

LDH サブユニット欠損症*

菅野 剛 史**

乳酸脱水素酵素 (EC. 1.1.1.27, LDH) はAおよびBの二つのサブユニットの4量体として各組織に存在する。この二つのサブユニットの locus はそれぞれ異なっており、Aが染色体11, Bが12の短鎖に存在することが知られており、サブユニット欠損の初めての症例はBサブユニット欠損症として1971年に北村らによって報告された¹⁾。その後、我々は運動後のミオグロビン尿を主訴とした患者にAサブユニット欠損症を見出し²⁾、ここにAおよびBそれぞれのサブユニット欠損症がそろって我が国で見出されたこととなった。

この二つのサブユニット欠損症は、各組織での両サブユニットの産生量が異なること、また両サブユニットの持つ生理的活性が異なることから、臨床的には症状の発現をまったく異にしている。いづれの症例も、LDHが解糖系の酵素であることから、それぞれのサブユニット産生の多い臓器での糖代謝異常による臨床症状が期待されるが、臨床症状の著明なのはAサブユニット欠損症であり、Bサブユニット欠損症は臨床症状を示さない。

ここではこれら二つのサブユニット欠損症を対比しながらLDHの生理機能の1部に言及する。また赤血球を用いたスクリーニングより、この欠損症の保因者がかなりの頻度で存在することが判明していることから、日常の検査データの評価上の問題点にも併せて言及したい。

I. Aサブユニット欠損症の特徴

I-1. 臨床症状

過激な運動の後に筋硬直をきたし、またミオグロビン尿を伴う。過激な運動でも、酸素供給の少ないような条件が症状の発現をもたらすようである。ただし女性においては、過激な運動を避けるために無症状で経過することもある。

I-2. 血液生化学検査所見

Table 1 に運動後ミオグロビン尿を呈した時点での生

Table 1. Biochemical laboratory data of a patient with lactate dehydrogenase A subunit deficiency.

Items	After severe exercise	Bed rest	Control
Creatine kinase	26,290	206	25-115 IU/l
LDH	466	320	170-340 W.U
GOT	364	15	5-23 K.U
GPT	76	10	2-16 K.U
ALP	5.8	6.6	2.7-10.0 KA.U
T. protein	7.1	7.7	6.9-8.4 g/dl
Albumin	4.2	4.5	4.0-4.4 g/dl
ZnTT	7.1	9.0	2.0-10.0 M.U
Total cholesterol	126	120	110-220 mg/dl
BUN	12.1	17.9	8.5-22.0 mg/dl

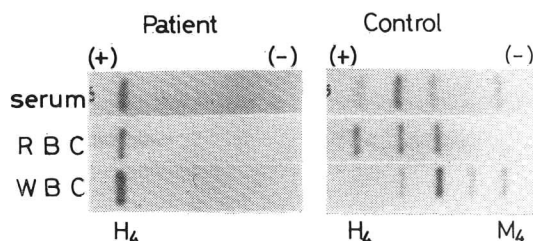


Fig. 1. Zymograms of lactate dehydrogenase obtained from the serum, erythrocyte and the leukocytes of a patient with LDH A (or M) subunit deficiency.

As compared with the normal control, only one activity band of H₄ (or B₄) which has the fastest mobility to the anodic side is demonstrated in the patient. These results suggested a lack of A (or M) subunit production in all of the specimens.

* LDH subunit deficiencies, 第34回電気泳動学会総会会長講演.

** Takashi Kanno, 浜松医科大学附属病院検査部.

Key words : lactate dehydrogenase (LDH), A-subunit, B-subunit, subunit deficiency.

化学検査所見を示した。

筋よりの遊出酵素である creatine kinase (CK) が著しい高値を示しているが、これに対して同じ筋中に豊富に含まれる LDH は上昇していない。Transaminase GOT の上昇も筋よりの遊出のための上昇と考えられるので LDH のアイソザイム分析が必要となった。

血清および赤血球、白血球中の LDH アイソザイム分画を Fig. 1 に示した。図より明らかなように、発端者のアイソザイムは I 型 (B₄) のみであり、A サブユニットの欠損が考えられた。生化学検査の所見上 CK と LDH のデータの解離が、この A サブユニット欠損症を見出す重要な点であった。しかし Table 1 に示すように、入院安静後の生化学検査にては、CK と LDH の間で解離を認めず、限られた条件の下でのデータの解離を検出することが重要である。

