

肝硬變症 患者의 血清 High Density Lipoprotein 分割中 各種 脂質과 Apoprotein 의 變動*

啓明大學校 醫科大學 皮膚科學教室

朴 義 守 · 宋 浩 榮

慶北大學校 醫科大學 生化學教室

鄭 泰 浩

=Abstract=

Changes in Lipids and Apoprotein Moieties of Serum High Density Lipoprotein in-Patients with Liver Cirrhosis

Eui Soo Park, Joon Young Song

*Department of Dermatology, Keimyung University
School of Medicine, Taegu, Korea*

Tai Ho Chung

*Department of Biochemistry, Kyungpook National University
School of Medicine, Taegu, Korea*

Levels of high density lipoprotein (HDL) cholesterol, HDL-triglycerides and HDL-phospholipids were determined after elimination of low density and very low density lipoproteins by sodium phosphotungstate-Mg precipitation procedure in patients with liver cirrhosis. Free cholesterol and individual cholestryl esters in HDL fractions were measured by high pressure liquid chromatographic method. For analysis of apoproteins, HDL fractions were obtained through ultracentrifugation and apoproteins were analyzed by high pressure liquid chromatography with gel permeation column.

Concentrations of HDL-cholesterol and HDL-triglycerides in patients with liver cirrhosis were significantly decreased compared with those of controls, while HDL-phospholipids showed no significant differences. Free cholesterol per total cholesterol ratios in HDL fraction of patients with liver cirrhosis were significantly raised, while cholestryl linoleate per cholestryl oleate ratios in HDL fractions were significantly lower than those of control subjects. Apoprotein A-I in HDL fractions was decreased in patients with liver cirrhosis, while apoprotein A-II showed unremarkable change.

* 본 논문은 1985년도 계명대학교 동·산의료원 임상연구 보조비로 이루어졌음.
* 본 논문은 박의수의 박사학위 논문임.

서 론

혈청 중의 high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) 함량의 저하는 관상동맥경화증의 조기발생과 유관하다는 것이 밝혀져 있으며¹⁻⁴⁾ 혈청 중의 HDL-C 함량이 비교적 높은 인구에서는 평균 수명이 연장됨이 관찰되어 있다⁵⁾. 혈청 high density lipoprotein(HDL)은 말초조직의 과다한 cholesterol 을 간으로 운반하여 담즙으로 배설시키거나 재활용시켜 조직내의 cholesterol 축적을 저지시키는 기능이 있으며⁶⁾ HDL의 표면에 존재하는 lecithin-cholesterol acyl transferase(LCAT)는 cholesterol과 지방산의 esterification 과정을 촉매한다고 한다⁷⁾. HDL은 very low density lipoprotein (VLDL)이나 low density lipoprotein(LDL)과 같이 중심부는 소수성인 triglycerides와 cholesterol ester로 이루어져 있으며 표면에는 친수성인 phospholipids와 단백질로 구성되어 있다⁸⁾. HDL 중의 단백질은 45~55%로서 이를 단백질중 80~90%는 apoprotein A-I과 apoprotein A-II로 구성되어 있으며 소량의 apoprotein C, apoprotein E 및 apoprotein A-IV가 존재한다고 한다⁹⁾. Apoprotein A-I은 free cholesterol에 long chain fatty acid를 연결하여 cholesteryl ester를 형성케 하는 화학반응을 촉매하는 LCAT의 cofactor로 작용하며 apoprotein A-II는 apoprotein A-I의 존재하에서만 LCAT의 작용에 영향을 준다고 한다^{10,11)}. Ishikawa 등¹²⁾은 심근경색증환자 및 말초혈관경화증을 가진 환자에서 혈청 apoprotein A-I의 감소를 관찰하고 apoprotein A-I은 혈관벽중의 cholesterol을 제거하는 역할도 있다고 주장하였다. 한편 phospholipids의 함량이 높은 HDL은 cholesterol을 효과적으로 운반하여 말초조직의 cholesterol 침착을 방지하는 반면¹³⁻¹⁵⁾, triglycerides의 함량이 높은 HDL은 cholesterol을 효과적으로 운반하지 못하여 따라서 triglycerides의 함량이 높은 HDL을 가지면 관상동맥경화증이 쉽게 유발된다고 한다¹⁶⁾. 간경변증 환자에서 혈청 중 HDL-C의 함량이 유의하게 감소 된다는 것은 여러 연구자에 의하여 보고 되었으며¹⁷⁻¹⁹⁾ 이 성우의 감소기전에 대하여 Rubies-Prat 등¹⁷⁾은 간장기능의 저하로 인한 LCAT 합성의 감소가 주요한 원인의 하나라고 하였으나 Okazaki 등¹⁸⁾은 오히려 간세포에서의 HDL apoprotein 합성 저하가 일차적 원인이라고 하였다.

본 연구는 19명의 간경변증환자의 혈청 HDL을 분리하여 HDL 속의 cholesterol, phospholipids 및 triglyceride의 함량을 조사하였으며 지방산 종류별 cholesteryl ester의 분포와 apoprotein의 동태를 조사하여 건강인의 그것들과 비교함으로서 의의 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

간경변증이 조직 검사상 확진되었거나 복강경 검사 및 임상에서 간경변증이 뚜렷한 환자 19명을 대상으로 하였으며 이들의 평균연령은 52세였다. 대조군은 평균연령이 35세인 건강인 20예를 대상으로 하였다. 전예에서 공복시 혈액을 채취하여 실온에서 응고시킨 후 원심분리하여 혈청을 얻었다.

혈청 중 총 cholesterol 양은 cholesterol esterase와 cholesterol oxidase를 사용하여 발생하는 peroxidase의 작용으로 4-aminoantipyrine과 phenol을 축합시켜 생성되는 적색 quinone을 비색하는 Levinson 등²⁰⁾의 방법으로 측정하였으며, high density lipoprotein cholesterol의 측정은 Lopez-Virella 등²¹⁾의 방법에 따라 혈청에 sodium Phosphotungstate와 MgCl₂를 가하여 sodium Phosphotungstate-Mg를 형성케 하고 이것으로 very low density lipoprotein(VLDL) 및 low density lipoprotein(LDL) 등과 복합체를 형성시켜 이들을 침전시키고 상층에 잔존하는 high density lipoprotein 중 cholesterol을 상기 Levinson 등²⁰⁾의 방법으로 정량하였다. 혈중 Phospholipids는 혈청을 Folch 등²²⁾의 방법에 따라 chloroform:methanol(2:1)의 액으로 추출하고 생리식염수로 미지질성 인을 제추출하고 chloroform 층을 취하여 증발건조한 다음 perchloric acid로 습성회화하여 그 무게인을 Fiske-SubbaRow 방법²³⁾으로 정량하였다. High density lipoprotein phospholipid는 Lopez-Virella 등²¹⁾의 방법으로 VLDL, LDL을 침전시키고 상층에 잔존하는 High density lipoprotein 중 phospholipids를 상기 Fiske-SubbaRow²³⁾의 방법으로 정량하였다. 혈중 triglycerides는 lipoprotein lipase와 glycerol dehydrogenase를 사용하여 비색 정량하는 Sugiura 방법²⁴⁾으로 정량하였다. High density lipoprotein triglycerides는 Lopez-Virella 등²¹⁾의 방법으로 VLDL, LDL을 침전시키고 상층을 다른 시험관에 옮겨서 Folch 등²²⁾의 방법으로 지질을 추출한 후 Sugiura 방법²⁴⁾으로 triglycerides

