

原 著

食後血中トリグリセリド値上昇は小腸ALPアイソザイム活性値と相關する —分泌・非分泌ABO式血液型を含めた考察—

菊野 晃^{1,2)}, 中野 貴成²⁾, 松下 誠³⁾, 浜田 節雄⁴⁾,
前島 静顕⁴⁾, 渡辺 伸一郎¹⁾, 井上 郁夫⁵⁾, 片山 茂裕⁵⁾

1)東京女子医科大学病院 中央検査部 2)埼玉医科大学 医学部 生化学

3)埼玉県立大学 健康福祉学科 4)蓮田病院 外科

5)埼玉医科大学 医学部 内分泌・糖尿病内科

Elevated post-prandial triglyceride concentrations accord to the activity of intestinal alkaline phosphatase isozyme in human—Concerning with the ABO blood group secretor and their non-secretor—

Akira Kikuno^{1,2)}, Takanari Nakano²⁾, Makoto Matsushita³⁾, Setsuo Hamada⁴⁾, Shizuki Maejima⁴⁾, Shinichiro Watanabe¹⁾, Ikuo Inoue⁵⁾, Shigehiro Katayama⁵⁾

Twenty five healthy subjects and 24 obese subjects were taken a normal meal and a high-fat meal, and the blood triglyceride (TG) concentration and intestinal alkaline phosphatase (IAP) activity of these subjects were measured before and after the meal.

Comparing the normal-meal subjects and the high-fat meal subjects, it was found that the high-fat meal subject group was higher than the normal-meal subject group in the TG concentration; 25.4% for the healthy subjects and 31.8% for the obese subjects ($p < 0.01$ in bothcases). In addition, it was found that the high-fat meal subject group was higher than the normal-meal subject group for the intestinal alkaline phosphatase (IAP) activity; 13.9% in the healthy subjects and 25.9% in the obese subjects ($p = 0.08$ and 0.03, respectively).

Regarding the IAP activity, some difference was found between A and B, A and O blood groups ($p < 0.05$) for the healthy subjects, and a significant difference was found between A and B, A and O, AB and B, AB and O blood groups for the obese subjects ($p < 0.01$).

The correlation coefficient between the TG concentration and the IAP activity was the same value as 0.15 for A and AB, and 0.89 for B and O blood groups in the normal-meal subjects, and the same value as 0.46 for A and AB, and 0.91 for B and O blood groups in the high-fat meal subjects. In the subjects have taken the normal-meal and high-fat meal, B and O blood groups had a higher correlation to the TG and IAP levels, than those of A and AB blood groups.

Taken together, it was suggested that the increased IAP activity and the TG metabolism were strongly associated with each other in ABO blood group secretors. For the decreased abdominal circumference, TG and IAP values before and after eicosapentaenoic acid (EPA) administration, the B and/or O blood group secretors were remarkable compared with the non-secretor of B and the O blood groups.

J Saitama Medical University 2010; 36: 119-124

(Received May 21, 2009 / Accepted December 17, 2009)

Keywords:ABO blood group; high-fat meal; Chylomicron; Intestinal alkaline phosphatase; Triglyceride; Eicosapentaenoic acid ; the B and/or O blood group secretor

*著者: 東京女子医科大学病院 中央検査部, 〒162-8666 東京都新宿区河田町8-1

E-mail:a-kikuno@ka2.so-net.ne.jp Tel. 03-3353-8111 (内線36423) [平成21年5月21日受付 / 平成21年12月17日受理]

緒 言

小腸型アルカリ性ホスファターゼ(IAP; orthophosphoric monoester phosphohydrolase, EC 3.1.3.1)は主に小腸粘膜の上皮刷子縁に局在する^{1,2)}。本酵素はGPI-anchor結合を介して微絨毛の膜に存在する³⁾。高脂肪食後で、IAPは、脂質と共にゴルジ装置を介してリボゾーム中でユニラメラ膜様のsurfactant-like particlesの一部として産生され、脂質投与によりその生産を増強する²⁾。その後、apoB-48を含むTGリッチな脂肪滴を取り囲みながら、上皮細胞へ移動し⁴⁾、中心乳ビ腔に分泌され、脂肪滴から分離されていく⁵⁾。このことにより、脂肪の過剰摂取が血清中TG及びIAP値を上昇させる⁶⁾といわれる。実際に中野らは、食後に脂質代謝、特にchylomicron代謝とIAP活性が密接に関与すると報告した⁷⁾。

また、これまで、いくつか、血清中IAP値がABO血液型及びその非分泌型並びに分泌型によって活性に影響を及ぼすことが報告してきた。分泌型は唾液や精液の中でABO血液型抗原が多く産生されるが、非分泌型はナンセンス変異によりSe酵素(FUT2)が不活性化するためほとんどABO血液型抗原が産生されない⁸⁾。DomerらはA, AB型(分泌型)のヒトのIAP活性値が、B, O型(非分泌型)より1/3低かったと報告した⁹⁾。

今回、著者らは、食事の量つまり、脂肪摂取量を変化(通常食と高脂肪食)させ、IAP活性が脂質代謝へ及ぼす影響を解析することを目的とし、肥満者と健常者について、それぞれ血中TG濃度及びIAPアイソザイム活性値を血液型別にその関連性を検討した。

対象と方法

1. 対 象

高脂血症以外の既往歴がない、埼玉県立大学のボランティア(19~22歳-10名)、蓮田病院通院の患者(32~58歳-29名)、及び埼玉医科大学保健医療学部のボランティア(18~22歳-10名)49例についてinformed consentをとり、健常者25例(A型8例、AB型3例、B型8例、O型6例)、肥満者24例(A型7例、AB型3例、B型7例、O型7例)を研究の対象とした。肥満者の診断基準は、腹囲が男性は85cm以上、女性は90cm以上とした。

12時間絶食の後、10分間で食事を取り、5時間後に採血し、使用時まで-80°Cで凍結保存した。対象者全員に普通食と高脂肪食を日を改めて採ってもらい、それぞれ普通食群、高脂肪食群とした。

2. 方 法

(1) 採血時間の設定

食事後の採血時間を設定するため、血液型別に血中TG及びIAP値の経時変化を検討した。

(2) 健常者と肥満者における普通食と高脂肪食摂取後

の差の解析

健常者と肥満者における通常食と高脂肪食後の血中TG及びIAP活性値(Mean ± 2SD)と差(%)を算出し、各ABO血液型間で比較検討した。

(3) 健常者と肥満者におけるTG値とIAP値の相関

健常者と肥満者をA, AB型群とB, O型群に別け、TG値とIAP活性値の相関係数(ピアソンの相関係数)を算出し検討した。

(4) エイコサペンタエン酸(EPA)とfenofibrate(fib)の服用効果

B, O型の分泌型(各2例)及び非分泌型(各2例)のヒトにエイコサペンタエン酸(EPA)と、B, O型の分泌型(各2例)のヒトにfenofibrate(fib)を毎食当たり300mg-3ヶ月間服用させ、腹囲、TG及びIAP値を服用前後で比較した。

(5) 統計学的解析

統計学的処理は平均値±標準偏差または95%信頼区間で記載し、平均値の差の検定にはt-testとKruscal-Wallis検定を用い、p<0.05を有意差ありとした。統計処理ソフトはStatView 4.5 (Abacus Concept社)を使用した。

TG値の測定は、酵素法(グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5ジメトキシアリン法、遊離グリセリン消去法、自動分析法)を用いた。

総血清ALP活性値はALP活性測定キット「ラボアッセイTM ALP」(和光純薬)によって測定した。

IAP活性値は、電気泳動法(AlkPhor-kit、常光)によってALP isozyme分画¹⁰⁾し、総ALP活性値から比率割合で活性を算出した。

全ての検査は対象者の同意確認の上で行われ実施した。

結果

(1) 採血時間の設定

トリグリセリド(TG)値は食後5時間後にピークがあり、食前の3倍~4倍上昇した。また、小腸アルカリ性フォスファターゼ(IAP)活性も食後3時間から5時間後に食前の3倍~3.5倍上昇したので、採血時間は食後5時間後とした。

(2) 健常者と肥満者における普通食と高脂肪食摂取後の変動の解析

解析データを表1に示した。

① 通常食群と高脂肪食群の平均値±2SD

TG値は肥満者で高脂肪食群(451.8±82.2)が最も高く、次に肥満者で通常食群(308.0±58.3)、健常者で高脂肪食群(204.2±69.4)、健常者で通常食群(152.2±50.6)の順であった。IAP活性値は肥満者で高脂肪食群(80.3±16.2)が最も高く、次に肥満者で通常食群(57.6±26.4)、健常者で高脂肪食群

