臨床 ヘパリン静注後血漿リパーゼとカイロミクロンとの

反応異常がみられた高中性脂肪血症の1例

千葉大学医学部第二内科

平良 真人 白井 厚治◇ 森崎 信尋

斎藤 康 熊谷 朗

川鉄健保千葉病院内科 松岡 信夫

千葉市立病院外科 上村 重明

HYPERTRIGLYCERIDEMIA (TYPE V) ASSOCIATED WITH IMPAIRED INTERACTION OF POST HEPARIN PLASMA LIPASE WITH CHYLOMICRONS

Masato TAIRA, MD, Kohji SHIRAI, MD, Nobuhiro MORISAKI, MD,
Yasushi SAITO, MD and Akira KUMAGAI, MD

The Second Department of Internal Medicine, School of Medicine Chiba University

Nobuo MATSUOKA, MD

Kawatetsu General Hospital, Chiba

Shigeaki UEMURA, MD

Chiba City Hospital, Chiba

概要 妊娠中に高度の中性脂肪血症をきたし、肺炎を合併し流産に至った28才、女性につきリポ蛋白画分の性状、ヘパリン静注後血漿リパーゼ活性、更にエストロジェン負荷試験を行ない、若干の知見を得たので報告する。リポ蛋白画分では、カイロミクロンと超低比重リポ蛋白の増加がみられ、高脂血症V型を呈した。カイロミクロンの脂質組成は変化なかったが、巨大なカイロミクロンの存在がみられた。精製牛ミルクリポ蛋白リパーゼによる患者のカイロミクロン中性脂肪分解は、正常者のカイロミクロンと差がみられなかった。ヘパリン静注後血漿中には、基質としてTriton-X100で乳化したトリオレインを用いると、リポ蛋白リパーゼ活性と肝性リパーゼ活性は共に存在することが認められた。一方基質としてカイロミクロンを用いると、患者ヘパリン静注後血漿リパーゼ活性は、正常者のその11%しかみられなかった。これらのことは本患者のヘパリン静注後血漿リパーゼとカイロミクロンとの反応様式に異常のあることを推測された。更にエストロジェン（プレマリン11.25mg/日×2日）を負荷すると、血中中性脂肪値は、600mg/dlから1200mg/dlと急上昇を示した。一方、脂肪制限食摂取後、血中中性脂肪値が300mg/dlに低下したとき、プレマリン11.25mg/日×6日を負荷しても中性脂肪値は上昇がみられなかった。これらのことから高中性脂肪血症そのものが、エストロジェンによる血中中性脂肪上昇作用を助長している可能性が推測された。

緒 言

高中性脂肪血症は、黄色腫、肺炎を伴うことが知られ¹⁾、その原因としては、リポ蛋白リパーゼの

酵素欠損症(Type I)¹⁾、活性化因子であるアポリポ蛋白C-IIの欠損症等^{2,3)}が明らかにされてきた。しかしカイロミクロンを伴う高中性脂肪血症(Type V)はいまだその詳細な解明はなされておらず、肝での合成亢進⁴⁾およびリポ蛋白リパーゼ

〔昭和57年7月12日受稿〕

の機能低下⁵⁾が推測されているが、その詳細は明らかにされていない。今回我々は妊娠中に高度の中性脂肪血症(Type V)をきたし、肺炎を併発し、流産に至った28才、女性のリポ蛋白分析、ヘパリン静注後血漿リパーゼ活性の検討、更にエストロゲン負荷試験を行ない、本症の病因について検討を加え、若干の知見を得たので報告する。

症 例

患者： 28才、女性。

主訴： 左上腹部痛、乳び血清。

家族歴： 両親、同胞に同様の症状を有するものは見られない。

既往歴： (1) 23才のとき、嘔吐を伴う左側腹部から下腹部にかけて痛みあり。某病院に入院した。産婦人科的な異常所見はなかったが、ダグラス穿刺にて黄色透明な液が採取された。このとき強度の乳び血清がみられ、血中中性脂肪値は1830 mg/dl、総コレステロール値は272mg/dlであった。血清アミラーゼ、尿中アミラーゼは正常であった。入院後1週間で中性脂肪値は336mg/dl、総コレステロール値は114mg/dlまで低下し、症状も消失した。(2) 24才のとき、妊娠6カ月目で死産。胎児は発育不良であった。血清脂質等の詳細は不明。

