

〔原著〕 リポ蛋白構成脂質測定に関する臨床的研究

大 島 仁 士*

(昭和59年7月6日受付)

要 旨

血中脂質と疾患との関わりを分析するためには、近年あきらかにされた血中脂質の存在様式を考慮して各種リポタンパクの多寡を把握する必要がある。そこで日常臨床検査法として可能なリポタンパク分析法を Lp42-Ti ローターを用いて確立し、超低比重リポタンパク (VLDL $d < 1.006$) 低比重リポタンパク (LDL $1.006 < d < 1.063$)、高比重リポタンパク (HDL $d > 1.063$) の総コレステロール(TC)、中性脂肪(TG)、リン脂質(PL)を測定した。更に心筋梗塞(MI)、糖尿病Ⅱ型(DM)、脳梗塞(CI)患者のそれら进行分析し、各々のリポタンパク像について以下の成績をえた。

i) MI では VLDL-TC, TG の増加と HDL-TC の低下がみられ、DM では VLDL-TC, TG は増加傾向あり CI では HDL-TC は低値であった。

ii) 血中各脂質変動時の各分画への分布度を正常人で調べると TG は VLDL, TC はいづれの分画にも影響をあたえているが主として LDL に反映していた。PL の上昇は VLDL に多く反映され次には HDL であった。

iii) DM, MI, 及び CI, では TC の増加は VLDL, LDL に反映され方が低く、病態形成における関連性が推測された。TG は DM, MI, CI とともに VLDL に反映され、MI では LDL にも反映されていた。PL は各々ともに VLDL に反映され、DM では LDL, HDL への反映は低くリポタンパク脂質代謝に異常があると思われる成績であった。

以上、血中リポタンパクの簡易超遠心分析法を確立したが、このリポタンパク分析は診断のみならず病態の解析をするために有用であると思われた。

Keywords: リポ蛋白, コレステロール, 中性脂肪, リン脂質, 超遠心法

略語一覧: VLDL: very low density lipoprotein. LDL: low density lipoprotein, HDL: high density lipoprotein.

序 文

血中に存在するコレステロールや中性脂肪などはそのままの形で存在するのではなく、他の脂質や蛋白と結合している。即ち、リポ蛋白という存在形態をとるのである¹⁾。

高脂血症という病態は様々な要因から発生し²⁾、その解析は単に血中の脂質の量を分析するというだけでは、病態の解析や臨床的意義を見出すためには不十分なことが多い。近年の疫学調査でも、血中の総コレステロールとしての分析に加えてリポ蛋白構成脂質の分析が、虚血性心疾患の prospective な指標になり得ることを明らかに

にした³⁾ことによっても理解される。

このようにリポ蛋白として脂質代謝を観察することの重要性が指摘されながらも、その分析法の複雑さや、分析に長時間を要すること、更に1回に分析出来る検体数を多く行うことが出来ないなどの理由から一般臨床検査としての応用は実現されなかった。電気泳動法によるリポ蛋白の分析はリポ蛋白異常症の診断などには有効であり、Fredrickson らの分類法の基礎になるものであった⁴⁾。しかしながらこの分析法は種々のリポ蛋白の比率を表現しているものであり、リポ蛋白構成成分の絶対量としての変化や病態における変動などの情報を得ることは困難である。リポ蛋白は2価陽イオンと多価ポリアニ

* 松戸市立病院内科

Hitoshi OSHIMA: Clinical Study on the Method of Lipoprotein Lipids Determination.

Department of Internal Medicine, Matsudo Hospital, Matsudo 271.

Received for publication, July 6, 1984.

オンと混合することにより不溶性の沈澱物となる VL-DL や LDL と、その条件では不溶物にならない HDL があることが知られている⁵⁾。このような性質を利用して HDL に含まれる コレステロールを測定することが行われ、疫学的調査や日常臨床にも広く用いられている。この方法によって分析出来るのは HDL コレステロールが最も正確であるとされている。HDL と VLDL や LDL の代謝の相関性は種々報告されており、HDL コレステロールの測定はリポ蛋白代謝の全体像をある程度まで知る手段ではあるが充分ではない。

以上のようなリポ蛋白測定の弱点を補うためには、リポ蛋白の分析法の基本となる“それぞれのリポ蛋白の比重が異なる”という命題に帰らなければならない。著者は基本である比重による分類法に従って、短時間にしかも、多数の検体を処理するという利点をもつ Lp 42-Ti ローターを用いて、超遠心分析を行い、従来の他の分析法との相関性、各疾患における変動について検討しその有用性を確認したので報告する。

研究方法

対象

健常人：松戸市成人病健診受診者 244 名（男 126，女 118）である。対象者の年代別による分布は 20-29 歳 37 名，30-39 歳 38 名，40-49 歳 101 名，50-59 歳 40 名，60 歳以上 28 名であった。健常人の選定基準は表 1 に示すような秦ら⁷⁾の報告したものに従った。

疾患の診断基準：糖尿病の診断は日本糖尿病学会の診断基準により診断し、コントロール良好なインスリン非依存性 (NIDDM) 例（男 33 女 32 計 65 例）について検討した。心筋梗塞（男 28 女 9 計 37 例）は心電図、脳梗塞（男 7 女 9 計 16 例）は臨床症状、computerized tomography scan (CT スキャン) などにより診断し、発生後 2 週間以内の新鮮例は除外した。

ローター及び遠心機

ローターは図 1 にその断面で示したようにチタニウム製で直径 22cm，重量 6.5kg。ローター角 30° で外径 7 mm，高さ 20mm のセルロースプロピオネイト製チューブが 72 本入れられる。超遠心機は L 5-65 B (Beckman 社) を用いた。チャンパー内温度 8°C，42000rpm（上記ローターは 222000×g になる）で超遠心した。

測定試薬

脂質測定試薬

コレステロール測定は TC キット K (日本商事社製) を用いた。中性脂肪測定は TG キット S (日本商事社製) を用いた。リン脂質測定は PL キット K (日本商事

表 1. 健常人選定・異常例除外の規定

I. 既往症または現症について

- 1) 重症代謝疾患の既往のあるもの、または治療の続いているもの：コントロール不良の糖尿病，甲状腺疾患，肺炎，肝硬変および黄疸の経験者および罹患者
- 2) 動脈硬化性疾患の既往または治療の続いているもの：脳卒中発作，狭心症，心筋梗塞，末梢動脈閉塞症の経験者および罹患者
- 3) 臓器摘出手術の既往のあるもの（但し虫垂切除を除く）：胃摘，胆嚢切除，肺切除，甲状腺その他内分泌系に関係した手術，子宮摘出，乳腺手術，卵巣摘出，前立腺摘除の経験のあるもの

II. 検査値について

- 1) 体重：増減率 +20% 以上のもの
- 2) 血圧：収縮期圧 160mmHg 以上あるいは拡張期圧 100mmHg 以上のもの
- 3) 血沈：男性 20mm/1h，女性 30mm/1h 以上のもの
- 4) ヘモグロビン：男性 12g/dl，女性 10g/dl 以下のもの
- 5) 空腹時血糖：120mg/dl 以上のもの
- 6) GOT，GPT：いずれかが 50Karmen 単位以上
- 7) γ -GTP：70mIU 以上
- 8) 血清コレステロール：300mg/dl 以上，または血清トリグリセライド 750mg/dl 以上，HDL コレステロール男 35mg/dl，女 40mg/dl 以下
- 9) 尿酸：男性 7.5mg/dl，女性 6.0mg/dl 以上
- 10) 尿蛋白陽性
- 11) 安静時心電図の ST-T に冠不全の所見をみとめるもの

社製) を用いた。

リポ蛋白電気泳動法試薬，アガロース電気泳動装置—ボル E フィルムシステム (日本商事社製) を用いた。

採血及びリポ蛋白分析方法 (図 2)

早朝空腹時採血とし、採血した血液は 4°C 3000rpm (1000×g)，10 分間の遠心で血清分離を行った。この血清を用いて総コレステロール，中性脂肪，リン脂質の測定はそれぞれ酵素法で行った。同時に Lp 42-Ti 型ローターを用いて超遠心法で血清リポ蛋白の分画を図 2 に示すように行った。1 検体で 2 本 (Tube A，B) のセルロースプロピオネイトチューブを用いる。一方のチューブには (Tube B) 予め 29.08% の KBr 溶液 50 μ l を入れ

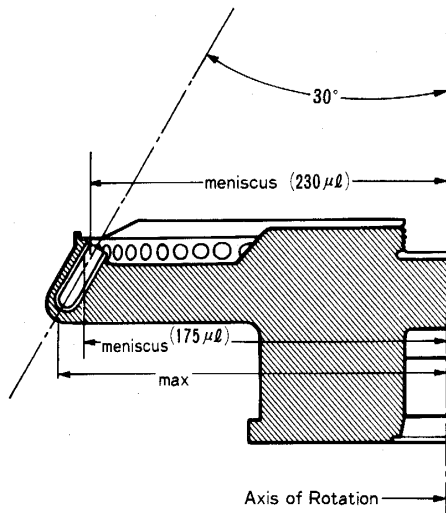


図 1. Lp42-Ti ローターの断面図

て乾固 (KBr 結晶とし14.5mg) させたものを用いた。双方のチューブに血清175μl をマイクロピペットで入れ, KBr の入った方のチューブは攪拌溶解後, 超遠心 (42000rpm 222000×g, 8°C 150min) を行った。超遠心後 Tube Aには2層, 黄褐色の分離層が得られ上層は VLDL (very low density lipoprotein) 下層が LDL +

HDL の層である。Tube Bでは, 上層が VLDL + LDL, 下層が HDL の層である。それぞれの層を Airfuge fractionator (Beckman 社) を用いて両チューブから吸引除去した。

上層を除去した下層の LDL + HDL と HDL の分画を攪拌後, 脂質定量を行った。先に定量した各脂質値 (コレステロール, 中性脂肪, リン脂質) から LDL + HDL 脂質値を引いて VLDL 脂質値を求め, LDL + HDL 脂質値から HDL 脂質を引き算して LDL 脂質値を求めた。

超遠心分析法 (Hatch 法⁴⁾ (図3))