(44.6 ± 69.4), 健常者で普通食群 (37.5 ± 11.4) の順であった。

②通常食群と高脂肪食群の差の検討

健常者において通常食をとった群と高脂肪食をとった群でそれぞれのTG値を比較すると、高脂肪食群が通常食群に比べ25.4% (男性 25.7%, 女性 25.0%) 高く、肥満者でも同じく高脂肪食群が31.8% (男性 30.2%, 女性 31.4%) 高かった (いずれも $p < 0.01$)。また、男女差は認められなかった。各血液型でみると、健常者の全血液型は25.1 ~ 25.7% (いずれも $p < 0.01$)、肥満者は29.7 ~ 35.1% (いずれも $p < 0.01$) で高脂肪食群が高かった。

一方、IAP活性値は健常者は高脂肪食群が13.9% (男性 11.9%, 女性 16.4%), これに対して、肥満者は高脂肪食群が食事前群に比較して25.9% (男性 25.1%, 女性 26.3%) 高かった ($p = 0.08$ 及び 0.03)。また、男女差はほとんど認められなかった。血液型では、健常者のA型及びAB型は5.5%, 5.6% ($p < 0.01$)

及び0.08), B型及びO型で20.3%, 20.5% (いずれも $p < 0.01$), 一方、肥満者のA, AB, B型及びO型は 20.2%, 20.1%, 30.0%, 30.2% (いずれも $p < 0.01$) の順で高脂肪食が高かった。

③各血液型間での統計学的検討

TG値(図1-A)は健常者で通常食群、健常者で高脂肪食群、肥満者で通常食群、肥満者で高脂肪食群での各血液型による差は認められなかった。IAP活性(図1-B)は、健常者で通常食群及び健常者で高脂肪食群は、A-B, A-O型間で差が認められ ($p < 0.05$), 肥満者で通常食群はA-B, A-O, AB-B型間 ($p < 0.01$), 肥満者で高脂肪食群A-B, A-O, AB-B, AB-O型間で有意差が認められた ($p < 0.01$)。

④健常者と肥満者におけるTG値とIAP活性値の相関

図2に示す如く、TG値とIAP活性値の相関係数は通常食群は、A, AB型が0.15, B, O型が0.89, 高脂肪食群はA, AB型が0.46, B, O型が0.91であった(図2-b)。

④EPAとfibの服用効果

表1. Associations of blood groups with serum levels of TG and IAP before and after a standardized high-fat meal

① (normal meal of mean ± SD) / (high-fat meal of mean ± SD) × 100

② Significant differences among ABO blood groups were evaluated by the t-test. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

Healthy subjects	n (men)	meals	TG (mg/dl)			IAP(IU/l)		
			Mean ± SD	percentages of increase ① of the average	p value ②	Mean ± SD	percentages of increase ① of the average	p value ②
Total	25 (14)	normal meal	152.0 ± 50.6	25.4	**	37.5 ± 11.4	13.9	*
		high-fat meal	204.2 ± 69.4			44.6 ± 16.2		
A	8 (4)	normal meal	141.0 ± 57.3	25.2	**	26.6 ± 7.4	5.5	**
		high-fat meal	188.5 ± 76.4			28.1 ± 7.6		
AB	3 (3)	normal meal	141.0 ± 40.4	25.1	*	34.0 ± 5.2	5.6	*
		high-fat meal	188.3 ± 54.0			36.0 ± 5.2		
B	8 (3)	normal meal	156.8 ± 56.0	25.5	**	45.3 ± 7.2	20.3	**
		high-fat meal	211.1 ± 77.7			56.8 ± 9.0		
O	6 (4)	normal meal	166.0 ± 46.1	25.7	**	43.3 ± 11.5	20.5	**
		high-fat meal	224.0 ± 57.3			54.8 ± 14.7		

