

Title	Expression and Functional Analyses of Novel Mutations of ATP-Binding Cassette Transporter-1 in Japanese Patients with High-Density Lipoprotein Deficiency
Author(s)	西田, 義治
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43737
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"＞ 大阪大学の博士論文について ＜/a＞ をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	にし だ よし はる 西 田 義 治
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 6 8 3 1 号
学位授与年月日	平成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Expression and Functional Analyses of Novel Mutations of ATP-Binding Cassette Transporter-1 in Japanese Patients with High-Density Lipoprotein Deficiency (日本人の高比重リポ蛋白欠損症患者に新規に発見された ATP-Binding Cassette Transporter-1 変異体の発現および機能解析)
論文審査委員	(主査) 教授 松澤 佑次 (副査) 教授 高井 義美 教授 荻原 俊男

論 文 内 容 の 要 旨

【背景と目的】

多くの疫学的研究において、高比重リポ蛋白 (HDL) コレステロールと虚血性心疾患の有病率との間に負の相関が認められており、HDL は動脈硬化防御作用を有すると考えられる。HDL を介した動脈硬化防御機構として最も重要であると考えられるのが、末梢血管壁に蓄積したコレステロールを肝臓へと運ぶコレステロール逆転送系である。この第一段階は Cholesterol Efflux (CE) と呼ばれ、apolipoprotein A-I (apo A-I) 又は小粒子 HDL による細胞からのコレステロール引き抜きである。Tangier 病は家族性 HDL 欠損、オレンジ扁桃、肝脾腫、動脈硬化を主臨床症状とする全身性の脂質の蓄積を示す疾患であり、CE 機構が障害されたモデル疾患と考えられているが、その分子機構は長い間明らかではなかった。1999年、その原因遺伝子として ATP-Binding Cassette Transporter-1 (ABCA1) が同定された。一方、ABCA1 遺伝子の変異があり CE が障害されているにもかかわらず、Tangier 病の表現型を示さない家族性 HDL 欠損症も報告されており、ABCA1 遺伝子変異をもった家族性 HDL 欠損症の臨床プロフィールは不均一である。疾患に関連した変異体の発現と機能との関係は現在までほとんど検討されていない。

本研究は、私達が発見した日本人の高比重リポ蛋白欠損症患者 3 症例において ABCA1 変異体の発現および機能を解析し、病態との関連を検討したものである。

【方法】

- ① 3 症例の ABCA1 遺伝子解析 血清 HDL の低下を認めた 3 症例の白血球 DNA を用い、ABCA1 遺伝子を PCR にて増幅後 direct sequence した。
- ② 患者由来皮膚線維芽細胞における内因性 ABCA1 の発現 ABCA1 遺伝子の転写活性因子である LXR・RXR のリガンドによる誘導下または非誘導下で、RT-PCR 法にて mRNA 発現を、Western blot 法にて蛋白発現を解析した。
- ③ 過剰発現系での ABCA1 変異体の蛋白発現 各々の症例の変異 ABCA1 に対応する ABCA1 cDNA-FLAG を作製し、Cos-7 細胞に過剰発現させた後、Western blot 法にて蛋白の発現を解析した。
- ④ apo A-I を介した細胞からのコレステロール引き抜き能 患者由来皮膚線維芽細胞を用いた系と過剰発現系 (Cos-7 細胞または HEK293 細胞) で検討した。

【成績】

全症例に ABCA1 遺伝子の変異が発見され、各々の変異のホモ接合体であった。また、全症例とも線維芽細胞からの CE 能はコントロールに比較して著明に低下していた。症例 1 の ABCA1 は核酸で G1158A、アミノ酸で A255T と変異していた。内因性 ABCA1 の発現は、非誘導下でコントロールに比較して mRNA 発現が著明に低下し、蛋白発現は誘導下でも検出できなかった。一方、過剰発現系ではコントロールと変化はなかった。症例 2 の ABCA1 は核酸で C5946T、アミノ酸で R1851X と変異していた。内因性の蛋白発現は truncated 蛋白が抗体に対するエピトープを欠失していたため評価不能であったが、過剰発現系での ABCA1 cDNA-FLAG の蛋白発現および細胞からの CE 能は著明に低下していた。症例 3 の ABCA1 は核酸で A5226G、アミノ酸で N1611D と変異していた。ABCA1 の蛋白発現はコントロールと変化はなかったが、線維芽細胞および ABCA1 cDNA-FLAG 過剰発現細胞からの CE 能とも著明に低下していた。

【総括】

症例 1 では ABCA1 mRNA の発現異常、症例 2 では ABCA1 蛋白の発現異常、症例 3 では ABCA1 蛋白の三次構造の変化等による機能異常を来すことが、HDL 欠損症の原因であると考えられた。本研究は HDL 欠損症患者の ABCA1 分子が成熟した機能蛋白となるまでの異なった段階で障害を受けていることを明らかにした。本研究により HDL を介したコレステロール引き抜き機構さらには動脈硬化防御機構解明の発展に重要な情報を与えると考えられた。

論文審査の結果の要旨

Positional cloning によって、ATP-Binding Cassette Transporter-1 (ABCA1) は、家族性 HDL 欠損症の一部の原因であることが示され、動脈硬化防御機構であるコレステロール逆転送系の重要な分子の一つであると考えられる。しかしながら、ABCA1 の発現と機能の相互関連は未だ全く明らかではなかった。

本研究において、申請者は、極めて稀な HDL 欠損症患者において 3 種の異なる ABCA1 変異体を発見した後、その発現系を確立し、それぞれが ABCA1 分子の mRNA 発現から成熟機能蛋白となるまでの異なった段階で障害を受ける結果コレステロール引き抜き機構が破綻していることを明らかにした。

本研究は今後のコレステロール引き抜き機構さらには動脈硬化防御機構解明の発展に重要な情報を与えると考えられ、極めて意義深く、学位に十分値するものである。