リポ蛋白の代謝にかんする研究 へパリン投与後の LPL 活性がリポ蛋白の 組成に与える影響

慶応義塾大学医学部内科学教室
(指導 五島雄一郎教授, 中村治雄講師)

原 勉

STUDIES ON THE LIPOPROTEIN METABOLISM —CHANGES OF LIPIDS, LIPOPROTEIN AND APOLIPOPROTEIN AFTER HEPARIN-INDUCED LIPOLYSIS

Tsutomu HARA

Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University

概要 高脂血症が血管性病変, とくに虚血性心疾患の発生に重要であるという報告が近年多くみられる。血清脂質は生体内ではリポ蛋白の形で存在しているので脂質代謝研究上, リポ蛋白代謝研究は重要なことである。リポ蛋白代謝にかんしその高脂血症発生病因子究明上, 近年アポ蛋白の研究が注目されてきている。アポ蛋白がリポ蛋白の代謝に重要な役割りを演じていることが分かっているが, 本邦においてはこの方面の研究は極めて報告に乏しい。本実験では対象者にへパリンを静注しその時におこる, LPL活性作用で脂質, リポ蛋白の構成がいかに変化するかを脂質, リポ蛋白電気泳動の変化の他に超遠心器を用いてVLDL, LDLを分離しその脂質, 蛋白の変化およびアポ蛋白のアミノ酸組成の変動などより観察した。その結果LPL活性によりTGが著減しそれと同時にpre- β リポの減少と β リポの増加を認め, この傾向は高TG者程著明であつた。また, VLDL, LDLの脂質, 蛋白量の観察によりVLDLの減少, とくに大型VLDLの変化が大きいことを観察し, LDLの増加よりVLDLの一部LDLへの移行を推定した。また, VLDL, LDLのアポ蛋白のアミノ酸組成の相異を調べVLDLアポ蛋白のアミノ酸組成の変動と比較し, VLDLがアポCを失うことにより小型化し, ついにはLDLになる可能性を示した。また, VLDLアポ蛋白のアミノ酸組成が高脂血症のタイプ別にやや異なる傾向があるのを観察した。

緒 言

動脈硬化症研究の進歩に伴い血清脂質が血管性病変の促進因子として大きな役割りを演じていることは疑いのない事実として認められるようになってきた。この血清脂質は生体内では大部分はグ

ロブリン, 一部アルブミンと結合してリポ蛋白の形で存在している。1970年のWHOによる高脂血症の分類¹⁾も血清脂質値のみでなく, リポ蛋白のパターンより行なわれており, 最近の脂質代謝研究の中でリポ蛋白代謝面での検討が重要な一分野を占めている。リポ蛋白は従来からその大きさや比重などによつて外因性脂肪の代謝に重要なカイ

〔昭和49年1月28日受稿〕

昭和49年6月10日

(9)

ロミクロン (以下chylo) および内因性トリグリセライド (以下TG) 代謝に重要な超低比重リポ蛋白 (以下VLDL), その他低比重リポ蛋白 (以下LDL), 高比重リポ蛋白 (以下HDL) に分類されているが近年リポ蛋白代謝にかんしてリポ蛋白の蛋白部分, すなわちアポ蛋白 (apolipoprotein) の研究が進み前述したおのおのリポ蛋白の相互移行などが推定されてきている。

リポ蛋白の代謝にかんしては1955年の文献²⁾にすでに, 生体内でヘパリンが混濁した血清を清浄化する働きのあることが実証されclearing factorとよばれ, 脂質代謝研究にリポ蛋白リパーゼ (以下LPL) または実際面ではpostheparin lipolytic activity (以下PHLA) として高脂血症発生病因子究明と関連して多くの研究が報告されてきた。高脂血症発生の原因として産生過剰, 処理障害, 両者の混合型などがあるが, とくにリポ蛋白の代謝にかんしてその処理面から検討を加えpostheparin時の血清脂質の変動, リポ蛋白電気泳動の変動およびVLDL, LDLの代謝にかんして, そのアポ蛋白の変動の面も含めて検討したので以下その結果を述べる。

