〔シンポジウム：血漿蛋白機能の分子論〕

血清リポ蛋白およびリポ蛋白レセプターの
異常による高脂血症

馬 淵 宏

はじめに

近年、分子生物学、分子遺伝子学の進歩は目覚ましく、臨床応用も可能となってきた。血清脂質代謝経路は図1に示したが、この代謝経路に関係したアポ蛋白、リポ蛋白レセプター、酵素、脂質運搬蛋白の遺伝子 DNA はほとんど解明されており(表1)¹⁾、それらの染色体上の局在も明らかにされている(図2)¹⁾。

ここでは高脂血症の疫学、臨床成績を簡単に述べたあと、成因に関して分子生物学的、分子遺伝子学的にどこまで解明されたかを明らかにする。

1. 血清リポ蛋白代謝

血清脂質は“油”であるから、そのままの状態では血清には溶けない。血清脂質はアポ蛋白と結合してリポ蛋白となる。血清リポ蛋白はカイロミクロン、VLDL, IDL, LDL, HDL に分けられ、いずれのリポ蛋白が増加しているかによって高脂血症は高リポ蛋白血症として論じなければならない。原発性高脂血症の大部分は遺伝性であり、その遺伝子異常も明らかにされている。以下主な疾患について述べる。

2. 家族性高コレステロール血症 (familial hypercholesterolemia, FH)

1) FH の臨床像

ホモ接合体性 FH は約 100 万人に1人とまれな疾患であるが、ヘテロ接合体性 FH は約 500 人に1人ときわめて頻度の高い疾患である。われわれのグループでホモ FH 14 例、ヘテロ FH 1,200 例経験した²⁾。

FH の3主徴は、高 CHOL 血症、腱黄色腫、早発性

冠動脈硬化症である。

① 高コレステロール血症

FH 患者とその家族の血清 CHOL の分布は図3に示すごとく、正常者、ヘテロ FH, ホモ FH は明らかな3峰性を示す。正常者の平均血清 CHOL は 179 ± 26 mg/dl, ヘテロ FH では 338 ± 63 mg/dl, ホモ FH は 713 ± 122 mg/dl であった。この図から正常と高 CHOL 血症の境界は 230 mg/dl である。FH の高 CHOL 血症は高 LDL-CHOL 血症によるものであることは明らかである(図4)。

② 黄色腫

FH にみられる黄色腫は腱黄色腫、眼瞼黄色腫、扁平黄色腫、結節性黄色腫である。黄色腫がまったく認められない FH 患者も少なくない。腱黄色腫は FH に特徴的な黄色腫であり手背伸筋腱とアキレス腱に好発する。アキレス腱のX線撮影はアキレス腱黄色腫を客観的に定量化する有用な方法であり、アキレス腱厚が 9 mm 以上あればアキレス腱黄色腫と診断できる。したがって FH の診断基準は次のように設定される。

(1) 腱黄色腫を伴う高 CHOL 血症(通常 230 mg/dl 以上)。

(2) その家系で高 CHOL 血症を示す例。

高 CHOL 血症は高 LDL-CHOL 血症である。

③ 動脈硬化症、とくに冠動脈硬化症

われわれが経験した FH 症例のうち、ホモ FH 6 例、ヘテロ FH 95 例が死亡した。ホモ FH は全例“心臓死”であり、平均死亡年齢は 26 歳、平均血清 CHOL は 772 mg/dl であった。ヘテロ FH 95 例中 66 例(69%)は“心臓死”であった(表2)^{3,4)}。平均死亡年齢は男性 57 歳、女性 69 歳であった。脳卒中は

Hyperlipidemia produced by serum lipoprotein abnormalities or lipoprotein receptor mutations.

Hiroshi Mabuchi; 金沢大学医学部第二内科

Correspondence address: The 2nd Department of Internal Medicine, Kanazawa University School of Medicine, 13-1, Takaramachi, Kanazawa 920, Japan.

