

# アポE多型性が血液透析患者の脂質代謝動態に及ぼす役割について

〈日本透析医会研究助成研究報告書〉

頼岡 徳在<sup>1)</sup>、西田 陽司<sup>1)</sup>、小田 弘明<sup>1)</sup>

上田千賀子<sup>2)</sup>、山木戸道郎<sup>1)</sup>

## 【要約】

アポE多型性が血液透析患者の脂質代謝動態に及ぼすインパクトについて検討した。

血液透析患者448名(男性259名、女性189名)を対象とし、血漿の等電点電気泳動およびimmunoblotting法によりアポE表現型を同定し、アポE alleleの頻度を算出した。さらにアポE多型性とmidband陽性との関連性について検討した。また、空腹時採血をなし得た218例については、アポE多型性と脂質代謝因子との関連について検討した。その結果、 $\epsilon 2 = 0.052$ 、 $\epsilon 3 = 0.862$ 、 $\epsilon 4 = 0.086$ と $\epsilon 2$ の頻度は健常者に比し、有意に高値を示した。midbandの検出率ではアポE多型性間には有意差は認めなかったが、HD期間とmidband陽性は関連性を認めた。E2群(E3/2)では、E3群(E3/3)及びE4群(E4/3)に比し、有意に血中総コレステロール値、アポB値、LDL含量の低値およびHDL含量の高値を示した。

アポE多型性は脂質代謝(特にtriglyceride richリポ蛋白)に大きく影響を与え、脂質代謝異常を介して腎障害に関与する事が推測される。さらに、HD患者では脂質代謝に与えるインパクトが修飾されている可能性が示唆された。

**key words** アポE多型性、血液透析、脂質代謝異常、midband

## はじめに

慢性腎不全患者における死因の約40%を心・脳血管障害が占めており、その発症には、高脂血症をはじめとする脂質代謝異常の関与が知られている。そして最近、脂質代謝異常を引き起

こす因子としてアポリポ蛋白E(アポE)多型性の重要性が示されている。すなわちアポE多型性の違いによりVLDLレムナントの肝臓への取り込みが異なること、また血中LDLコレステロールレベルに差を生ずることなどが明らかになっ

- 
- 1) 広島大学医学部第二内科
  - 2) 一陽会原田病院

てきた。そこで本研究では、慢性血液透析(HD)患者におけるアポE多型性の役割を明らかにする目的にて、HD患者のアポE多型性と血清脂質代謝との関連性を検討した。

## 対象および方法

**対 象**：HD患者448名（男性259名、女性189名）であり、平均年齢は $56.0 \pm 13.4$ 歳、平均HD施行期間は $91.4 \pm 70.0$ カ月である。男女間に年齢差を認めたが、HD施行期間の差は認めなかった。

**測定方法**：患者血清10 $\mu$ lを、5 mM DTT含有0.5% Tween-20と共にインキュベートし、等電点電気泳動法およびimmnoblotting後、染色してアポE多型性を決定した<sup>1)</sup>。なおアポE alleleの頻度はgene counting法を用いた<sup>2)</sup>。さらにリポ蛋白の代謝動態を検討する目的にて、ポリアクリルアミドゲルを用いたリポ蛋白分画電気泳動を行った。その結果、VLDLとIDLとの間にbandを認めた。これはTGリッチリポ蛋白の代謝遅延が考えられ、midband陽性パターンと称することとし、HD患者におけるアポE多型性とmidband陽性との関連性についても検討した。そして空腹時採血を施行し得た296例についてはアポE多型性と血清脂質およびリポ蛋白分画との関連性を検討した。Cholesterol(TC)、Triglycerides(TG)、HDL-Cholesterol、各種リポ蛋白など脂質代謝関連因子は型のごとくの方法にて測定した。なおアポE 2を有するものをE 2群、アポE3/3のみを有するものをE 3群、アポE 4を有するものをE 4群とした。

統計学的検討には $\chi^2$ 検定およびone way ANOVA検定を用いた。

## 成績

HD患者および健常日本人におけるアポE多型性各遺伝子の頻度では、健常者に比し、E 2を有する頻度が有意に高値を示した(表1)。

アポE表現型の頻度は、448例中アポ3/2を有する患者は44例(9.8%)、3/3は328例(73.2%)、4/3は72例(16.1%)であり、その他4/2は3例(0.7%)、4/4は1例(0.2%)であった(表2)。

アポE多型性とmidbandの検出頻度では、陽性率においては有意差を認めなかったが、E 2群、E 3群、E 4群の順に高い傾向を示した(表3)。

またHD期間とmidbandの検出頻度では、HD期間が長期になるにつれて、midbandの陽性率は有意に高値を示した(表4)。

血清脂質との検討では、E 2群ではE 3群およびE 4群に比し血清TC、LDL-CおよびLDL含量は有意に低値を示した。またE 2群はE 4群に比し、HDL含量は有意に高値を、アポBは有意に低値を示した。そしてE 4群ではE 2群およびE 3群に比し、アポB/A 1比は高値を示した。その他の因子には有意差を認めなかった(表5)。

表1 アポE遺伝子頻度

	HD患者	日本人健常者 <sup>6)</sup>
ε 2	0.052	0.035
ε 3	0.862	0.851
ε 4	0.086	0.112
その他	0.000	0.002

$$\chi^2 = 6.2366 ; P < 0.05$$

表2 アポE表現型頻度

アポE表現型	HD症例数	(%)
2/2	0	(0.0)
3/2	44	(9.8)
3/3	328	(73.2)
4/2	3	(0.7)
4/3	72	(16.1)
4/4	1	(0.2)
合計	448	(100.0)

表3 アポE多型性とmidband検出頻度

<b>midband</b>	<b>E2群</b>	<b>E3群</b>	<b>E4群</b>
陽性 (%)	<b>16</b> <b>(51.6)</b>	<b>128</b> <b>(57.4)</b>	<b>26</b> <b>(61.9)</b>
陰性	<b>15</b>	<b>95</b>	<b>16</b>

$$\chi^2 = 0.773 ; P = 0.679 \text{ (N.S.)}$$

表4 HD期間とmidband検出頻度

<b>midband</b>	<b>5年未満</b>	<b>5年以上 10年未満</b>	<b>10年以上</b>
陽性 (%)	<b>64</b> <b>(51.6)</b>	<b>42</b> <b>(53.8)</b>	<b>64</b> <b>(68.1)</b>
陰性	<b>60</b>	<b>36</b>	<b>30</b>

$$\chi^2 = 6.124 ; P < 0.05$$

表5 アポE多型性と血清脂質

	E2群	E3群	E4群
TC(mg/dl)	159.6 ± 46.7 <sup>*a*b</sup>	177.0 ± 43.2	184.0 ± 42.6
TG(mg/dl)	142.9 ± 61.0	134.0 ± 95.5	154.8 ± 62.8
HDL-C(mg/dl)	43.2 ± 14.0	44.3 ± 14.0	41.5 ± 13.9
LDL-C(mg/dl)	87.9 ± 36.1 <sup>*c*d</sup>	105.5 ± 35.8	111.5 ± 31.7
リポ蛋白分画			
HDL(%)	35.5 ± 10.2 <sup>*d</sup>	32.1 ± 9.3	29.3 ± 6.2
LDL(%)	33.9 ± 8.9 <sup>*c*d</sup>	38.9 ± 7.1	40.5 ± 6.5
IDL(%)	9.1 ± 7.0	10.1 ± 7.9	8.4 ± 5.7
VLDL(%)	21.5 ± 5.7	19.8 ± 9.3	21.9 ± 5.9
Apo-A1(mg/dl)	125.1 ± 23.8	125.9 ± 22.3	124.8 ± 26.5
Apo-B(mg/dl)	82.0 ± 26.6 <sup>*d</sup>	89.6 ± 26.1	97.9 ± 21.1
Apo-B / Apo-A1	0.67 ± 0.22	0.73 ± 0.21	0.80 ± 0.17 <sup>*d*e</sup>

<sup>\*a</sup>;  $P < 0.05$  E2 vs E3, <sup>\*b</sup>;  $P < 0.05$  E2 vs E4, <sup>\*c</sup>;  $P < 0.01$  E2 vs E3, <sup>\*d</sup>;  $P < 0.01$  E2 vs E4, <sup>\*e</sup>;  $P < 0.05$  E3 vs E4

## 考案

アポEは動脈硬化に強く関連するアポB含有リポ蛋白を調節する重要な蛋白である<sup>3)</sup>。また、そのフェノタイプによって血清脂質に大きく影響を及ぼす事が言われている<sup>4)</sup>。特にアポE2/2はⅢ型高脂血症をひき起こす因子である事が指摘されている<sup>5,6)</sup>。

今回の成績からHD患者ではε 2のalleleを有する頻度が有意に高くε 2と腎不全との関連性が推測され得る。ε 2はTGリッチリポ蛋白代謝遅延の原因となる事が言われており<sup>7)</sup>、以前、我々はTGリッチリポ蛋白がメサングウム細胞を増殖させることを*in vitro*にて報告している<sup>8)</sup>。また、レムナントリポ蛋白が腎不全患者において増加傾向にある事も報告した<sup>9)</sup>。以上より、レムナントリポ蛋白を含むTGリッチリポ蛋白の腎障害への関与が推測される。

midbandは、TGリッチリポ蛋白やその他のレムナントリポ蛋白を含んでいる。レムナント

リポ蛋白は動脈硬化の促進因子として言われているが<sup>10)</sup>、HD期間との関連性があることよりHDが長期になってくると、この様なリポ蛋白が血中に増加する傾向にあり、動脈硬化が進展しやすい状況にあることが推測される。

