

# 高コレステロール血症 Watanabe ウサギにおける 高密度リポタンパク質(HDL)静注の脂質代謝に及ぼす影響

Effects of HDL Injection on Lipid Metabolism in Hypercholesterolemic Watanabe Rabbits

柳田 晃良、四元 博晃、米倉 浩司、浜島 弘史、山本 匡介

Teruyoshi Yanagita, Hiroaki Yotsumoto, Koji Yonekura, Hiroshi Hamajima, Kyosuke Yamamoto

## 論 文

# 高コレステロール血症 Watanabe ウサギにおける 高密度リポタンパク質(HDL)静注の脂質代謝に及ぼす影響

柳田 晃良<sup>1,2,\*</sup>、四元 博晃<sup>1\*</sup>、米倉 浩司<sup>2</sup>、浜島 弘史<sup>1,2</sup>、山本 匡介<sup>3\*\*</sup>

西九州大学健康栄養学部健康栄養学科<sup>1</sup>、佐賀大学農学部生命機能科学科<sup>2</sup>、  
佐賀大学医学部内科（現 高木病院）<sup>3</sup>

（平成27年2月26日受理）

### 和文要旨

遺伝的に動脈硬化症を示す WHHL (Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit) ウサギに高密度リポタンパク質 (HDL) を静注した時の6時間後までのリポタンパク質の代謝変動について検討した。その結果、超低密度リポタンパク質 (VLDL) の構成成分が経時的に減少し、その低下割合は6時間で特に顕著 (コレステロール25%、トリグリセリド50%、リン脂質30%およびタンパク質30%) であった。また低密度リポタンパク質 (LDL) 構成成分も減少 (コレステロール12%、トリグリセリド25%、タンパク質17%) した。その間 HDL 濃度は、静注15分後に静注前値に比べ約2.2倍に増加し、6時間後においても高値 (1.4倍) を維持していた。以上のように、HDL 濃度の上昇がリポタンパク質代謝変動を誘起させることを明らかにした。HDL はアポタンパク質 E 受容体を介した VLDL の肝への取り込み増加とリポタンパク質リパーゼ (LPL) 活性の亢進を誘起している可能性が示唆された。

キーワード：高コレステロール血症、高密度リポタンパク質 (HDL)、脂質代謝

---

\*Corresponding Authors

\*\*現住所 高木病院

## 1 緒 言

冠状動脈硬化症や脳動脈硬化症などの動脈硬化性疾患死亡順位は常に上位を占めている。

脂質代謝異常症は動脈硬化症の主たる危険因子の一つとされており、食事の欧米化に伴う脂質代謝異常症の増加が、わが国における虚血性心疾患（動脈硬化症）増加の原因として重要視されている。脂質代謝異常症は血清の脂質成分、主としてコレステロールやトリグリセリドが正常値以上に上昇した状態として定義される。コレステロールやトリグリセリドといった脂質は、そのままでは水に溶けずコレステロールやトリグリセリドを中心（core）とし、さらにその表面をリン脂質と遊離コレステロール、さらにタンパク質（アポリポタンパク質、アポタンパク質）で覆われた球形の粒子であるリポタンパク質として血中に存在している<sup>1-6)</sup>。

血清リポタンパク質は比重の違いにより、超低密度リポタンパク質（VLDL）、中間密度リポタンパク質（IDL）、低密度リポタンパク質（LDL）、高密度リポタンパク質（HDL）およびキロミクロンに分類される。リポタンパク質のアポタンパク質は、それぞれに固有の機能を有し、血清リポタンパク質の代謝に重要な役割を果たしている<sup>1-6)</sup>。アポタンパク質の機能として、水と水に不溶性の脂質と両方に親和性のあるアポタンパク質が仲立ちして、血中で安定なリポタンパク質として構造を維持する、リポタンパク質の代謝に関与する酵素活性、リポタンパク質リパーゼ（LPL）、肝性リパーゼ（HTGL）、レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ（LCAT）を修飾する、細胞表面に存在するリポタンパク質受容体との結合タンパク質としての作用などがある。動脈硬化に関する多くの研究は、LDL コレステロール値の上昇と動脈硬化性疾患との間に正の相関があり<sup>1-6)</sup>、一方、HDL 濃度と動脈硬化症発生率との間には負の相関がみられ、HDL は抗動脈硬化性リポタンパク質として作用している事が示唆されている<sup>1-6)</sup>。本実験では、遺伝的に動脈硬化症を引き起こす WHHL（Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit）ウサギが低 HDL 血症を呈することに着目し、WHHL ウサギに正常なウサギより調製した HDL の静脈注射（静注）による人為的な HDL 濃度の上昇が、WHHL ウサギのリポタンパク質代謝に及ぼす影響について検討した。本論文では、HDL 投与後短時間（6h）での WHHL ウサギの血清脂質、リポタンパク質およびアポタンパク質に及ぼす短時間の影響について報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 実験動物

WHHL ウサギ（雄、ホモ接合体）は神戸大学の実験動物センターより供与されたものを使用した。飼育は佐賀大学動物飼育センターで行い、それぞれ個別のゲージに入れ水は自動給水、12時間の明暗サイクルの条件で飼育した。静注 HDL は九動株式会社（鳥栖）から購入した雄の日本白色種家ウサギから調製した。動物の飼育および実験に関しては、佐賀大学動物実験委員会の承認を得て機関内規定（佐賀大学動物実験安全管理規則）に従い実施した。

