

20030788

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

# 原発性高脂血症に関する調査研究

平成15年度総括・分担研究報告書

主任研究者 齋藤 康

平成16(2004)年3月

# 目 次

I. 総括研究報告		
原発性高脂血症に関する調査研究		----- 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遺伝子解析		----- 11
京都大学大学院医学研究科	北 徹	
2. 我が国における家族性複合型高脂血症の検討		----- 14
金沢大学大学院医学系研究科	馬淵 宏	
3. HDLに関する研究調査		----- 17
名古屋市立大学大学院	横山 信治	
4. 小児における家族性高コレステロール血症の診断基準の確立及び 小児におけるLDL粒子サイズの抑制因子の検討		----- 20
琉球大学医学部	太田 孝男	
5. 原発性高脂肪血症に関する調査研究—北海道における調査研究—		----- 22
北海道大学医学部附属病院	佐久間一郎	
6. 家族性高コレステロール血症モデル動物における食後高脂血症の意義に関する研究		----- 30
筑波大学臨床医学系	山田 信博	
7. 日本人に於けるメタボリックシンドロームに関する研究		----- 33
日本医科大学	及川 真一	
8. 日本人の脂質代謝異常の起因遺伝子のデータベースの作成 日本人の高脂血症起因遺伝子異常		----- 35
大阪大学大学院医学系研究科	山下 静也	
9. 高齢者における総合機能評価、潜在性臓器不全、 生命予後における高脂血症の寄与の検討		----- 43
名古屋大学大学院	林 登志雄	
10. 日本人における3型高脂血症(アポE2/2遺伝型)と糖尿病		----- 45
川崎医科大学	衛藤 雅昭	
11. 血管リモデリングに関する研究		----- 47
山口大学大学院医学研究科	松崎 益徳	
12. 低HDLコレステロール血症に関する研究		----- 51
国立熊本病院	小堀 祥三	
13. 日本人高コレステロール血症男性における冠動脈イベントと脳梗塞発症に 及ぼす危険因子の重なりに関する研究		----- 52
国際医療福祉大学大学院	佐々木 淳	
14. LDLコレステロール測定法の限界		----- 54
東邦大学付属佐倉病院	白井 厚治	
15. 一般住民における高脂血症起因遺伝子多型に関する研究		----- 58
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		----- 61
IV. 研究成果の刊行物・別冊		----- 71

# 1. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）  
総括研究報告書

原発性高脂血症に関する調査研究  
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 本研究班は、これまでの継続課題を基盤に以下の項目を主要課題とする。

1. 高脂血症の診断指針と病態解析におけるゲノム解析の有用性の検討
2. ハイリスク高脂血症の診断と病態および発症要因に関する研究
3. 小児高脂血症における FCHL および FH の診断法の確立
4. 動脈硬化発症における HDL に関する研究
5. 高脂血症に関する各種検査法の実態調査

これまでに当初の研究計画に沿って、各研究項目を遂行するためシステム構築のもとに、ゲノム解析では、前研究班から継続して行なわれた全国における高脂血症の遺伝子解析の現況についてまとめを終了した。同一地域からのゲノム解析は症例登録の計画予定数である 1000 名を終了し、症例観察項目のデータベース作成とゲノム解析のスクリーニングを進行中である。ハイリスク高脂血症調査では、メタボリックシンドロームの一般外来での調査システムを構築し引き続き実施解析となる。小児高脂血症の FH 診断基準に基づく実地調査が進行中である。HDL 調査は、LDL 低下療法との比較から医学的および医療経済的に有用性が解析された。検査法の実態調査は、LDL 直接測定法の客観的評価のための解析が進行中である。引き続き、各研究グループにおける分担課題のまとめとともに、各々の課題を統合した高脂血症および動脈硬化に関連する診断指針を作成し総括する。

分担研究者

北 徹（京都大学大学院教授）、山下静也（大阪大学大学院教授）、馬淵 宏（金沢大学大学院教授）、横山信治（名古屋市立大学大学院教授）、太田孝男（琉球大学教授）、佐々木淳（国際医療福祉大学教授）、及川真一（日本医科大学教授）、山田信博（筑波大学教授）、林登志雄（名古屋大学大学院講師）、白井厚治（東邦大学付属佐倉病院教授）、佐久間一郎（北海道大学医学部付属病院講師）、衛藤雅昭（川崎医大助教授）、松崎益徳（山口大学教授）、小堀祥三（国立熊本病院部長）、武城英明（千葉大学大学院教授）

A. 研究目的

近年、欧米に加え我が国における大規模臨床試験の結果から、動脈硬化予防における高脂血症の治療の意義

が確立された。今後、これらの蓄積された我が国における高脂血症に関わるエビデンスを個々の症例の診療に直結させるために、最新技術を用いた診断指針の確立と普及が必要である。

昭和 58 年より発足した本研究班は、垂井班、山本班、中村班により、主に原発性高脂血症の疾患別頻度の同定、診断基準の整備、治療法及び予後、とくに動脈硬化における意義の確立が行なわれた。引き続いて北班により今年度までに以下の成果を得た。（1）2000 年の日本人における高脂血症の発症頻度に関する調査研究（10 年毎に行なわれてきた実態調査の一環）。（2）複合型高脂血症の診断法の確立。（3）小児高脂血症の現状と病態の解析。（4）脂質代謝異常に関連する遺伝子異常の検出。

これらの成果は、我が国の原発性高脂血症の特異性ととも、食生活の欧米化にともなう欧米諸国と同レベルの動脈硬化のリスクファクターとしての高脂血症の位置付けを明らかにした。本研究班により20年間に蓄積した統一基準に基づく国民の血清脂質に関わる診断、病態と予後データに、現在急速に進展する新たな検査法の開発と遺伝子異常のデータを組み合わせることによりこれまでの基準を見直し統合的な診断指針を作成することは、これまでの研究実績を有する本研究班により唯一可能であるとともに、諸外国における成績と比較する我が国独自の調査成績を呈示することとなる。

以上の研究成果を踏まえて、これらのなかで継続が必要な事項を引き継ぐとともに、本研究班は以下の5課題を主要調査研究対象とする。

- 1) 高脂血症の診断指針と病態解析におけるゲノム解析の有用性の検討
- 2) ハイリスク高脂血症の診断と病態および発症要因に関する研究
- 3) 小児高脂血症におけるFCHLおよびFHの診断法の確立
- 4) 動脈硬化発症におけるHDLに関する研究
- 5) 高脂血症に関する各種検査法の実態調査

## B&C. 研究方法と結果

- 1) 高脂血症の診断指針と病態解析におけるゲノム解析の有用性の検討

本邦における原発性高脂血症の病態、とりわけ遺伝子解析の現状評価のため、日本人の原発性高脂血症及び関連疾患における遺伝子異常のデータベース作成を行なった。原発性高脂血症調査研究班（北班）で実施された全国レベルの症例調査の結果を基礎に、平成15年末までに学会・論文等で公表された遺伝子変異を調査蒐集し、遺伝子ごとに集計した。日本人原発性高脂血症及び関連疾患の原因遺伝子変異として、現在までに15遺伝子、195変異が報告されており、その多様性が改めて確認された。疾患別では、家族性高コレステロール血症における低比重リポ蛋白受容体遺伝子変異が、80種類以上と最も多く報告されていた。