Obese subjects	n (men)	meals	TG (mg/dl)			IAP(IU/l)		
			Mean ± SD	percentages of increase ① of the average	p value ②	Mean ± SD	percentages of increase ① of the average	p value ②
Total	24 (14)	normal meal	308.0 ± 58.3	31.8	**	57.6 ± 26.4	25.9	*
		high-fat meal	451.8 ± 82.2			80.3 ± 40.1		
A	7 (4)	normal meal	274.3 ± 41.6	34.4	**	27.9 ± 4.2	20.2	**
		high-fat meal	419.0 ± 69.0			34.9 ± 4.9		
AB	3 (2)	normal meal	302.0 ± 48.0	35.1	**	31.7 ± 2.1	20.1	**
		high-fat meal	465.3 ± 73.8			39.7 ± 3.1		
B	7 (4)	normal meal	326.3 ± 58.9	30.0	**	80.6 ± 3.6	30.0	**
		high-fat meal	466.1 ± 84.4			115.1 ± 5.0		
O	7 (4)	normal meal	326.1 ± 70.5	29.7	**	75.6 ± 16.5	30.2	**
		high-fat meal	464.6 ± 102.0			108.1 ± 23.3		

表2に示す如く、EPA服用ではB, O型の分泌型と非分泌型のヒトの平均腹囲減少率は14.5, 11.7%と3.8, 4.0%, TG平均減少率は35.0, 29.2%と14.5, 18.0%, IAP平均減少率は66.3, 63.5%と5.0, 5.6%と、いずれも分泌型が非分泌型より値が高かった。fib服用では対象数を若干増やして確認する必要があったが、B,

O型の分泌型のヒトでは腹囲、TG値、およびIAP値はほとんど変化がなかった。

考察

従来よりIAPはアルカリ性ホスファターゼアイソザイムの一つでABO血液型分泌型との関連性が深く、

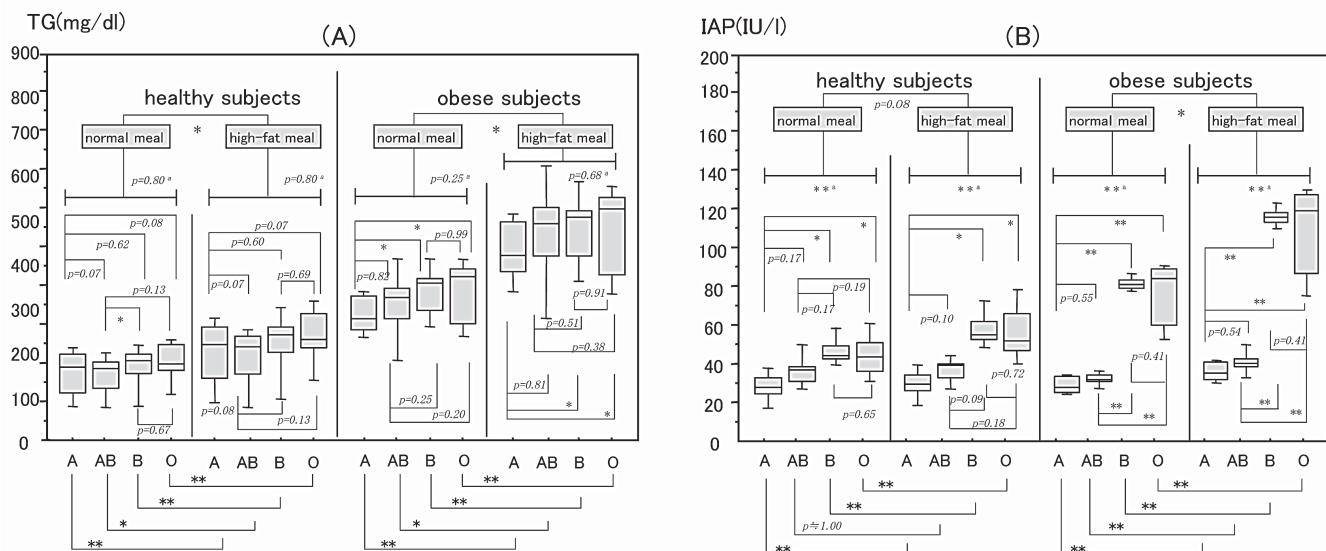


図 1. Associations of ABO blood groups with serum TG (A) and IAP levels (B). The data were divided into ABO blood groups and they were shown as box plots. The center, the top, and the bottom boxes represent the median, 75th percentile, and 25th percentile of the data, respectively. Error bars indicate the 10th and 90th percentiles of the data. Significant differences among ABO blood groups were evaluated by Kruskal-Wallis Test (** a : p < 0.01) and the t-test. (* p < 0.05; ** p < 0.01)