対象および方法

当内科入院患者および外来通院患者合計16例を対象とした。その内訳は男性14例, 女性2例であり, 年齢は36才から72才 (平均46才) で, 高脂血症のタイプをWHO分類すればtype 0 (正常者) 4例, type IIb 9例, type IV 3例 (この中にはtype Vへの移行を思わせる者が1例含まれる) である。この中には軽症糖尿病患者1例, 軽度肝機能障害 (脂肪肝の疑い) を認める者2例が含まれている。

一晩絶食させた対象者にまず肘静脈より30ml採血し, 負荷前サンプルとし, 同時に体重1kgあたりヘパリンナトリウム30単位を片側の肘静脈より静注し60分後に他側の肘静脈より30ml採血し, 負荷後サンプルとした。採血後の血液はただちに3,000rpm10分間で血清分離し, 一部は血清脂質, リポ蛋白電気泳動用とし, 残った血清につい

図1. Schema of analytical procedures.

ては図1に示した方法に従って分析を行なった。

1. Chylo除去

Cornwelの方法³⁾に従い血清約7~8mlに比重1.006のNaCl液を3ml重層し, 冷凍遠心装置 (トミー精工KK, S-60, Rotor- No. 3) を用いて10,000rpm (9,300×G) 4℃, 30分間遠心し上層2mlを除去しchylo除去とした。

2. VLDL分離

VLDLの分離はchylo除去血清を用いて, Beckman-Spinco-model, L2-50-rotorおよび日立RP65rotorの超遠心器を用いてFredricksonらの方法⁴⁾に従った。すなわち, chylo除去血清に比重1.006のNaCl液約3mlを重層し, 40,000rpm (105,000×G) 4℃, 20時間遠心して上層に浮上したクリーム色のVLDLを注射器で採取し, このVLDLに再び比重1.006のNaCl約4mlを加えて40,000rpm 4℃, 20時間遠心分離し, この洗浄VLDLをもう一度同じ方法で再洗浄したpureなVLDLを得, これを比重1.006のNaCl液で最初の血清量に希釈して冷却して以後の測定用に保存した。

3. LDL分離

LDLの分離はVLDL除去血清を用いてHavelらの計算式⁵⁾に基づいて, NaCl 153.0gとKBr. 354.0gに蒸留水を加えて全量を1000mlの溶液としたstock solutionを用い, back ground densityが1.063の比重の血清溶解液を得て, Lindgrenらの方法⁶⁾に順じて前述した超遠心器を用いて

105,000 × G, 8 °C, 22時間かけて分離した。上層に浮上したorange yellowのLDLを注射器で採取し、これを比重 1.063の溶液約 5 mlと良く混合し、再び 105,000 × G, 22時間遠心分離し浮上したLDLを採取し、比重 1.063の溶液で前血清量に希釈し冷却して以後の測定用に保存した。

なお、血清脂質およびリポ蛋白(VLDL, LDL)の脂質の測定法としては、TGはmicronephelometryおよびFletcher法、総コレステロールはorthophthalaldehyde法およびTechnicon auto-analyzer法、燐脂質は過マンガン酸湿性灰化法およびMarinetti変法に従い、リポ蛋白電気泳動はcellulose-acetate膜 (ozonized Schiff staining) を用いた。また、VLDL, LDL中の蛋白定量はLowry法⁷⁾に従った。

