

リポ蛋白異常症のスクリーニング

武 内 望

(愛媛大学医学部附属病院
中央検査部)

近年血清アポリポ蛋白の分析法が進歩し、その機能や代謝動態が明らかになるにつれて、アポ蛋白の欠損や異常による新しい疾患が次々と報告されるようになった。臨床上同一の症状や表現型を有する患者でも、アポ蛋白の分析結果よりみると異なった遺伝型より生じた例も多く見出され、すでに報告されている脂質代謝異常疾患についてもアポ蛋白の面より病因や病態の再検討が必要となり、治療方針や予後の予測などに従来と異なった臨床上の対応を迫られるようになった。

しかし超遠心法などによるアポ蛋白の分析は高度の技術を要し、経費や時間の点からも日常には用いえない。したがってより簡単にアポリポ蛋白異常を検出するため、血清脂質のスクリーニングによりえられた異常例につき、ポリアニオン法により分離した超低比重リポ蛋白 (VLDL) 画分の等電点電気泳動¹⁾ を行い検討を行うことにした。

血清脂質異常のスクリーニングには血清コレステロール、トリグリセライドのほかに高比重リポ蛋白 (HDL) コレステロールの測定を加えた。これらの異常例につきリポ蛋白電気泳動と VLDL アポ蛋白の等電点電気泳動を行い、WHO の分類²⁾ に基づく各種高リポ蛋白血症におけるアポ蛋白の分析を行い、その変化について検討を加えた。

症例のうち、著しい低 HDL 血症患者ではコレステロールのエステル化酵素である lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) 欠損症³⁾ であることが疑われ、家族調査の結果計 3 例の異常例を見出したのであわせて報告する。

方 法

血清総コレステロール⁴⁾、トリグリセライド⁵⁾ は血清 20 μ l を酵素法で測定し、HDL コレステロールは血清 100 μ l を隣タングステン酸・MgCl₂ 法により VLDL と LDL (低比重リポ蛋白) を沈殿除去し⁶⁾、上清中の HDL 画分の総コレステロールを酵素法で定量した。また一部の検体では上清中のアポ A 蛋白を免疫比濁法で⁷⁾、トリグリセライド、磷脂質を酵素法で測定した。VLDL のアポ蛋白の分析は既報の方法¹⁾ によって行い、pH 4~6, 8 M 尿素を含むアンフォライン-ポリアクリルアミドゲル (PAG) 平板で 16~24 検体を同時に処理した。また血清 2 μ l はアガロース薄層平板に適用して電気泳動を行い、Oil red O で染色を施した。平板上の染色バンドはデンストメーターで読みとり、その比率を求めた。

LCAT 欠損症の家系については血清遊離型コレステロールを測定し、血清 LCAT 活性は

表1 Apolipoprotein C Compositions and Apo E/C Ratios in Hyperlipidemic Patients

Types of hyperlipidemia	C _{II}	C _{III-0}	C _{III-1}	C _{III-2}	E/C
Normolipidemic (33)	16.0±0.93*	15.3±2.03	33.9±1.58	34.7±1.94	0.29±0.041
Type IIa (74)***	16.1±0.86	11.4±1.43 ^E	35.3±1.38 ^E	36.9±1.72	0.27±0.041
Type IIb (39)	19.8±1.16 ^D	18.5±1.44	33.4±1.23	28.3±1.27 ^B	0.17±0.031 ^C
Type III (5)	18.3±0.73	18.6±3.10	29.3±6.85	34.1±4.53	0.24±0.070
Type IV (52)	18.8±1.64	19.9±1.44	27.1±4.30	33.2±4.76	0.51±0.021 ^B
Type V (3)	14.6±1.62	13.4±0.73	31.8±3.95	37.5±6.05	0.20
Hypo HDL (29)	23.0±2.36 ^A	9.4±1.57 ^B	33.4±2.17	33.8±2.66	0.12±0.021 ^B

* mean±S.E.M. (%), ** mean±S.E.M. (ratio), *** number of the patients. A : P<0.001, B : p<0.005, C : p<0.01, D : p<0.05, E : p<0.1 to normolipidemic.

