

## 審査の結果の要旨

氏名 等々力 徹

脂肪酸代謝、脂質クラス代謝、および脂質複合体である血清リポ蛋白代謝の異常をきたす疾患においては、血清や臓器内脂質の脂肪酸組成が変化することが予想され、これら病態の生化学的理解には脂肪酸組成解析が有用であると考えられる。しかし、従来、各脂質クラス別に脂肪酸組成を解析する系統的な分析法が乏しかったこと、および脂肪酸組成変動因子が明らかでなかったことなどのため脂肪酸組成解析の意義は明らかではなかった。

そこで、まず脂肪酸組成解析による脂肪酸や脂質代謝疾患の病態把握の為の各脂質クラス別の脂肪酸組成解析法の確立を行った。まず想定される分析行程の手法を選択し、最適条件を検討した。その結果、Folch法により試料より脂質を抽出し、溶媒蒸発乾固後、固形物を1mlのヘキサンに溶解し、この試料1mlを50%メタノール処理フロリジルカラムに適用し、まず50mlのヘキサン中 30%ジクロロメタンでコレステロールエステル、次いで50mlのジクロロメタン中 10%メタノールでグリセリド、次いで50mlの100%メタノールで遊離脂肪酸、最後に50mlのクロロホルム・メタノール・ピリジン・酢酸(3:2:3:3)の混液にてリン脂質を、それぞれ順に溶出し、得られた各分画に内部標準物質であるヘプタデカン酸を1.0mg加え、蒸発乾固して、メタノリシス試薬を加えて加熱し、各脂質クラスからの脂肪酸のメチルエステルを生成させ、これをヘキサン抽出し、濃縮してキャピラリーガスクロマトグラフィーにて脂肪酸メチルエステルの組成比と定量を行う方法を確立した。この方法は、再現性も回収率も良好であった。

更に、本法を用いて、平衡密度勾配遠心法で分離した種々高脂血症の各リポ蛋白中の脂質について、その脂肪酸組成解析を脂質クラス別に行った。その結果、従来の報告どおり、同脂質クラスでは、リポ蛋白や高脂血症の型によらずほぼ同様な脂肪酸組成を呈していることなどが確認され、本法

の信頼性も保証されるとともに、リポ蛋白代謝の変動は脂肪酸組成変動因子ではないことも明らかとなった。

次に申請者は、本邦では初の報告例であるコレステロールエステル蓄積症患者の肝臓内脂質につき、本法を用いて脂質クラス別脂肪酸組成を解析した。その結果、コレステロールエステル蓄積症患者の肝臓に蓄積したコレステロールエステルの由来は、血清LDLである可能性を示唆し、本症例の病態はライソソームの酸性コレステロールエステルヒドロラーゼの欠損に基づく過剰蓄積であることの根拠の一つを示した。それと同時に、その脂質クラスの脂肪酸組成も変化していることを明らかにした。

更に、脂肪酸の不飽和化には肝内の酸化還元平衡 (Redox) が関与することが知られているので、長期的にRedoxが変化する2型糖尿病、中期的にRedoxが変化するアルコール性中毒、および短期的にRedoxが変動するグルコース経口負荷試験施行例につき血清中の脂肪酸組成解析を行うことにより、Redoxの変動と肝内脂質や血清脂質の脂肪酸組成変化との関連性を検討した。その結果、肝内のRedoxが還元方向へ変移すると、それぞれ、血清グリセリド中(短期)の、血清グリセリドと血清リン脂質中(中期および長期)の、モノエン酸の組成率の増加による不飽和脂肪酸の総和の上昇と、多価不飽和脂肪酸組成率の低下による脂肪酸組成変化を見だし、肝内Redoxの変化が血清中脂質の脂肪酸組成を変化させる因子の一つである可能性が示唆された。また、最近、脂肪酸代謝に変化のあることが知れているC型肝炎につき、患者の肝臓及び血清脂質の脂肪酸組成を解析した結果、弱い変化ではあったが、上に述べたRedoxの変化に伴う脂肪酸組成の変化とほぼ類似した変化が観察され、C型肝炎ウイルスコアの発現に伴う肝内Redoxの変化の可能性が示唆された。C型肝炎ウイルスコアの発現やコア自身の宿主に対する生化学的影響は未だ明らかではないが、この示唆は今後のC型肝炎研究の方向性に影響を与える知見であると考えられる。

以上、申請者は、脂質クラス別脂肪酸組成の解析法を確立し、それを生体試料に応用して得られた知見から、脂質代謝に関与する酵素活性およびRedoxの変化が脂肪酸組成を変動させる可能性があることを見いだした。

今後、本法を、種々の背景を有する疾患の生体試料に応用することにより、脂肪酸組成解析の意義がより明らかになることが期待される。このように、本研究は、病態生化学、臨床化学の発展に寄与すると思われ、博士（薬学）の学位に値するものと認めた。