I-3. 虚血下運動負荷試験

上腕部の虚血下運動負荷を実施すると、負荷後5分で静脈血中のピルビン酸は著しい上昇を認める。一方対照群に比し、乳酸の上昇は認めない⁹⁾。糖尿病においても虚血下運動負荷を実施するが、A サブユニット欠損症との差異は、糖原病ではピルビン酸の上昇を認めないにもかかわらず、本症では著しいピルビン酸の上昇を観察することである。

I-4. 運動負荷時の筋内中の糖代謝中間体

運動負荷時に筋生検中の糖代謝中間体を測定すると、glyceraldehyde 3-phosphate, dihydroxyacetone phosphate, fructose diphosphate, glycerol 3-phosphate, glycerol, pyruvate の上昇が観察された。嫌氣的条件の運動負荷において、glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase によって生成する NADH の再酸化が LDH によって共役されないために glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GA 3 PD) の部位での解糖の障害が生じ、glyceraldehyde 3-phosphate (GA 3 P), dihydroxyacetone phosphate (DHAP), fructose diphosphate (FDP) の組織内蓄積、更に NADH の再酸化に過剰の DHAP を利用して glycerophosphate dehydrogenase (GPD) が作用し、glycerol, glycerol 3-phosphate が生成したものと考えられた⁹⁾。Fig. 2 にこれを示した。

I-5. 骨格筋における酵素レベル

A サブユニット欠損患者の骨格筋においては著しい LDH 活性の低下が観察された。またアイソザイム分画においては H₄(B₄) のバンドのみであった。また A サブユニット欠損骨格筋において可溶性分画では LDH に比し glycerol phosphate dehydrogenase (GPD) の活性

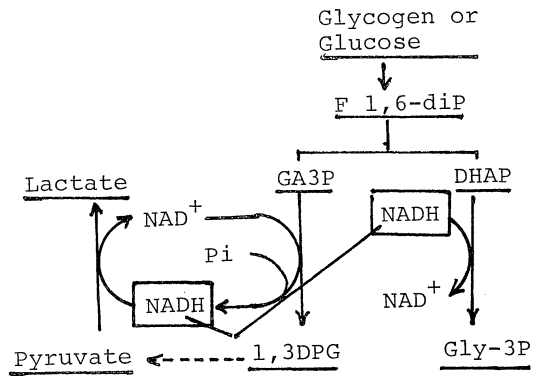


Fig. 2. Reroxidation of NADH in skeletal muscle.

が相対的に高いことが示された⁹⁾。

I-6. A サブユニット欠損症の骨格筋における糖代謝の異常

これまでのデータより、A サブユニット欠損症の患者筋では、Fig. 2 にも示したように、LDH の著しい低下が、GA 3 PD と共役している NADH の再酸化に障害をあたえる。従って骨格筋可溶性分画の GPD が NADH の再酸化にあづかり、そのために解糖に由来する 3 炭糖の約半数を消費する。このことは、glucose に由来する解糖において ATP 産生を伴わない解糖が行われることを意味しており、骨格筋の膜に障害をあたえ、筋中の CK およびミオグロビンなど細胞内成分の血中への遊出をみることとなると考えられる⁹⁾。

II. A および B サブユニット欠損症の対比

B サブユニット欠損症においては、B サブユニットが赤血球中に豊富に含まれ、赤血球中での LDH 活性が著しく低下し、かつ糖代謝中間体の測定より、GA 3 PD の部位での解糖の障害が観察されるにも拘らず溶血などの所見を示さない⁹⁾。このことは、骨格筋と異なり、赤血球中では GPD の活性が低く、かつ、骨格筋の酵素と異なり基質に対して親和性のより少ない酵素であることが、3 炭糖の解糖系からの逸脱をなくしているものと推定される⁹⁾。また赤血球中において赤血球に特有な NADH の再酸化の機構が存在し、このために LDH と共役することなく NADH の再酸化が行われ、障害があるとはいえ、ATP 産生が保障されていることが考えられる。この場合に最も想定される NADH の再酸化機構は NADH-cytochrome b₅ reductase いわゆる methemoglobin reductase による NADH の再酸化である⁹⁾。