37℃, 2時間付置後の遊離型コレステロールの減少量によって表現した⁸⁾。これらの血清磷脂質画分の分析には血清を Folch 法で⁹⁾ 抽出した総脂質をシリカゲル薄層クロマトグラフィーで展開し(展開溶媒, クロロフォルム:メタノール:氷酢酸:水, 100:60:16:8 v/v), 相当する磷脂質画分のシリカゲルをガラス板より削り取り, 灰化後モリブデンブルーの呈色により定量した¹⁰⁾。血清のリポ蛋白分析には血清を Hatch-Lee の方法¹¹⁾ で超遠心分離を行い, VLDL, LDL および HDL 画分を分取し, 各画分の蛋白量, コレステロール, トリグリセライド, 磷脂質を酵素法によって測定した。

成績ならびに考察

正常血清脂質値を有する対照群の等電点電気泳動による VLDL のアポC蛋白群の比についてみると, 表1のように C_{II}, C_{III-0}, C_{III-1}, C_{III-2} はそれぞれ 16.0, 15.3, 33.9, 34.7%であり, C_{III-1} と C_{III-2} の間に C_{II} のシアル化が行われた C_{III-2} が約34%の症例に認められた。アポC蛋白に較べるとアポE蛋白の血中濃度は低く, デンシトメトリーにおけるピークもアポC蛋白より小さいため, 定量にさいして誤差が大きくなり易い, そのためアポEは各画分に分類せず, 総量をアポC蛋白との比率で表わすことにした。

中性脂肪を多く含んだカイロミクロンや VLDL は血中でリポ蛋白リパーゼにより中性脂肪が除かれて代謝されるが, そのさいアポ C_{II} 蛋白はリポ蛋白リパーゼの活性化に関与することが知られている。遺伝的なアポ C_{II} 蛋白の欠損症ではリポ蛋白リパーゼの活性化が行えないため, リポ蛋白リパーゼ欠損症と同じカイロミクロン血症 (WHO 分類の I 型) を生ずることになる^{12) 13)}。

これに対しアポ C_{III} は C_{II} によるリポ蛋白リパーゼの活性化を阻害するとみなされており, C_{II}/C_{III} 比がリポ蛋白リパーゼの活性化の程度を調節して VLDL の代謝に影響し, 血中トリグリセライド値を規定するという説も存する^{14) 15)}。

今回スクリーニングによってえられた症例202例中, IIa 型は74例, IIb 型39例, III型5例, IV型52例, V型3例であり, 低 HDL 血症は29例であった。各群におけるアポC蛋白のサブクラスの割合は表1のように平均値でみると高トリグリセライド血症を有する IIb, III, IV,

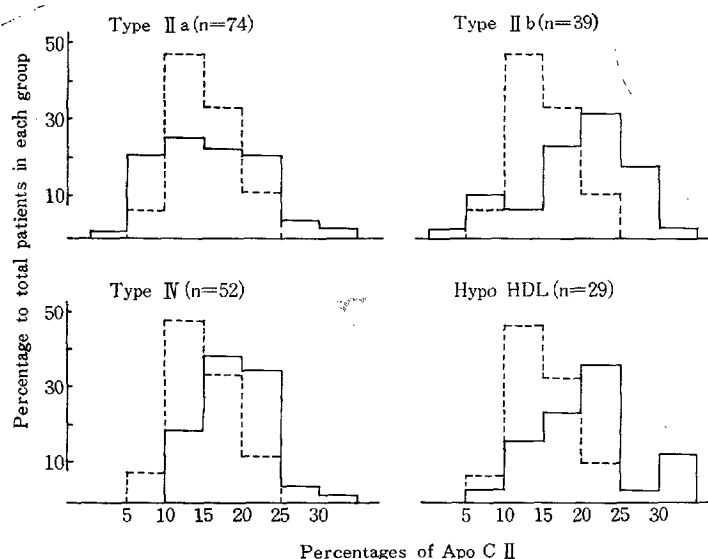


図1 Distribution diagram of apolipoprotein C_{II} in the patients with Type IIa, IIb and IV hyperlipoproteinemia and hypo alpha-lipoproteinemia.

