

3) 小児疾患における血清脂質とアポリポ蛋白
およびグルタチオン代謝の関連

新潟大学医学部小児科 (主任: 塚 薫教授)

浅見 直・橋本 尚士
鳥谷部 森・中野 徳
笹川富士雄・塚 薫

Relation Between Serum Levels of Lipids, Apo-, Lipo-Proteins
and Glutathione Metabolism in Childhood Diseases

Tadashi ASAMI, Naoshi HASHIMOTO, Shin TOYABE,
Tokushi NAKANO, Fujio SASAGAWA and Kaoru SAKAI

*Department of Pediatrics, School of Medicine, Niigata University,
Asahimachi 1-757, Niigata, JAPAN. (Director: Kaoru SAKAI)*

In neonates serum total cholesterol levels increased with the advance in age from birth to 5-6 days of age. Hypercholesterolemic neonates, discovered on neonatal screening, showed also high cholesterol levels at three months of age, and the incidence of hypercholesterolemia was higher in their parents than in normal adults. A significant correlation was found between the atherogenic indices of the hypercholesterolemic infants and their fathers. Serum lipid levels were increased in patients with idiopathic nephrotic syndrome (INS) in relapses as compared with controls. Of interest was a significant increase in serum apoprotein E levels in patients with INS in remission for over 3 years as compared with controls, which implying some role of apo E in increasing serum cholesterol levels in INS.

An inverse correlation was found between the levels of serum total cholesterol and blood glutathione concentrations. In rat experiments, the plasma cholesterol concentrations in the glutathione administered group were lower than those in the group without glutathione, however, the difference did not reach a statistical significance. More studies are needed to reach a valid conclusion on the cholesterol-lowering effect of glutathione.

Key words: Cholesterol, Glutathion, Apo-protein, Lipo-protein.

Reprint request to: Tadashi ASAMI,
Department of Pediatrics, School of
Medicine, Niigata University, Asahimachi
1-757, Niigata, 951 JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通り 1-757
新潟大学医学部小児科

浅見 直

はじめに

小児における血中脂質の動態を先天的原因，二次的原因について検討し，さらにアポ蛋白，グルタチオン代謝との関連について検討した。

I. 先天的要因と高コレステロール血症

1) 新生児血中総コレステロール値の変化 (図 1)

小児は成人と異なり年齢とともに血清脂質の上昇がみられるが，新生児期の変動は採血が困難なこともあり，報告は少ない．生後1週間までの新生児血清総コレステロール値は出生時，12時間，36時間，5～6生日へと経日的な上昇がみられた．しかし HDL コレステロール値には有意の変動はみられなかった¹⁾．従って新生児以後の血清総コレステロール上昇は LDL コレステロールによるものと推定される．

2) 新生児血中総コレステロール値の年度別変化 (図 2)

昭和52年から保存してある新生児マススクリーニングに用いた血液濾紙を利用し，血清総コレステロール値を間接的に測定²⁾すると新生児の年度別の血清コレステロール値は昭和55年度より58年まで有意の上昇がみられた．この成績は新生児期の血清総コレステロール値も学童，成人と同様に上昇傾向にあることを示唆しているが原因は明確ではない．

3) 新生児高コレステロール血症と両親の血清脂質の関連 (図 3)

新生児期に高コレステロール血症のみられた17人の生後3カ月の乳児とその両親の血清総コレステロール値は250mg/dl以上の高値の割合が極めて高く，新生児と両親

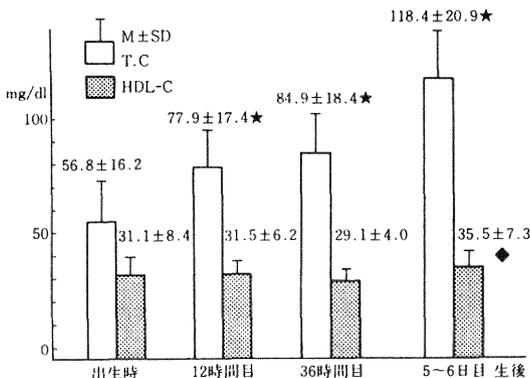


図 1 T.C と HDL-C の経時的変動

★◆は p<0.001 で有意の変動(増加)がある事を示す。

図 1 新生児血中総コレステロール値の変化

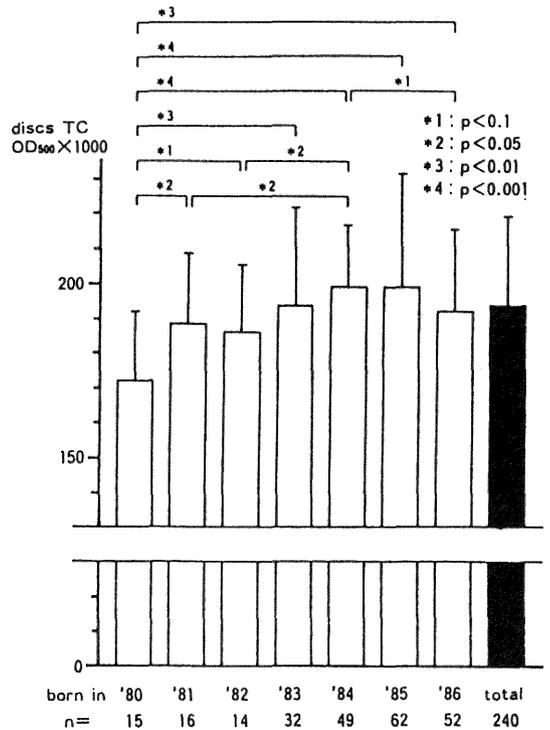


図 2 新生児血中総コレステロール値の年度別変化

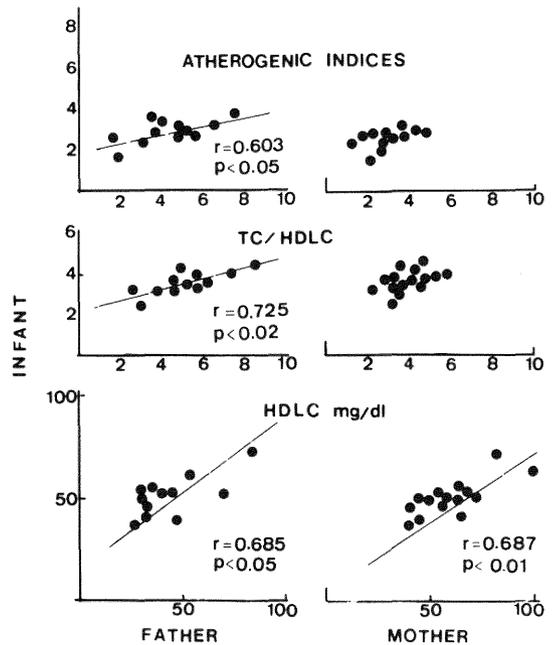


図 3 新生児高コレステロール血症と両親の血清脂質の関連

親の血清脂質動態の密接な関連が示唆された。また動脈硬化指数は特に父親と高い相関がみられた³⁾⁴⁾。

II. 二次性高脂血症

ネフローゼ症候群における高コレステロール血症は臨床的によく知られており、その原因として腎からのアルブミン漏出の結果、肝臓におけるアルブミンや VLDL 合成が亢進し、その最終産物である LDL が増加するためとされている。またアルブミン低下による甲状腺ホルモン作用の低下、LPL 活性の低下、HDL やアポ CII の尿への漏出、LDL 異化障害などがあげられているが確定的ではない。小児のネフローゼ症候群における高脂血症の研究はいくつかみられるがリポ蛋白、アポ蛋白すべてを含めて検討した報告は乏しい。今回、ネフローゼ症候群における血清脂質とアポ、リポ蛋白およびグルタチオン代謝との関連を検討した。

