

# HDL-Cholesterol 測定法に関する基礎的検討

慶応大学・中央臨床検査部・臨床化学 加野 象次郎  
塚本 秀子

虚血性心疾患の負の危険因子としてHDL-Cholesterol (HDL-C) の意義は高く、本心身障害研究においても重要な測定対象となっている。しかしながら、その測定法には各種のものがあり、それぞれの研究機関において異なる測定法が採用されているため、地域差等を見る疫学調査においては測定法の差異が著しく影響し、目標とする因子の把握ができないなどの問題を生じている。このため、測定法の標準化が望まれているのが現状である。

本研究においては、そのような標準化への一つのアプローチとして、HDL-C 測定法のなかで現在最もひろく用いられている各種の沈澱分画法につき、基礎的検討を行った。検討対象の沈澱分画法としては、Heparin-Mn 法 (He-Mn 法)、Dextran sulfate-Mg 法 (DS-Mg法)、Heparin-Ca, Ni 法 (He-Ca, Ni 法)、Phosphotungstate-Mg 法 (PT-Mg 法) の4法である。

[結果]

I. HDL の分離における沈澱法の問題点

1) LDL, VLDL が十分に沈澱しているか

高 Cholesterol (TC) 血清, 高 Triglyceride (TG) 血清について、各種沈澱分画法により得られた上清中に LDL がどの程度残存しているかを、抗  $\beta$ -リポ蛋白 抗血清に対する交叉免疫電気泳動法にて確認した (表1)。

表 1

Presence of  $\beta$ -lipoprotein in supernatant obtained by various precipitation methods for lipidemic sera

Case No.	Total cholesterol	Triglycerides	Heparin Mn	Dextran sulfate Mg	Phosphotungstate Mg	Heparin Ca, Ni
1	255	841	++	-*	-*	-
2	552	784	++	±	-*	-
3	258	714	++	±	+	-
4	335	568	++	±	±	-
5	228	418	±	+	-	-
6	213	350	-	+	-	-
7	900	80	n.t.	-	-	-
8	415	140	n.t.	-	-	-

$\beta$ -lipoprotein was tested by immunoelectrosyneresis  
\* a creamy layer of lipids was floating then the lower layer was tested

TC については 900 mg/dl の高値血清までいずれの分画法に対しても影響はなかったが、400 mg/dl 以上の高 TG 血清では、He-Ca, Ni 法を除く3者の分画法で、上清中に  $\beta$ -リポ蛋白が検出された。その程度が最も著しかった He-Mn 法につき、LDL と VLDL を十分に沈澱させるに要する  $MnCl_2$  と Heparin の至適濃度を検討したところ、NIH の指示する濃度 (46 mM, 184 U/ml) では不足であり、それぞれ 100 mM, 400 U/ml が必要であった。

2) HDL が余分に沈澱していないか

血清を平衡密度勾配遠心法により比重の差に応じて分画し、その各分画につき TC と、沈澱試薬 (PT-Mg 法) を加えて得られた上清の TC の2者を測定した (図1)。2種の血清のいずれについても、PT-Mg 法では HDL 分画の 70~80% の TC しか上清に回収されず、HDL-C のうち残り 20~30% は余分に沈澱していることが判明した。

II. HDL-C 測定における TC 測定法の問題点——酵素法の適用が可能か

He-Mn 法の沈澱分画法で TC 測定系に酵素法を適用すると濁りが生ずるため、酵素法は使用できないとさきでいた。しかし、この濁りの現象は、酵素試薬のリン

Distribution of Precipitated and Non-precipitated Cholesterol obtained by Phosphotungstate-Mg Precipitation Treatment (Equilibrium Density Gradient Ultracentrifugation)

