生活習慣病患者の血漿脂質、リポ蛋白分画、血小板 および赤血球機能に及ぼす濃縮魚油投与の効果

寺野 隆^{a)}、平井愛山^{b)}、田村 泰^{c)}、中島秀司^{d)}

^{a)} 千葉市立病院、^{b)} 千葉県立東金病院、^{c)} 杏雲堂平塚病院、

^{d)} 日本水産株式会社

Effect of ingestion of fish oil concentrate on plasma lipids,
lipoprotein profile, and platelet and RBC function on the patients
with cerebro and cardio-vascular disorders

Takashi Terano^{a)}, Aizan Hirai^{b)}, Yasushi Tamura^{c)},
Shuuji Nakajima^{d)}

^{a)} Chiba Municipal Hospital, 827, Yahagi-cho, Chuo-ku, Chiba, 260-0851;

^{b)} Chiba Prefectural Togane Hospital, 1229, Daikata, Togane, Chiba,
283-8588; ^{c)} Kyoundo Hiratsuka Hospital, 1-12, Sodegahama, Hiratsuka,
Kanagawa, 254-0813; ^{d)} Nippon Suisan Kaisha, Ltd., 2-6-2, Otemachi,
Chiyoda-ku, Tokyo, 100-8686, Japan

Summary

Antithrombotic effect of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), which are rich in marine lipids, has been extensively investigated. But the precise and clear reports of the effect of semi-purified EPA-TG are very few on the change of fatty acid composition, and plasma, platelet and RBC function in the patients with cerebro and cardio-vascular disorders. Forty-five patients with hyperlipidemia, diabetes mellitus, hypertension, ischemic heart disease or cerebrovascular disorder were entered to this study. They were divided to two groups. In one group (group A), EPA-TG capsules (400mg capsule x12/day, EPA 1320mg/day) were administered for 2 months and routine biochemical markers and platelet function were investigated. In other group (group B), function of RBC was investigated in detail in addition to lipid profiles and fatty acid composition of plasma,

platelet and RBC over 4 months during and after EPA-TG administration. In both groups, general biochemical tests and MDA levels were not altered, lipid profiles and platelet function improved and bleeding time prolonged without clinical significance by EPA-TG ingestion. In group B, content of EPA in RBC increased by ingestion of EPA-TG for 2 months and this high level of EPA was maintained until 2 months after discontinuation of EPA. RBC function was improved. These data indicated that EPA-TG administration was useful for slow down the progress of thrombotic cerebro and cardio-vascular disorders through improving lipid profiles, platelet function and RBC function especially in the patients cerebro and cardio-vascular disorders. (Received, 2002,6.14; Accepted, 2002, 8.6)

1. はじめに

近年虚血性心疾患や脳血管障害など動脈硬化を基盤とする疾患が我が国でも増加する傾向にあり、その危険因子として、高脂血症、糖尿病や高血圧などのいわゆる生活習慣病が報告されている。この原因として食事や生活習慣の欧米化が特に重要である。食事の変化の中ではとりわけ、脂肪摂取量の増加、特に飽和脂肪酸の摂取量増加や不飽和脂肪酸の摂取量減少など、摂取する脂肪酸の量的質的な変化が問題となっている。食餌性に摂取する脂肪酸の中で、魚脂に多く含まれる $n-3$ 系の多価不飽和脂肪酸のエイコサペンタエン酸 (EPA) が特に注目されている。1970 年はじめより行われたグリーンランドエスキモーに於ける疫学調査に端を発し^{1,2)}、その後の日本に於ける漁村と農村での疫学調査³⁾や多くの疫学⁴⁾および臨床試験⁵⁾より、EPA の持つ抗血小板凝集作用、血清脂質改善作用、赤血球機能改善作用などが次々に明らかにされ^{6, 7)}、抗血栓や動脈硬化の進展予防に有用であろうと考えられるようになった。魚脂中に含まれる $n-3$ 系の多価不飽和脂肪酸には EPA の他にドコサヘキサエン酸(DHA)もあるが、その後の精製 EPA と DHA を用いた試験で DHA にも同様な効果のあることを明らかとした⁸⁾。今回は EPA, DHA を含む濃縮魚油を、生活習慣病に罹病する患者に 2 ヶ月間投与し、血漿リポ蛋白質プロファイル、血小板凝集能、血液レオロジーなどを詳細に経時的に検討した。

