

Increased acylCoA-cholesterol ester acyltransferase activity in gallbladder mucosa in patients with gallbladder cholesterolosis

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 渡邊, 文利 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1579

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 302号	学位授与年月日	平成11年 3月 9日
氏名	渡邊文利		
論文題目	Increased acylCoA-cholesterol ester acyltransferase activity in gallbladder mucosa in patients with gallbladder cholesterosis (胆嚢コレステロロシス患者の胆嚢粘膜における ACAT 活性の亢 進)		

博士(医学) 渡 邊 文 利

論文題目

Increased acylCoA-cholesterol ester acyltransferase activity in gallbladder mucosa in patients with gallbladder cholesterosis

(胆嚢コレステロロシス患者の胆嚢粘膜におけるACAT活性の亢進)

論 文 内 容 の 要 旨

〔はじめに〕

ヒト胆嚢コレステロロシスは比較的よくみられる疾患であり、組織学的には胆嚢粘膜への脂質の蓄積により特徴づけられているが、その成因は未だ明かではない。そこで、ヒト胆嚢粘膜、胆嚢胆汁中の脂質の測定と胆嚢粘膜のコレステロールエステル合成酵素 acylCoA-cholesterol ester acyltransferase (ACAT) と分解酵素 cholesterol ester hydrolase (CEH) の活性を測定し検討した。

〔材料ならびに方法〕

手術摘出したヒト胆嚢を肉眼的、顕微鏡的に正常、胆嚢コレステロロシス、胆嚢コレステロール結石症例に分類した。

胆嚢粘膜脂質は正常群8例、胆嚢コレステロロシス群12例で測定した。胆嚢粘膜はsurgical knifeで胆嚢の筋層より剥がし、攪拌し Folch 法にて脂質を抽出し薄層クロマトグラフィー (TLC) にて遊離コレステロール、コレステロールエステル、リン脂質、中性脂肪に分離した。その後、各脂肪はデンストメトリーにて定量した。

胆嚢胆汁中脂質は正常群11例、胆嚢コレステロロシス群13例、胆嚢コレステロール結石群15例で測定した。同脂質も上記の様に抽出、分離、定量し、加えて胆汁酸は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて分離、定量した。

胆嚢粘膜ACAT、CEH活性は正常群8例、胆嚢コレステロロシス群10例で測定した。胆嚢粘膜は上記の方法で剥がし、ACAT活性は [1-¹⁴C] oleoyl-CoAを用い反応させ [1-¹⁴C] cholesterol oleateをTLCにて分離しliquid scintillation counterにて測定した。CEH活性は [1-¹⁴C] cholesteryl oleateを用いて反応させ [1-¹⁴C] cholesterolをTLCにて分離しliquid scintillation counterにて測定した。

〔結果〕

胆嚢粘膜脂質ではコレステロールエステルが、正常群 $57.2 \pm 21.6 \mu\text{g}/\text{mg protein}$ に比し胆嚢コレステロロシス群 $890.1 \pm 293.1 \mu\text{g}/\text{mg protein}$ と有意に高値であったが、他の遊離コレステロール、リン脂質、中性脂肪量は有意差を認めなかった。

胆嚢胆汁中の脂質は正常群、胆嚢コレステロロシス群、胆嚢コレステロール結石群ではコレステロールのモル%と催石指数において胆嚢コレステロール結石群が他の2群より高値であった。コレステロール、リン脂質、胆汁酸の濃度およびコレステロール以外のモル%で差は認めなかった。

胆嚢粘膜のACAT活性は胆嚢コレステロロシス群 ($47.5 \pm 3.8 \text{ pmol}/\text{mg protein} \cdot \text{min}$) が正常群 ($13.7 \pm 4.7 \text{ pmol}/\text{mg protein} \cdot \text{min}$) と比べ有意に高いがCEH活性はそれぞれ $14.9 \pm 4.0 \text{ pmol}/\text{mg protein} \cdot \text{min}$ 、 $12.9 \pm 6.4 \text{ pmol}/\text{mg protein} \cdot \text{min}$ で差は認められなかった。

〔考察〕

ヒト胆嚢コレステロローシスは組織学的には胆嚢粘膜への脂質の蓄積により特徴づけられているが、その脂質についてはコレステロールエステルまたは中性脂肪が主体との報告があるが、今回の研究では胆嚢コレステロローシスの胆嚢粘膜ではコレステロールエステルが著明に増加しており、その脂質の主体はコレステロールエステルが考えられた。

胆嚢胆汁中脂質は胆嚢コレステロローシス群では胆嚢コレステロール結石群とはその組成のコレステロールのモル%とコレステロールの飽和度を表わす確率指数が低値であり、コレステロール結石の成因の一つと考えられているコレステロールの過飽和とは関連が無いと思われた。

胆嚢粘膜は胆汁よりコレステロールを吸収することは報告されているが、その後の胆嚢粘膜のコレステロール代謝は明らかではなく、胆嚢コレステロローシスでコレステロールエステルがなぜ蓄積するかは不明である。蓄積するコレステロールエステルに直接関与する遊離コレステロールからコレステロールエステルを合成する ACAT とコレステロールエステルを分解し遊離コレステロールを生成する CEH を測定してみると、胆嚢コレステロローシス群では正常群より CEH 活性は差はなかったが、ACAT 活性が有意に高値であり、コレステロールエステル合成能の亢進が示唆された。

〔結論〕

ヒト胆嚢コレステロローシスの成因、進展の一因として胆嚢粘膜のコレステロールエステル合成の増加が考えられた。

論文審査の結果の要旨

ヒト胆嚢コレステロローシスは超音波検査で胆嚢粘膜にしばしば発見される疾患である。組織学的には脂質の蓄積が特徴的であるが、その成因についてはまだ明らかにされていない。

〔目的〕

本研究の目的は、ヒト胆嚢粘膜および胆嚢胆汁中の脂質の測定、胆嚢粘膜内のコレステロールエステル合成酵素である acylCoA-cholesterol ester acyl-transferase (ACAT) 及びその分解酵素である cholesterol ester hydrolase (CEH) の活性を測定することにより胆嚢コレステロローシスの成因を明らかにすることである。

〔方法〕

ヒト胆嚢切除標本を、肉眼的及び顕微鏡的に異常の見られない正常群、胆嚢コレステロローシス群、コレステロール結石のため胆摘を行った例をコ系石群として3群に分け、以下の方法で脂質、及び胆汁酸の量、酵素活性を測定した。

- 1) 胆嚢粘膜から脂質を抽出し、薄層クロマトグラフィー (TLC) で遊離コレステロール、コレステロールエステル、リン脂質、中性脂肪に分離して各脂質をデンストメトリーで定量した。
- 2) 胆嚢胆汁中脂質の定量を上記と同様の方法で定量し、胆汁酸を高速液体クロマトグラフィーで分離し、定量した。
- 3) 胆嚢粘膜の ACAT、CEH 活性の測定：アイソトープを標識した基質を用いて、各酵素で反応して生じた反応物を TLC で分離して液体シンチレーションカウンターで測定した。

〔結果〕

1) については、胆嚢粘膜のコレステロールエステルは胆嚢コレステロローシス群が正常群に比して有意に高値を示した。他の脂質については有意差がなかった。2) については、胆嚢胆汁中の脂質はコ系石群が正常群及び胆嚢コレステロローシス群に比してコレステロールのモル%と催石指数が有意に高値を示した。他の脂質の濃度、モル%および胆汁酸の分画比に有意差はなかった。3) については、胆嚢粘膜の ACAT 活性は胆嚢コレステロローシス群が正常群に比較して3倍以上と有意に高値を示したが、CEH活性は各群間に有意差はみられなかった。

〔結論〕

胆嚢コレステロローシスの成因は胆嚢粘膜内の ACAT 活性が亢進しているため胆嚢粘膜にコレステロールエステルの蓄積が著明に増加したことによると考えられる。

遊離コレステロールの由来、胆嚢粘膜下のマクロファージのコレステロール代謝の関与等について問題は残ったが、胆嚢粘膜局所でのコレステロール代謝を明らかにした報告はなく、意義のある研究であると考えられた。

この発表の際、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) 胆汁中の遊離コレステロールの濃度、及びCEH活性の存在について
- 2) 動脈硬化と胆嚢コレステロローシスのコレステロールエステル蓄積の相違について
- 3) 胆嚢コレステロローシスと癌発生との関連について
- 4) 本研究の臨床的意義について
- 5) びまん型とポリープ型に違いはないか
- 6) 増殖性非腫瘍性疾患とはなにか
- 7) ACATの測定法について
- 8) 催石指数について
- 9) ACATのsubtypeについて

これらの質問に対し申請者の解答は概ね適切であり、本研究での問題点を十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 教授 中 村 達

副査 教授 梅 村 和 夫 副査 教授 藤 田 道 也