

## 論文の内容の要旨

### 論文題目

高中性脂肪血症を呈し臨床的に Apo C-II 欠損症と診断された症例の  
分子生物学的解析

指導教員 門脇 孝 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 16 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

高瀬 暁

アポリポ蛋白 C-II (アポ C-II) はリポ蛋白中のトリグリセライド(TG)を水解するリポ蛋白リパーゼ (Lipoprotein lipase:LPL) の補因子である。アポ C-II 遺伝子変異によるアポ C-II 蛋白の欠損および機能不全は LPL の活性化障害から I 型高脂血症を招く。

今回、私は著明な高 TG 血症と測定感度以下のアポ C-II 蛋白濃度から臨床的に新たにアポ C-II 欠損症と診断された症例について分子生物学的手法を用いて解析を行った。

臨床検査で免疫比濁法にて測定されたアポ C-II 蛋白濃度は測定感度以下であったが、より感度の高いイムノブロットにて検討したところ、健常者より減少していたものの患者血漿中にもアポ C-II 蛋白が検出された。アポ C-II 蛋白の希釈配列を作成し患者血漿中のアポ C-II 蛋白濃度を検討したところ、およそ 0.6mg/dl と推定され基準範囲以下であった。等電点電気泳動および 2 次元電気泳動にて Very low density lipoprotein (VLDL) を展開したところ、患者のアポ C-II 蛋白アイソフォームの分子量と等電点は健常者と同等であることが示された。以上より、患者の血漿中には正常構造のアポ C-II 蛋白が基準範囲以下の濃度で存在していることが明らかとなった。

post heparin plasma(PHP)を用いてリパーゼ活性を検討したところ、患者 PHP 中の LPL 活性は健常者に比して低下しており、正常血清を添加しアポ C-II 蛋白を補充すると LPL 活性の上昇を認めた。アポ C-II 蛋白の減少により LPL の活性化が障害されていると考えられ、高中性脂肪血症の原因と考えられた。また、患者の hepatic lipase(HL)活性も健常者と比して 25%程度に低下していた。高中性脂肪血症による 2 次的な現象である可能性が考えられ

たが明らかではない。アポ C-II 蛋白欠損症における HL 活性は上昇、低下いずれの報告もあり一定の傾向はみられない。

次に RNA の解析を行った。アポ C-II は主に肝臓で発現しているが、患者の肝臓からの RNA 採取は困難なためマクロファージを用いて解析した。患者全血より単球を単離しマクロファージに分化させ、*in vitro* の解析に供した。マクロファージ由来のアポ C-II RNA は健常者と比し約 50%に低下していた。Actinomycin D を用いた検討では患者のアポ C-II mRNA の安定性は保持されていることが示された。

これまでに遺伝子変異部位が明らかにされているアポ C-II 欠損症は 20 家系 15 種あり、蛋白翻訳領域、プロモーター領域、**splicing donor junction** に変異を認めている。患者のゲノム解析を行ったところ、当初の予想に反して、アポ C-II 遺伝子の蛋白翻訳領域、プロモーター領域、**3'-untranslated region(UTR)**領域のいずれにも遺伝子変異を認めず、大きな **rearrangement** も認めなかった。また、アポ E の **genotype** は  $\epsilon$  3/3 のホモ接合体であった。

以上、本症例は著明な高中性脂肪血症を呈する一方、アポ C-II 蛋白の血中濃度が基準範囲より明らかに減少しており、LPL 活性の減少を認めることから改めてアポ C-II 欠損症と診断された。少量ながら血中に正常なアポ C-II 蛋白が検出され、アポ C-II 遺伝子に変異を認めないことが本症例の特徴として挙げられる。アポ C-II 蛋白の減少を来す原因にはこれまでに報告されているアポ C-II 遺伝子自身の変異によるものとは異なる機序が存在することが示され、エピジェネティクスを含めた転写調節の他、蛋白翻訳後の細胞内輸送や分泌の異常等も想定された。

本症例の解析により、既報のアポ C-II 欠損症とは異なる型のアポ C-II 欠損症の存在が見出され、アポ C-II の代謝経路に関する新たな知見が得られる可能性が示唆された。