高齢者における *d,l*- α -tocopheryl nicotinate の投与による血清 HDL-cholesterol の上昇機構について*

高 松 滋** 佐 藤 敬** 作 田 茂**
水 野 成 徳** 高 松 む っ***

I. はじめに

近年の欧米における疫学調査の成果によって虚血性心臓疾患の発生に HDL-cholesterol の低値が大きなかわりを持っていることが広く知られるようになった¹⁻³⁾。Tocopherol には血清の HDL-cholesterol を高める働きがあることを示す報告がみられ、虚血性心臓疾患をはじめ動脈硬化性疾患の予防や治療に tocopherol は有用と考えられる。そこで、高齢者に tocopherol の製剤である *d,l*- α -tocopheryl nicotinate を投与した際の血清の HDL-cholesterol の変化を、placebo の投与と比較しながら観察し、さらに、血清の tocopherol や他の脂質の濃度との関係を調べ、tocopherol の投与がどのような形で HDL-cholesterol に影響を及ぼしているかを考えてみた。

II. 方 法

青森県内の某老人ホームの居住者の中から日常生活に不自由がなく、しかも脂質代謝に影響を及ぼす薬剤や vitamin 剤の投与を受けていない26例の高齢者を被検対象に選んだ。試験期間は24週とした。被検対象のうち、14例には *d,l*- α -tocopheryl nicotinate (TN) 100 mg を含むカプセルを食後に1カプセル、1日3回投与し、これを TN 群とし、12例には TN を含むカプセルと同型、同大、同配色の placebo を TN 群と全く同様の方法で投与し、これを P 群とした。TN 群と P 群の平均年齢は

76.4歳 (69~84歳) と 77.5歳 (70~88歳) で、両群間に差はみられなかった。TN 群には高血圧が9例、尿蛋白陽性が4例、尿糖陽性例はなく、肥満が1例みられた。心電図異常は10例 (ST-T 低下8, 陳旧性心筋梗塞1, 心房細動1) にみられた。P 群には高血圧が8例、尿蛋白陽性が3例、尿糖陽性が2例みられ、肥満はなく、心電図異常は8例 (すべて ST-T 低下) みられた。これらの異常所見の出現頻度は推計学的に両群間に有意差がみられなかった。

採血は薬剤投与開始時、投与後8, 16, 24週の4回、いずれも早期空腹時に行い、測定者に被検血清が TN 群、P 群のいずれに属するかを伏せて測定を進めた。Tocopherol (TOC) は阿部、勝井⁴⁾の方法、過酸化脂質 (LPO) は Satoh の方法⁵⁾、総 cholesterol (TCh) と triglyceride (TG) は酵素法により測定した。HDL-cholesterol (HDL-Ch) は被検血清に heparin-CaCl₂ 溶液を加えて生じる混濁を遠心した上清中の Ch を OPA 法により測定した。また、この際、TCh 中に含まれる HDL-Ch の割合 (HDL-Ch/TCh) を算出し、これを R と表現した。

III. 成 績

1. 投与開始時における測定値

Table 1 にわれわれの20~30歳の健康人についての測定値とともに全被検対象の投与開始時の測定値を示した。被検対象では20~39歳の健康人に比べて TOC, LPO, TCh, TG が有意に高値で HDL-Ch, R は有意に低値であった。また、TN 群と P 群とを比較すると、薬剤投与後の経時的変化を示した Table 2 から明らかなように P 群の

* 1981年5月、第13回日本動脈硬化学会において発表

** 弘前大学医学部附属脳卒中研究施設病態生理部門

*** 同 教育学部養護学科

Table 1 Values of subjects at the beginning of the administration

		Subjects examined	Healthy subjects aged 20-39
Tocopherol	mg/dl	1.19±0.38 (26)***	0.87±0.23 (70)
Lipid peroxide	n.mol/ml	3.91±0.68 (26)**	3.41±0.75 (73)
Total cholesterol	mg/dl	217±40.2 (26)***	170±23.0 (54)
HDL-cholesterol	mg/dl	52±13.8 (26)**	67±22.1 (54)
R		0.25±0.07 (26)***	0.40±0.14 (54)
Triglyceride	mg/dl	136±59.0 (26)**	97±53.9 (54)

