Triton WR-1339 高脂血症の機構：Triton ミセルと Rhesus monkey 高比重リポ蛋白粒子との相互作用*

山 本 匡 介**

A. M. SCANU***

I. はじめに

Triton WR-1339 (T) は実験的高脂血症モデルを作る代表的薬物の一つである^{1,2)}。その機構として T がリポ蛋白粒子表面を被覆して各種血中リポ蛋白代謝酵素との相互関係を阻害するといわれてきた。最近、T 投与後に血中 HDL の低下³⁾、また HDL からアポ A-I の解離⁴⁾ の報告がなされた。われわれは既報^{5,6)} のごとく T 高脂血症の成因として T ミセルと HDL 粒子の直接相互作用を推定した。今回、T のモノマーおよびミセル分子量を決定するとともに実験動物として Rhesus monkey を用いて in vitro および in vivo での反応様式を解析した。

II. 対象および方法

HPLC, カラム法により T のモノマー、ミセル分子量は、4,500、および 180,000 であった。臨界ミセル濃度は 0.018 mM であった。普通食 (N) とコレステロール食 (H) で飼育した二群の雄 Rhesus monkey を用いて実験した。In vitro の実験として N より得られた血漿に T 液 (0.05 M リン酸緩衝液, pH 7.2 に溶解) を T の最終濃度が 0~10 mg/ml/ になるように容量比 10:1 に混じ、37°C, 2 時間インキュベーションを行った。In vivo の実験としては両群 (N と H) に ¹³¹I および ¹²⁵I で標識した homologous アポ A-I および A-II (各 20 μ ci) を静注し、30 分後 20% T 液を 60 mg/kg B.W. 静注した。その後経時的に 2 週間採血した。得られた血漿, single step density ultracentrifugation 法⁷⁾ により得られた画分について

は RI カウント, 脂質定量, T 定量, およびアポ A-I, B, E の免疫化学的定量, および gradient gel 電気泳動法による分子量の検討, 電顕法による形態検討を行った。

III. 結果および考察

T (2~10 mg/ml) は, Fig. 1 に示すごとく, 血漿中でとくに HDL 画分に著明な変化をひきおこした。すなわち添加した T の 90% 以上は HDL に特異的にとりこまれ, 表面から dose-dependent にアポ A-I, E, さらにアポ A-II を解離させた。脂質は HDL 上にとどまった (Table 1)。Gradient gel の検討 (Table 1), さらに電顕による観察から T は HDL の球状を保持しながら, 密度を減少させることが明らかになった。T (10 mg/ml 以下) では LDL からアポ B 脂質の解離はみられなかった。

In vivo における T の静注により, 15 分後の血中 T 濃度は 1~2 mg/ml/ に上昇した。Fig. 2 に N における single step density ultracentrifugation プロフィールを示すが, in vitro での T 濃度 2 mg/ml/ 時のプロフィールにほとんど一致していた。この HDL の構造的変化の結果, ¹³¹I-apo A-I は 13 時間 (N), 6 時間 (H) の T 1/2 をもって, ¹²⁵I-apo A-II は 24 時間 (N), 8 時間 (H) の T 1/2 をもって急速に血漿中から除去された。血漿中リポ蛋白のプロフィールの変化を Fig. 3 に示した。とくに H では 24 時間後には HDL の消失, VLDL の大量の出現が観察される。同時に各種脂質, アポ蛋白の血中濃度にも顕著な変化がみられ, 24 時間後はアポ A-I は静注前に比し H ではほぼ完全に, また N では 50% が血中から消失していた。以上の変化は可逆的で 2 週間後静注前に復した (Fig. 4)。T と HDL の相互関係についてはイヌの実験⁸⁾ においても確かめられており, これらの事実から T ミセルと HDL 粒子との直接相互作用が,

* 1984年6月, 第16回日本動脈硬化学会総会において発表

** 佐賀医科大学内科

*** シカゴ大学内科

Fig. 1 Distribution of apo A-I, apo E, apo B, ^{125}I -labeled Triton, ^{131}I -labeled apo A-I, and ^{125}I -labeled apo A-II in ultracentrifugal fractions of plasma incubated with various concentrations of Triton (2 h, 37°C). The labeling of plasma with ^{131}I -apo A-I or ^{125}I -apo A-II was carried out in vivo. One ml of each incubated sample was separated by single-spin density ultracentrifugation. The effluents were continuously monitored at 280 nm in an ISCO UA-5 monitor and 0.4 ml fractions collected for a total of 32 fractions. The concentration of apo A-I, apo E and apo B was quantified by electroimmunoassay. The amount of radioactivity in each tube was determined. The pooled HDL fractions were arbitrarily named from a through g (a, fraction number 18–26; b, 15–23; c, 11–18; d, 23–26; e, 11–18; f, 19–22; g, 23–26).

Table 1 Physico-chemical properties of the main peaks (a–g) shown in Fig. 1

	a	b	c	d	e	f	g
Diameter, Å*	95	116	124	72	140	82	76.0
Hydrated density (g/ml)	1.115	1.089	1.063	1.140	1.063	1.110	1.131
Chemical composition (weight %)							
Triton	0	28	49	41	70	69	57
Protein	47	22	12	50	6	20	35
Total cholesterol	17	14	13	5	8	6	4
Phospholipid	33	32	26	4	14	5	4
Triglyceride	3	3	2	0	2	0	0

*Obtained by gradient gel electrophoresis.