1960年より10年ごとに行われている西暦2000年の日

本人の血清脂質調査の解析が進められた。約1万2千人の血清脂質調査のなかでインフォームドコンセントにより同意を得た2267名の遺伝子解析を行い、血清脂質との関連を解析した。CETP、LPL、HTGL 遺伝子変異はHDLコレステロールとの相関が、アポCIII、LPL 遺伝子多型とTG値及びレムナントコレステロール値との相関が示された。またホモシステイン代謝に関わるMTHFR 遺伝子多型は血中ホモシステイン値との相関が認められた。

動脈硬化発症に関する多様性の原因である重積遺伝子異常の差異について、一般住民を対象にゲノム解析を行い、単一ヌクレオチド多型SNPsによる動脈硬化促進因子を解明するために、昨年度に引き続き高脂血症を有する一般住民におけるゲノムワイドSNPsを解析した。今年度までに537検体、547SNPsの解析を終了した。R<sup>2</sup>>0.13を有するSNPsをスクリーニングした。その結果、統計学的有意なSNPsは、IMTと5種類、TCと17種類、LDL-Cと9種類、HDL-Cと11種類、TGと6種類、HbA1cと5種類、IRIと2種類が同定された。また昨年度同定した、Retinitis Pigmentosa 1 (RPI) N985Y、GSBS-1323C>T、glycosyl-PI phospholipase D1 V30Iに関して包括的な解析を行ない最終的に統計学的に有意であることを公表した。本研究成果により、一般住民において複数の遺伝子多型が高脂血症を起因する可能性を明らかにし、今後さらにその重積性を検討するためのゲノムワイドなSNPs解析の必要性を示した。

- 2) ハイリスク高脂血症の診断と病態および発症要因に関する研究

メタボリックシンドロームは危険因子が重積する病態として重要視されている。このような病態は独立した一疾患であるか否かの議論がなされず、診断基準が提唱されている。これらの基準が日本人にそのまま適応されることの是非が論じられなければならない。また、このような基準を考えるについては、メタボリックシンドロームが独立した一疾患としての検証を行うことが必要であり、検討する因子はいわゆる動脈硬化危険因子である。危険因子の重積は日本人においても重要な問題である。しかし、メタボリックシンドロームといったものは独立した疾患とは異なったもので概念的な呼称であり。今後、メタボリックシンドロームといった独立した疾患が存在するか否かなどを検証する必要がある。

家族性複合型高脂血症(FCHL)と診断された金沢大

学における68家系（発端者68例とその家族の計176例（M/F 94/82例））で血清脂質、リポ蛋白、アポ蛋白を測定し、千葉大学から報告されているFCHL 32例（M/F 18/14例）とその臨床像を比較した。金沢大学（以下同じ）のFCHL症例は、平均年齢は若く、TCは有意差なし、TGは低値、LDL-Cは高値。アポA-I低値（ $<0.05$ ）、アポA-II高値（ $<0.01$ ）、アポBは差がなかった。アポB/LDL-C $>1.0$ を満たす症例の頻度を比較すると、44%（千葉大学）22%（金沢大学）。またsmall dense LDLの頻度は73%（千葉大学）と報告されている。欧米の報告では、FCHLのリポ蛋白像としてもっとも本質的な所見としてアポBの高値とsmall dense LDLの存在、の2点があげられており、今後は、この点をふまえ、small dense LDLの頻度の検索を視野にいれたFCHLの病像の解析を行っていく予定である。

### 3) 小児高脂血症におけるFCHLおよびFHの診断法の確立

熊本市での幼児FHスクリーニング結果及び日本人学童の総コレステロール(TC)値からFHの診断基準(案)を作成した。

1. 血清総コレステロール値220 mg/dl以上でIIaまたはIIbの表現型を示す。2. 第1度近親者にFH確診例がみられる。3. LDL受容体の分析により受容体活性低下ないし異常が認められる。1, 2を満たした場合FHと診断する。3は努力目標とする。今後、この診断基準案の妥当性を全国アンケート調査で確認予定である。LDL粒子サイズに関しては586名の小児を対象に検討を行った。

小児FCHLの検討について、LDL粒子サイズの予測因子は男児ではHDL-C、血清インシュリンであり、女児ではBMI、HDL-C、アポA1であった。しかしながら、予測因子依存度は成人にくらべ小児では低かった(22.9%~28.1%)。Small dense LDLの割合は男児で10.8%、女児で4.4%であった。肥満児を除いた場合その頻度は6.1%及び2.1%にそれぞれ低下した。成人FCHLの診断基準に含まれているアポB/LDL-C比は小児ではLDL粒子サイズの予測因子としては使えないことが明らかになった。

### 4) 動脈硬化発症におけるHDLに関する研究

細胞脂質からHDLが新生する反応の律速遺伝子ABCA1とその近縁関連遺伝子の機能と反応機構を研究し、また我が国の低HDL血症の治療による心筋梗塞の予防効果のシミュレーションを試みた。その結果、1) ABCA1遺伝子は細胞内遊離コレステロールの増加により転写促進を受けるが、カルシウムチャネル阻害剤でもこれとは独立に転写促進を受ける、2) ABCA1は、HDL新生反応による細胞スフィンゴ脂質の取り出しが引き金を引くPKCの活性化を介したABCA1の磷酸化により、カルパインによる分解を阻害され安定化する、3) 低HDL血症を起こすABCA1の遺伝子変異にはその細胞内輸送に異常をもたらすものがあり、また近縁遺伝子によるABCA7の発現によりHDL新生が行われる。4) HDL増加はLDL低下よりも全般的な治療効率がよく、最終的な心筋梗塞の予防期待値はLDL低下が40%に止まるのに対し、65%の予防が期待された。

5) 高脂血症に関する各種検査法の実態調査

### 5) 高脂血症に関する各種検査法の実態調査

動脈硬化危険因子として、LDL-コレステロールの重要性が明らかにされている。我が国における動脈硬化学会による動脈硬化性疾患診療ガイドラインにおいてカテゴリー別にLDL-コレステロール治療目標値が設定され、日常臨床における測定の重要性が認識されている。LDL-C測定には、Friedewald式における計測に加え、直接法による測定が普及し、これらの標準化と有用性の検討が必要である。今回、同一脂質異常検体を、異なる直接法により測定した結果、各々、ばらつきのあることが明らかになった。今後、様々な検体を用いた測定結果を比較検討することにより検討をすすめる必要がある。