第42回電気泳動学会総会・シンポジウム

(54) 生物物理化学

図 1. ヒトにおける外因性および内因性リポタンパク質代謝

図 2. 血清脂質代謝に関するアポ蛋白，酵素，リポ蛋白レセプター，転送蛋白の遺伝子の染色体上の位置

わずか8名(9%)であり、高 CHOL 血症は「脳卒中ではなく心臓死」に関係があることが明らかである。

ヘテロ FH で心筋梗塞を起こした患者 138 名の性別、年齢別分布を図5に示した。男性 FH では 30 歳以降何歳で心筋梗塞を起こしても不思議ではない。女性 FH では 50 歳以前はほとんどみられず、閉経期以後急速に増加する。

2) FH の成因

FH の成因を解明したのは Goldstein & Brown である⁵⁾。FH は遺伝的に LDL レセプター活性が低下し

ている疾患である(図1)。ヘテロ FH の LDL レセプター活性は正常の約 50% に低下し、ホモ FH では 10% 以下に低下している。

LDL レセプター遺伝子と蛋白構造を解明したのは Goldstein & Brown のグループの山本徳男博士である。LDL レセプターは 839 個のアミノ酸から成る糖蛋白で、結合領域に LDL のアポ B-100 が結合し細胞内に取り込まれる。LDL レセプター遺伝子は第 19 染色体の短腕にあり、全長約 45 Kb で 18 個のエクソンからなっている。

表 1. 血清脂質代謝に関与するタンパク, 酵素, リポタンパクレセプター, 転送タンパクのアミノ酸構造, 遺伝子構造と関連疾患

	アミノ酸数		cDNA	遺伝子	染色体	関 連 疾 患
	前駆体	成熟体				
Apolipoproteins						
AI	267	243	893	1,860	11	AI deficiency Tangier disease AI-Milano, etc AII deficiency
AII	100	77	437	1,750	1	
AIV	396	376	1,440	2,400	11	
B-100	4,563	4,563	14,100	43,000	2	Abetalipoproteinemia Familial hypobetalipoproteinemia Normotriglyceridemic abetalipoproteinemia Hypobetalipoproteinemia with apo B-37 Familial defective apolipoprotein B-100
B-48	2,152	2,152	6,457	43,000	2	
CI	83	57	440	3,200	19	
CII	101	79	450	3,338	19	CII deficiency
CIII	99	79	507	3,000	11	
D	189	169	850		3	
E	317	299	1,163	3,700	19	E deficiency (Type III HLP) Dysfunction of apo E (Type III HLP)
Lp(a)	4,548	4,529	13,644		6	Hyper-Lp(a)-emia
Receptor						
LDL	860	839	5,300	45,000	19	Familial hypercholesterolemia
Scavenger receptor						
Type I		451	1,350		8	
Type II		358	1,074			
Enzyme						
HMG-CoA reductase	888	888	4,300	25,000	5	
LCAT	440	416	1,550	4,200	16	LCAT deficiency Fish eye disease
LPL	475	448	1,720	30,000	8	LPL deficiency
Hepatic lipase	499	476	1,497		15	Hepatic lipase deficiency
Hormone sensitive lipase		759	3,225		19	
Cholesterol						
7- α -hydroxylase		503	3,357			
Transfer protein						
CETP	493	476	1,656		16	CETP deficiency

LDL レセプター遺伝子のいずれの部分に異常でも FH が生ずる。LDL レセプター遺伝子異常のうち現在までに明らかになっているものはわれわれが発見した 4 種を含めて 53 種である (図 6)。

われわれが見いだした FH-Tonami-1 ではエクソン 15 を含む約 6 キロ塩基対の部分欠損により O 結合糖鎖

領域を欠く異常レセプターが合成されていると考えられる⁹⁾。培養細胞での LDL レセプター生合成を検討すると、正常よりも分子量のやや小さいレセプターが合成されるものの、速やかに分解され、O 結合糖鎖がレセプターの安定化に必要であることが示された。FH-Tonami-1 の遺伝子診断を行った 2 家系を図 7, 8 に示し

(56) 生物物理化学

図 3. 正常者, ヘテロ接合体性 FH, ホモ接合体性 FH 患者の血清コレステロール値の分布
右上図は, 正常者, ヘテロ接合体性の FH の患者数を一致させてコンピューターで作図した. 正常者と高コレステロール血症の境界は 230 mg/dl である.

