

アルコールの肝における高比重リポ蛋白代謝 に及ぼす影響に関する研究

奈良県立医科大学第3内科学教室

藤森由佳子

STUDY ON THE ROLE OF THE LIVER IN ALCOHOL INDUCED ALTERATION OF HIGH DENSITY LIPOPROTEIN METABOLISM

YUKAKO FUJIMORI

The 3rd Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received November 30, 1989

Summary: The effect of alcohol intake on the serum levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-ch), apolipoprotein A-I (apo. A-I), and apolipoprotein A-II (apo. A-II) was investigated in 19 habitual alcohol drinkers without liver dysfunction (Group A), 35 with mild hepatic damage (Group B), and 7 with advanced liver disease (Group C). The serum level of HDL-ch was higher in Group A than in 10 non-drinkers (control group) ($P < 0.001$). But it was lower in Group B ($P < 0.01$) and significantly lower in Group C ($P < 0.001$) than in the controls. The level of apo. A-I was also higher in Group A ($P < 0.005$) than in the controls, although the level of apo. A-II was not. To elucidate the effects of alcohol on apo. A-I production by hepatocytes, the author investigated the synthesis of apo. A-I and albumin by cultured rat liver cells in the presence of ethanol. Ethanol enhanced the production of apo. A-I but not that of albumin.

These results suggest that the elevation of serum HDL in habitual alcohol drinkers without liver disturbance is mainly attributable to the increase of apo. A-I synthesis in the liver.

Index Terms

high density lipoprotein cholesterol, apolipoprotein A-I, apolipoprotein A-II, alcohol, primary culture of rat hepatocyte

緒 言

1977年, Yano ら¹⁾はハワイ在住の日本人を対象に嗜好品と冠硬化症発生の関係について疫学調査をおこない、アルコールは冠硬化症の発生に負の相関を示すことを報告した。その後、アルコールの比較的少量長期飲用が、血中 high density lipoprotein (HDL) ないし HDL cholesterol (HDL-ch) を上昇させるという報告が相次ぎ²⁾³⁾既に Framingham study⁴⁾等で虚血性心疾患の反危険因子であることが指摘されてきた HDL-ch の上昇とアルコール飲用との関係が注目されるに至った。

アルコール飲用による HDL 上昇の機序については、肝または腸での合成の場合^{5)~7)}、異化の遅延⁸⁾、triglycer-

ide-rich リポ蛋白からの turn over の亢進⁹⁾、などが想定されているが未だ明らかではない。

肝は、HDL の合成、異化およびその機能発現に必要な lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT) の産生などを介して HDL 代謝に深く関わっている臓器であり、その障害時には種々の HDL 代謝異常が観察されている¹⁰⁾¹¹⁾。また、肝はアルコール代謝においても中心的な役割を果たしており、その影響によって特有の肝障害をおこすことも多い。

そこで著者は、アルコール飲用による HDL 代謝の変化における肝の役割について、HDL の主要構成成分であるアポリ蛋白 A-I, A-II との関連を中心に臨床的ならびに実験的検討をおこなった。

対象と方法

1. 臨床的検討

対象はすべて男性で、飲酒家 61 例(1 日エタノール消費量 40 g 以上、飲酒歴 5 年以上)である。HBs 抗原陽性例、輸血症を有する例、糖尿病合併例は対象から除外した。これらに一般肝機能検査、腹部超音波検査、腹部 computed tomography (CT) 検査を施行し、さらに異常が認められた者について腹腔鏡、肝生検をおこない 3 群に分類した。すなわち A 群は肝障害のない 19 例(28~65 歳、平均年齢 41 歳)、B 群は肝硬変を除く慢性肝障害を有する 35 例(26~74 歳、平均年齢 44 歳)、C 群は肝硬変を有する 7 例(37~57 歳、平均年齢 50 歳)である。これらで血清 HDL-ch、アポリポ蛋白 A-I および A-II (A-I, A-II) を測定した。HDL-ch は隣タングステン酸 Mg^{++} 法¹²⁾(沈殿試液は HDL-ch 沈殿試液、栄研化学を使用し、発色にはデタミナ TCS、協和メディクスを用いた。)で測定し、A-I、A-II は一元免疫拡散法 (SRID)¹³⁾アポ A-I プレート、アポ A-II プレート、第一化学薬品)で測定した。

また、別に非飲酒家の慢性肝炎 11 例(35~67 歳、平均年齢 49 歳)にも同様の検討をおこない、健常対照として非飲酒家 10 例(26 歳~49 歳、平均年齢 43 歳)を用いた。