를 정량하였다.

High pressure liquid chromatography(HPLC)에 의한 혈청 free cholesterol 및 각종 cholestryl ester의 정량분석은 아래와 같이 시행하였다. 혈청 free cholesterol 및 각종 cholestryl ester의 추출은 Peter 와 Reynolds²⁵⁾의 방법에 따라 혈청에 isopropyl alcohol과 sodium hydroxide 용액을 가하여 혼합한 후 n-octane으로 추출하였다. n-octane 을 37°C에서 질소로 증발시킨 후 얻어진 free cholesterol 및 각종 cholestryl ester를 acetonitrile : isopropyl alcohol (45 : 55) 용액에 녹인 후 liquid chromatography에 주입하여 분석 정량하였다. 이때 사용한 HPLC(Waters사 제품, Milford, MA 01757)는 Model 244 liquid chromatograph, Model 6000 A Solvent-delivery system과 Model U6k universol injector, Model 450 uv absorbance detector, Model RCM-100 Radial Compression Module, 그리고 Model 730 date moduledual-recording integrator로 구성되어 있으며 column은 Waters사 제품의 10-μm Radial-Pak C 18 Cartridge를 사용하였다. 이공상은 acetonitrile : isopropyl alcohol (45 : 55, v/v) 용액을 사용하였으며 용출된 cholesterol은 210nm에서 그 흡광도를 측정하였다(표 1).

Table 1. Optimum conditions for quantitative analysis of cholesterol by high pressure liquid chromatography

Column; 10m Radial Pak C18 (10cm×8mm I. D.)

Mobile Phase; acetonitrile/isopropanol (45/55, V/V)

Flow Rate; 2.0ml/min

Detector; UV-210nm, 0.2 AUFS

Chart Speed; 0.6cm/min

Liquid chromatography에 사용하는 모든 용매는 Waters사 제품의 HPLC-grade 용매를 사용하였으며 사용전에 0.45μm 여과지를 사용하여 여과하였다. 각종 cholestryl ester의 표품은 Sigma사 제품을 사용하였으며 혈청으로부터 분리한 각종 cholestryl ester의 정량은 표준작선과 비교하여 이루어졌다. HDL 분획 중 free cholesterol 및 각종 cholestryl ester의 측정을 위해서 Lopez-Virella 등²¹⁾의 방법으로 혈청에 phosphotungstate 와 MgCl₂를 가하여 VLDL, LDL을 침전시키고 상층을 다른 시험판에 옮겨서 isopropanol을 가하여 혼합한 후 n-octane으로 HDL 분

획 중 free cholesterol과 각종 cholestryl ester를 추출하였다. n-octane을 질소로 증발시킨 후 추출된 치질을 다시 isopropanol에 녹여 HPLC에 주입하였다. 이때 HPLC의 자동조건과 free cholesterol 및 cholestryl esters의 정량은 상기 혈청 중 free cholesterol 및 cholestryl esters의 분석시와 동일하게 시행하였다. HDL 분획 중 apoprotein을 분석하기 위해 우선 HDL 분획은 초원심분리법²⁶⁾으로 분리하였다. 즉 4ml 용량의 원심판에 비중이 1.346 되는 염용액을 1ml 주입한 후 그위에 혈청 1ml를 가하였다. 혈청위에 비중 1.005 되는 염용액을 가하여 4°C에서 Sorval사 제품의 swinging-burket rotor (AH-650)를 사용하여 40,000rpm으로 20시간동안 원심분리하여 HDL 분획을 얻었다. HDL 분획 중 apoprotein의 분석은 Kinoshita 등²⁷⁾의 방법에 따라 HDL 분획 10μl를 0.1% sodium dedosyl sulfate (SDS)를 함유한 0.1M sodium phosphate buffer (pH7.0) 200μl에 가하여 혼합한 후 60°C에서 5분간 incubation 한 후 100μl를 HPLC에 주입하였다. 이때 사용한 HPLC는 상기 Waters사 제품이며 column은 Varian사 제품의 TSK G 3000 SW (20cm×7.5mm I. D.)를 사용하였으며 이 동상은 0.1% SDS를 함유한 0.1M sodium phosphate buffer (pH7.0)을 사용하였고 용출된 apoprotein은 자외선 280nm에서 그 흡광도를 측정하였다(표 2).

Table 2. Optimum conditions for analysis of apolipoprotein in HDL fraction by high pressure liquid chromatography

Column; TSK G3000SW (30cm×7.5mm I. D.)

Mobile Phase; 0.1M sodium phosphate buffer (pH7.0) containing 0.1% SDS

Flow Rate; 0.4ml/min

Detector; UV-280nm, 0.05 AUFS

Chart Speed; 0.6cm/min

전강인 및 임경변증 환자에서 혈청에서 측정한 각종 치질분획의 비교는 Students의 t-검정법²⁸⁾에 의하였다.

성 적

전강인 및 임경변증 환자에서의 혈청과 HDL 분획 중 total cholesterol, free cholesterol, phospholipids 그리고 triglycerides의 측정 결과는 표 3에 나타내

Table 3. Levels of cholesterol, phospholipids and triglycerides in serum and HDL of healthy subjects and patients with liver cirrhosis.

	Controls (n=20)	Cirrhosis (n=19)
Total Chhlesterol (mg/100ml)		
Serum	168.8±22.32	146.7±17.96**
HDL	40.6± 5.42	22.0± 4.73**
Free Cholesterol (mg/100ml)		
Serum	34.6± 9.19	53.2±14.52**
HDL	6.8± 1.78	5.3± 1.90**
FC/TC (%)		
Serum	20.4± 4.00	27.9± 3.87**
HDL	16.7± 3.25	24.1± 4.12**
Phospholipids (mg/100ml)		
Serum	186.8±27.21	160.4±26.17**
HDL	41.9±13.10	43.9± 7.63**
Triglycerides (mg/100ml)		
Serum	134.9±21.93	169.7±36.24**
HDL	18.2± 3.90	9.1± 1.32**

Values are mean±S. D.

** P<0.01

FC; free cholesterol,

TC; total cholesterol.

었다. 혈청 총 cholesterol은 건강인의 경우 146.7 ± 17.96mg/100ml로 환자군에서 건강인보다 유의성 있는 감소치를 나타내었다($p<0.01$). 혈청 phospholipids의 경우 간경변증 환자에서 160.4±26.17mg/100ml로 건강인의 186.8±27.21mg/100ml에 비해 역시 유의성 있는 감소를 나타내었으나($p<0.01$) triglycerides는 간경변증 환자에서 169.7±36.24mg/100ml로 건강인의 134.9±21.93mg/100ml보다 유의성 있는 증가치를 나타내었다($p<0.01$). 간경변증 환자에서 혈청 free cholesterol 치와 총 cholesterol에 대한 free cholesterol의 백분율은 각각 53.2±14.52mg/100ml 27.9±3.87%로 건강인의 34.6±9.19mg/100ml, 20.4±4.00%에 비해 모두 유의성 있는 증가를 나타내었다($p<0.01$).

한편 간경변증 환자에서 HDL-cholesterol, HDL-phospholipids 및 HDL-triglycerides 치는 각각 22.0±4.73mg/100ml, 43.9±7.63mg/100ml 그리고 91±1.32mg/100ml로 건강인의 40.6±5.42mg/100ml, 41.9±13.10mg/100ml, 18.2±3.90mg/100ml에 비해 HDL-cholesterol, HDL-triglycerides 치는 유의성 있게 감소된 반면 ($p<0.01$) HDL-phospholipids는 차이를 보이지 않았다.

HDL 분획중 free cholesterol 함량과 HDL-cholesterol에 대한 HDL-free cholesterol의 백분율은 건강인의 경우 각각 6.8±1.78mg/100ml과 16.7±3.25%였으며 간경변증 환자의 경우 각각 5.3±1.90

mg/100ml와 24.1±4.12%로 양자 모두 건강인보다 유의성 있게 증가하였다($p<0.01$). 건강인에서의 혈청 및 HDL 분획중 free cholesterol과 각종 cholesterol esters를 분석한 HPLC chromatograms는 그림 1, 2에 나타내었으며 간경변증 환자의 경우는 그림 3, 4에 나타내었다.

또한 건강인 및 간경변증 환자에서의 혈청과 HDL 분획중 cholesteryl palmitate, cholesteryl oleate, cholesteryl linoleate, 그리고 cholesteryl arachidonate의 함량은 표 4에 나타내었다. 간경변증 환자에서의 혈청중 cholesteryl palmitate, cholesteryl oleate, cholesteryl linoleate 그리고 cholesteryl arachidonate 치는 각각 17.16±5.95mg/100ml, 21.84±7.62mg/100ml, 36.63±13.57mg/100ml 그리고 8.81±4.01 mg/100ml였으며 건강인에서는 20.64±7.11 mg/100 ml, 27.55±6.22 mg/100 ml 73.18±15.58mg/100ml 및 13.15±3.31mg/100ml로 나타났다. Cholesteryl oleate, cholesteryl linoleate, cholesteryl arachidonate의 경우 간경변증 환자에서 유의성 있게 감소되었으나($p<0.05$) cholesteryl palmitate는 간경변증 환자에서 건강인에 비하여 큰 차이가 없었다. HDL 분획 중의 cholesteryl palmitate, cholesteryl oleate, cholesteryl linoleate 그리고 cholesteryl arachidonate는 건강인의 경우 각각 4.46±1.57mg/100ml, 6.18±1.43mg/100ml, 17.24±6.21mg/100ml 그리-

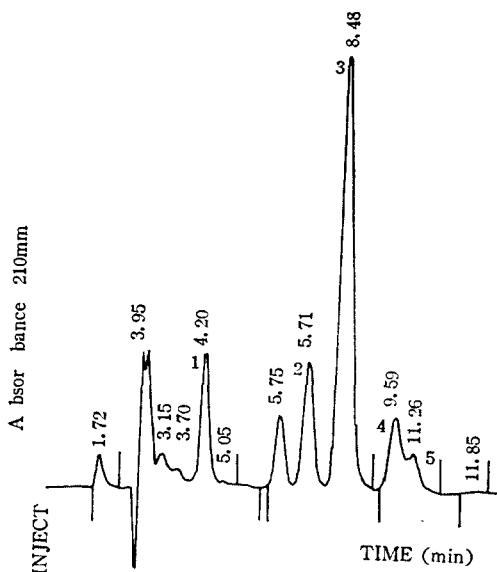


Fig. 1. HPLC chromatogram of free cholesterol and cholesteryl esters in serum of healthy subject. Peaks: 1. free cholesterol; 2. cholesteryl arachidonate; 3. cholesteryl linoleate; 4. cholesteryl oleate; 5. cholesteryl palmitate.

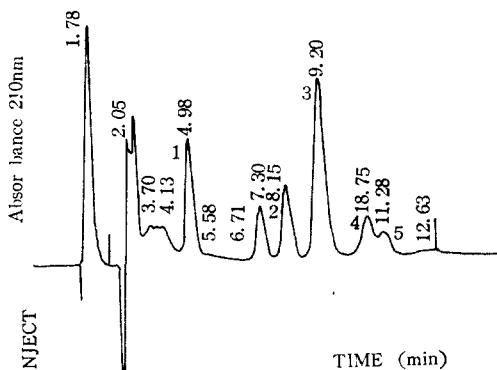


Fig. 2. HPLC chromatogram of free cholesterol and cholesteryl esters in HDL fraction of healthy subject. Peaks: 1. free cholesterol; 2. cholesteryl arachidonate; 3. cholesteryl linoleate; 4. cholesteryl oleate; 5. cholesteryl palmitate.

