

LDLレセプター解析により診断された家族性高コレステロール血症の2例

尾山 秀樹, 米田 正也, 井手口清治*

最近, 末梢血リンパ球を用いた LDL-レセプター (LDL-R) 活性の新しい測定法が開発された. この方法を用いて診断した家族性高コレステロール血症 (FH) の 2 例を報告する.

症例 1 (21才, 男) は 1995 年 5 月, 高コレステロール血症のため当院に紹介された. アキレス腱の軽度の肥厚以外, 身体所見には FH に特徴的なものはなかった. 血清総コレステロール (TC), LDL-コレステロール (LDL-C), HDL-コレステロール (HDL-C) は, それぞれ 360, 287, 50mg/dl, 高脂血症の型は IIa 型であった. 本例の LDL-R 活性は健常コントロールの 47% であった. 症例 2 (73才, 男) は, 約 20 年前高コレステロール血症を指摘され, 投薬加療を受けてきた. 身体所見では, 両アキレス腱の明瞭な肥大がある. 血清 TC, LDL-C, HDL-C はそれぞれ 347, 288, 45mg/dl, 高脂血症の型は IIa 型, LDL-R 活性は 34% であった.

著者らの 2 例は LDL-R 活性が著しく低く, このことは FH の診断を強く示唆する (服部浩明ら, Lab Clin Prac, 13 : 45-49, 1995). FH の LDL-R 遺伝子変異は多様なものがある. 症例 1 では E119k 変異が証明できたが, 症例 2 はこれ以外の変異と考えられた.

(平成 8 年 8 月 5 日採用)

Two Cases of Familial Hypercholesterolemia Detected by Assaying LDL-receptor Activity

Hideki OYAMA, Masaya YONEDA and Seiji IDEGUCHI*

Over the past few years, a new technique for the determining LDL-receptor (LDL-R) activities on cultured lymphocytes has been developed. Using this method, we report two unrelated patients with familial hypercholesterolemia (FH).

A 21-year-old man (Case 1) was referred to our clinic, because of hypercholesterolemia in May 1995. On physical examination, there were no characteristic signs of FH except slight enlargement of Achilles tendon. His serum levels of total cholesterol (TC), LDL-cholesterol (LDL-C) and HDL-cholesterol (HDL

川崎医科大学 内科内分部門
〒701-01 倉敷市松島577

* 同 内科消化器部門 I

Division of Endocrinology, Department of Medicine,
Kawasaki Medical School : 577 Matsushima, Kurashiki,
Okayama, 701-01 Japan

The First Division of Gastroenterology, Department of
Medicine

-C) were 360, 287 and 50mg/dl, respectively. The patient had type IIa hypercholesterolemia, and LDL-R activity was 47% of a healthy control. Case 2 (73-year-old man) had been found to have hypercholesterolemia almost 20 years ago and was receiving some medications. On physical examination, there was obvious enlargement of the bilateral Achilles' tendons. His TC, LDL-C and HDL-C levels were 347, 288 and 45mg/dl, respectively. This patient also had type IIa hypercholesterolemia, and LDL-R activity was 34% of a healthy control.

Both cases had very low LDL-R activities and this assay can be used for a definitive diagnosis of FH (H Hattori, et al, Lab Clin Prac, 13: 45-49, 1995). Many molecular variations of LDL-R have been reported. Gene analysis of our cases revealed an E119k mutation of LDL-R in case 1, but not in case 2. (Accepted on August 5, 1996) *Kawasaki Igakkaishi* 22(2):115-118, 1996

Key Words ① **Familial hypercholesterolemia** ② **LDL-receptor activity**
③ **E119k mutation**

はじめに

家族性高コレステロール血症 (FH) は、血中に Low Density Lipoprotein (LDL) が著増し、黄色腫、若年性冠動脈疾患を高率に発症する遺伝性疾患である。本症は LDL レセプター (LDL-R) 異常に起因する常染色体性優性遺伝¹⁾、その頻度はホモ接合体が100万人に1人、ヘテロ接合体は500人に1人程度の稀な疾患とされている²⁾。

本症の診断には、臨床所見に加え LDL-R 活性の低下を証明することが重要であるが、これは必ずしも容易ではない。しかし、最近、末梢血リンパ球を用いた LDL-R 活性の新しい測定法が開発され³⁾、我々はこれによって確診し得た FH の2例を経験したので報告する。この内1例は、極めて稀な LDL-R 遺伝子の E119k 変異であることが確認された。

症 例

症例1は21才、男性。平成5年末、健診で高コレステロール血症(約400mg/dl)を指摘された。平成5年5月にも同症を指摘され、当院内科に紹介された。自覚症状は全くない。既往歴