( ): Number of cases

R : HDL-cholesterol/total cholesterol

** and ***: significant difference compared with values of healthy persons aged 20-39, p<0.01 and p<0.001.

Table 2 Changes of serum lipids and tocopherol after the administration

		Group	Before	8 week	16 week	24 week
Tocopherol	mg/dl	TN	1.19±0.36	1.59±0.49*	1.89±0.53***	1.93±0.55***
		P	1.19±0.41	1.25±0.25	1.23±0.36	1.32±0.35
Lipid peroxide	n.mol/dl	TN	3.86±0.72	2.53±1.08***	2.31±0.62***	2.33±0.65***
		P	3.97±0.66	3.53±0.75	3.93±0.86	4.03±0.82
Total cholesterol	mg/dl	TN	206±34.1	183±51.5	180±29.9*	193±35.1
		P	228±43.6	211±41.3	211±42.0	211±32.2
HDL-cholesterol	mg/dl	TN	53±15.1	52±14.0	65±19.5*	72±13.6***
		P	52±12.7	44±13.6	54±18.2	61±14.4
R		TN	0.26±0.06	0.31±0.10	0.36±0.11**	0.38±0.11***
		P	0.24±0.08	0.21±0.04	0.26±0.08	0.28±0.08
Triglyceride	mg/dl	TN	114±52.3	115±38.3	105±27.4	121±30.1
		P	163±57.2	137±56.9	139±38.6*	161±42.7

Group TN: 14 cases, Group P: 12 cases R: HDL-cholesterol/Total cholesterol

*, ** and ***: Significant difference compared with values at the beginning of the administration, p<0.05, p<0.01 and p<0.001.

TG が TN 群に比べて低値であった他には両群間に差はみられなかった。

2. 薬剤投与による変化

1) TN 群の変化

TOC は投与開始時に比べ 8 週から 24 週まで有意に増加していた。8 週と 16 週との間、16 週と 24 週との間にはいずれも有意差はみられなかった。LPO は 8 週から有意に減少した。8 週と 16 週、16 週と 24 週との間には有意差がみられなかった。TCh は 16 週には投与開始時に比べて有意の減少を示したが、24 週にはこの値よりも高くなり、投与開始時との間には有意差はみられなくなっていた。HDL-Ch と R は投与開始時に比べて 16、24 週に有意に高値を示した。TG は全経過を通じて投与開始時の値との間に有意差を示さなかった。

2) P 群の変化

投与開始時に比べて TG が、8、16 週に有意に減少していたが、TOC, LPO, TCh, HDL-Ch, R には全経過を通じていずれの時期でも差が認められなかった。

3. TN 投与による脂質変化の相互関係

TN 群について検討を行った。

1) 変化量と濃度との関係について

i) 投与開始から 8 週までの変化量と投与開始時の濃度との関係について: Fig. 1 から明らかに TOC の増加は投与開始時の TOC 濃度との間に有意の負の、LPO 濃度との間に有意の正の相関関係を示した。

ii) 8 週から 16 週までの変化量と 8 週の濃度との関係について: TOC の増加量と 8 週の TOC 濃

TOC₀ and LPO₀: Serum tocopherol and lipid peroxide levels at the beginning of the administration

+ΔTOC₀₋₈ and +ΔLPO₀₋₈: Increases in serum tocopherol and lipid peroxide in the first 8 week after the administration

Fig. 1 Relationships between changed values of tocopherol in the first 8 week after the administration and levels of tocopherol and lipid peroxide levels at the beginning of the administration.

TOC₈ and LPO₈: Serum tocopherol and lipid peroxide levels at 8 week after the administration

+ΔHDL-Ch₈₋₁₆ and +ΔR₈₋₁₆: Increase in serum HDL-cholesterol and R(HDL-Ch/TCh) in 8 weeks from 8 to 16 week

-ΔTCh₈₋₁₆: Decrease in serum total cholesterol in 8 weeks from 8 to 16 week

Fig. 2 Relationship between changed values in the period from 8 week to 16 week and levels at 8 week after the administration.

度との間には有意の負の相関関係 ($N=14$, $r=-0.62$, $p<0.05$) がみられた。TCh の減少量と 8 週の LPO 濃度との間には Fig. 2 の左側に示した

ように有意の正の相関関係がみられ、8 週の TCh 濃度および R との間にはいずれも有意の負の相関関係 ($N=14$, $r=-0.69$, $p<0.01$ および $N=14$,

$r = -0.67, p < 0.01$) がみられた. HDL-Ch の増加は Fig. 2 の中央に示したように 8 週の TOC 濃度との間に有意の正の相関を示した. R の増加と 8 週の TOC 濃度との間には Fig. 2 の右側に示したように有意の正の相関関係がみられた.

