

平成12年度厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書（別添2）・分担研究報告書（別添3）

高齢化社会における循環器未病対策と医療経済に関する疫学的基礎研究
(H11-長寿-044)

主任研究者	都島基夫	国立循環器病センター総合外来部（動脈硬化代謝内科）医長
分担研究者	丸山太郎	埼玉社会保険病院内科 部長
	村田 満	慶応義塾大学医学部内科 講師
	丸山千寿子	日本女子大学家政学部 助教授
委託研究者	志水武史	さくら総合研究所 環境・高齢社会研究センター

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

高齢化社会における循環器未病対策と医療経済に関する疫学的基礎研究

主任研究者 都島 基夫 国立循環器病センター総合外来部（動脈硬化代謝内科）医長

研究要旨：発症の準備状態の未病診断としての臨床疫学的の遺伝子多型の評価、疾患発症の予防治療における指針づくり、コストエフィカシー解析の基礎データづくり、その他の未病診断の検討を目的にし、以下の結果を得た。1 遺伝子多型の評価は、未病診断法として有用であった。それぞれ CETPTaq1B 遺伝子と ApoAI M1 遺伝子は HDL-C の値に影響を与えるが、組み合わせることによりより明らかな影響がみられた。GPIIb/IIIa (Thr145Met) と NADPH oxidase p22 phox(His73Thr)は脳卒中の発症に関与した。MTHFR 遺伝子多型 VV 型ではホモシステイン濃度が高値であり、葉酸摂取が値に影響を及ぼした。HDL-TG の測定は、動脈硬化の活動性の指標となった。大動脈 C T でプラークの性状診断が可能であり、経過観察により動脈硬化の安定化の診断や疾患発症を予知できる可能性がある。

分担研究者 丸山太郎

埼玉社会保険病院内科部長

村田 満

慶応義塾大学医学部内科講師

丸山千寿子

日本女子大学家政学部助教授

委託研究者 志水武史

さくら総合研究所 環境高齢社会研究センター

A. 研究目的

【1】生活の質（quality of life：QOL）を損なう前の、循環器病の準備状態で沈黙の病態である未病を定義し、未病の診断とその管理をすることにより循環器病を発症させないで、健康で長寿を保ち、究極的には循環器病の制

圧と高齢を健康で迎え、長寿を幸福と感じる社会作りが目的である。「未病」の西洋医学的な立場からの定義と診断としては、(1) QOL を保持している、(2) 循環器病未病には、生活習慣病とよばれる合併症がない糖尿病、高血圧、高脂血症、喫煙習慣などのリス

クファクター、循環器病の家族歴のあるもの、遺伝子多型性、遺伝子欠損症、高齢（老化）などの疾病準備状態、(3) 発症前の早期動脈硬化を診断することにより発症の危険性があるものが含まれる。

【2】遺伝子多型では、多因子遺伝病である common disease に一つ一つの遺伝子の phenotype は大きな影響を与えないが、複数の多型遺伝子が環境因子と複雑に絡み合って易罹病性を決定する。一つのリスクとしての遺伝子が環境因子との相互作用でどのようなインパクトをもつかを予防医学的見地から解明して、循環器未病対策における遺伝子多型検査の意義を明確にすることも本研究の目的である。

【3】予防治療の cost-effectiveness を分析、すなわち、疾病を発症させない予防効果と発症後の治療に要する医療費、介護費、働けなくなった減収、家族の労働などを比較の対象としたマクロ的な cost effective analysis が本研究の目的である。臨床では、個人の医療費負担とその efficacy というミクロ的な cost effective analysis も検討項目となる。

B. 研究方法

【1】未病としての生活習慣病の遺伝子多型とその影響：住民簡易ドックとして、交流が少ない漁村と農村をもつ三重県紀勢町の住民健診を募り、1985年より毎年健診ドックを実施してきた。冠動脈疾患死亡率は農村地区7.6%、漁村地区12.3%（全国8.4%）である。本研究は動脈硬化の指標として頸動脈エコー、動脈脈波伝播速度を計測した。遺伝子解析項

目として、1) ACE(intron16 I/D), 2) β 3-AR (54Trp/Arg), 3) FA binding protein 2 (54Ala/Thr), 4) Platelet G Ib (145Thr/Met4G/5G), 5) PAI-1 (4G/5G), 6) paraoxonase (192Gln/Arg), 7) NOS (4repeat/5repeat), 8) LPL-Hind III (intron 9) LPL -Pvu II (intron 6), 10) CETP (Taq I B1/B2), 11) MTHFR(677C/T), 12) ApoA-I M1 遺伝子, 13) ApoA-I M2 遺伝子, 14) Fibrinogen(G455A), 15) FactorXII(C46T), 16) Serotonin receptor 5HT2A(T102C), 17) NADPH oxidase p22 phox(His73Thr), 18) Mitochondria DNA(C5178A), 19) Monocyte CD14 antigen (promoter C260T) , 20) Atrial natriuretic peptide (G664A) , 21) Angiotensinogen(T235M)などである。

住民では今年も ApoA1 遺伝子多型、CETP 遺伝子多型の HDL に与える影響をみた（丸山太郎分担）。

これらの遺伝子変異の疾患への関与をすることを目的に、健康人 281 人を対象に慶応義塾大学病院に入院した虚血性脳血管障害患者 200 人における発症への遺伝子多型の影響を見た（村田満分担）。

ホモシステイン（Hcy）の解析と血中葉酸濃度、栄養摂取量の影響については MTHFR 遺伝子多型の影響も含め、体質と生活習慣の関与について栄養学的に考察した（丸山千寿子分担）。

【2】遺伝子変異以外の未病の診断（都島基夫分担）：1）国立循環器病センター動脈硬化代謝内科受診患者を対象に、ホモシステイ

ン、高感度 CRP、アミロイド A 蛋白、クラミジアニューモニエ抗体価、可溶性接着分子 VCAM-1, ICAM-1、酸化 LDL 等を測定して検討を行っている。日本人において高 TG 血症が冠動脈疾患の強いリスクとなっており、TG 代謝について、超遠心法による HDL-TG など各リポ蛋白質質、アポ蛋白の測定やコレステロールエステル転送蛋白(CETP)、リポ蛋白リパーゼ蛋白量(LPL, HTGL)などの測定を行い、動脈硬化との関わりを検討した。 2) 早期動脈硬化の診断法:頸部 B モードエコー、ドプラ、動脈脈波伝播速度、ankle-brachial pressure index などの非侵襲診断法を行っている。今年度は 腹部大動脈の CT 像の解析により、安定・不安定プラークの鑑別診断の可能性と長期観察による循環器病発症への影響について考察した。