V型で C_{II} 比は必ずしも低下しておらず、むしろ高い傾向であった。また低 HDL 血症でも C_{II} が高値であった。IIa, IIb, IV型および低 HDL 血症群をアポ C_{II} 比の程度によって分類し、その分布状態をみると図1のように IIb, IV型では C_{II} 比が高い症例が多く、高トリグリセライド血症を有しないIIa型が正常対照群と同じ分布状態を示していた¹⁶⁾。

血清アポ C_{II} 濃度を免疫学的に測定した成績では高トリグリセライド血清を有する例で血中 C_{II} 濃度は C_{III} 濃度とともに高値であり、血清トリグリセライド値と平行することが報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾。このように VLDL のアポ C_{II}/C_{III} 比は必ずしも高トリグリセライド血症の成立因子とはならないと考えられ、同一の表現型を有する高トリグリセライド血症も異なった成因や代謝動態を有する不均一な集団であり、アポ蛋白の異常に基づいて再検討が必要である。

一方アポ C_{III-0} は高トリグリセライド血症を有する群で高い傾向であり、これらの症例ではアポ C_{III} 蛋白のシアル化が相対的に低下しているとみなされる(表1)、糖負荷時には VLDL アポ C_{III-0} が増加することが認められており¹⁹⁾、肝におけるトリグリセライド合成の促進に伴い、VLDL のアポ蛋白の合成も活発になり、シアル化の行われていない C_{III-0} 蛋白の放出が増加することが考えられる。

一般に高トリグリセライド血症の成立には肝におけるトリグリセライド合成の促進、あるいは末梢での分解能の低下、およびその両者が関与しているといわれている。免疫学的な測定によると高トリグリセライド血症ではアポ C_{III} の濃度も上昇しているため、C_{III} 蛋白の合成も増加していると考えられる。しかし C_{III} 蛋白のシアル化の程度によって生物学的活性が異なるか、あるいはトリグリセライドの合成や異化が C_{II}, C_{III} 蛋白とどのように関係しているかはま

表2 Serum Apolipoprotein A and Lipid Compositions in high Density Lipoprotein Fractions from Various Hyperlipidemic Patients

	TC	FC	EC	PL	TG	Apo A	Apo A/EC
Normolipidemic (35)*	54.2 ±1.82**	11.1 ±1.02	43.3 ±2.21	121.4 ±5.06	26.1 ±1.19	169.8 ±4.32	4.45 ±0.21
Type IIa (60)	44.4 ±3.63	10.1 ±0.53	34.8 ^B ±1.41	99.8 ^C ±3.17	24.1 ±0.67	160.9 ±3.40	4.97 ±0.17
Type IIb (25)	38.9 ^C ±2.69	8.4 ±0.73	30.6 ^B ±2.47	96.1 ^B ±6.66	28.8 ^Y ±2.06	166.5 ±7.88	5.93 ^{CY} ±0.35
Type III (4)	32.0 ^C ±5.79	7.8 ±1.65	24.3 ^B ±4.48	92.8 ±19.55	27.7 ±0.80	128.1 ^{CZ} ±11.08	5.65 ±0.63
Type IV (22)	29.8 ^{CX} ±1.68	7.0 ^B ±0.90	22.0 ^{CZ} ±1.20	89.2 ^C ±6.10	27.0 ^X ±1.10	136.7 ^{CZ} ±6.54	6.21 ^{CZ} ±0.28
Type V (2)	25.5	5.0	20.5	90.0	31.3	118.5	5.81
Hypo HDL (22)	29.5 ^{CX} ±1.29	6.4 ^{BZ} ±0.53	23.1 ^{CZ} ±1.29	73.2 ^{CZ} ±3.76	23.9 ±1.60	124.2 ^{CZ} ±4.75	5.49 ^B ±0.28

* number of the patients, ** mean±S.E.M. (mg/100 ml), TC : total cholesterol, FC : free cholesterol, EC : esterified cholesterol, PL : phospholipids, TG : triglyceride. Significant difference to normolipidemics ; A, $p<0.05$, B, $p<0.01$, C, $p<0.001$, Significant difference to Type IIa ; X, $p<0.05$, Y, $p<0.01$, Z, $p<0.001$.

