



## Hypertriglyceridemia characterized by low-density lipoprotein phenotype and lipoprotein lipase gene mutation

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 李, 江珍 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1199">http://hdl.handle.net/10271/1199</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 346号	学位授与年月日	平成13年 3月27日
氏 名	李 江 珍		
論文題目	Hypertriglyceridemia characterized by low-density lipoprotein phenotype and lipoprotein lipase gene mutation (低比重リポ蛋白フェノタイプとリポ蛋白リパーゼ遺伝子変異によって特徴付けられた高中性脂肪血症)		

博士(医学) 李 江 珍

## 論文題目

Hypertriglyceridemia characterized by low-density lipoprotein phenotype and lipoprotein lipase gene mutation  
(低比重リポ蛋白フェノタイプとリポ蛋白リパーゼ遺伝子変異によって特徴付けられた高中性脂肪血症)

## 論文の内容の要旨

### 〔はじめに〕

LDLパターンB phenotypeすなわち血清中に小型で比重の重いsmall, dense LDLを主に有するヒトは、正常のLDLサイズ(LDLパターンA phenotype)を有するヒトに比べて、冠動脈硬化性心疾患(CHD)発症が3倍も高率であることが報告されている。特にLDLの小粒子化に高中性脂肪(TG)血症が深く関わっていることもわかっている。LPLの主たる作用はchylomicronや超低比重リポ蛋白(VLDL)中のTGを分解し、細胞にエネルギーを供給する一方でリポ蛋白の成熟化に関わり、さらにこの過程でHDLの成熟化も促す。このLPLの遺伝子変異は、家族性高TG血症の原因の一つであると考えられている。これまでの検討では、LDL小粒子化のメカニズムや、LPLがsmall, dense LDLの出現に関与していることを示す明確なデータはない。そこで、高TG血症との関連が指摘されているLDL粒子サイズ、特にパターンBとの関連を検討することによって、パターンBをもつ高TG血症の脂質プロファイルの特徴を明確にし、さらに両者の関係にLPL遺伝子変異がどの程度関与しているかを評価した。

### 〔患者ならびに方法〕

- 1) 血清TG > 150mg/dlかつHDL-C  $\geq$  45mg/dlの患者36名をグループ1とし、血清TG > 150mg/dlかつHDL-C  $\leq$  35mg/dlの患者106名をグループ2とし、血清TG  $\leq$  150mg/dlかつHDL-C  $\leq$  35mg/dlの患者27名をグループ3とした。

血清TG  $\leq$  150mg/dlかつHDL-C  $\geq$  45mg/dl、高脂血症薬による治療を受けていない患者71名をコントロールとした。

- 2) ヘパリン静注前のLPL蛋白量は、ELISA法を用いて測定した。
- 3) LDL粒子サイズは、2~15% polyacrylamide gradient gel電気泳動法によって得られた主ピーク位置から求めた。Kraussらの報告した方法に従って、パターンBはLDLの主ピーク25.5nm以下のものと定義した。
- 4) LPL遺伝子変異の有無は、遺伝子のexon 1からexon 10まで、PCR-SSCP法を用いて、スクリーニングをした。異常の可能性のあるexonについては、直接シーケンス法で塩基配列を決定した。各遺伝子変異はPCR-RFLP法で確認した。

### 〔結果〕

- 1) コントロールを含めて患者240名の平均LDL粒子サイズは、血清TG値と負の相関を示し、一方、血清HDL-C値とは正の相関を示した。
- 2) パターンBの割合は、グループ2が最も高く(58.8%)、グループ3(11.1%)、グループ1(8.3%)、コントロール(0%)の順に低下した。
- 3) 遺伝子検索の結果、106名の患者(グループ2)から、33名のLPL遺伝子変異を見出した。その内訳は、

Tyr61Ter(exon 3)、Glu62Asp(exon 3)、Ser323Cys(exon 7)の変異が各1名、Ala261Thr/Ser323Cys(exon 6とexon 7)のcompound変異が1名、intron 3(-6C→T)の変異が5名、Ser447Ter(exon 9)の変異が24名であった。Tyr61Ter、Glu62Asp(exon 3)、Ser323Cys(exon 7)、Ala261Thr/Ser323Cys(exon 6とexon 7)のcompound変異とintron 3(-6C→T)に変異を有する全ての患者に、パターンBを認めた。Ser447Ter(exon 9)の変異は、6名のホモ接合体を含めて、12名がパターンBを示した。

- 4) Ser447Ter(exon 9)の変異を除いたLPL変異者の平均LDL粒子サイズは、変異のない群より小さいことが明らかになった。パターンBの割合も変異を有する群は、変異のない群より高かった。
- 5) ヘパリン静注前のLPL蛋白量は、変異を有する群の方が変異のない群よりも、有意に低下していた。

#### 〔考察〕

コレステロールエステル転送蛋白(CETP)の作用によって、small, dense LDLが生成するという仮説がある。通常、HDL中のコレステロールエステル(CE)は、CETPを介してVLDLとLDLに転送され、代わりにVLDL中のTGはLDLのCEとも、CETPを介して交換反応が行われている。血清のTGが高くなると、このCETP活性が増加し、それによってVLDLのTG転送反応が促進されることが知られている。従って、血清TG値が高くかつHDL-C値が低下した場合は、HDLからの転送反応が量的に抑えられ、VLDLとLDL間の反応が活発になる。その結果、TGリッチLDLを生成し、これがさらに肝性リパーゼ(HL)の作用によってTGが分解され、small, dense LDLが生成し易くなる。このことから、血清TG値が高くともHDL-C値正常であれば、HDLを介したVLDLやLDLとの転送反応が優先し、TGリッチLDLができにくいと考えられる。今回の検討によって、パターンBが低HDL-C血症を伴う高TG血症患者の中に、高頻度で存在することが明らかとなり、この仮説を裏付けることができた。LPL活性の変化は、TGの分解量とHDLの成熟化に影響を与えるため、small, dense LDLの生成に重要な役割を果たしていると考えられる。LPL遺伝子変異は、LPL活性を低下させる一つの原因と考えられる。今回我々が見出した9例のexon 3、6、7とintron 3の変異は、LPLの活性および蛋白量に影響を与えることによって、高TG血症をもたらし、結果として、LDLの小粒子化を引き起こすことが示唆された。

#### 〔結論〕

- 1) 低HDL-C血症によって高TG血症中に、高頻度でパターンBが存在していることを見出した。
- 2) LPL遺伝子変異は、酵素活性やLPL蛋白量を減少させることによって、高TG血症を介し、LDLの小粒子化を引き起こすと考えられた。このことから、LPL遺伝子変異は、動脈硬化に影響を及ぼすパターンBに深く関与していることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

#### 〔はじめに〕

血清中の低比重リポ蛋白(LDL)は密度勾配ゲル電気泳動で、粒子サイズや比重を反映するピークの差によって判定されるパターンB phenotypeすなわち血清中に小型で比重の重いsmall, dense LDLを主に有する例、とA phenotype(よりふつうにみられるパターン)とにわけられる。従来の報告からも、LDLパターンB phenotype有するヒトは、LDLパターンA phenotypeを有するヒトに比べて、冠動脈硬化性心疾患(CHD)発症が3倍も高率であることが報告されている。一方、リポ蛋白リパーゼ(LPL)の主たる作用はchylomicron

や超低比重リポ蛋白(VLDL)中のトリグリセリド(TG)を分解し、細胞にエネルギーを供給する一方でリポ蛋白の成熟化に関わり、さらにこの過程で高比重リポ蛋白(HDL)の成熟化も促す。このLPLの遺伝子変異は、家族性高TG血症の原因の一つであると考えられている。申請者の研究は臨床検査部において空腹時採血された連結不可能な匿名サンプルを用いて、LDL遺伝子の変異を検索し、さらにLDL粒子サイズ、特にパターンBとの関連を検討することによって、パターンBをもつ高TG血症の脂質プロファイルの特徴を明確にし、さらに両者の関係にあらたなものも含めLPL遺伝子変異がどの程度関与しているかを検討したものである。

#### 〔患者ならびに方法〕

- 1) 血清TG>150mg/dl(1.65mmol/l)かつHDL-C $\geq$ 45mg/dl(1.17mmol/l)の患者36名をグループ1とし、血清TG>150mg/dl(1.65mmol/l)かつHDL-C $\leq$ 35mg/dl(0.91mmol/l)の患者106名をグループ2とし、血清TG $\leq$ 150mg/dl(1.65mmol/l)かつHDL-C $\leq$ 35mg/dl(0.91mmol/l)の患者27名をグループ3とした。血清TG $\leq$ 150mg/dl(1.65mmol/l)かつHDL-C $\geq$ 45mg/dl(1.17mmol/l)、高脂血症薬による治療を受けていない患者71名をコントロールとした。
  - 2) ヘパリン静注前のLPL蛋白量は、ELISA法を用いて測定した。
  - 3) LDL粒子サイズは、2~15% non-denaturing gradient gel電気泳動法によって得られた主ピークの位置から求めた。Kraussらの報告した方法に従って、パターンBはLDLの主ピークが25.5nm以下のものと定義した。
  - 4) LPL遺伝子変異の有無は、遺伝子のexon 1からexon 10まで、PCR-SSCP法を用いて、スクリーニングをした。異常の可能性があるexonについては、直接シーケンス法で塩基配列を決定した。各遺伝子変異はPCR-RFLP法で確認した。
- 以上の方法により申請者は次の結果を得た。

#### 〔結果〕

- 1) コントロールを含めて患者240名の平均LDL粒子サイズは、血清TG値と負の相関を示し、一方、血清HDL-C値とは正の相関を示した。
- 2) パターンBの割合は、グループ2が最も高く(58.8%)、グループ3(11.1%)、グループ1(8.3%)、コントロール(0%)の順に低下した。
- 3) 遺伝子検索の結果、106名の患者(グループ2)から、33名のLPL遺伝子変異を見出した。その内訳は、Tyr61Ter(exon 3)、Glu62Asp(exon 3)、Ser323Cys(exon 7)の変異が各1名、Ala261Thr/Ser323Cys(exon 6とexon 7)の複合変異が1名、intron 3(-6C>T)の変異が5名、Ser447Ter(exon 9)の変異が24名であった。Tyr61Ter、Glu62Asp(exon 3)、Ser323Cys(exon 7)、Ala261Thr/Ser323Cys(exon 6とexon 7)のcompound変異とintron 3(-6C>T)に変異を有する全ての患者に、パターンBを認めた。Ser447Ter(exon 9)の変異は、6名のホモ接合体を含めて、12名がパターンBを示した。
- 4) Ser447Ter(exon 9)の変異を除いたLPL変異者の平均LDL粒子サイズは、変異のない群より小さいことが明らかになった。パターンBの割合も変異を有する群は、変異のない群より高かった。
- 5) ヘパリン静注前のLPL蛋白量は、変異を有する群の方が変異のない群よりも、有意に低下していた。これらの結果から申請者はつぎのように考察した。

## 〔考察〕

コレステロールエステル転送蛋白(CETP)の作用によって、small, dense LDLが生成するという仮説がある。通常、HDL中のコレステロールエステル(CE)は、CETPを介してVLDLとLDLに転送され、代わりにVLDL中のTGはLDLのCEとも、CETPを介して交換反応が行われている。血清のTGが高くなると、このCETP活性が増加し、それによってVLDLのTG転送反応が促進されることが知られている。従って、血清TG値が高くかつHDL-C値が低下した場合は、HDLからの転送反応が量的に抑えられ、VLDLとLDL間の反応が活発になる。その結果、TGリッチLDLを生成し、これがさらに肝性リパーゼ(HL)の作用によってTGが分解され、small, dense LDLが生成し易くなる。このことから、血清TG値が高くともHDL-C値正常であれば、HDLを介したVLDLやLDLとの転送反応が優先し、TGリッチLDLができにくいと考えられる。今回の検討によって、パターンBが低HDL-C血症を伴う高TG血症患者の中に、高頻度で存在することが明らかとなり、この仮説を裏付けることができた。LPL活性の変化は、TGの分解量とHDLの成熟化に影響を与えるため、small, dense LDLの生成に重要な役割を果たしていると考えられる。LPL遺伝子変異は、LPL活性を低下させる一つの原因と考えられる。今回我々が見出した9例のexon 3、6、7とintron 3の変異は、LPLの活性および蛋白量に影響を与える可能性があり、このことによって高TG血症をもたらし、結果としてLDLの小粒子化を引き起こすことが推定された。

申請者の研究の結論は以下に要約される。

- 1) 低HDL-C血症によって高TG血症中に、高頻度でパターンBが存在していることを見出した。
- 2) LPL遺伝子変異は、酵素活性やLPL蛋白量を減少させることによって、高TG血症を介し、LDLの小粒子化を引き起こすと考えられた。このことから、LPL遺伝子変異は動脈硬化に影響を及ぼすパターンBに深く関与していることが示唆された。

以上の申請者の研究内容について審査委員会では以下のような質問および議論があった。

- 1) 検討した患者のプロフィールについて、とくに平均年齢と閉経期以後の女性の数について
- 2) LDLを比重や大きさで分類するとき、中間的なものはあるか、つまりパターンAともBともしがたいようなサンプルはあったか
- 3) 中性脂肪とHDLは同時に測定したのか
- 4) 密度勾配ゲルと超遠心によってきめる粒子の分類はほぼ対応しているのか
- 5) 密度勾配ゲルの担体はなにか
- 6) 血中TGの量と泳動上のパターンの関係はどうか
- 7) 泳動上のパターンは食事歴などによって異なるものか
- 8) LPLの三次元構造はわかっているか
- 9) LPLの変異あるいは多型のある例でLPLの活性はどうであったか
- 10) 変異LPLの機能を調べる方法にはどのようなものがあるか

これらの質問に対し、申請者の解答は適切であり、問題点も十分に理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者    主査    梶   村   春   彦  
                          副査    中   村   浩   淑    副査    小   田   敏   明