

# 乳酸脱水素酵素サブユニット欠損症の臨床検査医学的および免疫学的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 前川, 真人 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1328">http://hdl.handle.net/10271/1328</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	医博論第 51号	学位授与年月日	昭和63年 9月23日
氏名	前川真人		
論文題目	乳酸脱水素酵素サブユニット欠損症の臨床検査医学的および免疫学的研究		

## 論文の内容の要旨

乳酸脱水素酵素(LDH)のM、Hサブユニット欠損症が本邦で初めて報告された。Mサブユニット欠損症は、LDH活性の不足によりエネルギー産生のない解糖となるために筋肉崩壊に至ることが示された。本研究ではLDHサブユニット欠損の頻度、日常検査データにおけるサブユニット欠損の特徴と検出方法について検討し、さらに酵素活性としての欠損のタンパクレベルの表現型について免疫学的に検討した。

健診試料を対象としたマススクリーニングの結果、3776人中Hサブユニット欠損ヘテロ接合体は6人、Mサブユニット欠損ヘテロ接合体は7人、同ホモ接合体は1人(世界第二家系)見いだされ、遺伝子頻度はHサブユニット欠損は0.00079、Mサブユニット欠損は0.00119と計算された。よって、ヘテロ接合体は約600人に1人、ホモ接合体は約100万人に1人と推定された。また、浜松医大検査部の検体約4万件の中で、低LDH血症を呈したのは126人で、その内26人(0.065%)がHサブユニット欠損、6人(0.015%)がMサブユニット欠損のヘテロ接合体であった。これはマススクリーニングでの頻度より低く、シミュレーションによりサブユニット欠損モデルを想定した。Hサブユニット欠損では19%、Mサブユニット欠損では4%が低LDH活性を示すにとどまり、サブユニット欠損は必ずしも低LDH血症を呈するとは限らないと考えられた。

二次元免疫拡散法の結果、Mサブユニット欠損ホモ接合体2家系の発端者の骨格筋には抗Mサブユニット抗体と反応する物質は存在しなかった。そこで、正常と考えられるHサブユニットからとらえることを試み抗Hサブユニット抗体を用いたImmunoblot法を施行した。正常赤血球、H、Mサブユニット欠損ヘテロ接合体にはペルオキシダーゼ発色により1型、2型の存在が確認できたが、Mサブユニット欠損ホモ接合体には1型のみしか存在せず、heterotetramerは存在しないことが示された。従って先の実験結果と考え併せて、活性基のみならず4量体形成基も欠失しているきわめて不完全な変異サブユニットしか存在していないか、もしくは全く合成されていないかのいずれかであることが認識された。一方、Hサブユニット欠損ヘテロ接合体は活性としての1型/2型比は低いがタンパクとしての1型/2型比は正常対照とほぼ同じという解離がみられ、活性を発現しない変異Hサブユニットの関与が考えられた。

H、Mサブユニット欠損ヘテロ接合体の血清LDHアイソザイムパターンはいずれもそのサブユニットの欠失したパターンとして理解でき、逆に血清アイソザイムパターンからヘテロ接合体は推定可能であると考えられた。Mサブユニット欠損症ホモ接合体は、運動後のミオグロビン尿症ならびに二次的に生じる急性腎障害、分娩時のトラブル、皮膚症状などの臨床症状を発現する危険性がある。Mサブユニット欠損ヘテロ接合体、Hサブユニット欠損ホモ・ヘテロ接合体は特定の臨床症状との関連性は判明していないが、これら全てに通じることは、種々の細胞破壊のある病態で血清LDH活性が上昇し難いのみならず、疾患特異的なアイソザイムパターンにならないといったような一種の検査過誤を防ぐためにも早期検出は重要であると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