(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、インフォームドコンセント取得後、施行した。

## D. 考察

上記5項目に関する昨年度行なわれたシステム構築を基盤に、これらの主要項目に関する調査研究を実施した。

1. 全国におけるゲノム解析の有用性の調査：本研究班により従来行われてきた全国よりまとめられた原発性高脂血症の遺伝子解析の現況の最終結果は、日本動脈硬化学会誌 J. Atheroscler. Thromb. に印刷中であり公表予定である。

2. 高脂血症におけるSNPs解析を基盤とした動脈硬化発

症リスクの疫学調査：同一地区 1000 名の高脂血症患者の登録を終了した。SNPs 解析を進展させ、動脈硬化発症リスクと合わせて来年度ゲノムに関するデータベースの作成を行う。

3. メタボリックシンドロームの症例登録：メタボリックシンドロームの我が国における診断基準を作成のための頻度、病態調査を実施中であり、継続進展させデータベース作成を行なう。

4. 小児高脂血症の実態調査：全国主要機関における新たな小児 FH と FCHL 症例の診断法による病態の実態調査を継続する。

5. 新診断基準（北班）による FCHL の頻度、病態、動脈硬化性疾患の合併状況に関する実態調査：北班により作成された診断基準に基づいた FCHL 症例の頻度、病態、動脈硬化性疾患の合併状況について疫学調査を継続する。

6. 血清 HDL-C 値と動脈硬化発症の疫学調査：HDL 上昇の手段としての ABCA1 の発現・機能の増進は複数の手段によって可能であり、最終的な技術開発に向けてさらなる研究開発が必要である。これによる我が国に於ける心筋梗塞の予防は、最終的には LDL 低下療法に勝ると考えられる。

7. 高脂血症に関する各種検査法の実態調査：LDL 直接測定法の検査法の有用性の検討を進めている。各測定方法の問題点を踏まえた臨床的有用性を明らかにする。

## E. 結論

5つの主要課題について、各々の研究調査が実施された。我が国におけるゲノム解析調査のまとめは一部終了した。2000年の高脂血症調査は引き続き解析の一部が明らかになった。一般住民のSNPs解析は登録が終了し、ゲノム解析とともに統計学的処理が進展中である。ハイリスク高脂血症の調査研究は、メタボリックシンドロームの現況、FCHLの新診断基準による病態が明らかになった。HDLに関する調査では、HDL治療の医学的、医療経済学的有用性が明らかにされた。小児FH、FCHLの新たな診断基準案による病態調査が開始された。検査法に関しては、特にLDL直接測定の解析が進行している。これらの研究成果を基盤に、最終年度に我が国の最新の疫学計に基づいた新規の高脂血症診療の指針と実施法を確立する。

## 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. LR11, an LDL Receptor Gene Family Member, Is a Novel Regulator of Smooth Muscle Cell Migration. *Circ Res*. 2004; 94:752-8

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 ;172:181-7.

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;49:24-8.

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;228:1118-23.

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;46:1483-8.

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;48:447-50.

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 19;309:419-24.
- 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;48:305-8.
- 9: Gutekunst CA, Torre ER, Sheng Z, Yi H, Coleman SH, Riedel IB, Bujo H. Stigmoid bodies contain type I receptor proteins SorLA/LR11 and sortilin: new perspectives on their function. *J Histochem Cytochem.* 2003;51:841-52.
- 10: Ohtsuki T, Sakaguchi H, Eto M et al. IL-6 is a key factor in growth inhibition of human melanoma cells induced by pravastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor. *Int J Oncology* 23:763-768, 2003
- 11: Otsuki T, Sakaguchi H, Hatayama T, Fujii T, Tsujioka T, Sugihara T, Takata A, Hyodoh F, Eto M. Effects of an HMG-CoA reductase inhibition, simvastatin, on human melanoma cells. *Oncology Reports* (in press)
- 12: Matsuda M, Kawasaki F, Yamada K, Kanda Y, Saito M, Eto M, Matsuki M, Kaku K. Impact of adiposity and plasma adiponectins on diabetic angiopathies in Japanese type 2 diabetic subjects. *Diabetic Medicine* (in press)
- 13: Hamano M, Saito M, Eto M et al. Serum amyloid A (SAA), C-reactive protein (CRP) and remnant-like lipoprotein particles (RLP)-cholesterol in type 2 diabetic patients with coronary heart disease. *Ann Clin Biochem* (in press)
- 14: Saito M, Eto M, Nitta H, et al. Effect of apolipoprotein E4 allele on plasma LDL-cholesterol response to diet therapy in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* (in press)
- 15: Obana N, Takagi S, Kinouchi Y, Tokita Y, Sekikawa A, Takahashi S, Hiwatashi N, Oikawa S, Shimosegawa T: Telomere shortening of peripheral blood mononuclear cells in coronary disease patients with metabolic disorders. *Int Med* 42(2):150-153, 2003
- 16: Shirahata Y, Ohkohchi N, Kawagishi N, Syouji M, Tsukamoto S, Sekiguchi S, Koyamada N, Oikawa S, Satomi S: Living-donor liver transplantation for homozygous familial hypercholesterolemia from a donor with heterozygous hypercholesterolemia. *Transpl Int.* 16(4):276-9, 2003
- 17: Matsuzawa Y, Kita T, Mabuchi H, Matsuzaki M, Nakaya N, Oikawa S, Saito Y, Sasaki J, Shimamoto K, Itakura H, the J-LIT Study Group: Sustained reduction of serum cholesterol in low-dose 6-year simvastatin treatment with minimum side effects in 51,321 Japanese hypercholesterolemic patients—Implication of the J-LIT study, a large scale nationwide cohort study—*Circ J.* 67(4):287-294, 2003
- 18: Oak J-H, Nakagawa K, Oikawa S, Miyazawa T: Amadori-glycated phosphatidylethanolamine induces angiogenic differentiations in cultured human umbilical vein endothelial cells. *FEBS Letters* 555(2):419-423, 2003
- 19: Ikewaki K, Mabuchi H, Teramoto T, Yamada N, Oikawa S, Sasaki J, Takata K, Saito Y: Japan CETP Study Group: Association of cholesteryl ester transfer protein activity and TaqIB polymorphism with lipoprotein variations in Japanese subjects. *Metabolism* 52(12):1564-1570, 2003
- 20: Ikewaki K, Matsunaga A, Han H, Watanabe H, Endo A, Tohyama J, Kuno M, Mogi J, Sugimoto K, Tada N, Sasaki J, Mochizuki S. A novel two nucleotide deletion in the apolipoprotein A-I gene, apoA-I Shinbashi, associated with high density lipoprotein deficiency, corneal opacities, planar xanthomas, and premature coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2004 Jan;172(1):39-45.
- 21: Hoang A, Huang W, Sasaki J, Sviridov D. Natural mutations of apolipoprotein A-I impairing activation of lecithin:cholesterol acyltransferase. *Biophys Biochim Acta.* 1631(1): 72-76, 2003.