現病歴： 昭和56年、妊娠6, 8, 9カ月目に嘔吐を伴う左上腹部および背部の疼痛発作を起こした。血中および尿中アミラーゼが高値であったことから、急性肺炎と診断された。その際強度の乳び血清を指摘された。2回目の腹痛発作時、血中中性脂肪値は1500mg/dlと上昇がみられ、さらに3回目の腹痛発作時に中性脂肪値は5500mg/dlまで上昇がみられた。この3回目の腹痛発作の翌日、胎児は死亡、死産となった。胎児は体重1330g、身長41cmで発育不良。胎盤には一部organizationを伴うischemic necrosisがあつた。死産した1週間後には中性脂肪値は700mg/dlまで低下した(図1)。強度乳び血清の原因精査のため昭和56年6月当科入院となった。

入院時現症： 身長156cm、体重56kg、発育良好、体温36.8℃、血圧120/60mmHg、脈拍78/分整、

図1. 妊娠の経過と血中脂質の変動

皮膚に黄色腫、発疹、皮下結節は見られなかった。眼瞼結膜の蒼白、眼球結膜の黄染を認めず、角膜リングもみられなかった。腹部に腫瘤は触知せず、胫骨前部の浮腫なく、神経学的異常所見は認められなかった。

入院時一般検査成績： 入院時の一般検査成績を表1に示した。血液化学では、中性脂肪値は441 mg/dlと高値を示し、総コレステロール値は106 mg/dlと低値を示した他、特に異常を認めなかった。血算、検尿、血清学的検査、内分泌学的検査でも異常がみられなかった。75g糖負荷試験で耐糖能の低下がみられた。なお、1325kcal/日の食事療法にて、2週間後早朝空腹時血糖値は100mg/dlまで低下した。尿中、血中アミラーゼは正常であったが、脾臓に関する検査では腹部CTで脾尾部付近にlow density areaが認められた(図2)。腹部超音波断層法では、脾尾部と脾門部の間にmass lesionを認めた。逆行性脾胆管造影法では脾管の偏位が見られたが、壁に不整は認められなかった。これらの所見から、脾尾部の仮性のう胞が形成されていることが推測された。腹腔動脈造影では、脾静脈の閉塞がみられた。脾外分泌機能検査として、PFDテストを行なうと、93%と正常であつた。これらの所見から、急性肺炎のあつたことが推測された。

脂質代謝系検査の方法

1) リポ蛋白分画の脂質組成

血清 4ml に plasma density buffer (0.9%

表1. 入院時検査所見

血算		検尿		便	
赤血球	496×10 ⁴ /mm ³	比重	1.025	潜血反応	(±)
ヘマトクリット	40.7%	蛋白	(-)	虫卵	(-)
ヘモグロビン	13.4 g/dl	糖	(-)		
白血球	7400/mm ³	沈渣	異常なし		
血小板	10.5×10 ⁴ /mm ³				
血液化学					
総蛋白	8.0 g/dl	尿素窒素	17 mg/dl	Na	137 mEq/l
GOT	33 U	尿酸	7.0 mg/dl	K	4.5 mEq/l
GPT	31 U	クレアチニン	0.9 mg/dl	Cl	105 mEq/l
LDH	126 U	総コレステロール	106 mg/dl	Ca	8.9 mg/dl
Alk-P-ase	78 U	中性脂肪	441 mg/dl		
T. bil	0.8 mg/dl	リン脂質	142 mg/dl	CRP	(-)
TTT	3.7 U	β-リポ蛋白	498 mg/dl	RA	(-)
ZTT	7.2 U	アミラーゼ	120 U	TPHA	(-)
γ-GTP	11 U				
Ch. E	6.5 U				
ホルモン学的検査					
尿17-OHCS	8.6 mg/d	75gOGTT			
17-KS	4.1 mg/d	血糖値(mg/dl)	IRI(U)		
T ₃	136.4 ng/dl	前	124	5.0	
T ₄	10.0 μg/dl	30分	173	120	
TSH	2.0 μU/ml	60分	172	83	
		120分	129	89

図2. 腹部CT scanning像(第12胸椎中央部横断面).
膵尾部にlow density areaが認められた.

NaCl-10mM tris-HCl, 1mM DETA-0.01% NaN₃, pH7.4) 1mlを加え, 13000×g 30分, 4℃で遠心し, その上層部をカイロミクロンとした. その下層を110000×g, 20時間超遠心し, 上層を超低比重リポ蛋白(VLDL), その下層にKBrを加えて密度(d) 1.063に調整し, 同様に遠心, 更にその下層をd=1.21にして遠心し, それぞれの上層を低比重リポ蛋白(LDL), 高比重リポ蛋白(HDL)

として分離した. 中性脂肪, リン脂質, コレステロールは酵素法のキット(中性脂肪はヤトロン社, リン脂質, コレステロールは日本商事)で測定した.

2) リポ蛋白リパーゼ(LPL)によるカイロミクロンの水解

LPLは牛スキムミルクから, ヘパリンセファロース4Bを用いたアフィニティクロマトグラフィーで精製した⁶⁾. 比活性は20mmol FFA/mg蛋白/hであつた. 対照者のカイロミクロンは, バター50g経口摂取し, 2時間目血清より調製した. カイロミクロン中性脂肪分解反応溶液は, カイロミクロン(中性脂肪0.4mg), 脱脂した牛アルブミン(BSA) 4 mg, ミルクLPL 10ng蛋白, 0.1M Tris-HCl緩衝液(pH8.6) からなり, 最終容量を0.25mlとし, 37℃, 30分間インキュベーションした後, 100℃, 3分間ボイルして反応停止した後, 遊離した脂肪酸をNEFAキット(日本商事)を用いて測定した. 盲検は, ミルクLPLを加えずに同様の操作を行なつた.

3) ヘパリン静注後血漿リパーゼ活性(PHLA)ノボヘパリン(小玉社製)10単位/体重kgを生食

5 ml と混ぜ静注し、経時的に採血した後、血漿を分離し、それをヘパリン静注後血漿 (PHP) とした。PHLA は tri [1-¹⁴C] oleoyl glycerol を基質として用い、すでに報告した方法⁶⁾に準じて測定した。反応溶液は、最終容量 250 μ l 中に、trioleoyl-glycerol 377 nmol, tri [1-¹⁴C] oleoyl glycerol 0.04 μ Ci (specific activity 53 mCi/mmol, New England Nuclear) 0.02% Triton X-100, 脱脂牛アルブミン 5 mg, apolipoprotein C-II 1 μ g, 0.1 M tris HCl pH 8.6 を含有し、酵素溶液添加後、37°C 30 分間インキュベーションした。遊離した [¹⁴C] oleic acid は Belfrage and Vaughan¹³⁾の方法で抽出、その radio 活性を測定した。肝性リパーゼ (HTGL) 活性は、1 M NaCl を添加して測定した。LPL 活性は、PHLA 活性から HTGL 活性を引いたものとした。

4) PHP によるカイロミクロンの水解

反応溶液は Fielding の方法により⁷⁾ tri [1-¹⁴C] oleoyl glycerol でラベルされたカイロミクロン (中性脂肪 = 0.25 mg), BSA 5 mg, 0.1 M tris-HCl 緩衝液 (pH 8.6), 50 μ l の PHP (10 分後) からなり、最終容量を 0.25 ml とした。37°C, 1 時間インキュベーションした後、先に述べた PHLA の測定と同様の操作を行ない、遊離した [1-¹⁴C] oleate の放射活性を測定した。

脂質代謝系検索の成績

1) リポ蛋白電気泳動とリポ蛋白分画

アガロース電気泳動法では、原点から pre- β 分画にかけて一様の脂質バンドが見られ、カイロミクロンの存在が推測された。Friedrecksion 分類では Type V に属すると思われた。超遠心分離による分画ではカイロミクロンの存在と超低比重リポ蛋白分画 ($d < 1.006$) の中性脂肪の上昇、低比重リポ蛋白分画 ($1.006 < d < 1.019$) および高比重リポ蛋白分画 ($d > 1.021$) の総コレステロール、リン脂質の低下がみられた (表 2)。

2) ヘパリン静注後血漿リパーゼ活性 (PHLA)

ヘパリン静注後血漿リパーゼ活性のうち、リポ蛋白リパーゼ活性および、肝性リパーゼ活性ともに、低値ながら正常範囲の活性が認められた (図

表 2. リポ蛋白分画の脂質組成

	Mean $\pm$ SD		
	T. Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)
Chylo.	58 (0)	447 (0)	68 (0)
VLDL	26 (23 $\pm$ 10)	179 (101 $\pm$ 22)	28 (23 $\pm$ 10)
LDL	10 (116 $\pm$ 25)	34 (28 $\pm$ 16)	25 (83 $\pm$ 22)
HDL	30 (52 $\pm$ 11)	28 (10 $\pm$ 2)	59 (89 $\pm$ 21)
Total	125 (191 $\pm$ 11)	688 (140 $\pm$ 28)	180 (195 $\pm$ 15)

