

20020434

厚生労働科学研究費補助金
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

動脈硬化発症要因の遺伝子およびその重積性
に関する研究

平成14年度総括・分担研究報告書

主任研究者 齋藤 康

平成15(2003)年3月

目 次

I. 総括研究報告

動脈硬化発症要因の遺伝子およびその重積性に関する研究	1
千葉大学大学院医学研究院	齋藤 康

II. 分担研究報告

1 西暦2000年日本人の血清脂質調査における遺伝子解析	7
京都大学大学院医学研究科	北 徹
2. リポ蛋白リパーゼおよびその欠損と動脈硬化性疾患に関する研究	10
大阪大学大学院医学系研究科	山下 静也
3 ヘテロ接合体性家族性高コレステロール血症 (FH) における エストロゲン受容体 (ER) α 遺伝子多型と冠動脈疾患発症の関連 遺伝子診断の検討	12
金沢大学大学院医学系研究科	馬淵 宏
4 アポ A-I 欠損症の動脈硬化症発症における意義に関する研究	17
国際医療福祉大学大学院	佐々木 淳
5 一般住民における動脈硬化関連遺伝子 SNPs と高脂血症を 中心とした危険因子および動脈硬化との相関性に関する研究	20
千葉大学大学院医学研究院	武城 英明

III 研究成果の刊行に関する一覧表	23
--------------------	----

IV 研究成果の刊行物・別冊	31
----------------	----

1. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム、再生医療等研究事業）
総括研究報告書

動脈硬化発症要因の遺伝子およびその重積性に関する研究
主任研究者 齋藤 康（千葉大学大学院医学研究院 教授）

研究要旨 動脈硬化発症要因の重積に関する遺伝子レベルの診断と治療法の選択を可能とすることを目的として、一般住民を対象にゲノム解析を行い高脂血症を中心に動脈硬化発症の遺伝的基盤を解析した。

1) 一般住民における動脈硬化関連遺伝子 SNPs と高脂血症を中心とした危険因子および動脈硬化との相関性に関する研究

高脂血症を有する一般住民におけるゲノムワイドな 105 種類の SNPs 解析の結果、高脂血症発症と関連する統計学的に有意な 10 種類の SNPs が同定され、血清脂質との相関が示された。

2) 脂質代謝異常症における遺伝子異常の日本人における頻度および脂質代謝の相関性に関する研究（特定疾患対策研究事業『原発性高脂血症に関する調査研究』（北班）との合同プロジェクト）

脂質代謝異常症と関連する 7 種類の遺伝子変異を解析した結果、CETP1452GA、D442G、LPLS447X、CETPTAQIB、HTGL514CT、MTHFRC677T、アポ CIISSTI サイトの頻度を同定し、血清脂質との相関が示された。

3) 新規の動脈硬化促進遺伝子の同定

アポ E 異常、PPAR α G395E、PPAR γ 2 遺伝子 P12A の意義が明らかにされ、LDL 受容体変異のみられない家族性高コレステロール血症、CD36 欠損症の臨床的病態が明らかになった。

本研究成果は、動脈硬化発症要因の重積に関する遺伝子レベルの診断、とりわけ高脂血症診療の遺伝子レベルの診断と治療の有用性を明確に示し、今後、ハプロタイプ、多変量解析による臨床的解析への応用が可能になると考えられる。

分担研究者

北 徹（京都大学大学院教授）、山下静也（大阪大学大学院助教授）、馬淵 宏（金沢大学大学院教授）、佐々木 淳（国際医療福祉大学教授）、佐藤俊哉（京都大学大学院教授）、武城英明（千葉大学大学院教授）

A. 研究目的

虚血性心疾患等の動脈硬化性疾患は、高脂血症等の複数の危険因子により引き起こされる。しかしながら、高

脂血症にともなう動脈硬化の進展は画一的でなく、生活様式および遺伝的背景を考慮する必要がある。近年の分子生物学の発展による新たな危険因子の発見と共に、遺伝的背景を複数の遺伝子発現の差異として示すことが可能になり、その応用は高脂血症診療に有用と考えられる。本研究は、多様性の主な原因である重積遺伝子異常の差異について、一般住民および動脈硬化性疾患患者を対象にゲノム解析を行い、高脂血症における動脈硬化促進遺伝子を中心に、これまでに同定された疾患候補遺伝子と単一ヌクレオチド多型 SNPs にて動脈硬化促進遺伝

子を同定する。その結果、高脂血症にともなう動脈硬化性疾患の予後について遺伝子レベルの診断と治療法の選択を可能とし、特に高齢化社会の動脈硬化性疾患の一次、二次予防を長期的視野のもとに実施し 国民の生活の質の向上に貢献することを目的とする。

B 研究方法

1) 一般住民における動脈硬化関連遺伝子 SNPs と高脂血症を中心とした危険因子および動脈硬化との相関性に関する研究

住民健診受診者の中から高脂血症を有する 400 名を対象に、Japanese Single Nucleotide Polymorphisms (JSNP) から抽出された動脈硬化、高脂血症、糖尿病、高血圧に関連する遺伝子内の 400SNPs の解析を行なった。動脈硬化の進展程度の指標として 冠動脈疾患の既往に加え頸動脈内膜中膜肥厚度 (IMT) を計測、血中危険因子として酸化 LDL 濃度 (MDA-LDL) を測定した。分担研究者 京都大学大学院医学研究科 佐藤俊哉の指導のもとに血清脂質値を中心とする動脈硬化関連の個人データと複数の遺伝子変異の統計解析を行った。

2) 脂質代謝異常症における遺伝子異常の日本人における頻度および脂質代謝の相関性に関する研究 (特定疾患対策研究事業『原発性高脂血症に関する調査研究』(北班) との合同プロジェクト)

全国より回収した 12,000 検体の中から、インフォームト Consent に基づいた遺伝子解析の可能な約 2000 検体を用いて、脂質代謝異常症と関連することが報告されている 7 種類の遺伝子変異であるリポ蛋白リパーゼ LPL Ser447Ter、肝性リパーゼ HL-514 コレステリルエステル転送蛋白 CETP1452GA, CETPD442G および CETP-Taq1 多型、アポ CIII S57I サイト多型、Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 多型 C677T の解析をインベーター法により解析した。高脂血症関連遺伝子と血清脂質値について統計学的に解析した。

3) 新規の動脈硬化促進遺伝子の同定

LPL、エストロゲン受容体、アポ A-I 解析は PCR-DGGE 法および塩基配列読法により、機能解析は培養細胞を用いて検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析に関しては厚生科学審議会『遺伝子解析研究に付随する倫理問題に対応するための指針』に基づいた遺伝子解析実施大学の倫理委員会の承認の上 インフォームト Consent 取得後、施行した。

C&D. 研究結果と考察

1) 一般住民における動脈硬化関連遺伝子 SNPs と高脂血症を中心とした危険因子および動脈硬化との相関性に関する研究 高脂血症を有する一般住民 368 名における 105 種類の SNPs を解析した。対象は男性 159 名 女性 209 名であり、平均年齢 61 ± 10 才、喫煙者、冠動脈疾患既往者は 31%、4% だった。血清脂質値は、総コレステロール値 (TC) 229 ± 37 mg/dl、中性脂肪値 (TG) 129 ± 77 mg/dl HDL-コレステロール値 (HDL-C) 53 ± 18 mg/dl だった。BMI25 以上の肥満者は 30%、高血圧の合併は 12%、糖尿病の合併は除外された。動脈硬化の指標である IMT は、年齢 ($R=0.38$)、最高血圧 ($R=0.23$) 最低血圧 ($R=0.16$)、BMI ($R=0.15$) MDA-LDL ($R=0.11$) と正の相関 ($p<0.01$) HDL-C ($R=0.23$) と負の相関 ($p<0.01$) を示した。これらの危険因子および測定値と SNPs の相関を検討したところ、 $R>0.12$ 以上の 10 種類の SNPs が同定され、3 種類の SNPs すなわち Retinitis Pigmentosa 1 (RP1) N985Y G/SBS-1323C>T glycosyl-PI phospholipase D1 V30I が血清 TG 値と $p<0.01$ の有意な相関を示した。RP1 G/SBS は、TG に加え、HDL-C と有意な相関 ($p<0.05$) を示した。また、HDL-C は、hypothetical protein gene W253X と最も強い有意な相関を示した ($p<0.01$)。TC LDL-C は明らかな相関を示さなかった。hypothetical protein gene W253X は、最近同定された肥満関連遺伝子の遺伝子部位の近傍に位置することから これらの遺伝子間の関連が考えられ、2 遺伝子周辺部位を含めたマッピングが必要である。本研究結果により、今後のハプロタイプ解析 多変量解析による多方面の臨床的および疫学的解析への応用が可能となる動脈硬化発症要因の SNPs に関わる発展研究が可能になると思われる。

2) 脂質代謝異常症における遺伝子異常の日本人における頻度および脂質代謝の相関性に関する研究 (特定疾

患対策研究事業『原発性高脂血症に関する調査研究』（北班）との合同プロジェクト）

西暦 2000 年を迎えるに当たり 1960 年より 10 年ごとに行われている日本人の血清脂質調査を行い、約 1 万 2 千人の血清脂質調査とその中の 2267 人の脂質代謝に関連する遺伝子調査を行った。その結果コレステリルエステル転送蛋白 (CETP) 変異 1452GA のヘテロ接合体は 0.49%、CETP 変異 D442G ヘテロ接合体は 7.28%、ホモ接合体は 0.1%、リポ蛋白リパーゼ (LPL) 変異 S447X はヘテロ接合体 20.7%、ホモ接合体 1.3%であった。CETP 多型 TAQIB は B1/B1、B1/B2、B2/B2 かそれぞれ 24.9%、50.4%、24.7%であった。また、肝性リパーゼ (HTGL) 多型 514CT においては C/C 24.9%、C/T 50.4%、T/T 24.7%であった。ホモシステイン代謝に関わる MTHFR 多型 C677T においては C/C、C/T、T/T それぞれ 32.7%、49.0%、18.3%であった。アポ CIII/SSTI サイトに関しては C/C、C/G、G/G それぞれ 42.0%、45.8%、12.2%であった。CETP、LPL、HTGL 遺伝子多型と TG、HDL-C 値との相関が示された。以上の研究結果から、西暦 2000 年日本人の血清脂質調査において脂質代謝に関する遺伝子変異、多型と血清総コレステロール、中性脂肪、HDL コレステロールとの相関解析により CETP、LPL、HTGL 遺伝子と TG、HDL-C との相関が示された。これらの大規模解析は、高脂血症診療への遺伝子レベルの診断と治療の有用性を明確に示し、今後の診療指針の基盤になると考えられる。

3) 高脂血症起因遺伝子として新たなアポ E 変異、LPL、PPAR 多型解析および CD36 の動脈硬化発症における意義の同定

LPL 遺伝子変異で蛋白も活性も消失する null 変異は動脈硬化を合併せず、活性のみが欠損するミスセンス変異は動脈硬化惹起的である可能性が示唆された。LPL は TG 水解活性以外に組織 (血管壁) でのリポ蛋白の取り込みや接着に関与していることが報告されており、おそらく LPL 蛋白のこれら酵素外作用の残存が動脈硬化惹的に作用すると考えられた。ヘテロ接合体性 FH 症例を対象とした ER α 遺伝子の解析から、新規の 6 種を含む 14 種の遺伝子多型が同定され、エストロゲンによる心血管保護作用の発現が、ER α 遺伝子多型に影響され、関連

を示す遺伝子多型の種類や加齢に伴う遺伝子多型の影響の変化には性差が存在することか明らかになった。HDL 欠損症例の解析から、プロモーターを含むアポ A-I 遺伝子に塩基の点変異、挿入、欠失によるフレームシフトストップコドンなどの出現による 4 種類のアポ A-I 欠損症を検出され、アポ A-I Oita 症例では冠動脈疾患を認められ、その他の症例では角膜輪、黄色腫など多彩な病態を認めた。

E. 結論

動脈硬化発症要因の遺伝子とその重積性を明らかにする目的で 3 種類の異なったアプローチにより成果を得た。ゲノムワイドの動脈硬化関連遺伝子 SNPs と危険因子および動脈硬化との相関性に関する研究、脂質代謝異常症を引き起こすことか知られている遺伝子異常の日本人における頻度および脂質代謝の相関性に関する研究の成果により、動脈硬化の危険因子である高脂血症に関わる日本人の遺伝子情報を明らかにした。新規遺伝子情報の同定と合わせ、これらの集積データは、今後の高脂血症治療の指針作成に有用なデータベースになると考えられる。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表 論文発表

- 1 Shibasaki M, Takahashi K, Itou T, Miyazawa S, Ito M, Kobayashi J, Bujo H, Saito Y Alterations of insulin sensitivity by the implantation of 3T3-L1 cells in nude mice: A role for TNF-alpha? *Diabetologia* 2002;45:518-26
- 2 Zhu Y, Bujo H, Yamazaki H, Hirayama S, Kanaki T, Takahashi K, Shibasaki M, Schneider WJ, Saito Y Enhanced expression of the LDL receptor family member LR11 increases migration of smooth muscle cells in vitro *Circulation* 2002;105:1830-6
- 3 Tanaga K, Bujo H, Inoue M, Mikami K, Kotani K, Takahashi K, Kanno T, Saito Y Increased circulating malondialdehyde-modified LDL levels in patients

with coronary artery diseases and their association with peak sizes of LDL particles *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002,22 662-6

4 Ishii I, Satoh H, Kawachi H, Jingami H, Matsuoka N, Ohmori S, Bujo H, Yamamoto T, Saito Y, Kitada M Intimal smooth muscle cells up-regulate beta-very low density lipoprotein-mediated cholesterol accumulation by enhancing beta-very low density lipoprotein uptake and decreasing cholesterol efflux

Biochim Biophys Acta 2002,1585 30-8

5 Matsumoto F, Bujo H, Kuramochi D, Saito K, Shibasaki M, Takahashi K, Yoshimoto S, Ichinose M, Saito Y Effects of nutrition on the cell survival and gene expression of transplanted fat tissues in mice

Biochem Biophys Res Commun 2002,295 630-5

6 Kanaki T, Bujo H, Mori S, Yanjuan Z, Takahashi K, Yokote K, Morisaki N, Saito Y Functional analysis of aortic endothelial cells expressing mutant PDGF receptors with respect to expression of matrix metalloproteinase-3

Biochem Biophys Res Commun 2002,294 231-7

7 Kobayashi J, Okamoto H, Otabe M, Bujo H, Saito Y Effect of HDL, from Japanese white rabbit administered a new cholesteryl ester transfer protein inhibitor JTT-705, on cholesteryl ester accumulation induced by acetylated low density lipoprotein in J774 macrophage

Atherosclerosis 2002,162 131-5

8 Tashiro J, Morisaki N, Kobayashi J, Bujo H, Kanzaki T, Murano S, Saito Y Significance of a polymorphism (G-->A transition) in the -75 position of the apolipoprotein A-I gene promoter on serum high density lipoprotein-cholesterol levels in Japanese hyperlipidemic subjects

J Atheroscler Thromb 2001,8 95-100

9 Taira K, Bujo H, Kobayashi J, Takahashi K, Miyazaki A, Saito Y Positive family history for coronary heart disease and 'midband lipoproteins' are potential risk factors of carotid atherosclerosis in

familial hypercholesterolemia

Atherosclerosis 2002,160 391-7

10 Hayashida, K, Kume, N, Minami, M, Kita, T Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) supports adhesion of mononuclear leukocytes and a monocyte-like cell line THP-1 cells under static and flow conditions

FEBS Lett 511 170-174, 2002

11 Ho, H K, Matsubayashi, K, Lim, F S, Sahadevan, S, Kita, T, Sajoh, K Hypertension in Japanese old-old

Lancet 359 804, 2002

12 Morimoto, M, Kume, N, Miyamoto, S, Mizoguchi, A, Nozaki, K, Sadamasa, N, Kita, T, Hashimoto, N The roles of MMPs for cerebral aneurysm formation

Strategic Medical Science Against Brain Attack Springer 223-233, 2002

13 Kume, N, Kita, T New Scavenger Receptors and Their Functions in Atherogenesis

Current Atherosclerosis reports 4 253-257, 2002

14 Yokode, M, Kita, T Aging and Oxidative Stress

Japan Med Assoc J 45 277-282, 2002

15 Tanaka, M, Fukuyama, H, Yamauchi, H, Narita, M, Nabatame, H, Yokode, M, Fujimoto, N, Kita, T, Murakami, M Regional cerebral blood flow abnormalities in non-demented patients with memory impairment

J Neuroimaging in press

16 Kita, T, Kume, N, Ochi, H, Nishi, E, Nagano, Y, Yokode, M Lysophosphatidylcholine induced gene expression of endothelial platelet-derived growth factor-b-chain and intercellular adhesion molecule-1

Medical Science Symposia Series, in press

17 Morimoto, M, Miyamoto, S, Mizoguchi, A, Kume, N, Kita, T, Hashimoto, N A mouse model of cerebral aneurysm-experimental induction by renal hypertension and local hemodynamic changes

Stroke 2002 in press

18 Saika Y, Sakai N, Takahashi M, Maruyama T, Kihara S, Ouchi N, Ishigami M, Hiraoka H, Nakamura T, Yamashita S, Matsuzawa Y Novel LPL

mutation (L303F) found in a patient associated with coronary artery disease and severe systemic atherosclerosis *Eur J Clin Invest* in press

19 Lu H, Higashikata T, Inazu A, Nohara A, Yu W, Shimizu M, Mabuchi H Association of estrogen receptor- α gene polymorphisms with coronary artery disease in patients with familial hypercholesterolemia *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22 817-823, 2002

20 Noji Y, Higashikata T, Inazu A, Nohara A, Ueda K, Miyamoto S, Kajinami K, Takegoshi T, Koizumi J, Mabuchi H Long-term treatment with pitavastatin (NK-104), a new HMG-CoA reductase inhibitor, of patients with heterozygous familial hypercholesterolemia *Atherosclerosis* 163 157-164, 2002

21 Guo Z, Inazu A, Yu W, Suzumura T, Okamoto M, Nohara A, Higashikata T, Sano R, Wakasugi K, Hayakawa T, Yoshida K, Suehiro T, Schmitz G, Mabuchi H Double deletions and missense mutations in the first nucleotide-binding fold of the ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) gene in Japanese patients with Tangier disease *J Hum Genet* 47 325-329, 2002

22 Yu W, Nohara A, Higashikata T, Lu H, Inazu A, Mabuchi H Molecular genetic analysis of familial hypercholesterolemia spectrum and regional difference of LDL receptor gene mutations in Japanese population *Atherosclerosis* 165(2) 335-342, 2002

23 Huang Z, Inazu A, Nohara A, Higashikata T, Mabuchi H Cholesteryl ester transfer protein inhibitor (JTT-705) and the development of atherosclerosis in rabbits with severe hypercholesterolaemia *Clin Sci (Lond)* 2002 Dec;103(6) 587-594

24 Huang Z, Inazu A, Kawashiri MA, Nohara A, Higashikata T, Mabuchi H Dual Effects on HDL Metabolism by Cholesteryl Ester Transfer Protein

Inhibition in HepG2 Cells *Am J Physiol Endocrinol Metab* In press

25 Hoang A, Huang W, Sasaki J, Sviridov D Natural mutations of apolipoprotein A-I impairing activation of lecithin cholesterol acyltransferase *Biophys BiochimActa* 1631(1) 72-76, 2003

26 Sviridov D, Hoang A, Huang W, Sasaki J Structure-function studies of apoA-I variants site-directed mutagenesis and natural mutations *J Lipid Res* 43(8) 1283-1292, 2002

27 Saito Y, Yamada N, Teramoto T, Itakura H, Hata Y, Nakaya N, Mabuchi H, Tushima M, Sasaki J, Goto Y, Ogawa N Clinical efficacy of pitavastatin, a new 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, in patients with hyperlipidemia Dose-finding study using the double-blind, three-group parallel comparison *Arzneimittelforschung* 52(4) 251-255, 2002

28 Saito Y, Yamada N, Teramoto T, Itakura H, Hata Y, Nakaya N, Mabuchi H, Tushima M, Sasaki J, Ogawa N, Goto Y A randomized, double-blind trial comparing the efficacy and safety of pitavastatin versus pravastatin in patients with primary hypercholesterolemia *Atherosclerosis* 162(2) 373-379, 2002

29 Sasaki J, Yamamoto K, Ageta M Effects of fenofibrate on high-density lipoprotein particle size in patients with hyperlipidemia a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter, crossover study *Clin Ther* 24(10) 1614-1626, 2002

30 Kugi M, Matsunaga A, Ono J, Arakawa K, Sasaki J Antioxidative Effects of Fluvastatin on Superoxide Anion Activated by Angiotensin II in Human Aortic Smooth Muscle Cells *Cardiovasc Drugs Ther* 16(3) 203-207, 2002

31 Yamamoto A, Arakawa K, Sasaki J, Matsuzawa Y, Takemura K, Tushima M, Fujinami T, Mabuchi H, Itakura H, Yamada N, Toyota T, Oikawa S Rosuvastatin Dose-Ranging Trialist Group Report of

the Japan Atherosclerosis Society (JAS) Guideline for Diagnosis and Treatment of Hyperlipidemia in Japanese adults Clinical effects of rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor, in Japanese patients with primary hypercholesterolemia an early phase II study *J Atheroscler Thromb* 9(1) 48-56, 2002

32 Hata Y, Mabuchi H, Saito Y, Itakura H, Egusa G, Ito H, Teramoto T, Tsushima M, Tada N, Oikawa S, Yamada N, Yamashita S, Sakuma N, Sasaki J Working Committee on JAS Guideline for Diagnosis and Treatment of Hyperlipidemias *J Atheroscler Thromb* 9(1) 1-27, 2002

33 Mabuchi H, Kita T, Matsuzaki M, Matsuzawa Y, Nakaya N, Oikawa S, Saito Y, Sasaki J, Shimamoto K, Itakura H, The J-LIT Study Group Large scale cohort study of the relationship between serum cholesterol concentration and coronary events with low-dose simvastatin therapy in Japanese patients with hypercholesterolemia and coronary heart disease *Circ J* 66(12) 1096-1100, 2002

34 Matsuzaki M, Kita T, Mabuchi H, Matsuzawa Y, Nakaya N, Oikawa S, Saito Y, Sasaki J, Shimamoto K, Itakura H, The J-LIT Study Group Large scale cohort study of the relationship between serum cholesterol concentration and coronary events with low-dose simvastatin therapy in Japanese patients with hypercholesterolemia *Circ J* 66(12) 1087-1095, 2002

H. 知的財産権の出願、登録状況

特になし。

II. 分 担 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）

分担研究報告書

西暦2000年日本人の血清脂質調査における遺伝子解析

京都大学大学院医学研究科循環病態学

分担研究者 北 徹（京都大学大学院医学研究科 教授）

研究要旨

西暦2000年を迎えるに当たり、1960年より10年ごとに行われている日本人の血清脂質調査を行い、約1万2千人の血清脂質調査とその中の2267人の脂質代謝に関連する遺伝子調査を行った。その結果 CETP 変異 1452GA のヘテロ接合体は 0.49%、CETP 変異 D442G ヘテロ接合体は 7.28%、ホモ接合体は 0.1%、LPL 変異 S447X はヘテロ接合体 20.7%、ホモ接合体 1.3%であった。CETP 多型 TAQIB は B1/B1、B1/B2、B2/B2 がそれぞれ 24.9%、50.4%、24.7%であった。また、HTGL 多型 514CT においては C/C 24.9%、C/T 50.4%、T/T 24.7%であった。ホモシステイン代謝に関わる MTHFR 多型 C677T においては C/C、C/T、T/T それぞれ 32.7%、49.0%、18.3%であった。アポ CIIISSTI サイトに関しては C/C、C/G、G/G それぞれ 42.0%、45.8%、12.2%であった。CETP、LPL、HTGL 遺伝子多型と TG、HDL-c 値との相関が示された。

A 研究目的

現在生活習慣の欧米化に伴い、心筋梗塞や狭心症、脳梗塞の原因となりうる高脂血症を持った人々が増加傾向にある。高脂血症は栄養の取り過ぎや運動不足などの生活習慣と遺伝的な素因の両者が原因で発症する病気であるか、日本人の高脂血症になりやすい体質の詳細についてはまだよくわかっていない。日本における血清脂質と虚血性心疾患の発症などの関係を明らかにするため、日本動脈硬化学会においては10年ごとに日本人における血清脂質の調査を行っており、2000年にも日本全国において多施設での血清脂質調査を実施予定である。この調査においては日本人における血清脂質値の年次的な変化を追跡するとともに、高脂血症に関連する遺伝子についても解析し、高脂血症だけではなく虚血性心疾患、脳血管障害などの動脈硬化性疾患の発症に関連した遺伝子の解析を行う。これらの遺伝子解析を行うことにより高脂血症ならびに動脈硬化性疾患に特徴的な遺伝子変異を同定し、疾患の予防及び治療に役立つ。

B 研究方法

遺伝子解析に関しては京都大学医の倫理委員会により承認され、個人の自由意志を尊重したインフォームドコンセントを取得した後、DNAの採取を行った。

遺伝子多型に関してはCETP遺伝子変異1452GA、CETP変異D442G、CETP多型TAQIB、HTGL多型514CT、LPL変異S447X、MTHFR多型C677T、アポCIIISSTIサイトをインヴェルダー法により解析した。

（倫理面への配慮）

京都大学医の倫理委員会において承認されたインフォームドコンセントを用い、文書による同意が得られた人からDNAを採取した。

C&D 研究結果と考察

インフォームドコンセントが得られた2267名より、DNAを採取し、解析を行った。表1に示すようにCETP変異1452GAヘテロ接合体は0.49%、CETP変異D442Gヘテロ接合体は7.3%、ホモ接合体は0.1%、LPL変異S447Xヘテロ接合体は20.7%、ホモ接合体は1.3%であった。CETP多型TAQIBはB1/B1、B1/B2、B2/B2がそれぞれ24.9%、50.4%、24.7%であった。また、HTGL

多型 514CT においては C/C24.9%、C/T50.4%、T/T24.7%であった。ホモシステイン代謝に関わる MTHFR 多型 C677T においては C/C、C/T、T/T それぞれ 32.7、49.0、18.3%であった。アポ CIII SstI サイトに関しては C/C、C/G、G/G それぞれ 42.0、45.8、12.2%であった。

表1

	Wt	hetero	homo
CETP1452GA	99.5%	0.5%	0.0%
CETPD442	92.6%	7.3%	0.1%
LPLS447X	78.0%	20.7%	1.3%
	B1/B1 1	B1/B2 2	B2/B2 2
CETPTaq1B	35.8%	48.4%	15.8%
	C/C	C/T	T/T
HTGL514CT	24.9%	50.4%	24.7%
MTHFRC667T	32.7%	49.0%	18.3%
	C/C	C/G	C/G
ApoCIII SstI	42.0%	45.8%	12.2%

次に血清脂質値との相関を調べたところ、表2に示すようにまず HDL-c との相関に関しては CETP 変異に関して D442ヘテロ接合体の人において HDL コレステロールが高く、統計学的に有意であった。Taq1B 多型においては B2 アリルを持っている人に HDL コレステロールが高く、有意であった。LPL 変異 S447X ヘテロ接合体の人において HDL-c が有意に高かった。ホモ接合体においてはさらに平均値は高かったか、症例数が少なく、有意差が出なかった。HTGL 多型 514CT においては T アリルを持つ人において HDL-c が有意に高かった。MTHFR、ApoCIII SstI 遺伝子多型においては HDL-c 値に影響を与えなかった。

表2

HDL-c	例数	平均値	有意差
CETP1452GA			
Wt	1987	81.8	
hetero	12	59.5	p<0.01
CETPD442			
Wt	2	59.1	
hetero	137	67.4	p<0.01
homo	1860	70	
LPLS447X			
Wt	1512	59.1	
hetero	418	61.9	p<0.05
homo	25	63	
CETPTaq1B			
B1/B1	724	57.9	
B1/B2	965	59.5	p<0.01
B2/B2	310	64.2	p<0.01
HTGL514CT			
C/C	490	57.7	
C/T	1020	59.9	p<0.01
T/T	489	62.8	p<0.01
MTHFRC667T			
C/C	654	59.1	
C/T	964	59.9	
T/T	380	60	
ApoCIII SstI			
C/C	852	60.1	
C/G	910	59.5	
C/G	237	58.7	

次に TG 値との相関に関しては表3に示すように CETP1452GA 多型、CETPD442 多型、LPLS447X ヘテロ接合体において有意に TG が低く、ApoCIII SstI サイトに関しては G アリルを持つ人において中性脂肪が有意に高かった。今回解析した遺伝子多型と LDL-c との相関は認められなかった。また、今回測定したレムナン トリポ蛋白と CETPD442 多型、ApoCIII SstI サイトに関して統計学的に TG と同様な相関が認められた。

CETP の Taq1B 多型の出現頻度は Okumura ら Kawasaki らの報告とほぼ一致していた。また、B2 アリルと高 HDL コレステロールとの相関も Kawasaki らの報告と一致していた。LPL 変異 S447X の出現率は 20.8%と諸家の報告と比べ やや高めであった。HTGL 多型 514CT、MTHFR 多型 (C677T) の出現頻度は諸家の報告とほぼ同様であった。

表3

TG			
	例数	平均値	有意差
CETP1452GA			
Wt	1987	151.8	
hetero	12	119.6	p<0.01
CETPD442			
Wt	2	121	
hetero	137	101.9	p<0.01
homo	1860	142	
LPLS447X			
Wt	1512	122.4	
hetero	418	110.3	p<0.05
homo	25	96	
CETPTaq1B			
B1/B1	724	120.3	
B1/B2	965	122.4	
B2/B2	310	110.6	
HTGL514CT			
C/C	490	121	
C/T	1020	117.5	
T/T	489	123.3	
MTHFRC667T			
C/C	654	120.7	
C/T	964	121.9	
T/T	380	112.5	
ApoCIII SstI			
C/C	852	116	
C/G	910	119.3	p<0.05
C/G	237	135.4	p<0.05

E. 結論

西暦2000年日本人の血清脂質調査において脂質代謝に関する遺伝子変異、多型と血清総コレステロール、中性脂肪、HDLコレステロールとの相関を調べた。CETP、LPL、HTGL 遺伝子と TG、HDLc との相関が示された。今後はこの情報を元に遺伝子多型と予後の関係を解析する。

F 健康危険情報

なし。

G 研究発表

1 論文発表

1 Hayashida K, Kume N, Minami M, Kita T

Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) supports adhesion of mononuclear leukocytes and a monocyte-like cell line THP-1 cells under static and flow conditions FEBS Lett Vol 511 170-174, 2002

2 Ho, H K, Matsubayashi, K, Lim, F S, Sahadevan, S, Kita, T, Sajoh, K Hypertension in Japanese old-old Lancet 359 804, 2002

3 Morimoto, M, Kume, N, Miyamoto, S, Mizoguchi, A, Nozaki, K, Sadamasa, N, Kita, T, Hashimoto, N The roles of MMPs for cerebral aneurysm formation Strategic Medical Science Against Brain Attack Springer 223-233, 2002

4 Kume, N, Kita, T New Scavenger Receptors and Their Functions in Atherogenesis Current Atherosclerosis reports 4 253-257, 2002

5 Yokode, M, Kita, T Aging and Oxidative Stress Japan Med Assoc J 45(7) 277-282, 2002

6 Tanaka, M, Fukuyama, H, Yamauchi, H, Narita, M, Nabatame, H, Yokode, M, Fujimoto, N, Kita, T, Murakami, M Regional cerebral blood flow abnormalities in non-demented patients with memory impairment J Neuroimaging in press

7 Kita, T, Kume, N, Ochi, H, Nishi, E, Nagano, Y & Yokode, M Lysophosphatidylcholine induced gene expression of endothelial platelet-derived growth factor-b-chain and intercellular adhesion molecule-1 Medical Science Symposia Series, in press

8 Morimoto, M, Miyamoto, S, Mizoguchi, A, Kume, N, Kita, T, Hashimoto N A mouse model of cerebral aneurysm-experimental induction by renal hypertension and local hemodynamic changes Stroke 2002 in press

H 知的財産権の出願、登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

リポ蛋白リパーゼおよびその欠損と動脈硬化性疾患に関する研究
分担研究者 山下 静也（大阪大学大学院医学系研究科 助教授）

研究要旨

リポ蛋白リパーゼ（LPL）欠損症は著明な高トリグリセライド（TG）血症を呈する LPL 遺伝子異常に起因する疾患である。従来、LPL 欠損症においては動脈硬化性疾患の合併はまれとされていたが、我々は LPL 欠損症でありながら、著明な全身性動脈硬化症（冠動脈疾患、腹部大動脈瘤、両側腎動脈狭窄、閉塞性動脈硬化症）を合併した 55 歳の日本人男性を経験したので、この患者における LPL 遺伝子異常と動脈硬化症との関連を検討した。患者の LPL 遺伝子の塩基配列を決定するとエクソン 6 の 1069 番目の G が C に変異した一塩基置換であり、LPL 蛋白の 303 番目のアミノ酸 Phe が Leu に置換するミスセンス変異であった。この変異蛋白は *in vitro* による発現実験にて蛋白発現は存在するものの、産生された蛋白には活性が存在しなかった。このことより LPL 遺伝子変異で蛋白も活性も消失する null 変異は動脈硬化を合併せず、活性のみが欠損するミスセンス変異は動脈硬化惹起的である可能性が示唆された。LPL は TG 水解活性以外に組織（血管壁）でのリポ蛋白の取り込みや接着に関与していることが報告されており、おそらく LPL 蛋白のこれら酵素外作用の残存が動脈硬化惹的に作用すると考えられた。

A 研究目的

リポ蛋白リパーゼ（LPL）およびその欠損と動脈硬化性疾患との関連を検討する。

B 研究方法

我々が発見した著明な全身性動脈硬化性疾患を呈した LPL 欠損症症例における LPL 遺伝子異常および異常 LPL の機能解析を行い、他の報告例との比較・比較を行った。

(倫理面への配慮)

患者からはすべての解析におけるインフォームド コンセントを取得している。

C&D 研究結果と考察

患者の LPL 遺伝子の塩基配列を決定するとエクソン 6 の 1069 番目の G が C に変異した一塩基置換であり、LPL 蛋白の 303 番目のアミノ酸 Phe が Leu に

置換するミスセンス変異であった。この変異蛋白は *in vitro* による発現実験にて蛋白発現は存在するものの、産生された蛋白には活性が存在しなかった。このことより LPL 遺伝子変異で蛋白も活性も消失する null 変異は動脈硬化を合併せず、活性のみが欠損するミスセンス変異は動脈硬化惹起的である可能性が示唆された。LPL は TG 水解活性以外に組織（血管壁）でのリポ蛋白の取り込みや接着に関与していることが報告されており、おそらく LPL 蛋白のこれら酵素外作用の残存が動脈硬化惹的に作用すると考えられた

E 結論

LPL 欠損症はこれまで動脈硬化性疾患の合併はまれであるとされてきたが、LPL 遺伝子異常によってはむしろ必要となるとともに、LPL 欠損症においても詳細な動脈硬化惹起的であり、今後 LPL 遺伝子異常による動脈硬化性疾患の検索が必要であると考

えられた。

F 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Saika Y, Sakai N, Takahashi M, Maruyama T, Kihara S, Ouchi N, Ishigami M, Hiraoka H, Nakamura T, Yamashita S, Matsuzawa Y Novel LPL mutation (L303F) found in a patient associated with coronary artery disease and severe systemic atherosclerosis Eur J Clin Invest (in press) 1993

H 知的財産権の出願、登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

ヘテロ接合体性家族性高コレステロール血症（FH）における
エストロゲン受容体（ER） α 遺伝子多型と冠動脈疾患発症の関連
分担研究者 馬淵 宏（金沢大学医学部内科学第二講座）
研究協力者 東方 利徳，呂 紅，川尻 剛照，野原 淳（同上）
稲津 明広（金沢大学医学部保健学科）

研究要旨

ヘテロ接合体性FH症例を対象としたER α 遺伝子の解析から、これまでに報告のない6種を含む14種の遺伝子多型を同定した Promoter Bの-1989T/G多型およびそれと連鎖するintron1内のXbaI多型は、本症男性および閉経後女性双方において冠動脈疾患（CAD）発症と関連し、ロジスティック回帰分析の結果からは、-1989T/G多型のG/G遺伝子型が本症におけるCADの独立した危険因子と考えられた。またPromoter AのTA repeat および intron 4のG/A多型は閉経後女性FHにおけるCADの危険因子である可能性が示唆された。FHにおいては、エストロゲンによる心血管保護作用の発現はER α 遺伝子多型に影響され、関連を示す遺伝子多型の種類や加齢に伴う遺伝子多型の影響の変化には性差が存在する。

A. 研究の背景および目的

家族性高コレステロール血症（familial hypercholesterolemia, FH）はLDLレセプター遺伝子異常により発症する常染色体優性遺伝疾患であり、生下時より持続する著明な高LDLコレステロール血症の結果、高率に冠動脈疾患（CAD）を発症する。本症における冠動脈イベント発症および冠動脈硬化症の進展には大きな性差が存在するが、これにはエストロゲンの作用を介する機序が容易に想定される。エストロゲンの心血管保護作用は血管壁に存在するエストロゲン受容体（ER） α / β を介して発現する。乳癌や骨粗鬆症などの発症および進展にエストロゲン作用の関与が大きいことが以前より知られており、近年ER α 遺伝子多型との関連が報告されている。また、高LDLコレステロール血症の強い影響下で、高率に冠動脈疾患を発症するFHでの、冠動脈疾患患者-対象研究は、未確立の危険因子の影響を明らかにする可能性を有するものと期待される。このような背景から、われわれはFHの冠動脈疾患の発症、進展に対するER α 遺伝子多型の影響、および加齢によるこの影響の差異を検討した。

B 研究方法

対象は血縁のないヘテロ接合体FH 295例（男性197例，閉経後女性98例）。そのうち冠動脈疾患合併例（CAD群）は119例（男性95例，女性24例），冠動脈疾患非合併例（non-CAD群）は176例（男性102例，女性74例）であった。

ER α 遺伝子の全翻訳領域およびプロモーター領域をPCR-SSCP法、直接塩基配列決定法により解析し、遺伝子多型を同定した。さらにPCR-RFLP法およびGenescan解析により同定された遺伝子多型を対象全例でスクリーニングした。CAD群、non-CAD群間で遺伝子多型の頻度を比較し、冠動脈疾患への影響を検討した。