4. VLDL, LDLの脱脂質 (delipidation)

および分離

アポ蛋白の脱脂質および分離についてはScanuらの方法⁸⁾に変法を加えて行なった。すなわち、アセトン・ドライアイスで冷却した容器内で三角コルペンにethanol-diethylether (3 : 1 v/v) 溶液を入れ、この中にVLDLとLDLを1滴ずつ良く振盪しながら滴下した。約1時間良く振盪を繰り返しながら続け、以後冷凍庫に保存し、時々振盪を行ないながら翌日まで冷却をした。この溶液を3,000rpm, 30分間遠心し下層に沈殿したアポ蛋白を取り出し、次にethanol-diethylether (3 : 2

v/v) 溶液にこのアポ蛋白を良く攪拌、振盪させ、時々振盪を繰り返しながら数時間冷凍庫(-10°C)に保存した。この溶液を再び 3,000rpm, 30分間遠心し、底にたまつた白色沈殿物を取り出し、エーテルで2回攪拌洗浄し、N₂ガス下で乾燥させ低温にして以後のアミノ酸分析用として保存した。

5. アポ蛋白のアミノ酸組成分析

乾燥させたVLDLとLDLアポ蛋白については、Moore and Steinの方法⁹⁾に従い、アミノ酸の分析を行なった。アポ蛋白約 1 mg (量の少ない時は全量) を 2 mlの 6 N-HClに溶解し、これをアセトン・ドライアイスのもとで凍結させ、次いで真空ポンプを用いて脱気した後、試験管口をガスバーナで密閉し、それを 110°Cで24時間加水分解し、rotary evaporatorでHClを蒸発させ次に蒸留水 2 mlで一度洗浄、蒸発させた後に 0.2Mリン酸ナトリウム緩衝液 4 mlを加え、日本電子KK JLC-6 AHアミノ酸自動分析器にてその構成アミノ酸を測定した。

成 績

血清脂質の変動 (図2)

1. 血清TG

図に示した如く、血清TGはヘパリン静注後に減少が著しく、全例において減少した。しかも高TG例ではその減少率が高く、例えば最高値を示した 912mg/dl例では 234mg/dlへの減少 (-74%)

図2. Changes of plasma lipids after heparin administration.

図3. Changes of plasma lipoproteins electrophoresis after heparin administration.

を示した。これに対して中等症の例では 380mg/dl より 130mg/dl への減少 (−66%) であり、正常例では 113mg/dl より 78mg/dl への減少 (−13%) とその減少率は軽度であった。

2. 血清コレステロール

図の如く血清コレステロールはヘパリン投与後の増減は著明ではなかった。最大の増加を示したもので、284mg/dl より 297mg/dl への増加 (+ 4.5%) であり、最大の減少をおこした例で 281mg/dl より 253mg/dl への減少 (− 9.9%) であつた。その他は増減は一様でなく、全般に著明な変動は認められなかつた。

3. 血清燐脂質 (以下 PL)

図の如く、血清 PL も増減は軽度でしかも一定の傾向は認められなかつた。すなわち、最大の増加例で 338mg/dl より 350mg/dl への増加 (+ 3.8%) であり、最大の減少例で 306mg/dl より 291mg/dl への減少 (− 4.9%) であつた。

4. 血清遊離脂肪酸 (以下 FFA)

FFA はヘパリン静注後全例で著明な増加を示したが、FFA の増加は TG の負荷前値に有意な相関が認められた ($r = 0.90$, $P < 0.01$)。

5. 血清リポ蛋白電気泳動 (図3)

図3に示した如く pre-βリポ蛋白の減少とそれに伴う β-リポ蛋白の増加が特徴的であり、α-リポ蛋白は著明に増加する例もあつたが変動の少ないものもあつた。

図4. Changes of VLDL lipids and protein after heparin administration.

図5. Changes of VLDL lipids-protein ratio after heparin administration.