図 3. ヘパリン静注後血漿リパーゼ活性。点域は正常域を示す。

3)。

3) カイロミクロンの性状

カイロミクロンの脂質組成では、コレステロール、中性脂肪、リン脂質とも、対照者のものと有意の変動は認められなかった。電顕像では大小不同がみられ、特に直径 5 μ m 以上の巨大粒子の存在が認められた (図 4 ①②)。精製牛ミルクリポ蛋白リパーゼによるカイロミクロンの中性脂肪分解は、正常者のカイロミクロンのものと、有意の差はみられなかった (図 4 ③)。

4) PHP によるカイロミクロンの中性脂肪分解

正常人の PHP は、正常人および患者のカイロミクロンの中性脂肪を同程度に水解した。従つてカイロミクロン中性脂肪の水解されやすさには違いはみられなかった。しかし患者の PHP は、正常人および患者のカイロミクロンを共に、正常人の PHP の 11% しか水解しなかった (図 5)。

① カイロミクロンの脂質組成(重量%)

	総コレステロール	中性脂肪	リン脂質
患者	11.2	70.5	18.3
正常人	10.6	72.8	16.6

② カイロミクロンの大きさの分布

③ 牛ミルクリポ蛋白リパーゼによるカイロミクロンの水解

患者	32.6
正常人	29.2

(FFA mEq/mg/hr)

図4. カイロミクロンの脂質組成と性状. カイロミクロンの粒子サイズは徳島大学栄養学部 水沼俊美博士によつて電顕像から計測した.

図5. ヘパリン静注後血漿リパーゼによるカイロミクロンの水解

考 案

本症例は、妊娠中に非常な高中性脂肪血症をきたし、肺炎を併発し、流産に至つた患者である。本症例では、Type Vの高脂血症を呈したが、Type Vの高脂血症の原因としては、カイロミクロンの存在から、中性脂肪に富むリポ蛋白のクリアランスの低下が推測されている⁵⁾。又肝臓からのVLDLの過剰分泌によるものとも言われている⁴⁾が、未だ定説はない。今回、その原因を探るため、リポ

図6. 食事療法とプレマリン負荷による血中脂質の変動 入院後の経過

蛋白の性状、水解酵素の性質、更に妊娠時増悪の原因としてエストロジェンの影響について検討を試みた。まず血清脂質の超遠心分画を行なつたところ(表2)、カイロミクロンおよびVLDL中の中性脂肪の上昇と、LDLおよびHDLのコレステロールの低下が認められた。LDLおよびHDLの一部はVLDL、カイロミクロンの分解によつて産生されることが推測されている⁸⁾。従つて、このリポ蛋白のパターンからは、カイロミクロンおよびVLDLの分解過程に異常があると推測される。分解過程の異常の原因としては、基質であるカイロミクロンおよびVLDLの異常と、水解酵素系の機能異常が考えられる。そこでカイロミクロンの側について、脂質組成および性状を調べてみると、総コレステロール、中性脂肪およびリン脂質組成には異常がなかつた(図4①)。さらにカイロミクロン中性脂肪の分解されやすさを調べるために、精製した牛ミルクリポ蛋白リパーゼを用い、患者のカイロミクロン中性脂肪の水解を調べたところ、正常人のカイロミクロンと同程度に水解された(図4③)。これらのことは、電顕像で大小不同がみられ異常な巨大粒子がみられたが、基質としては、その中性脂肪の分解されやすさという面からは異常がないことを思わせる所見である。次に水解酵素の側から検討を試みた。患者のヘパリン静注後の血漿は、基質としてはTriton-X100で乳化したトリオレインを用いた場合、リポ蛋白リパーゼ活性および肝性リパーゼ活性共、正常であつた。従つ