2. 材料と方法

1. ソフトカプセル入り濃縮魚油の調製

Baucher らの変法⁹⁾によりイワシから製造した濃縮魚油を用いて、日本水産株式会社がソフトゼラチンカプセル剤を製造した。カプセル重量は 400mg、成分はエイコサペンタエン酸 (EPA) 28%、ドコサヘキサエン酸(DHA)10%、および α -トコフェロール 0.2%を含有するトリグリセリドで、EPA 含有量は 110mg/カプセルである。ゼラチンを被包剤としたカプセル状の EPA トリグリセリド (EPA-TG) の過酸化物価については、試験に使用したと同様の製品において常温で 24 ヶ月間は変化がないことを確認している。

2. 被験者

Ⅱa、Ⅱb、Ⅳ型高脂血症、糖尿病、脳血管障害、虚血性心疾患、または高血圧症と診断された患者 45 名（男性 20 名、女性 25 名、平均年齢：男性 54.8 歳、女性 58.4 歳）が試験に参加した。表 1 に示すとおり、

表 1 被験者数と平均年齢

		人数	平均年齢
A 群	男性	11	54.1 $\pm$ 3.5
	女性	12	57.2 $\pm$ 4.6
B 群	男性	9	55.6 $\pm$ 7.4
	女性	13	59.5 $\pm$ 6.8

無作為に患者を A、B の 2 群に分けた。なお、被験者に対してはヘルシンキ宣言に則った説明を行い、試験を受けることについての同意を得ている。

3. 試験デザイン

全被験者は投与試験開始の 2 週間前から、血小板凝集に影響する薬剤

の使用を中止した。A群B群ともに、2ヵ月間EPA-TGカプセル(400mg×12カプセル/日、EPAとして1320mg/日)を投与された。

A群は試験の2ヵ月前から測定を開始し、投与開始直前、および投与期間中(1ヵ月毎)の測定を行った。測定項目は一般生化学、MDA、出血時間、血小板粘着能、血小板凝集能、血清トロンボキサン B₂(TXB₂)である。

B群は試験前に測定を開始し、投与期間中および投与終了後2ヵ月間、1ヵ月毎の測定を行った。B群の測定はA群の測定項目に加えて、血漿リポ蛋白プロフィール、血漿、血小板、赤血球の各リン脂質脂肪酸組成、全血粘度、赤血球変形能とした。

(1) 血漿リポ蛋白質プロフィールの測定

Lp42Ti型ローターを装備したBecken超遠心機L8-55型を使い、Hatch and Leeの変法¹⁰⁾による超遠心分離法により、血清から超低密度リポ蛋白質(VLDL)、低密度リポ蛋白質(LDL)、高密度リポ蛋白質(HDL)を分離した。トリグリセリド、総コレステロールの血清濃度を自動分析器により測定した。

(2) 血漿、血小板、赤血球の各リン脂質脂肪酸組成の分析

既報⁵⁾により、血漿、血小板、赤血球の各リン脂質の脂肪酸組成を測定した。Folchらの方法¹¹⁾により脂質を抽出し、薄層クロマトグラフィーにより分離した。脂肪酸のリン脂質分画をBF₃メタノールによりメチル化した。日立063ガスクロマトグラフを使って脂肪酸エステルを分析した。

(3) 血小板凝集能

既報⁶⁾のとおり、「Sienco」2チャンネル凝集検出計DP247Eを用い、Bornの方法¹²⁾により血小板凝集能を測定した。

(4) 血清TXB₂濃度

既報¹³⁾のとおり、RIAによりTXB₂濃度を測定した。

(5) 血小板粘着能

グラスビーズカラム(医学書院、東京、日本)を用い、シリンジポン

プの液量を 2mL/min に設定して、グラスビーズへの血小板の粘着能を調べた。

(6) 全血と血漿粘度

既報⁶⁾のとおり、「Biorheolizer」(E 型、東京計器、東京、日本)を用い、37℃の条件下で、ずり速度 37.5sec^{-1} 、 375sec^{-1} における全血および血漿の粘度を測定した。

(7) 赤血球変形能

既報⁶⁾のとおり、Dormandy らの変法¹⁴⁾により、ミクロ濾過技術を使って赤血球変形能を測定した。

(8) 統計学的処理

データは全て mean±SE で表現し、統計学的処理は paired sample t-test を用い、投与終了後の測定値を投与前の測定値と比較した。また、 $p < 0.05$ 以下を有意とした。