Fig. 3 Relationship between changed values of lipid peroxide and total cholesterol in the first 8 week after the administration.

iii) 16週から24週までの変化量と16週の濃度との関係について: TOC の増加量と16週の HDL-Ch の濃度との間には有意の正の相関関係 ($N=14, r=0.61, p<0.05$) が存在していた. LPO の減少量は16週の TOC 濃度との間に有意の正の相関関係 ($N=14, r=0.58, p<0.05$) を示した.

2) 8週ごとの変化量の相互関係

i) 投与開始から8週までの変化量について: Fig. 3 に示したように LPO の減少と TCh の減少との間には有意の正の相関関係がみられた. また, LPO の減少と R の増加との間には有意の正の相関関係 ($N=14, r=0.57, p<0.05$) が存在していた.

ii) 8週から16週の変化量について: TOC の増加と HDL-Ch との間および TOC の増加と R の増加との間にはいずれも有意の負の相関関係 ($N=14, r=0.65, p<0.05$ および $N=14, r=-0.58, p<0.05$) がみられた.

iii) 16週から24週の変化量について: TCO の増加と HDL-Ch の増加との間には有意の負の相関関係 ($N=14, r=-0.65, p<0.05$) がみられた. TCh の減少と R の増加との間および HDL-Ch の増加と R の増加との間にはいずれも有意の正の相関関係 ($N=14, r=0.56, p<0.05$ および $N=14, r=0.87, p<0.01$) がみられた.

3) TOC と脂質濃度との相互関係

投与開始時, 8, 16, 24 週に調べたが, 投与開

Fig. 4 Tocopherol and HDL-cholesterol.

始から16週まではいずれの脂質も TOC との間には一定の関係がみられなかったが、24週に至り、HDL-Ch と TOC との間に Fig. 4 に示したような有意の正の相関関係が認められた。

IV. 考 察

TN の投与によって現われた血清脂質の主要な変化は TOC の増加に伴う LPO の減少と HDL-Ch の増加である。TCh は一時的な減少にとどまり、TG には全経過と通じて変化がみられていない。TN 群にみられたこれらの変化は P 群にはおきていない。したがって、この試験で示された生体に好ましい血清脂質の変化は TN の投与によるものであり、また、これらの成績から TN が血清脂質の中でも TG よりも Ch の代謝に大きな影響を与えていることを知ることができる。しかし、発生からすでに長い年月を経過した高度の動脈硬化が存在している高齢者では脂質代謝の改善だけによって動脈硬化性疾患を防止することは所詮無理と考えられるので、TN の投与による HDL-Ch の増加の意義も失われるように思われる。しかし、動脈硬化性疾患の本質は虚血巣の形成にあり、虚血巣の形成には動脈壁の性状の変化のほかに血栓形成の関与が大きい。われわれのこれまでの成績⁶⁾では HDL-Ch は血小板粘着能および thrombin の添加による血小板凝集の際発生する LPO との間にいずれも有意の負の相関関係を示していたので、HDL-Ch には血栓形成を抑制する働きがあるといえる。したがって、脂質代謝異常の是正が高齢者における動脈硬化性疾患の予防や治療に効果が少ないといっても、TN には HDL-Ch の増加を介しての血栓形成の防止効果があるといえるので、高齢者への TN の投与は決して無意味ではない。

TN は TOC と nicotin 酸の化合物である。TOC, nicotin 酸のいずれにも脂質代謝の改善作用がある。今回の試験でもこれらのいずれがより大きな役割を果たしているかが問題となる。一般に nicotin 酸は hormone sensitive lipase 活性を抑制し血清 TG に影響を与えること⁷⁾が知られている。今回の試験では TN 群には TG の変化はなく、したがって、TN 投与によって現われた HDL-Ch の変化

には nicotin 酸よりも TOC がより大きな役割を果たしていると思われる。

TOC 製剤の投与による血清 LPO と Ch の変化に関するこれまでの報告をみると、LPO についてはほとんどすべての報告が明らかな低下を示すことを述べているが、Ch についての成績は必ずしも一様ではない。これは、これらの報告それぞれにおける TOC の投与量、期間および対象の違いに基づくものと考えられるが、このほかに TCh だけがこれまで Ch 代謝の指標に取上げられてきたことも関係があると思われる。われわれの今回の成績でも TCh は TN の投与によって16週に低下したものの24週には投与開始時の値との間に差がみられなくなっていた。しかし、最近の Ch 代謝の研究に従って硬化を抑制する HDL-Ch と R とを指標に取入れてみると、HDL-Ch と R は16週と24週に投与開始時と比べて増加しており、TN が生体に好ましい Ch 代謝をもたらしていることが明らかである。