<試薬の調整>

d = 1.006g/ml 溶液: 11.40gNaCl, 0.1g EDTA-2 Na を500ml の水と1ml の1N NaOH を加えて混和する。水を加えて1l とし, さらに3ml の水を加える (NaCl 0.195M)

d = 1.182g/ml 溶液: d = 1.006の溶液100ml に NaBr 24.98g を加える (NaCl 0.195M, NaBr 2.44M)

d = 1.478g/ml 溶液: d = 1.006の溶液100ml に NaBr 78.32g を加える (NaCl 0.195 M, NaBr 7.65 M)

<方法>

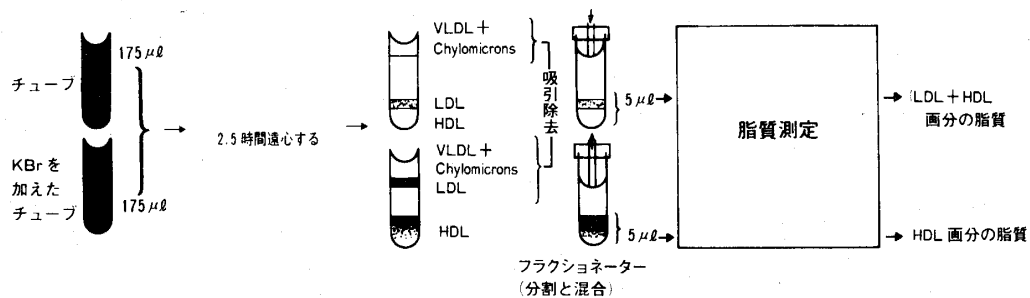


図 2. Lp42-Ti ローターを用いた血清リポ蛋白分離定量法

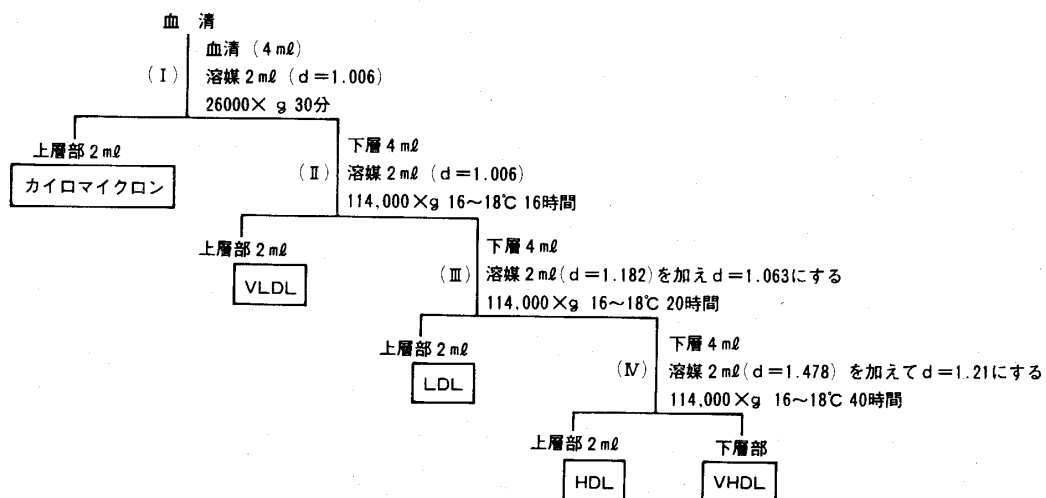


図 3. 超遠心 (Hatch 法) によるリポ蛋白分離法

表 2. 電気泳動法によるリポ蛋白分画法

厚さ0.4mm, 115mm×127mm の支持体に以下の成分を含有する

i) 精製アガロース	1%
ii) バルビタール	75mM
iii) NaOH	適量
iv) ショ糖	5%
v) EDTA・2Na	1mM
pH	8.6

泳動用緩衝液

Tricine-Li 緩衝液

i) Tricine	50mM⇌8.9g
ii) LiOH・H ₂ O(特級)	40mM⇌1.7g
iii) EDTA・2Na(特級)	1mM⇌370mg
iv) 精製水を加え, 1,000ml とする	
pH	8.6±0.05

2~10°C 保存, 1回泳動後再使用不可

染 色 法

リポタンパク質分画中のTL染色液-FAT RED

7B 染色法

①保存用染色液:

FAT RED 7B(シグマ)	300mg
メタノール(特級)	1,000ml
トライトンX-100(特級)	2.5ml

マグネットスターラーで1時間攪拌後, 37°C のふらん器に1夜放置して溶解したものを保存用染色液とする

②精製水

③染色液: 使用する30秒前に調整すること。①の保存染色液20ml と②の精製水4ml を小型ビーカーの中ですばやく混和したものを直ちに使用する

④固定・脱色液: メタノール: 精製水 = 2 : 1 の混合液

遠心 I

血清または血漿 4 ml を 6 ml の遠心チューブに入れ, この上に $d = 1.006$ の溶液を静かに重層する。キャップをし 19000rpm ($26000 \times g$) 30分室温で遠心する。

遠心後, 注射器で下の 4 ml を吸い取って別の遠心チューブに移す。残りの上層 2 ml には $d = 1.006$ 溶液 2 ml を静かに重層し, 再び 19000rpm ($26000 \times g$) で 1 時間遠心する。このようにして得られた上層 2 ml はカイロミクロン分画である。