2. 実験的検討

ラット初代培養肝細胞を用いて、エタノール(ETOH)の A-I 産生への影響を検討した。

a) 動物および試薬

Sprague-Dawley (S-D) 系ラットは、日本 SLC 株式会社より購入した。

L-[3, 4, 5-³H(N)]-Leucine(>140 Ci/mmol) は、New England Nuclear Research Products より購入した。

Collagenase (Sigma Type 1) は Sigma chemical company, St. Lois, USA より、 Ca^{2+} および M^{2+} を含まない Dulbecco の PBS 液 (PBS (-)), Hanks 液、HEPES 緩衝液 (ph 7.3), Williams' E 培地、ペニシリン G (PC-G) は、Flow Laboratories Inc. USA より、ファンギゾン^R (アンホテリシン B) は GIBCO Laboratories, New York, USA より、硫酸ストレプトマイシン (SM) は明治製薬より購入した。

b) ラットアポリポ蛋白 A-I の分離・精製

体重 150~200 g の S-D 系雄性ラットの新鮮プール血清から Scanu ら¹⁴⁾の方法に準じて HDL を分離した。超遠心機は、日立製作所 85 P-73 型分離用超遠心機を用

い、ローターは RP-65 T を用いた。血清 100 ml に対し 5% EDTA 溶液 (pH 7.0) を 1 ml 加え、10,000 rpm 4℃で 30 分間遠心をおこない、浮上したカイロミクロンを除去した。その後、sample 100 ml に対し 9.8 g の NaCl を加え ($d=1.063$) チューブに 9 ml ずつ分注し、30,000 rpm 16℃で 16 時間遠心をおこない、上層の very low density lipoprotein および low density lipoprotein 分画を除去した。残りの液状面より 1~1.5 cm 下でチューブスライスし、sample 100 ml に対し 19 g の NaBr を加え ($d=1.21$) チューブに 6.4 ml ずつ分注し、40,000 rpm 16℃で 24 時間遠心をおこない、上層 1 ml を採取し同操作を 2 回繰り返して精製した。その後 sample を 0.9% NaCl で透析をおこなった。次にエタノール・エーテル (3:2) 法で脱脂し、粉末状のアポ HDL を得た。そのアポ HDL を、8 M 尿素および 0.001 M の EDTA を含む Tris HCl (pH 8.6) に溶解し、同一の緩衝液で sephadex G-200 のカラムにかけて、ゲル濾過をおこない、フラクションコレクター (SF-100, アドバンテック東洋株式会社) にて 3 ml ずつに分割採取し、A-I はフラクションナンバー 57~60 で最大ピークを有する分画として得られた (Fig. 1)。得られた分割は 0.01 M Tris-HCl (ph 8.6, 0.001 M の EDTA を含む) 緩衝液で透析をおこない尿素有除去後、Diaflo membrane UM 2 をもちいて Amicon 52 型セル中で限外濾過法により濃縮した。以上のようにアポ HDL から脱脂して得られた A-I を 8 M 尿素を含むポリアクリルアミドゲルを支持体としてディスク電気泳動をおこなったところ単一のバンドを形成した (Fig. 2)。

c) 抗血清の作製

前述の A-I を等量の Freund の complete adjuvant とよく混和して、家兎の足指皮内にタンパク量として 1 mg 注射して感作させた。3 週間後に追加免疫として 1~2 mg を Freund の complete adjuvant とともに臂筋内に注射し、その 7 日後に全採血し、抗ラット A-I 血清を作製した。抗ラット A-I 血清は免疫電気泳動により、ラット全血清に対して HDL に相当する一本の沈降線のみを示した (Fig. 3)。抗血清は 2 ml ずつサンプルチューブに分け -75℃の冷凍庫で保存した。抗ラットアルブミン血清は Cappel 社製をもちいた。

