ミニシンポジウム II リポ蛋白代謝 最近の進歩

アポ蛋白 E 変異体 (アポ E Sendai) とリポ蛋白糸球体症*

及 川 眞 一¹ 星 勝 彦¹ 早 坂 恭 子¹
 緑 川 浩 資¹ 関 川 明 宏¹ 豊 田 隆 謙¹
 斉 藤 喬 雄² 松 永 彰³ 佐々木 淳³

I. はじめに

リポ蛋白糸球体症 Lipoprotein Glomerulopathy (LPG) は、1989 年にわが国ではじめて報告され¹⁾、従来の腎糸球体疾患の概念にあてはまらない新たな疾患である。特徴的な組織像として光顕像では、糸球体毛細血管内におけるリポ蛋白血栓が認められる。すなわち、糸球体毛細血管内がズダン染色陽性となり、免疫染色でアポ蛋白 B や E が認められ、血栓様に認められることから、“リポ蛋白血栓”と吸ばれている。同時に糸球体毛細血管の著名な拡張が認められ、これはリポ蛋白血栓の結果であると考えられている。電顕像では光顕像の血栓様物質に一致して、“砂状”あるいは“顆粒状”物質が同心円状に沈着した像が観察される。臨床像としてはネフローゼの病像を示し、腎不全に至る例も報告され、進行性である。また、原発性 III 型高脂血症類似のリポ蛋白組成と高アポ E 血症を示し^{2,3)}、フェノタイプ E2 を有する例が多いことから、アポ E の変異体の存在が考えられていた。そこで、LPG の 6 症例を対象としてアポ E の構造について検討した。

II. 対象と方法

LPG の 6 症例を対象とした。また、症例 KO および MI の家族調査も行った。

対象の静脈血漿をシアリダーゼ処理し、ポリアクリラマイドゲルを用いて、等電点電気泳動を行い、アポ E フェノタイプを検討した⁴⁾。

患者およびその血縁者の末梢血白血球から DNA を抽出し、ジェノミック DNA を分離し、エクソン 3 と 4 を含

む DNA 領域を PCR 法によって増幅した⁴⁾。増幅した DNA を vector に組み込み、シーケンスし、塩基配列異常の有無を検討した。KO 症例について検討した結果、145 番目の塩基配列 CGT が CCT に変異していた。したがって、制限酵素 DdeI を用いて、アミノ酸異常を検討することが適切と判断され、これによって各症例の遺伝子異常を検討した。

III. 結 果

対象の 6 例と、KO および MI 家族調査の結果を Table 1 に示した。症例 KO と HF のアポ E 表現型は E2/4 であったが、遺伝子型の検討では、制限酵素 HhaI で切断されたフラグメントの電気泳動パターンではいずれも E3/4 であった。また、その他の症例では表現型が E2/3 であったが、遺伝子型は E3/3 であった。このように、LPG の全症例でアポ E 表現型と遺伝子型に不一致が認められた。また、家族調査では、KO 家系の I-1, II-6, および MI 家系の I-1, II-1 に同様に、アポ E 表現型と遺伝子型の不一致が認められた。制限酵素 DdeI による検討では、Arg145 → Pro の変異は、すべての LPG 症例に認められた。また、KO 家族・MI 家族のなかで、アポ E 表現型と遺伝子型に不一致が認められた症例では、全症例がこのようなアミノ酸の変異を有していた。

MI 家族の I-1 は現在、慢性腎不全として治療中である。組織学的検討がなされておらず、その原因は不明であるが、LPG である可能性は否定できない。

IV. 考 察

LPG におけるアポ E 表現型は、一般的に認められる E3/3 とは異なり、E2 を有する例が多く認められた。しかし、112 番および 158 番はいずれも E3 と同様のアルギニンであることから、等電点電気泳動で E2 と認識された蛋白には、なんらかの変異が存在すると考えられた。症例 KO の解析から、Arg145-Pro の変異が明らかとなり、

* 1996 年 6 月、第 28 回日本動脈硬化学会総会 (大阪) において発表。

¹ 東北大学第三内科、² 同 第二内科

³ 福岡大学第二内科

原稿受取日: 1996 年 10 月 16 日

Table 1 Characteristics of lipoprotein glomerulopathy (LPG) patients and family members.