薬剤の投与効果や副作用の発生機序を知るために、投与薬剤の血中濃度の測定は有用である。TOC 製剤は臨床的に血中濃度の測定が可能な数少ない薬剤である。TN 投与後の Ch 代謝に変化を生じた過程を逐次追ってみると、最初に生じた変化は8週における TOC の増加と LPO の減少である。TOC の増加は投与開始時の TOC の濃度の低い例、LPO 濃度の高い例程著しく、この8週間の LPO の減少は TCh の減少および R の増加に正比例していた。8週後の TOC 濃度は次の8週間における HDL-Ch と R の増加に、また、PLO 濃度は TCh の減少に影響を与えていた。また、8週の TCh 濃度は次の8週間における TCh の働きを左右した。TN の投与継続により投与開始8週から16週までの8週間に至って TOC と LPO のいずれもが Ch 代謝に影響を与え始めていることが知られる。しかし、投与開始の最初の8週間の HDL-Ch に変化がみられないものの TCh が16週に減少していることから考えて LDL や VLDL の Ch には減少があるとみなすべきである。これは天然型 TOC 製剤の投与の際の Ch の変化を観察し、投与の初期に TCh と HDL-Ch の差が有意に減少したことを示した中村ら⁸⁾の成績と同様の所

見と思われる。16週から24週までの変化をみると、TOCの増加は16週のHDL-Chの影響を受け、TOCの増加とHDL-Chの増加は逆相関した。しかも、24週のTOCとHDL-Chの濃度との間には有意の正の相関関係が生じていたので、16週から24週までの間のTOCの濃度はHDL-Chによって調節されていると考えるべきである。16週から24週にかけて注目すべき変化は、投与開始時に比べて16週に低下したTChが24週には再び上昇したことである。これはTChの中のHDL-Chの増加に基づくものというべきで、Ch代謝の観察に際してはリポ蛋白を分画別に検討することが重要であることを示したものとえよう。

TN投与後の最初の8週間におけるTOCの増加が投与開始時TOCの濃度のほかにLPOの濃度に依存していたのに反し、生体に好ましいCh代謝の出現への引金となったLPOの減少に対しては投与開始時のTOC、LPO濃度のいずれもが影響を与えていない。また、この8週間におけるLPOとTOCの変化量相互間にも一定の関係はない。したがって、これらの成績はTOCの有する抗酸化作用を説明するのに困難をきたすことになる。しかし、実際にはTOCの投与によってLPOは明らかに低下しているので、TOCの増加からLPOの減少の過程にはglutathione peroxidase^{9,10}などのTOC以外の抗酸化物質の関与があることを考慮すべきであろう。

TOC濃度が正常な高齢者へのTNの投与によりCh代謝に好ましい効果がみられたことはTNの心血管系の異常に対する有用性を示したものとええる。反面、TNの持続投与によって体内へのTOCの蓄積のおそれが考えられる。しかし、TN投与によってTOCは8週から24週まで増加し続けたものの投与開始から16週まではTOCの増加はTOC濃度の高い例では少なく、また、16週から24週までのTOCの増加はTNの投与によって増加したHDL-Chの影響を受けている。これらから生体にはTOC濃度の調節機構が存在しているといえるので、TOC濃度の低下がみられない例に1日300mg程度のTNを持続的に投与してもTOC濃度が極端に高くなり、過剰のTOCが生体に蓄積するおそれはないとみてよいと思われる。

V. ま と め

高齢者にd- α -tocopheryl nicotinate (TN)を投与した際の血清HDL-cholesterol (HDL-Ch)の増加の機構を明らかにするため、placeboを投与した平均年齢77.5歳の12例を対照にして、平均年齢76.4歳の14例にTNを1日300mg、24週投与し、8週ごとに血清の脂質とtocopherol (TOC)の濃度を測定した。その結果、16週後にHDL-Chの増加がおこり、その間にはTOCの増加と過酸化脂質(LPO)の減少が生じ、これらの変化がHDL-Chの増加に結びついていることが知られた。また、HDL-Chが増加するまでには総cholesterolの減少がみられ、これはLDL、VLDLのChの減少を反映したものと考えられた。さらに、16週から24週に至りTOCとHDL-Chの増加は少くなり、しかもTOCの濃度の増加はTNの投与によって増加したHDL-Chの濃度によって規定されていることが示されたことから、生体にはTOCの調節機構の存在が考えられた。したがって、1日300mg程度のTNの持続投与によって体内にTOCの蓄積がおこるおそれはないと考えられる。

