

## 機関リポジトリ登録用論文の要約

論文提出者氏名	病態制御科学領域内分泌代謝内科教育研究分野 4年 氏名 村上 洋
<p>(論文題目)</p> <p><b>Reduction of paraoxonase1 activity may contribute the qualitative impairment of HDL particles in patients with type 2 diabetes</b></p> <p>(2型糖尿病患者においてパラオキシナーゼ1の活性低下により HDL の質的機能低下を来す)</p>	
<p>(内容の要約)</p> <p><b>【背景・目的】</b></p> <p>低 HDL(high-density lipoprotein; 高比重リポ蛋白)コレステロール血症は冠動脈疾患の独立した危険因子であり、糖尿病の脂質代謝異常では低 HDL コレステロール血症を来すことが特徴としてあげられる。HDL にはコレステロール引き抜き能の他、抗酸化作用、抗炎症作用、抗アポトーシス作用、抗血栓作用など多彩な抗動脈硬化作用が報告されている(文献 1)。近年、血中 HDL コレステロール濃度よりも HDL 機能の方が動脈硬化の予知因子としてより重要であることが報告されている(文献 2)。しかしながら 2 型糖尿病患者における HDL の機能解析は十分に行われていない。今回我々は polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)と簡易蛋白回収装置を用いてヒト血液中から HDL 分画を簡便に分離抽出する方法を確立し、HDL の機能について 2 型糖尿病患者と非糖尿病コントロールについて比較検討を行った。</p> <p><b>【対象と方法】</b></p> <p>2 型糖尿病患者 36 名と非糖尿病コントロール 9 名を対象とし、PAGE(リポフォー; 常光)と蛋白回収装置(ホーレトイールド; 常光)を用いて HDL 分画を分離抽出した。得られた HDL 分画の Apolipoprotein A-I(ApoA-I)濃度を測定し、あらかじめ<sup>3</sup>H]-cholesterol でラベルした THP-1 細胞由来のマクロファージへ ApoA-I 5μg/ml となるように HDL 分画を添加し、24 時間で細胞上清へ引き抜かれる<sup>3</sup>H]-cholesterol 量からコレステロール引き抜き能(単位 HDL 当たりの Efflux; Efflux-hdl)を算出した。また HDL 分画の ApoA-I 濃度を用いて HDL 分画の総 Efflux 能を算出し Efflux-whole として検討した。さらに他の HDL の機能マーカーとして HDL 上に多く含まれる Paraoxonase1 活性(PON1 活性; 抗酸化作用の指標)、serum amyloid A(SAA; 炎症反応の指標)、carboxymethyl-lysine(CML; 易糖化・酸化作用の指標)を測定した。</p> <p><b>【結果】</b></p> <p>リポフォー上の HDL 分画のバンドはシャープであり良好に分離することができた。HDL 分画の回収率は ApoA-I 濃度で計算すると 69.3%(CV%=8.9%)であった。Efflux-hdl は 2 型糖尿病患者が 24.1±2.0%、非糖尿病コントロールが 26.0%±1.2%であり、2 型糖尿病患者では有意に低下していた。Efflux-whole も同様に 2 型糖尿病患者(1528±463%)では非糖尿病コントロール(2632±551%)と比較して有意に低下していた。これより同じ血中 ApoA-I 濃度において、2 型糖尿病患者では非糖尿病コントロールより</p>	

Efflux-whole が 26.4%低下していることが明らかとなった。2 型糖尿病患者において Efflux-hdl と高血糖の指標である HbA1c とは有意な相関は認めなかった。2 型糖尿病患者の HDL 分画中の PON1 活性は Efflux-hdl と有意な正の相関関係を認め( $r=0.39$ 、 $p=0.02$ )、HbA1c と負に相関する傾向を認めた( $r=-0.28$ 、 $p=0.10$ )。SAA や CML とは有意な相関関係は認めなかった。

#### 【考察】

2 型糖尿病患者では非糖尿病コントロールと比較して Efflux-hdl が有意に低下しており、HDL の質的变化を来していることが示唆された。HDL の機能マーカーとの関連について検討した結果、PON1 活性のみが Efflux-hdl と有意な相関を示した。PON1 は脂質酸化物 (Lipid peroxides) を分解する複数の異なる抗酸化酵素であり、血中 HDL 上で ApoA-I や ApoJ と結合し、HDL の機能維持に寄与していると考えられている。また 2 型糖尿病患者では PON1 活性が低下することがすでに報告されている(文献 3)。PON1 活性が高血糖の指標である HbA1c と負に相関する傾向を認めることから、高血糖の持続により PON1 活性が低下し、その結果 Efflux-hdl が低下すると考えられた。

#### 【結論】

ヒト血中 HDL 分画を PAGE と蛋白回収装置を用いて分離抽出する方法を確立し、2 型糖尿病患者と非糖尿病コントロールの HDL 機能について比較検討を行った。2 型糖尿病患者では HDL が機能低下した dysfunctional HDL へリモデリングしていることが明らかとなった。その原因として高血糖の持続により PON1 活性が低下し、それによって末梢からのコレステロール引き抜き能力が低下する可能性が示唆された。2 型糖尿病患者における血管障害の成因として重要な知見と考えられた。

#### <参考文献>

- (1) Vaisar T et al. Shotgun proteomics implicates protease inhibition and complement activation in the antiinflammatory properties of HDL. *J Clin Invest.* 2007;117:746-56.
- (2) Khera AV et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. *N Engl J Med.* 2011;364:127-35.
- (3) Flekac M et al. Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in diabetes mellitus. *Physiol. Res.* 2008; 57: 717-726.

※ 論文題目が英文の場合は、()内に和訳を付記

※ 医共様式1「学位請求論文の内容の要旨」を引用でも可