遠心 II

遠心 I の下層 4 ml に新しい $d = 1.006$ の溶液を重層し, 40000rpm ($114,000 \times g$) で 16 時間遠心する (温度 16~18°C)。最上層の 1 ml は VLDL を含み, 正常血清で

は次の 1 ml にはほとんどリポ蛋白を含まない。

遠心 III

遠心 II の下層の 4 ml を新しいチューブに移し, $d = 1.182$ の溶液 2 ml を加えてよく混和する。 $d = 1.063$, 40000rpm (16~18°C) で 20 時間遠心する。上層の 2 ml は LDL 分画である。下層の 4 ml はまた新しいチューブに移す。

遠心 IV

遠心 III の下層 4 ml に $d = 1.478$ の溶液 2 ml を加えて混和 ($d = 1.21$ となる)。これを 40000rpm (16~18°C) で 40 時間遠心する。上層 2 ml は HDL を下層の 4 ml は VHDL と他の血清 (血漿) 蛋白を含んでいる。

遠心 I ~ IV で得られた上層部分と遠心 IV の下層部分はいずれも 10 l の 0.15M NaCl (0.001M EDTA 含有, pH 7.4) 中で, 18~24 時間室温にて透析した。

電気泳動法によるリポ蛋白分画

アガロース電気泳動装置を用い, 表 2 に示すような試薬を調整し行った。実験操作は既に報告されている方法⁹⁾でポル E フィルムの検体溝に血清 2~3 μ l を入れ 50 分間泳動を行った。70°C の乾熱器内で 20~30 分間乾燥し Fat Red 7B で 2 分間静置染色を行った。脱色液に 1 分間浸し, その後自然乾燥し, デンシトメトリーで泳動像を定量した。

結 果

1) Lp42-Ti 法によるリポ蛋白の分離 (図 4)

血清を予め Oil Red O で Prestaining を行い, その後 Lp42-Ti 法で超遠心を行った。図 4 (B) は KBr を含んだ tube の遠心後の像であり, (D) は KBr を含まない tube の遠心後の像である。(B) では top 部分に濃く, 下層に薄く染色される部分がみられ, (D) では top に細い band がみられ, 下層に濃く染色される部分がみられている。これらの top 部分を吸引除去後の下層を示したのが (A), (C) である。(B) tube の top には VLDL + LDL, (D) tube の top には VLDL がみられ, 下層と top の間には clear 層になっており分離が有効に行われたことを示している。

2) Lp42-Ti 法において分離された画分のリポ蛋白電気泳動法による泳動像 (図 5)

(A) は全血清の泳動像である。(B) は KBr を含まない tube の下層の泳動像であり, LDL と HDL のみが泳動されており, (C) は KBr を含む tube の下層を示しているが HDL のみが泳動されている。

3) リポ蛋白沈澱法による HDL コレステロール値と Lp42-Ti 法による分離と相関性

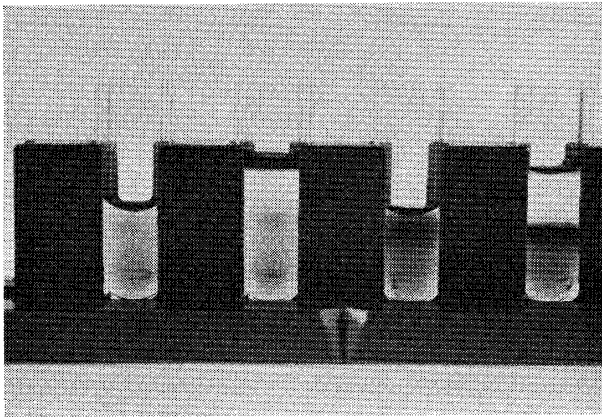


図 4. Lp42-Ti ローターによるリポ蛋白分画後の所見

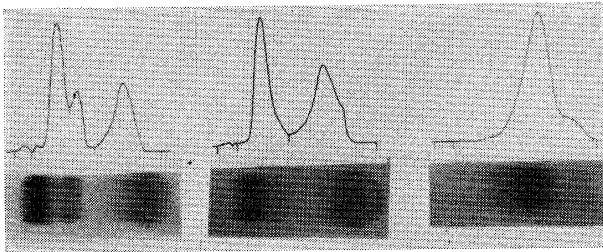


図 5. Lp42-Ti ローターによるリポ蛋白分画の電気泳動所見

沈澱法としてリンタングステン酸マグネシウム法を用い HDL コレステロールを測定した。図 6 に示すように両測定法における相関性は $y=0.98x+2.94$ で $r=0.891$ と高い相関性を示した。

4) Hatch 法による超遠心法と Lp42-Ti 法によるリポ蛋白分画の相関性 (図 7)

(A) VLDL コレステロール, (B) LDL コレステロール, (C) HDL コレステロール値の相関性を示している。VLDL コレステロールは $r=0.974$, LDL コレステロールは $r=0.975$, HDL コレステロールは $r=0.939$ と高い相関性を示した。

