

慢性血液透析患者の中間型リポ蛋白 (IDL) の性状

園部美弥彦 湯川進 西川治 日比野彰 宮井利彦
前田孝夫 野本拓 西川紀子*¹ 西出巖*¹

和歌山県立医科大学第3内科 尚生会西出病院*¹

(昭和61年11月14日受付)

key words : IDL, アポ蛋白, atherosclerosis, 血液透析

〈要旨〉

透析の有無にかかわらず慢性腎不全患者では中間型リポ蛋白 (IDL) の増加が認められる。IDL は atherogenic なリポ蛋白 (Lp) の1つとして知られ、慢性血液透析患者 (HD) における動脈硬化症との関連で注目されているが、その性状については十分検討されていない。そこで今回、HD—IDL の性質について健常人 (C) のそれと対比した。性、年齢をマッチさせた HD および C の血清を Havel らの方法で超遠心を2回くり返し、IDL を得た。この IDL を透析脱塩後、その化学組成およびアポ蛋白 (アポ) を分析した。また一部で Biogel A-5m を用いたゲル濾過および PAG 電気泳動 (PAGE) を施行した。HD は C に比べ、血清で中性脂肪 (TG) の増加とアポ C-III の増加を示した。一方総コレステロール (TC) やアポ B, C-II, E には差異はなかった。血清 IDL 総量の増加を示した。その化学組成では蛋白、コレステロール (Ch) リッチで TG はむしろ低値を示し、Ch のエステル比も低下していた。アポ蛋白組成では、アポ B の増加と C-II, C-III, E の低下を示した。その結果として、E/B 比の著明な低下がみられたが、C-II/C-III 比には差異はなかった。またゲル濾過および PAGE では両方で著明な差異は認められなかった。以上の結果より、HD で増加している IDL は C と比較すると、その化学組成やアポ蛋白組成では全く異なった性質を有する Lp であることが判明した。

Studies on abnormalities in serum intermediate density lipoproteins during maintenance hemodialysis

Miyahiko Sonobe, M. D., Susumu Yukawa, M. D., Osamu Nishikawa, M. D., Akira Hibino, M. D., Toshihiko Miyai, M. D., Takao Maeda, M. D., Hiroshi Nomoto, M. D., Noriko Nishikawa*¹ and Iwao Nishide, M. D.*¹
The Third Department of Internal Medicine, Wakayama Medical College ; Nishide Hospital*¹

In order to investigate the abnormalities of intermediate-density lipoproteins (IDL) in patients on maintenance hemodialysis (HD), we determined the percentage chemical compositions and the apolipoprotein (apo) distributions of IDL using the single radial immunodiffusion method. Electrophoretic mobility and molecular size in IDL were also analyzed. All determinations were compared between HD and sex- or age-matched normal controls (C). 1) HD produced a significant increase in the total amounts of IDL. 2) With respect to the chemical compositions of IDL in HD, there was a significant increase in total cholesterol and a tendency for increased protein, while there was a significant decrease in triglyceride and the cholesterol esterification ratio. 3) HD produced a significant increase in apo B and a significant decrease in apo C-II, C-III and E. 4) The electrophoretic migration and elution patterns of IDL showed similarities between HD and C.

緒言

慢性血液透析患者でみられる特異な血清脂質代謝異常は、慢性腎不全それ自身にもとづくもので、血液透析などによって一部改善はみられるものの、基本的な異常は

継続していると考えられている¹⁻³⁾。この脂質代謝異常は主に高中性脂肪 (TG) 血症で、総コレステロール (TC) やリン脂質 (PL) には著明な変動はみられず、さらにリポ蛋白代謝異常としてみると VLDL およびその代謝産物である IDL の増加ならびに HDL の低下として観察される³⁻⁹⁾。このうち IDL は atherogenic なリポ蛋白の

Table 1 Serum lipid and apolipoprotein levels

	No. of cases	Lipids		Apolipoproteins			
		TC mg/dl	TG mg/dl	B	C-II mg/dl	C-III mg/dl	E
Controls	5	187±22	96±24*	82±15	3.2±1.2	7.2±2.5**	4.3±0.5
Hemodialysis patients	5	169±30	142±20*	76±14	3.0±1.0	12.3±1.5**	3.9±1.7

** : P < 0.01

mean±SD.