d) ラット肝細胞の初代培養

24 時間絶食後の体重 200 g の S-D 系雄性ラットを用いて、Collagenase 灌流法¹⁵⁾と低速遠心法により肝実質細胞を分離した。

ラットにネブタール (輸入販売元大日本製薬株式会社) 0.3 ml を腹腔内に注射して麻酔し開腹した。門脈を

切開しカニューレ (東レ・ホスピタルサブライハッピーキャス 18 G) を挿入し, そのまま 30 ml/min の流速でペリスタポンプを 작동させ 37°C に保温した 0.5 mM EGTA を含む PBS (-) を灌流し続けた. この状態で 4~5 分灌流を続け, Hanks 液に 0.05% となるように溶解したコラゲナーゼ溶液 (200 ml) に交換し再び灌流を始め 10~20 分後, 肝臓各葉をハサミで切り離しシャーレに移した. 肝を軽く細分した後, 先太の駒込めピペットで軽く 2~3 回ピペッティングし, 2~3 枚のガーゼを重ねた細胞濾過器 (池本理化) で濾過した. 濾液を 50 ml 細胞遠心管に集め, 50 g × 1 分間の低速遠心を 3 回おこない, ほぼ均一な肝実質細胞を得た. 分離肝細胞の viability は, トリパンプルー染色試験で 95% 以上であった. その肝実質細胞を 10% 仔牛血清, 1 μM デキサメサゾン, 1 μM インスリン, 10 mM HEPES 緩衝液を含む Williams' E 培地に 5 × 10⁵ 細胞/ml の濃度に浮遊し,

35 mm 径の Falcon culture dish に 1 × 10⁵ 細胞/cm² の濃度で播いた. 培養液には PC-G (100 μg/ml), SM (100 μg/ml), ファンギゾン[®] (0.25 μg/ml) を添加した. 培養は, 5% CO₂-95% 空気を気相として 37°C インキュベーター中でおこなった. 24 時間培養後, 血清およびホルモンを含まない Williams' E 培地に変更し, さらに 12 時間培養後実験に用いた.

d) ETOH 添加実験

培養液中に分泌された A-I およびアルブミン量を測定するため二種の方法 (短時間培養系および長時間培養系) で検討した.

なお培養液への ETOH 添加量は, ETOH 添加 2 時間後での細胞の viability および遊離酵素活性 (LDH, GOT, GPT) に変化のみられなかった 100 mM までとした (Table 1).

まず短時間培養系では, L-[3, 4, 5-³H(N)]-Leucine 5

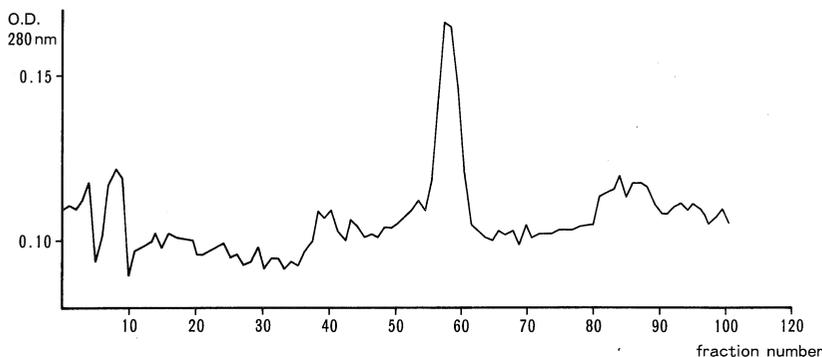


Fig. 1. Gel filtration profile of apo. HDL from rat serum. Plasma lipoproteins were separated by density gradient ultracentrifugation.

Freshly pooled serum was taken from ten rats.

HDL was delipidated by ether-ethanol extraction and chromatographed on Sephadex G-200 in Tris-buffered 8 M urea.

Table 1. Enzyme activities in the medium used for two-hour culture of hepatocytes with and without ethanol (ETOH)

	Control	ETOH 10 mM	ETOH 20 mM	ETOH 100 mM	ETOH 200 mM
LDH (IU/l)	99.5 ± 43.7	104.5 ± 39.3	66.3 ± 17.6	59.3 ± 12.3	223.8 ± 36.8
GOT (IU/l)	45.5 ± 4.5	47.2 ± 4.2	43.5 ± 4.4	49.3 ± 6.7	87.0 ± 8.9
GPT (IU/l)	3.5 ± 1.0	3.8 ± 0.6	4.0 ± 1.4	5.0 ± 0.8	7.8 ± 1.0

Mean ± S. D. of 4 experiments

μ Ci/ml を含み, 10, 20, 100 mM の各濃度に ETOH を加えた培養液で肝細胞を 2 時間細胞した. その後細胞液を回収し, 100 μ l を PBS (pH 6.8) 200 μ l で希釈し, 家兎抗 A-I 血清 (1/100 希釈) 100 μ l または家兎抗アルブミン血清 (1/100 希釈) を加え 4°C で 48 時間インキ

ュベートし, さらにヤギ抗家兎 γ グロブリン抗体 (1/10 希釈) 100 μ l を加え 4°C で 24 時間インキュベートした. その後 2000 \times g, 15 分間遠心し, 得られた沈渣を 0.1% sodium dodecyl sulfate を含む PBS で 5 回洗浄した. 沈渣は 1 N NaOH で溶解し, 5 ml のシンチレーション溶液 (Univer-Gel II; Nakarai chemicals, Kyoto, Japan) を加え, その放射活性を液体シンチレーションカウンター (model LS-7500, Beckman Instruments Inc., Brea, Calif) で測定した.