には小学4～5年生頃、急性腎炎がある。家族歴では父母や兄弟は不明であるが、祖父とその兄弟に高コレステロール血症があるという。身長181cm、体重61kg、血圧146/84mmHg。皮膚黄色腫はないが右アキレス腱はやや肥大していた。他に角膜輪、肝脾腫等の異常はなく、また負荷心電図でも虚血性変化は陰性であった。

症例2は73才男性。昭和52年、直腸癌手術、翌年輸血後肝炎、この頃高コレステロール血症も指摘された。以後、当院内科にて抗高脂血症剤を投与され、平成5年末よりシンバスタチン5mgを服用している。平成6年10月には糖尿病の合併も認められ、食事療法の指導を受けた。既往歴では上記以外特記すべきものはない。高脂血症の家族歴は聴取できた範囲にはなく、その他の疾患の家族歴も特記すべきものはない。身体所見では身長160cm、体重64.5kg、皮膚黄色腫はないが、両側アキレス腱の肥厚を明瞭に認めた。腹部に人工肛門を装着しているが、他に特記すべき異常はない。安静時の心電図にも異常は認めなかった。

X線軟線撮影で、アキレス腱の肥厚度は症例1で右13、左8mm、症例2は左右とも25mmであった(Fig. 1)。脂質検査を除く尿、血液の一般検査には、症例1は全く異常なく、症例2では軽度の空腹時血糖上昇(137mg/dl)と

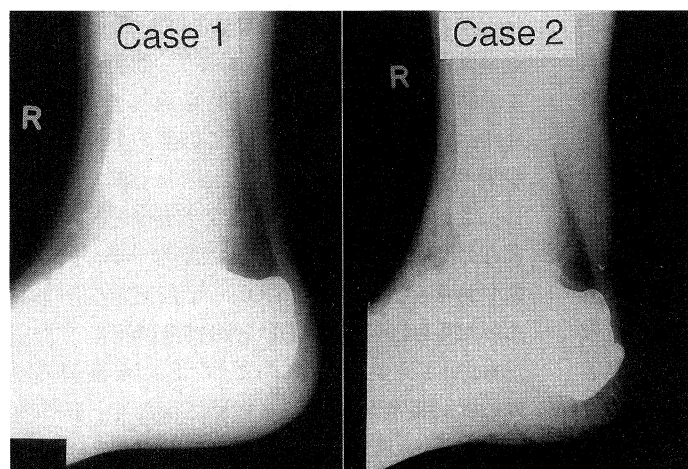


Fig. 1. Achilles tendon X-P

Table 1. Serum lipid study.

		Case 1	Case 2
Free fatty acid	$\mu\text{Eq/l}$	867	1,382
Triglyceride	mg/dl	117	70
Phospholipids	"	251	300
Total cholesterol	"	360	347
LDL	"	287	288
HDL	"	50	45
Type (WHO)		II a	II a
ApoA-I	mg/dl	131	99
A-II	"	34	30
B	"	191	192
C-2	"	5.0	1.6
C-3	"	13.7	5.2
E	"	7.9	8.4
Apo E Phenotype		E3/3	E3/3
LDL Receptor Activity	%	47	34

GPT, GOT の上昇 (それぞれ42, 28 IU/l) を認めるのみであった。脂質検査は LDL-コレステロール (LDL-C) が症例1で287, 症例2で288mg/dl と著増していたが, トリグリセリドは正常であった (Table 1)。アポ蛋白分析では両例共アポ B, E の上昇, アポ E の表現型は E3/3 であった。またアガロースゲル電気泳動による高脂血症の型分類 (WHO) はいずれも IIa 型を示した。

両症例は FH の疑いが強いので, フローサイトメトリーを用いたリンパ球 LDL-R 活性を測定すると³⁾, 症例1は47%, 症例2は34% (健常コントロール 100.8 ± 11.0) と著しい低下を認め, 臨床所見と合わせて FH と診断した。さらに,

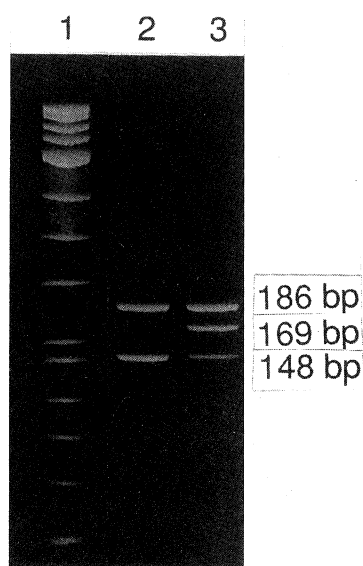


Fig. 2. Polyacrylamide gel electrophoresis of Mnl I digests of the PCR products.

1 : Marker, 2 : Control, 3 : Case 1.