また B サブユニット欠損において心筋でも B サブユニ

ットが豊富であることはどのように考えるべきなのだろうか。心筋において通常の生活において虚血の条件になることは稀であること、また心筋でも GPD の酵素レベルは豊富ではなく、かつアイソザイムも NADH に対し大きな Km を持つH型サブユニット優位なため²⁾に臨床的には心電図の変化などを伴わないことと推定される。

しかし赤血球に比し、心筋での GPD の量を考えると、虚血下の条件では、Aサブユニット欠損症での骨格筋と同様な糖代謝異常とそれに伴う筋硬直が予想され、虚血性心疾患の場合のBサブユニット欠損患者の管理、ならびに新生児仮死の状態での患児の管理など、これらのA、B両サブユニット欠損症の対比はこれらサブ

ユニット欠損患者をまったく無症候性遺伝性疾患として考えることの問題点を明らかにしたものと思われる。また検査データを管理する上からも、データの評価上で重要な誤診につながり得る病態として少なくとも病歴に記載される必要性を示している。

これらのことは、この欠損症の頻度を改めて推定し、新たな患者の発見を意義づけるものと考えた。

III. AおよびBサブユニット欠損症、その保因者の検出と頻度推定

III-1. AおよびBサブユニット欠損症検出のパラメータ

完全欠損症については、血清のアイソザイム分画が充

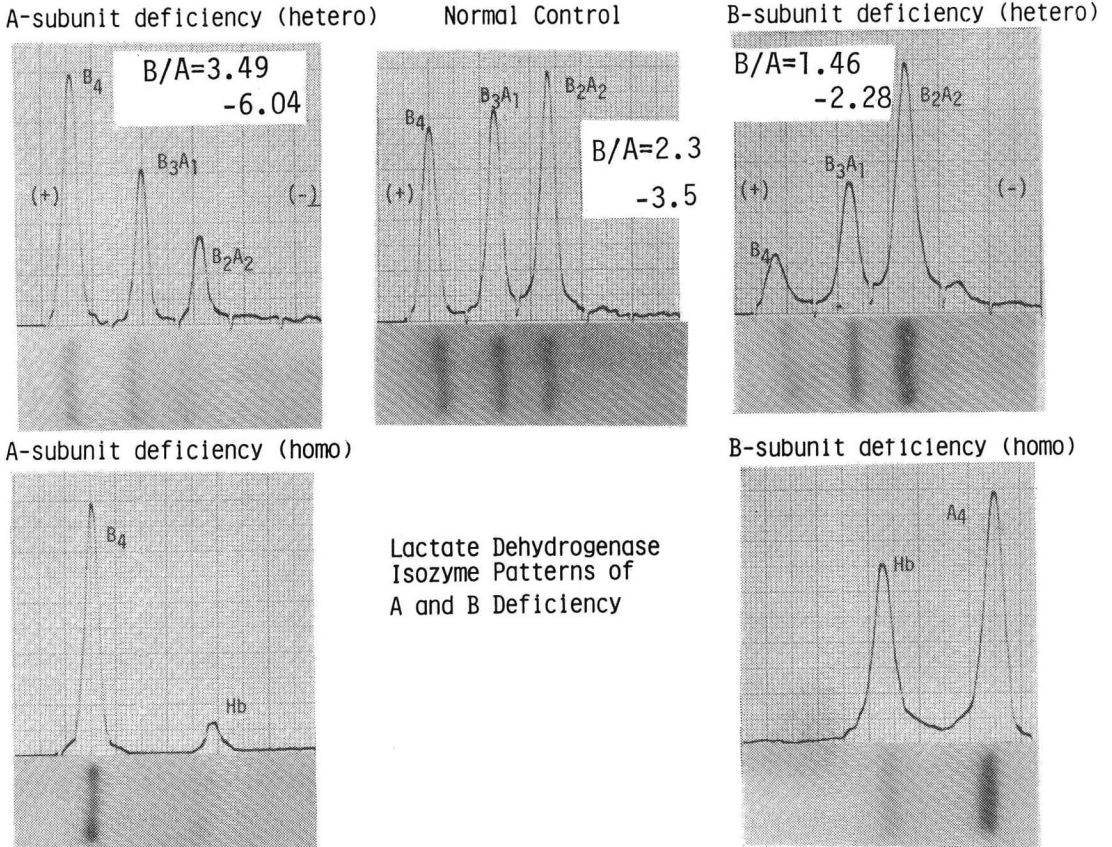


Fig. 3. Zymograms obtained from erythrocyte hemolysate of subunit deficiencies.