3. 結果

A 群 B 群とも、EPA-TG 投与前および投与期間中の測定値では一般生化学、MDA に異常は認められなかった (表 2a、2b)。

表 2a 一般血液化学検査の結果、A 群

	正常域	試験2ヵ月前	試験直前	投与 1ヵ月目	投与 2ヵ月目
Na	(137-147 mEq/L)	142.5±2.0	141.8±1.9	142.1±2.1	141.6±3.4
K	(3.5-5.5 mEq/L)	4.3±0.3	4.3±0.3	4.2±0.2	4.2±0.2
Cl	(99-108 mEq/L)	102.6±1.9	102.9±2.5	102.7±2.7	103.5±2.4
Ca	(4.5-5.5 mEq/L)	4.5±0.3	4.7±0.2	4.7±0.2	4.7±0.2
P	(2.0-4.5 mg/dL)	2.0±0.3	2.0±0.3	2.0±0.3	2.1±0.3
GOT	(8-40 U)	17.1±4.0	18.0±4.9	19.3±9.9	17.7±5.8
GPT	(3-35 U)	12.2±4.3	13.0±5.3	13.3±7.8	12.9±7.5
LDH	(170-370 U)	327.8±54.0	326.2±45.4	312.8±54.3	326.1±55.8
Al-P	(80-290 mu/mL)	174.3±43.3	171.9±41.7	166.1±42.7	158.3±46.4
γ-GPT	(-60 mu)	17.0±22.1	18.0±18.9	18.2±18.3	18.3±22.6
LAP	(80-200 U)	153.9±31.2	150.3±28.5	148.0±34.9	153.5±26.3
BUN	(8-20 mg/dL)	14.5±4.1	15.1±3.7	15.4±4.1	14.3±0.3
Cr	(0.8-1.5 mg/dL)	1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.7
尿酸	(3.5-7.0 mg/dL)	4.9±1.3	4.9±1.3	5.1±1.1	4.8±1.2

総蛋白	(6.5-8.0 g/dL)	7.7±0.5	7.5±0.6	7.3±0.6	7.4±0.2
A/G	(1.3-2.3)	2.0±0.3	2.1±0.3	2.1±0.4	1.9±0.2
アルブミン	(56.9-70.5%)	66.3±2.9	67.1±2.8	67.6±3.6	65.3±2.8
α1-グロブリン	(2.0-4.8%)	2.5±0.3	2.3±0.4	2.2±0.2	2.5±0.3
α2-グロブリン	(6.1-10.5%)	6.3±1.2	6.1±0.9	6.1±1.2	6.4±1.0
α3-グロブリン	(6.7-10.3%)	9.7±0.8	9.8±0.8	9.7±1.0	10.2±1.0
γ-グロブリン	(9.7-22.1%)	15.2±2.8	14.7±2.8	14.4±2.9	15.6±2.7
TTT	(-10 U)	7.5±1.5	7.3±1.8	7.4±1.8	7.4±1.8
ZTT	(4-12 U)	2.3±1.2	2.2±1.6	2.2±1.4	2.2±1.6
MDA	(nmol/mL)	2.8±0.5	3.1±0.5	3.1±0.7	3.1±0.8

