へ取り込まれた¹⁴C は大部分が血清部分から回収されている。第3に白血球は FFA をより TG 合成に利用する白血球自体の特異性を持つのかとも推察される。何れにしても著者の得た白血球による成績は藤井、河内の示した肝臓のパターンにより近いものであり、白血球脂質合成が臓器として性格を有することが示唆されたと考えている。

Krebs Ringer 中での培養の成績でⅡ_a型Ⅳ型の白血球の TG 合成亢進は Stakelberg, H. T. Schersten 等が高 pre- β リポ蛋白血症を有す症例について手術に肝パイオプシーを行い得られた肝組織で脂質合成をみたところ、TG 合成亢進がみられその合成率と血清 TG 値はよく相関したと述べている報告とほぼ一致し極めて興味深い。即ちⅡ_a型及びⅣ型では血中の TG 値は有意に増加するが、この TG は内因性即ち肝での TG 合成が亢進した結果である。所が著者の成績は、白血球に於いてもⅡ_a、Ⅳ型では TG 合成が亢進する可能性を示したもので極めて重要な所見と考える。更にⅡ_a型では cho 合成亢進を認めずⅡ_a型で TG 合成亢進を伴って cho 合成亢進を示すことについて、Sodhi²³⁾ らが高 cho 血症でも高 TG 血症を伴う場合には cho 合成が3倍にも亢進している報告を合わせ考えると、白血球の脂質代謝は十分にひとつの脂質代謝の役割を生体内で行っているのではないかと推察出来る。

扱、Ⅱ_a型は血中コレステロールが増加する型であるが、その発生原因も種々考えられる所である。著者はⅡ_a型の血球での cho 合成亢進を期待したが必ずしも有意ではなかった。Levy²⁴⁾ らは¹²⁵I でラベルした β リポ蛋白を用いたりポ蛋白代謝についての成績からⅡ_a型においては β リポ蛋白の異化障害が成因であろうと報告している。さらにその異化の障害はリポ蛋白粒子自体の異常によるのではなく、生体側の処理機構の障害に基づくと Simons²⁵⁾ は述べている。それと同時に Steinberg²⁶⁾ は β リポ蛋白の

異化は現在まで考えられていた肝臓で行なわれるのではなく、末梢組織で破壊されていることを示唆した。1974年に Goldstein, Brown⁹⁾ らは皮膚の線維芽細胞の培養を行ないこれを用いて cho の代謝調節を検討した。線維芽細胞は LDL に対する receptor を有している、そして LDL がこの receptor と結合することにより cho 合成律速酵素である HMG CoA reductase をフィードバックコントロールしている。ところが家族性高 cho 血症(リポ蛋白パターンはⅡ_a型を示す)ではこの receptor が欠如しているためにフィードバックメカニズムが効かず cho を合成し続けるということを見出した。従って著者は LDL を除去した Krebs Ringer 中での培養ではⅡ_a型の白血球が cho 合成亢進を示すものと予測したが、その傾向は認められなかった。その理由として今回の対象とした症例は何れも明らかな家族性高 cho 血症でないためかとも考えられるが、一方白血球自身、線維芽細胞と異なる脂質代謝を有しているかも知れない。この点に関しては更に症例を吟味した検討が必要と考えている。しかし白血球はⅡ_a、Ⅳ型が血漿除去下では TG 合成亢進を認めており、このことは TG の代謝の中心は今まで肝臓、腸管にあるとされていたのに対し、非常に興味あることである。線維芽細胞にみられた cho 合成フィードバック機構と同様の関係が白血球についても、TG 合成調節機構の存在があるのではないかと推測され興味深い。今后更にこの方面の研究発達の可能性が示唆される。

第5章 結 語

WHO の分類に基き高リポ蛋白血症症例のうち多数例を入手し得たⅡ_a型Ⅱ_b型Ⅳ型について、各型の全血及び白血球脂質合成面からの脂質代謝を明らかにするため、全血白血球を用いて 1-¹⁴C-Acetate Na よりの総脂質、主要脂質分画、各脂酸への¹⁴C とりこみ百分率を検討し以下の成績が得られた。