VLDLの脂質および蛋白量の変動 (図4)

1. VLDL-TG

図4に示す如く、VLDL-TGはヘパリン静注後全例において低下が認められた。TG値よりみると最高のVLDL-TG例で492mg/dlより194mg/dlへの減少(−61%)であり、中等症VLDL-TG例で228mg/dlより92mg/dlへの減少(−60%)、また正常VLDL-TG例では34mg/dlより13mg/dlへの減少(−60%)という変動であり、減少率の面からは大差がなかったが、TG含量の多い例ではそれだけ多量のTGが処理されていた。

2. VLDL-コレステロール

図に示す如く、VLDL-コレステロールも全例において減少が認められた。最大の減少で60mg/dlより24mg/dlへの減少(−60%)であり、最初から少量のみ含まれていた例では殆ど0に近い値まで減少していた。

3. VLDL-PL

図の如く、VLDL-PLは最大減少例で60mg/dlより24mg/dlへの減少(−60%)、最大増加例で26mg/dlより47mg/dlへの増加(+80%)であり、その他は増加、減少の一定傾向は認められなかった。

4. VLDL-蛋白

図の如くVLDL-蛋白は全例において減少が認め

られた。たとえば高TG例では59mg/dlより36mg/dlへの減少(−39%)、54mg/dlより29mg/dlへの減少(−46%)などであり、正常例では13mg/dlより6mg/dlへの減少(−54%)、14mg/dlより4mg/dlへの減少(−76%)などであつた。

VLDLの各脂質と蛋白の比率の変動 (図5)

1. TGと蛋白の比

図に示す如く、TG-蛋白の比は1例を除いて全例に低下が認められた。

2. コレステロールと蛋白の比

コレステロール-蛋白の比率は低下傾向を認める例が多かつたが、増加する例も見られた。この増加傾向はコレステロール-蛋白の比の高い例に多いようである。

3. PLと蛋白の比

図の如くPLと蛋白の比は2例で軽度の低下が見られたが、その他は全例において上昇が認められた。

LDLの脂質および蛋白量の変動 (図6)

図に示した如く、LDL中のTGの値は全例で低下している。また、コレステロールは1例で、軽度の低下を示したが、その他ではいずれも増加している。PLの値は2例においては変動がはつ

図 6. Changes of LDL lipids and protein after heparin administration.

きりしなかつたが、その他の症例ではいずれも増加した。また、蛋白量は 1 例では低下したが、その他ではいずれも増加を認めた。

アポ蛋白のアミノ酸組成の変動

表 1. Amino acids composition of VLDL apoprotein.

	BEFORE	(ASPARAGIC ACID=100)	
		60'	(SCANU, ET AL.)
Lys.	96	83	79
His.	19	22	14
Arg.	47	46	30
Asp.	100	100	100
Thr.	68	57	58
Ser.	105	92	69
Glu.	146	123	109
Gly.	50	51	41
Ala.	95	80	52
Val.	64	43	51
Met.	5	19	14
Ile.	29	23	34
Leu.	106	95	100
Tyr.	29	26	29
Phe.	48	41	44

表 2. Relative decrement of amino acids of VLDL-apoprotein after heparin administration (asparatic acid; 100).

ALANINE	13.23
SERINE	12.47
GLUTAMIC ACID	11.19
VALINE	9.08
LEUCINE	7.60
PHENYLALANINE	7.43
THREONINE	5.01
LYSINE	4.97
ARGININE	3.31
ISOLEUCINE	0.66
ASPARAGIC ACID	0.00
CYSTINE	- 0.51
HISTIDINE	- 0.61
GLYCINE	- 1.27
TYROSINE	- 1.33
PROLINE	- 3.76

表 1 は前述した方法で、分離した VLDL-アポ蛋白のアミノ酸組成の PHLA による変動の 1 例を示したものである。アスパラギン酸を 100 とした時の他のアミノ酸のモル数を示したのであるが、VLDL-アポ蛋白に多く含まれるアミノ酸の種類としてはグルタミン酸、ロイシン、セリン、アスパラギン酸、リジン、アラニンなどであった。また、ヘパリン静注前後で比較するとその組成が少し変動する傾向がみられ、Scanu らの報告¹⁰⁾したものとは組成がやや異なっていた。

表 2 は正常者および高脂血症者を含めて 9 例について、ヘパリン静注前後でのアミノ酸組成の変化をアスパラギン酸を 100 とした時の各アミノ酸

表 3. Amino acids of VLDL-apoprotein in normal and hyperlipidemic.

	NORMAL	TYPE IIb	TYPE IV
Lys.	75.9	85.9	99.7
His.	20.9	18.2	17.7
Arg.	36.6	46.4	46.3
Asp.	100.0	100.0	100.0
Thr.	51.1	65.7	63.0
Ser.	83.9	102.4	120.1
Glu.	136.6	148.6	161.0
Pro.	19.0	19.7	9.6
Gly.	62.2	50.6	54.7
Ala.	82.3	94.3	108.8
Cys.	—	5.1	—
Val.	28.4	60.8	67.7
Met.	12.3	7.9	9.1
Ileu.	13.5	26.9	22.5
Leu.	80.4	102.0	100.1
Tyr.	24.3	25.5	24.4
Phe.	41.4	45.7	49.1

表4. Amino acids composition of VLDL and LDL apoprotein in type II B (N=5).

	VLDL	LDL
Lys.	85.9	90.4
His.	18.2	25.6
Arg.	46.4	32.7
Asp.	100.0	100.0
Thr.	65.7	56.7
Ser.*	102.4	79.5
Glu.*	148.6	109.7
Pro.	19.7	34.1
Gly.	50.6	43.6
Ala.*	94.3	58.2
Cys.	5.1	2.8
Val.*	60.8	45.2
Met.	7.9	14.7
Ileu.*	26.9	46.0
Leu.	102.0	113.2
Tyr.	25.5	24.2
Phe.	45.7	44.0

の減少をモル数の平均値で示したものである。上段より変動の大きいものから示したが、アラニン、セリン、グルタミン酸、バリン、ロイシンなどの順にその減少率が大きいことがわかった。

表3はVLDL-アポ蛋白のアミノ酸組成を、正常例、type II bおよびtype IV例に分けてその平均値を示したものである。type II bおよびIV例では正常例に比較して、アルギニン、セリン、グルタミン酸、アラニン、バリン、イソロイシン、リジンなどのアミノ酸の組成が多い傾向がみられたが有意差はなかった。

表4はtype II b者5例について、VLDLおよびLDLアポ蛋白のアミノ酸の平均値をアスパラギン酸を100とした時のモル数でその組成を比較したものである。VLDLアポ蛋白、LDLアポ蛋白のアミノ酸組成にはかなりの差異が認められた。すなわち、VLDL-アポ蛋白には $P < 0.05$ で有意の差でLDL-アポ蛋白に比較して、セリン、グルタミン酸、アラニン、バリンなどが多く含まれ、ロイシンの少いことがわかった。

考 案

1. 血清脂質の変動について

ヘパリン静注時に、活性化されたLPLが生体内でTGを加水分解していくことにより、リポ蛋白の代謝に関与していることは一般に認められていることである。Bobergは¹¹⁾、PHLAはヘパリ

ンを体重1 kgあたり10単位以下を静注した場合には、約10分後にmaximumに達し、20分後にはもとにもどってしまうが、100単位以上の場合には、1時間以上にわたりPHLAがmaximumな状態で続くことを報告している。今回の実験は（日本人の体重などを考慮して）その中間に当る体重1 kgあたり30単位のヘパリンを静注して観察した。1例においてヘパリン静注後30分ごとに採血して、時間的経過を追って脂質、リポ蛋白電気泳動の変動を観察したところ、30分および60分後にFFAの値が最高となり、TGもこの時に最低値をとつたので60分後を選んでリポ蛋白の変動をみることにした。TGの低下がFFAへの分解と共に起こり、リポ蛋白電気泳動でTG含量の多いpre-βリポ蛋白が低下することが、この実験でも示された。また、コレステロール、PLが変動の少ないのはPHLAがTGの水解が主であるということ、pre-βリポ蛋白には比較的コレステロール、PLが少ないことなどから、あらかじめ推定されたことである。たゞ、TGにかんしては高TG血症例程、その低下度が大きかったことは興味のあることで、高TG血症例では基質のTG量が多かったからヘパリン静注後にLPLがそれだけ多量に使われたという可能性が考えられる。したがって、PHLAは、ある種の高脂血症者では、かなり余力のあるものではないかと推定される。すなわち、ヘパリンを入れると高TG者でも十分なLPLが放出されると推定される。このことは、従来から高TG者でもtype IまたはVを除いては必ずしもPHLAが低下していないという報告が多いことを裏づけると同時に、処理障害だけでなく、産生側因子の関与も高脂血症発生に重要であることを考えさせる。

2. VLDLの脂質および蛋白の変動について

ヘパリン静注後にVLDLのTG、コレステロール、蛋白は低下したが、PLは一定傾向を示さなかった。また、TG-蛋白の比が低下し、コレステロール-蛋白の比も低下傾向を示したのに、PL-蛋白の比が上昇傾向を示したことにより、

TG, コレステロール含量の多いいわゆる大型のVLDLの代謝が強く起きていたことが推定される。Nicholsら¹²⁾はヘパリン 100mg (5,000単位) 静注後およびCPIB投与35日後のリポ蛋白の変化をSf値で観察しているが、いずれの場合でもSf値の高いものの減少があることを認め今回の成績とはほぼ一致した見解を示している。次いでSf値を比較して、ヘパリン静注後75分にはSf₂₀₋₄₀₀ (-76%), Sf₆₋₁₆ (-69%) と減少したのに対しSf₂₋₄ (+23%)が増加したことを示し、また、CPIB投与後にはSf₁₆₋₄₀₀ (-50%), Sf₆₋₁₆ (+23%), Sf₀₋₆ (-35%)という変化があり、異つた反応を示したことを報告している。

3. LDLの脂質および蛋白量の変動について
LDL中のTGの値は減少したが、コレステロール, PL, 蛋白量はVLDLでは減少したのに反しLDLでは増加した。このことはヘパリン静注後にVLDLの分解と共にLDL分画中のコレステロール, PL, 蛋白量の増加が起こつたことを示し、VLDLの一部がLDLへ移行したと推定される。Levyら¹³⁾はVLDLの代謝について、VLDLは生体内では6~12時間の半減期で代謝されていること、また、¹²⁵IでラベルしたVLDLを観察した時にVLDLの一部がLDLへ移行したことを述べ、しかも、全てのLDLがVLDLのremnantではないかとさえ推定している。今回の実験でもVLDLよりLDLへの移行の可能性を示したが、その他にLDL中のTG含量も減少することによりLDLでもTG含量の比較的少ない小型LDLが増加することが推定された。このことは前述したNichols¹²⁾らのSf値で比較した結果と一致している。

4. VLDLおよびLDLアポ蛋白の変動について

1966年にGustafsonら¹⁴⁾がリン脂質-蛋白の複合体を得ることにより、 α -リポ蛋白、 β -リポ蛋白に特有なアポ蛋白をそれぞれアポA、アポBと名づけ、VLDLがアポA、アポBの他に、VLDLに特有なアポCを有していることを報告したが、

以後この方面の研究は急速に進歩した。Havelら¹⁵⁾の報告によれば、VLDLは一部腸管などでも造られるが80%は肝臓でつくられるという。肝臓内では、滑面小胞体(SER)中でアポ蛋白が次第に脂質を加えていきゴルジ装置を経てdisse腔より放出される。このnascent VLDLがHDLより一部のapoprotein (activator protein) を得てLP Lへの感受性を増して、LP Lの水解作用で代謝されていくことが推定されている。現在、VLDLアポ蛋白もいくつかのsubunitsに分類されLevyら¹³⁾はカルボキシル基末端アミノ酸として、アポ-セリン、アポ-グルタミン酸、アポ-アラニンに分類している。また、アポ蛋白相互間の移行が起こることが指摘されている。すなわち、アポ-アラニンがVLDLおよびHDLのいずれにも存在している点に注目し、LaRosaら¹⁶⁾は5,000単位のヘパリンを静注することにより、VLDL中のアポ-アラニンが減少し、HDL中のアポ-アラニンが増加していることを確かめ、アポ-アラニンがVLDLからHDLへ移行したことを報告している。また、Havelら¹⁷⁾は脂肪食後のchyloを観察して、HDL中のいわゆるactivator proteinがchyloに移行してその代謝に関与していることを報告している。以上の如きことを考慮してPHLAによるアポ蛋白の変動を、とくにそのアミノ酸の組成の変動を加えて観察したのが今回の実験である。しかも、同一人を用いてヘパリン静注前後でアポ蛋白のアミノ酸組成の変動を観察したという報告は従来みられていない。

表4に示した如く、VLDLとLDLのアポ蛋白のアミノ酸の組成を比較してみるとVLDL中には有意の差で、セリン、グルタミン酸、アラニン、バリンなどが多くロイシンの含量の少ないことが分かった。このことと表2に示した結果と比較してみると、VLDLアポ蛋白の変化の大きかつたアラニン、セリン、グルタミン酸、バリンなどのアミノ酸と一致している。図7にSeidel¹⁸⁾によるアポ蛋白の種類を模式的に示した文献を引用してみたが、VLDLアポ蛋白はアポC(図でC_I, C_{II},

C_{III}) が50%, アポB (図でB) が40%, アポA (図でA_I, A_{II}) が10%であり, アポB, アポCがVLDLアポ蛋白の90%を占めることになる. アポBはLDLアポ蛋白であるからVLDL, LDLのアポ蛋白の主な相異はアポCの相異である. 従つて, 今回のヘパリン投与後の成績で, 元来アポCに多く存在するアミノ酸の変動が大きかったことから, VLDLが次第にアポCを失つて小型化し, 遂にはLDLになるという推定が成り立つ.

次に, 表3に示したVLDLアポ蛋白のアミノ酸組成については, 正常例に比較してtype IIb, type IVの例にVLDLに特徴的に多いアミノ酸の含有量の比率が高いことは注目値する. また, この傾向はtype IIbよりもIVに著しくTG値の高いものに明らかである. この事実はtype IVの例にいわゆるcarbohydrate induced hyperlipemiaが多いことが言われ, しかもTGの含量の多いSf値の高いVLDLが多いという報告¹⁹⁾²⁰⁾があるが, 今回のアミノ酸の組成の面からもseidelのSchema等と照らし合わせてtype IVでは大型のVLDLが多いことが推測される.

結 論

1) ヘパリン静注後PHLA作用がおこり血清TGはFFAの放出と共に低下する. この場合に, 高TG例程その低下度が大きい. 同じことがリポ蛋白電気泳動上pre-βリポ蛋白についても言える.

2) PHLAによりVLDLが減少するが, そ

の場合に, TG含量の多い比較的大型のVLDLの変動が著しい.

3) VLDLが減少する時にLDL分画中のコレステロール, PL, 蛋白の増量がおこりVLDLよりLDLへの移行が示唆され, この時にLDL自体も小型のものが増えると推定される.

4) PHLAによりVLDLアポ蛋白のアミノ酸の組成は変化する. その場合, 変動の大きいアミノ酸の種類は, アラニン, セリン, グルタミン酸, バリンなどの順である.

5) Type IIb例について, VLDLおよびLDLアポ蛋白のアミノ酸組成を比較すると有意の相異が認められる. VLDLアポ蛋白にはLDLアポ蛋白に比して, グルタミン酸, セリン, アラニン, バリンなどで多く含まれロイシンの含量が少ない. このVLDLに多いアミノ酸の種類はPHLA時に組成の変動の大きかったアミノ酸の種類と一致し, VLDLが次第にアポCを失つて小型化し, 遂にはLDLになるという推定が成り立つ.

6) VLDLアポ蛋白のアミノ酸組成はタイプ別でやや異なる傾向がある. アミノ酸組成の面からもtype IV症例では大型VLDLの多いことが推定される.

御協力いただいた慶応大学医学部医化学教室, 小泉, 関田(恒)両博士に感謝する.

文 献

- 1) Memoranda, Classification of Hyperlipidaemias and Hyperlipoproteinaemias. Bull of WHO, 43:

- 891~908, 1970. —2) Korn, E.D.: Clearing factor, a heparin-activated lipoprotein lipase. *J. biol. Chem.* 215: 1~26, 1955. —3) Cornwell, D. G., Kruger, F.A. et al.: Studies on the Characterization of Human Serum Lipoproteins Separated by Ultracentrifugation in a Density Gradient, *Amer. J. clin. Nutr.* 9: 41~54, 1961. —4) Fredrichson, D.S., Lery, R.I. et al.: The nature of pre- β (very low density) lipoproteins, *J. clin. Invest.* 45: 67~77, 1966. —5) Havel, R.J., Eder, H.A., Bragdon, J.H.: The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human sera. *J. clin. Invest.*, 34: 1345~1353, 1955. —6) Ewing, A.M., Lindgren, F.T. et al.: The analysis of human serum lipoprotein distributions. *Advances in Lipid Research*. 3: 25~29, 1965. —7) Lowry, O.H. et al.: Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. biol. Chem.* 193: 265~275, 1951. —8) Scanu, A.M. et al.: Isoelectric fractionation and Characterization of Polypeptides from human serum very low density lipoproteins, *Biochim. Biophys. Acta.* 236: 29~37, 1971. —9) Moore, S. and Stein, W.H.: Chromatographic determination of amino acids by the use of automatic recording equipment. *Method. Enzymol.* 6: 819~831, 1963. —10) Levy, R.S. et al.: Amino acid composition of the protein from chylomicrons and human serum lipoproteins. *J. Lipid Res.* 8: 463~472, 1967. —11) Boberg, J.: Heparin-released blood plasma lipoprotein lipase activity in patients with Hyperlipoproteinemia. *Acta Medica Scand.* 191: 97~102, 1972. —12) Nichols, A.V., Strisower, E.H., Lindgren, F.T. et al.: Analysis of change in ultracentrifugal lipoprotein particles following heparin and ethyl-p-chlorophenoxy isobutyrate administration. *Clin. chim. Acta.*, 20: 277~283, 1968. —13) Levy, R.I., Bilheimer, D.W. and Eisenberg, S.: The structure and metabolism of Chylomicrons and Very Low Density Lipoproteins (VLDL), *Plasma Lipoproteins* edited by R.M.S. Smellie. Academic Press, 1971, p. 1~17. —14) Gustafson, A., Alaupovic, P. and Furman, R.H.: Studies of the composition and structure of serum lipoproteins: Separation and characterization of phospholipid-protein residues obtained by partial delipidation of very low density lipoproteins of human sera. *Biochemistry.* 5: 632~640, 1966. —15) Havel, R.J.: Mechanism of Hyperlipoproteinemia. *Adv. Exper. Med. & biol.* 26 :57~68, 1972. —16) LaRosa, J.C., Levy, R.I., Fredrichson, D.S. et al.: Changes in high-density lipoprotein protein composition after heparin-induced lipolysis. *Amer. J. Phys.* 220: 3, 785~791, 1971. —17) Havel, R.J. et al.: Interchange of apolipoproteins between chylomicrons and high density lipoproteins during alimentary Lipemia in man. *J. clin. Invest.* 52: 32~38, 1973. —18) Seidel, D.: Advances in lipoprotein research. *Nutr. Metabol.* 15: 9~16, 1973. —19) Schonfeld, G.: Changes in the composition of very low density lipoprotein during carbohydrate induction in man. *J. lab. clin. Med.* 75: 206~211, 1970. —20) 中谷矩章: リポ蛋白の組成に関する研究—高糖質食, 高脂肪食が超低比重リポ蛋白の組成に及ぼす影響. *日本老年医学会雑誌*, 9(1): 29~41, 1972.