5) 年齢別にみた血中脂質値

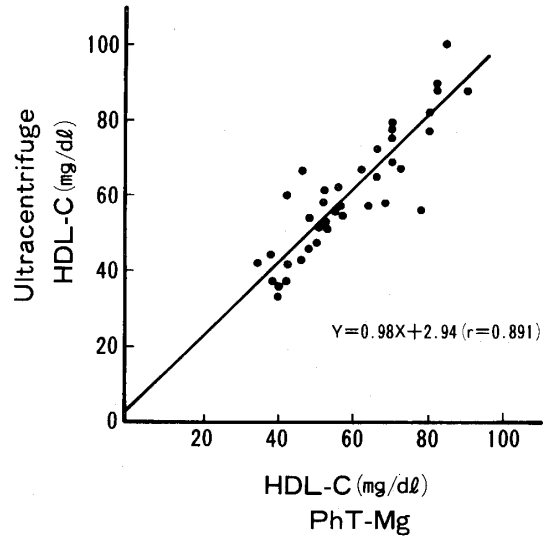


図 6. Lp42-Ti ローターを用いた方法と沈澱法による HDL-コレステロール値の相関性

健康者における総コレステロール, 中性脂肪, リン脂質の10歳毎の変動について示したのが表 3 である。総コレステロールは男で $191 \pm 30 \text{ mg/dl}$ 女で $198 \pm 34 \text{ mg/dl}$ であった。中性脂肪は男 $144 \pm 60 \text{ mg/dl}$ 女 $114 \pm 27 \text{ mg/dl}$ リン脂質は男 $205 \pm 32 \text{ mg/dl}$, 女 $211 \pm 43 \text{ mg/dl}$ であった。各脂質は年齢と共に上昇する傾向がみられたが有意な変化ではなかった。

6) 年齢別及び疾患別におけるリポ蛋白構成脂質

表 4 は VLDL, LDL, HDL に含まれる コレステロール, 中性脂肪, リン脂質量を年代毎に男女別に検討したものである。LDL コレステロールは男性では $111 \pm 29 \text{ mg/dl}$, 女性で $116 \pm 25 \text{ mg/dl}$ であった。HDL コレステロールは, 男性で $45 \pm 10 \text{ mg/dl}$, 女性で $52 \pm 11 \text{ mg/dl}$ で女性で高い傾向を示した。VLDL 中性脂肪は男性で $80 \pm 45 \text{ mg/dl}$, 女性で $80 \pm 22 \text{ mg/dl}$ であった。本研究で対象とした疾患群として MI, DM, CI, におけるリポ蛋白構成脂質値の変動について示したのが表 5 である。疾患群では VLDL, LDL のコレステロール, 中性脂肪

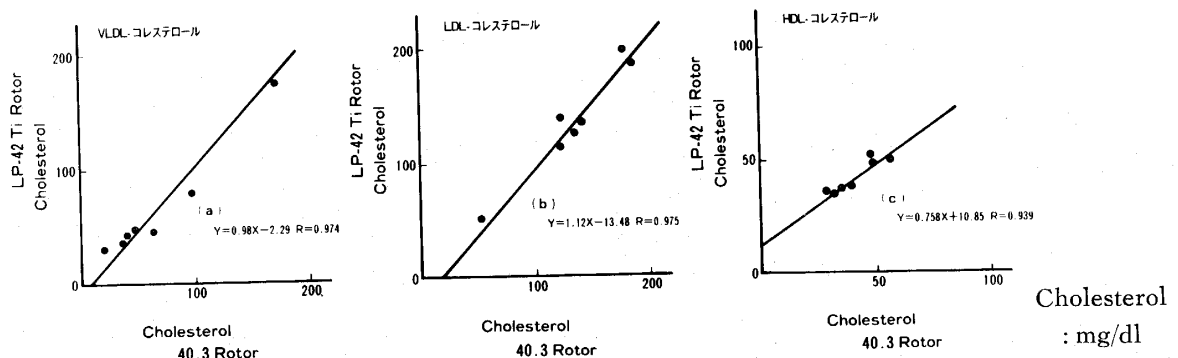


図 7. Hatch 法と Lp42-Ti 法によるリポ蛋白コレステロール値の相関性

表 3. 年齢別血清脂質値

Age		20-29	-39	-49	-59	60-	Total
n	male	19	17	48	28	14	126
	female	18	21	53	12	14	118
Total cholesterol	male	170±19*	180±32	194±29	199±28	186±38	191±30
	female	177±20	189±33	201±32	207±47	206±25	198±34
Triglyceride	male	128±36	133±38	142±71	157±58	141±26	144±60
	female	100±20	109±21	112±27	125±27	147±34	114±27
Phospholipid	male	191±21	194±31	203±28	221±35	209±33	205±32
	female	185±16	199±26	216±52	227±33	210±11	211±43

* mg/dl mean±SD

表 4. 年齢別リポ蛋白構成脂質値

Age	Sex	n	Cholesterol			Triglyceride			Phospholipid		
			VLDL	LDL	HDL	VLDL	LDL	HDL	VLDL	LDL	HDL
20-29	male	19	19±8*	108±22	44±15	87±36	17±4	25±4	23±12	82±15	87±13
	female	18	16±11	116±27	45±8	64±14	20±9	18±7	23±11	98±20	85±11
-39	male	17	22±8	119±23	49±12	83±37	25±16	26±8	17±8	88±19	89±17
	female	21	23±12	120±25	51±16	62±22	23±8	22±9	20±10	94±24	93±17
-49	male	48	29±14	123±32	49±12	92±60	25±12	26±17	23±11	93±21	91±16
	female	53	20±14	125±30	58±13	70±24	22±9	23±14	32±14	91±22	98±17
-59	male	28	31±10	121±20	47±10	97±54	29±14	33±13	35±16	92±18	95±17
	female	12	36±11	144±39	53±6	73±29	31±12	26±8	32±14	108±28	100±16
60-	male	14	29±5	110±31	48±12	83±26	28±11	32±13	27±7	93±17	90±18
	female	14	26±12	132±23	49±11	87±34	27±11	33±7	23±13	109±18	89±21