### 2.2 静注 HDL の精製

静注 HDL の調製のため、一晩（約9時間）絶食した日本白色種家ウサギ（体重3kg 前後）にネンブタール注射液を静注（0.4mL/kg）して全身麻酔し、心臓穿刺により採血した。血液は50mL のチューブに集め遠心分離（3,000rpm, 15min, 4℃）し、血清を回収し再度遠心（同上）して、HDL 調製用の血清を得た。次に血清100mL に対し5%EDTA 溶液を1mL 加え、比重をNaBr により1.081（本実験ではLDL の混入を防ぐために通常の比重溶液（ $d=1.063$ ）ではなく高比重溶液（ $d=1.081$ ）で分画した）に合わせ、超遠心（39,000rpm, 24hrs, 15℃, ローター・Beckman45Ti）し上清を乱さないようにパスツールピペットで吸引した。この層にはVLDL、IDL およびLDL が含まれていた。次に下層の比重をNaBr で1.21に合わせ同条件で超遠心した。上層（HDL 画分）を回収後、再度超遠心し精製 HDL を得た。HDL は生理食塩水に対して48時間透析し（4回生理食塩水を交換した）十分に脱塩した。脱塩した HDL は、濾過滅菌のため0.45 $\mu$ m の filter（Millipore 社）に通したのち、N<sub>2</sub> を封入して実験まで4℃ で保存した。また精製 HDL の純度は SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動、密度勾配ポリアクリルアミドゲル電気泳動により確認した。

### 2.3 HDL の静注と採血

WHHL ウサギは一夜絶食（12時間）して実験に用いた。HDL は濾過滅菌し耳の静脈より注射した。HDL 静注前と静注15分、1、3および6時間後に耳の血管よりシリンジ（ヘパリン含有）で採血し、遠心（3,000rpm, 15min, 4℃）して血漿を得た。血漿は測定まで4℃ に保存した。また、採血は一夜絶食後の早朝とした。

### 2.4 血清脂質とタンパク質の測定法

血清 HDL コレステロール、総コレステロール、トリグリセリドおよびリン脂質濃度は酵素法により定量した。HDL コレステロール；ヘパリン・マンガン結合沈

殿法<sup>7)</sup>、総コレステロール；コレステロールオキシダーゼ・DAOS法<sup>8)</sup>、トリグリセリド；GPO DAOS法<sup>9)</sup>の定量試薬 (Kit) は和光純薬工業株式会社より購入した。リン脂質；ピーエルダーゼ「ニッスイ」<sup>10)</sup>は日水製薬株式会社より購入した。タンパク質は Smith らの方法<sup>11)</sup>に準じて定量した。

## 2.5 リポタンパク質の分画法

リポタンパク質の分画は Havel らの段階的分画浮上法<sup>12)</sup>により行った。血漿 (比重 1.006) 1 mL を比重 1.006 の溶液で 5 mL にし、Beckman 403 回転器で超遠心 (39,000rpm, 24hrs, 15 ) し、チューブスライサー (Beckman 社) を用いて上清 1 mL を切断した。この層には VLDL が含有した。上清を 5 mL のメスシリンダーにとり容量を測り体積を補正した。下層の体積も測り 1 mL に対し 22mg の NaCl を加え比重を 1.019 に上げ、比重 1.019 の溶液で 5 mL にして超遠心 (同上) して LDL 画分を得た。以下同操作を行い順次比重をあげていくことにより LDL ( $d < 1.063$ )、HDL ( $d < 1.21$ ) 画分を回収した。

## 2.6 アガロースゲル電気泳動

2.3 で経時的に採血した血液をアガロースゲル電気泳動によりリポタンパク質を分離した。リポタンパク質粒子の負電荷は LDL、VLDL、HDL の順に増加するために  $\beta$ 、pre $\beta$ 、 $\alpha$  リポタンパク質の順に泳動された。アガロースゲルは Ciba Corning Agarose Universal Electrophoresis film を使用し、泳動槽は Ciba Corning 社のアガロース電気泳動システムを使用した。試料 (血漿) を試料溝に 5  $\mu$ L 入れ、90V で 45 分間泳動させた。泳動緩衝液は 0.05M バルビタール緩衝液 (pH 8.6) を用いた。泳動終了後にゲルをドライヤーで徐々に乾燥し、Fat Red 7B 液 (0.225g/L メタノール) で脂質染色 (15 分間) し、脱色 (メタノール 75%、水 25% 混液、1 分間) した。脱色後、再びゲルを乾燥させ 500nm でデンストメーターにかけた。

## 2.7 アポタンパク質 B と E の測定

アポタンパク質 B と E の測定は、ロケット免疫抗体法<sup>13)</sup>で行った。まず 1% アガロースゲルを加温融解し、ゲルの濃度が 50 まで低下したところで、抗ウサギアポ B ヒツジ血清 (九州大学第一病理学研究室より供与) あるいは抗ウサギアポ E ヒツジ血清抗体 (第一製薬研究所) を添加し泡がたたないように混和後、水平台上においたゲルボンド上に流して一定の厚さの抗体含有アガロースゲルを作製した。ゲルが凝固した後、試料用の穴を開けそれぞれの穴に標準血清および検体を 3  $\mu$ L 入れた。泳動緩衝液には 0.02M バルビタール緩衝液 (pH 8.6)

を使用し 100V、16 時間泳動した。加熱を防ぐために装置は 15 の冷却水を循環させた。泳動終了後、ゲルを乾燥させ 0.5% アミドブラック 10B (エタノール 45%、酢酸 10%) で 5 分間染色した後、脱色 (エタノール 45%、酢酸 10%、5 分) した。乾燥後、検量線の高さを測り、濃度を算出した。

## 2.8 SDS ポリアクリルアミドゲル (SDS PAGE) 電気泳動

2.5 で分画した各リポタンパク質中のアポタンパク質の解析は、Laemmli<sup>14)</sup>の方法に準じて SDS PAGE で行った。タンパク質量として 100  $\mu$ g 前後の各リポタンパク質画分を 5 mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  で透析し十分に脱塩し、凍結乾燥後 0.0625M Tris HCl 緩衝液 (pH 8.6) に溶解した。これに 5% 容の 2-メルカプトエタノールを加え 100 で 5 分間インキュベートした。次に 50% シュクロース、0.01% プロモフェノールブルー液 25% 容を加えゲルに添加した。分離用ゲルは 10% のアクリルアミド濃度を調製した。試料をゲルに添加後 40mA の定電流で泳動を行いプロモフェノールブルーがゲル下端より 1 cm に達したとき泳動を終了した。染色は 0.03% クマシーブリリアントブルー R 250、10% 酢酸、25% メタノール (v/v) で行い、脱色は 10% 酢酸溶液で行った。ホスホリパーゼ b (94,000)、アルブミン (67,000)、オボアルブミン (43,000)、炭酸脱水素酵素 (30,000)、トリプシン阻害剤 (30,100) および  $\alpha$  ラクトアルブミン (14,400) を含むファルマシア社の Low Molecular Weight (LMW) Calibration Kit を分子量マーカーとして用いた。

## 2.9 Gradient gel 電気泳動

2.5 で分画したリポタンパク質の HDL 静注後の経時的な粒子サイズ (分子量) の変化を Gradient gel 電気泳動により解析した。ゲルはファルマシア社の Gradient gel を用いた。VLDL と IDL および LDL 画分は 2 ~ 16% の勾配を、HDL 画分には 4 ~ 30% の勾配のゲルを用いた。それぞれのゲルは分子量 10 万 ~ 500 万と 5 万 ~ 200 万の範囲で検出可能である。試料 (リポタンパク質) は 5 mM  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  で十分に脱塩し、1 レーン当たりタンパク質量として 100  $\mu$ g 前後を泳動した。試料はシュクロースにより比重をつけプロモフェノールブルーで着色した。泳動槽はファルマシア社の CE 2 を使用し、泳動緩衝液には 0.09M Tris、0.08M ホウ酸、 $\text{Na}_2\text{EDTA}$  0.93g/L (pH 8.4) を使用した。試料を添加する前に 70V で 20 分間通電してゲルを平衡化し、試料を添加後試料がゲルの中に入るまで再び 70V で 20 分間泳動した。試料がゲルの中に入ったことを確認し、125V で 24 時間泳動した。泳動終了後 0.1% クマシーブリリアントブルー R 250 (メタノール : 酢酸 : 水、25 : 10 : 65, v/v) で染色し、次に脱色

(メタノール：酢酸、25：10、v/v)した。スタンダードにはファルマシア社の High Molecular Weight (HMV) Calibration Kit (分子量マーカーとしてチログロブリン (669,000)、フェリチン (440,000)、カタラーゼ (232,000)、乳酸脱水素酵素 (140,000) およびアルブミン (67,000) を含む) を使用した。

## 2.10 統計分析

実験によって得られたデータは、one-way ANOVA および Tukey-Kramer post hoc test を用いて統計処理した。

## 3 実験結果

### 3.1 静注 HDL の組成

調製した静注 HDL の脂質濃度とタンパク質濃度を Table 1 に示した。静注 HDL の SDS PAGE と Gradient PAGE 像を Fig. 1、2 に示した。Gradient PAGE から静注 HDL の分子量は  $0.15 \sim 0.4 \times 10^6$  と推定され、他のタンパク質の混入は少なく高純度であることが確認された。SDS PAGE により HDL の主要アポタンパク質であるアポタンパク質 A 1 が確認され、他にアポタンパク質 E、アルブミンの存在も確認できた。デンストメーターにより、その割合はそれぞれ44%、3.7%および6.7%であり、静注 HDL 10mL 中にアポタンパク質 A 1 ; 42 mg、アポタンパク質 E ; 3.5mg、アルブミン ; 6.4mg を含んでいると推察された。

### 3.2 血清脂質濃度の経時的変動

Fig. 3 に HDL 静注24時間までの総コレステロール、HDL コレステロール、トリグリセリド、リン脂質およびタンパク質の変動を示した。それぞれのウサギの HDL 静注前の値を100%として統計処理を行った。HDL コレステロール濃度は、静注前値 (平均12.66mg/dL) に比べ、静注15分後に27.50mg/dL と約2.2倍に増加した ( $P < 0.01$ )。その後時間依存的に減少傾向を示したが、6時間後においても静注前に比べると高い値 (約1.4倍)

Table 1. Concentrations of total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, phospholipid and protein in injected HDL.