1) 対象および方法

当科および関連病院の特発性ネフローゼ症候群 (INS) 患者のうち、頻回再発24例と正常対照40人との比較を血清総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、βリポ蛋白、遊離脂質酸について行なった。また血清リポ蛋白、アポ蛋白 (AI, AII, B, CII, CIII, E) 濃度を測定した。

2) 血清脂質濃度、リポ蛋白濃度 (図 4)

INS 頻回再発例の血清総コレステロール、リン脂質、βリポ蛋白は有意に高値であった。血清 HDL

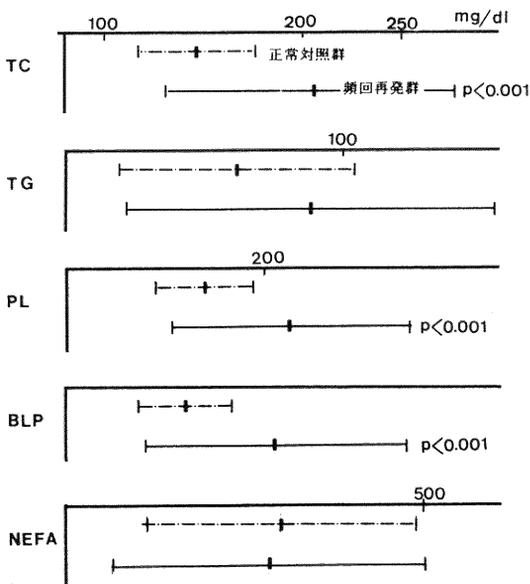


図 4 特発性ネフローゼ症候群における血清脂質濃度

コレステロール濃度は頻回再発群において有意に高値であった。また図には示さないがリポ蛋白の分画では LDL 分画の著明な上昇がみられた。

3) 血清アポ蛋白濃度 (図 5)

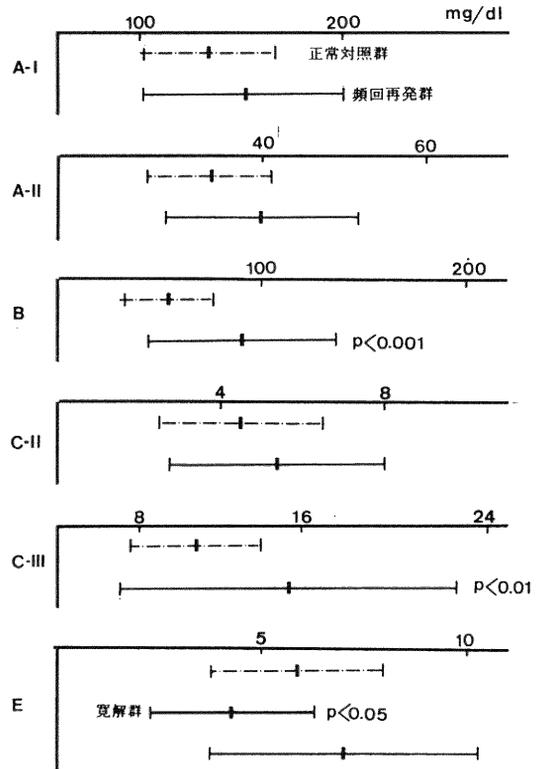


図 5 特発性ネフローゼ症候群における血清アポ蛋白濃度

頻回再発群ではアポ B およびアポ CIII の有意の上昇がみられた。また3年以上再発のない完全寛解例で、健康小児と比較したアポ蛋白 E の有意な低下が認められた⁵⁾。INS 長期寛解例でアポ E の低下がみられることは本症における高脂血症の病態を考える上で極めて興味もたれる。アポ E は肝臓のみならず、マクロファージによっても産生され、LDL レセプターに親和性を有しており、コレステロール低下に関与している。ネフローゼ症候群においてはマクロファージの機能低下がみられることはいくつかの研究がみられる。今回のアポ E 低下の意義については共同研究者⁵⁾によりさらに詳細に発表する予定である。

