

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	宮崎あかり
論文審査担当者	主査 本田 孝行 副査 小泉 知展・梅村 武司・吉澤 明彦
論文題目 Highly oxidized low-density lipoprotein does not facilitate platelet aggregation (高度に酸化した低比重リポ蛋白は血小板凝集を促進しない)	
(論文の内容の要旨) 〔背景〕血中 low-density lipoprotein (LDL) の上昇は粥状動脈硬化症の危険因子であるが、LDL 濃度が基準値以下でも心血管疾患を発症する症例があり、LDL 濃度の定量評価だけでなく、質の評価が必要と考えられている。LDL が酸化した酸化 LDL は粥状動脈硬化症の発症および進行を促進するが、酸化 LDL が血小板凝集に及ぼす影響は定まった見解がない。本研究では、血小板凝集能測定を行うとともに、血小板活性化マーカーである β -thromboglobulin (β -TG) を測定することによって、酸化 LDL と血小板凝集の関連について検討した。 〔方法〕1) 酸化 LDL の作製：超遠心法で分離した LDL に次亜塩素酸を添加し、酸化 LDL を作製した。酸化 LDL の脂質組成およびアガロースゲル電気泳動パターンを未処理 LDL と比較した。2) 酸化 LDL と血小板凝集能の関係：精製血小板に、LDL、酸化 LDL、緩衝液（対照）を添加し、血小板凝集能を比濁法と散乱光法でモニターした。その後、血小板凝集惹起物質である ADP を添加し、モニターを継続した。3) 酸化 LDL と β -TG 放出の関係：多血小板血漿に LDL、酸化 LDL、緩衝液を添加し、37°C で加温後、経時的に上清中の β -TG を ELISA 法で測定した。酸化 LDL が β -TG の異化・分解に関与しないことを、 β -TG 高値試料の分解試験で確認した。 〔結果・考察〕1) 酸化 LDL：酸化 LDL の蛋白質等の組成は LDL と差が認められないのに対し、見かけ上の LDL-コレステロール測定値は低値傾向だった。また、酸化 LDL のアガロースゲル電気泳動像では、LDL よりも陽極側に 4 本のバンドを認めた。2) 酸化 LDL と血小板凝集能の関係：精製血小板に LDL、酸化 LDL、緩衝液を添加後、比濁法によるモニタリングでわずかな血小板凝集を認めたが、その程度に有意差は認めなかった。続いて ADP 添加により血小板凝集の増加を認めたが、凝集の程度は対照に比べて LDL 添加では低い傾向が、酸化 LDL 添加では有意に低かったため、酸化 LDL が ADP によって惹起される血小板凝集を抑制すると考えた。一方、LDL、酸化 LDL、緩衝液添加後の微弱な血小板凝集を散乱光法でモニターした結果、時間経過に伴った小凝集塊の増加が観察された。緩衝液を添加した場合の最大凝集率を基準とした場合、酸化 LDL 添加では対照と同程度であったが、LDL 添加では対照に比べて最大凝集率が有意に増加した。LDL は血小板の微小凝集を促進するが、次亜塩素酸で高度に酸化された LDL はむしろ抑制に働くことが示唆された。3) 酸化 LDL と β -TG 放出の関係：LDL、酸化 LDL、緩衝液を多血小板血漿に添加し、37°C で 2 分間加温後、上清中の β -TG 濃度を測定した結果、酸化 LDL を添加した場合は他に比べてわずかに高値傾向だった。時間経過に伴い、酸化 LDL 添加では緩やかな β -TG 濃度の上昇を認めたが、緩衝液添加では、その増加傾向が相対的に大きく、加温 15 分後の β -TG 濃度は緩衝液添加で最も高値傾向となった。酸化 LDL は添加 15 分後、対照 や LDL よりも、 β -TG を上昇させない傾向が見られたが、酸化 LDL による β -TG の異化・分解は確認されなかった。 〔結論〕高度に酸化された LDL は in vitro では血小板凝集と β -TG 放出を抑制する。しかし、生体内においては、酸化 LDL と一過性に接触した血小板が活性化し、凝集が促進される可能性は否定できない。	

