

肝機能とLDL-レセプター

栗原文男・田宮恵理子

(武蔵野女子大学食物研究室^{*})

Liver Function and LDL-Receptor

Fumio KURIHARA and Eriko TAMIYA

Laboratory of Food, Musashino Women's University

Receptor is known as one of the receptive sites of the cell to obtain information from outside, frequently present in the plasma membrane but also in the nucleus or cytoplasm.

As an abnormality of the receptor, familial hypercholestelemia (FH) is well known. The abnormality is found in the receptor for low density lipoprotein (LDL). Receptor also plays an important role in the liver, one of these being LDL-receptor, participating in the incorporation of LDL into the cell. In order to examine the relationship between liver function and receptor, experiments were conducted in rats to study the receptor abnormalities in the liver of animals with high LDL and HDL after maintenance with cholesterol-rich diet. Compared to the isolated hepatocytes from control rats, a significant difference was not found in the receptor number and affinity in these experimental rats fed on cholesterol-rich diet.

レセプターの概念は、1985年ノーベル医学生理学賞を授賞されたGoldsteinとBrownの両博士により解明されたものに始まる。特にレセプターが関与する疾患として家族性高コレステロール血症(FH)の原因として判明したものである。これは各細胞膜に存在する低比重リポタ

^{*} 所在地：東京都保谷市新町1-1-20 (〒202)

ん白 (LDL) に対するレセプターの異常により生ずることが明らかになったもので、レセプター病の代表的疾患である。

LDL-レセプターは本来細胞への有効なコレステロールの供給に関与しているもので、細胞に取り込まれたコレステロールは多くの細胞において、細胞膜の合成に用いられる。一方肝臓では胆汁酸の生成に、副腎ではステロイドホルモンの合成にそれぞれ利用される。FH ではこの LDL-レセプターの障害によりレセプター経路では LDL は細胞内に取り込まれず、従って血中 LDL 濃度が上昇し、このため過剰 LDL が蓄積されるという^{1)~6)}。この様に、LDL-レセプターはコレステロール合成の律速酵素である 3-ヒドロキシ 3-メチルグルタルコエンツァイム・レダクターゼ (HMA-CoA) 活性と共に、血清コレステロールを制限する重要な因子である。

LDL-レセプター

近年 LDL-レセプターそのものの研究も目覚ましく、種々解析がなされその構造・機能などについても判ってきた^{7)~8)} (表 1)。すなわちレセプターは糖たん白であるが、その前駆体は

Table 1. Constituent of LDL-receptors.

Chemical tissue	Glycoprotein.
Existance place	Coated pit of Cell coat.
Molecular weight	164,000.
Protein structure	839. Amino acids.
Isoelectric point	4.6
Half life	about 20 hours.

分子量 120,000 でこれが Golgi 装置で糖鎖が付加され、164,000 の分子量をもつ成熟型レセプターとなり細胞表面に移動する。次いで LDL と結合して、クラスリンで裏打ちされたコートッドピットとよばれる陥凹部に集まり、その後細胞内にくびれ込みコートッド・ヴェスイクルとなって細胞内に取り込まれ、リソゾームと癒合する。この際 LDL-レセプターは LDL を残してレセプターがはずれる (図 1)。この LDL のアポタン白はアミノ酸に、コレステロール・エステルは遊離コレステロールに水解され、この様に生じた細胞内コレステロールは大部分細胞表面に戻り、細胞膜の構成・ステロイドホルモンの産生・胆汁酸合成などに再利用されるが、その他の機能として、

- i) コレステロールをエステル化するアシル CoA-コレステロール転換酵素 (ACAT) の活性化。

ii) HMG-CoA レダクターゼの抑制。

iii) LDL-コレステロールの合成を抑制。

この様に細胞内のコレステロール濃度がある程度上昇すると、それを抑制する様な機能、いわゆる細胞内のコレステロールのホメオスターシスに関与している⁴⁾。これら機能が血中 LDL-コレステロールを基として細胞内コレステロールが調節されているものと考えられる。

