

脂肪肝とLDLレセプターについて

栗原 文男・田宮 恵理子

(武蔵野女子大学 食物研究室*)

Fatty Liver and LDL-Receptor.

Fumio KURIHARA and Eriko TAMIYA

Laboratory of Food, Musashino Women's University

An experiment was performed using rats to examine the developmental mechanism of fatty liver from choline deficiency. As the result, it was found that the TG fraction in lipoproteins particularly LDL was markedly decreased. This finding is thought secondary to the hypofunction of liver microsomes from choline deficiency which results in decreased synthesis of serum lipoproteins especially LDL. Therefore, the liver's movement of TG to other organs is decreased and leads to the pathological development of fatty liver from the resulting accumulation of liver TG.

The correlation between decreased LDL synthesis and LDL-Receptors in the fatty liver was studied, however, no conclusions could be made and further studies are required.

脂肪肝は主として triglyceride (以下 TG) の増加で、この TG 増加の理由としては、

- (1) 脂肪動員亢進による肝への free fatty acid (以下 FFA) の過剰な供給。
- (2) 肝での fatty acid (以下 FA) 酸化能の低下。
- (3) アポたん白合成の低下 (リポたん白の合成障害)。
- (4) リポたん白の血中への輸送機構の障害。

* 所在地：東京都保谷市新町1-1-20 (〒202)

などが考えられている。そこで今回、ラットを用い、脂肪肝発生機構について実験を試みたので報告する。

実 験 方 法

1. 動 物

コリン欠乏群は、200gのウイスター系雄ラットを用い、表1のような飼料で3週間飼養した。コントロール群は塩化コリン2%を添加、回復群はコリン欠で2週間飼養後、塩化コリンを2日間添加した。各群共にオリーブ油の代わりに、 $1-C^{14}$ オレイン酸(2.2 $\mu\text{c/g}$)で2日間飼養して得た肝臓を用いた。

コリン欠・リノール酸飼料で2・5・10・20日飼養後、リノール酸の代わりに $1-C^{14}$ リノール酸(2.0 $\mu\text{c/g}$)で1日飼養し、肝臓の核・細胞片・ミトコンドリア・ミクロゾームを分析した。

2. 肝臓脂質の分画

$1-C^{14}$ オレイン酸でラベルした肝を氷冷下でスライスとし、Krebs Ringer bufferを加えインキュベート、次いでメタノール：エーテル(3:1)で温抽出し、著者¹⁾らの方法でシリカゲル・アルミナでクロマトを行い、コレステロール・エステル、TG、ディ・モノG、遊離コレステロール、FFA、リン脂質の各分画に分離し、その量とradioactivityを測定した。

3. 肝細胞の分画

核と細胞片は主として Marsh²⁾らの方法を、ミトコンドリアは Work^{3,4)}らの方法を、ミ

Table 1. Composition of choline deficient diet

Constituent	g/100 g
Fat free casein	10
Starch	36 (41)
Sucrose	35
McCullum salt	4
Fat	10 (5)
Vitamins	5
(choline chloride)	(2)

クロゾームは Mead⁵⁾らの方法を夫々応用した。分離した各分画は直ちにメタノール：エーテル(3:1)で温抽出，次いでアセトンを加え， -10°C 800 G 15分間遠心分離，沈渣を冷アセトンで洗い，リン脂質を得，radioactivityを測定した。

4. リポたん白の分離

リポたん白の分離などは主として Marsh²⁾らの方法を応用した。コリン欠あるいはコントロールラットの新鮮肝臓に，Sucrose phosphate bufferを加え，ホモジナイズして汙過遠心分離し，同様肝細胞の各分画を採取した。コントロールラットの分画で，マイクロゾームを除いた上清をコリン欠ラット肝のマイクロゾームと合せ，更に $1-\text{C}^{14}$ オレイン酸の入ったトリオレインの乳化液を加え，インキュベートした。これに50% NaBrで比重を調整し，遠心分離すると chylomicron と遊離トリオレインは浮上，除去できる。下層を汉過し比重を調整し，コントロールラットの血清をキャリアーとして半量加え，遠心分離すると LDLが上層に，HDLが下層に分かれる。両層をメタノール：エーテル(3:1)で温抽出した後，前同様シリカゲル・アルミナでクロマトを行い，脂質を7分画に分け，そのradioactivityを測定した。