	(mg/10mL HDL)
Total-cholesterol	20.3
HDL-Cholesterol	15.6
Triglyceride	13.8
Phospholipid	30.5
Protein	95.0

柳田晃良、他4名

HDL injected to WHHL rabbits was prepared from serum of Japanese white rabbits by ultra centrifugation. The concentrations of lipids and protein in HDL preparation were measured as described in Materials and Methods.

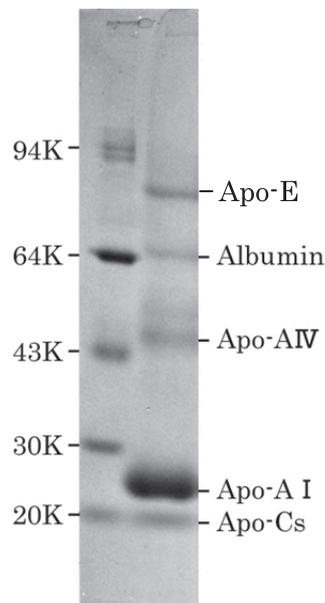


Fig. 1 SDS-PAGE of injected HDL.

HDL injected to WHHL rabbits was prepared from Japanese white rabbits. SDS-PAGE of the prepared HDL was analyzed as described in Materials and Methods.

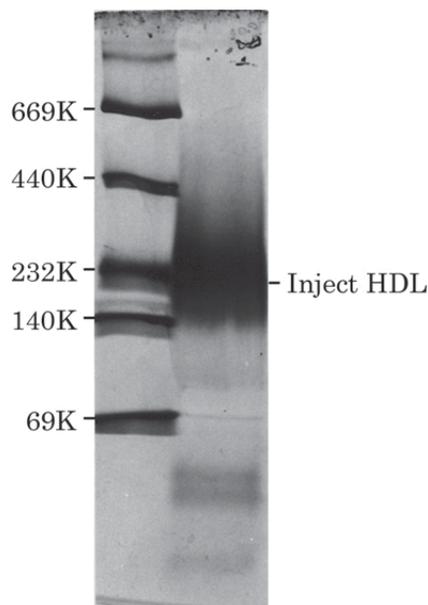


Fig. 2 Gradient gel patterns of injected HDL.

HDL injected to WHHL rabbits was prepared from Japanese white rabbits. Gradient gel patterns of the prepared HDL were analyzed as described in Materials and Methods. See also Fig 1.

を維持していた。一方、総コレステロール濃度は、静注前と比較して3および6時間後においては約8%の減少を認めたが、統計的には有意な変動ではなかった。トリグリセリド濃度は静注6時間後に約16%減少した。リン脂質濃度は3時間後において有意に10%減少していた。

### 3.3 リポタンパク質中の脂質およびタンパク質濃度の経時的変動

HDL 静注後24時間までの VLDL、IDL、LDL および HDL 画分におけるコレステロール、トリグリセリド、

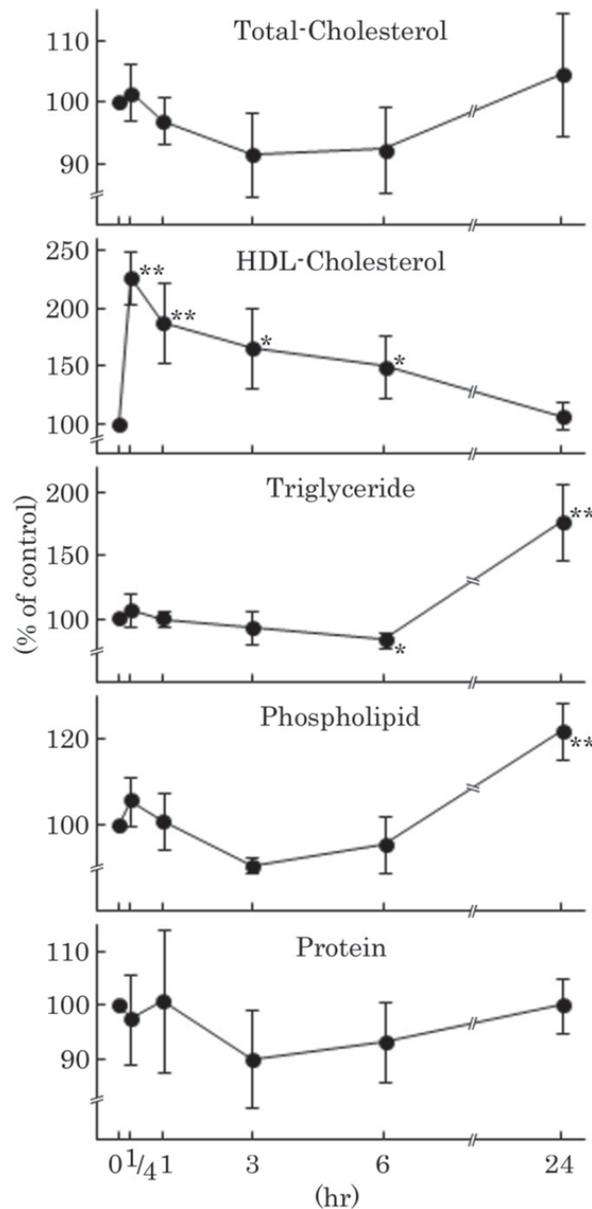


Fig. 3 Percentage change of serum lipids and protein after HDL injection into WHHL rabbits. WHHL rabbits were fasted over night (12 h) and then HDL preparation was intravenously injected via an ear. Blood samples of WHHL rabbits were collected before (0 h) and after injection of HDL (1/4, 1, 3, 6 and 24 h). Values are the means  $\pm$  SD of 3 samples. \*, \*\*, Differ significantly from the control at  $p < 0.10$  and  $p < 0.05$ , respectively.

リン脂質およびタンパク質濃度の変化を Fig. 4、5 に示した。HDL 静注後、VLDL 画分の各成分は6時間まで経時的に減少した。6時間後での低下は特に顕著であり、その低下割合はコレステロール25%、トリグリセリド50%、リン脂質30%およびタンパク質30%であった。これら VLDL の減少は、Gradient gel 電気泳動の結果も支持した（データは示さない）。IDL 画分においては、各成分静注後一旦増加したが、その後6時間後まで有意な変動は認められなかった。LDL 画分では各成分とも6時間後までリン脂質を除き有意に減少（コレステロール12%、トリグリセリド25%、タンパク質17%）していた。HDL 画分ではトリグリセリド以外の成分は静注直後に約3倍まで増加した。その後漸減したが、それらの

値は6時間後でも静注前の約2倍の値を維持した。

### 3.4 アポタンパク質BおよびEの変動

アポタンパク質BとEの変動を Fig. 6 に示した。アポタンパク質BはHDL静注3時間後まで、アポタンパク質Eは6時間後まで減少傾向を示した。アポタンパク質B、EはともにVLDLの構成アポタンパク質であり、これらのアポタンパク質の減少はVLDLの減少と関連していた。

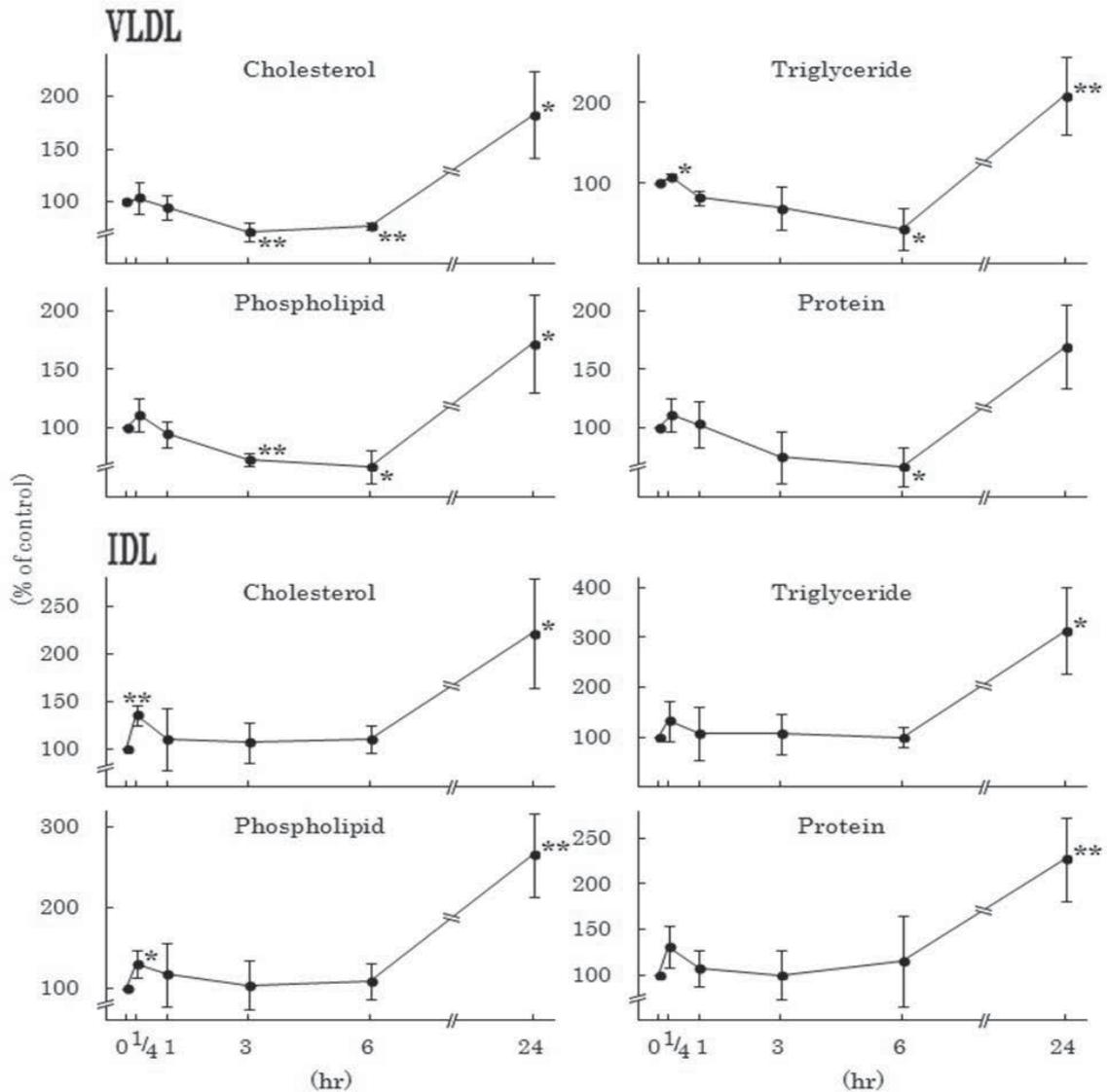


Fig. 4 Percentage change of VLDL and IDL components after HDL injection into WHHL rabbits. WHHL rabbits were fasted over night (12 h) and then HDL preparation was intravenously injected via an ear. Blood samples of WHHL rabbits were collected before (0 h) and after injection of HDL (1/4, 1, 3, 6 and 24 h). Values are the means  $\pm$  SD of 3 samples. \*, \*\*, Differ significantly from the control at  $p < 0.10$  and  $p < 0.05$ , respectively.

