

審査の結果の要旨

氏名 高瀬 暁

本研究は新規にアポリポ蛋白 C-II 欠損症と診断された症例について分子生物学的解析を行い、下記の結果を得た。

1. 患者の血清中性脂肪濃度は著明な高値を呈し、免疫比濁法にて血清アポリポ蛋白 C-II (アポ C-II) は測定感度以下を示した。この結果より臨床的にアポ C-II 欠損症と診断された。
2. 患者と健常者の血清を抗アポ C-II 抗体を用いてイムノブロットしたところ、患者サンプルにも量は減少していたものの健常者と同等の泳動度を示すバンドが検出され、患者血中には少量のアポ C-II 蛋白が存在する可能性が示された。濃度は 0.6mg/dl と推定され、基準範囲より明らかに減少していた。等電点電気泳動にて両者の Very low density lipoprotein (VLDL) を分離しアポ C-II 蛋白のアイソフォームを比較したところ、両者の泳動度は同等であった。また、両者の VLDL を 2 次元電気泳動にて展開しイムノブロットを行ったところ、両者とも同等の位置にスポットが検出された。等電点電気泳動、2 次元電気泳動とも患者サンプルは健常者よりも減少しており、アポ C-II<sub>2</sub> はほとんど検出されなかった。これらより患者の血液中には正常構造のアポ C-II 蛋白が存在することが示され、その蛋白量は健常者より減少していることが示された。Post heparin plasma(PHP)を用いてリパーゼ活性を測定したところ、患者の lipoprotein lipase (LPL) 活性および Hepatic lipase (HL) 活性は健常者より減少していた。LPL の補因子であるアポ C-II 蛋白の減少により LPL 活性が減少していると考えられた。健常者の血清を添加してアポ C-II 蛋白を補充すると LPL 活性は上昇した。HL 活性の減少は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。
3. 患者および健常者の末梢血からヒト単核球細胞を分離培養しマクロファージに分化させ、ノーザンブロットにて mRNA の検討を行った。アポ C-II の mRNA は健常者より患者サンプルで減少していたが、アポ E、アポ C-IV はほとんど差を認めなかった。Actinomycin D を用いた検討ではアポ C-II mRNA の安定性は保持されていることが示された。
4. アポ C-II 遺伝子の各 Exon について Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) を行ったが遺伝子変異は検出されず、ダイレクトシーケンスおよびサブクローニングによるシーケンスを行っても各 Exon、promoter 領域、3'-UTR 領域に遺伝子変異を認めなかった。アポ E 遺伝子の genotype は  $\epsilon$  3/3 のホモ接合体であることが

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。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た。また、アポ C-II 蛋白の減少を来た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、本研究はアポ C-II 蛋白の代謝機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられた。