

- abnormalities in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia associated with diabetes mellitus or impaired glucose tolerance. *Atherosclerosis* 132(1): 43-51, 1997.
2. H.Kuriyama, S.Yamashita, I.Shimomura, T.Funahashi, M.Ishigami, K.Aragane, K.Miyaoka, T.Nakamura, K.Takemura, Z.Man, K.Toide, N.Nakayama, Y.Fukuda, M.C.L.Lin, J.R.Wetterau, Y.Matsuzawa: Enhanced expression of hepatic acyl-CoA synthetase and microsomal triglyceride transfer protein mRNAs in the obese and hypertriglyceridemic rat with visceral fat accumulation. *Hepatology* 27(2): 557-562, 1998
  3. K.Miyaoka, T.Kuwasako, K.Hirano, S.Nozaaki, S.Yamashita, Y.Matsuzawa: CD36 deficiency associated with insulin resistance. *Lancet* 357(9257): 686-687, 2001
  4. H.Nagaretani, T.Nakamura, T.Funahashi, K.Kotani, M.Miyanaga, K.Tokunaga, M.Takahashi, H.Nishizawa, K.Kishida, H.Kuriyama, K.Hotta, S.Yamashita, Y.Matsuzawa: Visceral fat is a major contributor for multiple risk factor clustering in Japanese men with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care* 24(12): 2127-33, 2001
  5. H.Kobayashi, T.Nakamura, K.Miyaoka, M.Nishida, T.Funahashi, S.Yamashita, Y.Matsuzawa: Visceral fat accumulation contributes to insulin resistance, small-sized low-density lipoprotein, and progression of coronary artery disease in middle-aged non-obese Japanese men. *Jpn. Circ. J.* 65(3): 193-199, 2001
  6. N.Maeda, I.Shimomura, K.Kishida, H.Nishizawa, M.Matsuda, H.Nagaretani, N.Furuyama, H.Kondo, M.Takahashi, Y.Arita, R.Komuro, N.Ouchi, S.Kihara, Y.Tochino, K.Okutomi, M.Horie, S.Takeda, T.Aoyama, T.Funahashi, Y.Matsuzawa : Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med* 8(7): 731-7, 2002.
  7. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N, Arita Y, Okamoto Y, Shimomura I, Hiraoka H, Nakamura T, Funahashi T, Matsuzawa Y: Association of 8. hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23(1): 85-9, 2003.
  8. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I: Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24(1):29-33, 2004

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
分担研究報告書

動脈硬化の進展とリスクファクターの重積に関する研究

分担研究者 齋藤 康 千葉大学大学院医学研究院 教授

研究要旨

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、各危険因子の重積を考慮する必要がある。本研究は、動脈硬化の進展に及ぼす危険因子の重要性、とりわけ高脂血症を有する一般住民における危険因子と動脈硬化の進展の関連を明らかにする目的で行なわれた。危険因子として、年齢、BMI に加え、血圧、血清総コレステロール値、LDL コレステロール値、HDL コレステロール値、トリグリセリド値、マロンジアルデヒド化 (MDA-) LDL 値を測定した。動脈硬化の指標として内膜中膜肥厚度を超音波法により計測した。

対象 368 名の危険因子と内膜中膜肥厚度の相関を検討したところ、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。これらの結果は、高脂血症を有する対象において、他の危険因子の重積が動脈硬化の進展をひき起こすことを示唆する。今後、対象数を増やして各々の因子について検討する必要がある。

A. 研究目的

動脈硬化の進展には、LDL コレステロールに加え、トリグリセリドやHDL コレステロール、レムナント等の動脈硬化惹起性リポ蛋白が関与することが知られている。さらに、虚血性心疾患等の動脈硬化性疾患は、高脂血症以外にも複数の危険因子により引き起こされる。このように動脈硬化の進展は各々の危険因子の程度によって画一的でなく、危険因子の重積に着目する必要がある。本研究の目的は、一般住民を対象に動脈硬化の進展を測定し、各々の動脈硬化危険因子の寄与を解明することである。

B. 研究方法

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、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) を超音波法により計測、危険因子として、年齢、BMI に加え、血圧、血清総コレステロール値、LDL コレステロール値、HDL コレステロール値、トリグリセリド値、マロンジアルデヒド化 (MDA-) LDL 値を測定した。これらの危険因子と IMT について統計学的に解析する。

(倫理面への配慮)

本研究の過程において個人名および施設名は特定されないようにコード化した。

C&D. 研究結果と考察

高脂血症を有し、糖尿病や肝疾患等を合併しない一般住民 368 名における各危険因子と IMT を解析した。対象は男性 159 名、女性 209 名であり、平均年齢  $61 \pm 10$  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)  $229 \pm 37$  mg/dl、中性脂肪値 (TG)  $129 \pm 77$  mg/dl、HDL-コレステロール値 (HDL-C)  $53 \pm 18$  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。

表 一般住民における頸動脈内膜中膜肥厚度と危険因子の相関

危険因子	R 値	P 値
年齢	0.377	<0.001
BMI	0.151	<0.001
最高血圧	0.227	<0.001
最低血圧	0.158	<0.001
LDL-C	0.031	0.485
HDL-C	0.234	<0.001
MDA-LDL	0.111	<0.01
TG	0.072	0.102
LDL size		0.082
	0.270	

#### E. 研究結果と考察

今回の調査から、頸動脈内膜中膜肥厚度を指標とした動脈硬化の進展には、年齢、肥満度、最高血圧、最低血圧、HDL コレステロール、MDA-LDL が関与することが示唆された。これらの結果は、高脂血症を有する対象において、他の危険因子の重積が動脈硬化の進展をひき起こすことを示唆する。しかしながら、解析対象が 368 名であり、今後、対象数を増やして各々の因子について検討する必要がある。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1: Zhu Y, Bujo H, Yamazaki H, Ohwaki K, Jiang M, Hirayama S, Kanaki T, Shibasaki M, Takahashi K, Schneider WJ, Saito Y. LRI1, an LDL Receptor Gene Family Member, Is a Novel Regulator of Smooth Muscle Cell Migration. *Circ Res.* 2004 Feb 5 [Epub ahead of print]

2: Yamazaki K, Bujo H, Taira K, Itou N, Shibasaki M, Takahashi K, Saito Y. Increased circulating malondialdehyde-modified LDL in the patients with familial combined hyperlipidemia and its relation with the hepatic lipase activity. *Atherosclerosis.* 2004

*Jan;172(1):181-7.*

3: Fujita Y, Ezura Y, Emi M, Sato K, Takada D, Iino Y, Katayama Y, Takahashi K, Kamimura K, Bujo H, Saito Y. Hypercholesterolemia associated with splice-junction variation of inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4 (ITIH4) gene. *J Hum Genet.* 2004;49(1):24-8.