図 4. 家族性高コレステロール血症 (FH) における血清コレステロールとリポタンパクコレステロールとの関係

表 2. ヘテロ接合体性家族性高コレステロール血症患者の死因

Cause of Death	No of Case		Age		Cholesterol		Triglyceride	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Coronary Heart Disease	38	28						
Myocardial Infarction	23	17						
Sudden death	2	8	56±12	69± 8	363±69	351± 63	154±65	159±79
Other Cardiac Death	3	3						
Stroke	3	5	63± 5	71± 4	379±73	338±114	157±55	110±10
Cancer	9	4	60± 8	60±10	341±64	337± 30	191±96	167±34
Others	5	3	61±17	72±12	330±83	346± 36	136±52	101±31
Total	55	40	57±12	69± 9	357±71	347± 68	160±73	150±72

図 5. 家族性高コレステロール血症における性別, 年齢別の心筋梗塞患者数

図 6. FH における LDL レセプター遺伝子の異常とそれによるレセプタータンパク質の変異
LDL レセプター遺伝子の構造 (18 個のエクソン) とタンパク質レベルでの機能上のドメインとの関係を示し、各遺伝子異常 (欠失・挿入・置換) の部位を略記した。遺伝子異常によって生ずるタンパク質の機能異常は、構造と機能との関係によく対応している。

図 7. FH-Tonami-1 発症 (■, ●) と異常遺伝子 (Bam HI 切断で 10.0 kb の断片) との関係は例外はなく、黄色腫をもたない第 III 世代 (10 歳前後) においても本症の確診が可能であった

た。

FH-Tonami-2 ではエクソン 2 と 3 を含む約 10 キロ塩基対の部分欠損により LDL 結合領域の 2/7 が欠落する。そのため LDL との親和性が正常の約 40% に低下した異常 LDL レセプターが合成される、ホモ接合体性 FH でも正常の約 40% とヘテロ FH に近いレセプター活性を示し、臨床的には軽症 FH であった (図 9)。

上述の遺伝子異常の多くは、大きな欠損や挿入によるもので、それらは全 FH の約 10% にすぎない。残る約 90% では 1 ないしは数塩基の変異が予想される。そ

図 8. 遺伝子レベルでの FH の出生時診断 (FH-Tonami-1)

ヘテロ FH (●) である S.O., M.T., C.M. 例はすべて異常遺伝子 (Pvu II 切断で 10.5 kb 断片) を示している。この異常は M.T. の子供 2 人に認められたが、C.M. の子供 2 人には認められなかった。これから、前者は FH で後者は非 FH と診断される。

こでわれわれは、8 例のホモ FH において LDL レセプター遺伝子上の多形性を検討し、それらを組み合わせでハプロタイピングを行った。その結果少なくとも 7 種

図 9. FH-Tonami-1 と FH-Tonami-2 の LDL レセプター遺伝子異常と LDL レセプター蛋白質異常⁵⁾

類の遺伝子異常の存在が確認され、FH の原因となる遺伝子異常がきわめて多様性であることが判明した。

3. 変異アポ B-100 血症による家族性高コレステロール血症

アポ B-100 は LDL レセプター結合タンパクとして重要である (図 1)。アポ B-100 の 3,000~3,800 番のアミノ酸がレセプター結合領域と考えられ、この部位の異常は LDL レセプターとの結合障害をきたし高 LDL 血症となることが予想される。最近、アポ B-100 の異常による家族性高コレステロール血症 (familial defective apolipoprotein B-100) が発見された⁷⁾。本症患者の LDL はレセプターとの結合力が 32% に低下し、その結果血清 CHOL は高くなる。アポ B-100 の cDNA 塩基配列から、アミノ酸組成が明らかになっており、本症の

アポ B-100 遺伝子のエクソン 26 の G→A 変異により 3,500 番のア르기ニン→グルタミンに変異している。最近、われわれはわが国ではじめて本症の 1 家系 2 例を発見した。英国の FH 患者および IIa 型高脂血症の 3% は本症によるとされている。アポ B-100 異常による家族性高 CHOL 血症と LDL レセプター異常による FH の血清脂質および臨床像には差がない。

4. 家族性高 HDL 血症 (familial hyper-alpha-lipoproteinemia) または家族性コレステリルエステル転送蛋白 (CETP) 欠損症

LDL は動脈硬化促進因子であり、HDL は動脈硬化抑制因子である。Framingham study やわが国の原発性高脂血症研究班の成績でも、HDL-CHOL が 35 mg/dl 未満の群では HDL-CHOL 正常群の 2 倍の冠動脈疾患が発生している。