Subject	Age (years)	Age of onset of LPG (years)	ApoE phenotype	Apo E genotype	Frg145 → Pro
KO Family					
I-1	76		E2/3	E3/3	(+)
II-1	52		E3/3	E3/3	(-)
II-2	48		E3/3	E3/3	(-)
II-3	44		E2/4	E2/4	(-)
II-4 (YO)	46	44	E2/3	E3/3	(+)
II-5	45		E3/3	E3/3	(-)
II-6	41		E2/3	E3/3	(+)
III-1	20		E3/3	E3/3	(-)
III-2 (KO)	18	16	E2/4	E3/4	(+)
MI Family					
I-1	78		E2/3	E3/3	(+)
II-1	51		E2/3	E3/3	(+)
III-1 (MI)	28	25	E2/3	E3/3	(+)
Others					
SA	66	56	E2/3	E3/3	(+)
RA	44	38	E2/3	E3/3	(+)
HF	69	69	E2/4	E3/4	(+)

Subjects YO, KO, MI, HF, and RA are described in ref. 4, and subject SA in ref. 1.

これを基に制限酵素 DdeI を用いて検討すると、他の症例についても同様の変異が認められた。陽性荷電を有しているアルギニンが失われ、荷電的にはニュートラルであるプロリンに変異したことから、この蛋白は相対的に陰性荷電となり、E2 の位置に泳動されたと考えられる。

アポ蛋白 E は各種の受容体のリガンドとしてその機能を発揮し、特に 140~160 のアミノ酸組成およびその立体構造が重要である^{5,6)}。LPG においては、なんらかの脂質代謝異常が認められ、高アポ蛋白 E 血症を認めた²⁾ことも、Arg145 → Pro の変化により、機能異常をきたしたアポ蛋白 E であったとが考えられる。このような変異アポ蛋白 E を、その発端者の住居にちなみ、アポ E Sendai と命名した。このようなアポ E-Sendai の存在がリポ蛋白代謝変化をきたし、高脂血症を招くことが考えられる。

一方、アポ E-Sendai の出現と、腎糸球体組織の変化および腎障害の発症については、今後さらに検討されなければならない。

文 献

- 1) Saito T, Sato H, and Oikawa S: Lipoprotein

Glomerulopathy: Glomerular lipoprotein thrombi in a patient with hyperlipoproteinemia. *Am J Kid Dis*, 13: 148-153, 1989

- 2) Oikawa S, Suzuki N, Sakuma E, Saito T, Namai K, Kotake H, Fujii Y, and Toyota T: Abnormal lipoprotein and apolipoprotein pattern in lipoprotein glomerulopathy. *Am J Kid Dis*, 18: 553-558, 1991
- 3) Saito T, Sato H, and Oikawa S: Lipoprotein glomerulopathy: A new aspect of lipid induced glomerular injury. *Nephrology*, 1; 17-24, 1995
- 4) Moriyama K, Sasaki J, Matsunaga A, Arakawa F, Takada Y, Araki K, Kaneko S, and Arakawa K: Apolipoprotein E1 Lys146 → Glu with type III hyperlipoproteinemia, *Biochem Biophys Acta*, 1005: 239-244, 1992
- 5) Lalazar A, Weisgraber KH, Rall SC Jr, Giladi H, Innerarity TL, Levanon AZ, Boyles JK, Amit B, Gorecki M, Mahley RW, and Vogel T: Site-specific mutagenesis of human apolipoprotein E. Receptor binding a activity of variants with single amino acid substitutions. *J Biol Chem*, 263: 3542-3545, 1988
- 6) de Knijff P, van den Maagdenberg AM, Frants RR, and Havekes LM: Genetic heterogeneity of apolipoprotein E and its influence on plasma lipid and lipoprotein levels. *Hum Mutat*, 4: 178-194, 1994

Summary

Apo E Variant (Apo E Sendai) and Lipoprotein Glomerulopathy

Shin-ichi OIKAWA¹, Katsuhiko HOSHI¹,
Kyoko HAYASAKA¹, Hiroshi MIDORIKAWA¹,
Akihiko SEKIKAWA¹, Takayoshi TOYOTA¹,
Takao SAITO², Akira MATSUNAGA³
and Jun SASAKI³

¹Third Department of Internal Medicine, ²Second Department of Internal Medicine,
Tohoku University School of Medicine, Miyagi, Japan

³Second Department of Internal Medicine, School of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, Japan

Lipoprotein glomerulopathy (LPG) is a rare renal disease characterized by proteinuria, lipoprotein thrombi in the glomeruli and increased concentration of plasma apolipoprotein E. We analyzed apo E abnormality in 6 patients of LPG from 5 families. We found a new variant of apolipoprotein E (E Sendai) with a proline residue substituted for an arginine residue at position 145. All patients were heterozygous for this variant. The 4 carriers of apo

E Sendai were found in KO and MI families. One of them was treated for chronic renal failure. The histological examination had not been done, and the diagnosis was not clarified. Our results suggest that apo E Sendai may be etiologically related to lipoprotein glomerulopathy.

Key words: Lipoprotein glomerulopathy, Hyper apo E nemia, Apo E variant, Apo E Sendai