【3】未病対策費用と血管障害発症治療費に伴うコストパフォーマンス(さくら総合研究所、環境・高齢社会研究センター、志水武史委託):これまで報告された事例からの血管障害による循環器秒に対する予防対策費用対効果測定、血管障害に対する未病対策。未病対策のコストパフォーマンス測定における問題点、未病対策の在り方などにつき、総合的に医療経済からの観点から考察した。

(倫理面への配慮) 遺伝子解析にあたっては、個別に検査の内容と意義を説明し、文書にて同意を取得した。また、疫学調査については社会保険埼玉病院倫理委員会、臨床的解析に関しては慶応病義塾大学や国立循環器病センターの遺伝子解析を管理する倫理委員会において所定の手続きを経て認可されている。

患者診療の一環としての検査については臨床的な有用性などについて内容を説明し、同意を得た。

C. 研究結果

【1】未病としての生活習慣病の遺伝子多型とその影響:

住民の検討では CETP 遺伝子と apoAI 遺伝子多型について検討した。CETP Taq1B 遺伝子については、B1B1 29%, B1B2 51.3%, B2B2 19.6%と他の報告とも同様であった。HDL-C 濃度は B1B1 がもっとも低値、B2B2 がもっとも高値であり、CETP 濃度はこの逆で B2B2 でもっとも低値でいずれも有意差を認めた。ApoAI 遺伝子多型 M1 の分布は M1+/+ 69.2%, M1+/- 29.5%, M1-/- 1.3%で HDL-C, apo-AI 濃度とも M1+群で有意に低値であった。ApoAI 遺伝子多型 M2 の分布は M2+/+ 94.2%, M2+/- 5.8%, M2-/- 0%で HDL-C, Apo-AI 濃度とも M2+群で低値の傾向を示した。CETP Taq1B 遺伝子と ApoAI M1 の組み合わせでみると、B2B2 と M1+/+の組み合わせで HDL-C はもっとも低かった。このような関係を TG 150mg/dL 以上と未満に分けると、TG 150mg/dL 以上群では HDL-C と CETP 遺伝子と ApoAI 遺伝子との関係はみられなくなった。

脳血管障害群の検討では多型頻度に喫煙、糖尿病、高脂血症、高血圧で補正しても有意差があったのは GPIb α (Thr145Met) と NADPH oxidase p22 phox(His73Thr)であった。脳血管障害発症者でこれら 2つの遺伝子の危険型を持つものの発症年齢は 53.3 歳、二つ

とも持たないもので 58.6 歳であった。

MTHFR 遺伝子変異とホモシステインに与える影響については遺伝子多型の影響を受けた血中葉酸濃度は VV 型では乳類、油脂類の摂取、AA, AV 型では緑黄色野菜、魚類、果物の摂取が規定していた。また、ホモシステイン濃度に対しては VV 群では血清葉酸濃度、AA 群では血清尿酸濃度が規定していた。

以上、総括すると、循環器病の発症やリスクファクター発現への要因としての遺伝子多型の影響は、GPIIb/IIIa (Thr145Met) のように強いものから弱いものまでさまざまであるが、生活要因が加担することにより、その表現型を発現しやすく、一方、その発現に強く影響する他の生活習慣等の要因があれば、遺伝子多型による発現は隠れてしまうことが多い。いずれにしても、遺伝子診断は生活習慣で修飾されやすいだけに未病の診断としては重要で、その生活習慣対策で対処する必要性が確認できる。

【2】早期動脈硬化の診断法：

日本人で高 TG が虚血性心疾患に強く関与する成因として、HDL の作用が重要であることが認識されている。HDL-TG を測定することにより、CETP や HTGL の影響を受けて、血管壁マクロファージや泡沫細胞からのコレステロール抜き取り機構に障害を来す可能性、さらに小粒子高密度 LDL や IDL の生成活性を認識できることが確認された。

腹部大動脈 X線 CT による動脈硬化の診断の有効性についてはすでに報告してきたが、今回長期観察例において、石灰化、すなわち動脈硬化の安定化がみられない例に、冠動脈疾

患の発症や動脈瘤の形成がみられた。今後その成因について遺伝子学的に検討する必要性が示された。

【3】未病対策とコストパフォーマンス：
社会科学的な面より、検診などで使う費用が循環器病予防効果にどの程度寄与するか、未病対策の内容、健康増進費用には検査のみでなく予防対策に用いる費用の加算を考慮する、調査対象疾患以外の検査費用や無用の人に行った際の機会費用を除く、QOL 低下に要する費用も計上する、費用対効果は分析する期間により変わってくる、若年者の血液検査の効用と、個別フォローなど未病対策のコストパフォーマンス計上にあたっての問題点と今後の方向性について、医療や社会の現状を基礎に分析した。

過去 20 年国立循環器病センター動脈硬化代謝内科を受診し、代謝、動脈硬化をデータが残っている患者 3000 人をリストアップした。現在予後調査中であり、この成績に基づいた予防治療のコストパフォーマンス測定の設定である。

D. 考察

これまで、未病診断に体質因子、すなわち家族歴やその evidence としての遺伝子多型診断について、検討を加えた。昨年度の 2 地域健康常住民において 9 種類の遺伝子多型調査で PON 遺伝子多型 (Gln/Arg) で Arg allele、CETP 遺伝子 (B1/B2) 多型で B1 allele は動脈硬化形成へ働くと考えられ、Arg allele、B1 allele は冠動脈疾患の危険因子になりうると考えられた。今年度は CETP Taq1B 遺伝子と

ApoAI M1 の組み合わせでみると、B2B2 と M1+/+の組み合わせで HDL-C はもっとも低く、また、GPIIb α (Thr145Met) と NADPH oxidase p22 phox(His73Thr)の遺伝子多型の違いが、脳卒中の発症しやすくなり、発症年齢を速めることが確認された。これらは異常発現を強くあらわす遺伝子多型であるが、生活環境により修飾するなどの方法論が、未病状態を保ち発症させない健康保持のために論議されなければならない。こうした観点から、高TG血症はHDL-Cの低下作用が CETP Taq1B 遺伝子や ApoAI M1 遺伝子多型によるものより強いことが示唆された。また、MTHFR 遺伝子変異がホモシステイン濃度に関与し、VV 型の方が血漿ホモシステイン濃度が高値であるが、VV 群では血清葉酸濃度が規定する可能性を示し、食事によるホモシステイン濃度の修飾できる可能性を示した。以上のように未病診断に遺伝子診断を加えることは有用であり、今後生活習慣を含め、各遺伝子異常にの発現徴候に対する管理法を確立する必要がある。