人種による若干の違いは見られるが、アポE多型性の違いによるアポB含有リポ蛋白の代謝動態については、健常人に最も多いアポE3群に比し、E2群ではTGリッチのカイロミクロンおよびVLDLが各レセプターに取り込まれにくく、血中に停滞するため、高TG血症を示す一方で、肝および末梢に存在するLDLレセプターはup regulationを受け、コレステロールリッチのLDLを過剰に取り込み、その結果血清TCは低値を示す傾向にある。しかしながら、E4群ではカイロミクロンおよびVLDLがレセプターに取り込まれ易く、LDLレセプターはdown regulationを受け、その結果、血清TCは高値を示す傾向にある<sup>7)</sup>。すなわちアポE3/3を有す

る群に比し、アポE2を有する群では高TG、低TCの傾向を示すが、アポE4を有する群では高TCを示す傾向にある。今回の検討では、E2群でTC、LDL-C、ApoBは他の群より有意に低値を示したが、TGは高値を示さなかった。一方、動脈硬化指数であるApo-B/Apo-A1はE4群で他の群より有意に上昇していた。

これらのことより、HD患者ではアポE多型性が血清脂質動態に及ぼす影響が修飾されている可能性が示唆される<sup>2)</sup>。可能性として透析中のヘパリンによる影響などが考えられるが、その原因は不明である<sup>1)</sup>。

さらには、アポE多型性の頻度には人種差、地域差があることも考えられ<sup>7)</sup>、今後は対象人数を増やし大規模な調査による検討が必要と思われる。

#### まとめ

- 1) HD患者では健常者に比し、ε2 alleleを有する頻度が有意に高く、アポE2が腎機能障害憎悪に関与する可能性が推測された。
- 2) HD患者におけるmidbandの出現頻度は、アポE2、E3、E4を有する順に高いことから、この順番でのTGリッチリポ蛋白代謝遅延が示唆された。またHD期間が長期になるにつれて、midbandの陽性率は有意に高値を示し、HDによる動脈硬化促進傾向が示唆された。
- 3) HD患者ではアポE多型性の違いによる脂質代謝動態が健常人と異なることから、アポE多型性が脂質代謝に与えるインパクトが修飾されている可能性が推測された。

#### 謝辞

本研究の一部は日本透析医会の研究助成によるものである。

#### 文献

- 1) Kataoka S, Paidi M, Howard BV: Simplified isoelectronic focusing /immunoblotting determination of apoprotein E phenotype. *Clin Chem* 40, 11-13, 1994.
- 2) Feussner G, Wey S, Bommer J, Deppermann D, Grützmaker P, Ziegler R: Apolipoprotein E phenotypes and hyperlipidemia in patients under maintenance hemodialysis. *Hum Genet* 88, 307-312, 1992.
- 3) Lehtimäki T, Moilanen T, Aalto-Setälä K, Kontula K, Porkka K, Äkerblom HK, Ehnholm C, Rönnemaa T, Viikari J: Association of apolipoprotein E and B polymorphisms with serum lipids. *Annals of Medicine* 23, 657-662, 1991.
- 4) Mahley RW: Apolipoprotein E: Cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 240, 622-630, 1988.
- 5) Demant T, Bedford D, Packard CJ, Shepherd J: Influence of apolipoprotein E polymorphism on apolipoprotein B-100 metabolism in normolipemic subjects. *J Clin Invest* 88, 1490-1501, 1991.
- 6) Davignon J, Gregg RE, Sing CF: Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 8, 1-21, 1988.
- 7) Utermann G: Apolipoprotein E polymorphism in health and disease. *Am Heart J* 113, 433-440, 1987.
- 8) Nishida Y, Yorioka N, Oda H, Yamakido M: Effect of lipoproteins on cultured human mesangial cells. *Am J Kidney Dis* 29, 919-930, 1997.
- 9) Oda H, Yorioka N, Okushin S, Nishida Y, Kushihata S, Ito T, Yamakido M: Remnant-like particle cholesterol may indicate

- atherogenic risk in patients on chronic hemodialysis. *Nephron*, 76: 7-14, 1997.
- 10) Nestel PJ, Fidge NH, Tan MH: Increase Lipoprotein-remnant formation in chronic renal failure. *N Engl J Med* 307, 329-333, 1982.
- 11) Oda H, Yorioka N, Ueda C, Nishida Y, Yamakido M: Apolipoprotein E phenotype and renal disease. *Contrib Nephrol* 120, 22-29, 1997.