* mg/dl mean±SD

の上昇がみられ、それに比較してリン脂質の増加が少ない傾向を示した。HDL コレステロールの低下及び中性脂肪の上昇が特徴的であった。

7) 健常者における血清脂質値とリポ蛋白構成脂質値との相関

(1) 総コレステロールとリポ蛋白構成脂質の相関性 (表6)

総コレステロールと VLDL コレステロールの間には正の相関関係 ($r=0.4912$, $y=0.3677x-26.00$) がみられた。総コレステロールと LDL コレステロールの間には弱い正の相関関係が ($r=0.4487$, $y=0.4042x+23.55$) みられ、HDL-コレステロールとの間でも同様であった。 ($r=0.4270$, $y=0.1719x+17.51$) いずれも総コレステロールの変動に対してそれぞれのリポ蛋白の構成コレステロールの量の増加がみられているが、

その増加量を最も強く反映して増加するのは LDL であった。

(2) 中性脂肪とリポ蛋白構成中性脂肪

血清の中性脂肪とリポ蛋白構成中性脂肪の量との相関性では、VLDL-中性脂肪と最も高い相関関係を示し ($r=0.9387$, $y=0.8078x-43.77$), LDL-中性脂肪 ($r=0.1908$, $y=0.0451x+18.48$) との相関性はみられなかった。HDL-中性脂肪と中性脂肪の相関性 ($r=0.5402$, $y=0.1459x+26.96$) がみられた。

(3) リン脂質とリポ蛋白構成リン脂質 (表6)

血清リン脂質とリポ蛋白構成リン脂質の相関関係では、VLDL-リン脂質との間に最も強い相関関係を示し ($r=0.7058$, $y=0.6222x-84.14$) HDL-リン脂質と弱い相関性 ($r=0.4248$, $y=0.1872x+54.26$) を認めたが LDL-リン脂質 との間 ($r=0.2216$, $y=0.1247x$

表 5. 疾患群におけるリポ蛋白構成脂質値

		Control	M I	DM	C I
Cholesterol	VLDL	23±10*	44±26	37±16	25±10
	LDL	105±30	109±35	113±31	112±35
	HDL	52±12	42±12	48±17	43±11
Triglyceride	VLDL	91±22	140±77	118±55	117±51
	LDL	25±11	34±15	36±17	31±12
	HDL	26±8	34±15	36±17	31±12
Phospholipid	VLDL	45±20	29±15	31±18	28±9
	LDL	74±21	81±21	84±21	77±22
	HDL	74±21	87±29	81±21	77±22

* mg/dl, mean±SD

表 6. 健常者における血清脂質値とリポ蛋白構成脂質値との相関係数の比較

	VLDL	LDL	HDL
T C	0.4912	0.4487	0.4270
T G	0.9387	0.1908	0.5402
P L	0.7058	0.2216	0.4248

+46.75) にはみられなかった。

8) 疾患群における血清脂質値とリポ蛋白構成脂質値との相関性 (表 7)

(1) VLDL 画分と脂質

VLDL コレステロールと総コレステロールの相関性は健常群 ($r=0.491$) に比較して疾患群 (DM, $r=0.683$; MI, $r=0.709$; CI, $r=0.713$) でいずれも高い相関性を示した。中性脂肪とリン脂質は健常者と疾患群との間に相関性の差はみられなかった。

(2) LDL 画分と脂質

LDL コレステロールと総コレステロールの相関性は健常者 ($r=0.449$) に比較して疾患群 (DM $r=0.666$; MI $r=0.684$; CI $r=0.669$) でより高かった。中性脂肪と LDL・中性脂肪の相関性では心筋梗塞 (MI) で健常者 $r=0.191$ に比し $r=0.684$ で高くリン脂質は健常者 $r=0.222$ に比べて心筋梗塞 (MI) $r=0.669$ と

脳梗塞 (CI) $r=0.765$ で高い相関性を示した。

(3) HDL 画分と脂質

HDL 構成脂質と血清脂質値との相関性で健常群と疾患群で著明な差異は認めなかった。

考 察

血中脂質の上昇が動脈硬化性疾患の重要な危険因子の一つであることは多言を要しない。総計的に算出された血中脂質と虚血性心疾患の頻度との相関性やあるいは重症な家族性高コレステロール血症にみられる若年者の心筋梗塞の発生率が高い^{2,9)}ことや、あるいは高コレステロール食を投与した動物にみられる foam cell 形成¹⁰⁾などはそれらを裏付ける成績である。しかしながら日常臨床で個々の症例で血清脂質値の意義を検討する時、疾患との相関性が容易に判定出来ないことが多い。その理由には血清脂質を起源として形成される粥状硬化病変などが長時間を要することなどもあげられるが、血中脂質が動脈壁に蓄積して来るという機構が必ずしも明らかにされていないことにも由来する。血清脂質の血中での存在様式はリポ蛋白である。このリポ蛋白を比重の差によって分離すると大きく分けて VLDL, LDL, HDL に分けることが出来る。これらに含まれる脂質の絶対量と全体の脂質の絶対量との相関性と検討し動脈硬化性疾患の危険因子としての役割を一層明らかにしようと試み