1) 全血においては

- Ⅱ_a型Ⅱ_b型Ⅳ型とも総脂質への¹⁴C とりこみは低下するが特にⅡ_a型にその傾向が強い。
- コレステロール合成はⅡ_a型Ⅱ_b型Ⅳ型とも亢進するがⅣ型に最もよく認められた。
- 脂酸合成はⅡ_a型Ⅱ_b型Ⅳ型とも de novo synthesis が低下し elongation system の亢進が認められたが各型別の特徴は見られなかった。

2) Krebs Ringer 中白血球培養成績に於いては

- 総脂質合成は全血の約半分であった。

- b) 全血の場合と比較すると、中性脂肪、遊離脂酸へのとりこみに大きな差異が認められた。
- c) 対照群に比し中性脂肪の合成亢進がⅡ_a型Ⅳ型に認められたが、Ⅱ_a型では明らかでなかった。
- d) Ⅱ_a型のコレステロール合成は全血の場合より低下していた。
- e) 高中性脂肪血症のあるⅡ_a型及びⅣ型では中性脂肪合成亢進と共に総コレステロール（コレステロールエステル及び遊離コレステロール）の合成亢進が認められた。
- 以上の成績から全血細胞による脂質合成をみるとⅡ_a型、Ⅱ_b型、及びⅣ型高脂血症では総コレステロール（コレステロールエステル+遊離コレステロール）の合成は亢進する。又血漿脂質の影響を除去し

た条件での白血球の脂質合成をみるとⅡ_a型及びⅣ型で中性脂肪及び総コレステロールへの¹⁴Cとりこみは亢進した。以上高脂血症各型に於ける血液細胞は正常対照に比し Acetate よりの脂質合成の態度が異なること、及び各型相互間に差異のあることが判明した。

稿を終えるに当り御懇篤なる御指導と御校閲をいただいた恩師、平木潔教授に心から感謝いたします。また、直接御指導いただいた木畑正義講師に厚く御礼申し上げます。

尚、本論文の要旨は第17回日本老年医学会総会において発表した。

文 献

- 1) Fredrickson D. S., Levy R. I.: Fat transport in lipoproteins-An integrated approach to mechanism and disorders. *New Engl. J. Med.*, **276** 34, 94, 148, 215, 273, 1967.
- 2) Classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinemias. *Bull. World Health Organization*, **43** 891-908, 1970.
- 3) Joseph, L., Goldstein, M. D., Michael, S., Brown, M. D.: Familial Hypercholesterolemia-A Genetic Regulatory Defect in Cholesterol Metabolism. *The American Journal of Medicine*, **58** 147, 1975.
- 4) 木畑正義, 尾崎幸成, 水川士郎, 藤井靖久, 平木潔: 血液細胞による脂質合成について. *高令医学*. **7** 43, 1969.
- 5) 櫻林都之介: セルロースアセテート膜電気泳動法. *臨床病理*. **21** 27, 1975.
- 6) 松宮和人, 荒尾雅代, 置塩達郎, 大森清彦: Sulfo-phospho-Vahillin 法による血清総脂質微量定量法. *臨床病理*. **19** 147, 1971.
- 7) 中甫, 北村元仕: 臨床化学分析Ⅲ (日本分析化学会編, 分析ライブラリー 3), 東京化学同人, 東京57, 1966.
- 8) Eggstein, M. und Kreutz, F. H.: Bestimmung der Neutralfette in Blut serum und Gewebe. *Klin. Wschr.*, **44** 262, 1966.
- 9) Fiske, C. H., and Subbarow, Y.: The determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66** 375, 1925.
- 10) Duncombe, W. G.: The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clin. Chim. Acta* **9** 122, 1964.
- 11) 関本博: β リポ蛋白. *臨床化学*. **1** 64, 1971.
- 12) 栗井弘二: 糖尿病の脂肪酸代謝異常—その研究法, 病型による差異および異常発生機序の考察, *総合臨床*. **17** 549, 1968.
- 13) Folch, J., Lee, M. and Sloane Stanley, G. H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.*, **226** 497, 1957.
- 14) Björntorp, P.: Polyunsaturated fatty acids in man. *Scand. J. Clin. Invest.*, **12** (Suppl. 52) : 1, 1960.