実 験 結 果

脂肪肝におけるradioactivityの変動を，コントロールラットのそれと比較したものは，表2に示すごとくで，量・radioactivity共にTG分画が僅かに減少し，FFA分画が増加した以外は，ほとんど変化がみられなかった。回復群も同様，差異が認められなかった。このことは，コリン欠の時肝TGへのFAの移行および，リン脂質へのTGの移行が行われないものと思われる。

また肝細片に Krebs Ringer phosphate bufferの代りに新鮮ラット血清を用いた場合も同様であった。

コリン欠によってCDPコリンの生成が低下し，そのためにリン脂質の合成が低下するといわれている⁶⁾。リン脂質は核・ミトコンドリア・マイクロゾーム中に最も多く，しかもその過半が phosphatidyl-cholineであるという。従って，肝のこれらの各分画中のリン脂質の合成とコリン欠との相関について検索した結果は表3に示すごとくで，各分画共に欠乏2日目よりリン脂質のradioactivityは著しく減少した。以後欠乏が進んでも同じ程度に減少した。リン脂質中のFAはリノール酸が多く，radioactivityの減少は，リン脂質の生合成の低下と思考される。

血清リポたん白は，主として肝マイクロゾームで作られるという。コリン欠肝マイクロゾームを

Table 2. Changes in hepatic fat levels of choline-deficient rats receiving 1-C¹⁴-oleic acid for two days.—Assays with incubated liver slices.

Experiment No.	choline	Incubation time (min)	Specific activity of liver fat (of liver 100 g)							Total fat	
			Cholesterol ester	Triglyceride	Diglyceride	Monoglyceride	Free cholesterol	Free fatty acid	Phospholipid		
1	—	0	Quantity (mg)	330	1830	—	—	300	40	3850	6353
			(X 10 ⁴)								
			c p m	2.1	11.2	—	—	—	0.3	1.0	14.8
		120	Quantity (mg)	303	1566	—	—	320	480	3660	6323
			(X 10 ⁴)								
			c p m	2.0	8.1	—	—	—	2.4	0.9	13.9
2	—	0	Quantity (mg)	466	2650	—	—	410	70	4233	7829
			(X 10 ⁴)								
			c p m	5.5	74.2	—	—	0.1	1.2	2.2	83.0
		120	Quantity (mg)	470	2220	—	—	460	286	4300	7736
			(X 10 ⁴)								
			c p m	5.5	61.6	—	—	0.1	5.9	2.3	85.8
3	x	0	Quantity (mg)	450	2010	—	—	380	50	3870	6760
			(X 10 ⁴)								
			c p m	6.7	62.4	—	—	0.2	2.1	3.6	76.1
		120	Quantity (mg)	420	1520	—	—	390	383	3920	6633
			(X 10 ⁴)								
			c p m	6.0	48.2	—	—	0.2	15.8	3.7	75.3

* This group of rats which had been maintained on a choline-deficient diet received 2 % choline in feed for 2 days immediately prior to sacrifice.

Table 3. Specific radioactivity of phospholipids in mitochondria, microsomes, nuclei and cell debris of the liver of various choline deficient rats. --- Assays after 24 hours of supply with 1-C¹⁴-linoleic acid in feed.

Experiment No.	Choline deficiency time (day)	Specific activity or phospholipid (of liver 100 g)			
		mitochondria	microsomes	Nuclei and cell debris	
1	0*	Quantity (mg)	14	7	48
		Specific activity (%)	21.7	15.1	19.3
2	2	Quantity (mg)	15	11	48
		Specific activity (%)	9.7	11.1	15.6
3	5	Quantity (mg)	14	7	49
		Specific activity (%)	13.9	10.3	17.2
4	10	Quantity (mg)	11	7	59
		Specific activity (%)	10.5	9.7	14.2
5	20	Quantity (mg)	12	7	55
		Specific activity (%)	13.6	9.8	16.1

* This group of rats were maintained on a choline-deficient diet supplemented with 2 % choline chloride for 20 days.