て、少なくとも酵素が欠損している症例とは思われなかった。そこで次に、酵素と基質のインターアクションに異常のある可能性を検討した。すなわち、中性脂肪は水に不溶性のため、水溶液中では種々のdetergentでエマルジョン化しないと安定化されない。逆にこのdetergentの種類によって、その水解活性が変わってしまうことが知られている⁹⁾。又、酵素の側も、基質を認識する際に粒子の界面と接触する必要がある、その過程で界面の性状が酵素の機能を左右している可能性がある。そこで、ヘパリン静注後血漿の中性脂肪水解能を生理的な基質であるカイロミクロンを用いて調べた。図5のごとく、患者のヘパリン静注後血漿は、正常人血漿による水解能の約11%しかカイロミクロンを分解しなかつた。しかも、正常人のカイロミクロンと患者のカイロミクロンの間には、水解されやすさに関して有意の差は認めなかつた。このことはすなわち、酵素と基質とのインターアクションに異常があり、アポ蛋白等で修飾されたカイロミクロンとは反応しにくいことを示唆する成績である。以上より、中性脂肪分解酵素とカイロミクロンとの反応に異常があることが、本症例の高中性脂肪血症の原因の一つとなつていいる可能性が推測された。その精細を明らかにするには、更にリパーゼの活性発現機構の解明が必要であると思われる。次に、本症例で妊娠中に高中性脂肪血症をきたした原因を探るために、妊娠時のホルモンの役割りを調べた。女性ホルモンのうち、エストロジェンには、血中中性脂肪を増加させる作用があることが知られている¹⁰⁾。そこでエストロジェン負荷試験を行なつた。エストロジェン製剤としてプレマリンを11.25mg/日用いた。エストロジェン負荷試験の結果を図6に示した。血中中性脂肪値600mg/dlの時プレマリンを服用すると、1日後血中中性脂肪値が1200mg/dlまで上昇した。次に血中中性脂肪値300mg/dlの時、プレマリンを同量服用したところ、6日間連日服用しても血中中性脂肪の上昇はみられなかつた。エストロジェンによる中性脂肪の反応に相異がみられたことは、血中中性脂肪が高いことが、エストロ

ジェンの血中中性脂肪増加作用を助長している可能性を示唆しているが、その精細については今後の検討が必要と思われる。本症例では耐糖能の低下があり、糖尿病状態が高中性脂肪血症を増悪させた可能性もある¹¹⁾。水解酵素系の異常により、中性脂肪に富むリポ蛋白合成増加に対する適応能が少ないことが原因となつている可能性もあるが、今後更に検討を続けていきたい。なお、現在本患者は脂肪摂取制限をしつつ外来で経過観察中である。

結 語

1) ヘパリン静注後血漿リパーゼとカイロミクロンとのインターアクションの異常が一因となり、水解活性が低下し、その結果高中性脂肪血症をきたしたと思われる特異な1例を報告した。

2) この患者は、妊娠では高中性脂肪血症を増悪させた。その一因は、エストロジェンであろうと推測される。また、高中性脂肪血症自身が、エストロジェンによる血中中性脂肪上昇作用を助長したものと思われた。

謝辞 電子顕微鏡によるリポ蛋白の形態学的検索をして頂いた徳島大学実践栄養学部 水沼俊美博士に心から感謝の意を表します。

旭中央病院受診時の所見につきましては、吉田象二先生の多大の御助言、御協力を賜り感謝申し上げます。

文 献

- 1) Brown WV, et al: Hyperlipidemia, Grune & Stratton, New York, 1977, p93.
- 2) Brecknridge WC, et al: Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II. New Engl J Med 298: 65, 1978.
- 3) Yamamura T, et al: Familial type I hyperlipoproteinemia caused by apolipoprotein C-II deficiency. Atherosclerosis 34: 53, 1979.
- 4) Porte D Jr and Bierman EL: The effect of heparin infusion on plasma triglyceride in vivo and in vitro with a method for calculating triglyceride turnover. J Lab Clin Med 73: 631, 1969.
- 5) Havel RJ, et al: Splanchnic metabolism of free fatty acids and production of triglyceride of very low density lipoproteins in normolipidemic and hypertriglyceridemic humans. J Clin Invest 49: 2017, 1970.

- 6) Matsuoka N, et al: Preparation and properties of immobilized lipoprotein lipase. *Biochem Biophys Acta* 620: 308, 1980.
- 7) Fielding CJ: Validation of procedure for exogenous isotopic labeling of lipoprotein triglyceride with radioactive triolein. *Biochim Biophys Acta* 573: 255, 1979.
- 8) 内藤周幸, 他: リポタンパクの代謝. *内科* 49: 817, 1982.
- 9) 野間昭夫: 動脈壁のリパーゼ. *代謝* 17: 17, 1980.
- 10) Gluck CJ, et al: Estrogen-induced pancreatitis in patients with previously covert familial type V hyperlipoproteinemia. *Metabolism* 21: 657, 1972.
- 11) 村勢敏郎: 内科疾患とリポタンパク代謝異常. *内分泌疾患*. *内科* 49: 871, 1982.
- 12) 竹田亮祐: 内科疾患とリポタンパク代謝異常. *肥満・糖尿病*. *内科* 49: 877, 1982.
- 13) Belfrage P and Vaughan M: Simple liquid-liquid partition system for isolation of labeled oleic acid mixture with glycerides. *J Lipid Res* 10: 361, 1969.