CTにおける unstable plaque の安定化については、これまで報告された如く安定化しなかった例でイベント発症がみられており、壁肥厚と石灰化に分けた評価法は妥当な評価と考える。今後、これまで行った多数例の治療前後のデータをしらべ治療効果の評価を行う。

E. 結論

1) 遺伝子多型の評価は、未病診断法として有用であった。遺伝子多型の種類によってもその影響力の強さが異なるので、各遺伝子多

型の影響力に応じた予防治療法の確立が必要となる。2) CETPTaq1B 遺伝子と ApoAI M1 遺伝子は HDL-C の値に影響を与えた。3) GPIIb α (Thr145Met) と NADPH oxidase p22 phox(His73Thr)は脳卒中の発症に関与した。

4) MTHFR 遺伝子変異がホモシステイン濃度を規定し、VV 型では高値となり、血中葉酸濃度がホモシステイン濃度に影響を及ぼした。5) HDL-TG の測定は、動脈硬化の活動性の指標となる。6) 大動脈CTで不安定・安定プラークの性状診断が可能性が確認され、経過観察により動脈硬化の安定化の診断や疾患発症の予知ができる可能性がある。7) 未病対策とコストパフォーマンスに関しては、その問題点と今後の方向性について、医療や社会の現状を基礎に分析した。

F 研究発表

1. 論文発表

大原せつ、都島基夫、洪秀樹、西大條靖子、小松良哉、鈴木正昭、原納優、池田康行、山本章：正常 TG 血症における CETP 活性とリポ蛋白リパーゼ、HDL-および LDL-コレステロールとの関係—コレステロールの血管壁循環に関する研究— 動脈硬化 27 (1.2) : 23-27, 1999

大原せつ、都島基夫、洪秀樹、ほか：動脈硬化疾患における血漿ホモシステインと可溶性接着因子との関係、動脈硬化 28(1): 17-22, 2000

冠動脈疾患と cholesteryl ester transferase

protein(CETP)の遺伝子多型について

本橋佳子、丸山太郎、村田 満、中野里美、丸山千寿子、京谷晋吾、都島基夫、池田康夫、猿田享男

日本未病システム学会雑誌、6(2) :97-99、2000

Ito D, Murata M, Watanabe K, Yoshida T, Saito I, Tanahashi N, Fukuuchi Y. : C242T polymorphism of NADPH oxidase p22 phox gene and ischemic cerebrovascular disease in the Japanese population. Stroke 31: 936-939, 2000

Ito D, Murata M, Tanahashi N, Sato H, Sonoda A, Saito I, Watanabe K, Fukuuchi Y. Polymorphism in the promoter of lipopolysaccharide receptor CD14 and ischemic cerebrovascular disease. Stroke 31(11):2661-2664, 2000.

Oguchi S, Ito D, Murata M, Yoshida T, Tanahashi N, Fukuuchi Y, Ikeda Y, Watanabe K: Genotype distribution of the 46C/T polymorphism of coagulation factor XII in the Japanese population: absence of its association with ischemic cerebrovascular disease. Thromb Haemost 83: 178-179, 2000

Murata M :Genetic polymorphisms associated with thrombotic disorders in the Japanese population. Fibrinolysis and Proteolysis (invited review article) 14: 155-164, 2000

2. 学会発表

第 42 回日本糖尿病学会年次学術集会、1999 年 5 月、横浜

一般住民における肥満、高インスリン血症に対する遺伝子多型 (ACE, β 3-AR, AGT, FABP2, LPL-PvuII, LPL-HindIII) の関与について

中野里美、丸山太郎、村田 満、丸山千寿子、春日 明、広瀬 寛、池田康夫、都島基夫、猿田享男

第 31 回日本動脈硬化学会総会、1999 年 6 月、宮崎

三重県紀勢町における動脈硬化の疫学的研究 (第 4 報) -頸動脈波速度と頸動脈エコーの対比-

中野里美、都島基夫、京谷晋吾、丸山太郎、丸山千寿子、仲森隆子、猿田享男

第 31 回日本動脈硬化学会総会、1999 年 6 月、宮崎

炎症反応と動脈硬化に関する臨床的研究 (第 2 報) -健常住民と患者におけるクラミジア抗体の比較-

都島基夫、大原せつ、京谷晋吾、洪秀樹、鈴木正昭、西大條靖子、小松良哉、原納優、丸山太郎、中野里美、丸山千寿子、仲森隆子

第 31 回日本動脈硬化学会総会、1999 年 6 月、宮崎

一般住民における血中ホモシスチン濃度と栄養摂取量について

丸山千寿子、都島基夫、中野里美、京谷晋吾、

仲森隆子、丸山太郎

17th Congress of The International Society on Thrombosis and Haemostasis, Aug, 1999, Washington, D.C., USA

Association between paraoxonase 192Gln/Arg genotype and the mortality rate by coronary artery disease in Japanese general population.

Nakano S, Maruyama T, Murata M, Kyotani S, Kasuga A, Hirose H, Ikeda Y, Tsushima M, Saruta T

第6回日本未病システム学会、2000年1月、広島

冠動脈疾患と cholesteryl ester transferase protein(CETP)の遺伝子多型について

本橋佳子、丸山太郎、村田 満、中野里美、丸山千寿子、京谷晋吾、都島基夫、池田康夫、猿田享男

Am College Angiology World Congress Kona USA

Total Plasma Homocysteine Levels in Premature and Progressed Atherosclerotic Patients.

Ohara S, Tsushima M, Hasegawa M, Komatsu R, Suzuki M, Koh H, Nishioeda Y, Harano Y

第97回日本内科学会講演会 平成12年4月7日 京都

血漿ホモシステイン濃度と動脈硬化に関する臨床疫学的研究—住民と患者の比較—
都島基夫ほか

第43回日本糖尿病学会年次学術集会、2000年5月、名古屋

一般住民におけるインスリン抵抗性(HOMA-R)に対するAGT、ACE、 β -AR、FABP2遺伝子多型の関与について 中野里美、丸山太郎、丸山千寿子、春日 明、広瀬 寛、都島基夫、猿田享男

日本動脈硬化学会総会 2000年6月(1)-2日 東急ベイホテル東急 (沼野藤夫)

シンポジウム<血管内皮細胞の血栓抑制機能とAtherogenesis>

凝固線溶と動脈硬化に関する臨床疫学的研究、Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) と動脈硬化、 都島基夫、京谷晋吾

日本動脈硬化学会総会 2000年6月(1)-2日 東急ベイホテル東急 (沼野藤夫)

三重県紀勢町における動脈硬化の疫学的研究(第5報) —動脈硬化と paraoxonase(PON)遺伝子多型の関連— 中野里美、丸山太郎、村田満、京谷晋吾、丸山千寿子、本橋佳子、春日明、池田康夫、猿田享男、都島基夫

第32回日本動脈硬化学会総会 2000、6/1、2 千葉；

一般住民における動脈硬化に及ぼす血中ホモシステイン (Hcy)濃度と食事性因子の検討、丸山千寿子、都島基夫、小野友紀子、金森敦子、中野里美、本橋佳子、京谷晋吾、仲森隆子、丸山太郎

第 42 回日本老年医学会学術集会、2000 年 6 月、仙台

三重県紀勢町における動脈硬化の疫学的研究
(第 5 報) —住民の年齢とクラミジア抗体およびホモシステインを含む危険因子との関係—

中野里美、都島基夫、京谷晋吾、丸山太郎、丸山千寿子、仲森隆子

第 12 回国際動脈硬化シンポジウム
2000.6.25-29 ストックホルム

Long term change in atherosclerosis of human abdominal aorta observed by enhanced CT

M Tsushima, S Ohara, H Koh, Y Nishioeda, M Suzuki, S Kyotani, M Harano

第 23 回日本血栓止血学会総会 2000 年 11 月、名古屋

虚血性脳血管障害と関係する遺伝子多型解析。
石井啓子、小口修司、竹下栄子、村田 満、伊東大介、棚橋紀夫、福内靖男、齊藤郁夫、池田康夫、渡邊清明：

日本内科学会、2001 年 4 月、横浜

日本人女性における CETP 遺伝子 Taq1B 多型と冠動脈疾患の関係

本橋佳子、丸山太郎、村田 満、中野里美、池田康夫、猿田享男、丸山千寿子、京谷晋吾、都島基夫

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

疫学・未病対策総括 未病診断

－ HDL-TG および腹部大動脈壁肥厚体積率・石灰化体積率の測定の臨床疫学的意義－

主任研究者 都島 基夫 国立循環器病センター総合外来部 医長

研究要旨

発症前の循環器病未病状態の診断は少子化高齢化社会においては、寝たきりの介護を必要とする患者を作らない対策として重要である。evidence based medicine の遂行には沈黙の未病医学における診断治療の確立が必要とされ、また未病治療の医療経済的な cost-performance が重要な課題となる。今年度のテーマとしては日本人において高 TG 血症が冠動脈疾患の強いリスクとなっているが、HDL-TG の測定が CETP を介した atherogenic な small dense LDL の形成や動脈硬化巣のマクロファージからのコレステロール抜き取りの指標となること、および腹部大動脈壁肥厚狭窄と石灰化の観察が、プラーク安定化およびイベント発症の予知を可能にすることを示唆する成績を示した。

A. 研究目的

発症の準備状態である循環器疾患の未病の病態のうち、発症前の早期動脈硬化の状態を把握し、動脈硬化の発症と進展に及ぼすファクターと予防治療効果およびその経済効果をあきらかにして循環器病を制圧することが本研究の究極の目的である。リスクファクターには、血管壁を障害したり、内皮細胞の透過性を高めて、最終的には泡沫細胞を形成する因子である initiator、実際にたまっているコレステロールの代謝に関与する promoter などに分けられる。このようなリスクファクターの違いにより、sclerosis が強いのか atherosclerosis が強いかが規定される可能性がある。今年度は、日本人においては高 TG 血症における高レムナント血症、低 HDL 血症、small dense

LDL が冠動脈疾患の強いリスクとなっているので、promoter である動脈硬化における triglyceride (TG) 代謝の意義、とさらに動脈硬化を非侵襲的に診断する方法の臨床意義を sclerosis と atherosclerosis にわけて、長期追跡した成績について考察した。

B. 研究方法

1. 対象および測定方法

対象は国立循環器病センター動脈硬化代謝内科を受診した患者で、

(1) TG 代謝と動脈硬化形成について
卓上超遠心法で各リポ蛋白画分に分けた後、各リポ蛋白中のコレステロール、TG を測定し得た男性 67 例、女性 55 例、平均年齢 56.3 歳 が対象で、今回は HDL 中のトリグセラ

イド (HDL-TG)、HDL 中のコレステロール (HDL-C)、IDL 中のコレステロール (IDL-C) の測定を行った。アポ蛋白 (ApoA1、A2、B、E) は免疫比濁法により測定し、リポタンパクリパーゼ (LPL) 蛋白量、肝性トリグセライドリパーゼ (HTGL) 蛋白量は二抗体法により測定した。対象者の Clinical profile は BMI: 24.1±0.3、総コレステロール: 235.5±4.7 mg/dl、TG: 272.6±21.1 mg/dl、LDL コレステロール: 103.2±3.3 mg/dl、HDL コレステロール: 43.1±1.1 mg/dl、Apo-A1: 122.2 ± 2.0 mg/dl、Apo-A2: 35.1±0.8 mg/dl、Apo-B: 133.2 ± 2.8 mg/dl、Apo-E: 7.6±0.3 mg/dl であった。

(2) 動脈硬化の長期経過については 40 - 55 歳の男性で非侵襲的に CT を用いた腹部大動脈の粥状動脈硬化の診断を 4 度以上行い、5 年以上 (61-167 月、平均 113.1 月) 観察し得た長期観察 30 例のうち、新たに血管径を測定できた 25 人 (平均年齢 51.0 歳、総コレステロール TC269, TG295, HDL-C38, 血糖 102mg/dL, 血圧 137/83mmHg, BMI 25.2kg/m²) であった。対象者はリスクファクターの治療を継続的に行って、血管のリモデリングや血栓や粥腫等の隆起性病変を含む壁部分および石灰下部分の体積を実測し、長期にわたるこれらの変化を検討した。大動脈の CT 画像をコンピューターに取り込み、われわれが開発した画像カラー分析ソフトにて単純 CT から石灰化体積率、造影 CT から血管壁肥厚体積率、両者を加算して動脈硬化の指標である壁石灰化体積率、さらに血管径

を乗じることで、それぞれの体積を実測した。

(倫理面への配慮) 検査するにあたっては、患者診療の一環として検査の臨床的な有用性などについて内容を説明し、同意を得た。

C. 研究結果および考察

(1) TG 代謝と動脈硬化形成について、HDL 分子中の TG 量と血清 TG との関係について解析したところ、血清 TG と HDL 中の TG は有意な正相関を示した ($p < 0.0001$)。また、HDL 分子中の TG 量とコレステロールとの間には逆相関の傾向が認められた。従って、われわれの以前の報告では、脂肪負荷時の食後高 TG 血症の場合にカイロミクロン TG の上昇に応じ、コレステロールエステル転送蛋白 (CETP) の作用により、カイロミクロンや LDL 経路の各リポ蛋白と HDL との間の TG/コレステロールエステル (CE) の濃度勾配に応じて TG と CE の交換が行われ、この結果、HDL 中の TG/CE 比が上昇し、この上昇は LDL の TG/CE 比の上昇より速く、高値となり、この経緯は脂肪負荷 6 時間後に small dense LDL を形成する結果となった。今回、恒常的に VLDL などの TG rich なリポタンパクが増えた高 TG 状態でも CETP により、HDL 中のコレステロールと引き換えに大量の TG が HDL へ転送され、結果的に HDL は TG rich でコレステロール poor な状態になるということが示された。