Densitometric patterns of erythrocyte lactate dehydrogenase from subjects heterozygous for subunit deficiencies show rather characteristic patterns. In the case of the heterozygous individual for A-subunit deficiency, the A_1B_3 and A_2B_2 isozyme bands are diminished in their activity, compared with normal control. Conversely, it is the A_1B_3 and B_4 isoenzymes in heterozygous for the B subunit deficiency.

分な情報を提供してくれるが、保因者に関しては、赤血球の分析が必要となる⁴⁾。

Fig. 3 に A および B サブユニット欠損例のホモ接合体、およびヘテロ接合体 (保因者) の赤血球のアイソザイム分画パターンを示す。図より明らかなように A サブユニット欠損症ではホモ接合体ではアイソザイムは B₄ のみであるし、保因者は B₄, B₃A₁, B₂A₂ と階段状に低下し、B サブユニット欠損では逆に階段状に上昇しているのが特徴である。このことは、赤血球溶血液のスポット状のアイソザイム分画でも肉眼的にスクリーニングの可能なことを示し、健診時の赤血球溶血液でのマススクリーニングを可能とした。更により確実に保因者を診断するためには、この赤血球中のアイソザイム分画にて A/B のサブユニットの比を計算することである。Fig. 3 の中にもこの比の範囲を記載してあるが、Fig. 4 に示すごとく保因者の診断がより明確となる。

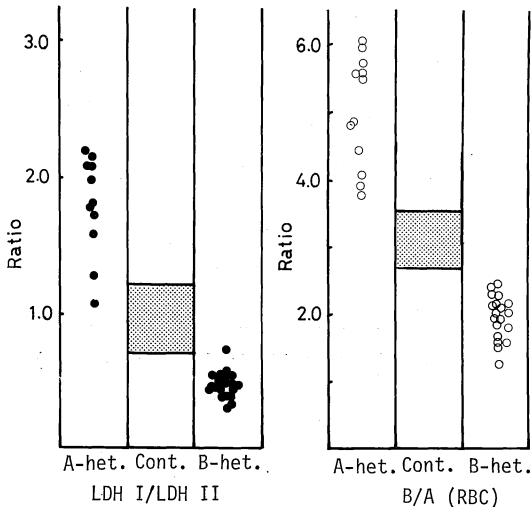


Fig. 4. Erythrocyte subunit ratio (A/B) and ratio between LDH isoenzyme I and II.

Heterozygous individuals for A and B subunit deficiencies were clearly distinguished by ratio between erythrocyte subunit A and B.

III-2. サブユニット欠損症の頻度

この方法を用いて日常検査のデータより、H サブユニット欠損の保因者を検出するアルゴリズムを作成した。低 LDH 血症を主として赤血球分析の対象としたが、3 年間、約 20,000 人の LDH の検査より 9 家系の H サブユニット欠損の保因家系が見出された。頻度は概算にて 0.045% である。一方浜松地区ならびに、静岡地区の

健診時の赤血球を用いたマススクリーニングにより、3,775 名の中より A サブユニット欠損症の保因者が 7 名、B サブユニット欠損症の保因者が 6 名検出された。頻度は浜松地区、静岡地区に有意差はなく⁸⁾、またこの頻度に近い頻度は広島地区において佐藤らが報告している⁷⁾。マススクリーニングによって求めた頻度は検査室でのスクリーニングで得られた頻度の約 3 倍である。この原因は低 LDH 血症の検出にレベルを低く設定しているためと判明した。

さてこの頻度より推定すると我が国で近親婚がまったくないと仮定して A サブユニット完全欠損症が 101 名、B サブユニット欠損症は 74 名⁸⁾、また近親婚の頻度を 0.004 と仮定して⁹⁾ A サブユニット欠損症にて 536 名、B サブユニット欠損症にて 442 名のホモ接合体の患者が存在すると推定される。予想以上の頻度であり、これらの患者が見出されない理由が検査室にあるとすれば大きな問題である。

最後に静岡県でのマススクリーニング、検査室でのスクリーニングの結果を Fig. 5 にまとめた。マススクリーニングでの頻度は浜松、静岡で差はなく、また A、B 両サブユニット間でも差異はない。