고 3. $21 \pm 0.73 \text{mg}/100\text{ml}$ 였으며 간경변증 환자의 경우 2. $61 \pm 1.01 \text{mg}/100\text{ml}$, 4. $27 \pm 1.91 \text{mg}/100\text{ml}$, 7. $82 \pm 3.26 \text{mg}/100\text{ml}$ 그리고 1. $33 \pm 0.23 \text{mg}/100\text{ml}$ 로 HDL 분획 중의 cholesteryl linoleate와 cholesteryl arachidonate는 간경변증 환자에서 건강인보다 유의성 있게 ($p < 0.05$) 감소되었으나 HDL 분획 중의 cholesteryl palmitate와 cholesteryl oleate는 양자간에 유의성 있는 차이를 나타내지 않

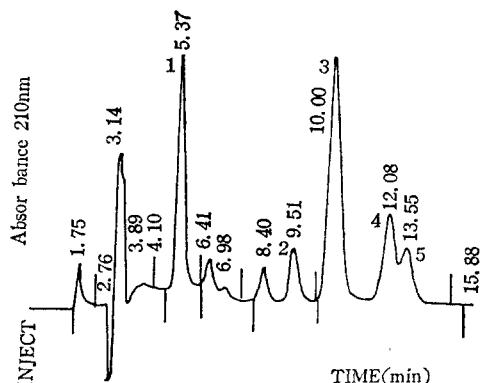


Fig. 3. HPLC chromatogram of free cholesterol and cholesteryl esters in serum of patients with liver cirrhosis. Peaks: 1. free cholesterol; 2. cholesteryl arachidonate; 3. cholesteryl linoleate; 4. cholesteryl oleate; 5. cholesteryl palmitate.

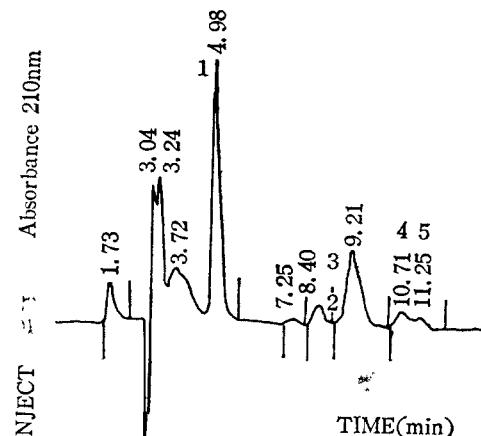


Fig. 4. HPLC chromatogram of free cholesterol and cholesteryl esters in HUL fraction of a patient with liver cirrhosis. Peaks: 1. free cholesterol; 2. cholesteryl arachidonate; 3. cholesteryl linoleate; 4. cholesteryl oleate; 5. cholesteryl palmitate.

았다.

한편 혈청중 cholesteryl oleate에 대한 혈청중 cholesteryl linoleate의 비는 간경변증 환자에서는 1.73 ± 0.44 로 건강인의 2.82 ± 1.14 보다 유의성 있게 ($p < 0.01$) 감소되었으며 HDL 분획중 cholesteryl linoleate의 비 역시 간경변증 환자에서 건강인에 비해 유의성 있게 감소된 차를 나타내었다 ($p < 0.01$). 건강인에서의 HDL 분획 중 apoprotein 운 분석한 HPLC chromatograms은 그림 5에 나타내었으며 간경변증 환자의 경우는 그림 6에 나타내었다.

Table 4. Levels of cholestrylo palmitate, cholestrylo oleate, cholestrylo linoleate, and cholestrylo arachidonate in serum and HDL of healthy subjects and patients with liver cirrhosis

	Controls (n=20)	Cirrhosis (n=19)
Cholestrylo Palmitate (mg/100ml)		
Serum	20.64 ± 7.11	17.16 ± 5.97
HDL	4.46 ± 1.57	2.61 ± 1.01
Cholestrylo Oleate (mg/100ml)		
Serum	27.55 ± 6.22	21.84 ± 7.62*
HDL	6.18 ± 1.43	4.27 ± 1.91
Cholestrylo Linoleate (mg/100ml)		
Serum	73.18 ± 15.85	36.63 ± 13.57**
HDL	17.24 ± 6.21	7.82 ± 3.26**
Cholestrylo Arachidonate (mg/100ml)		
Serum	13.15 ± 3.31	8.81 ± 4.01**
HDL	3.21 ± 0.73	1.33 ± 0.23*
L/O Ratio		
Serum	2.81 ± 1.14	1.73 ± 0.44**
HDL	2.79 ± 0.47	1.83 ± 0.39**

Values are mean ± S. D.

* p < 0.05

** p < 0.01

L/O ratio; cholestrylo linoleate per cholestrylo oleate ratio.

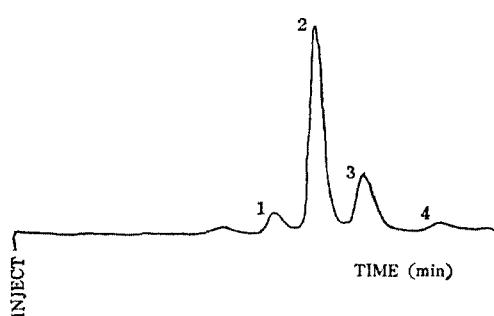


Fig. 5. Elution pattern of apolipoproteins in HDL fraction of normal subject. Elution positions: 1. albumin; 2. apo A-I; 3. apo A-II; 4. apo C group.

Apoprotein A-I은 15.5분, apoprotein A-II는 17.9분, apoprotein C group은 21.2분의 retention time을 나타내었다. HDL 분획중 apoprotein A-I은 간경변증 환자에서 건강인에 비하여 현저히 감소된 반면 apoprotein A-II와 apoprotein C group은 차이를 나타내지 않았다.

고 찰

HDL은 초원심분리법에 의해 밀도 1.063에서

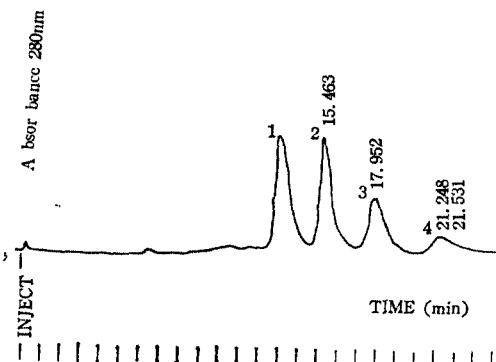


Fig. 6. Elution pattern of apolipoproteins in HDL fraction of patient with liver cirrhosis. Elution positions: 1. albumin; 2. apo A-I; 3. apo A-II; 4. apo C group.

