

44001311

コレステロール胆石生成抑制蛋白(アポ蛋白A)の
胆石中における形態と機能

(04670402)

平成5年度科学研究補助金(一般研究C)
研究成果報告書

平成6年3月

研究代表者 牧 野 勲

(旭川医科大学医学部教授)

は し が き

コレステロール胆石の生成は胆汁中からのコレステロール結晶析出とその成長によるが、胆汁中アポ蛋白Aはそれらを抑制することが知られている。本研究は胆石中アポ蛋白Aについて各種免疫生化学的手法を用い、分子構造レベルまで追求し、胆石生成メカニズムを新しい観点から解明することを目的とした。

研 究 組 織

研究代表者：牧 野 勲 （旭川医科大学医学部教授）

研 究 経 費

平成4年度	1,600 千円
平成5年度	500 千円
計	2,100 千円

研 究 発 表

学 会 誌 等

- 齊 藤 英 明 西 村 英 夫 谷 光 憲 加 藤 隆 文
木 村 淳 馬 場 勝 義 中 村 公 英 秋 山 建 児
牧 野 勲

純コレステロール胆石中のアポ蛋白A-1の同定

日本消化器病学会雑誌 88巻 1991年9月

- 西 村 英 夫 長谷川 岳 尚 齊 藤 英 明 牧 野 勲

アポ蛋白A 1 酵素免疫測定法の確立と胆汁中アポ蛋白A 1 動態研究への応用

日本消化器病学会雑誌 印刷中 1994年

- Takenao Hasegawa and Isao Makino

The measurement of apolipoprotein A-1 in cholesterol
gallstone and its significance

Journal of Gastroenterology in press 1994

口 頭 発 表 等

- 長谷川 岳 尚 齊 藤 英 明

コレステロール胆石中のapolipoprotein A1 の存在様相とその意義

—胆嚢胆汁との比較—

日本胆道学会・日本消化器病学会合同シンポジウム

第80回日本消化器病学会総会

平成6年4月23日

研 究 成 果

1. コレステロール胆石中アポ蛋白 A 1 の生化学的特性の検討

発 表 論 文

Takenao Hasegawa and Isao Makino
The measurement of apolipoprotein A-1 in cholesterol
gallstone and its significance
Journal of Gastroenterology in press 1994

コレステロール胆石症23例の手術時に採取した胆石から胆石中蛋白を分離精製し、SDS-polyacrylamide gel電気泳動法とWestern blot法で分析したところ、胆石中アポ蛋白 A 1 は胆汁由来であることを証明した。

次いでELISA法を用いて胆石中アポ蛋白 A 1 を測定したところその含有量は $9 - 9000 \mu\text{g}/\text{g}$ ($1,122 \pm 2,172$)、アポ蛋白 A 1 / 総蛋白比は $0.03 - 1.22\%$ (0.20 ± 0.30) であった。また胆汁中アポ蛋白 A 1 濃度は $2.0 - 136.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ (47.4 ± 45.5)、アポ蛋白 A 1 / 総蛋白比は $0.03 - 6.80\%$ (2.20 ± 1.90) であった。これらの所見からコレステロール胆石中のアポ蛋白 A 1 含有量は微量であり、胆汁中リポ蛋白 A 1 の大部分は胆汁中コレステロールの溶存に利用され、胆石中への沈着は生じ難いことが推察された。

2. コレステロール胆石中アポ蛋白A 1の定量

発 表 論 文

西 村 英 夫 長谷川 岳 尚 齊 藤 英 明 牧 野 勲
アポ蛋白A 1 酵素免疫測定法の確立と胆汁中アポ蛋白A 1 動態研究への応用
日本消化器病学会雑誌 印刷中 1994年

胆石中および胆汁中アポ蛋白A 1濃度は微量であるため、それらの測定に十分な感度と精度を有するサンドウィッチ型酵素免疫測定法（ELISA）を開発した。

本ELISA法の精度を検定した後、胆汁中アポ蛋白A 1の動態研究を行い、胆汁中アポ蛋白A 1濃度は経時的に変動するが、総蛋白濃度、コレステロール濃度、コレステロール飽和度との間に正相関を認め、本所見は肝胆汁がコレステロール過飽和に傾くとアポ蛋白A 1が胆汁中に動員される可能性を示唆するものであった。

一方、胆石中アポ蛋白A 1の定量は前記Hasegawa and Makinoの論文に記述した。

3. コレステロール胆石中アポ蛋白Aの機能に関する検討

本検討のために相当量のアポ蛋白Aを胆石から分離精製することが必要であるが、胆石中含有量は微量のため、分析試料の確保に苦勞しており、研究は継続中である。

4. コレステロール胆石中アポ蛋白Aの形態学的検討

発 表 論 文

齊 藤 英 明	西 村 英 夫	谷 光 憲	加 藤 隆 文
木 村 淳	馬 場 勝 義	中 村 公 英	秋 山 建 児
牧 野 勲			

純コレステロール胆石中のアポ蛋白A-1の同定
日本消化器病学会雑誌 88巻 1991年9月

コレステロール胆石の薄切切片標本を作成し、それらの免疫組織染色から胆石中アポ蛋白A1、アポ蛋白A2、アルブミンの存在様相を明らかにした。これらの蛋白成分はいずれもコレステロール結晶の柱状層間に介在しており、胆石形成過程における沈着様相について有用な情報を与えるものであった。

以上の研究成績はコレステロール胆石の生成が胆汁からのコレステロール結晶の析出と成長に起因するとする従來說に加え、生成には促進因子と抑制因子が関与するホメオスターシスが存在することを明らかにした。