HDL 分子中の TG 量と TG を水解する LPL および HTGL の蛋白量との関係を調べたところ、逆相関の傾向が認められた。つまり、

HDL中でTGが増加している状態ではLPL、HTGLも相対的に低下するということが示唆された。さらに、HDL分子中のTG量とIDL-Cの関係について調べたところ、両者には有意な正相関が認められ ($p < 0.0001$)、高TG血症ではIDLコレステロールが高値となることが明かとなった。この結果は、増加したIDLが血管壁マクロファージに取り込まれ、コレステロールの集積すなわち動脈硬化を進行させる可能性を示唆するものであった。さらに、対象者を血清TG 150 mg/dl以上と未満の二群に分別し、HDL中のTG量およびHDL1分子中のTG量 (HDL-TG / Apo-A1 比) を測定、算出して両群間で比較した。その結果、血清TGが150 mg/dl以上の群は血清TGが150 mg/dl未満の群よりもHDL中のTG量およびHDL1分子中のTG量が有意に高値であることが明かとなった (各々 $p < 0.01$)。

本研究で得られた結果から、高TG血症ではTGを水解するLPLやHTGLの作用が相対的あるいは絶対的に低下するため、IDLやレムナントが生じやすく血管壁に取り込まれコレステロールが蓄積しやすくなる可能性が確認できた。また、TG rich なリポタンパクがHDLとCETPの働きにより、TGとコレステロールを互いに転送しあうため、HDLはTG rich となり、また、HDL-TGの異化代謝が低下しているために、マクロファージからの抜き取りに必要なHDL3生成が悪く、HDLによるコレステロール抜き取り作用が低下を招く可能性も確認できた。このことは、さらに、HDL-TGをTG/CE比が低いLDL

にTGを転送し、CEを受け取るという逆の転送が生じ、LDLはコレステロール poor となり、small dense LDLを生じることになる。この状態はatherogenicに作用することが示唆された。従って、HDL中のTG量に着目することは動脈硬化予防の観点からも重要であり、本研究ではその測定意義を確認することができた。

(2) 腹部大動脈硬化の長期経過について。
これまで、過去約20年間に約3000件の腹部大動脈CTによる動脈硬化の評価から、壁肥厚体積率と石灰化率とは有意の相関がみられるが、年齢、危険因子、性などで偏りがある。同じ脂質の値でも、高齢者、糖尿病患者、高血圧者では石灰化が強くなり、逆にpromoterが強い複合型高脂血症や若年者では壁肥厚体積率が高い方に偏る。虚血性心疾患や脳血管障害などの循環器病には壁肥厚体積率の高値例が多い。経時的にみると、基礎疾患治療前と治療開始後2年ごと計3回検査した82例においては、壁肥厚の進展抑制は治療後早期にみられ、石灰化は壁肥厚部へ侵入するのが最初の2年間ではとまらず、次の2年間で進展抑制がみられ、最初の2年間はプラークの安定化が進んでいることを意味している。

今回長期経過例をみると、はじめ壁肥厚部が低下した群に、その後のイベントが発生する例が多かったので動脈硬化の進行との関連をみた。壁肥厚が進展すると次にその部分に石灰が出現するプラーク安定化群では、イベントはおこらなかったが、壁肥厚しても石灰化がみられない不安定プラーク継続例でイベン

トが発症した (図 1)。石灰化はプラーク安定化の結果であり、動脈硬化の代償的防御反応と考えられた。

D 結語

QOL を損なう前の未病管理は、少子化高齢化社会においては、寝たきりの介護を必要とする患者を作らないことになり、医療経済、社会経済的にも重要な課題である。そのためには、沈黙の病気である未病診断や定義が必要になる。未病は病気になる前の準備状態である、老化、遺伝子多型、家族歴も含めたりスクファクターも対象となるが、本分担研究では、まだ明らかにされていないリスクの強い未病診断に注目した。(1) 高 TG 血症における atherogenesis に大きな影響を及ぼす HDL-TG の測定意義と (2) 未病の段階での早期動脈硬化の診断とその進行経緯に注目して、atherosis とプラーク安定化を外来レベルで非侵襲的に診断する CT による解析とその予後に及ぼす不安定プラークの意義について述べた。

E. 参考文献

1. 大原せつ、都島基夫、洪秀樹、西大條靖子、小松良哉、鈴木正昭、原納優、池田康行、山本章：正常 TG 血症における CETP 活性とリポ蛋白リパーゼ、HDL-および LDL-コレステロールとの関係—コレステロールの血管壁循環に関する研究—
動脈硬化 27 (1.2) : 23-27, 1999
2. Masaaki Suzuki, Yuko Kimura, Motoo Tsushima, Yutaka Harano : Association of insulin resistance with salt sensitivity and nocturnal fall of blood pressure.
Hypertension 2000; 35: 864-868, 2000
3. 仲森隆子、山田隆康、並木和子、京谷晋吾、都島基夫：漁村と農村住民の身体状況の疫学研究、日本臨床栄養学会雑誌 22 (1) : 9-16, 2000
4. Yasuyuki Ikeda, Yasushi Ashida, Atsuko Takagi, Tomikazu Fukuoka, Akio Tsuru, Motoo Tsushima, Akira Yamamoto: Mechanism of the production of small dense LDL(sLDL) in hypertriglyceridemia. Atherosclerosis XI ed, by Jacotot B, Mathe D, Fruchart JC, pp777-788, Elsevier Science, Singapore 1998
5. 鈴木正昭、木村祐子、児玉憲一、大原せつ、洪秀樹、西大條靖子、都島基夫、原納優：本態性高血圧症における食塩感受性、夜間血圧低下とインスリン抵抗性の関係、日本未病システム学会誌、6 (2) : 78-79, 2000
6. 大原せつ、都島基夫、洪秀樹、ほか：動脈硬化疾患における血漿ホモシステインと可溶性接着因子との関係、動脈硬化 28(1): 17-22, 2000
7. 都島基夫：老年疾患と未病の把握、管理 2) 動脈硬化と高脂血症、Geriatric Medicine, 38 (2), 225-232, 2000
8. 都島基夫：動脈硬化の非侵襲診断、—動脈のプラーク性状診断を求めて—
Current Topics in Cardiology 24(6):14-23, 2000

9. 都島基夫、京谷晋吾、西大條靖子、
10. 鈴木正昭、脇昌子、洪秀樹、原納優
: 早期末期動脈硬化の非侵襲的画像診断、一
動脈硬化の進展、退縮に対する抗高脂血症薬
単剤の効果に関する研究一、脈管学、36:367
~371、1996
10. Tsushima M, Koh H, Suzuki M,
Kyotani S, Waki M, Nishioeda Y,
Harano Y, Omae T
: Noninvasive quantitative evaluation of
early atherosclerosis and the effect of
monatepil, a new antihypertensive agent.
An interim report.
Am J Hypertens. 7 : 154S~160S, 1994

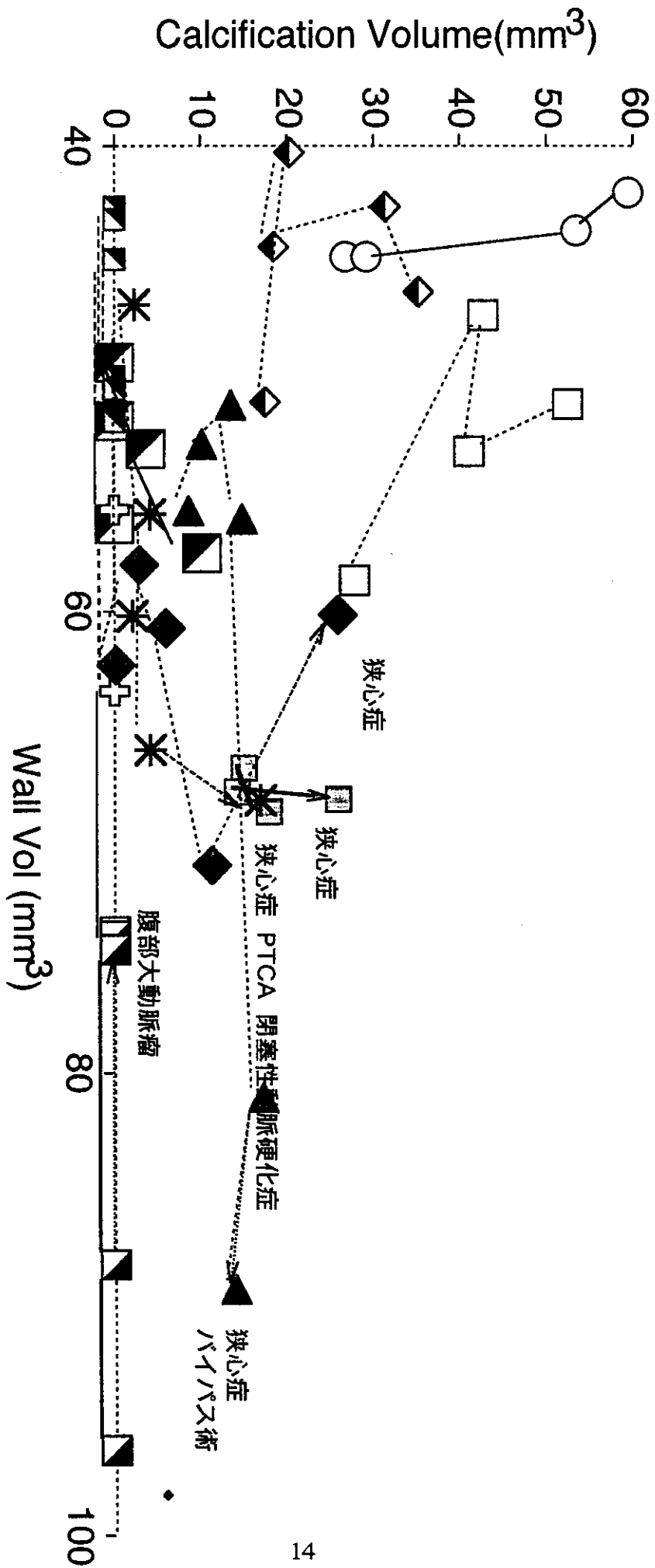


図1 長期追跡例における腹部大動脈の石灰化体積と壁肥厚体積の変化とイベント発症の関係初回経過
 (観察時に壁肥厚体積率が低下した群)

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

動脈硬化性疾患の発症におけるコレステロールエステル転送蛋白（CETP）遺伝子多型と
アポ A-1 遺伝子 Msp I 多型の意義

分担研究者 丸山太郎 埼玉社会保険病院 内科部長

研究要旨：動脈硬化性疾患の発症に関与する遺伝素因を解明することを目的とし、三重県度会郡紀勢町の地域住民健診を行ってきた。今年度の研究では CETP 遺伝子多型と ApoA-1 遺伝子多型がともに血中 HDL-C 濃度に影響を与えることによって冠動脈疾患発症の遺伝素因となること、両遺伝子の組み合わせは HDL-C 濃度にさらに大きな影響を与えることを明らかにした。さらに、環境因子と考えられる高中性脂肪血症と閉経によって、両遺伝子多型の影響が修飾され、高中性脂肪血症がある住民では HDL-C 濃度に対する遺伝子多型の影響が消失し、閉経後の住民では遺伝子多型の影響が強く反映されることが示された。このような解析法は環境因子と遺伝素因の相互作用についてひとつのモデルとなるものと考えられ、動脈硬化症の素因を明らかにする上で重要と考えられた。

A. 研究目的

動脈硬化症の成因は多岐にわたり、遺伝的素因と環境要因が複雑に関与している。私たちは平成 11 年度の研究で三重県度会郡紀勢町の住民において、Paraoxonase (PONA) 遺伝子とコレステロールエステルトランスフェラーゼ蛋白 (CETP) 遺伝子の Taq1B 多型 (B1B1、B1B2、B2B2) が動脈硬化の成因に関与している可能性を明らかにした。本地域では HDL-C が冠動脈疾患の重要な危険因子となっていることが明らかにされている。そこで、本年度は HDL コレステロール代謝と関連する CETP と HDL コレス

テロールの主要な搬送蛋白であるアポ A-1 に注目し、CETP 遺伝子の Taq1B 多型と ApoA-1 遺伝子 Msp I 遺伝子多型が脂質代謝に与える影響を調べ、さらに、動脈硬化症が多因子遺伝であることから、両遺伝子の相互作用について検討した。また、遺伝素因と環境因子の関係についてもこの 2 つの遺伝子の多型と高中性脂肪血症、閉経との関係をモデルとして検討した。

B. 研究方法

1) 対象：

三重県度会郡紀勢町在住の 30-69 歳の女性住民

で成人病検診を受診した 224 名を対象とした。2000 年 4 月現在の同地域の女性人口は 2483 名で、30-69 歳の人口は 1357 名であり、対象は同地域の女性の 16.5%にあたる。

2) 方法:

全ての測定項目、検査はインフォームドコンセントに基づき、同意を得てから施行した。遺伝子解析については全て文書による同意を得た。

1. 一般的な健康診断項目として、身長、体重を測定し体格指数 (body mass index: BMI) を算出した。収縮期血圧、拡張期血圧を測定した。早朝空腹時に採血し、血清脂質 (総コレステロール、HDL-コレステロール、中性脂肪 (TG)、Apo A-1)、空腹時血糖 (FPG)、インスリン (IRI) を測定した。LDL-コレステロールを Friedwald の式より算出した。

さらに、1999 年に健診を受診した 99 名には血中 CETP 濃度を測定した。

喫煙習慣、飲酒習慣、運動量、高脂血症の治療の有無、閉経についてアンケート用紙を用いて聞き取り調査を行った。

2. CETP 遺伝子 Taq I B 多型の解析

末梢血より標準的な方法で DNA を抽出し PCR-RFLP 法にて CETP 遺伝子 Taq I B 多型を調べた。Forward primer として 5'-CACTAGCCCCA GAGAGAGGAGTGC C-3'、reverse primer として 5'-CTGAGCCC AGCCGCACACTAAC-3'を用いて PCR を行い、制限酵素 Taq I で反応させ、電気泳動法にて B1B1、B1B2、B2B2 の 3 型を判別した。

3. Apo A-1 Msp I 多型の解析 (M1, M2)

CETP 同様、PCR-RFLP 法によった。Forward

primer としては 5'-AGGGACAGAGCTGATCCTT GAACTCTTAAG-3'、reverse primer として 5'-TT AGGGGA CACCTACCCGTCAGGAAGAGCA-3'を用い、制限酵素 Msp I にて反応させた後、M1+/+、M1+/-、M1-/- と M2+/+、M2+/-、M2-/- の 3 型をそれぞれ判別した。

4. 統計解析

成績は平均±SD で表示した。有意差の検定には ANOVA 検定、Boniferroni t-test、 χ^2 test をそれぞれの場合に応じて用いた。

C. 研究結果

1) 対象住民の背景

表 1 に対象住民の背景を示す。総コレステロールと LDL コレステロールがやや高値である他は特記すべき事柄は認めなかった。閉経後のものは約 63%であり、喫煙者と飲酒者の頻度は低率であった。また、週 3 回以上の運動を行っているものの頻度は 24.0%であった。

2) CETP Taq I B 遺伝子多型の分布と生化学的因子、環境因子の関係

genotype の頻度は B1B1: 29.0%、B1B2: 51.3%、B2B2: 19.6%と Hardy-Weinberg 分布に一致していた。各 genotype と健診調査項目の関係をみると、年齢、BMI、喫煙者、飲酒者、閉経、運動の頻度、高脂血症治療薬使用者の頻度はいずれも 3 群間で有意差を認めなかった (表 2) これに対し、HDL-C、TC/HDL-C、HDL-C/ApoA-1、TG は CETP Taq I B 多型間で有意差を認めた。すなわち、B1B1 と B1B2 genotype の HDL-C は B2B2 より有意に低値であり (59.2 ± 14.5 、 62.4 ± 16.4 vs 70.3 ± 15.9 、 $p < 0.001$ 、 $p < 0.05$)、B1B1 と B1B2 の

Apo A-1 は B2B2 より低値の傾向を認めた (表 2 -b).

CETP 濃度と CETP genotype の間にも有意な関係が認められ、B1B1、B1B2、B2B2 の順に CETP 濃度は高値であり (B1B1 ; 3.1 ± 0.8 、B1B2 ; 2.8 ± 0.9 、B2B2 ; 2.1 ± 0.8 、 $p=0.0002$, B1B1 vs B2B2、 $p=0.0041$ 、B1B2 vs B2B2)、HDL-C 濃度は低値であった。糖代謝に関しては関連は認められなかった。

3) ApoA-1 遺伝子多型 (M1 : -75bp) の分布と生化学的因子、環境因子の関係

genotype の頻度は M1+/+ : 69.2%、M1+/- : 29.5%、M1-/- : 1.3% であった。M1-/- は 3 名ときわめて少ないため、この多型の解析は M1+ (M1+/+)、M1- (M1+/-、M1-/-) の 2 群にわけて行った。年齢、BMI、喫煙者、飲酒者、閉経、運動の頻度、高脂血症治療薬使用者の頻度は 2 群間で差を認めなかった (表 3)。一方、HDL-C、ApoA-1 濃度は M1+ (M1+/+) 群において有意に低値であった。糖代謝に関しては差は認められなかった。

4) ApoA-1 遺伝子多型 (M2 : +83bp) の分布と生化学的因子、環境因子との関係

genotype の頻度は M2+/+ : 94.2%、M2+/- : 5.8% であった。この多型間では HDL-C、ApoA-1 も含めて有意な関係を示すものはなかった。しかし、統計学的な有意差は認めないものの、M2+/+ の HDL-C、ApoA-1 は M2+/- より低値の傾向を示した (表 4)。

5) CETP 遺伝子多型と ApoA-1 遺伝子多型の組み合わせ解析

CETP と ApoA-1 遺伝子多型 M1 の組み合わせ 6 群と HDL-C の関係を調べたところ、この 6 群と HDL-C の間に有意な関係が認められた ($p <$

0.0001)。

すなわち、CETP B1B1 と ApoA-1 M1+/+ の組み合わせで HDL-C 濃度は最も低く ($57.6 \pm 14.4 \text{mg/dl}$)、B2B2、M1- (M1+/-、M1-/-) の組み合わせで最も高い濃度 ($81.8 \pm 11.6 \text{mg/dl}$) を示した (図 1)。

6) 中性脂肪レベルとの関係

HDL-C は中性脂肪とともに環境因子の関与を受ける。高中性脂肪血症を有するものは環境因子の関与が大きいことが推察される。そこで、中性脂肪が 150mg/dl 以上の高値の住民と 150mg/dl 未満の正常の住民で CETP、ApoA-1 遺伝子多型と HDL-C、ApoA-1 との関係を調べた。その結果、CETP 遺伝子、ApoA-1 遺伝子と HDL-C との関係は中性脂肪が正常のものでは認められるものの、中性脂肪が 150mg/dl 以上の高値を呈する住民においては各遺伝子多型と HDL-C 濃度との関係はいずれにおいても認められなかった (表 5)。