1. 210사이에 분리되는 lipoprotein으로 전기영동상에는 α -mobility를 가지므로 α -lipoprotein이라고 한다. 전자현미경상 75–120Å의 직경을 갖는 구상입자로 나타나는 HDL은 주로 간에서 만들어지고 일부는 장에서 생성되며 그 단백질 함량은 45~55%에 이르고 그 지질성분중 인지질이 50%에 달하는 지단백으로 물과는 비교적 높은 친화성을 갖고 있다.⁸⁾ 이들은 보통 다음의 두가지 주기능을 갖고 있는 것으로 알려져 있는데, 그 하나는 표면에 갖고 있는 LCAT에 의한 cholesterol esterification이

며¹⁷) 다른 한 가지는 말초조직의 잉여 cholesterol 을 간으로 운반하여 담즙으로 배설시키거나 재활용 케하여 조직내의 cholesterol 축적을 저지시키는 기능이다¹⁶). 혈청 HDL-C 치는 관상동맥경화증의 발병률과 역비례 관계가 있다는 것은 이미 알려져 있으며, 만성신부전증²⁹⁾, 당뇨병^{30,31)}, hypercholesterolemia³²⁾, hypertriglyceridemia^{33,34)} 등의 경우 lipidemia 가 발생함에도 혈청 HDL-C 는 오히려 감소되며 이들 환자에서 후일 관상동맥경화증이 잘 유발됨은 여러문헌에 지적된 바이다. 운동³⁵⁾, 음주³⁶⁾, 채중감소³⁷⁾ 등이 일어날 때 혈청 HDL-C 농도는 증가하며 흡연은 HDL-C 농도를 감소시킨다고 한다³⁸⁾. 혈청 HDL-C 를 변화시키는 상기의 인자들은 sex hormone 의 분비나 간기능에 영향을 주어 혈청 HDL-C 를 변화시킨다고 한다³⁹⁾.

본 연구에서 간경변증 환자의 HDL-C 치가 현저히 감소되었는데 이는 Rubies-Prat 등¹⁷⁾의 보고와 일치하고 있다. HDL-C 의 감소 기전에 대해서는 1981년 Okazaki 등¹⁸⁾이 간세포에서의 HDL-apoprotein 합성 저하가 일차적 원인이라고 하였으며 그 후 Rubies-Prat 등¹⁷⁾은 간장기능의 저하로 인한 LCAT 합성의 저하가 그 원인이라 하였다. 최근 high density lipoprotein-phospholipids(HDL-PL) 의 측정방법의 개발로 HDL-PL 또한 항동맥경화 인자로 밝혀짐에 따라 이에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. Yamaguchi 등¹⁹⁾, Weisweiler¹ 등⁴⁾ 그리고 Telesforo 등¹⁰⁾은 건강인에서의 혈청 중 HDL-C 와 HDL-PL 의 함량은 서로 비례관계가 있다고 하였다. 본 연구에서 보여준 간경변증 환자군의 혈 중 HDL-PL 치는 정상인과 같거나 오히려 약간 증가하는 경향을 보였다. 이 결과는 HDL-C 의 함량에 의해 기대되는 HDL-PL 량보다 2배 가량이나 많은 차를 나타내고 있다. 한편 정상인에서 HDL-C 가 유의하게 감소하였을 경우에 HDL-PL 치는 감소하지 않았다는 사실은 매우 흥미있는 일이며 HDL-C 와 HDL-PL 함량의 관계에 대하여서는 앞으로 규명되어야 할 문제가 많다고 생각된다. 한편 Jung 등¹⁶⁾은 triglycerides 가 많이 험유된 HDL 은 조직으로부터 cholesterol 을 효과적으로 운반하지 못하기 때문에 혈청 중 HDL-triglyceride 의 증가는 관상동맥경화증을 쉽게 초래할 수 있다고 주장하였다. 본 연구에서 간경변증환자의 HDL-triglyceride 양은 현저히 감소되었다. 한편 간장은 lecithin 으로부터 비포화지방산을 free cholesterol 로 옮겨주는 반응을 촉매하는 LCAT 를 합성하여 혈중으로

유리한다고 한다^{40,41)}. 따라서 혈청을 시험판 속에 두고 37°C에서 1시간 이상 방치하면 free cholesterol 은 감소되며 esterified cholesterol 은 증가하게 된다⁴²⁾. 간장질환을 갖고 있는 환자에서는 혈청 cholesterol esters 가 감소되어 있는데^{43,44)} 이는 간장에서의 cholesterol ester 의 합성 저하보다 혈청 LCAT 의 활성도 감소가 더 중요한 요인이라는 것이 밝혀졌다^{45,46)}.

본 연구에서 관찰된 간경변증 환자의 혈청 중 cholesterol ester 의 감소가 주로 HDL 분획에서의 현저한 저하현상이 반영되어 있다고 생각되며 LCAT 의 활성도 역시 HDL 분획상에 편중되어 있음이 제시되고 있다고 생각된다. Cholesterol 은 원래 물에 녹지 않는 물질로서 protein 과 결합하여 lipoprotein 을 형성하여 혈중에서 이동이 가능하게 된다. 반면에 cholestryl arachidonate 와 cholestryl linoleate 는 free cholesterol 자체나 다른 cholestryl ester 보다 낮은 용점과 비교적 높은 수용성을 갖고 있어서 cholesterol 의 운반에는 아주 적당한 형태이다⁴⁹⁾. Kingsbury 등⁵⁰⁻⁵²⁾과 Small 등⁵³⁾은 동맥경화증환자의 혈청과 동맥조직에서 linoleic acid 의 함량이 적다는 것을 보고하였으며, 또한 필수지방산의 부족 특히 linoleic acid 가 부족하면 혈중이나 조직의 cholesterol 의 대부분을 구성하는 cholestryl esters 는 포화지방산이나 oleic acid 로 ester화를 이루게 되어 linoleic acid, linolenic acid 그리고 arachidonic acid 로 ester화를 이루게 되었을 때보다 동백색에서의 재거기가 어렵게 되며 cholesterol 은 오히려 동백색에 축적됨으로써 동맥경화증증 특히 관상동맥 경화증이 잘 생긴다고 하였다. 또한 Kingsbury 등⁵⁰⁾은 cholestryl oleate 와 cholestryl linoleate 량 사이에서는 서로 역비례 관계가 있어서 혈청 cholestryl linoleate 가 감소되면 cholestryl oleate 는 대체로 증가한다고 하였다. Schrade 등⁵⁴⁾은 임상적으로 동맥경화증을 갖고 있는 환자나 idiopathic hypolipidemia 환자에서 다같이 건강인에 비해 saturated 및 mono-unsaturated cholestryl ester 가 증가된 반면 cholestryl linoleate 는 감소되어 있다고 하였으며 Schrade 등⁵⁵⁾은 lipemia 가 있는 당뇨병환자에서도 역시 혈청 polyunsaturated cholestryl ester 의 감소를 관찰하였다. 식이가 혈청 cholestryl esters 의 조성에 미치는 영향에 대해서도 많은 연구가 진행되었으며⁵⁶⁻⁵⁸⁾ Alfin-Slater 등⁵⁹⁾과 Okey 등⁶⁰⁾은 불포화지방산을 많이 함유한 식이는 혈청 choles-

terol 을 현저히 감소시키며 cholesteryl linoleate 를 증가시켜 준다고 하였다. Swell 등⁶¹⁻⁶³⁾은 혈청 cholesteryl arachidonate 의 감소는 쉽게 동맥경화증을 유발케 한다고 하였으며 식이적으로 cholesterol 을 투여하여 동맥경화증을 유발케 어려운 쿠나 개같은 동물에서는 혈청 cholesteryl arachidonate 치가 높은 반면 동맥경화증이 비교적 쉽게 일어나는 사람이나 원숭이, 닭, 비둘기 그리고 가토등에서는 cholesteryl arachidonate 가 유의하게 낮다고 보고 하였다. 본 연구에서도 혈청 및 HDL 분획중 cholesteryl arachidonate 함량이 간경변증 환자에서 건강인에 비해 유의하게 감소되었으며 cholesteryl oleate 에 대한 cholesteryl linoleate 의 비 역시 간경변증 환자에서 대조군보다 유의하게 감소되었다. 간경변증 환자에서의 cholesteryl arachidonate 나 cholesteryl oleate 에 대한 cholesteryl linoleate 의 비의 감소가 후일 동맥경화증의 발생에 미치는 영향등은 계속적 연구로서 풀어가야 할 문제라 생각된다.

한편 apoprotein 은 lipoprotein 의 소위 protein moiety 로서 지질의 운반 뿐만아니라 효소의 보조요소로서 지질대사에 중요한 역할을 하고 있다. 그 중 apo A-I 과 apo A-II 는 특히 HDL 의 주된 apoprotein 으로 HDL 의 protein moiety 의 약 80 ~ 90% 를 차지하고 있으며 그외 apo C, apo E 그리고 apo A-IV 가 소량 존재한다고 한다.⁶⁴⁾ apo A-I 은 free cholesterol 에 지방산을 연결하여 cholesteryl ester 를 형성하는 반응에 촉매 작용을 하는 LCAT 의 cofactor 로 작용하며 apo A-II 는 apo A-I 의 존재하에서만 또 하나의 LCAT 의 cofactor 가 된다고 하였다^{10,11)}. 최근 Lindgren 등⁶⁴⁾은 여자에서는 HDL₂ 가 높으며 남자에서는 HDL₃ 가 높음을 관찰하고 HDL₃ 에 대한 HDL₂ 의 비가 높을수록 동맥경화증의 발생빈도는 낮다고 하였다. Kostner 등⁶⁵⁾ Cheung 과 Albers⁶⁶⁾ 그리고 Patch 등⁶⁷⁾은 apo A-I / A-II 비가 높을수록 관상동맥경화증의 발생빈도가 낮다고 하였다. 실제로 Ishikawa 등¹²⁾은 관상동맥경화증 환자에서 apo A-I 치가 낮음을 보고하였으며 Avogaro 등⁶⁸⁾ Albers 등⁶⁹⁾과 Berg 등⁷⁰⁾도 심근경색증 환자에서 Bradby 등⁷¹⁾은 말초혈관경화증환자에서 apo A-I 치가 낮나고 하였다. 간경변증환자에서 apo A-I 의 감소는 Rubics-Prat 등¹⁷⁾과 Vergani 등¹⁹⁾의 연구결과와 일치하며 OKazaki 등¹⁸⁾은 간경변증시 apo A-I 의 감소는 간세포에서의 apoprotein 합성저하가 그 일차적 원

인이라 하였다. 그러나 간경변증 환자에서의 혈중 apoprotein 치의 저하원인 규명은 앞으로 많은 연구가 필요하다고 생각된다. 본 연구에서 특히 HPLC 를 사용하여 HDL 분획중의 apoprotein 의 변동을 분석할 수 있었다는 것은 앞으로 이 방면의 연구에 비교적 쉬운 접근 방법을 제시한 것으로 생각된다.

要 約

간경변증 환자의 high density lipoprotein(HDL) 분획중 지질 및 apoprotein 의 동태를 조사코자 19명의 간 경변증 환자에서 혈청과 HDL 분획중 총 cholesterol, free cholesterol, cholesteryl ester 의 지방산 조성, phospholipids, triglycerides 및 HDL 분획중 apoprotein 의 조성을 분석하여 건강인과 비교 검토하였다. 혈청과 HDL 분획중 총 cholesterol 은 간경변증 환자에서 건강인보다 유의성 있게 감소된 반면 혈청과 HDL 분획중 총 cholesterol 에 대한 free cholesterol 의 백분율은 간 경변증 환자에서 건강인보다 유의성 있게 증가되었다. 혈청 및 HDL 분획중 cholesteryl oleate 에 대한 cholesteryl linoleate 의 비는 간경변증 환자에서 건강인보다 유의성 있게 감소되었다. Phospholipids 의 경우 혈청중에서는 간경변증 환자에서 건강인에 비해 유의성 있게 감소된 반면 HDL 분획중에서는 오히려 증가된 경향을 보였으며, triglycerides 는 간경변증 환자의 혈청중에서는 건강인에 비해 증가되었으나 HDL 분획중에서는 유의성 있게 감소되었다. 한편 HDL 분획중 apoprotein A-I 은 간경변증 환자에서 건강인에 비해 감소되었으나 apoprotein A-II 는 건강인과 차이를 보이지 않았다.

参考文献

1. Bagdade, J. D., and Albers, J. J.: Plasma high density lipoprotein concentrations chronichemodialysis and renaltransplant patients. N. Engl. J. Med., 196 : 1436-1440, 1977.
2. Miller, N. E.: High density lipoprotein and coronary heart disease: a prospective case-control study. Lancet, I : 965-968, 1977.
3. Gordon, T.: High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. Am. J. Med., 62 : 707-714, 1977.

