高脂血症と血漿 Lecithin-Cholesterol Acyltransferase 活性*

藤井 靖久 清水 能人 鴨井 正樹
河内 光男 菊池 武久 水川 士郎
瀬崎 達雄 木畑 正義**

動脈硬化症を有する高脂血症患者および実験的高脂血症家兎を中心に、血漿 Lecithin-Cholesterol Acyltransferase 活性を測定し、血中脂質濃度との関係から、高脂血症における本酵素の意義について検討した。

本酵素活性は ^{14}C -free cholesterol を用いた赤沼らの方法に従って測定したが、正脂血の動脈硬化症群では健常群に比して本酵素活性は低下していたが、高脂血症群では健常群と同様の活性値であった。血中脂質濃度と本酵素活性との関係を検討したところ、高脂血および正脂血の動脈硬化症症例では、本酵素活性と中性脂肪、pre β リポ蛋白百分率および肥満度との間に有意の相関関係がみられた。ラノリン投与による高脂血症家兎でも、対照家兎に比して、本酵素活性は有意に亢進していた。以上の成績から、本酵素は血中脂質の濃度に適応して、脂質の担送に重要な機能を果たしているものと考えられる。

I. 緒 言

1935 年 Sperry¹⁾ がヒト血漿中に、遊離コレステロール (以下 FC と略す) をエステル化する酵素が存在することを報告した。その後 Glomset ら^{2,3)} の研究により、血漿中のコレステロールエステル化酵素はレシチン β 位の脂肪酸を FC の水酸基に転移する一種の脂肪酸転移酵素であることが明らかにされ、その酵素は Lecithin-Cholesterol Acyltransferase (以下 LCAT と略す) と呼ばれた。本酵素は生理的機能として、肝と末梢組織との間で、高密度リポ蛋白を介してコレステロールの担送に関係していると考えられている³⁾。さらに興味あることは、Norum ら⁴⁾ の発見した本酵素欠損症の三姉妹に著明な高脂血症がみられたことである。

したがって高脂血症と本酵素反応との関係は、きわめて注目すべき問題であると考えられるので、高脂血症を伴った動脈硬化症患者を中心に本酵素活性を検討した。

II. 対 象

健常群として健康な青年男女 18 例、糖尿病群として

糖尿病患者 20 例、動脈硬化症群として正脂血の動脈硬化症 7 例、高脂血症群として 14 例 (高脂血の動脈硬化症 8 例、本態性高中性脂肪血症 3 例、侏儒症にみられた高中性脂肪血症 1 例、慢性膵炎における高コレステロール血症 1 例) 計 59 例である。

高脂血症は①総コレステロール (以下 TC と略す) 240 mg/dl 以上、②中性脂肪 (以下 TG と略す) 150 mg/dl 以上いずれか一つ以上を有するものと定義した。また体重 3 kg 前後の雄性家兎に 2% Lanolin 含有オカラ食を 45 日間与え、高脂血症家兎を作製し実験に供した。

III. 実験方法

1. 血漿 LCAT 活性測定方法

ヒト血漿 LCAT 活性の測定は赤沼ら⁵⁾の方法に従った。すなわち 56°C 30 分加熱、非活性化した正常ヒト血漿 1 ml, $4\text{-}^{14}\text{C}$ -FC albumin emulsion 0.2 ml (1×10^5 CPM), EDTA $5\mu\text{mol}$, Mercaptoethanol $10\mu\text{mol}$ を被検血漿 0.1 ml とともに 37°C 6 時間 incubate した。その後、総脂質を Chloroform: Methanol 2:1 で抽出し、thin layer chromatography で主要脂質分画に分ち、EC への ^{14}C 放射活性の取り込みを liquid scintillation counter で測定した。

家兎血漿 LCAT 活性の測定は、正常家兎の血漿を 56°C 30 分加熱、非活性化し、 ^{14}C -FC と 37°C で incu-

*本論文の要旨は、第13回日本老年医学会総会で発表。

**Y. Fujii, Y. Shimizu, M. Kamoi, M. Kawauchi, T. Kikuchi, S. Mizukawa, T. Sezaki, M. Kibata: 岡山大学医学部第2内科: 岡山市鹿田町2の5の1。

受付: 1972年3月6日。

bate し, 1.2×10^5 CPM/ml plasma を作製した. この ^{14}C -FC-plasma 1cc に被検血漿 0.2ml, EDTA 5 μ mol, Mercaptoethanol 10 μ mol を加え, 以下ヒトの場合と同様に操作した. LCAT 活性としては, ① ^{14}C -FC の EC への ^{14}C 取り込み百分率(%/0.1ml plasma/6hrs) と ②非活性化ヒト血漿および被検血漿の FC 量と ^{14}C 取り込み百分率から, 被検血漿 1ml, 1時間における EC 生成量 ($\mu\text{g/ml plasma/h}$) を計算式で求め, initial rate として表現した.