文 献

- 1) Roads, G. G., Gulbrandsen, C. L. and Kagan, A.: Serum lipoproteins and coronary heart disease in a population study of Hawaii Japanese men. *New Engl. J. Med.*, **294**: 293 (1976).
- 2) Gordon, T., Castelli, W. P., Hjortland, M. L., Kannel, W. B. and Dawber, T. R.: High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. *Am. J. Med.*, **62**: 707 (1977).
- 3) Ishikawa, T., Fidge, N., Thelle, D. S., Førde, O. H. and Miller, N. E.: The Tromsø heart study: serum apolipoprotein AI concentration in relation to future coronary heart disease. *Eur. J. Clin. Invest.*, **8**: 179 (1978).
- 4) 阿部皓一, 勝井五一郎: 血清トコフェロールの蛍光定量. 栄養と食糧, **28**: 277 (1975).
- 5) Satoh, K.: Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin. Chim. Acta*, **90**: 37 (1978).
- 6) 高松 滋, 佐藤 敬, 作田 茂, 水野成徳, 高松むつ, 目時弘文: リポ蛋白と脳卒中, 成因面から. 日老医誌, **18**: 143 (1981).
- 7) Carlson, L. A. and Orö, L.: The effect of nicotinic acid on the plasma free fatty acids. *Determination*

- of a metabolite type of sympathicolysis, *Acta Med. Scand.*, **172**: 641 (1962).
- 8) 中村 治雄, 永野 充: 天然型酢酸 α -Tocopherol (Juvelux) 投与の臨床成績. *Geriat. Med.*, **16**: 516 (1978).
- 9) Combs, G. F. Jr., Noguchi, T, and Scott, M. L.: Mechanisms of action of selenium and Vitamine E in protection of biological membrane. *Fed. Proc.*, **34**: 2090 (1975).
- 10) Yang, N. Y. J., Macdonald, I. B. and Desai, I. D.: Vitamine E supplementation and glutathione peroxidase activity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **151**: 770 (1976).

Summary

An Observation on Process of Increase in HDL-Cholesterol Level by Administration of *d*·*l*- α -Tocopheryl Nicotinate

Shigeru TAKAMATSU, Kei SATOH*, Shigeru SAKUTA*
Seitoku MIZUNO* and Mutsu TAKAMATSU**

*Department of Pathologic Physiology, Institute of Cerebrovascular Diseases,
Hirosaki University School of Medicine, Hirosaki 036, Japan

**Training Course of School Nursing, Department of Education, Hirosaki University Hirosaki 036, Japan

d·*l*- α -Tocopheryl nicotinate (TN) had been reported to elicit the increment of serum HDL-cholesterol (HDL-Ch) level.

Twenty-six apparently healthy inmates without any pathologic clinical findings in a geriatric nursing home were subjected to the investigation of the process of the increment.

Fourteen out of 26 with average age of 76.4 years received active capsules containing 100 mg of TN (group TN) and 12 with average age of 75.5 years, without significant difference to group TN in age, received placebo capsules which were identical to active ones in appearance (group P), in both groups one capsule three times a day.

Serum TOC and lipids levels were determined every 8 weeks following the administration. TOC was determined by Abe and Katsuis' method, lipid peroxide (LPO) by Satoh's method, total cholesterol (TCh) and triglyceride (TG) by enzymatic method. HDL-Ch was assayed by precipitating method using heparin-CaCl₂ solution. HDL-Ch/TCh ratio was represented by R.

In group TN, increase of TOC and decrease of LPO at 8th, 16th, and 24th week after the ad-

ministration, increase of HDL-Ch and R at 16th and 24th week, and decrease of TCh only at 16th week were found. TG level indicated no change through out this trial. In group P, such changes as occurred in group TN were not found.

In the first 8 weeks, increase in TOC correlated inversely to its level at the beginning of this period and directly to the starting LPO level. The decrease of LPO directly correlated to the decrease of TCh and to the increase of R.

In the second 8 weeks, the increase of HDL-Ch and R correlated directly to the TOC level at the beginning of this period, and the decrease of TCh directly to the LPO level.

In the third 8 weeks, the increase of TOC was correlated directly to the initial HDL-Ch level at this period.

From these results obtained, it is concluded the effect of TN on the increase of HDL-Ch level is initiated by the reduction of cholesterol in LDL and VLDL associated with the decrease of LPO.

Key words: *d*·*l*- α -tocopheryl nicotinate, HDL-cholesterol, Lipoproteins, Lipid peroxide.