

氏名(本籍)	よし だ ただし 吉 田 正 (茨城県)
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	博 甲 第 1,270 号
学位授与年月日	平成 6 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
審査研究科	医 学 研 究 科
学位論文題目	コレステロール・胆汁酸合成系の血液生化学的測定法の開発およびその応用による病態生理学的研究
主 査	筑波大学教授 医学博士 滝 田 齊
副 査	通商産業省工業技術院 生命工学工業技術研究所 生体分子工学部長 (筑波大学併任教授) 工学博士 大 箸 信 一
副 査	筑波大学教授 医学博士 中 井 利 昭
副 査	筑波大学教授 理学博士 坂 内 四 郎
副 査	筑波大学助教授 医学博士 奥 田 諭 吉

## 論 文 の 要 旨

### 〈目的〉

生体内コレステロールのホメオスタシスの中心的役割を演じているのは、肝におけるコレステロール合成系とその異化経路である胆汁酸合成系である。しかし、ヒトでは両合成系を非侵襲的に観察することが困難なため、その調節機序はまだ十分に明らかにされていない。

そこで、本研究では、第一にヒトにおけるコレステロール合成系と胆汁酸合成系の律速酵素である HMG-CoA reductase と cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase の活性を非侵襲的、間接的に測定する方法を開発し、第二にそれらを応用して健康人および各種疾患々々におけるコレステロールおよび胆汁酸合成の調節機序を明らかにすることを目的とした。

### 〈対象と方法〉

1) 高分解能ガスクロマトグラフィー質量分析計による HMG-CoA reductase の代謝産物 mevalonate (MVA) および cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase の代謝産物 7 $\alpha$ -hydroxy-cholesterol (7 $\alpha$ -OH-cho) の血中濃度測定法を、Honda らの原法をもとに開発した。この方法で胆石症、消化管癌または肝血管腫で開腹手術を受けた14症例を対象として、血中 MVA 濃度と 7 $\alpha$ -OH-cho 濃度を測定し、それぞれの値を Honda らの方法で測定した肝組織中の HMG-CoA reductase 活性と cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase 活性と比較検討した。

2) 高分解能ガスクロマトグラフィー質量分析計による 7 $\alpha$ -OH-cho の次の代謝産物 7 $\alpha$ -hydroxy-

4-cholesten-3-one( $7\alpha$ -OH- $\Delta^4$ cho-3-one)の血中濃度測定法を開発した。この方法を用いて、前項1)の検体の血中 $7\alpha$ -OH- $\Delta^4$ cho-3-one 濃度を測定し、肝組織中 cholesterol  $7\alpha$ -hydroxylase 活性との相関を検討した。

3)健常男性3名を対象として、血中 MVA 濃度、血中 $7\alpha$ -OH- $\Delta^4$ cho-3-one 濃度、血中 $7\alpha$ -cho 濃度の日内変動を測定した。

4)健常男性6名を対象として、HMG-CoA reductase 阻害剤 pravastatin 40mg を経口投与した時の血中 MVA 濃度、血中 $7\alpha$ -OH- $\Delta^4$ cho-3-one 濃度を測定した。

5)慢性肝炎(CH)10例、肝硬変(LC)9例、肝細胞癌合併肝硬変(LC with HCC)29例を対象として、血中 MVA 濃度と血中 $7\alpha$ -OH- $\Delta^4$ cho-3-one 濃度を測定し、臨床症状および臨床検査データとの関係を検討した。

#### 〈結果および考察〉

1)開発した血中 MVA および $7\alpha$ -OH-cho 濃度測定法の再現性は、きわめて良好であった。また、その最小検出感度は、MVA で5pg、 $7\alpha$ -OH-cho で1pgであった。手術症例の肝組織中 HMG-CoA reductase 活性と血中 MVA 濃度との間には有意の正の相関があり、後者は前者の指標として有用であると考えられた。肝組織中 cholesterol  $7\alpha$ -hydroxylase 活性と血中遊離型 $7\alpha$ -OH-cho 濃度との間にも有意の正の相関が認められたが、後者は前者の指標として有用性が低いように思われた。

2)開発した血中 $7\alpha$ -OH- $\Delta^4$ cho-3-one 濃度測定法の再現性も、きわめて良好であった。また、その最小検出感度は5pgであった。手術症例の肝組織中 cholesterol  $7\alpha$ -hydroxylase 活性と血中 $7\mu$ -OH- $\Delta^4$ cho-3-one 濃度との間には有意の正の相関があり、後者は、血中 $7\alpha$ -OH-cho 濃度に比し、肝組織中の cholesterol  $7\alpha$ -hydroxylase 活性のより良い指標になると考えられた。

3)血中 MVA、 $7\alpha$ -OH- $\Delta^4$ cho-3-one 濃度は、日中に低く夜間に高かった。そして、前者はコレステロール合成の、後者は胆汁酸合成の経時的指標になり得ると考えられた。また、コレステロール合成と胆汁酸合成の日内変動には数時間の時間差の存在することが推測された。

4)Pravastatin を投与すると、(1)コレステロール合成は、8時間以上にわたって抑制されること、(2)胆汁酸合成は一時的に抑制されるがただちに投与前の状態に回復すること、が考えられた。これまで、胆汁酸合成の基質となるコレステロールは肝において内因性に de novo 合成されたものであると考えられていたが、本研究により、食事によって外因性に肝に到達したコレステロールも基質となり得ることが推測された。

5)血中 MVA 濃度は、肝疾患の病型、臨床症状の重症度、臨床検査データのいずれとも相関を示さなかった。一方血中 $7\alpha$ -OH- $\Delta^4$ cho-3-one 濃度は、臨床症状の重症度と負の相関を、蛋白合成能と正の相関を示した。以上より、(1)コレステロール合成は、肝機能の低下による影響を受けにくいこと、(2)胆汁酸合成は、肝機能とくに蛋白合成能の低下の影響を受けることが推測された。また、血中総コレステロール濃度が正常範囲内にも拘らず、コレステロール合成が亢進していることが考えられる巨大な肝細胞癌を有する症例を観察した。

## 審 査 の 要 旨

コレステロール合成系の律速酵素 HMG-CoA reductase と胆汁酸合成系の律速酵素 cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase の活性を、間接的かつ非侵襲的に推定する方法を開発し、それを健常人、開腹手術患者および慢性肝疾患患者に應用してコレステロールと胆汁酸合成の生理および病態生理の一部を解明した研究であり、その独創性とこの領域の研究の進歩に果たした役割は高く評価できる。今後は、高コレステロール血症、胆汁うっ滞症など両合成系の異常が明らかな症例にも研究範囲を広げ、開発した測定法の意義を再確認してコレステロール・胆汁酸合成の病態生理の研究をさらに進展させることが望まれる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。