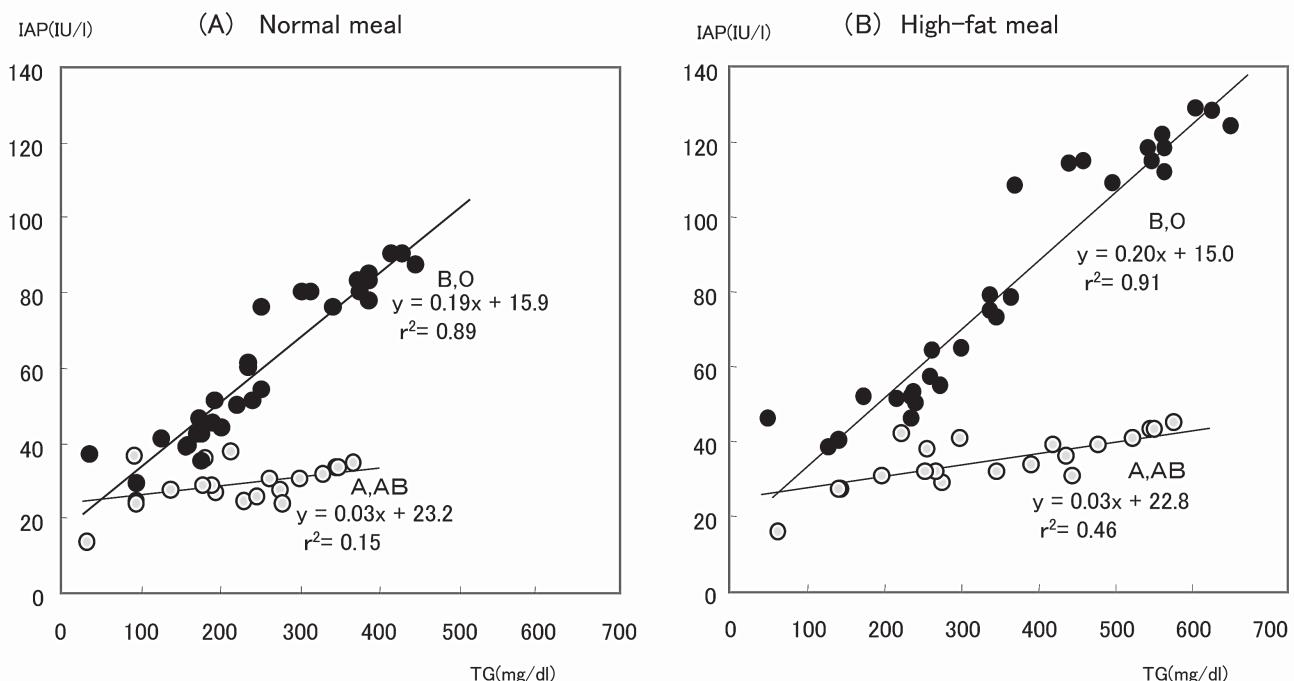


図 2. The correlation between the TG concentrations and the IAP activities in the healthy subjects and in obese subjects. All data can be divided into A and AB group, and the B and O group with the tested subjects. The coefficient value of correlations are obtained from the TG concentrations and IAP activities.

臨床的意義として肝硬変や糖尿病の患者で上昇するといわれ、動物やヒトの肝臓^{11,12)}、及びヒトの各臓器で代謝される¹²⁾ことがわかっているが、脂質代謝と深く関連していることが古くより知られている。ヒトIAPは電気泳動によって、移動度の遅いバンド720 kDaと速いバンド¹³⁾、150 kDaとに分画される。そして半減期は遅いバンドは7.5 h、速いバンドは1.5 hと5倍の違いがある¹³⁾。これはIAPのisozymeのisoformの違いによってその生理学的意義が異なる事を示唆する。

一方、Bayerらは、IAPの赤血球への吸着力はヒト赤血球A型抗原量によって血中に含まれるIAP量が調節され、結果としてA型においては血中におけるIAP活性値が、B型とO型に比べてより低いので、IAPがより早く代謝されるのではないかと仮定した¹³⁾。つまり、血液型A、AB型のヒトがB、O型のヒトよりIAPの血流中での残存率が低く、結果的に血中IAP活性値も低値となる。

