

(2) 高インスリン高アンモニア血症の病態解明

1) 高インスリン高アンモニア血症について

1998 年 Stanley ら (N Eng J Med 338: 1352-1357, 1998) は高インスリン高アンモニア血症の低血糖症と高アンモニア血症という 2 つの異なる臓器 (膵臓と肝臓) 由来の症状が glutamate dehydrogenase (GDH) という単一遺伝子の異常によって発症することを明らかにした。しかも、一般的な先天性代謝異常症が『loss of function』によって発症する点と大きく異なり、本症は GDH 活性の GTP の抑制制御が失われるため、GDH 活性が上昇する『gain of function』によって発症する。そして、GDH 遺伝子の 1 対立遺伝子の異常によって発症する。当初、GTP アロステリック部位であるアミノ酸コドン 445 から 455 に遺伝子変異が存在する時、病気として発症すると報告されていた。しかしながら、症例数の蓄積と遺伝子解析の結果、それ以外の GDH 遺伝子の部位の遺伝子変異においても病気として発症することが明らかにされている。

2) GDH の酵素解析と分子遺伝学的解析

高インスリン高アンモニア血症は臨床症状に加えて、リンパ芽球の GDH 活性への GTP 抑制効果の低下によって診断される。高インスリン高アンモニア血症と考えられた 2 自験例について GDH の酵素生化学解析と分子遺伝学的解析を行った (図 2-1、Fujioka et al. Eur J Hum Genet 9:931-937, 2001)。G446D と L413V 変異はそれぞれの患者の 1 対立遺伝子で同定され、両変異とも de novo で発生していた。GDH 活性は GTP 抑制効果の低下に加え、これまでの報告とは異なり L413V 変異では基礎 GDH 活性の上昇を認めた。このことは G446D 変異が GDH の活性発現調節に重要な蝶番部位に存在し、L413V がアンテナ様構造の α -helix に存在するという GDH 立体構造上での遺伝子変異の位置が反映していると推定された。患者リンパ芽球 (変異はヘテロ接合体) と遺伝子変異を導入した COS 細胞 (ホモ接合体) の比較から、GDH の制御機構の異常が遺伝子変異の量により変化すること - gene dosage 理論 - を明らかにした。

X線解析で明らかにされた bovine GDH の立体構造の情報をもとに、ヒトで発見された遺伝子変異は GDH 酵素蛋白上それぞれ特徴的な機能を持つ 3 カ所に存在している (図 2-2)。すなわち、GTP 結合部位 (S217L、R221C、R256T、R265T、R265K、Y266C、R269H、R269C、E296A)、蝶番部位 (H454Y、S445L、G446S、G446B、S448P)、アンテナ様構造部位 (N410T、L413V) に同定されている。いずれの遺伝子変異においても GTP による GDH 活性の抑制効果の低下をきたしている。

3) 高インスリン血症の発症機構

第一の主要症状である低血糖について、Tanizawa らは(Diabetes 51:712-717, 2002)GTP 結合部位の Y266C 変異による低濃度グルコース領域でのインスリンの過剰分泌を報告した。しかしながら、膵 細胞内で GDH 変異がインスリン過剰分泌至るまでのシグナル伝達のみカニズムは十分には解明されていなかった。我々は変異 GDHcDNA を MIN6 膵 細胞へ導入し、その作用機序を酵素生化学的、電気生理学手法を用いて明らかにした(Kawajiri et al. Ped Res 59: 359-364, 2006)。すなわち、L413V 変異では膵 細胞で GDH の GTP 抑制効果の喪失とグルコース低濃度領域での過剰インスリン分泌という生理的な制御機構が崩壊していた。patch-clamp 法によるシングルチャンネル解析では、L413V 変異を導入した MIN6 細胞では細胞膜の有意な脱分極と頻回の Ca²⁺ spike、さらに細胞内 ATP 濃度が上昇し、脱分極に大きく関与していた。また、チャンネル作動薬を用いた実験から L413V 変異では KATP チャンネルの閉鎖とともに非選択性陽イオンチャンネルの活性化を認めた。以上の結果から、膵 細胞において(1) GDH 遺伝子変異による GDH 活性の亢進、(2)細胞内 ATP/ADP 比の上昇、(3) KATP チャンネルの閉鎖、(4) 非選択性陽イオンチャンネルの活性化と脱分極、(5) 細胞外から細胞内へ Ca²⁺ の流入、(6)インスリン分泌という、高インスリン高アンモニア血症のインスリン過剰分泌機構を解明した(図 2-3)。高インスリン高アンモニア血症の主要症状の一つである低血糖症 高インスリン血症 に対する治療はその発症機序から、KATP チャンネル作用薬であるジアゾキサイドが低血糖症状に対して非常に有効で、良好な血糖コントロールを可能としている。