2. 血清各種脂質測定方法

総脂質 (以下 TL と略す) は Bragdon 法¹³⁾, TG は春日氏法¹⁴⁾, 磷脂質 (以下 PL と略す) は日本商事社製 PL キット¹⁵⁾, TC および FC は日本商事社製 TC¹⁶⁾および FC¹⁷⁾キットにより測定した. EC は TC-FC, ester 比は $\text{EC} \div \text{TC}$ の計算式で算出した. リポ蛋白分画は celluloseacetate 膜を用いた電気泳動法によった.

IV. 実験成績

1. LCAT 活性測定方法に関する検討

Incubation time と EC への ^{14}C 放射活性の取り込みとの関係は図 1 に示すごとく, 8 時間まで直線的に増加することが明らかとなった. この測定方法における再現性を同一被検血漿で検討したところ, LCAT 活性 (%/0.1ml plasma/6 hrs) = 2.16 ± 0.19 (mean $\pm$ S. D.), 変動係数 = 8.84% であった.

2. 臨床実験成績

図 1. CE への ^{14}C 取り込みと incubation 時間

1) 被検症例別血清各脂質値

被検症例別血清各脂質値は表 1, 図 2 に示すごとくであるが, 高脂血症群は健常群に比し, TG は 244mg/dl と著明に増加しているが, PL は 242mg/dl, TC は 244mg/dl とわずかに増加している. 高脂血症群の中で, 高 TC 血症は 4 例 (240~369mg/dl), 高 TG 血症は 5 例 (265~462mg/dl), 高 TG および TC 血症は 5 例 (TC は 170~300mg/dl, TG は 154~400 mg/dl) であった. なお高脂血症群の中で, 動脈硬化症を有する 8 症例の血清 TC は 169~369mg/dl, TG は 94~323mg/dl であった.

2) 被検症例別血漿 LCAT 活性値 (表 2, 図 3)

血漿 LCAT 活性 ($\mu\text{g/ml plasma/h}$) の平均値を症例

表 1. Plasma lipid concentration which were investigated

Group	Plasma lipid concentration (mg/dl)					
	Total lipids	Triglyceride	Phospholipids	Cholesterol		
				Total	Free	Esterified
Control	582 $\pm$ 87* (14)**	99 $\pm$ 18 (14)	175 $\pm$ 23 (14)	162 $\pm$ 29 (14)	35 $\pm$ 8 (14)	129 $\pm$ 29 (14)
Diabetes mellitus	607 $\pm$ 161 (15)	145 $\pm$ 57 (15)	205 $\pm$ 36 (15)	178 $\pm$ 51 (20)	45 $\pm$ 17 (20)	133 $\pm$ 44 (20)
Arteriosclerosis	536 $\pm$ 79 (7)	121 $\pm$ 22 (7)	199 $\pm$ 25 (7)	185 $\pm$ 16 (7)	61 $\pm$ 21 (7)	124 $\pm$ 26 (7)
Hyperlipidemia	891 $\pm$ 149 (12)	244 $\pm$ 111 (12)	242 $\pm$ 33 (12)	244 $\pm$ 51 (14)	62 $\pm$ 16 (14)	182 $\pm$ 51 (14)

Arteriosclerosis: normolipidemic subjects with arteriosclerosis

Hyperlipidemia: essential hyperlipidemic subjects with or without arteriosclerosis

* S. D. ** numbers of samples

図 2. 被検症例別血清各種脂質値

図 3. 症例別 LCAT 活性および approximate turnover time of esterified cholesterol (記号は図 2 と同様)

表 2. Plasma LCAT activity and approximate turnover time of esterified cholesterol

Group	LCAT activity		approximate turnover time of esterified cholesterol (hours)
	%/0.1 ml plasma/6 hrs	μg/ml plasma/h	
Control (18)**	2.65±0.55*	19.0±3.1	69±15
Diabetes mellitus (20)	2.23±0.69	15.8±5.8	86±27
Arteriosclerosis (7)	2.10±0.38	15.8±3.3	83±24
Hyperlipidemia (14)	2.33±0.63	17.5±4.3	112±38