4: Li Y, Bujo H, Takahashi K, Shibasaki M, Zhu Y, Yoshida Y, Otsuka Y, Hashimoto N, Saito Y. Visceral fat: higher responsiveness of fat mass and gene expression to calorie restriction than subcutaneous fat. *Exp Biol Med (Maywood).* 2003;228(10):1118-23.

5: Miyazawa-Hoshimoto S, Takahashi K, Bujo H, Hashimoto N, Saito Y. Elevated serum vascular endothelial growth factor is associated with visceral fat accumulation in human obese subjects. *Diabetologia.* 2003 Nov;46(11):1483-8.

6: Ono S, Ezura Y, Emi M, Fujita Y, Takada D, Sato K, Ishigami T, Uemura S, Takahashi K, Kamimura K, Bujo H, Saito Y. A promoter SNP (-1323T>C) in G-substrate gene (GSBS) correlates with hypercholesterolemia. *J Hum Genet.* 2003;48(9):447-50.

7: Shibasaki M, Takahashi K, Itou T, Bujo H, Saito Y. A PPAR agonist improves TNF-alpha-induced insulin resistance of adipose tissue in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003 Sep 19;309(2):419-24.

8: Fujita Y, Ezura Y, Emi M, Ono S, Takada D, Takahashi K, Uemura K, Iino Y, Katayama Y, Bujo H, Saito Y. Hypertriglyceridemia associated with amino acid variation Asn985Tyr of the RPI gene. *J Hum Genet.* 2003;48(6):305-8.

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

特になし。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

高レムナントリポ蛋白血症に合併する虚血性心疾患および脳梗塞の予防・治療法  
確立のための大規模臨床試験に関する研究

分担研究者 今泉 勉 久留米大学第三内科 主任教授

研究協力者 足達 寿 久留米大学第三内科 助教授

平塚章子 久留米大学第三内科 助手

榎本美佳 同上

佐藤 晃 同上

研究要旨

【目的】 多人数の一般住民にレムナントリポ蛋白を測定し、その分布、性差、冠危険因子との関連を検討する。【方法】 1999年より福岡県田主丸町で施行した約1,500人の住民を対象に、レムナントリポ蛋白を測定し、身体計測、血圧測定、脂質値などの採血、喫煙習慣の有無などを調査した。【結果】 レムナントリポ蛋白は肥満、高血圧、高中性脂肪血症、糖代謝異常と密接に関連しており、その背後にインスリン抵抗性の存在が示唆された。【総括】 高レムナントリポ蛋白血症が虚血性心疾患および脳梗塞の新しい危険因子になり得るかは縦断的な検討を待たねばならず、我々は脳梗塞既往がある受診者の予後調査も併せて行うことにより、高レムナントリポ蛋白血症が脳梗塞再発に関連しているかも検討する。

A. 研究目的

レムナント様リポ蛋白コレステロール（RLP-c）は、動脈硬化性疾患を惹起するコレステロールとして知られ、冠動脈疾患、脳梗塞、末梢動脈硬化において有意に高値であるとの報告がみられる。しかし、我が国における疫学的なエビデンスは乏しく、欧米の成績もフラミンガム研究など一部の研究で認められるに過ぎない。欧米に比べ、動脈硬化性疾患の少ない本邦に於いて、RLP-cが冠動脈疾患、脳梗塞発症にどの程度の関連を有しているかは縦断的な研究を待たねばならないが、その基礎となる分布、性差なども明らかにされていないのが現状

である。そこで、我々はまず横断的に RLP-c の基礎的な資料となるデータを検討し、それに基づいて、冠動脈疾患、脳梗塞の発症に関するエビデンスを構築することを本研究の目的とした。

B. 研究方法

1999年5月より福岡県浮羽郡田主丸町で住民検診を行い、同年7月までの検診者、1,492名のうち、早朝空腹時に採血可能であった1,465名に RLP-c を測定した。さらにこの中から糖尿病薬や高脂血症薬服用中の者、インスリン注射中のものを除いた1,305

名を分析対象者として他の動脈硬化の危険因子（高血圧、高脂血症、糖尿病、肥満など）との関連を検討した。また、同検診受診者の発症調査も併せて行っている。

（倫理面への配慮）

本研究は、久留米大学での倫理委員会で承認されており、また、受診者本人からは署名による informed consent を得ている。

### C. 研究結果

RLP-c の平均値は、男性 3.52mg/dl、女性 3.46mg/dl と有意差はなかったが、女性では閉経期を迎える 50 歳以降で次第に高値を示した。RLP-c を目的変数とし、年齢、性、降圧薬治療で補正した重回帰分析を行ったところ、BMI ( $p<0.001$ )、waist-hip ratio ( $p<0.001$ )、総コレステロール値 ( $p<0.001$ )、HDL コレステロール ( $p<0.001$ ; 負に関連)、中性脂肪 ( $p<0.001$ )、尿酸 ( $p<0.001$ )、血糖値 ( $p<0.001$ )、インスリン値 ( $p<0.001$ )、インスリン抵抗性の指標である HOMA 指数 ( $p<0.001$ ) 及び hemoglobin A1c ( $p<0.001$ ) と有意な関連を認めた。また、RLP-c は n 数を等分に 5 分割した HOMA 指数、waist-hip ratio に於いて、linear に増加する結果 ( $p<0.001$  for trend) を示し、インスリン抵抗性と密接な関連を有することが示唆された。