- 22: Sasaki J, Arakawa K, Iwashita M, Matsushita Y, Kono S: Kyushu Lipid Intervention Study (KLIS) Group. Reduction in serum total cholesterol and risks of coronary events and cerebral infarction in Japanese men: the Kyushu Lipid Intervention Study. *Circ J*. 2003 Jun;67(6):473-8.
- 23: Pravastatin use and risk of coronary events and cerebral infarction in Japanese men with moderate hypercholesterolemia: the Kyushu Lipid Intervention Study. *J Atheroscler Thromb*. 2000;7(2):110-21.
- 24: Sugawara T, Fujii S, Zaman AK, Goto D, Furumoto T, Imagawa S, Dong J, Sakuma I, Jesmin S, Togashi H, Yoshioka M, Koyama T, Kitabatake A: Coronary capillary network remodeling and hypofibrinolysis in aged obese diabetic rats: implications for increased myocardial vulnerability to ischemia. *Mol Cell Biochem* 248(1-2): 165-170, 2003
- 25: Jesmin S, Sakuma I, Hattori Y, Kitabatake A: Role of Angiotensin II in Altered Expression of Molecules Responsible for Coronary Matrix Remodeling in Insulin-Resistant Diabetic Rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23(11): 2021-2026, 2003
- 26: Kwang Kon Koh, Jeong Yeal Ahn, Seung Hwan Han, Dong Kyu Jin, MD, Hyung Sik Kim, Kyung Cheon Lee, Eak Kyun Shin, Ichiro Sakuma: Effects of Fenofibrate on Lipoproteins, Vasomotor Function, and Serological Markers of Inflammation, Plaque Stabilization, and Hemostasis. *Atherosclerosis*, in press 2004
- 27: 佐久間一郎、岸本憲明、石井 好二郎、小林 範子、千葉 仁志、北島 顕: 若年女性における“かくれ肥満”と血中脂質およびレプチン濃度. *日本未病システム学会雑誌* 9(2): 100-102, 2003
- 28: 北島 顕、佐久間一郎: 心筋梗塞予防の基本計画、一次、二次、三次の実際、ガイドライン: 一次予防のガイドライン. *総合臨床* 52(4): 1444-1451, 2003
- 29: 佐久間一郎、北島 顕: 心筋梗塞予防の基本計画、一次、二次、三次の実際、ライフスタイル: ホルモン補充療法. *総合臨床* 52(4): 1496-1503, 2003
- 30: 佐久間一郎: HDL-C 改善を視野に入れた冠動脈イベント予防戦略. *日本醫事新報* 4120: 1-4, 2003
- 31: 佐久間一郎: 今後望まれる脂質代謝異常の治療法～高コレステロールは治療すべきか?～. *札幌市内科医会会報* 10: 10-11, 2003
- 32: 佐久間一郎、北島 顕: 生活習慣病の中での高脂血症. *THE CIRCULATION FRONTIER* 7(2): 84-90, 2003
- 33: 佐久間一郎、北島 顕: ガイドラインからみた中性脂肪と HDL コレステロールの取り扱い方. *Modern Physician* 23(8): 1209-1212, 2003
- 34: 佐久間一郎、奎野浩司: 心血管イベント抑制における HDL の重要性: どう管理すべきか「意外と多い日本人の低 HDL-C 血症」. *Nikkei Medical* 2003 年 9 月号: 112-115, 2003
- 35: 佐久間一郎、北島 顕: 循環器学会の虚血性心疾患予防ガイドライン. *Phrama Medica* 21(9): 63-68, 2003
- 36: 佐久間一郎: small dense LDL—metabolic syndrome でみられる LDL 異常. *ACROSS* 3: 4-5, 2003
- 37: 佐久間一郎、北島 顕: 虚血性心疾患の 1 次予防ガイドライン. *Modern Physician* 23(12): 1309-1313, 2003
- 38: 佐久間一郎、北島 顕: 虚血性心疾患の一次予防ガイドライン. *からだの科学増刊*. 福井次矢編. 日本評論社、東京. pp122-126, 2003. 7. 25.
- 39: Maruyama T, et al. Prevalence and phenotypic spectrum of cholesteryl ester transfer protein gene mutations in Japanese hyperalphalipoproteinemia. *Atherosclerosis* 166: 177-185, 2003.
- 40: Maruyama T, et al. Mutations in Japanese subjects with primary hyperlipidemia: results from the Research Committee of the Ministry of Health and Welfare of Japan. *J Atheroscler Thromb*, in press
- 41: Sekiya M, Yahagi N, Matsuzaka T, Najima Y, Nakakuki M, Tomita S, Okazaki H, Tamura Y, Iizuka Y, Nagai R, Osuga J, Yamada N, and Shimano H. Polyunsaturated fatty acids decrease fat storage in livers of obese mice by SREBP-1 suppression. *Hepatology* 2003