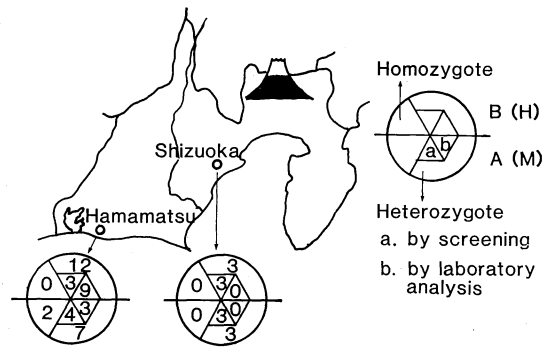


Fig. 5. Distribution of lactate dehydrogenase subunit deficiency in Shizuoka Prefecture.

また今日までに我が国で検出された A、B 両サブユニット欠損症、保因者の家系を Fig. 6 に示した。東京、浜松、静岡に集中しているが、この地図がぬりつぶされることを期待したい。

謝辞、この一連の研究は、虎の門病院 北村元仕部長、東大医科研 三輪史朗教授、浜松医科大学 市山新教授、本田西男教授、西村嘉郎講師の御協力によって為

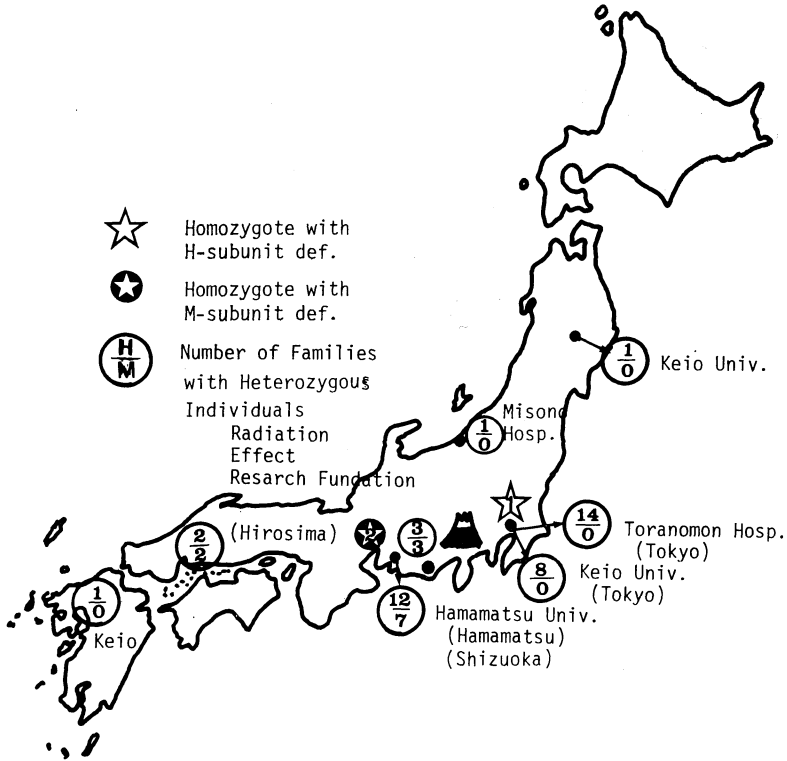


Fig. 6. Distribution of lactate dehydrogenase subunit deficiency in Japan. One homozygous individual of B subunit deficiency was reported from Toranomon Hospital in Tokyo¹⁾. Two families for A subunit deficiency were found in Hamamatsu area. One of the families was already reported elsewhere.²⁾

されたものであり、我々検査部諸君の協力による産物である。また研究の1部は、厚生省酵素障害研究班によって助成された。

文 献

- 1) Kitamura, M. et al. : Clin. Chim. Acta, **34** : 419, 1971.
- 2) Kanno, T. et al. : Clin. Chim. Acta, **108** : 267, 1980.
- 3) 須藤加代子 : 慶応医学, **59** : 833, 1982.
- 4) Kanno, T. et al. : Isozyme, **7** : 131, 1983.
- 5) Miwa, S. et al. : Acta Haematol. Jap., **34** : 228, 1971.
- 6) Sudo, K. et al. : Electrophoresis, in press.
- 7) Satoh, C. et al. : Am. J. Hum. Genet. **35** : 656, 1983.
- 8) 前川真人他 : 臨床病理(補), **31** : 65, 1983.
- 9) Neel, J.V. et al. : Am. J. Hum. Genet., **1** : 156, 1949.