### D. 考察

RLP-c は、冠動脈疾患の新しい危険因子として、注目されるようになってきた。RLP-c は、測定法が開発されて約 10 年しか経過しておらず、前向き研究としての報告は 2001 年の Framingham study のみである。本邦からは大西ら (Atherosclerosis,

2002) が、472 名の検診受診者を対象に RLP-c とインスリン抵抗性の密接な正の関連を報告している。

今回の我々の研究では、約 1,500 名の検診受診者から、1,465 名という多人数の採血が得られている。従って、Framingham study に次ぐ大規模な RLP-c の疫学的研究と言える。本研究から RLP-c は多くの冠危険因子と有意な関連が見られ、特にインスリン抵抗性症候群と言われる因子と強く関係していた。実際、インスリン抵抗性の指標として疫学的にも頻用されている HOMA 指数は RLP-c と有意に強い正の関連を認めた。

RLP-c が高値とされる 7.5mg/dl 以上の異常者は男性 65 名、女性 75 名の合計 140 名（全体の約 10%）であり、これらの高値者と正常者の脳・心血管疾患発症の差を検討することは極めて興味深い。我々は今回の長寿科学総合研究事業における目標の一つである脳梗塞の再発に RLP-c が関係しているか否かも検討し、今後も本邦における RLP-c の意義の幅広い研究を継続していく。

### E. 結論

本研究を通じて、本邦における RLP-c の基礎的データ（分布、性差、年齢との関連など）を明らかにした。さらに他の冠危険因子との関連性についても検討し、インスリン抵抗性症候群と極めて強い関連を有することを確認した。

これらの基本的なデータを基に本邦では未だ報告を認めない脳・心血管疾患発症という予後との関連を今後の検討課題とし、RLP-c の臨床的な意義に関する本邦独自のエビデンスを構築する研究を行っている。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

学会発表

1. Adachi H, Tsuruta M, Imaizumi T.  
Association of plasma remnant-like  
particle cholesterol with insulin  
resistance in a Japanese general  
population. The American Heart  
Association's 73th Scientific Sessions,  
New Orleans, USA, 2000
2. 鶴田 真、足達 寿、今泉 勉：地域集  
団におけるレムナント様リポ蛋白コレ  
ステロール (RLP-C) とインスリン抵抗  
性の関連性。第64回日本循環器学会  
総会。大阪、2000

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

特記すべきことなし。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

糖尿病人口増加にともなう冠動脈疾患への影響に関する研究

分担研究者 横山光宏 神戸大学大学院医学系研究科循環呼吸器病態学 教授

研究要旨

近年のわが国における糖尿病の急速な人口増加を背景に糖尿病の冠危険因子としての重要性と冠動脈疾患に及ぼす影響について検討した。1993年から2003年までに神戸大学附属病院循環器内科に入院した冠動脈疾患患者を対象に冠危険因子の保有率と血液データ、ならびに冠動脈造影検査の結果を集計分析した。冠危険因子のなかで糖尿病を含む糖代謝異常群の有意な増加傾向とそれに伴う冠動脈疾患の重症化傾向が示された。

A. 研究目的

生活習慣の欧米化に伴いわが国の糖尿病人口が増加を続けている。厚生労働省調べでは2002年には糖尿病は720万人、予備軍を含めると1600万人を超えると推測されている。糖尿病は冠動脈疾患の独立した危険因子であるが、近年の糖尿病人口の増加が冠動脈疾患の背景に与える影響度を示す報告はない。10年間の冠危険因子のトレンドを横断的に検討して糖尿病人口の増加に伴う危険因子群の分布変化を把握し、冠危険因子としての糖尿病の重要性の高まりを明らかにする。

B. 研究方法

1993年から2003年までに神戸大学附属病院循環器内科に入院し、冠動脈造影検査にて有意所見を得た冠動脈疾患（心筋梗塞・不安定狭心症・安定狭心症・異型狭心症）患者を

対象に冠危険因子の保有率と年齢・BMI・血圧・脂質・HbA1cの測定値の年度毎の平均値を横断的に集計分析した。また同時に対象冠動脈疾患患者の病変枝数を評価し冠動脈疾患の重症度の検討を行った。

C. 研究結果

冠動脈疾患患者の高血圧罹患率・高脂血症罹患率（高コレステロール血症・高中性脂肪血症・低HDLコレステロール血症を含め）・肥満率に関しては有意な変動が見られずに横ばいに推移しているが、境界型罹患率（1993年；5.9%、2003年；11.0%）、糖尿病罹患率（1993年；24.5%、2003年；44.6%）は経年的に着実に増加していることが示された。脂質の内訳に関してはLDLコレステロール値、中性脂肪値、HDLコレステロール値の平均値はいずれも改善傾向にあり、この10年間に脂質が良

く管理されていることが明らかになった。その一方で、HbA1c の平均値に関しては経年的に着実に増加していることが示された（1993年； $5.8 \pm 1.6$ 、2003年； $6.4 \pm 1.6$ ）。また2枝以上に病変をもつ多枝病変の形成における規定因子についてロジスティック解析を行ったところ、1993年においては多枝病変の有意な規定因子は高脂血症と糖尿病であったのに対して（高脂血症；オッズ比 2.72、糖尿病；オッズ比 2.68）、2003年におけるそれは糖尿病だけであった（糖尿病；オッズ比 2.38）。多枝病変を有する患者割合に関してもこの10年間で有意な増加が認められた（1993年；44.7%、2003年；58.8%）。

#### D. 考察

本研究により冠動脈疾患患者における糖尿病を含む糖代謝異常群の増加傾向が明らかにされた。他の危険因子に変動がみられない中で冠危険因子としての糖代謝異常の重要性が高まってきていることが示唆される。すでに多くの研究から示されるように糖尿病に関連した冠動脈の動脈硬化は高度でありかつ予後が不良である。本研究においても糖尿病の増加に伴う冠動脈疾患の重症化の傾向が示された。

糖尿病における高度な動脈硬化形成の背景には血清脂質の量だけでなく質的異常の存在が重要である。脂質代謝の停滞によりリポ蛋白の代謝中間体であるレムナントリポ蛋白が増加することが知られているが、近年このレムナントリポ蛋白が動脈硬化を惹起進展する因子の一つであることが明らかにされつつあ

る。糖尿病や境界型ではレムナントリポ蛋白が増加しており高度な動脈硬化形成に関与していると思われる。冠危険因子として糖尿病・糖代謝異常の重要性が急速に高まっている中、これまでの血清脂質測定に加えてレムナントリポ蛋白測定の意義が今後ますます明確になってくるものと予測される。

#### E. 結論

本研究により近年の糖尿病人口の増加を背景に冠動脈疾患患者における糖代謝異常の増加傾向が明らかにされそれに伴う冠動脈疾患の重症化の傾向が示された。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Kawasaki S, Taniguchi T, Fujioka Y, Takahashi A, Takahashi T, Domoto K, Taguchi M, Ishikawa Y, Yokoyama M. Chylomicron remnant induces apoptosis in vascular endothelial cells. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 902: 336-341.
2. Kim JI, Tsujino T, Fujioka Y, Saito K, Yokoyama M. Bezafibrate improves hypertension and insulin sensitivity in humans. *Hypertens Res* 2003;26: 307-313
3. Takaishi H, Taniguchi T, Takahashi A, Ishikawa Y, Yokoyama M. High Glucose Accelerates MCP-1 Production via p38 MAPK in Vascular Endothelial Cells.



Biochem Biophys Res Commun. 2003;  
305(1):122-128

4. Domoto K, Taniguchi T, Takaishi H,  
Takahashi T, Fujioka Y, Takahashi A,  
Ishikawa Y, Yokoyama M. Chylomicron  
remnants induce monocyte chemoattractant  
protein-1 expression via p38 MAPK  
activation in vascular smooth muscle cells.  
Atherosclerosis. 2003 Dec;171(2):193-200.

5. Takaishi H, Taniguchi T, Ishikawa Y,  
Yokoyama M. Impact of increasing diabetes  
on coronary artery disease in the past  
decade. Journal of Atherosclerosis and  
Thrombosis in press

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

特許取得

なし。

実用新案登録

なし。

その他

特記すべきことなし。

冠動脈疾患における LDL の被酸化性とその粒子径の関連  
および LDL 分画中構成脂質成分についての検討

分担研究者 代田浩之 順天堂大学循環器内科 教授

研究協力者 大村寛敏 宮崎哲朗 久米淳美 順天堂大学循環器内科

研究要旨

【目的】冠動脈硬化形成における酸化 LDL の関与を LDL 粒子径とその被酸化性および LDL 構成脂質成分の変化から検討する。【方法】冠動脈造影を実施した患者を対象として、LDL 粒子径を電気泳動法により測定し、被酸化性は硫酸銅触媒下での酸化反応を吸光度計で観察し lag time として算出。また LDL 分画中の構成脂質成分は酵素法を用いて総コレステロール、遊離コレステロール (FC)、中性脂肪 (TG) とリン脂質 (PL) を測定し、これらよりコレステロールエステル (CE) を算出。冠動脈疾患の有無による 2 群間で LDL 粒子径や lag time を比較し、さらに LDL 粒子径と構成脂質成分および被酸化性との関係を検討した。【結果】LDL 粒子径の変化により構成脂質成分も変化し、その被酸化性に影響を与えている。小型 LDL の被酸化性は亢進しており、その結果生成される酸化 LDL が冠動脈硬化形成に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

低比重リポ蛋白コレステロール (LDL-C) が冠動脈硬化の発生および進展に強く関与している事は周知の事実である。LDL の動脈硬化形成機序のひとつとして酸化 LDL の関与が考えられているが、冠動脈疾患 (CAD) における LDL の被酸化性を検討した報告は少ない。一方 LDL は heterogeneous な粒子集団であるが、特に small, dense LDL は CAD との強い関連が疫学的に報告され、LDL はその粒子径や化学組成の変化により粒子特性が決定され、動脈硬化形成性に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。本研究の目

的は、冠動脈造影により確認された CAD 患者における LDL 粒子径および被酸化性を検討し、さらに LDL 構成脂質成分の変化と粒子径、被酸化性との関連について検討することである。

B. 研究方法

対象は 1996 年 1 月から 1997 年 2 月までに当院において冠動脈造影検査を施行した連続症例で、慢性肝炎や肝硬変、血液透析患者、高脂血症治療薬および抗酸化作用を有する薬剤内服患者を除外した 102 例。少なくとも主要冠動脈の 1 枝に有意狭窄病変を認める症例

を CAD と定義し、この有無により 2 群に分けて比較検討した。また各症例は研究参加に対して同意を得た。

血清脂質の測定は早朝空腹時に行なった。LDL 分画は 0.04N の EDTA 添加スピッツに検体採血を行ない、Havel らの報告に基づき段階的超遠心分離法により採取した。LDL の被酸化性は以下の 2 つの方法で測定；①血漿および LDL 分画中の過酸化脂質濃度 (TBARS)、②Esterbauer らの方法に従い 5  $\mu$ M の硫酸銅触媒下での酸化反応中に生成する共役ジエンを吸光度計で観察し lag time (分) を算出。LDL 粒子径は Krauss らの方法に基づいて電気泳動法で主要粒子径を LDL-PPD として計測し、LDL 分画中構成脂質成分は酵素法を用いて測定し、一粒子当たりで比較するために Lowry 法で測定した LDL 蛋白量で除したもの (wt/wt) を用いて比較検討した。