表 2b 一般血液化学検査の結果、B 群

	正常域	試験前	投与1ヵ月目	投与2ヵ月目	投与終了 1ヵ月目	投与終了 2ヵ月目
Na	(137-147 mEq/L)	142.1±2.5	142.9±3.1	140.2±3.4	141.3±3.1	141.3±2.6
K	(3.5-5.5 mEq/L)	4.4±0.4	4.3±0.4	4.3±0.4	4.4±0.4	4.3±0.3
Cl	(99-108 mEq/L)	98.7±3.1	100.7±4.1	102.2±3.5	102.6±2.7	102.4±3.2
Ca	(4.5-5.5 mEq/L)	4.7±0.2	4.6±0.2	4.7±0.2	4.6±0.2	4.6±0.2
P	(2.0-4.5 mg/dL)	2.0±0.3	2.0±0.3	2.1±0.3	2.1±0.3	2.1±0.3
GOT	(8-40 U)	15.3±4.6	17.4±7.7	14.6±5.8	18.0±5.4	16.5±5.0
GPT	(3-35 U)	12.3±6.8	14.1±7.7	12.4±6.1	13.8±5.6	13.2±7.7
LDH	(170-370 U)	295.7±73.6	297.0±51.0	299.3±48.1	312.3±45.5	302.5±57.4
Al-P	(80-290)	195.1±38.5	183.0±37.5	184.4±42.4	185.3±31.8	177.2±27.0
γ-GPT	(-60 mu)	17.3±14.3	21.0±14.5	18.0±14.6	19.0±16.5	17.4±13.4
LAP	(80-200 U)	152.7±29.7	154.6±37.2	153.5±29.6	159.1±30.7	154.0±34.2
BUN	(8-20 mg/dL)	15.4±4.7	15.8±4.6	16.6±5.1	15.3±4.3	15.8±4.0
Cr	(0.8-1.5 mg/dL)	1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.3	1.0±0.2
尿酸	(3.5-7.0 mg/dL)	4.8±1.2	4.6±1.1	4.6±1.1	4.6±1.1	4.6±1.0
総蛋白	(6.5-8.0 g/dL)	7.5±0.4	7.3±0.5	7.4±0.6	7.5±0.4	7.3±0.5
A/G	(1.3-2.3)	1.9±0.2	2.0±0.2	2.0±0.2	1.9±0.3	2.1±0.2
アルブミン	(56.9-70.5%)	65.2±2.4	66.4±2.2	66.1±2.7	65.3±3.6	67.4±2.3
α1-グロブリン	(2.0-4.8%)	2.7±0.4	2.5±0.2	2.5±0.4	2.4±0.4	2.3±0.3
α2-グロブリン	(6.1-10.5%)	6.8±1.0	6.6±0.9	6.8±1.-	6.8±1.0	6.0±0.7
β-グロブリン	(6.7-10.3%)	10.8±1.1	10.3±0.7	10.4±0.8	10.7±1.0	10.2±1.0
γ-グロブリン	(9.7-22.1%)	14.6±2.3	14.2±2.4	14.3±2.4	14.7±2.6	13.4±2.1
TTT	(-10 U)	7.2±1.6	7.1±1.6	7.1±1.4	7.1±1.4	7.0±1.4
ZTT	(4-12 U)	2.3±1.2	2.1±1.2	2.1±1.0	2.1±1.0	2.2±1.1
MDA	(nmol/mL)	2.8±0.6	3.1±0.9	3.2±0.5	2.9±0.5	3.2±0.6

A 群

表 3 出血時間、血小板機能、血液レオロジーに対する EPA-TG 経口投与の効果、

A 群

	正常域	投与2ヵ月前	投与直前	投与 1ヵ月目	投与 2ヵ月目
出血時間	(秒)	267.2±46.0	256.5±42.8	331.6±44.8	345.4±37.3***
血小板粘着	(%)	48.1±12.9	50.5±13.7	36.7±13.8***	36.0±13.7
血小板数	($10^4/\mu\text{L}$)	23.3±4.4	24.6±3.8	24.6±5.4	24.2±5.6
血小板凝集	(%)				
ADP	1 μM	49.8±19.1	49.3±22.1	45.7±20.8	45.4±21.7
ADP	2 μM	67.3±14.6	69.5±12.6	64.8±11.5	62.4±16.4
エピネフリン	0.25 $\mu\text{g/mL}$	54.4±20.4	53.0±21.2	54.2±20.0	44.7±25.1*
エピネフリン	0.5 $\mu\text{g/mL}$	62.3±19.3	62.3±18.2	59.1±18.1	57.1±20.9
コラーゲン	0.5 $\mu\text{g/mL}$	26.4±22.0	27.1±29.0	18.4±24.6*	20.8±22.6*
コラーゲン	1.0 $\mu\text{g/mL}$	49.7±27.1	46.6±31.1	36.6±29.8*	36.5±28.6*
血清 TXB ₂	(ng/mL)	213.1±106.1	215.7±101.1	133.5±90.5***	131.0±98.1***

n=23, *:p<0.05, ***: p<0.001

(1) 出血時間 (表 3)

投与 2 ヶ月前および投与直前の測定は正常値で、投与 1 ヶ月目に出血時間の有意な延長が認められたが、2 ヶ月目でもこのレベルは維持されており、それ以上の延長はなかった。臨床的な出血傾向は認められなかった。

(2) 血小板粘着能 (表 3)

投与前の 2 回の検査は正常であったが、EPA-TG 投与 1 ヶ月目に、血小板粘着能の有意な低下が認められた。ただし、2 ヶ月間の投与期間中にそれ以上の低下は認められなかった。

(3) 血小板凝集能 (表 3)

ADP (1 μM –2 μM) による血小板凝集は、EPA-TG 投与開始後に変化は認められなかった。エピネフリン 0.25 $\mu\text{g/mL}$ による凝集は、軽微ではあるが EPA-TG 投与 2 ヶ月目に有意に低下した。エピネフリン 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 以上では、血小板凝集能に有意な変化はなかった。コラーゲン 0.5、1.0 $\mu\text{g/mL}$ による凝集は、EPA-TG 投与開始 1 ヶ月目および 2 ヶ月目に有意に低下した。