用いて、肝の血清リポたん白の生成能を調べ、コントロールラットのそれと比較した結果が表4である。すなわち、コリン欠の時は、リポたん白中のTG分画のradioactivityが、コントロールラットのそれに比べ著しく低く、特にLDLの場合は著しかった。このことは、肝TGを運搬するLDLの合成が、コリン欠によって低下するものと推察される。

LDL レセプター

レセプターの概念は、今世紀初め Langley⁷⁾によって打ち出されたものである。すなわち、生体に対する外界の刺激が、化学的刺激としてそれを応答する受け口が、生体にあるとしたものである。その後各分野での研究がなされ、刺激・情報さらに伝達のメカニズムについて、少しずつ解明されてきている。生体のすべてのレベルにおいて、生命維持に際し、外界からの情報をうけ、それに応じた反応が行われているが、この情報の受け口がレセプターである。

リポたん白代謝に、LDLレセプターが重要に関与していることは、充分に想定されるが、どの部分でどの程度関与しているかという点になると、必ずしも明確にはされていない。ヒトは1日に約45%のLDLが異化をうけるが、このうち、LDLレセプターの関与する代謝(LD

Table 4. Labeling of lipoproteins by choline deficient rat liver microsomes.

Experiment No.	Microsomes Condition	Labeling agent	Specific activity of fat of lipoprotein								
			cholesterol ester	Triglyceride	Di-glyceride	Monoglyceride	Free cholesterol	free fatty acid	Phospho-lipid		
1	of rat liver of choline deficiency	Trio-lein-1-C ¹⁴	Low density lipoprotein	Quantity mg/100ml	4.1	19.4	—	—	4.8	4.4	10.6
				c p m/mg	—	104	—	—	24	120	21
	0.6μC;	High density lipo-protein	Quantity mg/100ml	4.4	9.2	—	—	3.1	5.7	16.3	
			c p m/mg	—	143	—	—	22	98	17	
2	of rat liver of normal	Trio-lein-1-C ¹⁴	Low density lipoprotein	Quantity mg/100ml	4.8	26.0	—	—	4.0	6.6	12.8
				c p m/mg	—	237	—	—	34	240	31
	0.6μC;	High density lipo-protein	Quantity mg/100ml	3.5	12.3	—	—	3.5	7.5	17.2	
			c p m/mg	—	216	—	—	27	184	21	

L Pathway) は約 30% で、残り約 15% は LDL レセプター以外の経路 (Scavenger pathway) で代謝されるといわれている。⁸⁾ 家族性高コレステロール血症 (FH) は、LDL レセプターの異常によって惹起した高コレステロール血症で、この場合、若年者でも冠状動脈疾患がみられる。

LDL レセプター欠損ウサギが作られたことから、ウサギによる実験によると、LDL レセプター欠損ウサギでは、正常ウサギに比べ肝における VLDL から LDL への移行が、多く行われることが判った。このことは、肝における代謝に、LDL レセプターが重要な作用をもつことを示唆するもので、細胞内のコレステロール濃度を、一定に保つように働く LDL レセプター (LDL Pathway) の存在が考えられる。そこで、脂肪肝における LDL 合成低下が、LDL レセプターの活性化により、何らかの影響を想定して実験を試みたが、この点については、更に検討が必要であると考えられる。

結 語

コリン欠によって、肝ミクロゾームの早期機能低下を来し、その結果、血清リポたん白、特に LDL の合成が低下し、肝 TG の他臓器への移動が減少、肝 TG の蓄積がおこるものと思われ、脂肪肝発生の一因とも考えられる。

なお LDL 合成低下と LDL レセプターとの相関については、更に検索が必要であろうと思考する。

文 献

1. MAJIMA, Y. and F. KURIHARA (1964) *J. Jap. Soc. Food. Nut.* 16: 469.
2. MARSH, J. B. (1963) *J. Biol. Chem.* 238: 1752.
3. ROODYN, D. B., P. J. REIS and T. S. WORK (1961) *Biochem, J.* 80: 9.
4. ROODYN, D. B., S. W. SUTTIE and T. S. WORK (1961) *Biochem, J.* 83: 29.
5. FILLERUP, D. L., J. C. MIGLIORE and J. F. MEAD (1958) *J. Biol. Chem.* 233: 98.
6. WILGRAM, G. F. et al. (1960) *J. Biol. Chem.* 236: 37.
7. LANGLEY, J. N. (1905) *J. Physiol.* 33: 374.
8. GOLDSTEIN, J. L. and M. S. BROWN (1977) *Atherosclerosis.* 26: 1257.