乳酸デヒドロゲナーゼ(以下LDHと略、EC 1.1.1.27)は異なる遺伝子の産物であるMサブユニットとHサブユニットからなる四量体であり、これらサブユニットの5通りの組み合わせ(M<sub>4</sub>、M<sub>3</sub>H、M<sub>2</sub>H<sub>2</sub>、MH<sub>3</sub>、H<sub>4</sub>)による5種類のアイソザイムとして存在する。臓器ごとにそれぞれのサブユニットの相対含量が異なり、それ故アイソザイムパターンが異なるため、LDHは損傷臓器診断のための一つの指標として日常検査項目の中に加えられている酵素である。

LDH-Hサブユニットの完全欠損例は1971年に北村らによって、Mサブユニット欠損例は1980年に本学において菅野・西村らによって見いだされ、記載された。すなわち、LDHサブユニット欠損症の病態生

学的研究は我が国において世界に先んじて行われた研究の一つである。本学位申請論文の研究はこの後を引き継いで行われたLDHサブユニット欠損症についての臨床検査学および免疫学的研究であり、次の二部からなる。

1) 日常検査データにおけるLDHサブユニット欠損症の特徴の検討、検出基準の設定、およびこれに基づく広範なスクリーニングによるMおよびHサブユニット欠損症ホモ接合体、ヘテロ接合体の出現頻度の計算 — LDHサブユニット欠損症ヘテロ接合体と正常人の赤血球、血清のLDH活性およびアイソザイムパターンの比較から、後者が同欠損症検出のためのよき指標となることが明らかとされた。次いで、3776検体に及ぶ赤血球LDHアイソザイムパターンの検索がなされ、MおよびHサブユニット欠損症ヘテロ接合体がそれぞれ7例、6例、さらにMサブユニット欠損症ホモ接合体が一例(第二家系)見出された。この数字を基とし、さらに血族結婚の頻度も加味して、日本人の場合、MおよびHサブユニット欠損症ヘテロ接合体の出現頻度はそれぞれ人口約420人、640人に1人、MおよびHサブユニット欠損症ホモ接合体の出現頻度はそれぞれ人口約162,000人、265,000人に1人と推計された。ヘテロ接合体の頻度は決して小さいものではなく、しかもこれらの人には特にこれという症状がみられないので、“warning card”に登録しておいて、検査データ解読にあたっての誤りを防止する必要があるとされた。

2) MサブユニットおよびHサブユニット欠損症についての免疫化学的研究 — MおよびHサブユニット欠損症ホモ接合体では、それぞれMサブユニット、Hサブユニットが完全に欠損しているのか、あるいは酵素的には不活性な変異サブユニットが生成しているのかについての検討が、それぞれヒトの筋肉、赤血球からのLDH-M4およびアセチル化LDH-H4アイソザイムに対して調製したウサギ抗血清を用いて行われた。その結果、調べられた2例のMサブユニット欠損症ホモ接合体では、抗Mサブユニット抗体と反応するタンパク質は存在せず、また抗Hサブユニット抗体と反応するヘテロ四量体も存在しないことから、Mサブユニットが完全に欠失しているか、あるいは抗体との反応性も四量体形成能も欠く極めて不完全な変異Mサブユニットしか生成されていないと判定された。一方、Hサブユニット欠損症ヘテロ接合体については、調べられた2例の両方において、酵素活性は持たないが抗Hサブユニット抗体とは反応する変異Hサブユニットが存在することを示唆するデータが提出された。Mサブユニット欠損症とHサブユニット欠損症に相違が見られることから、申請者が次に計画している遺伝子レベルでの研究は興味深いものになるのではないかとと思われる。

審査委員会において、申請者によりなされた以上の内容の口答発表と主論文および申請者が筆頭著者となっている3編の副論文について審議した結果、これは本学において世界に先んじて行われたLDH-Mサブユニット欠損症に関する研究を更に一步前進せしめた立派な研究であり、学位授与に十分値すると、全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	市山	新			
	副査	副学長	本田	西男	副査	教授	西村 顯治
	副査	助教授	寺尾	俊彦	副査	助教授	西村 正彦