だ明らかでなく今後の検討に待たなくてはならない。

一方低 HDL 血症では C_{II} 。蛋白比が低く合成を含めて VLDL の代謝回転は低下していることが示唆される。

アポC群のうち異型アポCの認められたのはV型に属する1例のみであり、そのほか C_{II-2} の酸性側にバンドを有する例が15例検出されたがその意味は不明である。

表2は各種高脂質血症における HDL 中のアポA蛋白と脂質量の分析結果である。高トリグリセライド血症を有する例では HDL 中のエステル型コレステロール量が減少し、トリグリセライド量が増加していた。この両者の合計とアポA蛋白との比率はいずれの型の高脂質血症でもほぼ一定であるため、HDL 粒子の疎水性の核心部分に保持される脂質量は一定とみなされ、この部分にトリグリセライドが多くなり、その代りにエステル型コレステロールが減少することが示される。HDL 中で LCAT の作用によりエステル化された表面部分のコレステロールは一部は中心部分へ移行するが、残りの部分は HDL より VLDL へ転位し、これと逆方向にトリグリセライドが HDL へ移行する。高トリグリセライド血症では HDL に対して VLDL が過剰であるため、VLDL へのエステル型コレステロールの移行が盛んであり、同時に HDL へのトリグリセライドの転移も活発となり HDL 中のトリグリセライドが増加するものと考えられる。

したがって高トリグリセライド血症を有する症例では HDL 中にはトリグリセライドが多く、エステル型コレステロールが少くなると考えられる。表2でみられるようにアポA蛋白量でみると正常対照群、IIa, IIb 型の間には有意差はないが、HDL コレステロールでみると IIb では有意の低値である。また正常群のアポA蛋白とそれぞれの高脂質血症群のアポA蛋白

表3 Serum Lipid Concentration of T Family

Cases	TC	FC	EC	EC ratio	HDLc	TG	PL	FFA
1	67	46	21	31.3	8	178	171	669
	85	61	24	28.2	9	229	228	731
2	120	44	76	63.3	37	135	193	332
3	156	78	78	50.0	6	152	166	612
4	194	63	131	67.5	49	104	199	456
5	272	79	193	71.0	76	86	256	502
6	108	104	4	3.7	21	141	149	721
7	178	56	122	68.5	51	89	227	438
8	217	65	152	70.0	59	151	246	339
9	126	42	84	66.7	54	127	193	947
10	141	51	90	63.8	41	113	209	767
11	189	54	135	71.4	57	126	195	576

TC : total cholesterol, FC : free cholesterol, EC : ester cholesterol,
HDLc : high density lipoprotein cholesterol, TG : triglyceride,
PL : phospholipids, FFA : free fatty acid.