* S. D. ** numbers of samples

別にみると、健常群は 19.0μg、糖尿病群は 15.8μg、動脈硬化症群は 15.8μg、高脂血症群は 17.5μg (動脈硬化

症を有する 8 症例の平均値は 18.8μg) であった。

LCAT 活性は糖尿病群と動脈硬化症群で、やや低下の傾向がみられるも、高脂血症群では、健常群とほぼ同様の活性値であった。LCAT 活性 (%/0.1 ml plasma/6hrs) でみても同様の傾向がみられた。

3) EC の approximate turnover time (表 2, 図 3)

高橋⁶⁾の提唱に従って、血清中の EC がすべて本酵素反応により生成されると仮定して、EC の turnover time を求めてみると、高脂血症群では、健常群に比しやや延長傾向がみられた。

4) 血漿 LCAT 活性と血清脂質および肥満度との関係 (図 4, 5)

各症例別に本酵素活性と血清各脂質値との相関を検じた。糖尿病群では、本酵素活性と EC 量との間に $r=0.4395$ ($n=20$, $p<0.05$) で有意の相関関係がみられた。

正脂血および高脂血の動脈硬化症例では、本酵素活性と EC とは有意の相関はみられず、TL とは $r=0.7339$ ($n=15$, $p<0.005$), TG とは $r=0.8447$ ($n=15$, $p<0.001$) で有意の相関関係がみられた。また、リポ蛋白分画では、pre β リポ蛋白百分率と本酵素活性との間に $r=0.7908$ ($n=12$, $p<0.01$) で有意の相関がみられた。

肥満度 (体重÷標準体重 [(身長-100)×0.9]) と本酵素活性との関係は、正脂血および高脂血の動脈硬化症例では、 $r=0.6101$ ($n=8$, $p<0.05$) で有意の相関がみられた。

3. 動物実験成績: 実験的高脂血症家兎における血清脂質と LCAT 活性 (表 3)

Lanolin 投与群では、対照群に比して TC, EC, FC が 10 倍以上の高値を示したが、PL では約 4 倍、TG

図 4. 動脈硬化症例の LCAT 活性と総脂質、中性脂肪および pre-β リポ蛋白百分率との関係

図 5. 動脈硬化症例の LCAT 活性と肥満度との関係

は軽度増加しているにすぎなかった。血漿 LCAT 活性の平均値は、対照群 $15.4 \mu\text{g/ml plasma/h}$ に対し、Lanolin 投与群では $32.6 \mu\text{g}$ と活性亢進を示した。

V. 考 案

Glomset³⁾ によれば血漿 LCAT は肝で生成されるが、その酵素活性は他の組織よりも血漿中でもっとも高く、血中 EC の大部分は本酵素反応により生成されると考えられ、LCAT の生理的機能は末梢組織から肝へコレステロールを担送する役割を有すると推測されている。

表 3. Lanolin 負荷家兎における血清脂質および LCAT 活性

Lipids mg/dl	Control 群 (mean±SD)	Lanolin 群 (mean±SD)
TL	344±117	2406±700
TG	112±47	180±58
PL	103±33	469±121
TC	85±28	1045±346
FC	26±13	331±123
EC	58±29	713±331
EC/TC (%)	65±20	66±9
LCAT $\mu\text{g/ml/h}$	15.4±3.4 (n=13)	32.6±12.0 (n=7)

我々の成績についてみると、動脈硬化症群では、健常群に比し、LCAT 活性の低下傾向がみられたが、その意義は明らかでない。一方、西原⁷⁾によると、動脈硬化症ではコレステロールエステル化能は低下している。我々の成績および西原のそれについても、加齢による影響も考慮する必要があると思われる。

高脂血症群では、健常群とはほぼ同様の活性値を示した。すでに高橋^{6,9)}は本態性高 TC 血症では本酵素活性は亢進するが、高 TG 血症では本酵素活性は正常範囲であったと報告しており、今回我々が扱った高脂血症は TC の増加の程度が少なく、TG の増加が著明であったために、高脂血症群と健常群との間で、本酵素活性の差

がみられなかったものと考えられる。

血清脂質と本酵素活性との関係については2, 3の報告が知られているが, Monger⁸⁾らは生理的範囲内での血漿コレステロール濃度とLCAT活性とが相関すると報告している。また, 武藤⁹⁾は肝疾患において, 血清EC量と本酵素活性は有意の相関がみられたと報告している。我々の成績でも, 糖尿病群では血清EC量と本酵素活性は有意の相関を示した。