表 7. 疾患群における血清脂質とリポ蛋白構成脂質値との相関係数

	DM			M I			C I		
	T C	T G	P L	T C	T G	P L	T C	T G	P L
VLDL	0.683	0.956	0.785	0.709	0.966	0.568	0.713	0.972	0.720
LDL	0.666	0.353	0.416	0.684	0.684	0.669	0.798	0.324	0.765
HDL	0.444	0.618	0.477	0.360	0.729	0.455	0.375	0.792	0.507

表 8. 血中脂質値とリポ蛋白構成脂質値との関連性

	T C	T G	P L
VLDL Control	0.368	0.807	0.622
DM	0.416	0.786	0.581
MI	0.525	0.861	0.447
CI	0.262	0.825	0.384
LDL Control	0.404	0.045	0.125
DM	0.439	0.095	0.193
MI	0.497	0.074	0.435
CI	0.627	0.054	0.384
HDL Control	0.172	0.146	0.187
DM	0.139	0.126	0.225
MI	0.055	0.066	0.110
CI	0.111	0.121	0.198

た。

日常臨床で行うためには短時間に多量の検体を測定する必要がある。従来の超遠心法では長時間を要し、沈澱法では HDL コレステロールのみが信頼性のあるものであったり、電気泳動法では相対的な値しか得られないなどの欠点があった。Lp-42Ti ローターを用いた測定法はリポ蛋白の分析の基本である超遠心法を用いており、遠心力を強くするためにローター直径を大きくし、検体を微量にした特徴を有している。この方法での測定値は従来の沈澱法や超遠心法と強い相関性を示していた。分析の有効性は電気泳動法と脂質の prestaining 法で確認された (図 4)。

血清脂質は近年食事の欧米化に伴い上昇している傾向がみられているが今回行った年齢別での検討では従来の報告と一致しており、年代別でも特に従来の報告²⁾と相違する対象ではなかった。リポ蛋白の分析では表 4 に示すように、年齢を増す毎に各リポ蛋白構成脂質の増加がみられた。

血清脂質の各リポ蛋白への分布は、リポ蛋白脂質値の血清脂質値への回帰方程式: $y = ax + b$ で表わされるがその a 値についてまとめたのが表 8 である。表で最も高値を示すのは血中中性脂肪の VLDL-中性脂肪への回帰である ($a = 0.786 \sim 0.861$)。これは、血清中性脂肪の上昇は VLDL-中性脂肪の上昇として最も強く表現されていることを示している。コレステロールの上昇は、いずれのリポ蛋白にも影響を及ぼしているが、他のリポ蛋白と比較して LDL にコレステロールの分布量が最も多いことから考えると LDL コレステロールが最も強く反映されていることを示している。しかし量としては少くとも他の

リポ蛋白においても血清脂質値と共に増加していることを示しており、臨床上考慮されるべきことである。本研究の疾患群におけるリポ蛋白構成脂質について述べたのが表 5 である。従来より、これらの疾患群におけるリポ蛋白の変動についてはいくつかの報告がある。それらを統一して語ることはその対象の重症度や年齢などの考慮が必要であり一概に比較する事は出来ない。そこでこれらの変動を動的にとらえる目的で血清脂質との間の相関性や回帰式の係数などにより考察してみた。この傾きは表 8 に示すように動脈硬化症と密接に関わりのある疾患群では、コレステロールの上昇と共に VLDL や LDL のコレステロールの上昇する度合が一層強くなることを示しており、atherogenic lipoprotein であることを裏付けている。正常群と疾患群で a 値を比較してみると、中性脂肪はどのリポ蛋白への分布も、疾患による変動はみられなかった。コレステロールでは、VLDL-コレステロールへの分布が MI で上昇するが、CI で低下し、LDL コレステロールへの分布が CI で上昇し、HDL-コレステロールへの分布が MI で低下していた。このことは、HDL-コレステロール低値の人に MI が多いというよく知られた事柄と考えあわせると興味深い。リン脂質では、正常群に比べて疾患群では VLDL への分布が減少して、LDL への分布が増加していた。リポ蛋白中のリン脂質分布の変動の意義については今後明らかにされねばならない問題であるがリン脂質は非極性脂質の代謝に重要な役割を果たしていると考えられており非極性脂質との比率なども検討されねばならない。また、血清脂質と各リポ蛋白脂質との相関について検討することで、どのようなリポ蛋白の代謝と疾患に関連しているかを探ることができる。総コレステロールは LDL、中性脂肪は VLDL と高い相関性を示していた。HDL の脂質値と血清脂質値との間に健常者と疾患群で相関性について差異はみられなかった (表 7)。コレステロールでは、LDL との相関性が強く CI 群で一層強い相関性 $r = 0.798$ を示した。HDL は総コレステロールの上昇とは非依存性の変動を示していると統計学的には考えられる。中性脂肪では疾患群との著明な差異を認めなかった。リン脂質では VLDL-リン脂質との相関性が MI, CI で低い傾向を示した。以上のことより今回検討した疾患におけるリポ蛋白脂質として測定する意義は次のように考えられる。1) DM では血清総コレステロール値の変動に加えて VLDL, LDL コレステロール値の改善を計ることが大切である事を示しており、中性脂肪、リン脂質はリポ蛋白の分布として検討する意義はリポ蛋白コレステロールを検討する程にはないことを示している。