- 42: Yoshikawa T, Ide T, Shimano H, Yahagi N, Amemiya-Kudo M, Matsuzaka T, Yatoh S, Kitamine T, Okazaki H, Tamura Y, Sekiya M, Takahashi A, Hastly AH, Sato R, Sone H, Osuga J, Ishibashi S, Yamada N. Cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and liver X receptor (LXR) in nutritional regulation of fatty acid metabolism. I. PPARs suppress sterol regulatory element binding protein-1c promoter through inhibition of LXR signaling. *Mol Endocrinol.* 2003 Jul;17(7):1240-54.
- 43: Ide T, Shimano H, Yoshikawa T, Yahagi N, Amemiya-Kudo M, Matsuzaka T, Nakakuki M, Yatoh S, Iizuka Y, Tomita S, Ohashi K, Takahashi A, Sone H, Gotoda T, Osuga J, Ishibashi S, Yamada N. Cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and liver X receptor (LXR) in nutritional regulation of fatty acid metabolism. II. LXRs suppress lipid degradation gene promoters through inhibition of PPAR signaling. *Mol Endocrinol.* 2003 Jul;17(7):1255-67.
- 44: Ohashi K, Osuga J, Tozawa R, Kitamine T, Yagyu H, Sekiya M, Tomita S, Okazaki H, Tamura Y, Yahagi N, Iizuka Y, Harada K, Gotoda T, Shimano H, Yamada N, Ishibashi S. Early embryonic lethality caused by targeted disruption of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase gene. *J Biol Chem.* 2003 Oct 31;278(44):42936-41.
- 45: Iida KT, Kawakami Y, Suzuki M, Shimano H, Toyoshima H, Sone H, Shimada K, Iwama Y, Watanabe Y, Mokuno H, Kamata K, Yamada N. Effect of thiazolidinediones and metformin on LDL oxidation and aortic endothelium relaxation in diabetic GK rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003 Jun;284(6):E1125-30.
- 46: Yahagi N, Shimano H, Matsuzaka T, Najima Y, Sekiya M, Nakagawa Y, Ide T, Tomita S, Okazaki H, Tamura Y, Iizuka Y, Ohashi K, Gotoda T, Nagai R, Kimura S, Ishibashi S, Osuga J, Yamada N. p53 Activation in adipocytes of obese mice. *J Biol Chem.* 2003 Jul 11;278(28):25395-400.
- 47: Sone H, Shimano H, Ebinuma H, Takahashi A, Yano Y, Iida KT, Suzuki H, Toyoshima H, Kawakami Y, Okuda Y, Noguchi Y, Ushizawa K, Saito K, Yamada N. Physiological changes in circulating mannose levels in normal, glucose-intolerant, and diabetic subjects. *Metabolism.* 2003 Aug;52(8):1019-27.
- 48: Yokoo T, Toyoshima H, Miura M, Wang Y, Tada Iida K, Suzuki H, Sone H, Shimano H, Gotoda T, Nishimori S, Tanaka K, Yamada N. p57Kip2 regulates actin dynamics by binding and translocating LIM-kinase 1 to the nucleus. *J Biol Chem.* 278 (52): 52919-52923
- 49: Yamamoto T, Shimano H, Nakagawa Y, Ide T, Yahagi N, Matsuzaka T, Nakakuki M, Takahashi A, Suzuki H, Sone H, Toyoshima H, Sato R, Yamada N. SREBP-1 interacts with HNF-4alpha and interferes with PGC-1 recruitment to suppress hepatic gluconeogenic genes. *J Biol Chem.* 2004 in press.
- 50: Matsuzaka T, Shimano H, Yahagi N, Amemiya-Kudo M, Okazaki H, Tamura Y, Iizuka Y, Ohashi K, Tomita S, Sekiya M, Hastly A, Sone H, Toyoshima H, Ishibashi S, Osuga J and Yamada N. Insulin-independent induction of SREBP-1c expression in the livers of streptozotocin-treated mice. *Diabetes* 2004 in press
- 51: T. Takahashi, K. Itai, N. Ishii, R. Goto, K. Higashi, S. Kobori: Inhibitory Effect of HMG-CoA Reductase Inhibitors for the Development and Progression of Intimal-medial Thickness in Carotid Artery in Type 2 Diabetes Mellitus with Hypercholesterolemia, JAT(submission)
- 52: S. Kobori T. Takahashi, K. Itai, N. Ishii, R. Goto, K. Higashi, : Effect of fenofibrate for serum hypo-high density lipoprotein-cholesterolemic subjects. JAT(submission)
- 53: 小堀祥三、高橋毅、東輝一朗、蛭原賢司、宮村信博、山田和範、後藤嘉樹、吉成元孝、平松真祐、東堂龍平、宮崎久義:糖尿病へのクリティカルパスの応用、医療マネジメント学会.4: 292-296、2003
- 54: Arashiro R, Katsuren K, Fukuyama S, Ohta T. Effect

- of Trp64Arg Mutation of the  $\beta$ 3-Adrenergic Receptor Gene and C161T Substitution of the Peroxisome Proliferator Activated Receptor  $\alpha$  Gene on Obesity in Japanese Children. *Pediatr Int*, 145:135-141, 2003
- 55: Katsuren K, Fukuyama S, Arashiro R, Takata K, Ohta T. Effects of a New Single-Nucleotide Polymorphism in the Acyl-CoA:Cholesterol Acyltransferase-2 Gene on Plasma Lipids and Apolipoproteins in Patients with Hyperlipidemia. *J Atheroscler Thromb*. 10:32-36, 2003.
- 56: Ohta T, Takata K, Katsuren K, Fukuyama S. The Influence of the Acyl-CoA:Cholesterol Acyltransferase-1 Gene (-77G/A) Polymorphisms on Plasma Lipid and Apolipoprotein Levels in Normolipidemic and Hyperlipidemic Subjects. *Biochim Biophys Acta* in press.
- 57: Lu H, Higashikata T, Inazu A, Nohara A, Yu W, Shimizu M, Mabuchi H. Association of estrogen receptor- $\alpha$  gene polymorphisms with coronary artery disease in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 22(5):817-823, 2002.
- 58: 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.
- 59: 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 AI (ABCA1) gene in Japanese patients with Tangier disease. *J Hum Genet*. 47(6):325-329, 2002.
- 60: 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.
- 61: 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;103(6):587-594.
- 62: 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;284(6):E1210-9.
- 63: Higashikata T, Mabuchi H. Long-term effect of low-density lipoprotein apheresis in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Therap Apher Dial*. 2003 ;7(4):402-7.
- 64: Lu H, Inazu A, Moriyama Y, Higashikata T, Kawashiri MA, Yu W, Huang Z, Okamura T, Mabuchi H. Haplotype analyses of cholesteryl ester transfer protein gene promoter: a clue to an unsolved mystery of TaqIB polymorphism. *J Mol Med*. 2003 ;81(4):246-55.
- 65: Asztalos BF, Horvath KV, Kojinami K, Nartsupha C, Cox CE, Batista M, Schaefer EJ, Inazu A, Mabuchi H. Apolipoprotein composition of HDL in cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J Lipid Res*. in press
- 66: Yagi K, Kobayashi J, Yasue S, Yamaguchi M, Shiobara S, Mabuchi H. Four unrelated cases with Takayasu arteritis and CD36 deficiency - possible link between these disorders- *J Internal Medicine* 2004 (in press)
- 67: Matsuzawa, Y., Kita, T., Mabuchi, H., Matsuzaki, M., Nakaya, N., Oikawa, S., Saito, Y., Sasaki, J., Shimamoto, K., Itakura, H., and the J-LIT Study Group. Sustained Reduction of Serum Cholesterol in Low-Dose 6-Year Simvastatin Treatment With Minimum Side Effects in 51, 321 Japanese Hypercholesterolemic Patients.- Implication of the J-LIT Study, a Large Scale Nationwide Cohort Study- *Circ. J*. 67: 287-294,

2003.

68: Tanaka, M., Matsubayashi, K., Yokode, M., Kita, T. Donepezil and athetosis in an elderly patient with Alzheimer's disease. *J. Am. Geriatr. Soc.* 51(6): 889-890, 2003.

69: 北 徹 II. 疾患の病因と病態 2. 粥状動脈硬化の分子機構 Annual Review 循環器 2003 1月発行:48-55 中外医学社 2003

70: 堀内久徳・北 徹 特集:高齢者高脂血症の治療 高脂血症 高齢者の高コレステロール血症の治療ガイドライン *Geriatric medicine (老年医学)* 2月号 Vol.41 No.2 ライフ・サイエンス 2003

71: 堀内久徳・北 徹 特集:高齢者の生活習慣病 高齢者の高コレステロール血症 *GERONTOLOGY NEW HORIZON (老年医学)* 7月号 Vol.15 No.3 メディカルレビュー社 2003

72: Hayashi T., Iguchi A, Ignarro LJ, Gene transfer of endothelial NO synthase (eNOS), but not eNOS plus inducible NOS regressed atherosclerosis in rabbits. *Cardiovascular Research* 2004 61 339-351

73: Hayashi T., Iguchi A et al. , A new HMG-CoA reductase inhibitor, Pitavastatin remarkably retards the progression of high cholesterol induced atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 2004 (in press)

74: Watanabe H, Hayashi T. Nitric oxide: inhibitory effects on endothelial cell calcium signaling, prostaglandin I<sub>2</sub> production and nitric oxide synthase expression. *Cardiovascular Research* 2004 (in press)

75: Arockia Rani P J, Hayashi T., Iguchi A, et al. Concomitant production of nitric oxide and superoxide in human macrophages. *Biochim Biophys Res Commun* 2003 310 367-370.

76: Hayashi T., Sumi D, Iguchi A et al. Sarpogrelate HCl, a selective 5-HT<sub>2A</sub> antagonist, retards the progression of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2003 168:23-31.

77: Sumi D, Hayashi T. et al. 17beta-estradiol inhibits NADPH oxidase activity through the regulation of p47phox mRNA and protein expression. *Biochim Biophys*

*Acta.* 2003;1640:113-118.

78: Tsunekawa T, Hayashi T., Iguchi A et al. Plasma adiponectin plays an important role in improving insulin resistance with glimepiride in elderly type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care.* 2003;26:285-289.

79: Pi J, Hayashi T., Yamamoto M, Kumagai Y. et al. A potential mechanism for the impairment of nitric oxide formation caused by prolonged oral exposure to arsenate in rabbits. *Free Radic Biol Med.* 2003 ;35:102-113.

80: Mariko Harada-Shiba, Atsuko Takagi Yoshihiro Miyamoto, Motoo Tsushima, Yasuyuki Ikeda, Shinji Yokoyama, and Akira Yamamoto. Clinical Features and Genetic Analysis of Autosomal Recessive Hypercholesterolemia. *J. Clin. Endocrin. and Met.* (2003) 88: 2541-2547.

81: Akitomo Goto, Kanna Sasai, Shogo Suzuki, Tatsuya Fukutomi, Shigenori Ito, Toyoaki Matsushita, Mitsuhiro Okamoto, Takahiko Suzuki, Makoto Itoh, Kuniko Okumura-Noji, and Shinji Yokoyama. Plasma Concentrations of LPL and LCAT are in Putative Association with Female Sex and Alcohol That are Independent Negative Risk Factors For Coronary Atherosclerosis in Japanese. *Clin. Chim. Acta* (2003) 329: 69-76

82: Arowu R. Tanaka, Sumiko Abe-Dohmae, Tomohiro Ohnishi, Ryo Aoki, Gaku Morinaga, Kei-ichiro Okuhira, Yuika Ikeda, Fumi Kano, Michinori Matsuo, Noriyuki Kioka, Teruo Amachi, Masayuki Murata, Shinji Yokoyama, and Kazumitsu Ueda. Effects of Mutations of ABCA1 in the First Extracellular Domain on Subcellular Trafficking and ATP binding/hydrolysis. *J. Biol. Chem.* (2003) 278: 8815-8819.

83: Yoshio Yamauchi, Michi Hayashi, Sumiko Abe-Dohmae, and Shinji Yokoyama. Apolipoprotein A-I Activates Protein Kinase Ca Signaling to Phosphorylate and Stabilize ATP Binding Cassette Transporter A1 for the High Density Lipoprotein Assembly. *J. Biol. Chem.* (2003) 278: 47890-47897.

84: Yuiko Ikeda, Sumiko Dohmae, Youichi Munehira, Ryo Aoki, Shinobu Kawamoto, Akiko Furuya, Kenya Shitara, Teruo Amachi, Noriyuki Kioka, Michinori Matsuo, Shinji Yokoyama, Kazumitsu Ueda. Post-translational regulation of human ABCA7 and its function for the apoA-I-mediated lipid release. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2003) 311: 313-318.

85: Sumiko Abe-Dohmae, Yuika Ikeda, Michinori Matsuo, Michi Hayashi, Kei-ichiro Okuhira, Kazumitsu Ueda, and Shinji Yokoyama. Human ABCA7 supports apolipoprotein-mediated release of cellular cholesterol and phospholipid to generate HDL. *J. Biol. Chem.* (2004) 279: 604-611.

86: Shogo Suzuki, Tomoko Nishimaki-Mogami, Norimasa Tamehiro, Kazuhide Inoue, Reijiro Arakawa, Sumiko Abe-Dohmae, Arowu R. Tanaka, Kazumitsu Ueda, and Shinji Yokoyama. Verapamil Increases the Apolipoprotein-Mediated Release of Cellular Cholesterol by Induction of ABCA1 Expression via an LXR-Independent Mechanism. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* (2004) 24: 519-525

87: Kanami Sugimoto, Maki Tsujita, Cheng-Ai Wu, Kazuo Suzuki, Shinji Yokoyama. Inhibitor of acylCoA: cholesterol acyltransferase increases expression of ATP-binding cassette transporter A1 and thereby enhances the apoA-I-mediated release of cholesterol from macrophages. *Biochim. Biophys. Acta* (2004) 1636: 69-76

88: Reijiro Arakawa, Michi Hayashi, Alan T. Remaley, Bryan H. Brewer, Yoshio Yamauchi and Shinji Yokoyama. Phosphorylation and Stabilization of ATP Binding Cassette Transporter A1 by Synthetic Amphiphilic Helical Peptides. *J. Biol. Chem.* (2004) 279: 6217-6220.

89: Kei-ichiro Okuhira, Maki Tsujita, Yoshio Yamauchi, Sumiko Abe-Dohmae, Koichi Kato, Tetsuro Handa, Shinji Yokoyama. Potential Involvement of Dissociated Apolipoprotein A-I in the ABCA1-Dependent Cellular Lipid Release by High Density Lipoprotein.

*J. Lipid Res.* (2004) in press.

90: Toyohiro Tada, Jin-ichi Ito, Michiyo Asai, and Shinji Yokoyama. Fibroblast growth factor 1 is produced prior to apolipoprotein E in the astrocytes after cryo-injury of mouse brain. *Neurochemistry International* (2004) in press.