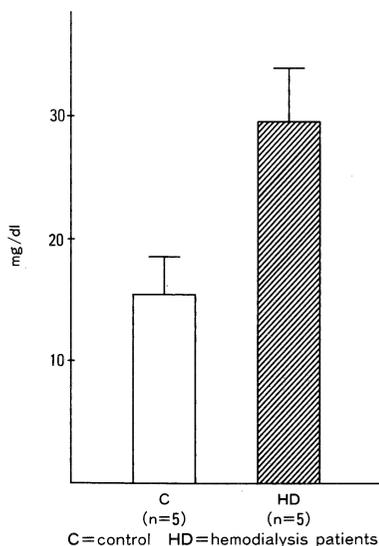


Fig. 1 Serum IDL levels (mean±SD)

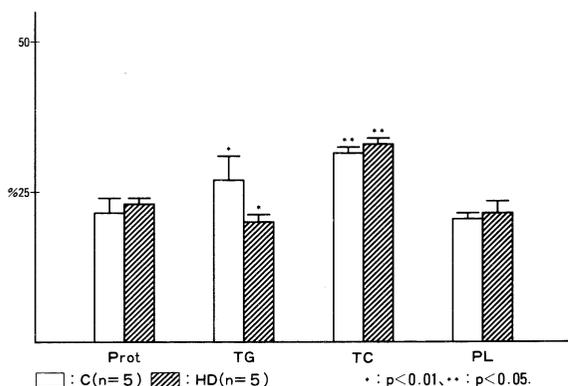


Fig. 2 Percent chemical compositions in IDL (mean±SD)

1つとして知られ¹⁰⁾透析患者における動脈硬化症との関連で注目されているが¹¹⁻¹³⁾, その性状に関しては十分検討されていない。そこで今回, 透析患者のIDLの性質について, その化学組成およびアポ蛋白, また一部でその

サイズおよび移動度について, 健常人のそれと対比, 検討し, 透析患者のIDLについて特異なアポ蛋白のリポ蛋白内分布異常が存在することを確認したので報告する。

対象・方法

1. 対象

性・年齢をマッチさせた健常人(C)および安定期にある透析患者(HD)各々5名を対象とした。なお, 透析患者の食事は透析食を基本とし, 1日摂取カロリーは約2,100 kcalであった。透析条件は週3回5時間のレギュラー透析で, 緩衝液はアセテート緩衝液であった。

2. 方法

1) 血清採取

早期空腹時(HDではHD前)に採血, 直ちに3,000 rpm, 10°C, 10分間遠心し, 血清を得た。

2) 血清IDLの調節

IDLの分離は上記血清10 mlより, Havelらの方法¹⁴⁾で, VLDLおよび無リポ蛋白分画(LPDS)を除去し, 得られたIDL~HDL分画を0.15 M NaCl, 1 mM EDTA, pH 7.4で透析, 約1 ml溶液を得た。このIDL~HDL分画を密度勾配超遠心法で細分画し, IDL該当分画をプール, 上記bufferで透析後一定量に調節し, 約6倍濃縮IDLを作製した。

3) 検査項目および方法

血清およびIDLの脂質は酵素法, IDLの蛋白はLowry変法で測定した。血清およびIDLのアポ蛋白の分析は, IDLについてはminicon B-15で濃縮後SRID法により定量した。

さらに一部のIDLで, Biogel A-5mを用いたゲル濾過およびPAG電気泳動法を施行した。

結果

1. 血清脂質値およびアポ蛋白濃度

健常人と透析患者の血清脂質値およびアポ蛋白濃度をTable 1に一括して示した。血清脂質値では, TCは殆んど差異はみられなかったが, TGは, 透析患者は健常人に比べ有意(P < 0.01)に高く, またアポ蛋白濃度に関しては, アポB, C-II, Eについては両者で殆んど差

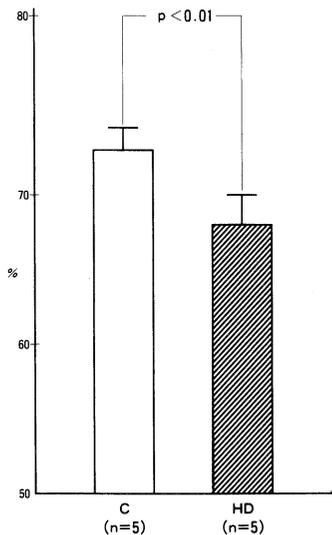


Fig. 3 Cholesterol esterification ratio in IDL (mean \pm SD)

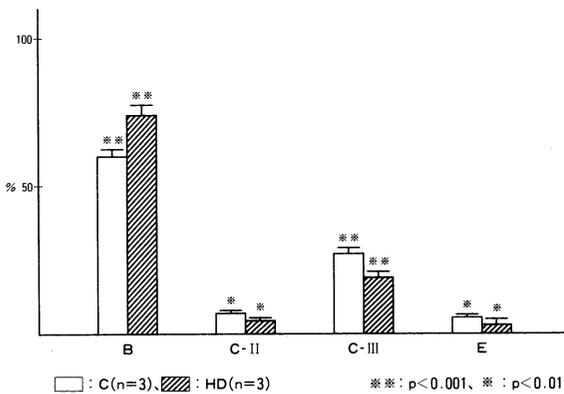


Fig. 4 Percent distribution of apolipoproteins in IDL (mean \pm SD)

異はなかったが、アポ C-IIIは透析患者で有意な ($p < 0.01$) 増加を示した。

2. 血清 IDL 量

Fig. 1 に示すごとく、透析患者の血清 IDL 量は健常人に比べ有意 ($p < 0.01$) に増加していた。

3. 血清 IDL の化学組成 (Fig. 2, Fig. 3)

血清 IDL の化学組成をその比率 (%) でみると、蛋白 (Prot.)、リン脂質については両者で殆んど差異はなかったが、透析患者では健常人に比べ、TG の有意 ($p < 0.01$) な低下および TC の有意 ($p < 0.05$) な増加を示した (Fig. 2)。TC の有意な増加をさらにエステル化率でみると、透析患者では健常人に比べ、エステル化率の有意 ($p < 0.01$) な低下がみられた (Fig. 3)。

4. 血清 IDL のアポ蛋白組成 (Fig. 4, Fig. 5)

透析患者では健常人に比べ、アポ B の有意な増加 ($p < 0.001$)、アポ C-II、C-III の有意な低下 ($p < 0.01$, $p < 0.001$) およびアポ E の有意 ($p < 0.01$) な低下がみられた (Fig. 4)。そこでさらに比率で検討すると、アポ C-II/C-III 比では両者で有意な差はみられなかったが、アポ E/B 比については、透析患者では健常人に比べ有意 ($p < 0.01$) な低下がみられた (Fig. 5)。

5. 血清 IDL のサイズおよび電気移動度

Fig. 6 ならびに Fig. 7 に示すごとく、ゲル濾過でみたサイズならびに PAG 電気泳動法でみた移動度については両者で差異は認めなかった。

考察

内因性 TG rich リポ蛋白である VLDL は、大部分肝臓で¹⁵⁾、一部小腸で¹⁶⁾合成され、リポ蛋白リパーゼ (LPL) と肝性 TG リパーゼ (H-TGL) の作用を受けて、代謝産物である IDL を経て LDL へと転換される^{3,8,17,18)}。LPL は主として VLDL を基質とし、H-TGL は主として IDL を基質としていと考えられている^{8,17)}。血液透析患者でのリポ蛋白異常としては、VLDL および IDL の増加ならびに HDL の低下、酵素異常としては LPL は正常ないし減少、H-TGL は減少^{3,8,17,18)}、さらに L CAT 活性不全が知られている¹⁹⁾。

今回の透析患者における IDL の検討でも、健常人に比べ、IDL 総量は増加しており、またその化学組成において、TC の増加が認められた反面、TG はむしろ低値を示し、さらにエステル化率も低下しており、いずれもこれら従来の報告と呼応した結果である。さらにアポ蛋白異常として検討すると、VLDL ではその総量において、アポ C-II の低下、アポ C-III およびアポ E の増加がみられ^{20~22)}、さらに通常は存在しないとされるアポ B-48 の存在^{5,23)}などが報告されている。特にアポ E に注目してみると、血清で低下していたとする報告²⁴⁾や VLDL でのアポ E の比率が低下していたとする報告⁷⁾もみられる。

今回の検討では IDL のアポ蛋白組成において、透析患者では、アポ B が有意に増加していた反面、アポ C-II、C-III およびアポ E はすべて有意に低下していた。まずアポ B についてみると、アポ B は小腸由来のアポ B-48 と肝由来のアポ B-100 のそれぞれの亜分画が知られており^{5,23)}、その亜分画での増減が注目されるが、アポ B-48 の占める比率は極めて小さく (数%) ほとんどがアポ B-100 と考えられる。

今回の成績でアポ B の相対的な増加がみられたが、これは VLDL-IDL-LDL の経路でのアポ B の代謝が比較的保たれていることを示唆している。次にアポ C 群についてみると、アポ C-II、アポ C-III はそれぞれ LPL の

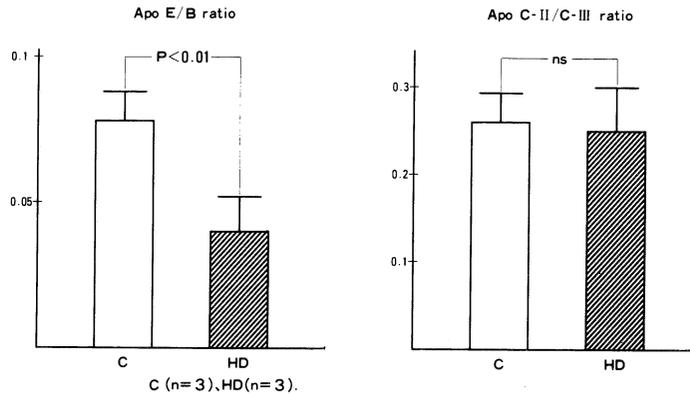


Fig. 5 Apo E/B and C-II/C-III ratios in IDL (mean±SD)

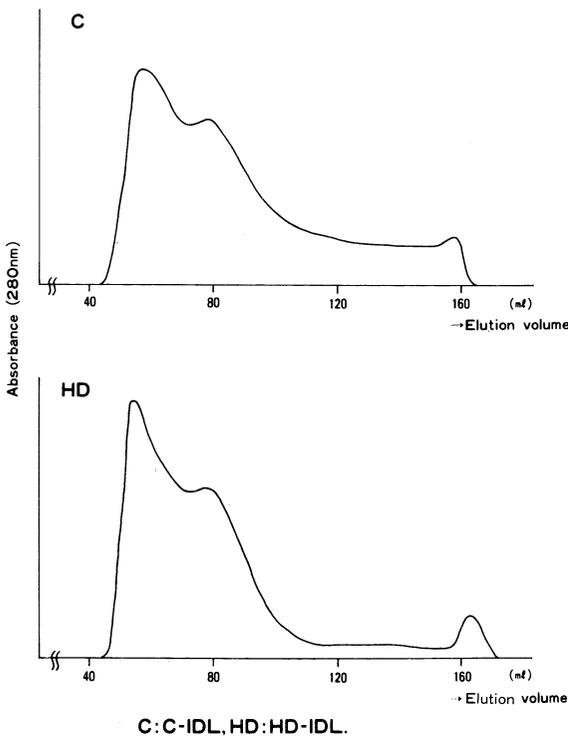


Fig. 6 Elution patterns of IDL on Biogel A-5m column chromatography

activator²⁵⁾, inhibitor²⁶⁾として知られているが、その比率でみると、ともに有意な低下を示した。この変化はVLDLでの組成比とは全く異なり、LPLによるVLDLの水解が順調で、apo C-III rich VLDLからアポC蛋白特にアポ C-IIIのHDLへの転送が正常であることを示している。

一方、アポEが低下していたことについては、種々の可能性が推測されるが、まずアポBの増加に対する相対

的な低下の可能性である。すなわち蛋白総量としては増加傾向を示していたことから、あくまでも比率としての低下ではないかということである。

2つ目の可能性としては、アポEの転送機構の異常があげられる。すなわち、肝臓(一部小腸)で生成された初期のVLDLは、アポBが主体となっており、アポEに富むHDLからアポEとアポCをもらいうける²⁷⁻²⁹⁾とされているが、この転送にLCATの作用を要するとする²⁷⁾なら、透析患者ではLCAT活性の著明な低下が確認されている¹⁹⁾ことから、VLDLひいてはIDLでのアポEの低下が説明されるかもしれない。

3つ目の可能性として、構造上の問題としてのアポEのリポ蛋白からの脱落の可能性があげられる。すなわち、アポEは超遠心の過程で容易にリポ蛋白から脱落し³⁰⁾、無リポ蛋白で回収されるとする考えもあり、健常人のアポEも低下していたことから、この保持能の面での関与も否定できない。なおIII型高脂血症に属するかどうかという問題に関して、アポE-IIIの欠損の可能性については現在のところ、血液透析患者でのこのアポE-IIIの特異的な欠損はみられないとされている。

以上、IDLのアポ蛋白の特異な分布異常について検討したが、アポBおよびアポEはそれぞれreceptorに認識されるアポ蛋白で、IDLも一部LDL receptorを介して肝にとり込まれる³¹⁾ことから、IDLのアポE低下はこの経路での代謝過程においても不都合な状態であり、このreceptorを介する経路の異常が、IDL停滞の主役ではないにしろ(ヒトではVLDLの約90%がLDLへと変換される)この経路の障害もIDL停滞の主要な一因と考えられる。

以上のごとく、透析患者でのIDLについてその停滞と特異なアポ蛋白分布異常が存在することが確認されたが、停滞機構についてはなお不明な点が少なくなく、透

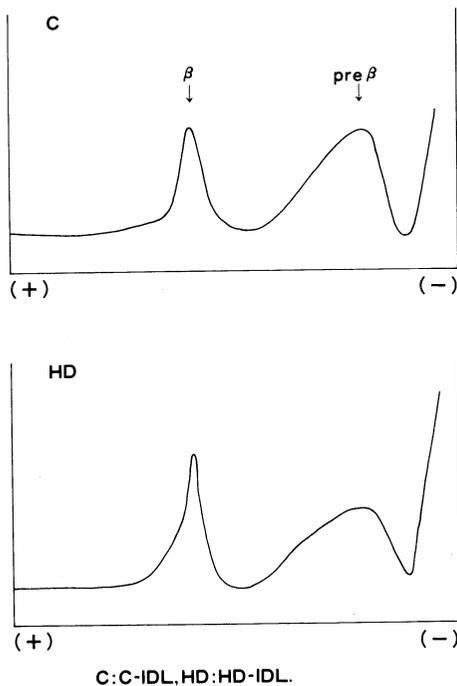


Fig. 7 Electrophoretic patterns of IDL on PAGE

析患者における動脈硬化症との関連で今後の解明が期待されるところである。

結論

透析患者の IDL は健常人の IDL に比べ、以下のような相違がみられた。

1. 血清中の総量の増加を示した。
2. 化学組成上 TG の低下と TC の増加がみられた。コレステロールのエステル比の低下が認められた。
3. アポ蛋白組成では、B の増加と C-II, C-III, E の低下を示した。その結果として E/B 比の著明な低下がみられた。しかし C-II/C-III 比には差異はなかった。
4. サイズ (ゲル濾過), 電気移動度 (PAGE) 上, 著明な差異は認められなかった。

文献

- 1) Frank, W. M., Sreepada Rao, T. K., Manis, T., Delano, B. G., Avram, M. M., Saxena, A. K., Carter, A. C. and Friedman, E. A. : Relationship of plasma lipids to renal function and length of time on maintenance hemodialysis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 31 : 1886-1892, 1978.
- 2) Bonomini, V., Feletti, C., Scolari, M. P., Stefoni, S. and Vangelista, A. : Atherosclerosis in uremia :

a longitudinal study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 3 : 1493-1500, 1980.

- 3) Mordasini, R., Frey, F., Flury, W., Klose, G. and Greten, H. : Selective deficiency of hepatic triglyceride lipase in uremic patients. *N Eng J Med*, 297 : 1362-1366, 1977.
- 4) Rapoport, J., Ariram, M., Chaimovitz, C. and Brook, J. G. : Defective high-density lipoprotein composition in patients on chronic hemodialysis. *N Eng J Med*, 299 : 1326-1329, 1978.
- 5) Nestle, P. J., Fidge, N. H. and Tan, M. H. : Increased lipoprotein-remnant formation in chronic renal failure. *N Eng J Med.*, 307 : 329-333, 1982.
- 6) Ron, D., Dren, I., Ariram, M., Better, O. S. and Brook, J. G. : Accumulation of lipoprotein remnants in patients with chronic renal failure. *Atherosclerosis*, 46 : 67-75, 1983.
- 7) 湯川 進, 西川 治, 前田孝夫, 木下正博, 宮井利彦, 味村啓司, 宗 正敏, 森下 茂, 山田陽一, 高橋敏夫, 雑賀保至, 野本 拓 : 慢性血液透析患者の血清超低比重リポ蛋白 (VLDL) 異常. *和歌山医学*, 34 : 161-168, 1983.
- 8) 湯川 進, 森下 茂, 宮井利彦, 前田孝夫, 高橋敏夫, 木下正博, 味村啓司, 宗 正敏, 山田陽一, 野本 拓, 西出 巖 : 透析患者の血清 VLDL-IDL 異常と PHLA (LPL および H-TGL 活性) 変動. *日腎誌*, 第 XX V 巻第 6 号 : 717-722, 1983.
- 9) 前田孝夫 : 慢性腎不全における高比重リポ蛋白の異常とその成因に関する研究. *和歌山医学*, 35 : 391-405, 1984.
- 10) Tatami, R., Mabuchi, H., Ueda, K., Ueda, R., Haba, T., Kametani, T., Ito, S., Koizumi, J., Ohta, M., Miyamoto, S., Nakayama, A., Kanaya, H., Oiwake, H., Genda, A. and Takeda, R. : Intermediate-density lipoprotein and cholesterol-rich very low density lipoprotein in angiographically determined coronary artery disease. *Circulation*, 64 : 1174-1184, 1981.
- 11) Lindner, A., Charra, B., Sherrard, D. J. and Scribner, B. H. : Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Eng J Med*, 290 : 697-701, 1974.
- 12) Burke, J. F., Francos, G. C., Moore, L. L., Cho, S. Y. and Lasker, N. : Accelerated atherosclerosis in chronic-dialysis patients—another look. *Nephron*, 21 : 181-185, 1978.