2) MI では VLDL, LDL のコレステロールの変動との相関性が高く、又 中性脂肪では LDL-中性脂肪、リン脂質では LDL-リン脂質との相関性が高かった。a 値には著明な変動を示していないことを考え合わせると本疾患の危険因子としてはコレステロールでは VLDL, LDL に反映し LDL-リン脂質の変動を検討することが大切であると考えられる。

3) CI では LDL コレステロールとの相関性が健常者に比較して高くこれらの測定の重要性を示し、LDL-リン脂質との相関性が高くみられている。a 値に (表 7) 著明な変動を示していない。

おわりに

動脈硬化症の成因が多岐にわたることはよく知られている。単に血中コレステロールが高いということが重要な因子であるということに異存がないとしても個々の症例で考える時必ずしも直接的要因として考えるににくいこともしばしば経験する。そのようなことから、生体内における脂質代謝動態を考慮しリポ蛋白構成脂質として検討する臨床検査の方法を確立し、動脈硬化症疾患におけるそれについて検討を加えた。

本研究の遂行にあたり御指導を賜った恩師吉田尚教授並びに富山医科薬科大副学長熊谷朗教授に深甚の謝意を表します。更に直接御指導を賜った千葉大第二内科斎藤康講師、川鉄千葉病院松岡信夫博士に感謝致しますと共に研究に協力をいただきました千葉大第二内科並びに横浜市立病院の方々に深く感謝申し上げます。本論文は学位審査論文である。

本研究の一部は第 13 回日本動脈硬化学会 (久留米) にて報告した。

SUMMARY

To study the correlation between lipoprotein metabolism disturbances and atherosclerotic vascular diseases, an analytical method of lipoproteins used for routine clinical laboratory work was established using an LP 42-Ti rotor.

In patients with myocardial infarction (MI), very low density lipoprotein (VLDL $d < 1.006$)-cholesterol (chol) and triglyceride (TG) level were high, and high density lipoprotein (HDL $1.063 < d < 1.21$)-chol was low compared with those of the control subjects. In diabetic patients (type II) (DM), VLDL-chol and TG were increased. In patients with cerebral infarction (CI), HDL-chol was decreased.

To evaluate the distributional rate of each lipid into various lipoprotein fractions, a correlation factor and convergency of each lipid into lipoprotein subfractions were obtained.

In control subjects, TG was reflected mainly in VLDL. Cholesterol was reflected in LDL. Phospholipid (PL) was reflected in VLDL and HDL. In DM, MI and CI, total cholesterol (TC) was reflected in VLDL and LDL. In MI and CI, TC was reflected in VLDL and LDL. In MI and CI, cholesterol was not reflected in HDL. TG increase in MI or DM was reflected in VLDL and that of MI was in LDL. PL increase was reflected in VLDL in all three diseases. In DM, PL was not reflected in LDL and HDL. These results indicated that analysis of lipids in various lipoprotein fractions was useful for the evaluation of lipoprotein disorder in atherosclerotic cardiovascular disease.

文 献

- 1) Gofman, J. W., Lindgren, F. T. and Elliott, H.: Ultracentrifugal studies of lipoproteins of human serum. *J. Biol. Chem.* **179**, 973-979, 1954.
- 2) Fredrickson, D. S., Goldstein, J. L. and Brown, M. S.: The familial hyperlipoproteinemias, In "The metabolic basis of inherited disease", (ed by Stanbury, J. B. and Fredrickson, D. S.) 4th ed. p. 604-655, McGraw-Hill, New York, 1978.
- 3) Miller, G. J. and Miller, M. E.: Plasma-high-density-lipoprotein concentration and development of ischemic heart-disease. *Lancet* **1**, 16-19, 1975.
- 4) Hatch, F. T. and Lee, R. S.: Practical methods for plasma lipoprotein analysis. *Adv. Lipid Res.*, **6**, 1-68, 1968.
- 5) Burnstein, M. and Scholnick, H. R.: Lipoprotein-polyanion-metal interactions, *Adv. Lipid Res.*, **11**, 67-108, 1973.
- 6) Jackson, R. L., Morrisett, J. D. and Gotto, A. M. Jr.: Lipoprotein structure and metabolism. *Physiol. Rev* **56**, 259-316, 1976.
- 7) 秦葭哉, 重松 洋, 都島基夫, 及川考光, 山本実, 山内喜夫, 広瀬信善, 上野都代子: 超遠心法による血清リポ蛋白 VLDL, LDL および HDL コレステロールの健常者平均値. *動脈硬化* **9**, 767-777, 1981.
- 8) Hatch, F. T., Lindgren, F. T., Adamson, G. L., Jensen, L. C. and Wong, A. W.: Quantitative agarose gel electrophoresis of plasma lipoproteins: A simple technique and two methods for standardization. *J. Lab. Clin. Med.* **81**, 946-960, 1973.