Clofibrate (CPIB) と動脈壁, 血中 Cholesterol*

佐藤 正雄** 高野 達哉**

はじめに

抗動脈硬化剤として広く知られる clofibrate は, 一般に血中 cholesterol ならびに triglycerides を低下せしめる薬剤として報告されている¹⁾. そのため, 人においても, 臨床的に動脈硬化の治療薬として用いられている.

一方, 実験的動脈硬化症によく用いられる家兎では, clofibrate により血中 cholesterol の低下が認められるとするものと²⁾, 認められない³⁾ものと両意見がある.

clofibrate の作用機序については, いまだ明らかではない. そこでわれわれは, clofibrate の作用機序を, 第1に動脈壁ならびに血中 cholesterol の量的変化, 第2に cholesteryl ester の脂肪酸組成の変化という観点から考察した.

方 法

実験計画は, Fig. 1 に示したように行なった. 家兎は, cholesterol 飼料で 150 日間飼育後, 普通飼料で 30 日間飼育した. clofibrate は 90 日目より毒性緩和のため, あらかじめ 0.1% 飼料に混ぜ投与し, 120 日目より 0.4% に増量し投与した. free と ester の cholesterol は, TLC にて分離後, 血液の場合は *o*-phtalaldehyde 法で, 動脈壁の場合は GLC でそれぞれの cholesterol を定量した⁴⁾. GLC の internal standard としては, campesterol と, われわれが合成した campesteryl pentadecanoate を用いた. cholesteryl ester の脂肪酸組成は, internal standard として cholesteryl pentadecanoate を用い定量した.

結果および考察

実験終了後, 家兎大動脈を摘出し, Arch, Thoracic, Abdominal aorta に分け, free と ester の cholesterol 量を定量した (Fig. 2). clofibrate 投与群では, free と ester の cholesterol 蓄積量が Arch で特に低下した. さらに Arch に蓄積した cholesteryl ester の脂肪酸組成を調べると Fig. 3 のようになった. 横軸に cholesteryl esterase 特異性の弱い順に脂肪酸を左から 18:0, 16:0, 18:1, 18:2, 18:3, 16:1, 20:4, と並べ, 縦軸に Frequency をとると, clofibrate 投与群は, control と比較し 18:1 の低下と 18:2 の上昇がみられた.

一般に動脈壁の cholesteryl ester は, 血中 lipoprotein 由来の可能性が強いと考えられるので⁵⁾, 血中 cholesterol についても同様に検討した.

clofibrate 投与による血中 cholesterol の量的変化は, free, ester とともに control と比較して認められなかった. しかし cholesteryl ester の脂肪酸組成, すなわち 18:1 に対する 18:2 の比は clofibrate 投与後経時的に上昇する傾向が認められた (Fig. 4).

以上の結果より, cholesterol 負荷家兎において clofibrate は cholesterol ならびに cholesteryl ester が動脈壁に蓄積するのを抑制し, その cholesteryl ester の脂肪酸組成は 18:1 の減少, 18:2 の増加がみられた. 一方血中 cholesterol では, 経時変化に影響はみられなかったが, cholesteryl ester の 18:1 の減少と, 18:2 の増加の傾向がみられた.

結 語

従来動脈壁への cholesterol 沈着は, 血中 lipoprotein に由来する可能性が強いと考えられている⁵⁾. clofibrate は血中ならびに動脈壁の cholesteryl oleate を減少せしめ, linoleate を増加せし

* 1976年4月第8回日本動脈硬化学会において発表.

** 広島大学医学部薬学科

Fig. 1 Design of CPIB administration.

Fig. 2 Accumulation of free & esterified cholesterol in aorta.

Fig. 4 The ratio of linoleic to oleic acid of cholesteryl ester accumulated in serum.

Fig. 3 Fatty acid composition of cholesteryl ester accumulated in aorta.

める傾向がみられた。すなわち clofibrate は cholesteryl esterase の感受性の高い脂肪酸を増加させるために有効な薬剤ではないと思われる。このような脂肪酸組成を示す cholesteryl ester を含む lipoprotein が動脈壁を透過し沈着した結果、動脈壁内の cholesteryl ester の脂肪酸組成に 18:2 が多く 18:1 が少なく観察されたものと思われる。さらにこの cholesteryl ester は cholesteryl esterase により分解されやすいため⁶⁾、動脈壁内の cholesteryl ester の蓄積が低下したものと考えられよう。

したがって cholesteryl ester の血中ならびに動脈壁の脂肪酸組成に 18:2 が増加するという質的

変化が生じその結果, 動脈壁の cholesteryl esterase により容易に分解され, cholesteryl ester の蓄積に低下が認められたものと思われる。この結果は, clofibrate の抗動脈硬化剤としての作用機序の一つではなからうかと思われる。

終わりに, 広島大学生理化学教室石橋貞彦教授の有意義な御討論ならびに御助言に深謝致します。

文 献

- 1) Thorp, J. M.: An Experimental Approach to the Problem of Disordered Lipid Metabolism: *J. Atheroscler. Res.*, **3**: 351-360 (1963).
- 2) Fehér, J., Bihari-Varga, M., Varsányi, M., and Gerö, S.: The effect of clofibrate on cholesterol induced aortic lesions: *Br. J. Exp. Pathol.*, **53** (5):

509-517 (1972).