4. Catelli, W. P.: Distribution of triglyceride and total LDL and HDL cholesterol in several populations. A cooperative lipoprotein phenotyping study. *J. Chron. Dis.*, 30: 147, 1977.
5. Glleck, C. F.: Familial hyper-alpha-lipoproteinemia: studies in eighteen kindreds. *Metabolism*, 24: 1243—1259, 1975.
6. Bonjers, G., and Bhorkerud, S.: HDL elimination of cholesterol from human arterial tissue *Proc. Eur. Soc. Clin. Invest.*, 9: 51, 1975.
7. Glomset, A.: Physiological role of lecithin-cholesterol acyltransferase. *Am. J. Clin. Nutr.*, 23: 1129—1137, 1970.
8. Bondy, P. K., and Rosenberg, I. E.: Metabolic control and disease. 9th ed. W. B. Saunders Co., Philadelphia, pp. 393—494, 1980.
9. Glomset, J. A.: High-density lipoproteins in human health and disease. *Adv. Intern. Med.*, 25: 91—116, 1980.
10. Levy, R. I.: Cholesterol, lipoproteins, apoproteins, and heart disease: Present status and future prospects. *Clin. Chem.*, 27: 653—662, 1981.
11. Schaefer, E. J., Eisenberg, S., and Levy, R. L.: Lipoprotein apoprotein metabolism. *J. Lipid Res.*, 19: 85—91, 1978.
12. Ishikawa, T., Fidge, N., and Thelle, D. S.: The tromso heart study: Serum apolipoprotein AI concentration in relation to future coronary heart disease. *Eur. J. Clin. Invest.*, 8: 179—182, 1978.
13. Yamaguchi, Y.: Determination of high-density lipoprotein phospholipids in serum. *Clin. Chem.*, 26: 1275—1277, 1980.
14. Weisweiler, P., Sperl, B., and Schwandt, P.: Determination of high-density lipoproteins: Comparison of HDL-cholesterol, HDL-phospholipids, and HDL-apolipoprotein A-I. *Clin. Chem.*, 27: 348, 1981.
15. Telesforo, P., Salino, L., and D'Frico, A.: HDL-cholesterol or HDL-phospholipids? *Clin. Chem.*, 27: 354—355, 1981.
16. Jung, K., Neumann, R., Scholz, D., and Nugel, E.: Abnormalities in the composition of serum high density lipoprotein in renal transplant recipients. *Clin. Nephrology*, 17: 191—194, 1982.
17. Rubies-Prat, J., Masdeu, S., and Nubiola, A. R.: High-density lipoprotein cholesterol and phospholipids, and apoprotein A in serum of patients with liver disease. *Clin. Chem.*, 28: 525—527, 1982.
18. Okazaki, M., Hara, I., and Tanaka, A.: Decreased serum HDL₃ cholesterol levels in cirrhosis of the liver. *N. Engl. J. Med.*, 304: 1608, 1981.
19. Vergani, C., Trovato, G., and Delu, A.: Serum total lipids, lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein A in acute viral hepatitis and chronic liver disease. *J. Clin. Pathol.*, 31: 772—778, 1978.
20. Levinson, S. S.: Uses of an enzymatic method for cholesterol, designed for continuous flow instrumentation, with discrete bichromatic and centrifuge analysis. *Clin. Chem.*, 23: 2335—2337, 1977.
21. Lopez-Virella, M. F., Stone, H., Ellis, S., and Colwell, A.: Cholesterol determination in high density lipoproteins separated by three different methods. *Clin. Chem.*, 23: 882—887, 1977.
22. Folch, J., Lees, M., and Stanley, S. G. H.: A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226: 497—552, 1957.
23. Fiske, C. H., and Subbarow, T.: colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66: 375—400, 1925.
24. Sugiura, M.: A simple colorimetric method for determination of serum triglycerides with lipoprotein lipase and glycerol dehydrogenase. *Clin. Chem. Act.*, 8: 125—130, 1977.
25. Peter, F., and Reynolds, R. G.: Quantitative analysis of human serum cholesterol by thin-layer chromatographic spot test. *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 143: 160,

- 1977.
26. Havel, R.J., Eder, H.A., and Bragdon, J.H.: The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J. Clin. Invest.*, 34: 1345-1354, 1955.
 27. Kinoshita, M., Okazaki, Okazaki, M., Kato, H., Termoto, T., Matsushima, T., Naito, C., Oka, H., and Hara, C.: Simple method for analysis of apoproteins in high density lipoproteins by high performance liquid chromatography. *J. Biochem.*, 94: 625-627, 1983.
 28. Diem, K.: *Documenta Geigy, Scientific Tables*, published by J.R. Geigy S.A., Basel. Switzerland, 1962.
 29. Bagdade, J., Casaretto, A., and Albers, J.: Effects of chronic uremia, hemodialysis, and renal transplantation on plasma lipids and lipoproteins in man. *J. Lab. Clin. Med.*, 87: 37-48, 1976.
 30. Lowy, A.D., Jr., and Barach, J.H.: A study of serum lipoprotein and cholesterol determination in 901 diabetics. *Diabetics*, 6: 342-353, 1957.
 31. Chance, G.W., Albutt, E.C., and Edkins, S.M.: Serum lipids and lipoproteins in untreated diabetic children. *Lancet*, I: 1126-1128, 1967.
 32. Furman, R.H., Howard, R.P., and Lakshmi, K.: The serum lipids and lipoproteins in normal and hyperlipidemic subjects as determined by preparative ultracentrifugation: Effects of dietary and therapeutic measures: Changes induced by in vitro exposure of serum to sonic focus. *Am. J. Clin. Nutr.*, 9: 73-102, 1961.
 33. Fredrickson, D.S., Levy, R.I., and Lees, R.S.: Fat transport in lipoproteins: An integrated approach to mechanisms and disorders. *N. Engl. J. Med.*, 276: 34-44, 94-103, 215-224, 273-281, 1967.
 34. Fredrickson, D.S., Levy, R.I., and Lindgren, F.T.: A comparison of heritable abnormal lipoprotein patterns as defined by two different techniques. *J. Clin. Invest.*, 47: 2446-2457, 1968.
 35. Wood, P.D., and Haskell, W.L.: The effect of exercise on plasma high density lipoproteins. *Lipids*, 14: 417-428, 1979.
 36. LaPorte, R., Falvo-Gerard, L., and Kuller, L.: The relation between alcohol consumption, liver enzymes and high density lipoprotein cholesterol. *Circulation*, 64 (Suppl III): 67-72, 1981.
 37. Glueck, C.J., Taylor, H.L., and Jacobs, D.: Plasma high density lipoprotein cholesterol: Associations of body mass. *Circulation*, 55: 767-772, 1977.
 38. Hulley, S., Ashman, P., and Kuller, L.: HDL cholesterol levels in the Multiple Risk Factor Intervention Trial(MRFIT). *Lipids*, 14: 119-25, 1979.
 39. Kuller, L.H., Hulley, S.B., Laporte, R.E., Neaton, J. and Dai, W.S.: Environmental determinants, liver function, and high density lipoprotein cholesterol levels. *Am. J. Epid.*, 117: 406-418, 1983.
 40. Simon, J.B. and Boyer, J.L.: Production of lecithin-cholesterol acyltransferase by isolated perfused rat liver. *Biochim. Biophys. Acta*, 218: 549-551, 1970.
 41. Osuga, T., and Portman, O.W.: Origin and disappearance of plasma lecithin-cholesterol acyltransferase. *Am. J. Physiol.*, 220: 735-741, 1971.
 42. Sperry, W.M.: Cholesterol esterase in blood. *J. Biol. Chem.*, 111: 467-478, 1935.
 43. Epstein, E.Z.: Cholesterol of the blood plasma in hepatic and biliary disease. *Arch. Intern. Med.*, 50: 203-222, 1932.
 44. Phillips, G.B.: The lipid composition of serum in patients with liver disease. *J. Clin. Invest.*, 39: 1639-1650, 1960.
 45. Simon, J.B., and Scheig, R.: Serum cholesterol esterification in liver disease. Importance of lecithin-cholesterol acyltransferase. *N. Engl. J. Med.*, 283: 841-846, 1970.
 46. Gjone, E., and Norum, K.: Plasma lecithin-