- 13) Hahn, R., Oette, K., Mondorf, H., Finke, K. and Sieberth, H. G. : Analysis of cardiovascular risk factors in chronic hemodialysis patients with special attention to the hyperlipoproteinemias. *Atherosclerosis*, 48 : 279-288, 1983.
- 14) Havel, R. J., Eder, H. A. and Bragdon, J. H. : The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J. Clin. Invest.*, 34 : 1345-1353, 1955.
- 15) Windmueller, H. G., Herbert, P. N. and Levy, R. I. : Biosynthesis of lymph and plasma lipoprotein apoproteins by isolated perfused rat liver and intestine. *J. Lipid Res.*, 14 : 215-223, 1973.
- 16) Risser, T. A., Reaven, G. M. and Reaven, E. P. : Intestinal contribution to secretion of very low density lipoproteins into plasma. *Am. J. Physiol.*, 234 : E277-E281, 1978.
- 17) 村勢敏郎, 山田信博, 板倉弘重, 内村英正, 赤沼安夫, 大沢仲昭：リポ蛋白代謝における hepatic triacylglycerol lipase の役割について。脂質生化学研究, 24 : 389-392, 1982.
- 18) Bolzano, K., Krempler, F. and Sandhofer, F. : Hepatic and extrahepatic triglyceride lipase activity in uraemic patients on chronic haemodialysis. *Eur. J Clin Invest.*, 8 : 289-293, 1978.
- 19) Guarnieri, G. F., Moracchiello, M., Campanacci, L., Ursini, F., Ferri, L. Valente, M. and Gregolin, C. : Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) activity in chronic uremia. *Kidney Int.*, 13 : S-26-S-30, 1978.
- 20) Goldberg, A., Sherrard, D. J. and Brunzell, J. D. : Adipose tissue lipoprotein lipase in chronic hemodialysis : role in plasma triglyceride metabolism. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 47 : 1173-1182, 1978.
- 21) Holdsworth, G., Stocks, J., Dodson, P. and Galton, D. J. : An abnormal triglyceride-rich lipoprotein containing excess sialylated apolipoprotein C-III. *J. Clin. Invest.*, 69 : 932-939, 1982.
- 22) Staprans, I., Felts, J. M. and Zacherle, B. : Apo-protein composition of plasma lipoprotein in uremic patients on hemodialysis. *Clinica Chim. Acta.*, 93 : 135-143, 1979.
- 23) 宮井利彦, 湯川 進, 木下正博, 前田孝夫, 味村啓司, 宗 正敏, 森下 茂, 西川 治, 野本 拓：慢性腎不全患者の血清 VLDL, IDL および LDL における Apo B 亜分画の検討。動脈硬化, 11 : 1113-1119, 1983.
- 24) Attman, P. O., Alaupovic, P., Knight, C., Wang, C. S. and Bass, H. : Apolipoprotein pattern in patients with chronic renal failure. *Contr. Nephrol.*, 41 : 328-331 (Karger, Basel 1984)
- 25) Havel, R. J., Shore, V. G., Shore, B. and Bier, D. M. : Role of specific glycopeptides of human serum lipoproteins in the activation of lipoprotein lipase. *Circ. Res.*, 27 : 595-600, 1970.
- 26) Brown, W. V., and Baginsky, M. L. : Inhibition of lipoprotein lipase by an apoprotein of human very low density lipoprotein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 46 : 375-381, 1972.
- 27) 児玉龍彦, 赤沼安夫, 板倉弘重, 井廻道夫, 鈴木利文, 小坂樹徳：Lecithin cholesterol acyltransferase の精製と HDL・VLDL 間の Apo E 移行への影響。脂質生化学研究, 21 : 208-211, 1979.
- 28) 日高宏哉, 戸塚 実, 金井正光：ヘパリン-アフィニティークロマトグラフィーによるアポEリッチリポ蛋白の分離と性質について。脂質生化学研究, 23 : 223-226, 1981.
- 29) 山田信博, 村勢敏郎, 板倉弘重, 赤沼安夫：カイロミクロン-HDL 間でのアポEの転送。脂質生化学研究, 24 : 409-412, 1982.
- 30) 高橋慶一, 山田信博, 村勢敏郎：ゲル濾過法によるリポ蛋白分画法。リポ蛋白・脂質代謝と臨床検査, 29 : 1368-1371, 医学書院, 1985.
- 31) 北 徹, 横山正之, 河合忠一：アポ蛋白とレセプター。代謝, 21 : 635-644, 1985.