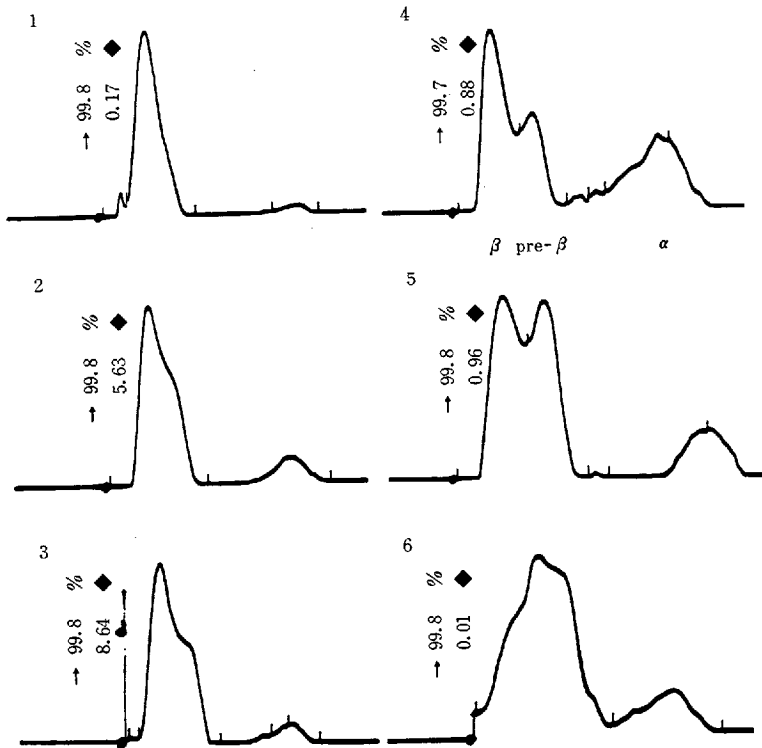


图3 Serum lipoprotein profile by agarose gel electrophoresis in the patients with LCAT deficiency.
1; patient number 1, 2; patient number 3, 3; patient number 6,
4; typical type of normal control subject, 5; Type IV patient,
6; Type III patient.

LCAT 欠損症は1967年に Norm ら²²⁾によって報告された先天的な代謝異常疾患であり、その臨床症状の三徴は角膜混濁、貧血、蛋白尿であり、血清のエステル型コレステロールが著しく低いのが特徴である。LCAT は肝で合成されて血中へ放出され、血中でレシチンの β 位の脂肪酸をコレステロールに転移させることによりエステル化を行う。しかし腸管にはアシル CoA によりコレステロールをエステル化する ACTA (acyl CoA : cholesterol acyl-transferase) があるため、血中には腸管由来のエステル型コレステロールが少量検出される。

本症例では臨床的に三徴はほぼ揃っており、血清エステル型コレステロール、リゾレシチンの減少、LCAT 活性の著明な低下もみられた。わが国では LCAT 欠損症は内藤、赤沼らの報告があり、一般に高トリグリセライド血症を伴った例が多いが、本症例のように高トリグリセライド血症を伴わず、かつ血清コレステロールの低いものも知られている。

リポ蛋白の電気泳動では高トリグリセライド血症を伴った症例でもプレ β -バンドがみられず、 α バンドもきわめて薄い。超遠心法やゲルクロマト法で分離した各リポ蛋白画分の異常も種々報告されており、遊離型コレステロール、レシチン、トリグリセライドの増加、エステル型コレステロールの著減が各リポ蛋白画分で認められる。しかしその他の細分については症例によって差があり、必ずしも一定の傾向はみられていない。

今後さらに家族の検診を進めて遺伝的な背景や表現型の差について検討を進めるつもりである。

ま と め

血清総コレステロール、トリグリセライドならびに HDL コレステロールの異常を有するものにつき、VLDL のアポ蛋白を等電点電気泳動法による分析を行った。

その結果 WHO の高リポ蛋白血症の分類で同一のタイプに属する症例でも、アポC蛋白の分析ではきわめて異質のものより成り立っていることが認められ、現在の分類法や治療法の再検討も必要と考えられる。また従来いわれているような C_{II}/C_{III} 比は必ずしも高トリグリセライド血症の成因にはならないように思われる。

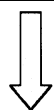
さらに現在抗動脈硬化因子の指標として用いられている HDL コレステロールは実際の HDL 値とはかけ離れていることもあり、とくに高トリグリセライド血症ではこの傾向が強く、このような症例では HDL コレステロールのみで治療や予後を評価することは危険であると思われる。

WHO 分類の V 型の 3 例中、1 例の VLDL で異型アポリポ蛋白 C を有するものがあり、HDL コレステロールが著しく低下していた症例で LCAT 欠損症が認められ、家系調査で 2 例の患者が発見された。

これらのアポ蛋白の詳しい分析は今後引続いて行わなくてはならないが、前述の血清脂質を組み合わせたスクリーニングにより、今後さらに先天的なリポ蛋白異常症を多数例検出すると思われる。