統計学的検定は 2 群の平均値の差は un-paired Student's *t* 検定、割合は  $\chi^2$  検定を用いて行なった。2 変数間の単相関は Pearson の相関係数を用いて検定し、多変数における独立性の検討を Stepwise - regression を用いて検定を行なった。

(倫理面への配慮)

本研究の過程において個人名が特定されないようにコード化した。

### C. 研究結果

1. 被酸化性の検討：血漿および LDL 分画中の TBARS 値は共に CAD 患者で非 CAD 患者に比べて有意に高値 (2.16 $\pm$ 1.21 vs. 1.56

$\pm$ 0.64 nmol MDA/ml;  $p$ <0.005, 1.37 $\pm$ 0.75 vs. 1.10 $\pm$ 0.35 nmol MDA/mg;  $p$ <0.05) を示し、CAD 患者の循環血漿中にはより多くの過酸化脂質が存在していることが確認された。また CAD 患者の lag time は 43.3 $\pm$ 6 分で非 CAD 患者の 48.5 $\pm$ 9 分に比べて有意に短縮 ( $p$ <0.005) しており、CAD 患者の LDL 自身の被酸化性は亢進していることが確認された。

2. LDL-PPD と LDL 構成脂質成分：CAD 患者の LDL-PPD は 25.59 $\pm$ 0.51nm で非 CAD 患者の 26.02 $\pm$ 0.71nm と比べて有意に小さく ( $p$ <0.005)、small, dense LDL 優位に構成されていることが分かった。

LDL 構成脂質成分では、CAD 患者で非 CAD 患者に比べて TG が有意に高値を示し、その他の FC、CE および PL は有意に低値を示した (データ省略)。

3. LDL の被酸化性に影響する因子：LDL-PPD は血漿あるいは LDL 分画中 TBARS 値との関連を認めなかったが、lag time とは弱いながらも有意な正相関を認め ( $r$ =0.32,  $p$ <0.005)、LDL 粒子の小型化により被酸化性が亢進することが示された。また、LDL-PPD と構成脂質成分との関係では TG 以外の FC、CE、PL がすべて有意な正相関 (順に  $r$ =0.49, 0.36, 0.42;  $p$ <0.0001) を示し、LDL 粒子の小型化により TG 以外の脂質成分は減少することが示された。さらに多変量解析の結果、特に FC 成分が単独で lag time に対して正相関を示す独立した因子であった。

#### D. 考察

本研究により CAD 患者の LDL は被酸化性が亢進し、かつ、その LDL 分画は小型の LDL 粒子優位に構成されていることが示された。さらに LDL の被酸化性の指標である lag time と LDL 粒子径との間に有意な正相関を認め、小型の LDL ほど酸化され易いという直接的関係も示された。また LDL 粒子径の小型化による構成脂質成分の変化として、一粒子当たりの FC、CE および PL の減少を認め、そのなかでも特に FC の減少が LDL の被酸化性に関連している可能性が示唆された。

今回の症例では CAD の有無で血清 LDL-C 濃度に有意差を認めなかったが、TBARS 測定の結果から CAD 患者において有意に酸化 LDL 生成が多いことが示された。すなわち small, dense LDL 優位に構成された LDL がその動脈硬化形成性ゆえに血清 LDL-C レベルの増加を伴わずに冠動脈硬化に強く関連した可能性が示唆される。また、この small, dense LDL 形成に血清脂質変化として HDL-C 低下および TG 増加が認められることが報告されているが、今回の検討でも LDL 粒子径は血清 HDL-C 濃度と有意な正相関を、血清 TG 濃度と有意な負相関をしめすことが確認された。

今後さらに LDL 粒子の被酸化性に関与する因子とそのメカニズムの検討が CAD 発症や進展予防のために必要と考えられ、臨床的介入試験による検討も期待される。

#### E. 結論

small, dense LDL の被酸化性の亢進が冠

動脈硬化形成に少なくとも関与していることが示された。また、その LDL 粒子を構成する脂質成分の変化、特に FC 減少が small, dense LDL の被酸化性亢進と関係し動脈硬化形成性に作用していると考えられた。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. 大村寛敏, 代田浩之他 冠動脈疾患における LDL の被酸化性とその粒子径の関連および LDL 分画中構成脂質成分についての検討. 動脈硬化 4・5: 147-155; 1998
2. Hirotohi Ohmura, Hiroyuki Daida, et al. Possible role of high susceptibility of high-density lipoprotein to lipid peroxidative modification and oxidized high-density lipoprotein in genesis of coronary artery spasm. Atherosclerosis 142: 179-184; 1999
3. Satoshi Sunayama, Yoshiro Watanabe, Hirotohi Ohmura, Hiroyuki Daida, et al. Effects of troglitazone on atherogenic lipoprotein phenotype in coronary patients with insulin resistance. Atherosclerosis 146: 187-193; 1999
4. Hirotohi Ohmura, Hiroyuki Daida, et al. Lipid compositional differences of small, dense Low-density lipoprotein particle influence its oxidative susceptibility: possible implication of increased risk of coronary artery

disease in subjects with phenotypeB.

Metabolism 51: 1081-1087; 2002

5. 大村寛敏, 代田浩之:高コレステロール血症診療の意義と EBM. 動脈硬化予防 2: 26-36; 2003
6. 大村寛敏: スタチンとフィブラート-大規模臨床試験. Medico 35: 45-49; 2004

学会発表

1. 大村寛敏, 代田浩之:冠動脈疾患における75g OGTTの有用性について. 第50回日本心臓病学会学術集会. 2002. 9. 名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特記すべきことなし

各種血清脂質低下薬の血清レムナントリポ蛋白濃度に及ぼす影響

分担研究者 多田紀夫 東京慈恵会医科大学附属柏病院総合診療部 教授

研究要旨

【目的】本試験を遂行する前試験として、各種血清脂質低下薬の血清レムナントリポ蛋白に及ぼす影響を検討した。【方法】それぞれ薬理作用の異なる3種の薬剤である simvastatin、bezafibrate、EPA をそれぞれ外来通院中の高脂血症患者に投与し、血清脂質、レムナントリポ蛋白の変化を観察した。【結果】いずれの薬剤も4～12週間の投与において、RLPにて測定したレムナントリポ蛋白は有意な低下を示したが、それぞれ低下の機序は異なり、随伴する他のリポ蛋白の変化は異なるものであった。

A 研究目的

高レムナントリポ蛋白血症<sup>1)</sup>を伴う虚血性心疾患に対する脂質低下薬の前向き追跡ランダム化比較試験を実施するにあたり、予備試験として各種脂質低下薬をそれぞれ短期間投与し、これら薬剤の血清レムナントリポ蛋白への影響を観察することを研究の目的とする。

B. 研究方法

対象は東京慈恵会医科大学附属病院外来通院中の高脂血症患者であり、ここで用いた薬剤は①細胞内コレステロール合成の律速酵素 HMG CoA 還元酵素を阻害することにて発現する壁在 LDL 受容体の活性亢進により血清 LDL-C を低下する薬理作用を主作用とする HMG CoA 還元酵素阻害薬<sup>2)</sup> simvastatin、② PPAR  $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$ )<sup>3)</sup>

の活性化を主作用とするフィブレート系薬剤 bezafibrate、③肝での TG 合成を阻害して VLDL 生成を抑制する薬理作用を主作用とする ethyl icosapentate (EPA)<sup>4)</sup> の3種とした。Simvastatin (5 mg/日) は31名の高脂血症患者 (II a 型高脂血症 20 名、II b 型高脂血症 11 名) を対象として、bezafibrate (400 mg/日) は28名の高脂血症患者 (II a 型高脂血症 10 名、II b 型高脂血症 10 名、III 型高脂血症 1 名、IV 型高脂血症 6 名、V 型高脂血症 1 名) を対象として、EPA (1800mg/日) は28名の高脂血症患者 (II a 型高脂血症 10 名、II b 型高脂血症 10 名、III 型高脂血症 1 名、IV 型高脂血症 6 名、V 型高脂血症 1 名) を対象として、それぞれ4～12週間投与し、投与前後の血清脂質ならびに血清レムナントリポ蛋白濃度を反映する値である RLP-C、

RLP-TG 値<sup>5-8)</sup>の変化を検討した。

(倫理面への配慮)

これらの臨床試験において採血はインフォームドコンセント取得のうえ、すべて少なくとも12時間以上の断食ののちの早朝空腹時とした。

### C. 研究結果

LDL 受容体活性を亢進する薬理作用を持つ simvastatin (5 mg/日) を投与した31名の対象者において血清 RLP-C は投与前  $15 \pm 3.0$  mg/dl から投与後  $7.0 \pm 1.2$  mg/dl と有意な低下を示し ( $p < 0.001$ )、この血清 RLP-C の有意な低下はⅡa型高脂血症、Ⅱb型高脂血症ともに認められた (ともに  $p < 0.001$ )。同薬剤投与により血清 RLP-TG も低下を示したが、投与前後の値に有意差は認められなかった。この試験において、血清コレステロール、LDL-コレステロール(LDL-C) も血清 RLP-C と同様、本薬剤投与により全対象者ならびにⅡa型高脂血症とⅡb型高脂血症のいずれのサブグループにおいても有意な低下を示した (ともに  $p < 0.001$ )。血清トリグリセリド(TG) も全症例およびⅡb型高脂血症にて有意な低下を示した (ともに  $p < 0.01$ )。一方、HDL-C にはほとんど変化がみられなかった。

PPAR $\alpha$ 活性化によりリポ蛋白リパーゼ活性を増加する薬理作用を持つ bezafibrate (400 mg/日) を投与した28名の対象者において血清コレステロール、血清 TG は有意に低下し (ともに  $p < 0.001$ )、HDL-C は有意に増加した ( $p < 0.001$ )。しかし、血清 RLP-C の低下には有意性はなく、むしろⅡa

型高脂血症では bezafibrate 投与前後で  $3.2 \pm 0.7$  mg/dl から  $4.3 \pm 0.6$  mg/dl へと血清 RLP-C の増加がみられた。一方、血清 RLP-TG は  $99 \pm 29$  mg/dl から  $31 \pm 7.3$  mg/dl と有意な低下を示した ( $p < 0.02$ )。Ⅱa型高脂血症と異なり、Ⅱb型高脂血症では bezafibrate 投与にて血清 RLP-C、RLP-TG ともに有意な低下を示した (それぞれ  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ )。症例数が少ないため投与前後の有意差検定はできなかったが、Ⅲ型高脂血症、Ⅴ型高脂血症ともに bezafibrate 投与にて血清 RLP-C と RLP-TG は顕著な低下を示した。

肝での TG 生成を抑制し VLDL の肝からの分泌を低下する薬理作用を持つ EPA (1800mg/日) を投与した28名の対象者において EPA 投与前後の LDL-C、HDL-C には有意な変化が認められなかったが、血清 RLP-C ならびに RLP-TG は有意な低下を示した (それぞれ  $9.6 \pm 2.0$  mg/dl から  $4.0 \pm 0.7$  mg/dl:  $p < 0.01$ 、 $63 \pm 17$  mg/dl から  $25 \pm 6.2$  mg/dl:  $p < 0.05$ )。

### D. 考察

Simvastatin 投与にてⅡa型高脂血症、Ⅱb型高脂血症ともに LDL-C の有意な減少とともに RLP-C の有意な減少が認められ、RLP はレムナントリポ蛋白と同様に LDL 受容体を介して異化される可能性が支持された。Simvastatin 投与ではⅡa型高脂血症においても、Ⅱb型高脂血症においても本薬剤投与前後の検討にて RLP-C、RLP-TG ともにほぼ同等な低下率を示しており、これは RLP が simvastatin にて誘導され

た LDL 受容体に結合することで粒子のまま一体となって血中から消失するということを支持する成績であった。

一方、リポ蛋白リパーゼ活性を亢進する bezafibrate 投与ではⅡa型高脂血症において、投与後の RLP-C はむしろ増加を示した。レムナントリポ蛋白はカイロミクロン (CM) や VLDL が血中に流入した後、リポ蛋白リパーゼの作用により代謝を受け血中にて生成されるリポ蛋白である。そのため、bezafibrate 投与によるリポ蛋白リパーゼ活性亢進によりレムナントリポ蛋白が増加したことが RLP-C の増加となって現れたとすることで説明される。Ⅱa型高脂血症、Ⅱb型高脂血症ともに bezafibrate 投与にて生じる RLP-C と RLP-TG の本薬剤投与前後の変化には有意な差がみられた (Ⅱa型高脂血症では RLP-C は増加、RLP-TG は低下:  $p < 0.05$ 、Ⅱb型高脂血症では RLP-TG の低下率は RLP-C の低下率より大:  $p < 0.01$ )。こうしたことより、bezafibrate 投与にて RLP は粒子組成を変えながら血中から消褪してゆくことが窺われる。しかも、この成績は RLP がリポ蛋白リパーゼの substrate となり、RLP 粒子中の TG はリポ蛋白リパーゼによって水解され粒子から離脱してゆくことを示している。かつて、我々は *In vitro* の系で RLP と post-heparin plasma をともに孵置する実験にて RLP がリポ蛋白リパーゼの substrate になる成績を得ている。

EPA 投与による RLP の低下におい

ては、本薬剤投与前後での RLP-C の低下と RLP-TG の低下は同率であり、EPA 投与が血清 TG を低下するにも拘わらず、LDL-C、HDL-C には影響しないことから本薬剤投与による RLP-C の有意な低下 ( $p < 0.01$ ) はレムナントリポ蛋白の precursor である肝 VLDL の生成・分泌の低下によるものと考えられた。

#### E. 結論

Simvastatin、bezafibrate、EPA いずれの投与においても、RLP にて測定したレムナントリポ蛋白は有意な低下を示したが、それぞれ低下の機序は異なり、随伴する他のリポ蛋白の変化は異なるものであった。

#### F. 健康危険情報

これら3種の脂質低下薬投与に起因する副作用の発現は試験期間を通してみられなかった。

#### G. 研究発表ならびに索引

- 1) 多田紀夫: 高レムナントリポ蛋白血症. 日本臨床 2001; 59 (Supple 3): 112-118.
- 2) 多田紀夫、吉田 博、古谷伸之: スタチンの pleiotropic effects. Prog Med 2003; 23(1): 83-89.
- 3) 多田紀夫: PPAR と治療. 内科 2002; 89: 882-886.
- 4) 多田紀夫: 動脈硬化症をめぐる高脂血症治療のエビデンス (5)-EPA 薬剤. 内科診療 Q&A 37: 1010-1013, 2003.
- 5) 多田紀夫、石川俊次、望月恵子、阪本琢也、加々美明彦、永野 允: 高脂血症における Lipo Z -血清



脂質, アポ蛋白と Lipo Z の関連性  
について. Prog in Med 1990;  
10(3): 722-726.

- 6) Nakajima, K., Saito, T., Tamura, A., Suzuki, M., Nakano, T., Tada, N., et al.: Cholesterol in remnant-like lipoproteins in human serum using monoclonal anti apo B-100 and anti apo A-1 immunoaffinity mixed gels.. Clin Chem Acta 1993; 223: 53-71.
- 7) 多田紀夫: 動脈硬化危険因子 RLP-コレステロール. 医学検査 47 (10) 1528-1531, 1998.
- 8) Kugiyama K, Doi H, Motoyama T, Soejima H, Misumi K, Kawano H, et al.: Association of remnant lipoprotein levels with impairment of endothelium-dependent vasomotor function in human coronary arteries. Circulation 1998; 97: 2519-26.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
なし。
2. 実用新案登録  
なし。
3. その他  
特記すべきものなし。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

高レムナントリポ蛋白血症を伴う虚血性心疾患に対する脂質低下薬の  
前向き追跡ランダム化比較試験

分担研究者 田中 明 関東学院大学人間環境学部健康栄養学科 教授

研究要旨

【目的】脂肪負荷試験により、前向き追跡ランダム化比較試験で用いる抗高脂血症薬であるベザフィブラートおよびプラバスタチンの食後高脂血症に及ぼす影響を検討した。

【方法】同意の得られた高脂血症患者および虚血性心疾患患者 46 例を対象にして、食事療法あるいはベザフィブラートまたはプラバスタチンによる高脂血症治療を 3ヶ月間行い、その前後で脂肪負荷試験を行い、レムナントリポ蛋白値の変化を比較した。

【結果】ベザフィブラートは脂肪負荷後の高レムナントリポ蛋白血症を抑制したが、プラバスタチンは認めなかった。ベザフィブラートは食後高脂血症を低下させることが示唆された。

A. 研究目的

ヒトは 1日 3回の食事以外に頻繁に間食を摂取しており、1日のうち大部分は食後の状態にあると考えられる。したがって、高脂血症による動脈硬化のリスクを評価する場合には食後の高脂血症の評価が重要である。本研究は、脂肪負荷試験により、前向き追跡ランダム化比較試験で用いる抗高脂血症薬であるベザフィブラートおよびプラバスタチンの食後高脂血症に及ぼす影響を検討した。

B. 研究方法

対象は同意の得られた高脂血症患者および虚血性心疾患患者 46 例である。対象

者に対し、早朝空腹時にオフトクリーム 1 缶 (200g、脂肪 66g) を負荷し、負荷前、負荷 2 時間後、負荷 4 時間後に採血を行った。その後、主治医の判断で食事療法あるいはベザフィブラートまたはプラバスタチンによる高脂血症治療を 3ヶ月間行い、第 2 回目の脂肪負荷試験を実施し、治療前後の脂肪負荷試験時の脂質の変化を比較検討した。測定脂質はレムナントリポ蛋白コレステロール (RLP-C)、レムナントリポ蛋白トリグリセリド (RLP-TG)、LDL コレステロール (LDL-C)、HDL コレステロール (HDL-C)、トリグリセリド (TG) である。

#### (倫理面への配慮)

本研究の過程において個人名を特定されないようにコード化した。対象者には研究内容を説明の上同意を得た。

#### C. 研究結果

対象 46 例のうち、ベザフィブラート投与群 (平均年齢 57 歳、平均 BMI 25、男女比 16/0) 16 例、食事療法群 (平均年齢 61 歳、平均 BMI 24、男女比 12/1) 13 例、プラバスタチン投与群 (平均年齢 62 歳、平均 BMI 23、男女比 6/11) 17 例であった。各群の虚血性心疾患例はそれぞれ、5、7、7 例であった。

脂肪負荷により LDL-C、HDL-C はほとんど変化せず、TG、RLP-C、RLP-TG は著明な増加を示した。ベザフィブラート投与により TG、RLP-C、RLP-TG は負荷前後共に有意低下を認め、特に負荷後の低下が著明であった。プラバスタチン投与により LDL-C は負荷前後共に有意低下を認めた。HDL-C はベザフィブラートおよびプラバスタチン投与により負荷前後共に有意増加を認め、特にベザフィブラート投与で顕著であった。

#### D. 考察

本研究は前向き追跡ランダム化比較試験で用いる抗高脂血症薬であるベザフィブラートおよびプラバスタチンの食後高脂血症に及ぼす影響を脂肪負荷試験で検討したものである。

脂肪負荷により LDL-C、HDL-C はほとんど変化せず、TG、RLP-C、RLP-TG は著明な増加を示したことから、RLP および TG は

共に食後高脂血症の動脈硬化リスクの評価に有用と考えられる。しかし、動脈硬化リスクを LDL、HDL と同様にリポ蛋白レベルでみると食後高脂血症の指標としては RLP が選択される。

また、本研究の結果からベザフィブラートは脂肪負荷後の高 RLP 血症の低下に有効、プラバスタチンは高 LDL-C 血症の低下に有効であることが明らかになった。

#### E. 結論

本研究により、ベザフィブラートは脂肪負荷後の高レムナントリポ蛋白血症を抑制したが、プラバスタチンは認めなかった。ベザフィブラートは食後高脂血症を低下させることが示唆された。

#### F. 健康危険情報

食後には高レムナントリポ蛋白血症を生じる可能性があり、その場合には動脈硬化のリスクとなる。

#### G. 研究発表

##### 論文発表

- 1、Shichiri M, Tanaka A, Hirata Y: Intravenous gene therapy for familial hypercholesterolemia using ligand-facilitated transfer of a liposome: LDL receptor gene complex. *Gene Therapy* 10: 827-831, 2003
- 2、Ai M, Tanaka A: Insulin resistance, remnant lipoproteins and atherosclerosis. *Commentaries, IAS*, 2003
- 3、Haraguchi G, Kobayashi Y, Brown LB,

- Tanaka A, et al. : PPAR $\alpha$  and PPAR $\gamma$  Activators Suppress the Monocyte - Macrophage Apolipoprotein B48 Receptor. J Lipid Res 44 : 1224-1231, 2003
- 4、Kawakami A, Tanaka A, et al. : remnant lipoprotein - induced smooth muscle cell proliferation involves EG receptor trans-activation. Circulation 108 : 2679-2688, 2003
- 5、田中 明 : アポ B48 受容体、「高脂血症ナビゲーター」、山田信博、石橋俊、代田浩之、編、メデイカルレビュー社、東京 : 136-137, 2003
- 6、田中 明 : BECAIT、「高脂血症ナビゲーター」、山田信博、石橋俊、代田浩之、編、メデイカルレビュー社、東京 : 208-209, 2003
- 7、田中 明 : 高脂血症、治療、Annual Review 内分泌・代謝 : 107-111, 2003
- 8、田中 明 : 食後高脂血症をどう捉えるか、Diabetes Tomorrow 15 : 5-7, 2003
- 9、田中 明 : 糖尿病で見られる脂質代謝異常の特徴と治療法のコツ、「糖尿病診療のコツと落とし穴」河盛隆造 編、中山書店、p142-143, 2003
- 10、田中 明 : 糖尿病療養手帳活用のコツ、「糖尿病診療のコツと落とし穴」河盛隆造 編、中山書店、p204, 2003
- 11、田中 明 : 糖尿病の療養指導 Q&A、血中 CPR と尿中 CPR の測定、プラクティス 20 : 320-321, 2003
- 12、田中 明 : 栄養素・食品からみた生活習慣病、脂質、生活習慣病と食事療法、modern Physician 23 : 765-768, 2003
- 13、田中 明 : 鶏卵はコレステロールを増加するか？生活習慣病と食事療法、modern Physician 23 : 815, 2003
- 14、田中 明 : イカ、エビはコレステロールを増加するか？生活習慣病と食事療法、modern Physician 23 : 816, 2003
- 15、田中 明 : 高レムナント血症について教えてください。内科診療 Q&A、動脈硬化症 pp988-991, 2003
- 16、田中 明 : 質疑応答 Q&A、食後高脂血症の診断と TG 値、医事新報 No. 4160, 2004 年 1 月 17 日
- 17、田中 明 : 糖尿病におけるリポ蛋白代謝異常、「糖尿病と動脈硬化症」、糖尿病 46 (12) : 910-912, 2003
- 18、田中 明 : 高脂血症-治療、Annual Review 内分泌・代謝 : 131-135, 2004
- 19、田中 明 : 食後高脂血症と冠動脈疾患、高トリグリセリド血症と心血管病、循環器 55 (1) : 47-54, 2004 学会発表
- 1、田中 明 : メタボリック・シンドロームをどう捉えるか、イブニングセミナー、第 46 回日本糖尿病学会年次学術集会、2003 年 5 月 22-24、富山