

Title	家族性高コレステロール血症におけるLDLレセプター変異の解析
Author(s)	船橋, 徹
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/36480
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	ふな 船	はし 橋	とある 徹
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	8 3 2 7	号
学位授与の日付	昭和 63 年 8 月 9 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当		
学位論文題目	家族性高コレステロール血症における LDL レセプター変異の解析		
論文審査委員	(主査)		
	教 授	垂井清一郎	
	(副査)		
	教 授	吉川 寛	教 授 藪内 百治

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

虚血性心疾患を高率に発症し、動脈硬化のモデル疾患と考えられる家族性高コレステロール血症 (familial hypercholesterolemia, FH) は、低比重リポ蛋白質 (low density lipoprotein, LDL) レセプターの欠損により発症する頻度の高い遺伝疾患である。LDL レセプターは120kD (kilodalton) の前駆体として合成され、ゴルジ体で糖鎖の付加をうけ160kD の成熟レセプターとなり、細胞表面で LDL を結合して細胞内に取り込まれる。FH における LDL レセプター異常は多様な変異からなることが徐々に明らかになってきている。我々は本邦における変異の特徴を明らかにするために多数の日本人 FH ホモ接合体における LDL レセプターの生合成過程を検討しその変異の特徴を明らかにすると共に新しい変異を見いだした。

〔方法ならびに成績〕

16家系 (21例) の FH ホモ接合体から得られた皮膚繊維芽細胞を用いて以下の検討を行った。

①細胞表面 LDL レセプター活性の測定：細胞を10%牛胎児血清を含む MEM 培地で培養後、リポ蛋白除去培地で48時間培養して LDL レセプター活性を誘導し、Goldstein, Brown の方法により ^{125}I -LDL の結合、取り込み、分解を測定した。②LDL レセプターの合成過程の検討：細胞をリポ蛋白除去培地で24時間培養後、 ^{35}S メチオニンで2時間パルス・ラベルを行い、続いて非標識メチオニン存在下で2時間チェイスした。細胞を1.5% Triton X-100を含む緩衝液で可溶化したのち、抗 LDL レセプター・モノクローナル抗体でレセプター蛋白を沈降分離し、SDS 電気泳動後 fluorography で観察した。

LDL レセプター活性の検討から本邦例の FH ホモ接合体は、 ^{125}I -LDL 結合能が正常の10%以下

の receptor negative type (10家系), ^{125}I -LDL結合能が10-30%の receptor defective type (5家系), ^{125}I -LDL結合能は正常であるが, 細胞内に取り込めない internalization defective type (1家系) に分類された。LDLレセプターの生合成過程を調べると本邦の receptor negative type はさらに, 1) 抗体交叉蛋白が合成されないもの, 2) 合成されても極く微量のもの, 3) 前駆体は形成されるが成熟レセプターへの転換が障害されているものの他に, 新たに4) 成熟レセプターは形成されるがその分子量は155kDと正常より小さいもの, を加えて分類すべきことが明らかになった。155kDのレセプターが合成されていた1家系では2時間のチエイズで成熟レセプターの放射活性は速やかに減少しており, 本家系ではレセプター蛋白の分解が著しく亢進していると考えられた。receptor defective type の5家系では全例で160kDのレセプターが形成されていたが, うち3家系ではレセプターの成熟障害を伴っていた。internalization defective type の1家系では正常よりやや小さい分子量のレセプターが合成されていたが時間とともに培地中に放出され細胞膜への係留が充分でないと考えられた。臨床所見とLDLレセプター変異のタイプとの関連をみると, 血清総コレステロール値, トリグリセリド値は receptor negative group (RN) $687 \pm 150 \text{mg/dl}$, $136 \pm 108 \text{mg/dl}$ に対し receptor defective group (RD) $637 \pm 139 \text{mg/dl}$, $94 \pm 39 \text{mg/dl}$ で両者に差はなかったが, 血清HDL-コレステロール値は receptor negative groupの方が低く (RN vs RD: $27 \pm 7 \text{mg/dl}$ vs $39 \pm 12 \text{mg/dl}$) 虚血性心疾患の頻度は高かった (RN vs RD: 10/13 vs 1/7)。

〔総括〕

我国のFHホモ接合体におけるLDLレセプターの変異には合成, 成熟体への転換, LDLの結合, 細胞内への取り込みの各過程の障害が含まれ, 各変異の頻度は Tolleshaug らの欧米のFHホモ接合体の data と大きな変異は見られず特定の変異の集積は認められなかったが, 本研究で新たなLDLレセプター変異が見いだされた。本変異では細胞表面のLDL結合能は正常の10%以下であり155kDと正常よりやや分子量の成熟レセプターが一旦形成されるが速やかに分解されることが明らかになった。LDLレセプターの分解亢進を示すFHホモ接合体の報告は今までにみられない。receptor defective type は receptor negative type に比し血清コレステロール値に差はなかったが虚血性心疾患の頻度は低く, これは receptor defective type ではLDL異化障害が receptor negative type に比べ軽度であることが関与すると考えられた。

論文の審査結果の要旨

家族性高コレステロール血症 (FH) はLDLレセプターの異常により発症する遺伝疾患である。本論文は多数の日本人FHホモ接合体から得た fibroblast を用い, LDLレセプターの変異を, 特に生合成過程の検討により解析し, 新たに2種の興味深い変異を見いだしたものである。ひとつは, 合成されるレセプターの分子量が正常より5kD小さく, しかもその分解が正常の20倍以上に亢進する変異であり, その結果細胞表面LDLレセプター活性は著しく低下している。第2の変異は, LDL結合能は正

常であるが細胞内に取り込めない internalization defective type で、成熟したレセプターは形成されるが細胞への anchoring が弱く培地中へと速やかに放出されるものである。これらの変異の発見は、F H の新しい亜型の存在を示すのみでなく、レセプター蛋白の構造と機能の解明にも重要な示唆を与えるものと考えられる。