



Title	ENHANCED BINDING OF AN APOLIPOPROTEIN E MUTANT, APO E5, TO LDL RECEPTOR ON HUMAN FIBROBLASTS
Author(s)	董, 黎明
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37315
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	董	黎	明
学位の種類	医	学	博
学位記番号	第	9596	号
学位授与の日付	平成3年3月14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	ENHANCED BINDING OF AN APOLIPOPROTEIN E MUTANT, APO E 5, TO LDL RECEPTOR ON HUMAN FIBROBLASTS		
(変異アポリポ蛋白E-アポE 5-のヒト線維芽細胞のLDLレセプターに対する高結合能)			
論文審査委員	(主査) 教授 垂井清一郎 (副査) 教授 田川 邦夫 教授 萩原 俊男		

論文内容の要旨

(目的)

アポリポ蛋白E(アポE)は超低比重リポ蛋白(VLDL)の主要アポ蛋白成分で、レムナントレセプターやLDLレセプターを介して、リポ蛋白代謝に重要な役割を果たしている。また、アポEには一般人口中にE4, E3, E2の3種のアポEポリペプチドに基づく分子多様性が認められている。LDLレセプターへの結合研究によると、三つのisoformのうち、E2(Arg₁₅₈→Cys)はLDLレセプターにほとんど結合できず、E2のホモ接合体は動脈硬化の合併率の高いⅢ型高脂血症の発症要因となっている。われわれは動脈硬化と高脂血症に関連する2つの新しい変異アポE、すなわちE5(Glu₃→Lys)とE7を明らかにした。本研究では、アポE5の動脈硬化と高脂血症との関連を究明するために、培養皮膚線維芽細胞を用いてアポE5変異アポEのLDLレセプターに対する結合能を検討した。

(方法ならびに成績)

高脂血症症例およびアポE5症例の血清から超遠心法によってVLDLを分離し、有機溶媒で脱脂してアポVLDLを得た。アポE同位体の分離・精製には、可溶化ポリアクリルアミドゲルを用いた調製用等電点電気泳動によって行った。アポE同位体のレセプターへの結合能はInnerarityらの方法に基づき、正常ヒト培養線維芽細胞を用いて、¹²⁵I-LDLとの競合によって測定した。dimyristoylphosphatidylcholine(DMPC)粒子と精製アポE同位体をインキュベート後、密度勾配超遠心法によってアポE・DMPC粒子を作成した。線維芽細胞をリポ蛋白除去血清で培養後、¹²⁵I-LDLと種々の量のアポE・DMPC粒子を添加して、LDLレセプターへの¹²⁵I-LDLの結合量を測定した。アポE同位体のLDLレセプター結合能は¹²⁵I-LDLの結合と50%競合するアポE濃度で表わした。

アポE 5 の LDL レセプター結合能を明確に分析するため、E 2, E 3 と E 5 についていずれもシアル酸を含まないアシアロ・アポE イソ蛋白を分離・精製して実験に用いた。培養液中にアポE・DMP C を 0.1~1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲で添加して実験を行なったところ、すでに報告されているように E 3・D MPC は ^{125}I -LDL とレセプターへの結合を競合するが、E 2・DMP C は競合が認められず LDL レセプターにほとんど結合しないことが観察された。一方、アポE 5・DMP C と E 3・DMP C はどちらも ^{125}I -LDL と競合しているが、もっとも薄い 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度では E 5・DMP C の方がよく競合するようであった。そこで、さらに低濃度の範囲で測定すると E 5・DMP C は E 3・DMP C に比べ、LDL レセプターに対してより強い結合性を示していた。ロジットログ・プロットによりアポE・DMP C のレセプター結合量を直線化し、これから求めた ^{125}I -LDL との 50% 競合濃度は E 3 の 63 ng/ml に対して、E 5 では 29 ng/ml と約半分の濃度で競合し、すなわち E 5 は野生型とされる E 3 より約 2 倍、LDL レセプターへの親和性の高いことが示された。

アポE の LDL レセプターへの結合部位は 136-158 番のアミノ酸残基付近とされ、アポE 5 における変異部位はこれとは異なっている。しかし、この部位以外の部位もレセプター結合に影響を与えることが報告されており、アポE 全体のコンフォメーションの重要性も示唆されている。アポE 5 がレセプターに対して高親和性を示すことより、アポE 5 を含有するリポ蛋白の肝臓への取り込みが亢進し、肝細胞におけるコレステロール・プールの増加が予想される。このため LDL レセプターにダウン・レギュレーションがかかり、その結果血漿 LDL 濃度の上昇を来すものと考えられる。従って、アポE 5 の動脈硬化易発症性にはこのような一面の関与していることが示唆される。

(総括)

1. アポE イソ蛋白を分離・精製し、LDL レセプターへの結合能を検討した。
2. 変異アポE 5 は培養皮膚線維芽細胞の LDL レセプターに対して、野生型のアポE 3 よりも約 2 倍高い親和性を有していた。
3. E 5 症例ではアポE 5 含有リポ蛋白の取り込みが亢進することによって LDL の異化が遅延し、高 LDL 血症へと導かれ、これが動脈硬化易発症性と関連していることが示唆される。

論文審査の結果の要旨

本研究は新しく発見されたアポリポ蛋白E変異種、アポE 5 の LDL レセプターへの親和性を明らかにし、高脂血症、動脈硬化症への関与機構を解明したものである。すなわち、アポE 5 は野生型のアポE 3 より LDL レセプターに対する親和性が約 2 倍高いことを実証した。このことから、アポE 5 を含有するリポ蛋白の肝臓への取り込みが亢進し、肝臓でのコレステロール・プールの増加によって LDL レセプターにダウン・レギュレーションを起こし、高 LDL 血症へと導かれる。この結果、アポE 5 が動脈硬化の危険因子となることを指摘したものである。アポ蛋白E の変異による高コレステロール血症の成因を明らかにした興味ある知見であり、学位に値すると判断される。