III. グルタチオン代謝とコレステロール

最近、グルタチオンの血清コレステロールに対する影

響が研究されつつある⁶⁾。今回、小児の脂質動態に影響を及ぼす因子の1つとして血中グルタチオンについて検討した。グルタチオンは Tieze⁷⁾の方法を一部改変し、ヘパリン加血 2.0 μ l を用いて測定した。

1) 血中グルタチオンと総コレステロール濃度の関係 (図 6)

腎疾患以外の小児疾患患者を対象として測定した全血中グルタチオン濃度と総コレステロール値の間には有意の負の相関がみられた。

2) INS における血清グルタチオンとコレステロー

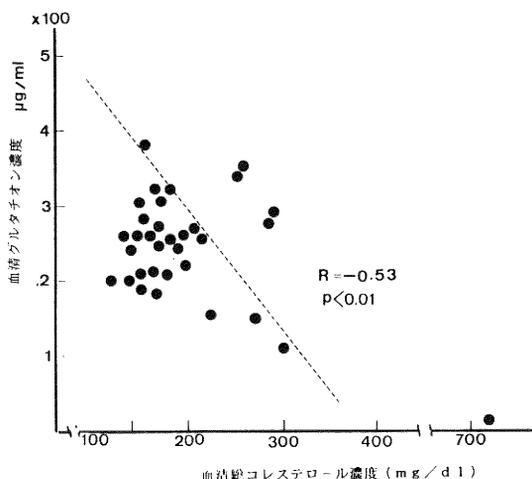


図 6 血中グルタチオンと総コレステロール濃度の関係

ル値

両者の間には有意の相関はみられなかった。

3) INS におけるグルタチオンと各種アポ蛋白濃度の関係 (図 7)

有意の相関はみられなかった。アポEとグルタチオン濃度の間には統計学的には有意ではなかったが弱い負の相関が示唆された。

4) グルタチオンの蛋白液中における経時的濃度減少 (図 8)

以前より血清中にはグルタチオンは存在しないという報告 (Jocelyn 1959) がある。これに対して Tieze⁷⁾ はナノグラム単位で測定できる極めて鋭敏な酵素法により血漿のみならず唾液、尿にも検出されると述べている。今回の検討では血清中グルタチオンは測定可能であったが、in vitro の検討を行なった。

既知濃度のグルタチオンを血漿およびコレステロール液と混合して25℃でインキュベートし、経時的にグルタチオンの測定を行なった。図 8 の closed circle で示すようにグルタチオンは混合直後から低下し、4時間後には54%に低下した。また Bovine Serum Albumin との同様の混合でもグルタチオンの経時的低下が観察された。しかし緩衝液に溶解したままで蛋白を加えない検体ではグルタチオンの変化はみられなかった。これは Tieze によりラット血漿で実験されており⁷⁾、グルタチオンの disappearance と表現されているが、ヒトでも同様の結果と考える。この成績は血清グルタチオン濃度測定はその