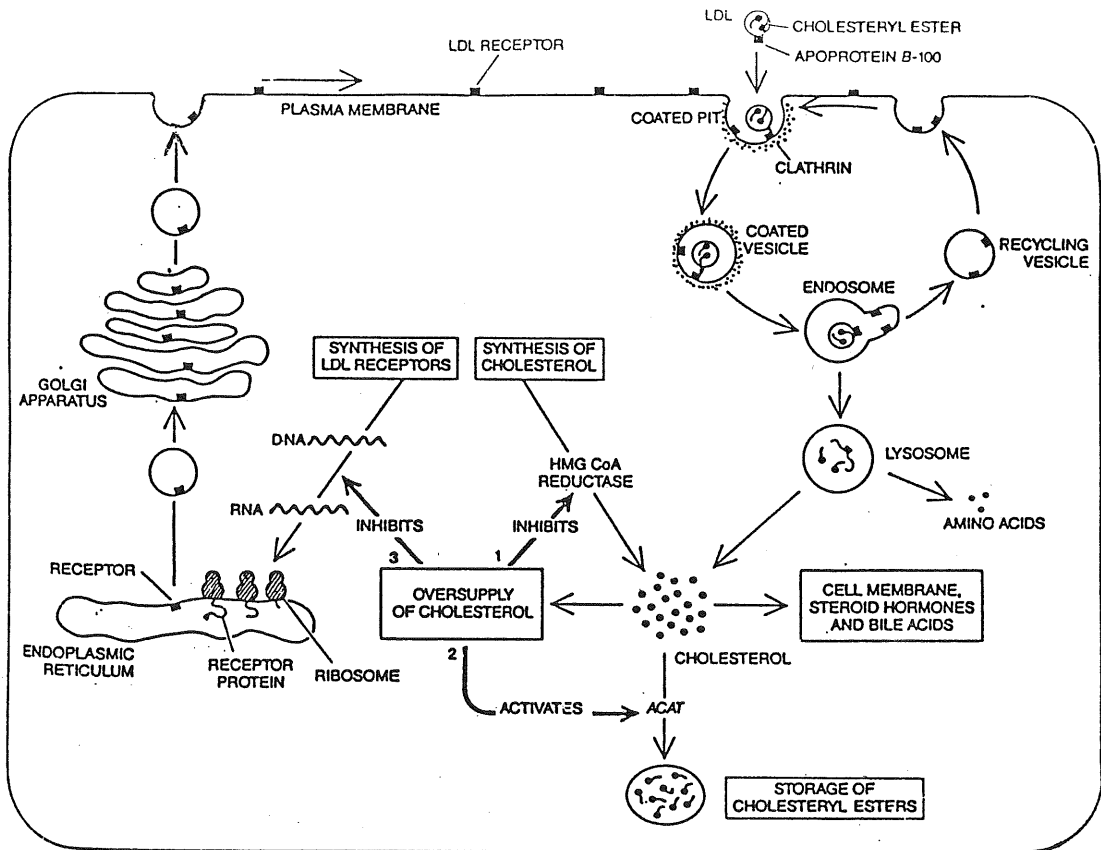


Fig. 1. Biosynthesis of LDL-Receptor Metabolic turnover and Cholesterol Metabolic.⁵⁾

肝臓 LDL-レセプター

LDL-レセプターは肝臓にも存在し、LDLの処理に関与している。このLDL-レセプターは5つの主要部分からなっており、それぞれの分子構造も解明されている⁸⁾。すなわち(図2)。