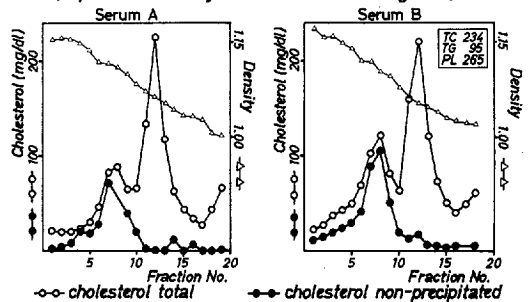


図 1

**Addition of EDTA in Cholesterol Reagent to Eliminate the Disturbances by MnCl<sub>2</sub>**

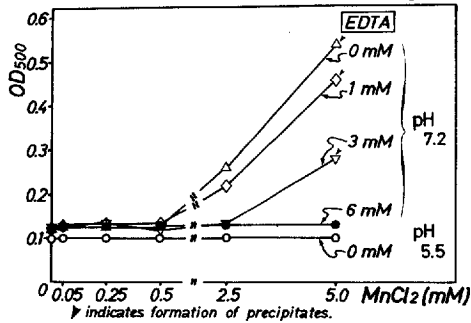


図 2

酸緩衝液の pH が 6.0 以上の条件でのみみられ、しかも、MnCl<sub>2</sub> とリン酸緩衝液の混合によって再現されることから、Mn イオンとリン酸による塩生成の可能性が考えられた。そこで、pH 7.2 の TC 測定用酵素試薬に EDTA を添加し Mn による濁りの除去を試みたところ、終濃度 6 mM の EDTA の添加で充分であった (図 2)。

III. 異なる測定法間の相関関係

PT-Mg 法に対して、He-Mn 法、DS-Mg 法、He-Ca Ni 法及び電気泳動分画法の相関図を図 3 に示した。図中黒丸は TG 400 mg/dl 以上の血清であり、これらは相関係数及び回帰式の計算から除外した。

**Correlation among various Methods for HDL-Cholesterol Determination**

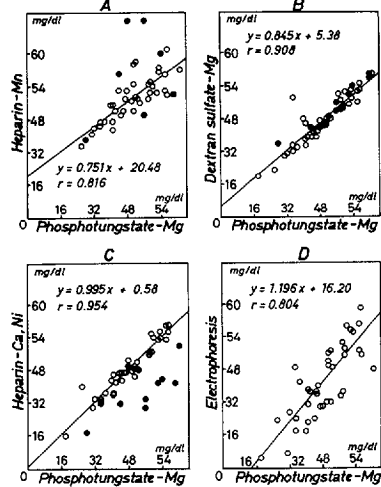


図 3

〔結 語〕

1) He-Mn 法、DS-Mg 法、PT-Mg 法では高 TG 血清の場合、血清の希釈を要する。2) He-Mn 法での TC 測定酵素試薬には 6 mM の EDTA を添加すべきである。3) 沈澱分画法が HDL-C を過不足なく測定しているか否かについては、今後充分な検討を要する。

**HDL コレステロール各種定量法の検討**

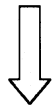
—各定量法間の相関と微量超遠沈法の精度について—

福岡市立こども病院 本 田 恵  
 同 中 検 浜 田 茂 太  
 仁 田 坂 勝 己  
 伊 原 徹

我々は、過去、冠状動脈壁の脂質沈着の有無とその area involvement と年齢の関係並びに area involvement と血清総コレステロール値との相関を報告し (昭和 52 年度)、次いで、家族性高脂血症 IIa の型の一小児例の冠状動脈造影所見と心電図所見の相関を検討 (昭和 53 年度) し、小児期にも冠状動脈への脂質沈着がかなり

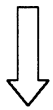
高度に認められ、それによる虚血性変化がおこる危険性があること、並びに、それらの変化が血清コレステロール値と相関があることを報告してきた。

ところで、動脈硬化には、血清総コレステロール値そのものより、VLDL、LDL、HDL コレステロールの絶対量あるいは比率が重要な関係を持つことは広く知られ



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



虚血性心疾患の負の危険因子として HDL-Cholesterol (HDL-C) の意義は高く、本心身障害研究においても重要な測定対象となっている。しかしながら、その測定法には各種のものがあり、それぞれの研究機関において異なる測定法が採用されているため、地域差等をみる疫学調査においては測定法の差異が著しく影響し、目標とする因子の把握ができないなどの問題を生じている。このため、測定法の標準化が望まれているのが現状である。本研究においては、そのような標準化への一つのアプローチとして、HDL-C 測定法のなかで現在最もひろく用いられている各種の沈澱分画法につき、基礎的検討を行った。検討対象の沈澱分画法としては、Heparin-Mn 法(He-Mn 法)、Dextran sulfatc-Mg 法(DS-Mg 法)、Heparin-Ca, Ni 法(He-Ca, Ni 法)、Phosphotungstatc-Mg 法(PT・Mg 法)の4法である。