7) 閉経の関与 (表 6)

閉経の前後で、遺伝因子と HDL-C の関係に相違があるかを検討したところ、閉経前に比べて、閉経後の方が遺伝因子の影響が大きかった。

D. 考察

血中 HDL-C、ApoA-1 の低値は冠動脈疾患の危険因子とされている。HDL-C、ApoA-1 レベルは遺伝因子、環境因子双方の影響を受けることが知られているが、遺伝因子相互および遺伝因子と環境因子の相互関係は明らかではない。私たちは CETP 遺伝子、ApoA-1 遺伝子多型と血中 HDL-C、ApoA-1 レベルとの関係を調べるとともに、その組み合わせとの関係、さらに、環境因

子の関与を知る目的で高中性脂肪血症との関係や閉経との関連を調べた。

CETP 遺伝子多型と CETP 濃度、HDL-C との間には有意な相関が認められ、CETP 遺伝子は CETP 濃度、HDL-C 濃度を介して冠動脈疾患の遺伝因子の一つとなっていることが示唆された。

次に、ApoA-1 遺伝子多型 M1、M2 について検討した。M1 allele の変異型は希ではなく認められたが、M2 の変異型は非常に希であった。これらの成績は過去の報告と一致していた。ApoA-1M1 多型は血中 HDL-C 濃度と有意な関連を認めたが、M2 では有意な関連を認めなかった。しかし、M2 でも M2+/-の方が HDL-C、ApoA-1 が高い傾向が認められたことから、M2 についても今後の検討が必要と考えられた。

これらの成績より、日本人の一般住民において、CETP と ApoA-1 遺伝子多型がそれぞれ血中 HDL-C、ApoA-1 濃度に関与する遺伝的素因のひとつであることは間違いないものと考えられた。

一方、動脈硬化性疾患の遺伝素因は多因子にわたると考えられている。しかし、二つの遺伝子の組み合わせとの関係を調べた研究は例をみない。そこで、この HDL-C に関係する酵素、因子の二つの遺伝子が相互作用を及ぼすことによってどのような影響を与えるかについて調べてみた。CETP と ApoA-1 遺伝子は組み合わせによって HDL-C 濃度に影響を与えることが明らかにされた。CETP 遺伝子は chromosome11 に位置し、ApoA-1 遺伝子は chromosome16 に位置している。両遺伝子は離れて存在するため、お互いの遺伝子出現に直接的に関与する可能性は少ないと考えられる。HDL-C における重回帰分析の結果（成績は省略する）からも両者は独立して関与

しているものと考えられた。

この成績は多遺伝子、多因子疾患を考える上で非常に興味深く、ある目的とする因子（表現型）に多方面から関わる酵素、因子の遺伝子多型を組み合わせることによって、より詳細な遺伝素因の検討が可能になることが示唆された。

次に、遺伝素因と環境因子の相互関係を調べるモデルとして、中性脂肪レベルと遺伝子多型との関係、閉経と遺伝子多型との関係を調べた。

高中性脂肪血症は独立した HDL-C の負の危険因子である。両遺伝子は正常な中性脂肪レベルにある住民では HDL-C と有意な関連を認めたが、高中性脂肪血症を有する住民ではこの関係が認められず、多型に関係なく HDL-C は低値を示した。すなわち、何らかの原因によって高中性脂肪血症が存在するときには、これらの遺伝子の関与は認められないことが示された。高中性脂肪血症の成因としては過食、飲酒、運動不足などが考えられる。すなわち、本モデルでは環境因子が遺伝因子を超えて HDL-C に影響すると考えられた。

また、閉経前後での比較により、両遺伝子は閉経後の女性において影響が強く、閉経前では影響が少なかった。この成績も、遺伝素因に比べ女性ホルモンの影響が上回ることを示すものと考えられた。

E. 結論

CETP、ApoA-1 遺伝子多型は HDL-C の濃度に影響することによって動脈硬化の発症に関与する遺伝子であること、両遺伝子が複合的に HDL-C 濃度に影響すること、環境因子である中性脂肪レベル、閉経はこれらの遺伝子以上に HDL-C

レベルに影響を与えることが明らかになった。

また、今回私たちが行った研究方法は多因子疾患である動脈硬化症の成因を明らかにするのに有用と考えられた。また、こうした成績をさらに集積することによって動脈硬化症の予防が遺伝因子、環境因子に基づいて的確に実施可能になるものと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

日本末病システム学会雑誌、6(2): 97-99、2000
冠動脈疾患と cholesteryl ester transferase protein(CETP)の遺伝子多型について

本橋佳子、丸山太郎、村田 満、中野里美、丸山千寿子、京谷晋吾、都島基夫、池田康夫、猿田享男

The combination of CETP gene Taq 1B polymorphism and Apo A-1 gene Msp 1 polymorphism influence HDL-C level in Japanese women.

Motohashi Y, Maruyama T, Murata M, Nakano S, Maruyama C, Kyotani S, Tsushima M, Ikeda Y and Saruta T (投稿準備中)

2. 学会発表

日本内科学会、2001年4月、横浜
日本人女性における CETP 遺伝子 Taq1B 多型と冠動脈疾患の関係

本橋佳子、丸山太郎、村田 満、中野里美、池

田康夫、猿田享男、丸山千寿子、京谷晋吾、都島基夫

日本内科学会、2000年4月、名古屋
動脈硬化の成因における環境因子と遺伝素因の寄与について—三重県紀勢町における冠動脈疾患死亡率と paraoxonase 遺伝子型の関連—

中野里美、丸山太郎、村田 満、京谷晋吾、丸山千寿子、春日 明、広瀬 寛、池田康夫、猿田享男、都島基夫

第 43 回日本糖尿病学会年次学術集会、2000年5月、名古屋

一般住民におけるインスリン抵抗性 (HOMA-R) に対する AGT、ACE、 β -AR、FABP2 遺伝子多型の関与について

中野里美、丸山太郎、丸山千寿子、春日 明、広瀬 寛、都島基夫、猿田享男

第 32 回動脈硬化学会総会、2000年6月、幕張
三重県紀勢町における動脈硬化の疫学的研究 (第 5 報) —動脈硬化と paraoxonase(PON)遺伝子多型の関連—

中野里美、丸山太郎、村田 満、京谷晋吾、丸山千寿子、本橋佳子、春日 明、池田康夫、猿田享男、都島基夫

第 42 回日本老年医学会学術集会、2000年6月、仙台

三重県紀勢町における動脈硬化の疫学的研究 (第 5 報) —住民の年齢とクラミジア抗体およびホモシステインを含む危険因子との関係—

中野里美、都島基夫、京谷晋吾、丸山太郎、丸