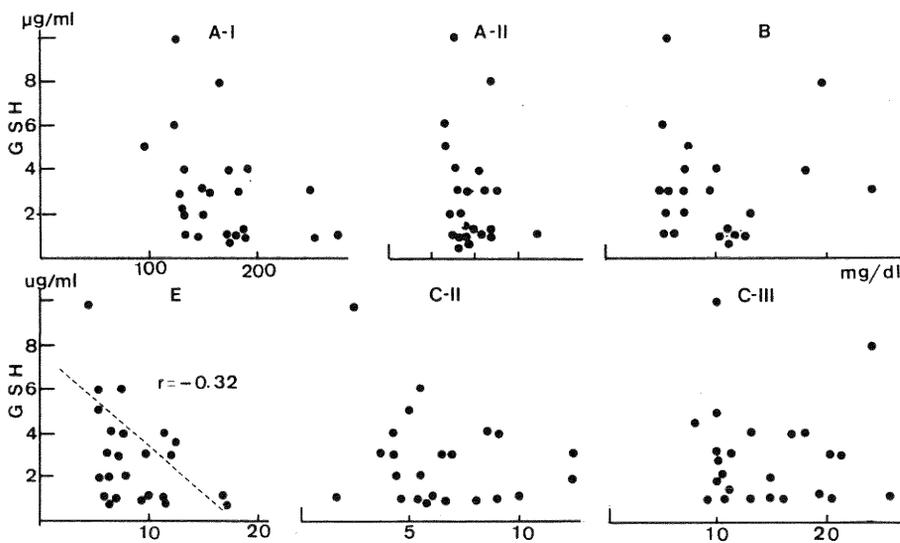


図 7 特発性ネフローゼ症候群におけるグルタチオンと各種アポ蛋白濃度の関係

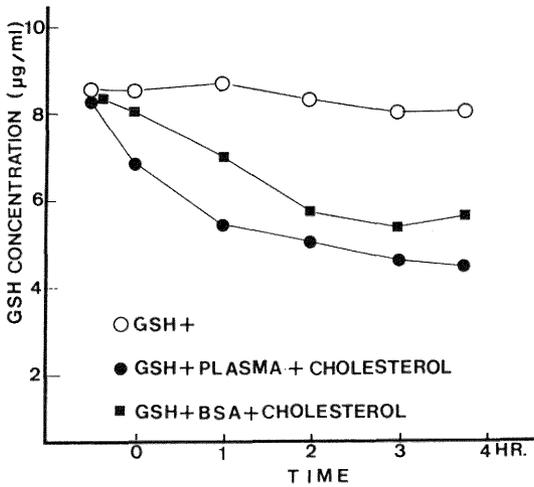


図8 グルタチオンの蛋白液中における経時的濃度減少

評価に難かしい面があることを示している。従って前述した成績のうちグルタチオンの血清濃度とコレステロールの関連はみられないものの、全血中濃度と有意の関係がみられたのは血漿中グルタチオンの disappearance と関係するのかもしれない。今後さらに検討が必要と思われる。

5) グルタチオンの血中コレステロールに与える影響 (図9)

生後4週のおスウイスター系ラット10ヒキを2群に分け、100mg/dl 濃度でグルタチオンを溶解した水により飼育した。対照群は普通の水を与えた。またエサは高脂肪食ではなく、普通のラット飼料で飼育した。投与1週間後の血中グルタチオン濃度は図9にみられるように著明な上昇がみられた。しかし対照群においても上昇し、結果としてはグルタチオン投与による血中濃度への影響

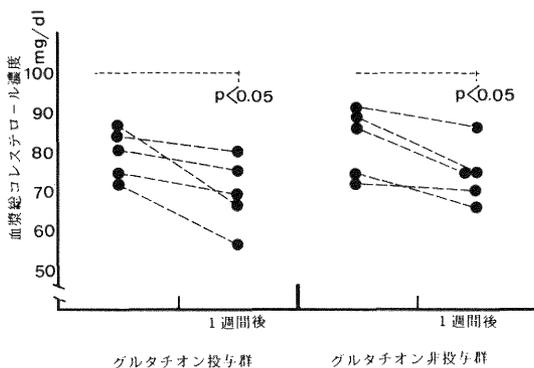


図9 グルタチオンのラット血中コレステロール値に与える影響

はみられなかった。

6) グルタチオン投与前後の血漿総コレステロール値
 グルタチオン非投与群においても血漿コレステロールの減少がみられ、ともに統計学的に対応のある検定で有意の変化であった。投与1週間後のコレステロール値はグルタチオン投与群で低値の傾向がみられた。ただし期間が短く、またラットも若いため結論を出すためにはもう少し実験期間が必要と思われる。