(4) 血清 TXB₂ 濃度 (表 3)

EPA-TG 投与開始 1 カ月目および 2 カ月目に血清 TXB₂ 濃度の有意な低下が認められた。

表 4 出血時間、血小板機能、血液レオロジーに対する EPA-TG 経口投与の効果、
B 群

	正常域	試験前	投与1ヵ月目	投与2ヵ月目	投与終了 1ヵ月目	投与終了 2ヵ月目
出血時間	(秒)	247.5±32.2	324.5±39.6***	317.9±30.7***	288.8±32.7***	246.5±30.3
血小板粘着	(%)	61.7±15.8	40.8±14.7***	37.1±9.6***	55.4±16.5	68.1±16.1
血小板数	(10 ⁴ /μL)	24.5±8.3	22.1±4.6	23.4±5.6	25.8±3.9	24.4±3.7
血小板凝集	(%)					
ADP	1 μM	40.6±22.4	38.6±20.1	39.2±19.1	41.1±23.6	38.8±23.1
ADP	2 μM	55.2±18.3	58.0±19.4	54.0±12.0	59.3±19.2	57.0±12.1
エピネフリン	0.25 μg/mL	46.2±23.9	42.7±21.3	36.9±21.3*	36.0±24.1*	41.4±21.6
エピネフリン	0.5 μg/mL	55.1±19.8	55.8±20.5	48.4±22.5	48.0±23.1	56.5±18.8
コラーゲン	0.5 μg/mL	21.6±25.6	4.2±12.8**	5.4±11.8**	8.7±17.9*	13.7±21.2
コラーゲン	1.0 μg/mL	48.6±28.4	20.9±27.7*	10.0±17.9***	19.5±29.7**	36.8±23.8*
血清 TXB ₂	(ng/mL)	162.3±66.7	103.5±56.8***	92.2±58.8***	165.2±86.2	215.8±89.8
全血粘度	(37.5sec ⁻¹)	5.60±0.4	4.97±0.60***	5.09±0.59***	5.23±0.53***	5.28±0.66***
全血粘度	(375sec ⁻¹)	3.97±0.39	3.57±0.43**	3.72±0.33**	3.81±0.30*	3.83±0.40
赤血球変形能	V _{RBC} mL/30se	0.68±0.13	0.78±0.13***	0.83±0.14***	0.70±0.11	0.68±0.09

n=22, *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

表 5 血漿リポタンパク質プロファイルに対する EPA-TG 経口投与の効果、B 群

	試験前	投与1ヵ月目	投与2ヵ月目	投与終了 1ヵ月目	投与終了 2ヵ月目
総コレステロール (mg/dL)	241.5±36.3	211.1±35.2***	225.2±36.8**	222.5±49.7**	231.8±35.1
HDL-C (mg/dL)	49.5±8.5	48.9±11.1	54.7±12.6*	51.7±13.3	52.8±12.4
VLDL-C (mg/dL)	158.2±33.1	138.6±32.1**	142.4±36.7*	138.2±35.6**	146.4±26.9
LDL-C (mg/dL)	32.5±16.2	22.4±14.1*	28.2±26.5	35.5±20.2	32.5±16.8
LDL-C/HDL-C (mg/dL)	3.3±1.0	3.0±1.0	2.7±1.1*	2.9±1.2*	2.9±0.9
TG (mg/dL)	174.4±91.9	141.6±91.9**	152.3±156.4	169.4±111.5	164.1±69.0
HDL-TG (mg/dL)	21.1±5.3	19.5±4.6	18.2±8.1	18.9±5.4	19.0±5.4
LDL-TG (mg/dL)	47.3±14.4	40.0±15.4**	35.6±14.3***	35.5±15.2***	37.9±13.1*
VLDL-TG (mg/dL)	106.6±80.2	82.6±77.4**	97.9±141.6	114.4±93.1	97.0±55.0

