

イオン交換高速液体クロマトグラフィーを
用いたホルスタイン種成乳牛の
リポタンパク質分画測定の有用性の検討

(Analysis of cholesterol lipoprotein separations
in Holstein dairy cattle
by anion-exchange high-performance liquid chromatography)

学位論文の内容の要旨

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科
獣医保健看護学専攻博士後期課程平成 26 年入学

高 橋 知 也

(指導教員：左向 敏紀)

乳牛は分娩前後を中心に脂質代謝が盛んに行われる。近年、ヒトおよびウサギにおいてイオン交換高速液体クロマトグラフィー(AEX-HPLC)法で高密度リポタンパク質(HDL-C)、低密度リポタンパク質(LDL-C)、中間密度リポタンパク質(IDL-C)および超低密度リポタンパク質(VLDL-C)といったリポタンパク質分画を迅速かつ正確に測定できるようになった。しかしウシにおいてAEX-HPLC法による解析は応用されていない。

本研究ではAEX-HPLC法によるウシのリポタンパク質分画測定の基礎的検討を行った。HDL-CおよびLDL-Cは、クロマトグラムにおいて溶出分画が明確に分離され、同時および日差再現性においてCVs 10%未満と良好な結果が得られ、希釈直線性において良好な直線が描かれた。またAEX-HPLC法と超遠心分離法およびゲルろ過(GP-)HPLC法と測定値を比較したところ、有意な正相関が確認された。以上のことから、AEX-HPLC法を用いて、ウシのリポタンパク質分画の測定は有用であることがわかった。

次にAEX-HPLC法を用いて宮城県内の泌乳量および繁殖成績に優れたS酪農家と両成績が不良なI酪農家で飼養された牛群の間で泌乳ステージごとのリポタンパク質分画に違いがあるか比較した。LDL-CのTotal-Cに占める割合(LDL-C/Total-C、%)は2酪農家間で有意な違いが認められ、S酪農家では、泌乳初期から泌乳中期にかけて上昇し、泌乳後期以降低下した。一方、I酪農家では、泌乳初期から乾乳期まで大きな変動を示すことなく推移した。S酪農家とI酪農家との間にLDL-C/Total-Cに大きな違いが見られたのは、S酪農家における泌乳量の増加により、乳腺への中性脂肪(TG)の運搬が盛んに行われる結果、VLDL→IDL→LDLという代謝経路が活性化していることが考えられた。

最後に、分娩前後の脂質代謝に着目し、AEX-HPLC法を用いて健常牛10頭のリポタンパク質分画の推移を観察し参考値を算出した後、周産期疾患発症牛におけるリポタンパク質分画の関連性を調査した。AEX-HPLC法は、超遠心分離法ではできなかった分娩後の肝臓からのTG動員の遅れを検出した。周産期疾患発症牛19頭のリポタンパク質分画測定値を健常牛の推移と比較したところ、脂肪肝群および乳熱群においてHDL-CおよびLDL-Cが低値を示す傾向が認められた。LDL-Cの低値は肝臓からのVLDL-Cによる脂質排出低下を予測し、治療の介入に利用できる可能性が示唆された。