

氏 名 (本 籍)	やま かわ きみ こ 山 川 公 子 (和歌山県)
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	博 甲 第 685 号
学位授与年月日	平成元年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	医 学 研 究 科
学 位 論 文 題 目	家族性高コレステロール血症の突然変異遺伝子の分析
主 査	筑波大学教授 医学博士 大 貫 稔
副 査	筑波大学教授 医学博士 小 町 喜 男
副 査	筑波大学教授 医学博士 東 恵 彦
副 査	筑波大学助教授 理学博士 坂 内 四 郎
副 査	筑波大学助教授 医学博士 三 井 利 夫

論 文 の 要 旨

家族性高コレステロール血症は、早発性虚血性心疾患の最も強い遺伝的リスクファクターであり、LDL レセプター遺伝子の異常によって発症する常染色体性優性遺伝病である。

本研究の目的は、日本人の家族性高コレステロール血症を引き起こしている突然変異 LDL レセプター遺伝子の特徴を DNA レベルで分析して、突然変異 LDL レセプター遺伝子の種類や突然変異の起源の家系間の異同を明らかにすることである。

《対象ならびに方法》

1) ヘテロ接合型家族性高コレステロール血症17家系とホモ接合型家族性高コレステロール血症1家系の家族102名の LDL レセプター遺伝子を分析した。すなわち、静脈血中の白血球より、Kunkel らの方法によって、高分子 DNA を抽出し、LDL レセプター遺伝子の cDNA をプローブとして用いた Southern ブロットング法により分析した。

2) 早朝空腹時の血漿総コレステロール値、トリグリセライド値は酵素法で、また HDL-コレステロールもヘパリンマンガン加後沈澱させて酵素法で、さらにアポリポタンパク B 濃度は、アポ B プレートを用いて一元免疫拡散法にて測定した。一方、アキレス腱前後径と黄色腫存在の判定は Blankenhorn らによる X 線撮影法と Yuzawa らによる超音波断層撮影法によった。

これらの諸検査成績は、家族性高コレステロール血症の診断基準としても応用された。

《成績ならびに考察》

1) まず、これらの家族性高コレステロール血症家系が持つ19個の突然変異 LDL レセプター遺伝子

の中で、部分欠失のような大きな構造異常を持つ突然変異 LDL レセプター遺伝子の割合と構造異常の特徴を調べたところ、互いに欠失部位の異なる 4 種類の部分欠失型遺伝子が検出できた。まだ例数は少ないが、部分欠失型突然変異遺伝子の割合は 21% であった。これらはすべて、今までに白人において報告されている部分欠失型遺伝子とは欠失部位が異なっていた。このうちの 3 種類の部分欠失型遺伝子は初めてみつかった新しいタイプの突然変異遺伝子であった。さらに、4 種類の部分欠失型突然変異遺伝子のうち 3 種類はイントロン 15 の一部が欠失していた。

2) 次に、メチル化を受けやすく点突然変異のホットスポットであることが示唆されている CG 塩基配列に点突然変異があるかどうかを調べるために、制限酵素 TaqI を用いて突然変異遺伝子进行分析した。TaqI は、TCGA 塩基配列を認識することがわかっている。上記 4 種の部分欠失型突然変異遺伝子を除いた 15 個の突然変異 LDL レセプター遺伝子について分析したところ、1 家系の突然変異遺伝子において異常な TaqI 切断断片が検出でき、その家系の突然変異 LDL レセプター遺伝子を TaqI 認識部位の異常で特徴づけることができた。異常 TaqI 切断断片を生じる突然変異 LDL レセプター遺伝子が見つかったのは初めてである。

3) Southern ブロットリング法によりその異常が直接検出できなかった残りの 14 個の突然変異 LDL レセプター遺伝子については、7 種の LDL レセプター遺伝子の制限酵素切断による DNA 断片長の多型 (restriction fragment length polymorphism; 以下 RFLP と呼ぶ) を用いて家系分析を行ない、家系ごとに突然変異遺伝子の RFLP ハプロタイプ进行分析した。その結果、13 個の突然変異遺伝子について RFLP ハプロタイプが決定できその中に 8 種類の異なる RFLP ハプロタイプを観察することができた。従って、この 13 個の突然変異 LDL レセプター遺伝子は、少なくとも 8 種類の、起源が異なる突然変異遺伝子として分類できることが判明した。3 種類のハプロタイプが複数の家系の突然変異遺伝子で観察されたが、このうち 2 種類は正常 LDL レセプター遺伝子においても比較的頻度の高いものであった。

《結 論》

日本人のヘテロ接合型家族性高コレステロール血症 17 家系とホモ接合型家族性高コレステロール血症 1 家系における合計 19 個の突然変異 LDL レセプター遺伝子のうち 18 個が、部分欠失の有無や、異常 TaqI バンドの出現、および RFLP ハプロタイプによって家系内で同定でき、そのうち少なくとも 13 個の突然変異遺伝子の起源が家系間で異なることが判明した。また、LDL レセプター遺伝子における部分欠失のような大きな構造異常の有無の検出や、RFLP ハプロタイプの分析を行なうことによって、大部分の家族性高コレステロール血症患者の家族の早期遺伝子診断が有効に実施できることがわかった。

審 査 の 要 旨

特定の民族において、突然変異 LDL レセプター遺伝子を部分欠失の有無、異常 TaqI バンドの出現、および RFLP ハプロタイプによって特徴づけたのは、本研究が初めてである。本研究により、

新しい3種類の部分欠失型突然変異遺伝子と1種類の異常 TaqI 切断断片を生じる突然変異遺伝子がみつかった。さらに、日本人では家族性高コレステロール血症の突然変異遺伝子の起源が家系間で異なる傾向が強いことや、典型的な家族性高コレステロール血症を引き起こす突然変異 LDL レセプター遺伝子では、部分欠失型遺伝子の頻度が従来考えられていたよりも高い可能性があることが示唆されるなど新知見の多い価値ある研究と評価された。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。