## H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

## II. 分担研究報告

厚生科学研究費補助金（厚生省特定疾患調査研究事業）

（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）

### 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を行った。そのなかでインフォームドコンセントにより同意を得た 2267 名の遺伝子解析を行い、血清脂質との関連を解析した。CETP、LPL、HTGL 遺伝子変異は HDL コレステロールとの相関が、アポ CIII、LPL 遺伝子多型と TG 値及びレムナントコレステロール値との相関が示された。またホモシステイン代謝に関わる MTHFR 遺伝子多型は血中ホモシステイン値との相関が認められた。

### 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が、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。今回の調査においては併せて遺伝子解析を行ったので、その結果を報告する。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、及び治療に役立てる。

### B. 研究方法

全国 40 施設においてあらゆる年代にわたって

血清脂質のみならず、血糖、ヘモグロビン A1c、アポ E フェノタイプを測定した。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 サイトをインヴェー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、文書による同意を得たヒトに対して遺伝子解析を行った。

### 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%でホモ接合体は 1.3%であった。CETP 多型 Taq1B 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。これらの遺伝子多型の頻度はすでに報告されている頻度と比べ、大きな相違は認めなかった。

表1 各遺伝子多型の頻度

	Wt	hetero	homo
CETP 1452GA	99.5%	0.5%	0.0%
CETP D442	92.6%	7.3%	0.1%
LPL S447X	78.0%	20.7%	1.3%
	B1/B1	B1/B2	B2/B2
CETP Taq1B	35.8%	48.4%	15.8%
	C/C	C/T	T/T
HTGL 514CT	24.9%	50.4%	24.7%
MTHFR C667T	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が、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 遺伝子多型によるHDL-cへの影響

HDL-c			
CETP 1452GA	例数	平均値	有意差
Wt	1987	81.8	
hetero	12	59.5	p<0.01

CETP D442			
Wt	2	59.1	
hetero	137	67.4	p<0.01
homo	1860	70	
LPL S447X			
Wt	1512	59.1	
hetero	418	61.9	p<0.05
homo	25	63	
CETP Taq1B			
B1/B1	724	57.9	
B1/B2	965	59.5	p<0.01
B2/B2	310	64.2	p<0.01
HTGL 514CT			
C/C	490	57.7	
C/T	1020	59.1	p<0.01
T/T	489	62.8	p<0.01
MTHFR C667T			
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LPL S447X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TGが有意に高かった。レムナントコレステロールに関してもApoCIII SstI サイトに関してはTGと同様な傾向が認められたが、LPL S447X多型に関してはレムナントコレステロールにおいて有意差がなかった。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。

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 遺伝子多型によるTGへの影響

TG			
CETP 1452GA	例数	平均値	有意差
Wt	1987	119.6	
hetero	12	151.8	
CETP D442			
Wt	1860	121.1	
hetero	137	101.9	
homo	2	142	
LPL S447X			
Wt	1512	122.4	
hetero	418	110.3	p<0.05
homo	25	96	
CETP Taq1B			
B1/B1	724	120.3	
B1/B2	965	122.4	
B2/B2	310	110.6	
HTGL 514CT			
C/C	490	121	
C/T	1020	117.5	
T/T	489	123.3	
MTHFR C667T			
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

また、表4に示すように血中ホモシステイン値との関係においてはMTHFR C667T多型のT/Tを持つヒトにおいて有意に高値を示した。

表4 ホモシステインとMTHFR遺伝子多型

MTHFR C667T	例数	平均値	有意差
C/C	654	11.0	
C/T	964	11.6	
T/T	380	15.8	p<0.01

#### 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、ApoCIII 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

なし。

#### 1. 論文発表

1. Matsuzawa, Y., Kita, T., Mabuchi, H., Matsuzaki, M., Nakaya, N., Oikawa, S., Saito, Y., Sasaki, J., Shimamoto, K., Itakura, H., and the J-LIT Study Group Sustained Reduction of Serum Cholesterol in Low-Dose 6-Year Simvastatin Treatment With Minimum Side Effects in 51, 321 Japanese Hypercholesterolemic Patients.- Implication of the J-LIT Study, a Large Scale Nationwide Cohort Study- Circ. J. 67: 287-294, 2003.
2. Tanaka, M., Matsubayashi, K., Yokode, M., Kita, T. Donepezil and athetosis in an elderly patient with Alzheimer's disease. J. Am. Geriatr. Soc. 51(6): 889-890, 2003.
3. 北 徹 II. 疾患の病因と病態 2. 粥状動脈硬化の分子機構 Annual Review 循環器 2003 1月発行:48-55 中外医学社 2003
4. 堀内久徳・北 徹 特集:高齢者高脂血症の治療 高脂血症 高齢者の高コレステロール血症の治療ガイドライン Geriatric medicine (老年医学) 2月号 Vol.41 No.2 ライフ・サイエンス 2003
5. 堀内久徳・北 徹 特集:高齢者の生活習慣病 高齢者の高コレステロール血症 GERONTOLOGY NEW HORIZON(老年医学) 7月号 Vol.15 No.3 メディカルレビュー社 2003

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

なし。

厚生科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)分担研究報告書  
我が国における一家族性複合型高脂血症の検討

分担研究者 馬淵 宏 (金沢大学大学院医学系研究科血管分子遺伝学)

研究協力者 小林 淳二 (金沢大学大学院医学系研究科生活習慣病講座(石川県))

東方利徳, 川尻剛照, 野末 剛, 野原 淳 (金沢大学大学院医学系研究科血管分子遺伝学)

稲津明広 (金沢大学医学部保健学科)

### 研究要旨

家族性複合型高脂血症(FCHL)と診断された 68 家系 (発端者 68 例とその家族の計 176 例(M/F 94/82 例)) で血清脂質、リポ蛋白、アポ蛋白を測定し、千葉大学から報告されている FCHL 32 例(M/F 18/14 例)とその臨床像を比較した。金沢大学(以下同じ)の FCHL 症例は、平均年齢は若く、TC は有意差なし、TG は低値、LDL-C は高値。アポ A-I 低値(<0.05)、アポ A-II 高値(<0.01)、アポ B は差がなかった。アポ B/LDL-C>1.0 を満たす症例の頻度を比較すると、44%(千葉大学) 22%(金沢大学)。また small dense LDL の頻度は 73%(千葉大学)と報告されている。欧米の報告では、FCHL のリポ蛋白像としてもっとも本質的な所見としてアポ B の高値と small dense LDL の存在、の 2 点があげられており、今後は、この点をふまえ、small dense LDL の頻度の検索を視野にいれた FCHL の病像の解析を行っていく予定である。

### A. 研究目的

家族性複合型高脂血症 (Familial combined hyperlipidemia : FCHL) は、最も頻度の高い遺伝性高脂血症であり、高頻度に早発性冠動脈硬化症を合併する。いまだその成因として確定的なものはない。本邦では、千葉大学と金沢大学においてその病態の詳細な分析がなされてきた。そこで、本邦での FCHL の臨床像を明らかにする目的で 2 施設で報告された脂質、リポ蛋白プロファイルとその成因についての検討結果を比較する。

### B. 研究方法

対象は心血管系疾患および糖尿病等にて入院した高脂血症患者で家族調査・採血に同意が得られ、下記に示した基準により FCHL と診断された 68 家系 (発端者 68 例とその家族の計 176 例(M/F 94/82)) で、血清脂質を検討し、千葉大学から報告された FCHL 32 例 (M/F 18/14) とその臨床像を比較した。