一方, 高脂血症の有無にかかわらず, 動脈硬化症例(15例)のみにしてみると, 本酵素活性はEC量とは有意の相関を示さなかった。血中EC量はLCAT反応以外にも種々の因子によって規制されているためと考えられる。ところが, 本酵素活性はTL, TG, pre β リポ蛋白百分率および肥満度と有意の相関を示したのであり, この点はきわめて興味ある成績と考えられる。

ところで, *in vivo*におけるECのturnoverは*in vitro*における血漿LCAT活性(EC生成量)とよく一致する⁹⁾ことから, 本酵素活性値はECのturnoverを示すものと考えられている^{3, 10)}。Nestelら¹⁰⁾の*in vivo*におけるECのturnoverの研究によると, ECのturnoverは血漿中のTC, TGおよび体重と有意の相関を示すことから, ECの生理的機能はコレステロールのみならず脂質全体の担送に与るものと推測している。したがって我々の成績にみるごとく, 動脈硬化症例において, 本酵素活性と中性脂肪および肥満度と有意の相関がみられたことは, 本酵素活性がECのturnoverをコントロールするという点から, Nestelらの*in vivo*における成績を支持するものであると考える。

次にリポ蛋白と本酵素活性との関係は, きわめて重要であるが, 本酵素は高比重リポ蛋白との親和性が強いことから, リポ蛋白の変化が本酵素活性を修飾する可能性が考えられている。赤沼¹¹⁾によると, 本酵素の結合能は高比重リポ蛋白>超低比重リポ蛋白>低比重リポ蛋白の順序であり, 超低比重リポ蛋白の増加した血漿では, 超低比重リポ蛋白がcompetitive inhibitorとなり, LCAT反応を抑制する可能性を推測している。しかしながら, 我々の成績では, 高脂血症の有無にかかわらず動脈硬化症例において, 本酵素活性とpre β リポ蛋白百分率との間に相関がみられたことから, 電気泳動上の分類であるpre β リポ蛋白は超遠沈での超低比重リポ蛋白に一致するとみなされているので, 超低比重リポ蛋白がLCAT活性のinhibitorとなっている可能性は少ないものと考えられる。

次にLanolin投与によって家兎に外因性の高脂血症を惹起せしめると, 実験成績のごとく本酵素活性は亢進する。臨床例の場合と同一に論ずることはできないが, Lanolinによって起こった高コレステロール血の状態を, 血中脂質のturnoverを促進させることによって改善しようとする生体のhomeostasisのあらわれであると考えられると興味深い。高脂血症の場合といえども, そのLCAT活性は一樣でなく, 基礎疾患により異なっていると考えられる。たとえば, 本酵素欠損症の三姉妹例⁴⁾, 閉塞性黄疸¹²⁾および甲状腺機能低下症⁷⁾では, 本酵素活性の低下が高脂血症の一因になっていると考えられている。しかるに動脈硬化症にみられる高脂血症および家兎の高TC血症の場合の本酵素の意義は, 内因性, あるいは外因性に生じた高脂血の状態を改善すべく, 肝と末梢組織との間で血中脂質の担送すなわちturnoverを促進しようとする生理的な適応がみられることにあると考えられる。

VI. 結 論

正脂血および高脂血症の動脈硬化症症例および実験的高脂血症家兎を中心に血漿LCAT活性を測定し, 血中脂質濃度と比較検討し, 以下の結論を得た。

1) 正脂血症の動脈硬化症群では, 健常群に比し, 本酵素活性低下の傾向がみられたが, 高脂血症群では健常群とはほぼ同様の活性値を示した。

2) 高脂血症の有無にかかわらず動脈硬化症症例のみにしてみると, 本酵素活性は中性脂肪, pre β リポ蛋白百分率および肥満度と有意の相関を示した。

3) 実験的高脂血症家兎では, 対照家兎群に比して, 本酵素活性は有意に亢進していた。

以上のことから, 本酵素は血中脂質の濃度に適応して, その担送に重要な機能を果たしていると考えられる。

ご校閲いただいた恩師平木潔教授に深謝する。

文 献 1) Speery, W. M.: Cholesterol esterase in blood, J. Biol. Chem. **111**: 467, 1935. 2) Glomset, J. A. & Parker, F. et al.: The esterification *in vitro* of free cholesterol in human and rat plasma, Biochem. Biophys. Acta **58**: 398, 1962. 3) Glomset, J. A.: The plasma lecithin-cholesterol acyltransferase reaction, J. Lipid Res. **9**: 155, 1968. 4) Norum, K. R. & Gione, E.: Familial serum cholesterol esterification failure, A new inborn error of metabolism, Biochimica et Biophysica Acta **144**: 698, 1967. 5) 赤沼安夫,

林正紀：糖尿病患者における LCAT 活性について，糖尿病 **13**: 19, 1970. 6) 高橋善弥太：第11回日本脂質生化学研究会，特別講演，札幌，1969. 7) 西原久司：血漿 cholesterol ester 化能について——臨床的並びに実験的考察——日老医誌 **6**: 308, 1969. 8) Monger, E. A. & Nestel, P. J.: Relationship between the concentration and the rate of esterification of free cholesterol by the plasma esterification system, Clin. Chim. Acta **15**: 269, 1967. 9) 武藤泰敏，深沢敏男ほか：肝疾患における血漿 lecithin-cholesterol acyltransferase 活性の測定，肝臓 **9**: 167, 1968. 10) Nestel, P. J.: Turnover of plasma esterified cholesterol: Influence of dietary fat and carbohydrate and relation to plasma lipids and body weight, Clin. Sci. **38**: 593, 1970. 11) 赤沼安夫，原田幸子ほか：Lecithin-Cholesterol Acyltransferase と血漿リポ蛋白との反応機構について，日本脂質生化学研究 1970, p. 173. 12) Gjone, E. &

Norum, K. R.: Plasma lecithin cholesterol acyltransferase and erythrocyte lipids in liver disease, Acta Med. Scand. **187**: 153, 1970. 13) Bragdon, J. H.: Colorimetric determination of blood lipides, J. Biol. Chem. **190**: 513, 1951. 14) 青砥玉江，春日誠次：血清トリグリセリド（中性脂肪），臨床病理，臨時増刊第19号：52, 1972. 15) Hoeflmayr, J. & Fried, R.: Eine Methode zur routinemäßigen Bestimmung des Lipidphosphorus und der Phosphatide, Medizin und Ernährung **7**: 9, 1966. 16) Richterich, R. & Lauber, K.: Bestimmung des Gesamt-Cholesterins im Serum VIII. Mitteilung über Ultramikromethoden im klinischen Laboratorium, Klinische Wochenschrift **40**: 1252, 1962. 17) Hoeflmayr, J. & Fried, R.: Eine rasch durchführbare Methode zur Bestimmung des freien Cholesterins, Med. Welt. **38**: 2015, 1964.

Abstract

Plasma Lecithin-Cholesterol Acyltransferase Activity in Hyperlipidemia

Yasuhisa Fujii, M. D., Yoshito Shimizu, M. D., Masaki Kamoi, M. D.,
Mitsuo Kawauchi, M. D., Takehisa Kikuchi, M. D., Shiro Mizukawa, M. D.,
Tatsuo Sezaki, M. D. & Masayoshi Kibata, M. D.*

Recent evidences indicate that the plasma enzyme lecithincholesterol acyltransferase (LCAT) can convert circulating free cholesterol to esterified cholesterol.

The present study was performed to evaluate the significance of the plasma LCAT activity in hyperlipidemic patients with arteriosclerosis (cholesterol 258 ± 55 mg/dl, triglyceride 192 ± 81 mg/dl) and lanolin-induced hyperlipidemic rabbits (cholesterol 1045 ± 346 mg/dl).

Plasma LCAT activity was assayed by measurement of the ability of plasma to esterify ^{14}C -labelled free cholesterol.

This activity (μg of cholesterol esterified per ml plasma per hour) was 19.0 ± 3.1 μg in control subjects, 15.8 ± 3.3 μg in normolipidemic subjects with arteriosclerosis (cho-

lesterol 185 ± 16 mg/dl, triglyceride 121 ± 22 mg/dl) and 18.8 ± 3.6 μg in hyperlipidemic subjects with arteriosclerosis.

In arteriosclerotic subjects with and without hyperlipidemia, the LCAT activity was significantly correlated with the plasma concentration of triglyceride ($r=0.8447$, $p<0.001$), the percentage of pre β lipoprotein ($r=0.7908$, $p<0.01$) and obesity index ($r=0.6101$, $p<0.05$).

Plasma LCAT activity in lanolin-induced hyperlipidemic rabbits was higher than in normolipidemic rabbits.

These findings suggest that the plasma LCAT may play a important role on lipid transport in response to plasma lipid concentration.

*2nd Department of Internal Medicine Okayama University Medical School (Director: Prof. Kiyoshi Hiraki).