## 4 考 察

本実験から、正常ウサギより調製した HDL を WHHL ウサギに静注することにより、リポタンパク質代謝が顕著に変動することが認められた。すなわち、HDL 静注後に VLDL と LDL 成分の有意な減少が誘起された。この VLDL 低下の原因として 2 つの機序、リポタンパク質リパーゼ (LPL) 活性の亢進による VLDL 異化の亢進および、アポタンパク質 E 受容体を介した VLDL の肝臓への取り込みの増加が推察された。

通常、VLDL の異化代謝には LPL が関与する。LPL は分子量約 6 万の糖タンパク質で、脂肪組織、乳腺組織および心筋において合成<sup>15-17)</sup>され、血管内皮細胞表面のヘパラン硫酸と結合し、血流中のリポタンパク質と接触している<sup>18-20)</sup>。また、LPL の活性化にはアポタンパク質

C を必要とする<sup>21)</sup>。LPL は VLDL 中のトリグリセリドを水解し IDL を生成する<sup>22-24)</sup>。別の実験で、HDL 静注後に LPL 活性は高値を示すことから、VLDL の異化代謝の亢進を示唆する。

HDL は、アポタンパク質 C とアポタンパク質 E の VLDL への供与体として働いていることが知られている。肝臓には LDL (アポタンパク質 B) 受容体の他にアポタンパク質 E を結合タンパク質とする受容体が存在しており、LDL 受容体を欠損している WHHL ウサギでもアポタンパク質 E 受容体は正常に機能していることが報告されている<sup>25)</sup>。WHHL ウサギにアポタンパク質 E を静注することで、肝臓への VLDL の取り込みが亢進することや、血中コレステロールレベルが低下することが報告されている<sup>26,27)</sup>。

本実験において、HDL 静注による LDL および VLDL

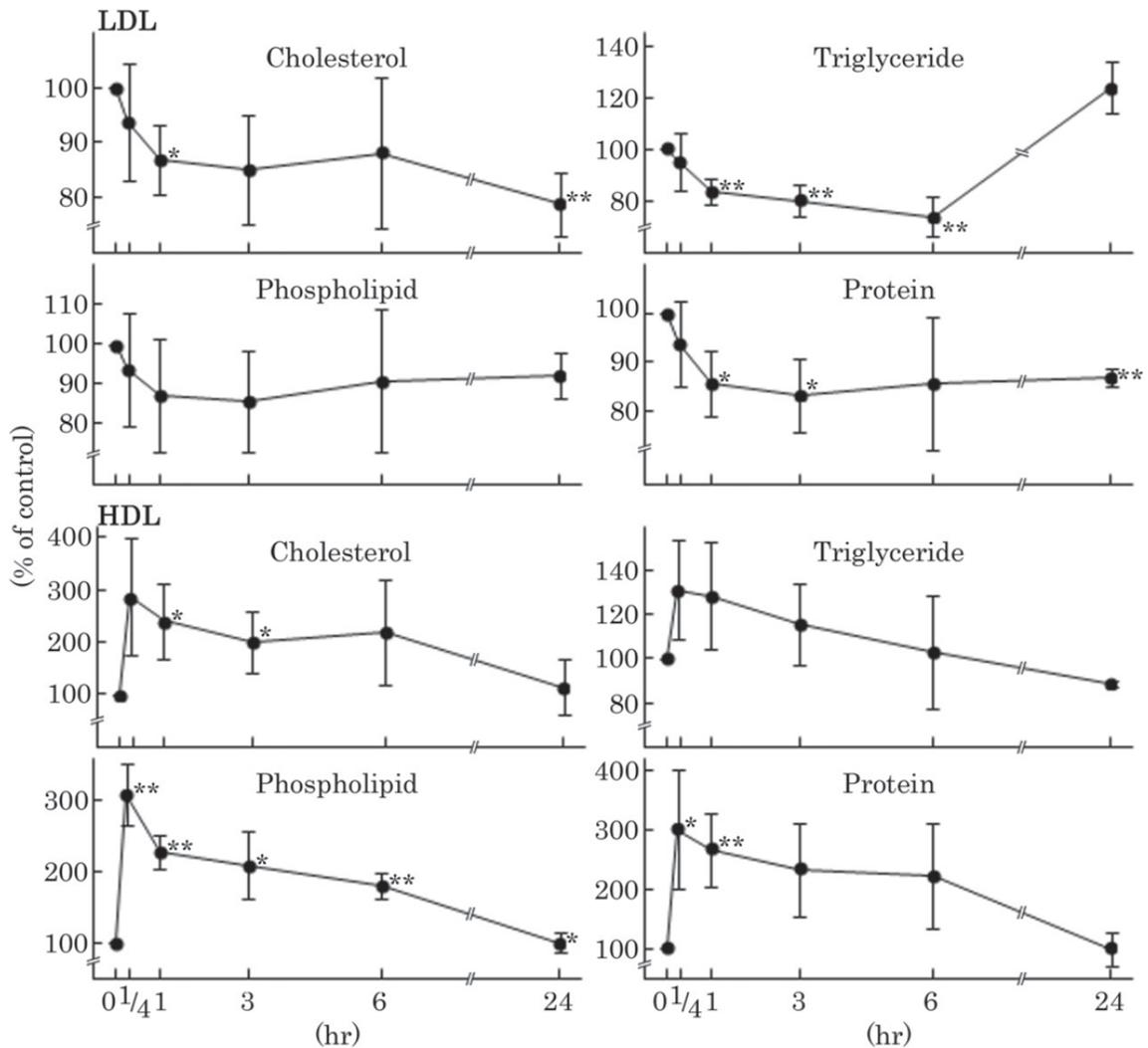


Fig. 5 Percentage change of LDL and HDL components after HDL injection into WHHL rabbits. WHHL rabbits were fasted over night (12 h) and then HDL preparation was intravenously injected via an ear. Blood samples of WHHL rabbits were collected before (0 h) and after injection of HDL (1/4, 1, 3, 6 and 24 h). Values are the means  $\pm$  SD of 3 samples. \*, \*\*, Differ significantly from the control at  $p < 0.10$  and  $p < 0.05$ , respectively.

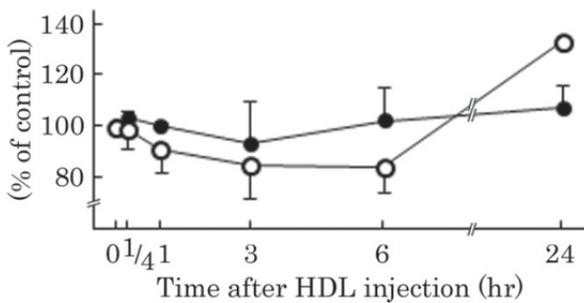


Fig. 6 Change of apoB and apoE levels after HDL injection into WHHL rabbits. ( apoB, apoE)

WHHL rabbits were fasted over night (12 h) and then HDL preparation was intravenously injected via an ear. Blood samples of WHHL rabbits were collected before (0 h) and after injection of HDL (1/4, 1, 3, 6 and 24 h). Values are the means  $\pm$  SD of 3 samples. \*, \*\*, Differ significantly from the control at  $p < 0.10$  and  $p < 0.05$ , respectively.

の低下の機序として、LPL 活性が上昇し VLDL の水解が亢進する可能性と、アポタンパク質 E の HDL から VLDL への受け渡しにより、アポタンパク質 E 受容体への親和性が高まり、肝臓への取り込みが増加している可能性が考えられる。しかしながら、本実験で静注した HDL 中のアポタンパク質 E 量はウサギ血漿中アポタンパク質 E 量に比べて極めて少量 (約40分の1) であり、他の要因も考えられる。

6時間までの LDL の減少の機序として、肝臓への取り込みの増加あるいは IDL から LDL への異化の阻害の可能性が考えられた。しかし、IDL から LDL への異化障害が存在すれば、IDL 画分中の脂質・アポタンパク質の増加を伴うものと想像されるが、今回の実験ではそれらの増加は観察されず、この可能性は否定された。通常、LDL の約70%は肝臓の LDL 受容体により取り込まれるが、本実験に使用した WHHL ウサギは遺伝的に LDL 受容体を欠損しており<sup>28)</sup>、LDL は肝臓に取り込まれず血中

に停滞し高コレステロール血症を呈している。しかしながら、WHHL ウサギは LDL 受容体を完全に欠損しているのではなく約 5% 発現しており、さらに妊娠期においては LDL 受容体が増加する<sup>29)</sup>ことも報告されていることから、HDL 静注によって LDL 受容体活性の亢進あるいは発現の増加の可能性も考えられた。

我々は、HDL 静注により LPL および HTGL 活性上昇を示唆する結果を得ている。したがって、LDL の減少には LDL 受容体を介した LDL 代謝亢進が、VLDL の減少には LPL 活性亢進の関与が示唆される。今後、HDL の脂質代謝異常と動脈硬化症の予防・改善についてさらに検討する予定である。

## 5 参考文献

- 1) E.J. Schaefer, P. Anthanont, B. F. Asztalos: *Curr. Opin. Lipidol.*, **25**, 194 (2014)
- 2) M. Barylski, P. P. Toth, D. Nikolic, M. Banach, M. Rizzo, G. Montalto: *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol Metab.*, **28**, 453 (2014)
- 3) R. Birner Gruenberger, M. Schittmayer, M. Holzer, G. Marsche: *Prog. Lipid Res.*, **56C**, 36 (2014)
- 4) R. C. Maranhao, F. R. Freitas: *Adv. Clin. Chem.*, **65**, 1 (2014)
- 5) B. H. Subedi, P. H. Joshi, S. R. Jones, S. S. Martin, M. J. Blaha, E. D. Michos: *Vasc. Health Risk Manag.*, **10**, 205 (2014)
- 6) B. A. Kingwell, M. J. Chapman, A. Kontush, N. E. Miller: *Nat. Rev. Drug Discov.*, **13**, 445 (2014)
- 7) M. Burstein, H. R. Scholnick, R. Morfin: *J Lipid Res.*, **11**, 583 (1970)
- 8) C. C. Allain, L. S. Poon, C. S. Chan, W. Richmond, P. C. Fu: *Clin Chem.*, **20**, 470 (1974)
- 9) 仁科甫啓: 臨床検査、22、1304 (1978)
- 10) 山中学、熊原雄一: “臨床検査診断学”、p 600 (1976) (医学書院)
- 11) P. K. Smith, R. I. Krohn, G. T. Hermanson, A. K. Mallia, F. H. Gartner, M. D. Provenzano, E. K. Fujimoto, N. M. Goeke, B. J. Olson, D. C. Klenk: *Anal Biochem.*, **150**, 79 (1985)
- 12) R. J. Havel, H. A. Eder, J. H. Bragdon: *J Clin Invest.*, **34**, 1345 (1955)
- 13) 古賀俊逸、平山千里、井林博: 生物物理化学、19、151 (1975)
- 14) U. K. Laemmli: *Nature*, **227**, 680, (1970)
- 15) I. Ramasamy: *Clin. Chem Lab. Med.*, **52**, 1695 (2014)
- 16) S. Kersten: *Biochem. Biophys. Acta.*, **1841**, 919 (2014)
- 17) T. Olivecrona, S. S. Chernick, G. Bengtsson Olivecrona, M. Garrison, R. O. Scow: *J Biol Chem.*, **262**, 10748 (1987)
- 18) K. Shimada, P. J. Gill, J. E. Silbert, W. H. Douglas, B. L. Fanburg: *J Clin Invest.*, **68**, 995 (1981)
- 19) C. F. Cheng, G. M. Oosta, A. Bensadoun, R. D. Rosenberg: *J Biol Chem.*, **256**, 12893 (1981)
- 20) M. P. Williams, H. B. Streeter, F. S. Wusteman, A. Cryer: *Biochim Biophys Acta.*, **756**, 83 (1983)
- 21) J. C. LaRosa, R. I. Levy, P. Herbert, S. E. Lux, D. S. Fredrickson: *Biochem Biophys Res Commun.*, **41**, 57 (1970)
- 22) J. Augustin, H. Greten: *Atherosclerosis Reviews*, **5**, 91 (1979)
- 23) R. J. Deckelbaum, S. Eisenberg, M. Fainaru, Y. Barenholz, T. Olivecrona: *J Biol Chem.*, **254**, 6079 (1979)
- 24) S. Eisenberg, T. Olivecrona: *J Lipid Res.*, **20**, 614 (1979)
- 25) T. Kita, J. L. Goldstein, M. S. Brown, Y. Watanabe, C. A. Hornick, R. J. Havel: *Proc Natl Acad Sci USA.*, **79**, 3623 (1982)
- 26) N. Yamada, H. Shimano, H. Mokuno, S. Ishibashi, T. Gotohda, M. Kawakami, Y. Watanabe, Y. Akanuma, T. Murase, F. Takaku: *Proc Natl Acad Sci USA.*, **86**, 665 (1989)
- 27) R. W. Mahley, K. H. Weisgraber, M. M. Hussain, B. Greenman, M. Fisher, T. Vogel, M. Gorecki: *J Clin Invest.*, **83**, 2125 (1989)
- 28) D. W. Bilheimer, Y. Watanabe, T. Kita: *Proc Natl Acad Sci USA.*, **79**, 3305 (1982)
- 29) M. Shiomi, T. Ito, Y. Watanabe: *Biochim Biophys Acta.*, **917**, 92, (1987)

## Effects of HDL Injection on Lipid Metabolism in Hypercholesterolemic Watanabe Rabbits

Teruyoshi Yanagita<sup>1 2\*</sup>, Hiroaki Yotsumoto<sup>1\*</sup>, Koji Yonekura<sup>2</sup>, Hiroshi Hamajima<sup>1 2</sup>, Kyosuke Yamamoto<sup>3\*\*</sup>

<sup>1</sup>*Department of Health and Nutrition Sciences, Faculty of Health and Nutrition Sciences, Nishikyushu University*

<sup>2</sup>*Department of Applied Biochemistry and Food Science, Saga University*

<sup>3</sup>*Department of Internal Medicine, Saga University ( Takagi Hospital )*

( Accepted: February 26 , 2015 )

### Abstract

HDL plays a key role in protecting against heart disease via their role in reverse cholesterol transport, or the transport of excess cholesterol out of the body. However, it is scarce the information how does HDL injection via blood stream affect lipoprotein metabolism. The present study was investigated the effect of HDL injection on lipoprotein metabolism in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits (WHHL), a model animal to induce hyperlipidemia and atherosclerosis. HDL injection resulted in the decrease of VLDL components; plasma concentrations of cholesterol, triglyceride, phospholipid and protein reduced 12%, 25%, 30% and 17%, respectively at 6 hrs after HDL injection. Similar reduction of LDL components was also demonstrated after HDL injection. On the other hand, HDL injection resulted to increase of plasma HDL concentration 2.2 folds after 15 min and 1.4 folds after 6 hrs. The present study demonstrated that HDL injection induces to alter lipoprotein metabolism of hypercholesterolemic rabbits.

Key words : Hypercholesterolemia, High density lipoprotein (HDL), Lipid metabolism