図2-1グルタメイト脱水素酵素活性

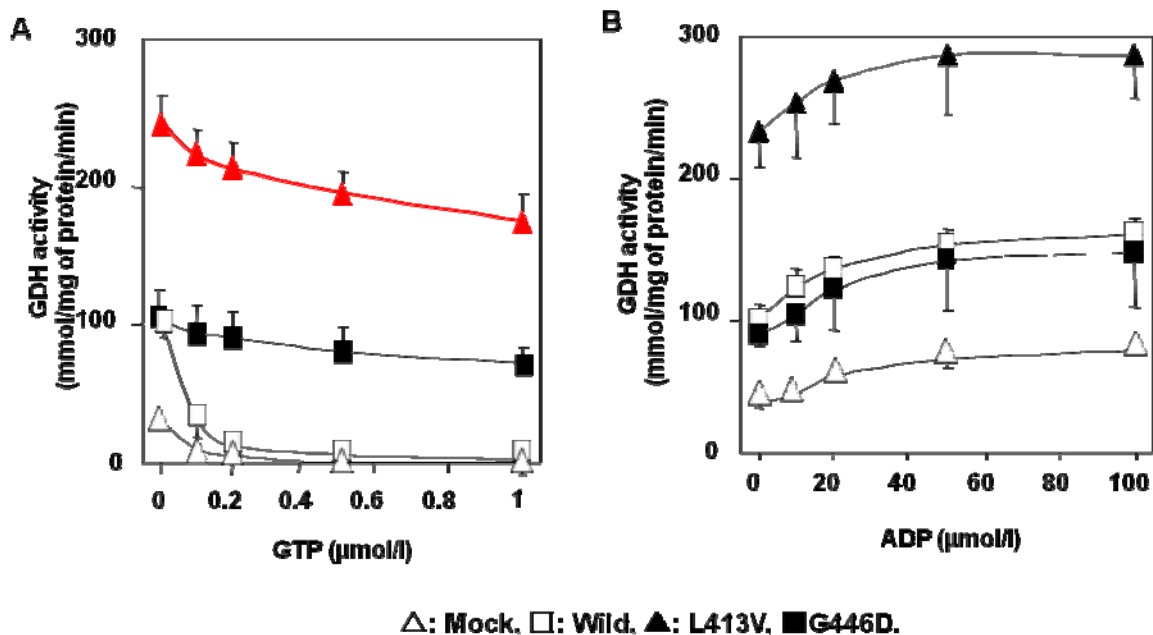


図2-2グルタミート脱水素酵素の立体構造と遺伝子変異

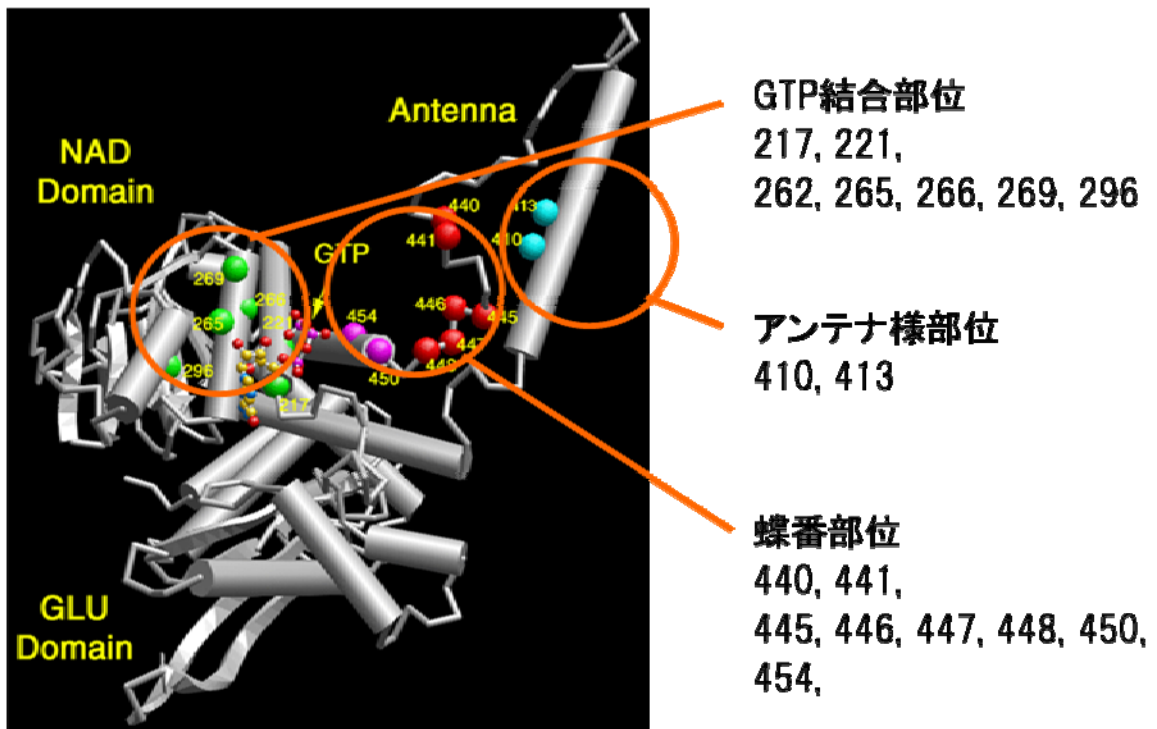


図2-3グルタメイト脱水素酵素の異常と膵β細胞のインスリン分泌機構

