Osaka University Knowledge Archive

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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【95】

氏名・(本籍)	董(とう)　黎(れい)　明(めい)
学位の種類	医　学　博　士
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 E5, TO LDL RECEPTOR ON HUMAN FIBROBLASTS (変異アポリポ蛋白E－アポE5－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　荻原　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（Arg_{158}→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（Glu_3→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，^{125}I－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，^{125}I－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^{125}I－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^{125}I－LDLの結合と50%競合するアポE濃度で表わした。

アポＥ５のＬＤＬレセプター結合能を明確に分析するため，Ｅ２，Ｅ３とＥ５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・ＤＭＰＣを0.1～1.0μg／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Ｅ３・ＤＭＰＣは^{125}Ｉ－ＬＤＬとレセプターへの結合を競合するが，Ｅ２・ＤＭＰＣ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Ｅ５・ＤＭＰＣとＥ３・ＤＭＰＣはどちらも^{125}Ｉ－ＬＤＬと競合しているが，もっとも薄い0.1μg／mlの濃度ではＥ５・ＤＭＰＣ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Ｅ５・ＤＭＰＣはＥ３・ＤＭＰＣ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。ロジットーログ・プロットによりアポＥ・ＤＭＰＣ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Ｅ３の63ng／mlに対して，Ｅ５では29ng／mlと約半分の濃度で競合し，すなわちＥ５は野生型とされるＥ３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Ｅ５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Ｅ５がレセプターに対して高親和性を示すことより，アポＥ５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Ｅ５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Ｅ５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Ｅ３よりも約２倍高い親和性を有していた。

３．Ｅ５症例ではアポＥ５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Ｅ５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Ｅ５は野生型のアポＥ３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Ｅ５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Ｅ５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。