- 15) Metcalfe, L. D. and Schmitz, A. A.: The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis: *Anal. Chem.*, **33** 363, 1961.
- 16) 木畑正義: 血液細胞による代謝面より. *日本老年医学会雑誌*. **8** 256, 1971.
- 17) 水川士郎: 血小板による脂質代謝の研究. *岡山医学会雑誌*. **87** 95, 1975.
- 18) 河内光男: 血液細胞と肝の脂質代謝の比較に関する実験的研究. *岡山医学会雑誌*. **86** 107, 1974.
- 19) 藤井靖久: Goldthioglucose 肥満マウスにおける脂酸代謝に関する研究. *岡山医学会雑誌*. **86** 369, 1974.
- 20) Marks, P. S.: Gellhorn, A. and Kidson, C.: Lipid synthesis in human leukocytes, platelets, and erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, **235** 2579, 1960.
- 21) Arthur, A. Spector: Fatty acid binding to plasma albumin: *Journal of Lipid Research*, **16** 165, 1975.
- 22) H. Stakeberg and T. Schersten: Substrate incorporation into hepatic lipids and proteins in vitro in patients with pre- β hyperlipoproteinemia. *Acta Med. Scand.*, **197** 217, 1975.
- 23) H. S. Sodhi, B. J. Kudchodkar: Synthesis of Cholesterol in Hypercholesterolemia and Its Relationship to Plasma Triglycerides, *Metabolism*, **22** 895, 1973.
- 24) Langer, T., Strober, W., Levy, R. I.: The Metabolism of Low Density Lipoprotein in Familial Type II Hyperlipoproteinemia. *J. Clin. Invest.*, **51** 1528, 1972.
- 25) Simons, L. A., Reichl, D., Myant, N. B.: The metabolism of the apoprotein of plasma low density lipoprotein in familial hyperbeta lipoproteinaemia in the homozygous form. *Atherosclerosis*, **21** 283, 1975.
- 26) Allan, D. Sniderman, Thomas E. Carew, James G. Chandler, Davniel Steinberg: Paradoxical Increase in Rate of Catabolism of Low-Density Lipoproteins after Hepatectomy. *Science*, **183** 526, 1974.

Studies on lipid metabolism of hyperlipoproteinemia (II_a, II_b, and IV type) in reference to lipid synthesis by blood cells.

by

Kazuko HIRAMATSU

The Second Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

Six types of hyperlipoproteinemia were categorized by W.H.O. on the base of lipoprotein analysis by paper electrophoresis. In this study, the author presented the lipid metabolism by blood cells in each type of hyperlipoproteinemia (II_a, II_b, and IV type), comparing to control. As known generally, blood cells, mainly white cell, platelet and young red cell are able to synthesize lipids and fatty acids. And disorders in lipid metabolism were demonstrated in blood cells of some kinds of metabolic disease. Discussion were performed with analysis of the incorporation and distribution of l-¹⁴C-Acetate in major lipid (total lipid, cholesterol, triglyceride, cholesterol ester, phospholipid) and individual fatty acids by whole blood cells and white blood cell.

Results were as follows.

I) Experiment on the metabolism by the whole blood cells.

1) The ¹⁴C incorporation into total lipids were equally decreased by blood cell in every II_a, II_b and IV type compared to that of control, and particularly it was markedly decreased in II_b type.

2) In contrast to the above, the ¹⁴C incorporation into cholesterol ester and free cholesterol was increased in each II_a, II_b and IV type, compared to control. And furthermore, in IV type the highest incorporation was observed among them.

3) Concerning the distribution of ¹⁴C in individual fatty acids, the de novo synthesized fatty acids were tend to decrease in II_a, II_b and IV type, and on the other hand the fatty acids synthesized by the elongation pathway were increased relatively. But no specific feature of ¹⁴C distribution was obtained in fatty acids among them.

II) Experiment on the metabolism by white blood cells.

1) The ¹⁴C recovered in total lipids was amounted one half of that of whole blood cells both calculated by 10⁶ white cells.

2) There was a significant difference in ¹⁴C of both triglyceride and free fatty acid between white blood cell and whole blood cells.

3) White blood cell of II_b and IV type synthesized more amount of TG than that of control did, and concomitantly was accompanied with the increase of cholesterol synthesis.