FCHL 診断基準：①血清総コレステロール (TC) が 220 mg/dl 以上または/かつトリグリセライド (TG) が 150 mg/dl 以上で腱黄色腫のない原発性高脂血症で、②近親者 (両親、兄弟、子供) を含む家族内に本人も含めて 2 人以上の原発性高脂血症患者が存在し、少なくとも 1 人は II b 型高脂血症である。千葉大学から報告されている FCHL は原発性高脂血症調査研究班の旧診断基準に基づく。リポ蛋白リパーゼ (LPL) 遺伝子の検討では本邦において報告のある LPL 遺伝子多型および変異を PCR-RFLP 法にてスクリーニングし、LPL タンパク量および活性値におよぼす影響の検討を行った

(倫理面への配慮)

採血に際しては、患者に検査の目的を説明し、同意を文書にて得た上で行っている。

### C&D. 研究結果と考察

両施設でのFCHLの臨床像を比較した成績を表1に示す。金沢大学において、年齢は若く、TGが低く、LDL-Cは高値、TCは差がなかった。Apo 蛋白質ではApo A-IとEが低く、apo A-IIとC-IIは高かった。またApo Bは差がなかった。2001年に提唱された本邦でのFCHLの診断基準に照らし合わせ、アポB/LDL-C>1.0、small dense LDLを有する症例の頻度を比較すると、アポB/LDL-C>1.0を満たす症例の頻度は44%(千葉大学) 22%(金沢大学)。またsmall dense LDLの頻度は73%(千葉大学)と報告されている。欧米の報告では、FCHLのリポ蛋白像としてもっとも本質的な所見としてアポBの高値とsmall dense LDLの存在、の2点があげられている。特に後者は酸化を受けやすいことや、LDL受容体以外の経路でも代謝される可能性が指摘されている。以上の点をふまえて、今後当施設でもFCHLと診断された症例に対して、small dense LDLの存在を検討する方向も考える。

FCHL患者のリポ蛋白リパーゼ(LPL)遺伝子、活性、蛋白量の検討は以前報告済みなのでここではごく簡単に述べる。金沢大学での解析結果ではLPL447Ser→stopが見いだされたのみであり、本邦でのLPL欠損患者に報告されている他の変異はみられなかった。またFCHLでのLPL447Ser→stopの出現率は健常者での本変異の出現頻度と差はなかった。ただし、FCHL患者において本変異を有する症例はwild typeと比較し、LPL活性、タンパク量が低下していた。更に他のタイプの原発性高脂血症を比較すると、LPL447Ser→stop変異を有する場合、FCHLでLPL活性、蛋白量が低かった。

## E. 結論

当施設のFCHLはLDL-Cが高く、TGが低かった。またアポBは差がなかったが、アポB/LDL-C>1.0を満たす症例の頻度が低かった。2001年の高脂血症調査研究班のFCHLの診断基準の項目に照らし、今後、FCHLと診断された症例に対して、small dense LDL測定を視野に入れた検討も行っていく予定である。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 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-alpha 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;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;284(6):E1210-9.
- 7) Higashikata T, Mabuchi H. Long-term effect of low-density lipoprotein apheresis in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Therap Apher Dial.* 2003 ;7(4):402-7.
- 8) Lu H, Inazu A, Moriyama Y, Higashikata T, Kawashiri MA, Yu W, Huang Z, Okamura T, Mabuchi H. Haplotype

analyses of cholesteryl ester transfer protein gene promoter: a clue to an unsolved mystery of TaqIB polymorphism. *J Mol Med.* 2003 ;81(4):246-55.

9) Asztalos BF, Horvath KV, Kojinami K, Nartsupha C, Cox CE, Batista M, Schaefer EJ, Inazu A, Mabuchi H. Apolipoprotein composition of HDL in cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J Lipid Res.* in press

10) Yagi K, Kobayashi J, Yasue S, Yamaguchi M, Shiobara S, Mabuchi H. Four unrelated cases with Takayasu arteritis and CD36 deficiency - possible link between these disorders- *J Internal Medicine* 2004 (in press)

### 学会発表

1) Mabuchi H. Japan Atherosclerosis society(JAS) Guideline for diagnosis and treatment of atherosclerotic cardiovascular diseases. XIIIth International Symposium on Atherosclerosis, Kyoto, 2003

2) Noji Y, Inazu A, Higashikata T, Kawashiri M, Katsuda S. Two prevalent mutations in the ATP-binding cassette transporters ABC6 in Japanese patients with pseudoxanthoma elasticum. XIIIth International Symposium on Atherosclerosis, Kyoto, 2003

3) Mabuchi H, Higashikata T, Nohara A, Kawashiri M, Lu H, Yu W, Nozue T, Noji Y. Diagnosing hyperLDL cholesterolemia by cutting point separating affected and non-affected familial hypercholesterolemic patients validated by LDL-receptor gene mutants. XIIIth International Symposium on Atherosclerosis, Kyoto, 2003

4) Miwa K, Toudou Y, Kawashiri M, Higashikata T, Inazu A, Koizumi J, Mabuchi H. Influence of aging on serum cholesterol levels in heterozygous familial hypercholesterolemia patients with long-term LDL apheresis therapy. XIIIth International Symposium on Atherosclerosis, Kyoto, 2003

5) Higashikata T, Mia K, Kawashiri M, Katsuda S, Kataka M, Inazu A, Koizumi J, Mabuchi H. Long-term effects of

LDL-apheresis treatment and morphologic changes of coronary atherosclerotic lesions in two brothers of homozygous patients with familial hypercholesterolemia. XIIIth International Symposium on Atherosclerosis, Kyoto, 2003

6) Inazu A, Lu H, Moriyama Y, Mabuchi H. Diplotype analysis identified lower expression haplotype of cholesteryl ester transfer protein gene promoter: a clue to an unsolved mystery of Taq IB polymorphism. XIIIth International Symposium on Atherosclerosis, Kyoto, 2003

H. 知的財産権の出願、登録状況なし。

表 1 FCHL の臨床像の比較

	千葉大学	金沢大学	
年齢	60±8 歳	52±2.8 歳	(p<0.001)
BMI	24.9±3.3 kg/m <sup>2</sup>	24.3±2.8 kg/m <sup>2</sup>	(ns)
TC	230±31mg/dl	235±35mg/dl	(ns)
TG	255±131mg/dl	200±115mg/dl	(<0.05)
LDL-C	138±31mg/dl	160±38mg/dl	(<0.05)
HDL-C	46±12 mg/dl	44±14mg/dl	(ns)
Apo A-I	133±22 mg/dl	122±29 mg/dl	(<0.05)
Apo A-II	31±5.5 mg/dl	35±7.8 mg/dl	(<0.05)
Apo B	136±23 mg/dl	135±30 mg/dl	(ns)
Apo CII	5.7±2.2 mg/dl	6.7±2.9 mg/dl	(<0.05)
Apo CIII	14±4.9 mg/dl	14±5.5 mg/dl	(ns)
Apo E	6.5±2.1 mg/dl	5.7±1.8 mg/dl	(<0.05)