- 3) Imai, Y., Matsumura, Kanamaru, K. and Shimamoto, K.: Biological studies of AT-308: III Effect of AT-308, a new derivative of 1, 2, 4-oxadiazole, on atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits: *J. Takeda Res. Lab.*, **32**: (1) 45-55 Illus. (1973).
- 4) Rudel L. L., and Morris M. M.: Determination of Cholesterol using *o*-Phthalaldehyde: *J. Lipid. Res.*, **14**: 364-366 (1973).
- 5) Smith, E. B., and Slater, R. S.: Lipids and low-density lipoproteins in intima in relation to its morphological characteristics: In *Atherogenesis: Initiating Factors*. A Ciba Foundation Symposium., 39-62 (1973).
- 6) Takano, T., Black, W. J., Peters, T. J. and de Duve, C.: Assay, Kinetics and lysosomal localization of an acid cholesteryl esterase in rabbit aortic smooth muscle cells: *J. Biol. Chem.*, **249**: 6,732-6,737 (1974).

質問 折茂 蔵 (養育院病院)

CPIB の動脈壁中 cholesterol ester hydrolase 活性に及ぼす影響はいかがですか。

回答 高野達哉

CPIB 投与時における動脈壁 cholesterol esterase の活性の変動については見ておりません, 現在, われわれは, この hydrolase に対する興味よりも, むしろ, 肝での cholesterol ester synthetase のほうに興味をもっております。

質問 木畑正義 (岡山大学第2内科)

cholesterol 負荷により血中および動脈壁中の脂肪酸パターンの変化, 特に Oleic acid が増加する機序についてお考えをお伺いしたい。私は, cholesterol 負荷あるいは酸化的磷酸化阻害剤等により Monounsaturatation の増加する事実をみている。

回答 高野達哉

動脈壁の問題と血中との問題に分けて考えさせていただきますと思います。

動脈壁内では, LDL が動脈壁中膜筋細胞 liposome 内にとり込まれ, 後 liposomal cholesteryl

esterase により脂肪酸と cholesterol に分解されると考えますと, 分解され易い cholesteryl linolate, linolenate は徐々に消失し, cholesteryl oleate が占める量が増加してくるものと思われます。

cholesteryl oleate の融点は低いので, この oleate 濃度が上昇してくると cholesteryl oleate rich 結晶として析出し, 奏, 五島先生の言われている inclusion body として出現するのでしょうか。この物質が固体であるため, 溶液での制御機構が働かず cholesteryl oleate として残存し, C18:1 が増加する結果となるのではないかと考えております。

一方血液の問題は, このような結晶化というものは見られず C18:1 の蓄積機構は動脈壁とは異なっていると思われます。すなわち, 血中 cholesteryl ester は lipoprotein として存在していることを考えますと, この C18:1 の増加は liver での lipoprotein 産生系, cholesteryl ester 合成系に問題があるのではないかと考えられます。特に ER 上での合成系が重要な鍵をにぎっているのではないかと考えられます。

Summary

Effect of Clofibrate on Cholesterol Accumulation in the Serum and the Aortic wall

Masao SATO and Tatsuya TAKANO

Physiological Chemistry, Hiroshima University School of Medicine, Hiroshima, JAPAN

Clofibrate (ethyl α -*p*-chlorophenoxyisobutyrate) has been known to reduce the level of serum cholesterol and triglycerides in rat, dog, monkey and man. In the case of rabbit, however, the lipid lowering activity in serum are uncertain, and its effect on the fatty acid composition in the serum and arterial esterified cholesterol has been less explored. We have examined the effect of clofibrate on cholesterol accumulation in the aorta of rabbits.

In the present study, clofibrate caused a reduction of cholesterol and an increase in the ratio of linoleic to oleic acid of cholesteryl ester in the aorta. In the serum, there was no significant difference in cholesterol level between experimental and control groups. Concerning the composition of esterified fatty acids, however, a decrease in the proportion of oleate and an increase in the proportion of linoleate were observed. Reduction in accumulation of aortic cholesterol might be interpreted as follow from these results. It might be

possible that a relatively high proportion of polyunsaturated fatty acids in the cholesteryl ester was induced in serum lipoprotein after clofibrate treatment. Smith and Slater reported that lipids in aortic plaques might be derived from lipoprotein in serum. Consequently, an increase in the ratio of linoleic to oleic acid in arterial wall was derived from serum lipoprotein. Polyunsaturated fatty acid of cholesteryl ester could be hydrolyzed predominantly due to the specificity of cholesteryl ester hydrolase. Cholesteryl ester accumulated in the aortic wall after clofibrate treatment therefore, might be easily eliminated by the enzyme.

It seems to be likely that clofibrate might modify the composition of fatty acids of cholesteryl ester in serum and arterial wall, subsequently the relative decrease of aortic cholesteryl ester might be observed.

Key words: Clofibrate, Rabbit, Fatty acid composition, Cholesteryl ester, Cholesterol food