n=22, *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

表 6a 血漿リン脂質の脂肪酸組成に対する EPA-TG 経口投与の効果、B 群

		試験前	投与1ヵ月目	投与2ヵ月目	投与終了 1ヵ月目
18:2	$\omega 6$	19.5 $\pm$ 3.2	16.3 $\pm$ 3.6*	16.1 $\pm$ 2.8*	18.2 $\pm$ 3.0
18:3	$\omega 3$	0.3 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1
20:4	$\omega 6$	6.3 $\pm$ 0.9	6.8 $\pm$ 0.9	6.8 $\pm$ 0.9	6.6 $\pm$ 0.7
20:5	$\omega 3$ (EPA)	2.6 $\pm$ 1.1	5.9 $\pm$ 1.1***	6.6 $\pm$ 1.3***	3.4 $\pm$ 1.2*
22:6	$\omega 3$ (DHA)	6.0 $\pm$ 1.2	6.9 $\pm$ 1.8	6.8 $\pm$ 1.5	6.5 $\pm$ 1.0

n=22、*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

表 6b 血小板リン脂質の脂肪酸組成に対する EPA-TG 経口投与の効果、B 群

		試験前	投与1ヵ月目	投与2ヵ月目	投与終了 1ヵ月目
18:2	$\omega 6$	5.8 $\pm$ 1.2	5.9 $\pm$ 0.8	5.7 $\pm$ 0.7	5.8 $\pm$ 0.7
18:3	$\omega 3$	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0
20:4	$\omega 6$	19.9 $\pm$ 4.5	19.0 $\pm$ 1.0	19.0 $\pm$ 1.2	20.6 $\pm$ 1.6
20:5	ω 3	1.5 $\pm$ 0.5	2.8 $\pm$ 0.5***	3.3 $\pm$ 0.9***	1.9 $\pm$ 0.5
22:6	ω 3	2.7 $\pm$ 0.6	2.5 $\pm$ 0.4	2.4 $\pm$ 0.3	2.6 $\pm$ 0.4

n=22、*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

表 6c RBC リン脂質の脂肪酸組成に対する EPA-TG 経口投与の効果、B 群

		試験前	投与1ヵ月目	投与2ヵ月目	投与終了 1ヵ月目
18:2	$\omega 6$	9.6 $\pm$ 1.3	8.0 $\pm$ 1.4	7.7 $\pm$ 1.2*	8.3 $\pm$ 1.2
18:3	$\omega 3$	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0	0.1 $\pm$ 0.0
20:4	$\omega 6$	11.0 $\pm$ 0.9	10.8 $\pm$ 1.0	10.3 $\pm$ 1.0	10.4 $\pm$ 0.7
20:5	$\omega 3$ (EPA)	2.1 $\pm$ 0.7	3.7 $\pm$ 0.8**	4.3 $\pm$ 0.7***	3.5 $\pm$ 0.6**
22:6	$\omega 3$ (DHA)	8.4 $\pm$ 1.0	8.3 $\pm$ 1.2	8.5 $\pm$ 0.9	7.8 $\pm$ 0.7

n=22、*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

(1) 出血時間 (表 4)

A 群と同様、B 群でも投与開始 1 ヶ月目では出血時間の有意な延長が認められ、2 ヶ月目でもこのレベルが維持された。EPA-TG 投与終了 1 ヶ月目の出血時間は有意に短縮されたが、投与前の値よりは長かった。投与終了後 2 ヶ月目の出血時間は、投与前のレベルに戻った。

(2) 血小板粘着能 (表 4)

A 群と同様に、EPA-TG 投与開始 1 ヶ月目に血小板粘着能の有意な

低下が認められた。ただし、2 ヶ月間投与してもそれ以上低下することはなかった。投与終了後 1 ヶ月目の血小板粘着能は投与前に近い値に戻った。血小板数には変化がなかった。

(3) 血小板凝集能 (表 4)

A 群と同様に ADP ($1\mu\text{M}$ – $2\mu\text{M}$) による血小板凝集は、EPA–TG 投与後も変化がなかった。エピネフリン $0.25\mu\text{g/mL}$ による凝集は、EPA–TG 投与開始後に軽微ではあるが有意に低下した。エピネフリン $0.5\mu\text{g/mL}$ 以上では、血小板凝集能に有意な変化はなかった。コラーゲン 0.5 、 $1.0\mu\text{g/mL}$ による凝集は、EPA–TG 投与開始 1 ヶ月目および 2 ヶ月目ともに有意に低下した。EPA–TG 投与終了後 1 ヶ月目の血小板凝集能はほぼ投与前のレベルにまで戻った。

(4) 血清 TXB_2 濃度 (表 4)

A 群と同様に EPA–TG 投与開始 1 ヶ月目および 2 ヶ月目の測定で、血清 TXB_2 濃度は有意に低下した。EPA–TG 投与終了 1 ヶ月目の血清 TXB_2 濃度はほぼ投与前のレベルにまで戻った。