次に長時間培養系でも同様に 10, 20, 100 mM の各濃度に ETOH を加えた培養液を 24 時間毎に交換し, 4 日目の培養液を分離して, これを蛋白濃縮器 (Minicon, Amicon, Division of W. R. Grace and Co., Danvers, Mass.) にて 100 倍濃縮した後, SRID でアポ蛋白およびアルブミンの定量をおこなった. 平板ゲルは 1% agarose に抗血清をそれぞれ 1% 混じて用いた.

3. 検定方法

データはすべて平均 (±標準偏差) で表現し, 有意差検定には分散分析および Student の t-test を用いた.

結 果

1. 臨床的検討

1) 飲酒家における血清 HDL-ch, A-I, A-II 値 (Table 2, Fig. 4)

血清 HDL-ch は, A 群では, 健常対照に比べて有意な上昇を示した. B 群では対照に比べて有意に低下し, C 群ではさらに著明な低下を認めた.

A-I は HDL-ch と同様の変動傾向を示した. すなわち A 群では対照に比べて有意な上昇を示した. B 群では対照との有意差はみとめなかった. C 群では対照と比べて有意に低下していた.

A-II は対照と比べて A 群, B 群ともに有意差はないが, C 群では著明な低下を示した.

2) 各群における血清 HDL-ch, A-I, A-II 値の相関 (Table 3)

A 群および C 群では HDL-ch は, A-I との間に有意

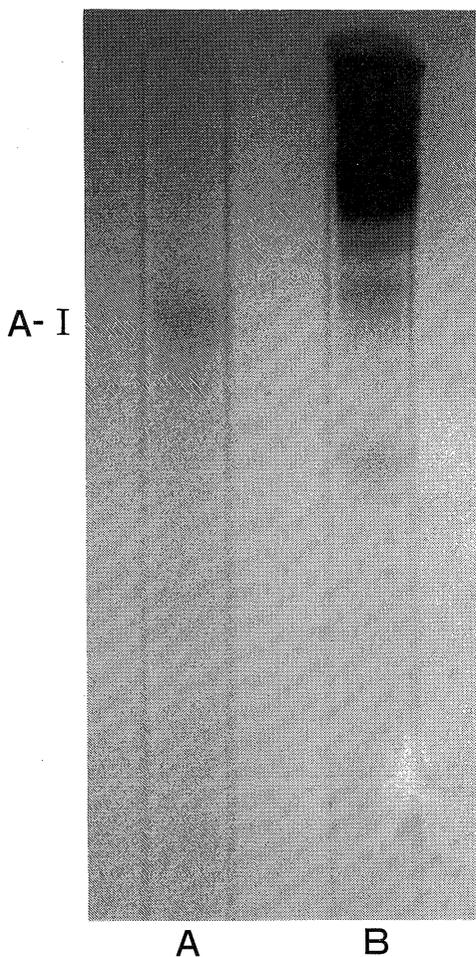


Fig. 2. Polyacrylamide gel electrophoresis of rat apo. A-I (A) and rat whole serum (B).



Fig. 3. Immunoelectrophoretic patterns of rat serum with anti-rat apo. A-I serum and anti-rat whole serum.

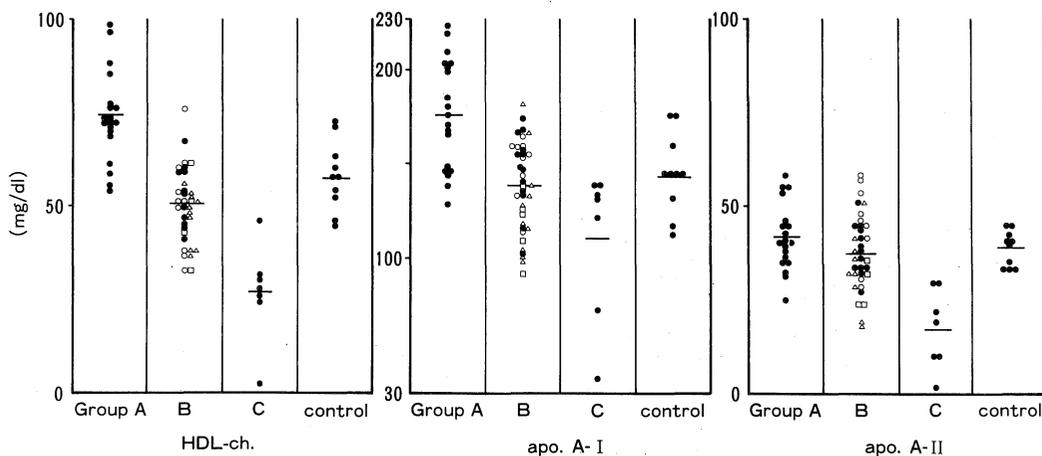


Fig. 4. Distribution of serum levels of HDL-ch., apo. A-I and apo. A-II in male habitual alcohol drinkers with or without liver disease and in male nondrinkers. Group B includes subjects with non specific change of liver (●), fatty liver (○), hepatic fibrosis (□), and chronic hepatitis (△).