- cholesterol acyltransferase and erythrocyte lipids in liver disease. *Acta Med. Scand.*, 187 : 153—161, 1970.
47. Gjone, E., Blomhoff, J.P., and Wienke, I.: Plasma lecithin-cholesterol acyltransferase activity in acute hepatitis. *Scand. J. Gastroenterol.*, 6 : 161—168, 1971.
48. Calandra, S., Martin, M.J., and McIntyre, N.: Plasma lecithin-cholesterol acyltransferase activity in liver disease. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1 : 352—360, 1971.
49. Sinclair, H.M.: Essential fatty acids. Lipid pharmacology, Edited by R. Paoletti, New York, Academic Press, pp. 237—275, 1964.
50. Kingsbury, K.J., Brett, C., and Stovold, R.: Abnormal fatty acid composition and human atherosclerosis. *Postgrad. Med. J.*, 50 : 440, 1974.
51. Kingsbury, K.J., Morgan, D.M., and Aylott, C.: A comparison of the polyunsaturated fatty acids of cholestryl esters and subcutaneous depot fats of atheromatous and normal people. *Clin. Sci.*, 22 : 161—164, 1962.
52. Kingsbury, K.J., and Morgan, D.M.L.: The estimation of the linoleic acid content of plasma cholestryl esters. *Biochem. Med.*, 14 : 209—219, 1975.
53. Small, D.M.: Cellular mechanisms for lipid deposition in atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 297 : 924—929, 1977.
54. Schrade, W., Biegler, R., and Bohle, E.: Fatty acid distribution in the lipid fractions of healthy persons of different age, patients with atherosclerosis and patients with idiopathic hyperlipidaemia. *J. Atherosclerosis Res.*, 1 : 47, 1961.
55. Schrade, W., Biegler, R., Bohle, E., and Harmuth, E.: Fatty acid composition of lipid fractions in diabetic serum. *Lancet*, I : 285, 1963.
56. Gunning, B., Michaels, G., Neumann, L., Splitter, S., and Kinsell, L.: Effects of a diet high in polyunsaturated fat on the plasma lipids of normal young females. *J. Nutr.*, 79 : 85, 1963.
57. Kinsell, L.W., Michaels, G.D., and Fukuyama, G.: Plasma cholesterol ester composition in relation to diet. *Proc. Exptl. Biol. Med.*, 98 : 829—833, 1958.
58. Swell, L., Schools, P.E. Jr., and Treadwell, C.R.: Correlation of diet and serum cholesterol level with serum lipid fatty acid composition. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 109 : 682—685, 1962.
59. Alfin-Slater, R.B., and Jordan, P.: The effect of safflower oil on the nature of serum cholesterol esters. *Am. J. Clin. Nutr.*, 8 : 325, 1960.
60. Okey, R., Lee, M., Hampton, M.C., and Miljanich, P.: Effect of safflower and coconut oils upon plasma cholesterol and lipid fractions. *Metabolism*, 9 : 791, 1960.
61. Swell, L., Field, H. Jr., and Treadwell, C.R.: Correlation of arachidonic acid of serum cholesterol esters in different specials with susceptibility to atherosclerosis. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 104 : 325—328, 1960.
62. Swell, L., Field, H., Schools, P. E. Jr., and Treadwell, C.R.: Fatty acid composition of tissue cholesterol esters in elderly humans with atherosclerosis. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 103 : 651—655, 1960.
63. Swell, L., Field, H. Jr., and Treadwell, C.R.: Relation of age and race to serum cholesterol ester fatty acid composition. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 105 : 129—131, 1960.
64. Lindgren, F.T., Nichols, A.V., Forte, T.M., and Wood, P.D.: Lipid and lipoprotein measurements in a normal adult American population. *Lipids*, 10 : 750—756, 1975.
65. Kostner, G.M., Patsch, J.R., Sailer, S., Braunsteiner, H., and Holasck, A.: Polypeptide distribution of the main lipoprotein density classes separated from human plasma by rate zonal ultracentrifugation. *Eur. J. Biochem.*, 15 : 611—621, 1974.

66. Cheung, M.C., and Albers, J.J.: The measurement of apolipoprotein A-I and levels in men and women by immunoassay. *J. Clin. Invest.*, 60: 43-50, 1977.
67. Patsch, W., Schonfeld, G., Gotto, A.M., Jr., and Patsch, J.R.: Characterization of human high density lipoproteins by zonal ultracentrifugation. *J. Biol. Chem.*, 255: 3178-3185, 1980.
68. Avogaro, P., Bon, G.B., Cazzolato, G., and Quinci, G.B.: Are apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis?. *Lancet*, I : 901-903, 1979.
69. Albers, J.J., Cheung, M.C., and Hazzard, W.R.: High-density lipoproteins in myocardial infarction survivors. *Metabolism*, 27 : 479-485, 1978.
70. Berg, K., Borresen, A.L., and Dahlen, G.: Serum-high-density-lipoproteins and atherosclerotic heart-disease. *Lancet*, I : 499-501, 1976.
71. Bradby, G. V. H., Valente, A.J., and Walton, K.W.: Serum high-density-lipoproteins in peripheral vascular disease. *Lancet*, II : 1271-1274, 1978.