(5) 全血粘度 (表 4)

EPA–TG 投与中の測定では、高低 2 段階のずり速度のいずれにおいても、全血粘度に有意な低下が認められた。EPA–TG 投与終了後は血液粘度の上昇傾向が認められたが、終了後 2 ヶ月目の測定でも投与前のレベルに比べると、(特に低ずり速度で) 低値が維持されていた。

(6) 赤血球変形能 (表 4)

EPA–TG 投与開始 1 ヶ月目および 2 ヶ月目の測定で、赤血球変形能に有意な上昇が認められた。投与終了後は投与前のレベルに戻った。

(7) 血漿リポ蛋白質プロファイル (表 5)

EPA–TG 投与により、総コレステロール、トリグリセリド濃度は有意に低下した。EPA–TG 投与開始後 2 ヶ月目の HDL–C は有意に上昇し、LDL–C、VLDL–C は有意に低下した。したがって、LDL–C 対

HDL-C (LDL-C/HDL-C) は有意に低下した。HDL-TG に有意な変化はなかったが、LDL-TG、VLDL-TG は有意に低下した。

(8) 血漿、血小板、赤血球の各リン脂質脂肪酸組成 (表6a、表6b、表6c)

血漿 (表 6a) : 血漿アラキドン酸濃度に EPA-TG 投与による有意な変化は認められなかった。血漿 EPA 濃度は $2.6 \pm 1.1 \text{mol\%}$ から、投与 1 ヶ月目に 5.9 ± 1.1 に、さらに 2 ヶ月後に 6.6 ± 1.3 に上昇した (2~2.5 倍の増加)。EPA-TG 投与終了後 1 ヶ月目の血漿 EPA 濃度は投与前のレベルに戻った。血漿 DHA に EPA-TG 投与による変化は認められなかった。

血小板 (表 6b) : 血小板の脂肪酸組成は、血漿脂肪酸組成と同様の変化を示した。

血小板中の EPA 濃度は投与前の測定値の 2 倍に上昇した。EPA-TG 投与終了後 1 ヶ月目の血小板の EPA 含量は、投与前のレベルに戻った。血小板の DHA 含量に変化はなかった。

赤血球 (表 6c) : 赤血球の脂肪酸組成は、血小板とほぼ同様の変化を示した。赤血球中の EPA 濃度は投与前の測定値の 2 倍に上昇した。EPA-TG 投与終了後 1 ヶ月目の赤血球中 EPA 含量は、EPA 投与開始 1 ヶ月目のレベルと同等の高レベルに維持された。赤血球中の DHA 含量に変化は認められなかった。

4. 考察

グリーンランドでの疫学調査に端を発した魚油中に多く含まれる n-3 系多価不飽和脂肪酸の抗血栓、抗動脈硬化に関する研究は我が国のみならず欧米諸外国でも精力的に行われ、現在までに数多くの知見が報告されている⁴⁻⁸⁾。心血管イベントの発症進展抑制^{15、16)}のみならず、近年、心臓突然死への予防効果も明らかとされた¹⁷⁾。

我々が千葉県漁村と農村で行った疫学調査では、漁村住民の EPA の一日平均摂取量が 2.5g、農村住民の平均摂取量が 0.9g であり、その差

は約 1.6g であった³⁾。その差により、漁村住民では血小板凝集能の低下、血液粘度の低下および赤血球変形能の亢進が認められ⁷⁾、これが漁村住民での脳心血管障害による訂正死亡率の低下につながったと推察された³⁾。精製 EPA 製剤で保険適用を受け、閉塞性動脈硬化症や高脂血症に用いられている EPA 量は 1.8g/日である¹⁸⁾。今回使用した濃縮魚油中の EPA 量は 1.3g であり、また EPA+DHA 量は 1.8g となり、今回の使用量は疫学調査や臨床試験よりも確認された適切な投与量と考えられた。

生活習慣病患者に対する濃縮魚油(EPA-TG)投与試験で、まず A 群(23 名)の測定により、濃縮魚油投与が一般生化学、MDA レベルに影響を与えないこと、血小板機能を改善すること、出血時間は延びるが臨床的に問題のないことを確認後、さらに B 群(22 名)で投与終了後 2 ヶ月間の測定を含めて詳細な検討を行い、濃縮魚油による、脂質改善作用を明らかにした。血清総コレステロール、トリグリセリド濃度の顕著な低下に加え、リポ蛋白質プロファイルにおける LDL(C および TG 分画)と VLDL (C および TG 分画)の低下が示されたことは、特記すべき所見である。これに加え、血小板凝集能の抑制、全血粘性の低下、赤血球変形能の亢進、血小板粘着能の低下が明らかな所見として認められた。濃縮魚油投与により、血漿 TXB₂ 濃度が低下したことも注目すべきである。2 ヶ月間の EPA のこの投与量で、血漿、血小板および赤血球リン脂質分画中の EPA 濃度は有意に上昇し、アラキドン酸や DHA 含量に変化がなかったことより、この試験でみられた効果は EPA の各細胞膜内での増加に起因するものと考えられた。