Fig. 2 Alterations in density gradient profile and distribution of iodinated apo A-I, apo A-II and Triton, and the concentration of apo A-I, apo B, and apo E before and 15 min after injection of Triton (60 mg/kg body weight) in the N-monkey. Plasma (1.0 ml) was applied to a single step density gradient ultracentrifugation and spun to isopycnic equilibrium (66 hrs, 39,000 rpm, 15°C). The density profiles were all recorded at 280 nm. Every tube was monitored for radioactivity. Immunquantification of apoproteins was performed on every other tube.

Fig. 3 Time changes in the levels of plasma apo A-I, Triton, apo B, apo E, total cholesterol and triglycerides after a single intravenous injection of Triton (60 mg/kg) into N- and H-monkey.

Fig. 4 Time changes of the plasma lipoprotein distribution after a single intravenous injection of Triton (60 mg/kg) into N- and H-monkeys. One ml of plasma was separated by single-spin density gradient ultracentrifugation and the eluates from each tube continuously recorded at 280 nm.

HDL のリポ蛋白代謝上での機能的役割を阻害することによって、T 高脂血症をひきおこす一因となることが証明された⁹⁾。

文 献

- 1) Scanu, A. M. and Oriente, P.: Triton hyperlipidemia in dogs. I. In vitro effects of the detergent on serum lipoproteins and chylomicrons. *Exp. Med.*, **113**: 735-737 (1961).
- 2) Scanu, A. M., Oriente, P., Szajewski, J. M., McCormack, L. J. and Page, I. H.: Triton hyperlipidemia in dogs. II. Atherosclerosis, diffuse lipodosis, and depletion of fat stores produced by prolonged administration of the non-ionic surface active agent. *J. Exp. Med.*, **114**: 279-294 (1961).
- 3) Portman, O. W., Alexander, M., Tanaka, M. and Illingworth, D. R.: Triacylglycerol and very low density lipoprotein secretion with plasma of squirrel monkeys. *Biochim. Biophys. Acta*, **486**: 470-482 (1977).
- 4) Ishikawa, T. and Fidge, N.: Changes in the concentration of plasma lipoproteins and apoproteins following administration of Triton WR-1339 to rats. *J. Lipid Res.*, **20**: 254-264 (1979).
- 5) Yamamoto, K. and Scanu, A. M.: Early changes in plasma concentration, distribution and clearance rate of apo A-I following the intravenous administration of Triton WR-1339 into normo- and hypercholesterolemic monkeys. *Arteriosclerosis*, **2**: 445 (1982).
- 6) Edelstein, C., Byrne, R., Yamamoto, K., Zarins, C. and Scanu, A. M.: Dogs injected with Triton WR-1339 develop structural alterations in high density lipoprotein that are attended by changes in distribution and metabolism of apo A-I. *Arteriosclerosis*, **2**: 438 (1982).
- 7) Nilsson, J., Mannickarottu, V., Edelstein, C. and Scanu, A. M.: An improved detection system applied to the study to the serum lipoproteins after single step density gradient ultracentrifugation. *Analyt. Biochem.*, **110**: 342-348 (1981).
- 8) Yamamoto, K., Byrne, R., Edelstein, C., Shen, B. and Scanu, A. M.: In vitro effect of Triton WR-1339 on canine plasma high density lipoproteins. *J. Lipid Res.*, **25**: 770-779 (1984).
- 9) Yamamoto, K., Shen, B., Zarins, C. and Scanu, A. M.: In vitro and in vivo interactions of Triton WR-1339 with plasma lipoproteins of normolipidemic rhesus monkeys. Preferential effects on high density lipoproteins. *Arteriosclerosis*, **4**: 418-434 (1984).

Summary

The Mechanism of Triton WR-1339 Induced Hyperlipidemia —The Physiocochemical Interaction of Triton Micelle and HDLs from Rhesus Monkey—

Kyosuke YAMAMOTO* and A. M. SCANU**

*Department of Internal Medicine, Saga Medical School

**Department of Medicine and Biochemistry, The University of Chicago

Triton WR-1339 (T) was incubated in vitro with plasma from normo (N)- or hyperlipidemic (H) rhesus monkeys and the resulting products examined by isopycnic density gradient ultracentrifugation, electrophoretic and immunochemical techniques as well as electron microscopy. In some experiments, use was made of apo A-I, apo A-II or T each labeled with either ^{125}I or ^{131}I . Up to concentrations of 10 mgT/ml plasma, T interacted preferentially with HDL causing changes in their size and density accompanied by a progressive incorporation of T into the HDL particles and concomitant displacement of apo E and apo A-I and to a lesser extent, apo A-II. The intravenous administration of a single dose of T (60 mg/kg) into N and H monkeys was attended by concentration dependent HDL changes

which were similar to those observed in vitro. ^{131}I -apo A-I injected intravenously disappeared rapidly from the circulation ($T_{1/2}$, 13 h and 6 h in N and H respectively). In the case of ^{125}I -apo A-II, the $T_{1/2}$ was 24 h and 8 h in N and H, respectively. These increased apolipoprotein clearances were associated with a marked drop in the plasma levels of apo A-I and apo A-II, as well as the disappearance of the HDL particles from plasma. Fourteen days after T injection the lipoprotein and apolipoprotein patterns returned essentially back to normal. It is concluded that T interacts preferentially with HDL and the resulting effects cause the hyperlipidemia.

Key words: Triton WR-1339, Plasma lipoproteins.