

各科領域における脂質代謝異常

Disorders Characterized by Evidence of Abnormal Lipid Metabolism

第 447 回新潟医学会

日時 平成元年 4 月 15 日 (土) 午後 2 時より

会場 新潟大学医学部研究棟 第 II 講義室

司会 堀 薫教授 (小児科学)

演者 小野輝夫 (第二生化学), 三井田孝 (第一内科), 浅見 直 (小児科), 若松延昭 (脳研究所神経内科)

発言者 佐藤浩和 (第二内科)

司会 シンポジウム「各科領域における脂質代謝異常」と題して御発表をお願い致します。

元来脂肪は水に溶けないものですが、蛋白質と複合体 (リポ蛋白) を作り出すと水溶性になり、transport されます。このことは 1930 年頃から分っていたのですが、その研究が軌道に乗り出したのは戦後、1940 年の後半から 50 年にかけてだと思えます。その端緒になったのは、超遠心分離による chylomicron, LDL, VLDL, HDL などの fraction の発見と、電気泳動による細分化の研究であり、Fredrickson らの仕事があります。さらに最近、この分野の研究は大きく 3 つの流れに分かれて進展していると思えます。1 つは lipoprotein の中で HDL が血中から少くなると、虚血性心疾患の risk factor になり得るということから、臨床的に各種薬剤の開発が進みました。本日の二番目の三井田先生のお話は、恐らくこの辺から新しいデータが出てくるのではないかと思います。もう 1 つの分野は、lipoprotein の protein 部分 (apoprotein) の研究であります。アポ蛋白はその後、アポ蛋白 A, B, C あるいは E という様なものが確認されました。またそれが遺伝的に異常な値を示すものがあ

ることが発見され、脂質代謝異常の因子として注目されて来たと思えます。最近ではアポ蛋白の遺伝子 DNA の解明なども行われております。もう 1 つの流れは、lipoprotein receptor の問題だと思えます。本研究の歴史は未だ浅く、Goldstein などの研究が大きく貢献していると思えますが、細胞表面の糖脂質が、receptor として脂質の transport に関与している訳で、それが遺伝子工学の応用を得て、分子生物学的な面で著しい進歩を遂げてまいりました。本日はこの面での研究の泰斗でいらっしゃる小野先生から先ずお話を頂くこととなりますが、本シンポジウムは広汎多岐に亘る脂質代謝異常に関しオムニバスの、関連性の無い面の研究内容が出てくることも考えられますが、しかしそれらは集約すると、「動脈硬化の研究」ということに絞られるのではないかと思います。現在、確実な動脈硬化のメカニズムおよび治療は解っていないと思うのですが、本日のシンポジウムの中から一步前進の研究結果が聞かれるのではないかと期待しております。それでは早速、「リポ蛋白とレセプター」に就いて第 2 生化学教室、小野教授から述べて頂きたいと思えます。

1) 高コレステロール血症と apo B 異常

新潟大学医学部第二生化学教室 小野輝夫

Hypercholesterolemia and Abnormality of apo B

Teruo ONO

*Department of Biochemistry, Niigata
University School of Medicine*

The class of genetic disorder of LDL-receptor is well established. However, most hypercholesterolemic individuals possess apo B receptors that lack detectable effects. Here mutation in the codon for amino acid 3500 (CGG→CAG) of apo B is presented. It may be a minor apoB-100 allele associated with defective low density lipoproteins and hypercholesterolemia.

Key words: 高コレステロール血症, apo B.

血漿コレステロールはその 2/3 が LDL に存在し、LDL の持つ apoB-100 (apoE) と特異的に結合する細胞表面の LDL (apoB, E) レセプターを介して、細胞内へ取り込まれる。したがって LDL の precursor である VLDL の合成分泌、循環血中での酵素的修飾過程を除けば、冠動脈疾患と相関の高い LDL コレステロール濃度調節とホメオスタシスは、apoB と LDL レセプターの機能により左右されよう。

LDL レセプターの異常を示す疾患については、Brown, Goldstein らの研究で著しく進展した¹⁾。一方 LDL レセプターに異常はないが、高コレステロール血症を示す症例も数多く存在し、その中に最近 Grundy らは apoB-100 のアミノ酸残基へ 3500番目がアルギニンからグルタミンに変異した遺伝子を見出し疾病との関連を報告した²⁾。

1. apoB のポリモルフィズム

度重なる輸血を受けたある患者の血清中に存在するア

ロ型抗体を用い、かなり高頻度に LDL の各種 allelic variants が識別されるようになった³⁾。apoB のアロ型 variants は apoB 遺伝子の DNA ポリモルフィズムと密接に関係している。apoB 遺伝子及び cDNA の塩基配列を決定する努力の中で、塩基置換の見られるものは 60以上を越えこのなかにアミノ酸置換を示すものも数多く知られている。

これまでリポ蛋白質代謝異常と apoB のポリモルフィズムの相関が知られているものに 1) Ag (X⁺) エピトープ及び Ag (X⁻) エピトープを持つ個体を比較すると、前者で血清コレステロール、トリグリセリド値が低く、後者では高い⁴⁾。2) XbaI 制限酵素による Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 解析で、XbaI の site を欠く X1, site を持つ X2 では X1/X1 が血中コレステロール、LDL, apoB 値が低く、X2/X2 のホモ及び X1/X2 のヘテロではいずれも高い値を示し、X2 は優勢で心筋梗塞と正の相関を示す⁵⁾。

Reprint request to Teruo ONO,
Department of Biochemistry,
School of Medicine, Niigata
University, Asahimachidori 1-757,
Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通り 1-757
新潟大学医学部第二生化学教室

小野輝夫

2. 中等度高コレステロール血症

Grundy らは LDL レセプターで少なくとも機能的異常の見出せない原発性中等度高コレステロール血症を示す患者15例のもつ autologous LDL (aLDL) を各々単離し、健常人の homologous LDL (aLDL) と各々をヨード標識して健常人に投与し、LDL の Fractional Clearance Rate (FCR) を測定した。その結果 aLDL 及び hLDL が共に同じ FCR を持つグループAが10例、aLDL が hLDL に比べ有意に低いグループB 5例の二群に大別されることを観察した²⁾⁶⁾。コレステロール合成の阻害剤である mevinolin を投与した場合もグループBでの FCR の差は保持された。これらの結果はグループBの持つ aLDL が正常な LDL レセプターに対しリガンドとして親和性が低く、apoB の異常が推定される。またグループBの aLDL の LDL レセプターに対する結合能は nLDL の32%に過ぎず in vitro assay 系での細胞内への取り込み、分解も明らかに低下していた⁷⁾。脱脂した apoB の結合能も脱脂前と変わらずに低下しており、aLDL の異常は LDL の組成や脂質構成に異常があるのではなく apoB-100 自体の構造上の異常が推定された。

3. apoB 異常の解析

グループBの aLDL について 1) apoB-100 のN-末端の半分 (apoB-48 に相当) は LDL レセプターと結合できない 2) LDL レセプターの LDL 結合を阻害する抗体のエピトープが apoB 遺伝子の exon26 でコードされる蛋白のC-末端 1/3 に局在しているこれまでの結果を参考に、apoB のC-末端半分について DNA 遺伝子の塩基配列を調べると共に変異についての家系の検討が行われた。その結果 aLDL を採取した家系G. R. では defect は heterozygous で2つの apoB alleles の双方に起きず片方だけに起こる置換が defective LDL の原因と関係していた²⁾。この中からN-末端から数えて3500番目のアミノ酸がアルギニン (CGG) のものとグルタミン (CAG) を示す halotype をそれぞれ決定できた²⁾。更に血縁関係のない幾組かの probands 及びその血縁者から aLDL を得、genomic DNA, cDNA の部分塩基配列決定と variants の任意での制限酵素消化で構造を構築した結果R→Qに変異した同じ halotype (mutant allele) を同定した。これらの症例はいずれもポリモルフィックな XbaI site を欠き恐らく minor X1 variant の allele と推定される。

4. 考 察

mutant allele の完全な塩基配列が決定されていない

ので3500番目のアミノ酸のR→Qが LDL の LDL レセプターへの defective binding と直接関係しているかどうかは全長の apoB 遺伝子による発現実験の結果を待ちたい。

R→Qで示されるコドン CGG→CAG への変異は高等動物ではよく知られ CG ジヌクレオチドは潜在的な変異の hot spot で hypermutability は通常の10~20倍と算出されている。その原因として 1) アデニンの 5' と g 側上のシトシンのメチル化 2) 5-メチルシトシンのチミンへの自然に起こる脱アミニ化などが考えられる⁸⁾。これと同じような例は Factor V IIIでも知られている。

LDL レセプターに対する apoB の結合ドメインが exon26 にあると推定する根拠として 1) この exon の中に塩基性アミノ酸がストレッチした2つの配列がある 2) そのうちの1つは apoE の結合ドメインと相同性が高い 3) 結合を阻害する各種抗体のエピトープはこの領域に map する 4) LDL の表面の変化を認識し LDL レセプターと LDL の結合を阻害するモノクローナル抗体 MB47 のエピトープは塩基性アミノ酸のストレッチの間にあつて nLDL と mutant の親和性の差を識別できR→Q置換によるものと推定される 5) アミノ酸の3500番目も apoB-100 の塩基性アミノ酸残基の cluster 構成要員の可能性などが挙げられよう。

参 考 文 献

- 1) Yamamoto, T., Davis, C.G., Brown, M.S., Schneider, W.J., Casey, M.C., Goldstein, J.L. and Russel, D.W.: Cell, 39: 27~34, 1984.
- 2) Soria, L.F., Ludwig, E.H., Clarke, H.R.G., Vege, G.L., Grundy, S.M. and McCarhty, B.J.: Proc. Natl. Acad. Sci., US, 86: 587~591, 1989.
- 3) Berg, K., Hames, C., Dahlen, G., Frick, M.H. and Krishan, I: Proc. Natl. Acad. Sci., US, 73: 937~940, 1976.
- 4) Tikkanen, M.J.: Adv. Exp. Med. Biol., 210: 55~62, 1987.
- 5) Berg, K.: Clin. Genet., 30: 515~520, 1986.
- 6) Vaga, G.L. and Grundy, S.M.: J. Clin. Invest., 78: 1410~1414, 1986.
- 7) Innerarity, T.S., Weisgraber, K.H., Arnold, K.S., Mahley, R.W., Krauss, R.M., Vege, G.L. and Grundy, S.M.: Proc. Natl. Acad. Sci., US, 84: 6919~6923, 1987.

- 8) Coulondre, C., Miller, J.H., Farabaugh, P.J. and Gilbert, W.: *Nature (London)*, 274: 775~780, 1975.

司会 有難うございました。何か質問はございませんでしょうか。よろしいですか。それでは後刻またご討議頂く事にして、次は、「冠動脈疾患におけるリポ蛋白代謝異常」と題して第一内科の三井田先生お願いします。

2) 冠動脈疾患におけるリポ蛋白代謝異常

新潟大学医学部内科学第一教室 (主任: 柴田 昭教授)

三井田 孝

Abnormal Lipoprotein Metabolism in Coronary Artery Disease

Takashi MIIDA

The First Department of Internal Medicine,

Niigata University School of Medicine

(Director: Prof. Akira SHIBATA)

We examined the relationship between abnormal lipoprotein metabolism and coronary atherosclerosis in 120 patients with angiographically proven coronary artery disease (CAD: 97 males and 23 females, 58.7 ± 7.4 years and 63.0 ± 6.6 years, respectively). The incidence of type II hyperlipidemia was 25.8% in males and 43.5% in females. In the male CAD group, type II hyperlipidemia seemed to be related to the earlier onset of CAD (below 50 years). VLDL and LDL lipid levels were significantly higher in the male CAD group than in the control group ($p < 0.001$). IDL-cholesterol level was significantly higher in the former than that in the latter ($p < 0.05$). Elevated IDL-cholesterol level seemed to be closely associated with type IIb hyperlipidemia. HDL2-cholesterol, HDL2-phospholipid, HDL2-apolipoprotein A-I and HDL3-phospholipid levels were significantly lower in the male CAD group than those in the control group ($p < 0.05$). In the CAD group, HDL2-cholesterol, HDL2-phospholipid and HDL2-apolipoprotein A-I levels were correlated significantly and negatively with serum triglyceride level ($p < 0.05$). These data suggested that abnormal lipoprotein metabolism might be one of the promotive factors of coronary atherosclerosis.

Key words: coronary artery disease, coronary angiography, lipoprotein, apolipoprotein.
冠動脈疾患, 冠動脈造影, リポ蛋白, アポ蛋白.

Reprint requests to: Takashi MIIDA,
The First Department of Internal
Medicine, Niigata University School
of Medicine Niigata City, 951 JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部内科学第一教室

三井田 孝