EPA の作用機序について考えると、脂質低下作用に関しては、ミクロゾームに取り込まれ、脂質の生合成および VLDL の分泌を抑制をすることや EPA が血清リポ蛋白に取り込まれ、リポ蛋白の異化を亢進させることなどが報告されている¹⁹⁾。抗血小板凝集作用に関しては、今回の試験でも明らかとなったように、血小板リン脂質中の EPA 含量増加を介しての、血小板膜アラキドン酸代謝の競合阻害による、TXA₂ 産生抑制が重要である¹³⁾。赤血球機能の改善は、今回の試験でも認められた赤血球リン脂質分画における EPA 含量の明らかな上昇に伴い認められた。赤血球変形能が赤血球内 EPA 含量と相関することは、すでに報告されて

いる⁶⁾。赤血球中の EPA 含量が、EPA 投与中止後も高値に維持された理由は、赤血球の寿命が血小板より長いためと考えられる。

濃縮魚油投与による以上の結果は、血栓や動脈硬化に関連する各種細胞膜に於ける EPA 含量の増加が、脂質代謝改善、血小板機能や血液のレオロジーの改善を介して、抗血栓、抗動脈硬化作用を発揮することを示唆するものである。今後生活習慣病のなかでもどのような疾患に最も有用か、その投与量は皆同じでいいのか、などさらなる詳細な検討も必要であろう。

参考文献

- 1) Dyerberg J., Bang HO, Stoffersen E, Moncada S, Vane JR. Lancet 2:117-119, 1978.
- 2) Dyerberg J. Bang HO. Lancet 2:433-435, 1979.
- 3) Hirai A, Hamazaki T, Terano T, Nishikawa T, Tamura Y, Kumagai A, Sajiki J. Lancet 2:1132, 1980.
- 4) Kromhout D, Bosschieter EB., Coulander CL., N Engl. J Med 312:1205-1209, 1985.
- 5) Seiss W, Roth P, Schere B, Kurzmann I, Bohling P, Weber PC. Lancet 1:441-444, 1980.
- 6) Terano T, Hirai A, Hamazaki T, Kobayashi S, Fujita T, Tamura Y, Kumagai A. Atherosclerosis 46:321-331, 1983.
- 7) Kobayashi S, Hirai A, Terano T, Hamazaki T, Tamura Y, Kumagai A. Lancet 2:197, 1981.
- 8) Terano T, Hirai A, Tamura Y, Kumagai A, Yoshida S. Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res. 17B:880-885, 1987.
- 9) Baucher, R.E, Skau, E.L. J. Am. Oil Chemists' Soc. 28:483-487, 1951.
- 10) Hatch F, Lee, R.S. Advances in Lipid Research, Academic Press New York 6: 1, 1968.
- 11) Folch J, Lees M, Sloane Stanley G.H. J. Biol. Chem. 226:497-509, 1957.
- 12) Born, G.V.R. Nature (Lond.) 194: 927-929, 1962.
- 13) Hirai A, Terano T, Hamazaki T, Sajiki J, Saito H, Tahara K, Tamura Y,

- Kumagai A. Thromb. Res.29:644-652, 1983.
- 14) Reid L, Barnes J, Lock J, Dormandy A, Dormandy L. J. Clin. Path.:
29:855-864, 1976.
- 15) GISSI-Prevenzione Investigators.Lancet354:447-455,1999.
- 16) Hu FB, Bronner L, Willett WC, Stampfer MJ, Rexrode KM., Albert CM,
Hunter D, Manson JE. JAMA 287:1815-1821,2002.
- 17) Albert CM, Campos H, Stampfer MJ, Ridker PM, Manson JE, Willett
WC, Ma J,N Engl J Med 346:1113-1118,2002.
- 18) 田村泰 西川哲男 三上恵只 平井愛山 寺野 隆 水野哲夫 臨床医
薬 7:1817-1834,1991.
- 19) 都島基夫、山本章 治療学 25:71-77,1991.