Table 2. Serum levels of HDL-ch., apo. A-I and apo. A-II in male habitual alcohol drinkers with or without liver disease and in male nondrinkers

Group	Component	HDL-ch(mg/dl)	apo.A-I (mg/dl)	apo. A-II(mg/dl)
A	Drinkers without liver disease (n=19)	72.9±11.6***	176.8±28.3**	41±8.8
B	Drinkers with mild liver disease (n=37)	49.3±9.4*	138.4±23.3	36.5±9.7
C	Drinkers with liver cirrhosis (n=7)	26.3±11.9***	110.6±37.1*	17.1±9.6**
Control	Nondrinkers (n=10)	56.9±2.9	143.7±6.0	38.3±1.6

Values are expressed as mean±S.D.

*P<0.01, **P<0.005, ***P<0.001 vs Control

Table 3. Correlation among serum levels of HDL-ch., apo. A-I and apo. A-II

	HDL-ch vs. apo. A-I	HDL-ch vs. apo. A-II	apo. A-I vs. apo. A-II
Group A n=19	*0.8668	0.2846	0.2866
Group B n=37	0.2283	0.2241	*0.723
Group C n=7	*0.7628	0.6747	*0.8422
Control n=10	-0.0467	-0.0022	*0.6977

*P<0.05

な正の相関を示したが、A-IIとは有意な相関を示さなかった。B群および対照群では、HDL-chとA-I、A-IIの間に有意な相関は認められなかった。対照群とB群およびC群においてA-IとA-IIの間には、有意な正の相関が認められた。

3) B群の組織学的分類とHDL-ch, A-I, A-II値の関係 (Table 4)

非特異的变化群では、HDL-ch, A-I, A-IIともに対照と差を認めなかった。脂肪肝群では、HDL-ch, A-Iは対照と差がなく、A-IIは増加傾向を示した。肝線維症群では、HDL-ch, A-I, A-IIともに低下傾向にあり、とくにA-IIの低下は有意で、肝硬変(C群)に近い傾向を示した。飲酒家慢性肝炎群では、HDL-ch, A-I, A-IIいずれも非飲酒家慢性肝炎群とのくには差を認めなかった。

2. 実験的検討

ラット初代培養肝細胞において、ETOH添加2時間後

の培養液中に分泌されたA-Iへの³H-Leucineの取り込みは、100 mMまで濃度依存性が増加し、100 mMにおいて有意な増加を認めた。一方アルブミンへの³H-Leucineの取り込みには、有意な変化はなかった (Fig. 5)。

ETOH添加後4日目の培養液のSRIDの計測から、A-Iおよびアルブミンの定量値の平均とその比を検討すると、A-IはETOH 20 mM添加群でピーク値を示しており、アルブミン量に対する比率でも明らかに増加していた (Table 5)。

考 察

今回の成績では、飲酒家における血中HDL-chの上昇は肝障害のない群にのみ見られ、肝障害を有する群ではむしろ低下する傾向を示し、とりわけ肝硬変では著明な低下を示した。以上のことより、肝障害の有無およびその重症度がHDL-chの重要な変動因子であることが示

Table 4. Serum levels of HDL-ch., apo. A-I and apo. A-II in Group B, non drinkers with chronic hepatitis and control

Histological diagnosis		HDL-ch (mg/dl)	apo. A-I (mg/dl)	apo. A-II (mg/dl)
Group B	Non specific change n=13	51.2±7.1	146.3±19.5	37.1±6.2
	Fatty liver n=9	51.9±12.1	148.8±15.3	44.3±9.9
	Hepatic fibrosis n=5	44.8±10.1	118±15.8	28.5±4.5*
	Chronic hepatitis n=10	46.6±6.8	129.1±26.5	32.1±9.4
Non-drinkers with chronic hepatitis n=11		47.2±4.70	128.7±9.78	27.8±2.63
Control n=10		56.9±2.9	143.7±6.01	38.3±1.58

Mean±S.D. *P<0.01

Table 5. Quantitation of apo. A-I and albumin in the medium by SRID

	Control	ETOH 10 mM	ETOH 20 mM	ETOH 100 mM
apo. A-I (ng/10 ⁶ cells/hr.)	14.6	45.8	81.3	64.6
albumin (ng/10 ⁶ cells/hr.)	158.3	191.7	206.3	168.8
apo. A-I / Alb ratio (%)	9.2	23.9	39.4	38.3

Hepatocytes were cultured for 4 days in the medium with and without ethanol (ETOH). The medium was re-exchanged everyday and last day's cultured medium was concentrated (×100) and used for SRID.

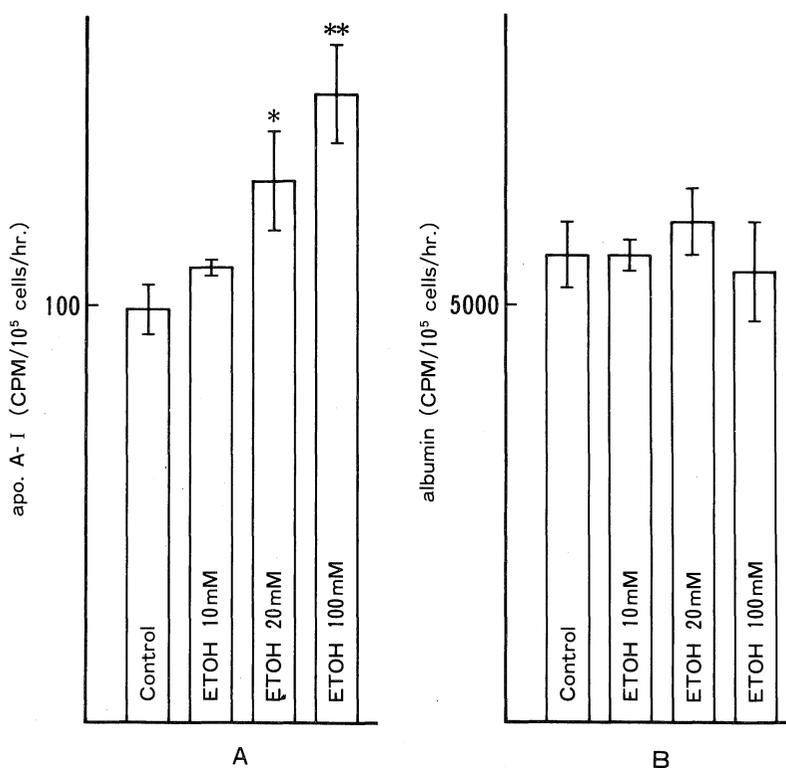


Fig. 5. The effect of ethanol (ETOH) on the incorporations of L-[3, 4, 5-³H(N)]-leucine into apo. A-I (A) and albumin (B) which were secreted by cultured hepatocytes.

Each value is the mean \pm S. D. of 4 experiments.

* $p=0.07$ ** $P<0.01$ vs control

唆された。また HDL の主要な構成蛋白である A-I, A-II についてみると、肝障害のない群で A-I のみ増加が認められ、しかもそれが HDL-ch の変動と良い相関を示したことより、HDL-ch の上昇は A-I の増加と密接な関係を有しているものと考えられた。Hully¹⁶⁾ も、肝障害のない飲酒家での HDL-ch は、非飲酒家のそれより 30~40% 高く、その値は飲酒家と正の相関を示すと報告している。Devenyi¹⁷⁾ らは、重症肝障害を伴わない飲酒家群 (normal および steatosis, portal fibrosis を含む群) で HDL は上昇し、重症肝障害 (alcoholic hepatitis, cirrhosis を含む群) を伴う飲酒家では HDL の上昇を認めないと報告している。Duhamel¹⁸⁾ も、正常肝および重症肝障害を伴わない飲酒家群 (steatosis, mild alcoholic hepatitis を含む群) で、A-I, A-II, HDL₂ の上昇を報告し、A-I および A-II の上昇は HDL₂ の上昇によるものと推察している。また HDL₃ は、肝障害を重症化するに従い低下したと報告している。

本研究では、HDL-ch および A-I の上昇は正常肝機能を示した群にのみ認められただけであり、肝硬変を除く軽度慢性肝障害群とした B 群では、対照と有意差を認めないという成績を得た。この際、軽度肝障害群に何を含めるかが重要な問題であると考えたので、B 群をさらに組織分類別に 4 群に分け、HDL-ch, A-I および A-II について検討を加えた。非特異的变化群および脂肪肝群では、HDL-ch, A-I, A-II ともに非飲酒家群と有意差を認めなかったのに対し、肝線維症群では HDL-ch, A-I, A-II ともに低下しており、とくに A-II は有意に低下し、肝硬変群に近い値を示した。慢性肝炎群では、HDL-ch, A-I, A-II の値は飲酒家と非飲酒家の間ではほとんど差がなく、HDL 増加に働くアルコールの作用はこのような慢性実質性肝障害では消失するものと考えられた。肝硬変群では従来の報告¹¹⁾と同様に、HDL-ch, A-I, A-II の低下ととくに A-II の著明な低下を認めた。Poynard¹⁹⁾ らは、飲酒家 581 例において、正常肝および肝

線維症を伴わない脂肪肝で A-I の有意な上昇を認め、線維化の出現で明らかに A-I は低下すると報告しており、アルコールによる肝での A-I の生合成の誘導が、線維化により低下するものと考察している。

今回の臨床的検討において、飲酒者での HDL-ch の上昇は、肝での A-I 産生の増加に関係があることを示唆する成績が得られた。しかし、なお小腸での合成、TG-rich リポ蛋白からの turn over の増加など肝以外の因子による修飾も否定できない。Lee⁵⁾らは、慢性アルコール投与ラットを用いた実験で、血清中の total cholesterol, HDL-ch の上昇傾向ならびに灌流肝からの HDL-ch の増加傾向を認めたと報告している。そこで著者は培養肝細胞を用いた in vitro 実験系を用いて、アルコールが肝に直接作用して A-I 産生を増加させ得るかどうかを検討した。

その結果、培養肝細胞による A-I の産生はエタノールを 100 mM 添加して 2 時間後で有意な増加を示したが、アルブミンの産生は変動しないという成績を得た。このことより、肝細胞の A-I 産生の増加はアルコールの直接作用によるものであり、また A-I に特異的な反応であることが窺われた。さらに 4 日間培養後の SRID による検討でも、A-I 産生はエタノール 20 mM 添加群でピーク値を示しアルブミン産生に対する比率でも明らかな増加を示す成績を得た。この際、100 mM 添加群での産生量が短時間培養系に比べてそれほど高くなかったのは、4 日間の長期培養により細胞障害が出現したためかもしれない。以上の実験成績から、臨床的に観察されたアルコール飲用による HDL-ch の上昇は、主としてエタノールによる肝での A-I 産生の増加を介したものであることが強く示唆された。

エタノールによる肝での A-I 産生増加の機序は明らかではないが、エタノールと同様に HDL を増加させることが知られている phenobarbital には、肝ミクロゾームの酵素誘導を促進させる作用²⁰⁾、ラット肝での A-I の m-RNA の誘導を亢進させる作用²¹⁾があることが報告されており、同様の機序によりアルコールが A-I 合成を亢進させまのではないかと推察される。

結 語

アルコールと肝での HDL の合成、とくにその主要なアポリポ蛋白である A-I の合成との関係に注目し、臨床的ならびに実験的検討をおこない、以下の結論を得た。

1) アルコール飲用は、血中 HDL-ch およびアポリポ蛋白 A-I を増加させるが、その作用は肝障害を伴わない群でのみ認められた。

2) エタノールは、ラット培養肝細胞のアポリポ蛋白 A-I の産生を特異的に亢進させた。以上より、アルコールによる血中 HDL の増加には、肝でのアポリポ蛋白 A-I の合成亢進が重要な役割を果たしているものと考えられた。

(本論文の要旨は、第 28 回日本消化器病学会大会、第 18 回日本肝臓病学会西部会、第 7 回アルコール代謝と肝研究会において発表した。本研究の研究費の一部は文部省科学研究費 (60770536) による。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜った恩師辻井 正教授に深甚の謝意を捧げるとともに、御助言、御校閲を賜った生化学教室神谷知弥教授、ならびに病態検査学教室中野 博教授に深謝致します。また本研究の遂行にあたって常に御指導、御助力をいただいた病態検査学教室岡本康幸講師ならびに御助力をいただいた第 3 内科学教室福井 博講師ならびに教室の諸兄に感謝の意を表します。)

文 献

- 1) Yano, K., Rhoads, G. G. and Kagan, A.: Coffee, alcohol, and risk of coronary heart disease among Japanese men living in Hawaii. *New Engl. J. Med.* **297**: 40, 1977.
- 2) Belfrage, P., Berg, B., Hagerstrand, I., Nilsson-ehle, P., Tornqvist, H. and Wiebe, T.: Alteration of lipid metabolism in healthy volunteers during long-term ethanol intake. *Eur. J. Clin. Invest.* **7**: 127, 1977.
- 3) Castelli, W. P., Doyle, J. T., Gordon, T., Hames, C. G., Hjortland, M. C., Hulley, S. B., Kagan, A. and Zukel, W. J.: Alcohol and blood lipids. *Lancet* **II**: 153, 1977.
- 4) Gordon, T., Castelli, W. P., Hjortland, M. C., Kannel, W. B. and Dawber, T. R.: High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham study. *Amer. J. Med.* **62**: 707, 1977.
- 5) Lee, H., Noel, S. P., Hosein, E. A. and Rubinstein, D.: Secretion of high density lipoprotein by the isolated perfused alcoholic rat liver. *Experientia* **38**: 914, 1981.
- 6) Cluette, J. E., Mulligan, J. J., Noring, R., Doyle, K. and Hojnacki, J.: Ethanol enhances de novo synthesis of high density lipoprotein chole-

- terol. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **176**: 508, 1984.
- 7) **Couzigou, P., Fleury, B., Crockett, R., Rautou, J. J., Blanchard, P., Lemoine, F., Richard-Molard, B., Amouretti, M. and Béraud, C.**: High density lipoprotein cholesterol and apoprotein A I in healthy volunteers during long-term moderate alcohol intake. *Ann. Nutr. Metab.* **28**: 377, 1984.
 - 8) **Cluette-Brown, J., Mulligan, J., Igoe, F., Doyle, K. and Hojnacki, J.**: Ethanol induced alterations in low and high density lipoproteins. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **178**: 495, 1985.
 - 9) **Sane, T., Nikkilä, E. A., Taskinen, M. R., Välimäki, M. and Ylikahri, R.**: Accelerated turn over of very low density lipoprotein triglycerides in chronic alcohol users. *Atherosclerosis* **53**: 185, 1984.
 - 10) 板倉弘重, 児玉龍彦, 山田信博, 村瀬敏郎, 赤沼安夫: 肝における HDL 代謝調節機構. *日本臨床代謝学会記録* **19**: 20, 1982.
 - 11) **Kajiyama, G., Takata, T., Horiuchi, I., Oyamada, K. and Miyoshi, A.**: HDL and its subfractions in patients with chronic liver diseases. *Hiroshima J. Med. Sci.* **30**: 273, 1981.
 - 12) **Burstein, M. and Scholnich, H. R.**: Lipoprotein-polyanion-metal interactions. *Adv. Lipid. Res.* **11**: 67, 1981.
 - 13) **Cheung, M. C. and Albers, J. J.**: The measurement of apoprotein A-I and A-II levels in men and women by immunoassay. *J. Clin. Invest.* **60**: 43, 1977.
 - 14) **Scanu, A., Toth, J., Edelstein, C., Koga, S. and Stiller, E.**: Fractionation of human serum high density lipoprotein in urea solution. Evidence for polypeptide heterogeneity. *Biochemistry* **8**: 3309, 1969.
 - 15) **Tanaka, K., Sato, M., Tomita, Y. and Ichihara, A.**: Biochemical studies on liver functions in primary cultured hepatocytes of adult rats. *J. Biochem.* **84**: 937, 1978.
 - 16) **Hulley, S. B. and Gordon, S.**: Alcohol and high-density lipoprotein cholesterol. Causal inference from diverse study designs. *Circulation* **64**: 57, 1981.
 - 17) **Devenyi, P., Robinson, G. M., Kapur, B. M. and Roncari, D. A. K.**: High-density lipoprotein cholesterol in male alcoholics with and without severe liver disease. *Am. J. Med.* **71**: 589, 1981.
 - 18) **Duhamel, G., Nalpas, B., Goldstein, S., Laplaud, P. M., Berthelot, P. and Chapman, M. J.**: Plasma lipoprotein and apolipoprotein profile in alcoholic patients with and without liver disease. On the relative roles of alcohol and liver injury. *Hepatology* **4**: 577, 1984.
 - 19) **Poynard, T., Abella, A., Pignon, J. P., Naveau, S., Leluc, R. and Chaput, J. C.**: Apolipoprotein A I and alcoholic liver disease. *Hepatology* **6**: 1391, 1986.
 - 20) **Luoma, P. V.**: Microsomal enzyme induction, lipoproteins and atherosclerosis. *Pharmacol. Toxicol.* **62**: 243, 1988.
 - 21) **Chao, Y. S., Pickett, C. B., Yamin, T. T., Guo, L. S. S., Alberts, A. W. and Kroon, P. A.**: Phenobarbital induces rat liver apoprotein A-I mRNA. *Mol. Pharmacol.* **27**: 394, 1984.