一方、家族性高 HDL 血症は Glueck ら⁸⁾により見いだされた“疾患”であり、動脈硬化性疾患の発症がきわめて低く、90 歳以上の長寿者がしばしば見いだされることから、長寿症候群 (longevity syndrome) と命名された。その後、わが国でも同様の症例が発見されたが、高 HDL 血症の発生機序は不明のままであった。

血中リポ蛋白間の脂質を転送する蛋白の存在を初めて指摘したのは Nichols & Smith であるが、この蛋白の抽出、精製と性状が本格的に検討されたのは 1978 年頃からで、Zilversmit ら (コーネル大)、Fielding ら (UCSF)、Albers ら (シアトル)、Tall ら (コロンビア大)、Barter ら (メルボルン) がしのぎを削ったが、臨床的意義づけは不明のままであった。

CETP (cholesteryl-ester transfer protein) は HDL₂ のコレステリルエステルを VLDL、LDL へ転送する蛋

図 10. 家族性高 HDL 血症 (S.Y.) の血清リポ蛋白電気泳動像
正常者に比較して HDL が著明に増加し、LDL はむしろ低下している。

図 11. ホモ接合体性およびヘテロ接合体性家族性 CETP 欠損症と正常者の CETP 遺伝子のエクソン 14 とイントロン 14 の接合部の塩基配列

ホモ接合体性: ■●, ヘテロ接合体性: ▣●, 正常者: ○. 正常者での G がホモ接合体では G→A に, ヘテロ接合体では G→G, A に変異している。

白である (図 1). CETP のクローニングに成功したのは Drayna らである. CETP の cDNA は 1,656 塩基からなり, 17 個のシグナルペプチドに続いた 476 個のアミノ酸をコードしている. CETP 遺伝子は第 16 染色体の長腕 (q12-21) にあり (図 2), mRNA は肝, 小腸, 副腎, 脾に発現している. CETP 活性の種差は明らかであり, イヌ, ウシ, ラット, モルモットでは低く, ウサギ, 鯨では高く, ヒト, サルは中間である.

われわれが経験したホモ接合体性家族性高 HDL 血症の発端者 (S. Y.) は 58 歳の男性で, 血清 CHOL は 317 mg/dl で, HDL-CHOL は 248 mg/dl であった⁹⁾. 本例の血清リポ蛋白像がラットと類似しており (図 10), ラットには CETP 活性が認められないことから, 本例の成因に CETP 活性低下を疑い検討した. この患者の CETP は完全に欠損していた.

さらに, その CETP 遺伝子異常を検討したところエクソン 14 とイントロン 14 の結合部の G→A 点変異によることが明らかとなった (図 11)¹⁰⁾. その後が国で発見された家族性高 HDL 血症でも同様の変異が認められ, これらの症例は共通の変異遺伝子に由来することが明らかとなった¹¹⁾. 欧米では未だ本疾患患者は見いだされていない. ホモおよびヘテロ接合体 CETP 欠損症と家系内正常者, およびコントロール群の血清リポ蛋白, アポ蛋白, CETP 量を表 3 に示した¹¹⁾. ホモ CETP 欠損症の HDL-CHOL は正常の 3 倍, アポ AI は 2 倍であった. 一方, LDL-CHOL とアポ B は正常よ