（倫理面への配慮）本研究は本学の倫理委員会の承認を得ており、倫理規定に則り同意を得た症例を対象とした。

C 研究結果

対象症例の臨床像を表に示す

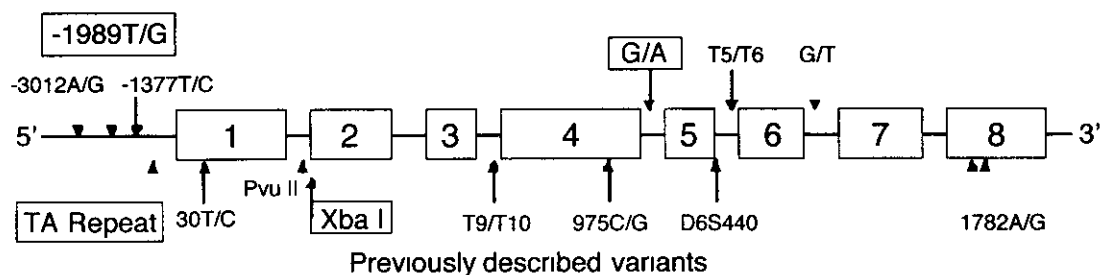
表 対象症例の臨床像

	男性		女性	
	CAD 群	non-CAD 群	CAD 群	non-CAD 群
例数 (%)	95 (48.2)	102 (58.1)	24 (24.5)	74 (75.5)
年齢 (歳)	50.3±11.7 (26-78)	52.3±12.8 (27-78)	61.4±7.1 (56-76)	63.3±7.4 (46-80)
BMI (kg/m ²)	23.6±2.7	23.7±2.7	23.4±2.6	24.1±3.4
喫煙 (%)	66.3	66.7	20.8*	4.1
高血圧 (%)	25.3*	12.7	50*	23
糖尿病 (%)	38.9*	24.5	54.2*	17.6
TC (mg/dl)	321±63	306±57	326±71	328±61
TG (mg/dl)	155±73	167±105	138±70	151±99
HDL-C (mg/dl)	40±13	41±12	42±11	46±14
LDL-C (mg/dl)	250±64	231±59	259±77	249±68
Apo AI (mg/dl)	102±27	109±24	102±18	119±29
Apo B (mg/dl)	176±50	178±45	172±61	188±62
Apo E (mg/dl)	7.5±11.2	6.6±2.8	6.9±4.0	7.0±2.8

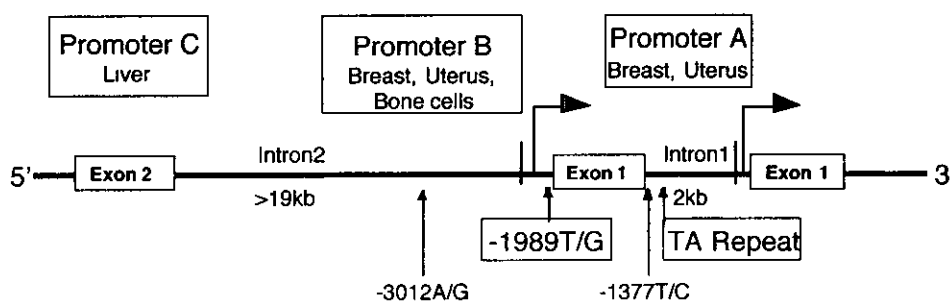
*p<0.05

血清脂質およびアポ蛋白は、男女とも CAD, non-CAD 群間で差を認めず、女性において CAD 群で喫煙者の割合が多く、男女とも CAD 群で高血圧、糖尿病の合併例の頻度が高かった。ER α 遺伝子解析から、新たに同定された 6 種を含む 14 種の遺伝子多型が同定された (図 1)

図 1 ER α 遺伝子多型



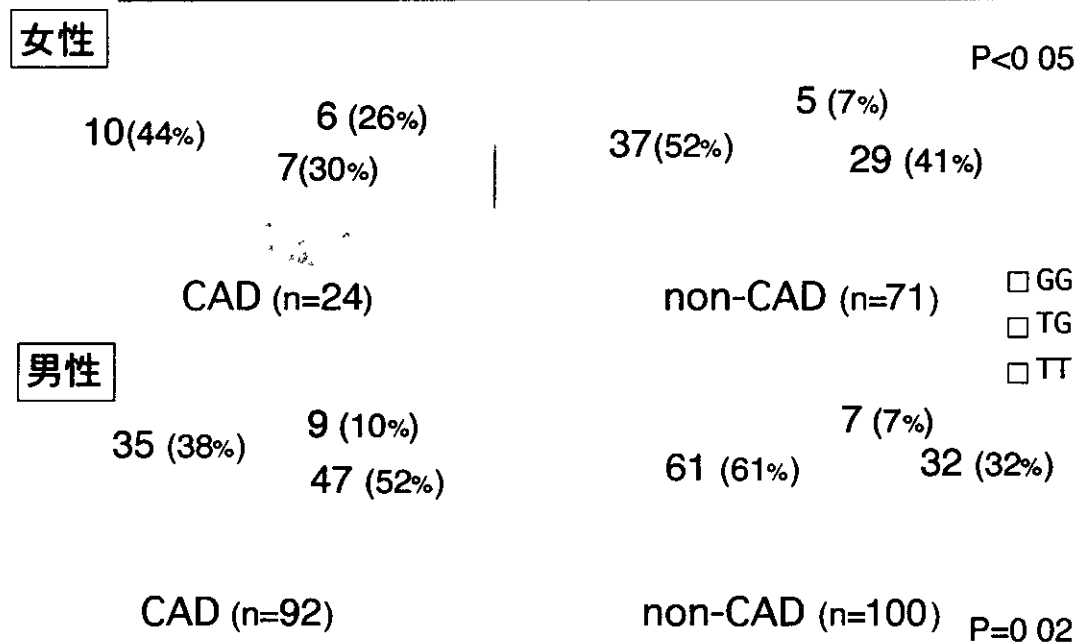
The Promoters and four Polymorphisms in 5' Upstream Region of the ER α Gene



これらの遺伝子多型のうち、新たに同定された Promoter B の -1989T/G 多型および既報の intron1 内の XbaI 多型は、男性および閉経後女性双方において CAD, non-CAD 群間で遺伝子型の分布に差を認め ($p=0.02$, $p<0.05$ および $p=0.02$, $p<0.001$) (図 2), G/G 遺伝子型および X1/X1 遺伝子型の頻度がそれぞれ CAD 群で有意に高頻度であった ($p=0.02$, $p=0.03$)。また Promoter A の TA repeat では、repeat>17 のアリルが女性において CAD 群で有意に高頻度であったか ($p=0.04$)。男性ではこのような関連は認められなかった。同様に新たに同定

された intron4 内の G/A 多型においても、女性においてのみ G/A 型および A アリルが CAD 群で高頻度であった

図2 -1989T/G (promoter B) 遺伝子型のCAD群, non-CAD群間での分布



いずれの遺伝子多型においても、冠動脈疾患の重症度や HDL コレステロール (HDL-C) 値以外の血清脂質値との関連は認めなかったが、-1989T/G 多型, XbaI 多型および PvuII 多型においては G/G 型が T/T 型と比較して, X1/X1 型が X2/X2 型と比較して, P1/P1 が P2/P2 と比較してそれぞれ HDL コレステロール値が有意に低値であった (それぞれ $p < 0.05$, $p = 0.04$, $p < 0.05$)

同定された遺伝子多型間には強い不均衡連鎖が認められ、年齢、性別、BMI、喫煙、LDL コレステロール値および HDL コレステロール値を共変数としたロジスティック回帰分析では、高血圧、糖尿病と並んで-1989T/G 多型の G/G 遺伝子型が CAD 独立した危険因子として同定された (OR 4.5, 95% CI 1.2-7.7)

D 考察

本研究では、ヘテロ接合体性 FH を対象として、ER α 遺伝子の全翻訳領域およびプロモーター領域の解析から多数の遺伝子多型を同定し、本症における CAD 発症との関連につき検討した。その結果、4 種の遺伝子多型において CAD との関連が認められ、特に Promoter B の-1989T/G 多型およびそれと連鎖する intron1 内の XbaI 多型は、男性および閉経後女性の双方において有意な関連を示した。一方 Promoter A の TA repeat と intron4 内の G/A 多型は、閉経後女性においてのみ CAD との関連を認めた。これらの結果は、ER α の遺伝子多型によって、ER を介するエストロゲンの抗動脈硬化作用発現に何らかの変化が生じ、本症における冠動脈疾患発症に影響を及ぼすものと推定され、さらにこの影響には男女差が存在することを示唆している。個々の遺伝子多型がどのような機序でエストロゲン作用や ER の機能そのものに影響をもたらすかは、今後の検討課題といえる。

ロジスティック回帰分析の結果からは、-1989T/G 多型の G/G 遺伝子型が本症において CAD の独立した危険因子と考えられた。ER α 遺伝子には少なくとも 3 種のプロモーター A, B および C が存在することが知られており、臓器あるいは組織ごとに ER α 遺伝子の発現を制御するプロモーターも異なるものと考えられている。近年の研究により、ヒト血管平滑筋細胞において ER

α の発現が確認され、それらはエストロゲン依存性に遺伝子活性化を示す可能性が示唆されている。今回の検討の結果、Promoter Bに見いだされた-1989T/G多型は本研究で同定された他の遺伝子多型、すなわち-3012A/G, -1377T/C PvuII, XbaI, 30T/C, T9/T10およびTA repeatの数と強い不均衡連鎖を示した。これらの知見から-1989T/G多型およびそれと連鎖する多型は、ヒト血管平滑筋細胞においてER α 遺伝子を制御するプロモーターの種類を介して転写あるいは翻訳レベルでのER α 遺伝子の発現に影響している可能性が示唆される。

エストロゲンの心血管保護作用は血管壁に対する直接的作用のみならず、血清リポ蛋白代謝への影響を介しても発揮される。今回の検討ではCADとの関連を示した-1989T/G多型, XbaI多型においてCADの危険因子と考えられるG/G型およびX1/X1型と、これらと強い連鎖を示すPvuII多型のP1/P1型においてHDLコレステロール値が有意に低値であった。少なくともFHにおいてのエストロゲンの心血管保護作用の一部は、HDL代謝を介した機序によりもたらされるものと考えられる。

E 結論

ER α 遺伝子Promoter Bの-1989T/G多型およびそれと連鎖するXbaI多型はヘテロ接合体性FH男女双方においてCAD発症と関連し、-1989T/G多型のG/G遺伝子型はCADの独立した危険因子と考えられた。また、Promoter AのTA repeatおよびintron 4のG/A多型は閉経後女性FHにおけるCADの危険因子である可能性が示唆された。FHにおいては、エストロゲンによる心血管保護作用の発現はER α 遺伝子多型に影響され、この影響には性差が存在すると考えられる。

F. 健康危険情報

特記事項なし

F 研究発表

1) 論文発表

- 1) Lu H, Higashikata T, Inazu A, Nohara A, Yu W, Shimizu M, Mabuchi H. Association of estrogen receptor- α gene polymorphisms with coronary artery disease in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22(5) 817-823, 2002
- 2) Noji Y, Higashikata T, Inazu A, Nohara A, Ueda K, Miyamoto S, Kajinami K, Takegoshi T, Koizumi J, Mabuchi H. Long-term treatment with pitavastatin (NK-104), a new HMG-CoA reductase inhibitor, of patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 163(1) 157-164, 2002
- 3) Guo Z, Inazu A, Yu W, Suzumura T, Okamoto M, Nohara A, Higashikata T, Sano R, Wakasugi K, Hayakawa T, Yoshida K, Suehiro T, Schmitz G, Mabuchi H. Double deletions and missense mutations in the first nucleotide-binding fold of the ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) gene in Japanese patients with Tangier disease. *J Hum Genet* 47(6) 325-329, 2002
- 4) Yu W, Nohara A, Higashikata T, Lu H, Inazu A, Mabuchi H. Molecular genetic analysis of familial hypercholesterolemia: spectrum and regional difference of LDL receptor gene mutations in Japanese population. *Atherosclerosis* 165(2) 335-342, 2002

5) Huang Z, Inazu A, Nohara A, Higashikata T, Mabuchi H Cholesteryl ester transfer protein inhibitor (JTT-705) and the development of atherosclerosis in rabbits with severe hypercholesterolaemia Clin Sci (Lond) 2002 Dec,103(6) 587-594

6) Huang Z, Inazu A, Kawashiri MA, Nohara A, Higashikata T, Mabuchi H Dual Effects on HDL Metabolism by Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition in HepG2 Cells Am J Physiol Endocrinol Metab 2003 Feb

2) 学会発表

1) 呂 紅, 東方利徳, 稲津明広, 野原 淳, 于 文新, 清水賢巳, 馬淵 宏 Association of Estrogen Receptor Alpha Gene Polymorphisms with Coronary Artery Disease in Patients with Familial Hypercholesterolemia 第 34 回日本動脈硬化学会総会, 2002

2) 于 文新, 野原 淳, 東方利徳, 稲津明広, 馬淵 宏, 小泉順二, 柴山正美 平口山実可 LDL レセプター遺伝子診断から見た本邦における臨床診断家族性高コレステロール血症の多様性 第 34 回日本動脈硬化学会総会 2002

3) 東方利徳, 野原 淳, 川尻剛照, 加藤文彦 三輪健二 勝田省嗣 高田睦子 稲津明広 小泉順二 馬淵 宏 アトルハスタチン使用による長期 LDL アフェレンスからの離脱の検討 第 34 回日本動脈硬化学会総会 2002

4) 藤堂康宏 東方利徳 加藤文彦 野原 淳, 稲津明広 馬淵 宏 小泉順二 アホ E 遺伝子型 表現型およびその乖離例の検討 第 34 回日本動脈硬化学会総会, 2002

4) 野路善博, 稲津明広 東方利徳 野原 淳 野末 剛 加藤文彦 于 文新 馬淵 宏 弾性線維性仮性黄色種症(PXE)患者における ABCG6 遺伝子の解析 第 34 回日本動脈硬化学会総会 2002

5) 黄 志平, 稲津明広, 野原 淳 東方利徳, 馬淵 宏 Effect of CETP Inhibition on HDL Metabolism in HepG2 Cells 第 34 回日本動脈硬化学会総会 2002

G 知的所有権の取得状況

1) 特許取得 なし

2) 実用新案登録 なし

3) その他 なし