まとめ

家族性高脂血症以外では小児における血清脂質動態は先天的要因としては両親、特に父親との関連が強い。また二次的高脂血症を呈するネフローゼ症候群ではアポ蛋白B, CIII などいくつかの変化がみられた。特にアポ蛋白Eの低下がコレステロール上昇の面から興味をもたれる。またグルタチオンは血中脂質変化と関連をもつことが示唆されたが、経口投与による影響については短期間でもあり、今回は確認できなかった。

参考文献

- 1) 相川 務, 浅見 直, 堺 薫: 新生児期の血清コレステロール動態. 日児誌, 91: 3406~3409, 1987.
- 2) Asami, T.: Screening for hypercholesterolemia on blood-spotted filterpaper. Lancet, 2: 229~230, 1983.
- 3) 浅見 直, 相川 務, 堺 薫: 血液濾紙による新生児高コレステロール血症の試験的マスキリング成績と両親の血清脂質との関連. 日児誌, 91: 3144~3146, 1987.
- 4) Asami, T., Sakai, K.: Neonatal screening for hypercholesterolemia. Lancet, 1: 1038, 1987.
- 5) 橋本尚士, 浅見 直, 堺 薫: 小児特発性ネフローゼ症候群における血清脂質とアポ蛋白の関連. 日児誌 (投稿予定)
- 6) 河村雅子, 辻 啓介, 中川靖枝ほか: Glutathionのラット血漿 Cholesterol 上昇抑制作用. 含硫アミノ酸, 9: 327~332, 1986.
- 7) Tieze, F.: Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues. Analyt. Biochem., 27: 502~522, 1969.

司会 有難うございました。質問はございましょうか。

佐藤 非常に面白いデータを見せて頂いたのですが、コレステロールの高い患者が、minimal change が殆どだと思ったのですが、それが FGS に変わったという例は今の症例ではありませんでしたでしょうか。

浅見 minimal change が FGS に変わったという例でしょうか。これは FGS の発症機序とも関連する事で、最初 minimal change かと皆が思っているケースが FGS という事もある訳ですから、連続して biopsy をやらないとそういう事は言えないかとも思います。小児科領域では、minimal change が最初疑われたケースでは最近あまり biopsy やらない傾向になっております。腎生検で FGS が明らかになった場合、以前がどうであったかを後から知ることはできないため、御答えすることは無理と思います。

佐藤 グルタチオンとの関係ですが、もし血中の過酸化脂質ないしは radical に関係したのを測ってらしたら教えて頂きたいのですが。

浅見 確かにグルタチオンとその過酸化脂質 radical、…本当はその辺から興味があった訳ですが、今回はその点に関しては検討しておりません。なぜかと言うと、過酸化脂質はすぐに測定しないとだめで、時間的な面も多少ありまして今回は検討しませんでした。

司会 他にございますか。私共は、家族性高コレステロール血症は、普段考えられているよりはもっとたくさんあるのではなからうか、たくさんという言葉はちょっとどぎつ過ぎますが、あるいはその亜型が沢山あるのではないか、それを早く detect する方法という事で、色々考えている訳です。先程小野先生のお話の中の lipoprotein receptor, アポ蛋白 receptor, アポBの receptor とかを考えるべきではないかと思います。それからもう1つの質問。ネフローゼの微小変化型の FGS (巣状硬化型) への移行の問題ですが、minimal change のネフローゼは小児では非常に多いのですが、biopsy で cortical だけを突いたのでは FGS は解り難い場合があります。FGS の早期診断、すなわち初期像とは何か、という事で臨床的に、病理学的に検討しておりますが、現在の所 minimal change から FGS に移ったという証拠は極めて乏しい。臨床上ステロイドホルモンが良く効くことは、minimal change の1つの姿であるということが国際的にも認められております。浅見助教授のまとめた症例は、全例がステロイドホルモンが非常に良く効いたケースでありますので、まずあの中には FGS は存在しないのではないかと考えております。それでは第四席の、「若年性 Sandhoff 病の分子遺伝学的解析」と題しまして、神経内科の若松先生お願いいたします。