また、同じB型のヒト間でも分泌型、非分泌型においてTGとIAP活性値に差が認められるが、これは、Malagelada¹⁴⁾やDomar¹⁵⁾らの成績と一致している。我々は赤血球上のABO抗原にIAPが結合する可能性が低いと報告した事¹⁶⁾を考慮すると、非分泌型ではABO血液型に依存する高分子型IAP isoform(HIAP)が存在せず、通常の酵素活性の低いIAP(NIAP)によってTG代謝が進むのに対して、分泌型ではABO血液型に依存するHIAPの存在に加え、酵素活性の高いNIAP^{7,16)}によってTGの生体への取り込みが促進されたと考える。つまりABO血液型の非分泌型と分泌型ではIAP産生量が異なり、特に高脂肪食でもその産生量変化が起こらないHIAPよりも、高脂肪食で激増するNIAP^{10,16)}によって、chylomicron産生が亢進することが予測される。

今回われわれはTGの代謝促進剤であるEPAとfibが分泌型、非分泌型のヒトに与える服用効果はについて

も検討した。B、O型の分泌型及び非分泌型のヒトにEPAまたはfibを一日当たり300 mg-3ヶ月間服用させ、腹囲、TG、IAP及びapoB-48値を服用前後で比較したところ、EPAでは腹囲、TG、IAP及びapoB-48値いずれも分泌型が非分泌型より上記の値の減少率が高く、より服用効果があることが解った。しかしながら、fib服用では上記値がほとんど変化しなかった。つまり、fibは肝臓中のVLDLのTG代謝に関連し¹⁷⁾、EPAは小腸のchylomicron中のTG代謝に関与する¹⁸⁾と考えられ、今回の結果とDomarらの成績¹⁵⁾を加味すると、血液型BとOの分泌型のヒトでは脂肪吸収に関与するNIAP誘導が高脂肪食によって著増し、高chylomicron由来のTGが増加して、結果として高脂血症やメタボリックシンドロームになる確率が高く、またその治療効果にはchylomicron代謝を制御するEPA服用がより適切ではないかと推測される。

本研究では男女別の統計的区別は行っていないが、図2のIAPとTGの相関を見る限り、相関性は良かったので男女差はほとんど無いと考えられた。

最後に、臨床の現場では空腹時のIAP活性やTG測定には、朝食を摂ってきた患者に、昼前後に採血を行う事がしばしば散見されるが、IAP活性やTG値は食後3-5時間後、最大値となることから臨床家には、この点を注意して採血、成績判定を薦めたい。

結論

健常者と肥満者を血液型別に分け、脂肪摂取量を変化(通常食と高脂肪食)させ、食事前後で血中TG濃度及びIAP活性を測定したところ、体型が肥満者ほど、また脂肪摂取量が多いヒトほどTG濃度及びIAP活性は高かった。

またIAP活性は健常者ではA-B、A-O型間で、肥満者はA-B、A-O、AB-B、AB-O型間で、有意差がある事が

表2. Decreased in circumference, TG, IAP for the ABO blood group secretors after administration of eicosapentanoenoic acid or phenofibrate as described in Materials and Methods

	Subjects	abdominal circumference	TG	IAP
EPA	B non-secretor	-3.8%	-14.5%	-5.0%
	O non-secretor	-4.0%	-18.0%	-5.6%
	B secretor	-14.5%	-35.0%	-66.3%
	O secretor	-11.7%	-29.2%	-63.5%
Fib	B secretor	-2.1%	-0.5%	-1.5%
	O secretor	-1.0%	0.0%	-3.8%

確認された。

興味深いことに、血液型BとO型はTG値とIAP活性値で高い相関性を示し、特に高脂肪食後では、血液型に関係なく全員がTG値とIAP活性値が強い相関性を示した。

よってABO血液型分泌型とIAP活性及びTG代謝はお互いに強く関連していることが証明できた。

謝辞

本研究の実験指導または論文校閲をして頂いた、埼玉医科大学の菰田二一元教授に深謝の意を表します。又、埼玉医科大学保健医療学部の故 小山岩雄教授に謝意を申し上げます。