両者の間には $y = 0.79 - 0.17x$, $r = -0.790$ ($p < 0.001$) の相関

図 12. CETP と $HDL_2/(HDL_2+HDL_3)$ の相関関係

両者の間には $y = 1.88 + 0.64x$, $r = 0.517$ ($p < 0.001$) の相関

図 13. CETP と LDL-コレステロールの相関関係

(60) 生物物理化学

表 3. ホモおよびヘテロ接合体性 CETP 欠損症患者と正常者の血清脂質, リポタンパク, アポリポタン
パクと CETP 量

Group	No	Age	Choles- terol	Triglyc- eride	HDL- Choles- terol	LDL- Choles- terol	Apo AI	Apo B	CETP	HDL ₂ / HDL ₃
	M/ F	yrs	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	μg/ml	
Homozy- gote	3/ 7	58± 5	271±32	150±119	164±39	77±31	213±47	54±14	0±0	4. 5±1. 3
Heterozy- gote	10/10	49±20	195±44	95± 52	66±15	111±43	149±43	66±19	1. 4±0. 3	1. 5±0. 8
Unaffected	5/11	48±22	189±38	107± 81	53±14	117±35	124±21	78±35	2. 3±0. 6	0. 7±0. 4
Controls	5/ 5	48±18	172±23	87± 30	45±10	107±20	117±20	89±13	2. 2±0. 6	0. 4±0. 2
ANOVA significance		$p=0.58$	$p<0.001$	$p=0.23$	$p<0.001$	$p=0.05$	$p<0.001$	$p=0.01$	$p<0.001$	$p<0.001$
Homo. vs. Hetero.		NS	$p<0.001$	NS	$p<0.001$	$p=0.018$	$p<0.001$	NS	$p<0.001$	$p<0.001$
Homo. vs. Unaffected		NS	$p<0.001$	NS	$p<0.001$	$p=0.009$	$p<0.001$	$p=0.017$	$p<0.001$	$p<0.001$
Hetero. vs. Unaffected		NS	NS	NS	$p=0.075$	NS	$p=0.048$	NS	$p<0.001$	$p=0.017$
Hetero. vs. Controls		NS	NS	NS	$p=0.014$	NS	$p=0.025$	$p=0.023$	$p<0.001$	$p=0.009$

Values are mean±SD. NS indicates no significance.

りも低下していた。ヘテロ CETP 欠損症の CETP 量, HDL-CHOL, LDL-CHOL, アポ B の量はホモ接合体と正常のほぼ中間値を示した (表 3)。CETP [X] と HDL₂/(HDL₂ + HDL₃) 比 [Y₁] の間には $Y_1 = 0.79 - 0.17X$ ($r = -0.790$, $p < 0.001$) の負の相関があり (図 12), LDL-CHOL [Y₂] との間には $Y_2 = 1.88 + 0.64X$ ($r = 0.517$, $p < 0.001$) の正の相関が認められた (図 13)。

本症の解明により CETP の臨床的意義が初めて明らかとなった。すなわち, CETP 欠損は高 HDL 血症兼低 LDL 血症を惹起し, 動脈硬化になりにくい状態となり, “長寿症候群” となることが明らかとなった。欠損症が生体により有益であると思われる病態はきわめて少ない。LP(a) 欠損症も CETP 欠損症と同様動脈硬化になりにくい状態である。それでは, CETP の生理的意義はどのようなものであろうか? 著者の考えでは, 古くなった細胞や泡沫細胞などの CHOL 処理において, 膜 CHOL は HDL へ取り込まれるが, この HDL-CHOL が肝へ到達して VLDL に再合成されて分泌される経路をとらず, 血中で直接 VLDL, LDL へ転送され再利用される経路に CETP が関与するものと考えられる。飽食状態にあるヒトでは肝の CHOL 産生は過剰であり, CETP はもはや不要と考えられる。したがって, CETP 活性を阻止する物質が動脈硬化治療薬として臨床に応用される可能性がある。CHOL 転送に関する LDL 経路は Goldstein & Brown により解明され

たが, CHOL の逆転送機構の解明は動脈硬化症研究のもつ一つの重要な課題である。

おわりに

高脂血症の分子遺伝学について家族性高コレステロール血症, 家族性アポ B-100 異常症, 家族性高 HDL 血症について, われわれの成績を中心に述べた。今後, 脂質代謝疾患の分子遺伝子学的研究がますます発展することを期待して稿を終える。

文 献

- 1) 馬淵 宏: 動脈硬化, 17: 403, 1989.
- 2) 馬淵 宏: 家族性高コレステロール血症, 南江堂東京, 1991.
- 3) Mabuchi, H. et al.: Atherosclerosis, 61: 1, 1986.
- 4) Mabuchi, H. et al.: Circulation, 79: 225, 1989.
- 5) Brown, M. S. and Goldstein, J. L.: Science, 232: 34, 1986.
- [6] Kajinami, K. et al.: Atherosclerosis, 8: 187, 1988.
- 7) Tybjerg-Hansen, A. et al.: Atherosclerosis, 80: 235, 1990.
- 8) Glueck, C. J. et al.: Metabolism, 24: 1243, 1975.
- 9) Koizumi, J. et al.: Atherosclerosis, 58: 175, 1985.
- 10) Brown, M. L. et al.: Nature, 342: 448, 1989.
- 11) Inazu, A. et al.: N. Engl. J. Med., 323: 1234, 1990.