

氏名(本籍)	鈴木 麻希子(大阪府)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第 652 号
学位授与日付	平成 18 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Increased plasma lipid-poor apolipoprotein A-I in patients with coronary artery disease
審査委員	(主査) 教授 清島 満 (副査) 教授 岡野 幸雄 教授 藤原 久義

論文内容の要旨

Pre- β 1-HDLは末梢からのコレステロールの逆転送に関与していることが知られている。これまでpre- β 1-HDLは交差免疫電気泳動、二次元電気泳動といった方法で測定されてきたが、これらの方法は非常に時間がかかり専門的技術が必要である。近年、high-performance size-exclusion chromatography (HP-SEC) によって人血漿のlipid-poor apolipoprotein A-I (lipid-poor apo A-I) を効率よく測定することが可能となった。本研究では、この方法を用いて冠動脈硬化性疾患患者のlipid-poor apo A-I濃度を測定し、さらにlecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT), cholesterol ester transfer protein (CETP) の影響を検討した。

[対象および方法]

インフォームドコンセントが得られた冠動脈硬化性疾患患者(男性:20名,平均年齢 64.0 ± 18 歳,女性:7名,平均年齢 70.3 ± 7.7 歳)と健常者(男性:15名,平均年齢 54.7 ± 17 歳,女性:9名,平均年齢 65.1 ± 4.7 歳)を対象に行った。血液は、EDTAの入った採血管に採取し、血漿分離しHP-SECにアプライした。血漿は分画範囲が分子量10,000~600,000のSuperdex 200 HR 10/30と分画範囲が分子量3,000~70,000のSuperdex 75 HR 10/30のカラムを直列に連結したHP-SECを用いた。流出bufferは、150 mM NaClを含む50 mM Tris-HCl (pH 7.4)を用い、0.5mlずつ分取した。各分画は一次抗体に抗ヒトapo A-Iモノクローナル抗体、二次抗体に酵素標識抗ヒトapo A-Iモノクローナル抗体を用い、apo A-I濃度をELISA法にて測定した。

[結果]

- 1) HP-SECによる典型的なapo A-Iのプロファイルは、主要なピークは46分に、小さなピークが53分に見られ、その二つのピークは51分で明確に分離された。
- 2) 超遠心法により調整した比重 1.21 kg/L 以上の分画をHP-SECで溶出すると、血漿と同様に51分から56分にapo A-Iのピークが見られた。この51分から56分に溶出されたfraction中のapo A-Iの二次元電気泳動の移動度は既報のpre- β 1-HDLとほぼ一致しており、lipid-poor apo A-Iと考えられた。
- 3) Lipid-poor apo A-Iの分子量はHP-SECのキャリブレーションの結果からおおよそ55,000であると考えられた。
- 4) 血漿lipid-poor apo A-Iは不安定で、 4°C で保存するとその濃度は時間とともに増加したが、 -80°C では一週間安定であった。
- 5) 血漿lipid-poor apo A-I濃度は、男性および女性とも健常者に比べ、冠動脈硬化性疾患患者で有意に上昇していたが、血清CETP濃度およびLCAT活性は有意差が見られなかった。
- 6) 血漿lipid-poor apo A-I濃度は、pre- β 1-HDL, CETPおよびLCATと相関しなかった。
- 7) in vitroの実験で、血漿lipid-poor apo A-I濃度はLCAT inhibitorの添加によって影響されなかった。

[考察]

血漿lipid-poor apo A-I濃度は、冠動脈硬化性疾患患者で健常者に比べて有意に上昇しており、動脈硬化の指標となることが示唆された。

Lipid-poor apo A-Iの分子量はおよそ55,000で、pre- β 1-HDLの67,000から75,000という過去の報告よりいくらか小さかった。また、血漿lipid-poor apo A-Iと血漿中のtotal apo A-Iに対するlipid-poor apo A-Iの％は、それぞれ 28 ± 7 mg/L, 2.6 ± 0.8 %であり、既に報告されているpre- β 1-HDLの60~80mg/L, 4~8%より低値であった。これらのことから、lipid-poor apo A-Iはpre- β 1-HDLと同一の粒子ではないが、少なくともpre- β 1-HDLの一部であろうと考えられた。

Pre- β 1-HDLは、LCATによって減少し、CETPによって増加することが知られているが、本研究でLCATとCETPは、冠動脈硬化性疾患患者と健常者で差がなく、血漿lipid-poor apo A-I濃度と相関しなかった。また、in vitroの実験で、血漿lipid-poor apo A-IはLCAT inhibitorの添加によって変化しなかったことから、LCATおよびCETPによって影響されないことが示唆された。その一方で、lipid-poor apo A-Iは、pre- β 1-HDLと同様にHDL-cholesterolと負の相関をし、中性脂肪と正の相関を示した。Pre- β 1-HDLはhepatic lipaseおよびlipoprotein lipaseの影響も受けることから、lipid-poor apo A-I濃度もこれらの酵素によって変化する可能性が考えられる。また、ATP-binding cassette transporter (ABC1) 活性の低下は、mature HDLの形成を阻害し、血漿lipid-poor apo A-Iを蓄積させることが報告されているので、冠動脈硬化性疾患ではABC1活性が低下している可能性も考えられた。

論文審査の結果の要旨

申請者 鈴木麻希子は、血漿lipid-poor apo A-I をhigh-performance size-exclusion chromatography (HP-SEC) によって分画し、抗ヒト apo A-I抗体を用いたELISA法にてその濃度を測定した。血漿lipid-poor apo A-Iは、pre- β 1-HDLよりも小さい小粒子HDLであり、冠動脈硬化性疾患で有意に増加していることから、動脈硬化の指標となり得る可能性を示した。この結果は、HDL代謝の解明および動脈硬化学の発展に少なからず寄与するものである。

[主論文公表誌]

Increased plasma lipid-poor apolipoprotein A-I in patients with coronary artery disease
Clin Chem 51, 132-137 (2005).