i) 332個のアミノ酸よりなるが、このうちシスチンが47個を占めくり返し構造をなし、LDLが結合すると思われる部位。

ii) 350個のアミノ酸よりなり、コレステロールを取り込み細胞増殖に重要な意味をもつ

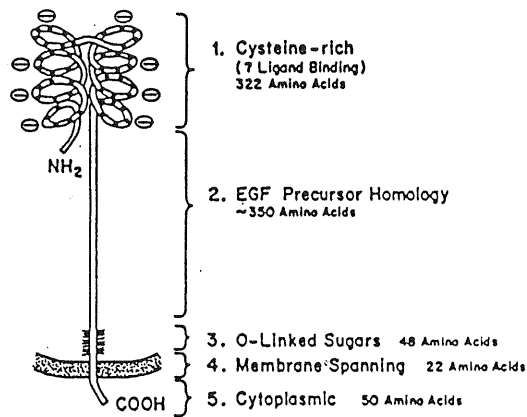


Fig. 2. Model Showing Five Domains in the Structure of Human LDL-Receptor.⁸⁾

部位。

iii) この部は細胞膜より外に出ており、糖が結合している部位。

iv) 疎水性アミノ酸に富み、細胞膜部分にある。

v) 最後のC末端50残基は細胞内に存在する部位。

肝臓とレセプターに関しても種々な報告がなされており、特に重要な生理作用をもつことが考えられており、現在2種のレセプターの存在も確認されている。その1つは外因性(すなわち食事性)コレステロールの担体であるカイロミクロンレムナント(CR)のレセプターであるが、この研究は余り進んでいない。もう1つは内因性コレステロールの担体であるLDLのレセプターであるLDL-レセプターである。LDL-レセプターを全く欠く高コレステロール血症患者に健常肝臓を移植したところ、コレステロール(LDL)値が正常値近く迄下がったという報告⁹⁾は、肝臓がLDLの処理に重要な役割を果たしていることを示唆している。

実 験

ラットを用い高コレステロール食を投与飼養し、高コレステロール血症をおこさせ、高LDL・低HDL時における肝臓中のレセプターの異常の指標としてレセプターの数および親和性の変化についてスポットを当て実験を試みた。

ウィスター系雄成熟ラットを用い、コール酸添加の高コレステロール食で飼養後の遊離肝細胞を用いた。この遊離肝細胞に結合させるLDLは、ヒトLDLを超遠心法にて採取して用いた。

リポたん白の¹²⁵Iによる標識はMcFarlaneの方法¹⁰⁾に準じて実施した。ラット遊離肝はコラ

ゲナーゼ含有灌流液で灌流する Berry と Friend および Nakai¹¹⁾ の方法に準じて調整した。約 500 万の細胞と ¹²⁵I 標識たん白 200ng および非標識リポたん白を Krebs-Henseleitbicarbonate buffer (KHB) pH7.4 にてインキュベート 後遠心分離し細胞を採取、細胞の放射活性を測定した。

結果および考察

実験の結果は表 2 に示す如くであった。すなわち、高親和性結合部位の解離定数 (Kd) は高コレステロール食飼養で $13.7 \pm 4.6 \times 10^2$ ng/ml, コントロールは $15.3 \pm 6.1 \times 10^2$ ng/ml であった。低親和性結合部位の Kd はそれぞれ 66.9 ± 5.3 , 70.1 ± 7.4 であった。また最大結合能 (Bmax) も同様示す通りであった。

Table 2. The binding characteristics of human LDL to the isolated rat hepatocytes prepared from the control and rats fed a high cholesterol diet.

	Cont. Rat	High Chol. Rat
Kd (ng $\times 10^2$ /ml)		
High Affinity	15.3 ± 6.1	13.7 ± 4.6
Low Affinity	70.1 ± 7.4	66.9 ± 5.3
Bmax (ng/ 10^6 cells)		
High Affinity	58.7 ± 18.1	53.1 ± 9.6
Low Affinity	281.6 ± 60.3	311.8 ± 78.6

以上から高コレステロール食飼養ラットの高 LDL・低 HDL 血症時の肝細胞におけるレセプターの数や親和性に関し、数の減少や親和性の低下など有意の差を認めるに至らなかった。これは高リポたん白血症がレセプター性状に起因すると云う仮説が不成立に終わったことになる。

文 献

1. GOLDSTEIN, J. L. and M. S. BROUN (1983) The Metabolic Basis of Inherited Disease. McGraw-Hill Book, New York.
2. GOLDSTEIN, J. L. and M. S. BROUN (1982) Med. Clin. North Am.
3. GOLDSTEIN, J. L. and M. S. BROUN (1982) Clin. Res.
4. BROUN, M. S. and J. L. GOLDSTEIN (1984) Sci. Am.
5. PACKARD, C. J. and J. L. SHEPHERD (1983) Atherosclerosis Rev.

6. MYANT, N. B. (1985) Klin. Wochenschr.
7. GOLDSTEIN, J. L. and M. S. BROUN (1984) J. Lipid Res.
8. YAMAMOTO, T. et al. (1984) Cell
9. BILHEIMER, D. W. (1984) New Engl. J. Med.
10. MCFARLANE, A. S. (1958) Nature
11. NAKAI, T. et al. J. Biol. Chem.