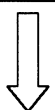
文 献

- 1) 片山善章, 武内 望 : 臨床病理, **29** : 680, 1981.
- 2) WHO Bull, **43** : 891, 1970.
- 3) Gjone, E. and Norm, K.E. : Acta Med. Scand., **183** : 107, 1968.
- 4) Cholesterol (enzymatic) Technicon Method No SE 4-0040 FC6.
- 5) Triglycerid (enzymatic) Technicon Method No SF 4-0039 PA6.
- 6) Burnstien, M., Scholnick, H.R. and Morfin, R. : J. Lipid Res., **11** : 583, 1970.
- 7) 川口光美, 片山善章, 武内 望 : 日本臨床病理学会第27回中四国地方総会, 1981.
- 8) Stokk, K.T. and Norm, K.R. : Scand. J. Clin. Invest., **27** : 21, 1971.
- 9) Folch, J., Lee, M. and Stanley, G.H. : J. Biol. Chem., **226** : 497, 1957.
- 10) Wagener, H.Z. : Ges. Exper. Med., **138** : 425, 1964.
- 11) Hatch, H. and Lee, R.E. : Adv. Lipid Res., **6** : 1, 1968.
- 12) Breckenridge, W.C., Little, J.A., Steiner, G. et al. : N. Engl. J. Med., **298** : 1265, 1978.
- 13) Yamamura, T., Sudo, H., Ishikawa, K. et al. : Atherosclerosis, **34** : 53, 1979.
- 14) Carlson, L.A. and Ballantyne, D. : Atherosclerosis, **23** : 563, 1976.
- 15) Catapano, A.L. : Atherosclerosis, **35** : 419, 1980.
- 16) Takeuchi, N., Kawaguchi, T., Katayama, Y. et al. : Jpn. J. Clin. Chem.
- 17) Kashyap, M.L., Srivastava, L.S., Chen, C.Y. et al. : J. Clin. Invest., **60** : 171, 1977.
- 18) Schonfeld, G., George, P.K., Miller, J. et al. : Metabolism, **28** : 1001, 1979.
- 19) Patsch, W. and Schonfeld, G. : Diabetes, **30** : 530, 1981.
- 20) Choyek, T. and Fielding, C.J. : Proc. Natl. Acad. Sci., **75** : 3445, 1978.
- 21) Hopkins, G.J. and Barter, P.J. : Metabolism, **29** : 546, 1980.
- 22) Norm, K.R. and Gjone, E. : Scand. J. Clin. Lab. Invest., **20** : 231, 1967.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



近年血清アポリポ蛋白の分析法が進歩し、その機能や代謝動態が明らかになるにつれて、アポ蛋白の欠損や異常による新しい疾患が次々と報告されるようになった。臨床上同一の症状や表現型を有する患者でも、アポ蛋白の分析結果よりみると異なった遺伝型より生じた例も多く見出され、すでに報告されている脂質代謝異常疾患についてもアポ蛋白の面より病因や病態の再検討が必要となり、治療方針や予後の予測などに従来と異なった臨床上の対応を迫られるようになった。

しかし超遠心法などによるアポ蛋白の分析は高度の技術を要し、経費や時間の点からも日常には用いえない。したがってより簡単にアポリポ蛋白異常を検出するため、血清脂質のスクリーニングによりえられた異常例につき、ポリアニオン法により分離した超低比重リポ蛋白(VLDL)画分の等電点電気泳動を行い検討を行うことにした。

血清脂質異常のスクリーニングには血清コレステロール、トリグリセライドのほかに高比重リポ蛋白(HDL)コレステロールの測定を加えた。これらの異常例につきリポ蛋白電気泳動と VLDL アポ蛋白の等電点電気泳動を行い、WHO の分類に基づく各種高リポ蛋白血症におけるアポ蛋白の分析を行い、その変化について検討を加えた。

症例のうち、著しい低 HDL 血症患者ではコレステロールのエステル化酵素である lecithin-cholesterol acyltransferase(LCAT)欠損症であることが疑われ、家族調査の結果計 3 例の異常例を見出したのであわせて報告する。