引用文献

- 1) U. Domar, B. Nilsson, V. Baranov, U. Gerdes, T. Stigbrand. Expression of intestinal alkaline phosphatase in human organs , *Histochemistry* 1992;98:359-64.
- 2) Y. Zhang, J.S. Shao, Q.M. Xie, D.H. Alpers. Immunolocalization of alkaline phosphatase and surfactant-like particle proteins in rat duodenum during fat absorption, *Gastroenterology* 1996;110:478-88.
- 3) R. Eliakim, M.J. Becich, K. Green, D.H. Alpers. Both tissue and serum phospholipases release rat intestinal alkaline phosphatase, *Am.J. Physiol.* 1990;259:G618-25.
- 4) A. Mahmood, J.S. Shao, D.H. Alpers. Rat enterocytes secrete SLPs containing alkaline phosphatase and cubilin in response to corn oil feeding, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2003;285: G433-41.
- 5) D.H. Alpers, A. Mahmood, M. Engle, F. Yamagishi, K. DeSchryver-Kecskemeti. The secretion of intestinal alkaline phosphatase (IAP) from the enterocyte, *J. Gastroenterol.* 1994;29(Suppl.7):63-7.
- 6) A.P. Day, M.D. Feher, R. Chopra, P.D. Mayne. Triglyceride fatty acid chain length influences the post prandial rise in serum intestinal alkaline phosphatase activity, *Ann. Clin. Biochem.* 1992;29(Pt 3):287-91.
- 7) T. Nakano, T. Shimanuki, M. Matsushita, I. Koyama, I. Inoue, S. Katayama, D.H. Alpers, T. Komoda. Involvement of intestinal alkaline phosphatase in serum apolipoprotein B-48 level and its association with ABO and secretor blood group types, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006;341:33-8.
- 8) R.J. Kelly, S. Rouquier, D. Giorgi, G.G. Lennon, J.B. Lowe. Sequence and expression of a candidate for the human secretor blood group alpha(1,2)fucosyltransferase gene (FUT2). Homozygosity for an enzyme-inactivating nonsense mutation commonly correlates with the non-secretor phenotype, *J. Biol. Chem.* 1995;270:4640-9.
- 9) U. Domar, K. Hirano, T. Stigbrand. Serum levels of human alkaline phosphatase isozymes in relation to blood groups, *Clin. Chim. Acta* 1991;203:305-13.
- 10) M. Matsushita, T. Irino, T. Stigbrand, T. Nakajima, T. Komoda. Changes in intestinal alkaline phosphatase isoforms in healthy subjects bearing the blood group secretor and non-secretor, *Clin. Chim. Acta* 1998;277:13-24.
- 11) G.P. Young, I.S. Rose, S. Cropper, S. Seetharam, D.H. Alpers. Hepatic clearance of rat plasma intestinal alkaline phosphatase, *Am.J. Physiol.* 1984;247: G419-26.
- 12) T. Komoda, Y. Sakagishi, T. Sekine. Multiple forms of human intestinal alkaline phosphatase: chemical and enzymatic properties, and circulating clearances of the fast- and slow-moving enzymes, *Clin. Chim. Acta* 1981;117:167-87.
- 13) P.M. Bayer, H. Hotschek, E. Knoth. Intestinal alkaline phosphatase and the ABO blood group system-a new aspect, *Clin. Chim. Acta* 1980;108:81-7.
- 14) J.R. Malagelada, L.L. Stolbach, W.G. Linscheer. Influence of carbon chain length of dietary fat on intestinal alkaline phosphatase in chylous ascites, *Am. J. Dig. Dis.* 1977;22:629-32.
- 15) U. Domar, F. Karpe, A. Hamsten, T. Stigbrand, T. Olivecrona. Human intestinal alkaline phosphatase-release to the blood is linked to lipid absorption, but removal from the blood is not linked to lipoprotein clearance, *Eur. J. Clin. Invest.* 1993;23:753-60.
- 16) M. Matsushita, T. Irino, K. Oh-ie, T. Komoda. Specific gel electrophoresis method detects two isoforms of human intestinal alkaline phosphatase, *Electrophoresis* 2000;21:281-4.
- 17) D. Petit, M.T. Bonnefis, C. Rey, R. Infante. Effects of ciprofibrate and fenofibrate on liver lipids and lipoprotein synthesis in normo-and hyperlipidemic rats, *Atherosclerosis*. 1988;74:215-25.
- 18) Y. Park, W.S. Harris. Omega-3 fatty acid supplementation accelerates chylomicron triglyceride clearance, *J. Lipid Res.* 2003;44:455-63.