LDL-R の遺伝子解析を行うため, Maruyama⁴⁾ らの方法で末梢血白血球 DNA より PCR 産物を得, 制限酵素処理, 10% ポリアクリルアミド電気泳動でフラグメント切断パターンを調べた (Fig. 2)。この際用いたプライマーは,

エクソン4の中央より5'側, 355bp を挟む2種のプライマーである。また Mnl I 制限酵素処理により, 正常では186, 148, 21 bp の3つのフラグメントに切断されると予測されるが, 症例1では169 bp 変異バンドを認めた。

考 察

FH の診断基準として本邦の厚生省特定疾患原発性高脂血症調査研究班⁵⁾ は, ①血清コレステロール値260mg/dl 以上でIIaまたはIIbの表現型, ②腱黄色腫または皮膚結節性黄色腫の存在, ③ LDL-R 活性の低下ないし種々の異常の3つをあげ, この内2つ以上有すれば確診とす

ることが提唱されている。この内③は本症の病因とされているもので¹⁾、最も重要と考えられている。しかし LDL-R 活性の測定は皮膚生検により培養皮膚線維芽細胞を得て行う⁶⁾など煩雑で高度の技術を必要とするため、限られたところでしか行なわれなかった。最近、末梢リンパ球を3日間培養して LDL-R の誘導発現を行い、これに蛍光色素 (3, 3'-dioctadecylindocarbocyanine, 励起波長488nm, 蛍光波長570nm) 標識 LDL を取り込ませ、その取り込み率をフローサイトメトリーを用いて測定し、LDL-R 活性として表わす簡便な方法が開発された³⁾。著者らの2例は、前述の FH の診断基準をほぼ満たすが、今回 LDL-R 活性の低下が明らかにされたことで両例共 FH と確診されよう。なお、本法では FH ヘテロ型の LDL-R 活性は 35~71%、ホモ型では 22~30% 以下とされる。これを参考にすると我々の2例はヘテロ型と考えられる。

ヒト LDL-R 遺伝子は第19染色体に存在し、18個のエクソンからなる⁷⁾。1993年までに報告されている FH の遺伝子異常はすでに60種にも上

り、それらは変異の部位によっていろいろの機能異常が生じるとされている²⁾。著者らの症例1と同様の169変異バンドを発見した Rubinsztein ら⁸⁾ や Hobb ら⁹⁾ は、この部の DNA 配列を調べ、G → A 変異 (Gln 119 → Lys) であるとし、このような変異を E119変異と命名した。著者らの例は DNA 配列は調べていないが、同じ変異であり、これにより LDL-R 蛋白合成不全あるいは LDL-R の LDL との結合低下をきたしたものと思われる⁸⁾。このような E119k 変異の頻度は他の変異に比しても極めて少なく、1995年 Maruyama らの FH 120例の分析でも2例 (1.7%) しかない⁴⁾。海外の報告も限られている^{8), 9)}。なお、症例2では E 119k 変異は認めず、他の変異と考えられる。

症例1を紹介いただいた川崎医療福祉大健康管理センター堀野正治先生、LDL レセプター解析を担当いただいた BML 臨床開発部 (川崎市)、江頭 徹氏らに深謝する。本論文の一部は第8回岡山高脂血症症談話会 (平成8年2月23日、岡山市) で報告した。

文 献

- 1) Brown MS, Goldstein JL: Expression of the familial hypercholesterolemia gene in heterozygotes—mechanism for a dominant disorder in man. *Science* 185: 61-63, 1974
- 2) 小泉順二, 馬淵 宏: 家族性高コレステロール血症. *現代医療* 25: 749-754, 1993
- 3) 服部浩明, 長野 誠, 江頭 徹: LDL レセプター活性測定法. *Lab Clin Pract* 13: 45-49, 1995
- 4) Maruyama T, Miyake Y, Tajima S, Harada-Shiba M, Yamamura T, Tsushima M, Kishino B, Horiguchi Y, Funahashi T, Matsuzawa Y, Yamamoto A: Common mutations in the low-density-lipoprotein-receptor gene causing familial hypercholesterolemia in the Japanese population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15: 1713-1718, 1995
- 5) 垂井清一郎: 厚生省特定疾患原発性高脂血症調査研究班, 昭和62年度報告書, 1988
- 6) Brown MS, Goldstein JL: Regulation of the activity of the low density lipoprotein receptor in human fibroblast. *Cell* 6: 307-316, 1975
- 7) Yamamoto T, Davis CG, Brown MS, Schneider WJ, Casey ML, Goldstein JL, Russell DW: The human LDL receptor: a cysteine-rich protein with multiple Alu sequences in its mRNA. *Cell* 39: 27-38, 1984
- 8) Rubinsztein DC, Jialal I, Leitersdorf E, Coetzee GA, van der Westhuyzen DR: Identification of two new LDL-receptor mutations causing homozygotes familial hypercholesterolemia in a South African of India origin. *Biochim Biophys Acta* 1182: 75-82, 1993
- 9) Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL: Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial