

## HDLに関する研究調査

分担研究者 横山信治 (名古屋市立大学大学院 教授)

### 研究要旨

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、カルシウムチャン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。

### A. 研究目的

末梢細胞はコレステロールを異化せず、細胞ステロール代謝平衡の維持には、細胞外に搬出されねばならない。動脈硬化巣の細胞に蓄積したコレステロールを減少させるためには、或いは蓄積を防ぐには、この細胞コレステロールの搬出システムに頼ることになる。コレステロールの自由拡散と並ぶこのための主要な機構が、アポリポ蛋白質と細胞のABCA1蛋白質によるHDLの新生反応である。ABCA1の機能不全は低HDL血症の主要な原因であることも明らかにされつつある。本研究の目的はこの反応の機序を解明し、反応の賦活化とそれによる低HDL血症の改善により動脈硬化症予防の手段とすることである。また、これにより我が国に於ける心筋梗塞がどれほど予防できるのかを試算した。

### B. 研究方法

1) 反応の細胞側の主要因子であるABCA1の活性の制御を、転写・翻訳レベルの面から検討した。2) 翻訳後代謝制御としてのABCA1の安定化における細胞内情報伝達機構の役割を検討した。3) 低HDL血症を起こすABCA1の変異体やABCA1以外の膜蛋白質によるHDL新生を検討した。4) 日本人のLDL、HDLの分布と国勢調査による人口、J-LITによる

LDL、HDL濃度に依存した5年間の心筋梗塞発症率から、それぞれの是正による治療効率と予防期待値を計算した。

### C&D. 研究結果と考察

#### 1) ABCA1 転写の促進

ABCA1は細胞内コレステロール量を検知して、その搬出のために転写レベルで発現増加が起こる。細胞内コレステロールエステル化酵素であるACATの阻害により細胞内で遊離コレステロールが相対的に上昇することからABCA1の発現増加が期待される。この仮説をACAT阻害剤MCC-147を用いて検証した。コレステロール負荷のないマウス腹腔マクロファージではACAT阻害による遊離コレステロール上昇は起こらず、ABCA1の転写にも蛋白質量にも変化はない。これに対し、コレステロール負荷状態ではACAT阻害により遊離コレステロールが上昇し、ABCA1の転写と蛋白質レベルの上昇がみられ、apoA-IによるHDL新生の増加も見られた(Biochim. Biophys. Acta (2004) 1636: 69-76)。臨床的に降圧剤として広く用いられているカルシウムチャンネル阻害剤によるHDLの

上昇が少なからず報告されている。この現象が ABCA1 の発現調節に関連するか否かを、マウスマクロファージ株細胞 RAW264 において cAMP により ABCA1 を誘導した系で検証した。Verapamil や他のカルシウムチャンネル阻害剤で apoA-I による HDL 新生が増大し、ABCA1 の転写と蛋白質の増加が認められたが、同じく LXR/RXR で活性化される ABCG1 では認められなかった。また ABCA1 のプロモータと LXR responsive element にたいするレポーターアッセイの結果から、Verapamil は LXR とは独立に ABCA1 の転写促進を行うことが示された (Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology (2004) 24: 519-525)。

## 2) ABCA1 の安定化と細胞内情報伝達機構

我々は ABCA1 が HDL を新生するヘリックス型アポリポ蛋白質に反応してカルパインによる分解に抵抗性となることを見いだした。この現象の機序を、細胞内情報伝達と ABCA1 の磷酸化の面から検討した。ApoA-I は細胞脂質から HDL を新生するとき sphingomyelin も引き出し、その補充反応は phosphatidylcholine の phospholipase C による分解で生ずる phosphorylcholine を利用し、この反応は同時に diglyceride を生成する。この diglyceride は PKC[alpha]を活性化し、さらに ABCA1 を磷酸化する (J. Biol. Chem. (2003) 278: 47890-47897)。これらの反応は、apoA-I のみならず他のヘリックス型アポリポ蛋白質やこの両親媒性の立体構造をまねて合成したペプチドでも起こり、ABCA1 の安定化は細胞からの磷脂質の引き出しと相関する (J. Biol. Chem. (2004) 279: 6217-6220.)。

## 3) ABCA1 変異体や ABCA1 以外の膜蛋白質による

### HDL 新生

低 HDL 血症の原因となる ABCA1 の変異体 R567W、Q597R 及び W590S による HDL 新生反応を検討した。前二者は翻訳後のマンノース付加に異常があり形質膜に到達できないが、W590S には細胞内輸送の異常も ATP 結合にも異常がなく、それ以外の機能不全が示唆された

(J. Biol. Chem. (2003) 278: 8815-8819)。ABCA1 と高い相同性を持つ ABCA7 は網内系細胞を中心に分布するが、その機能は不明である。この遺伝子を HEK293 細胞に発現させ、その HDL 新生機能を検証した。ABCA7 は ABCA1 と殆ど相似形の反応で apoA-I によるコレステロールに富んだ HDL の新生を媒介し、ABCA1 同様 apoA-I による安定化も起こる。しかし、cAMP や PMA による活性化などには ABCA1 との間で差がみられ、発現調節の機序は同じでないことが示唆された (Biochem. Biophys. Res. Commun. (2003) 311: 313-318; J. Biol. Chem. (2004) 279: 604-611)。

## 4) 我が国に於ける HDL 治療による心筋梗塞の予防効率の予測。

1990 年の本研究班による日本人の年齢別・性別の LDL、HDL の濃度分布と 1995 年の国勢調査による年齢・性別人口、及び J-LIT による性別の LDL、HDL 依存心筋梗塞発症率から、それぞれの低下・上昇による発症予防の NNT を計算し、治療効率のシミュレーションを試みた。結果は、LDL 低下による予防効率は目標が 160 mg/dL より高ければ HDL に勝るがそれ以下では急速に低下する。これに比べ、HDL 上昇による予防効率は目標値に関わらず一定であった。その結果、LDL 低下による心筋梗塞の最大達成率は 40%、HDL 上昇によるそれは 65% と試算された (論文投稿中)。

## E. 結論

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。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

当該年度内の発表論文

1. 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.
2. 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.
  3. 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.
  4. 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.
  5. 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.
  6. 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.
  7. 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
  8. 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
  9. 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.
  10. 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.
  11. 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.

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  
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 粒子サイズの制御因子の検討

分担研究者 太田 孝男 (琉球大学医学部 教授)

**研究要旨** 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)値から家族性高コレステロール血症(FH)の診断基準(案)を以下のように作成した。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。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比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。

## A. 研究目的

家族性高コレステロール血症 (FH) は、将来の虚血性心疾患発症危険度が非家族性高コレステロール血症に比べ、有意に高いことから早期発見及び治療が必要とされる。しかし、小児期に適応可能な診断基準は未だに確定されていない。今年度の研究では私達が熊本市で行ってきた FH のスクリーニング結果および日本大学小児科の岡田らによって報告された日本人学童の脂質値から FH の診断基準 (案) を確立することを目的とする。更に、昨年度から続けている、小児における家族性複合型高脂血症 (FCHL) の診断基準確立のため小児期の LDL 粒子サイズの予測因子についても検討を行った。

## B. 研究方法

FH の診断基準案の策定は、熊本市で私達が行っていた 1 歳 6 ヶ月健診時の FH スクリーニングの結果 (56181 名) 並びに最近日本大学小児科の岡田らによって発表された日本人学童の脂質データ (64278

名) を用いて行った。LDL 粒子サイズに関しては、586 名の学童を対象に LDL 粒子サイズの測定及び脂質・アポリポ蛋白、インスリン、血糖検査を行った。LDL 粒子サイズはマルチゲル-リポ (第一化学薬品株式会社) を用いて測定し、生化学的検査は SRL に依頼して行った。LDL 粒子サイズと各種血清パラメーター、身体計測値との関連も解析した。採血は早朝空腹時に行った。

(倫理面への配慮)

各種検査についての同意は保護者より得た後、採血を行った。

## C&D. 研究結果と考察

小児 FH の診断基準案は日常診療での採血機会に一般病院小児科医及び小児科開業医レベルで FH を診断できるように総コレステロール値で基準案を作成した。日本人学童の総コレステロール値 50%タイルは 160~170 mg/dl であり、95%タイルは 203~225 mg/dl であった。成人の高コレステロール血症の基準が 220 mg/dl であることも考慮し小児での要治療レベルも

220 mg/dl 以上にすることが岡田らにより提唱されている。また、私達が熊本市で行った FH のスクリーニングで発見された FH 患児 91 名の平均総コレステロール値 283 mg/dl であり、初診時に 220 mg/dl 以下の値を示していた児は 2 名であった。その 2 名の患児は 3 ヶ月後の再検査時には 260 mg/dl 以上の値を示した。以上のデータを参考にして以下のような FH 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。1. に関しては 3 ヶ月毎に 1~2 回検査し常にこの値を超えていることを確認する。最初のカットオフ値は低いほど FH の見逃しは少なくなるが、対象児の数も飛躍的に増えることから 220 mg/dl を診断基準に採用した。次年度の全国アンケート結果から微調整する予定にしている。

LDL 粒子サイズは男児で  $26.8 \pm 0.1$  nm、女児で  $27.1 \pm 0.1$  nm (mean  $\pm$  SEM)であり男児の平均サイズは有意に小さかった ( $p < 0.0001$ )。Small dense LDL (<25.5 nm)の割合は男児 10.8%、女児 4.4%であったが肥満児を除けば 6.1%及び 2.1%にそれぞれ低下した。LDL 粒子サイズに男女差を認めたため、以下の検討は全て男女別に行った。

1. 男児における LDL 粒子サイズと血清脂質・アポ蛋白及びその他のパラメーターとの相関

単相関では LDL サイズは HDL-C、アポ A1 と有意な正相関を示した ( $r = 0.279 \sim 0.399$ ,  $p < 0.0001$ )。また、TG、アポ B/LDL-C 比、血清インシュリン値、HOMA-R 及び BMI と有意な逆相関を示した ( $r = -148 \sim -362$ ,  $p < 0.05 \sim 0.0001$ )。ステップワイス回帰分析では HDL-C、血清インシュリン値のみが LDL サイズの独立した予測因子だった ( $r^2 = 0.210$ )。

2. 女児における LDL 粒子サイズと血清脂質・アポ蛋白及びその他のパラメーターとの相関

LDL サイズは HDL-C、アポ A1 と有意な正相関を示した ( $r = 0.300 \sim 0.416$ ,  $p < 0.0001$ )。また、空腹時血清インシュリン値、HOMA-R、BMI、グルコー

ス、アポ B/LDL-C 比、TG と有意な逆相関を示した ( $r = -0.179 \sim -0.446$ ,  $p < 0.01 \sim 0.0001$ )。ステップワイス回帰分析では BMI、HDL-C 及びアポ A-I が LDL サイズの独立した予測因子であった ( $r^2 = 0.281$ )。

成人でも LDL サイズに性差が認められているが、それは血清 TG 値が男性で高値であることが原因だと考えられている。小児では少なくとも血清 TG 値で説明することはできない。今年度の研究からは、小児でも耐糖能 (血清インシュリン値) が LDL サイズに影響を受けることが解ったが成人に比べ、その影響は小さかった。

## E. 結論

FH の診断基準案を作成したが、妥当性については全国レベルでの今後の検討が必要である。また昨年度と本年度の LDL サイズの検討から、小児の FCHL の診断基準にアポ B/LDL-C の導入には無理があるように思えた。今後、高脂血症患児の LDL サイズの検討を続け、FCHL の小児での診断基準の作成を試みる予定である。

## F. 健康危険情報

該当なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

・ 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

・ 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.

・ 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.

## H. 知的財産権の出願、登録状況

該当なし。

分担研究報告書

原発性高脂血症に関する調査研究—北海道における調査研究—

分担研究者 佐久間 一郎（北海道大学病院 講師）

**研究要旨** 近年、わが国でも冠動脈疾患（CHD）罹患率の増加が認められているが、CHD 発症に関与する因子としては、原発性高脂血症による高コレステロール（C）血症をはじめとして、高血圧症や喫煙などが独立した危険因子として確認されている。わが国の大規模臨床試験を基に検討されたデータは最近増加しつつあり、北海道においても、心筋梗塞発症への冠動脈危険因子の関与について 1999 年 10 月から 2001 年 12 月までのデータに基づく検討を、本研究班で昨年報告した。今回、同様の検討を 2003 年 6 月から 2003 年 11 月までのデータより行った。対象は、北海道大学病院循環器科および北海道内の同科関連病院に搬入された急性心筋梗塞（急性冠症候群）症例 368 例（男性 338 例、女性 130 例）、および対照群 876 例（男性 691 例、女性 185 例）である。対照群は社会保険北海道健康保健管理センターが所有する、同時期の北海道内全域の一般住民健康診断受診者データに乱数をふり、性別と年齢および地域をマッチングさせて抽出したデータを用いた。ロジスティック回帰分析により、心筋梗塞発症に対する各 CHD 危険因子の相対危険度を検討した。相対危険度は、男性では低 HDL-C 血症が odd ratio（オッズ比（OR）：8.34（95%信頼区間（CI）5.42～12.81、 $p<0.001$ ）、耐糖能異常 OR 5.38（95%CI 3.79～7.63、 $p<0.001$ ）、喫煙が有意となった。女性では、HDL-C OR 23.11（95%CI 4.75～112.47、 $p<0.001$ ）、および喫煙 OR 12.45（95%CI 4.40～35.23、 $p<0.001$ ）が有意であった。両性とも総 C 値および高 LDL-C 血症の OR は 1 未満の値で、有意とはならなかった。北海道では男女とも、心筋梗塞発症に関与する危険因子として、低 HDL-C 血症、耐糖能異常および喫煙が重要であることが示唆された。今後、特に低 HDL-C 血症を呈する患者の同定と治療に関する研究の必要性が確認された。

### A. 研究目的

近年、本邦においてはライフスタイルの欧米化による食生活の変化、さらに栄養摂取過多および運動不足が顕著となり、CHD 罹患率の増加が認められている。わが国における生活習慣の変化は、内臓脂肪蓄積、高血圧症、高脂血症（脂質異常症）、耐糖能異常を徴候とするいわゆる metabolic syndrome を惹起し、動脈硬化の進展を促進して CHD 発症に寄与していると考えられ

る。Metabolic syndrome の CHD 発症における重要性は、米国 National Cholesterol Education Program（NCEP）のガイドライン ATP III にも盛り込まれており、本邦でも日本循環器学会の虚血性心疾患の一次予防ガイドラインや日本動脈硬化学会の高脂血症診療指針で言及されている。また厚生労働省は、動脈硬化性疾患を予防し労働者の健康を保持する目的で、危険因子を多重して有する労働者を積極的に管理指導すること、すなわ

ち健康診断結果で高血圧症、高脂血症、耐糖能障害、肥満が重積した労働者を対象に二次健康診断を行っている。この二次健康診断では、労働者は栄養指導や運動療法などの特定保健指導受け、それらに対して2001年4月から労災保険給付が施されている。

今まで1999年の藤本らの報告により、日系アメリカ人を対象とした前向きコホート研究で、日本人のCHD発症に内臓脂肪蓄積を基盤とするmetabolic syndromeが重要であることが示されている。しかし本邦でmetabolic syndromeに注目した大規模臨床試験はまだ少なく、日本人の心筋梗塞発症に対するmetabolic syndromeの寄与はいまだに明確にはされていない。

北海道は日本の北端に位置し、漁業、農業なかでも酪農業が盛んであることから、気候や食事の内容などは本州と異なり、より北米や北欧に近い。このような地域的特長を有する北海道において、急性心筋梗塞発症への冠動脈危険因子の関与については、都市や農村の住民をコホートとした各地域ベースにおける検討がいくつかなされている。しかし、北海道全域にわたる検討はまだない。そこで本研究では、北海道において急性心筋梗塞発症に対する主要冠動脈疾患危険因子の関与を、metabolic syndromeに注目して検討した。また、今回のデータを1999年10月から2001年12月まで行われ、前回報告した同様のデータと対比し、最近の急性心筋梗塞発症状況の変化を解析した。

## B. 研究方法

### 1) 対象

対象は2003年6月から2003年11月の6ヶ月間に、初発の急性心筋梗塞（急性冠症候群）で北海道大学病院循環器内科および北海道内の同科関連病院に搬入となった症例である。そのなかで、80歳未満であり、冠動脈疾患危険因子8項目（肥満、高血圧症、喫煙、高C血症、高中性脂肪（TG）血症、低HDL-C血症、高LDL-C血症、耐糖能異常）の有無や値が全て判明していた468症例（男性338例、女性130例）を対象とした。一方、対照例として、社会保険北海道健康保健管理センターが有する、同時期に行われた北海道内全域での一般健康診断受診者に乱数をふり、性別・年齢

および地域をマッチさせて抽出した876例（男性691例、女性185例）のデータを利用した。

### 2) 方法

冠動脈危険因子の基準は、肥満：日本肥満学会のガイドラインに基づきbody mass index (BMI) 25.0以上の場合、高血圧症：既に高血圧症として治療をされていた症例、および症例群においては入院後、対照群においては健診時にWHO/ISH、JNC-IVの指針に従い、収縮期血圧140 mmHg以上、拡張期血圧90 mmHg以上のいずれか一方あるいは両方の基準を満たしている場合、高脂血症としては、日本動脈硬化学会の診断基準である早朝空腹時採血で、高C血症：総コレステロール220 mg/dl以上、高TG血症：TG 150 mg/dl以上、低HDL-C血症：HDL-C 40 mg/dl未満、高LDL-C血症：LDL-C 140 mg/dl以上とした。なお、LDL-CはFriedewaldの計算式より算出した数値を使用した。また、耐糖能異常は糖尿病の既往を有するか、症例群においては入院後、対照群においては健診時の空腹時血糖が日本糖尿病学会の診断基準である110 mg/dl以上である者とした。

症例群468例と対照群876例について、冠動脈危険因子として肥満、高血圧症、喫煙、高C血症、高TG血症、低HDL-C血症、高LDL-C血症、および耐糖能異常が、急性心筋梗塞発症におよぼす相対危険率を、SPSSを用いてロジスティック回帰分析により比較検討し、 $p < 0.05$ をもって統計学的に有意差ありと判定した。

### （倫理面への配慮）

データの保管、抽出、使用については、厚生労働省の科学研究に関する倫理規定に従った。

## C. 研究結果

1. 今回の急性心筋梗塞症例における冠動脈危険因子保有の状況（表1）

肥満はわが国の急性心筋梗塞患者ではそう著しくなく、特に男性では対照例と同様であった。高血圧症は症例群で明らかに高頻度であった。喫煙は男女ともに症例群で多かった。総Cは男女ともに症例群で有意に低値であり、それぞれ対照群より20mg/dl以上低かつ

表1. 今回および前回の検討における各数値

男性		今回	Case	Reference	Odds Ratio	95%CI	p value	前回	Case	Reference	Odds Ratio	95%CI	p value
	年齢	62.0±10.9	(n=338)	56.7±10.1	1.15	0.73-1.8	/	年齢	61.5 ± 10.6	56.4 ± 10.6	/	/	/
	BMI	24.6±3.1		24.0±3.2	1.43	0.95-2.14	n.s.	BMI	24.0 ± 3.3	24.0 ± 3.5	0.88	0.69-1.11	n.s.
	高血圧	47.1 (%)		32.6 (%)	3.1	2.13-4.52	p<0.001	高血圧	41.9 (%)	33.8 (%)	2.71	2.16-3.44	p<0.001
	喫煙	62.8 (%)		49.9 (%)	0.73	0.48-1.12	n.s.	喫煙	77.2 (%)	54.4 (%)	1.53	1.44-2.34	p<0.001
	TC	181.2±55.8		204.8±32.6	0.61	0.39-0.94	p<0.001	TC	182.5 ± 41.1	209.8 ± 35.4	0.45	0.35-0.67	p<0.001
	TG	124.6±112.3		126.6±91.5	8.34	5.42-12.81	n.s.	TG	118.7 ± 80.8	131.0 ± 88.9	0.59	0.45-0.78	p<0.001
	HDL-C	42.5±13.2		57.2±15.1	0.81	0.50-1.31	p<0.001	HDL-C	43.0 ± 14.2	54.6 ± 15.5	6.18	4.76-7.97	p<0.001
	LDL-C	119.5±41.0		122.4±31.8	5.38	3.79-7.63	n.s.	LDL-C	117.0 ± 37.8	129.0 ± 36.3	0.98	0.69-1.38	n.s.
	IGT	64.4 (%)		22.8 (%)			p<0.001	IGT	33.3 (%)	10.1 (%)	1.84	1.42-2.31	p<0.001
女性		今回	Case	Reference	Odds Ratio	95%CI	p value	前回	Case	Reference	Odds Ratio	95%CI	p value
	年齢	67.0±9.6	(n=130)	59.8±8.9	2.19	0.88-5.49	/	年齢	68.3 ± 8.1	57.4 ± 11.4	/	/	/
	BMI	25.1±4.6		23.0±3.4	0.87	0.34-2.23	n.s.	BMI	23.8 ± 3.7	23.1 ± 3.5	1.13	(0.69-1.87)	n.s.
	高血圧	40.98 (%)		34.59 (%)	12.45	4.40-35.23	p<0.001	高血圧	62.2 (%)	37.7 (%)	5.77	(3.51-9.48)	p<0.001
	喫煙	40.98 (%)		16.02 (%)	0.65	0.26-1.63	n.s.	喫煙	26.6 (%)	20.2 (%)	1.56	(0.91-2.67)	n.s.
	TC	196.5±49.0		221.8±34.0	2.98	0.86-10.33	n.s.	TC	193.2 ± 24.0	217.1 ± 37.0	0.28	(0.13-0.61)	p<0.001
	TG	122.6±110.2		90.6±45.0	23.11	4.75-112.47	p<0.001	TG	109.8 ± 63.0	96.7 ± 80.7	2.3	(1.11-4.77)	p<0.05
	HDL-C	46.0±12.7		67.4±15.4	0.39	0.14-1.08	n.s.	HDL-C	48.5 ± 15.9	61.5 ± 15.0	3.43	(1.70-6.92)	p<0.01
	LDL-C	127.7±43.7		136.3±32.3	24.97	10.05-35.23	p<0.001	LDL-C	122.8 ± 40.0	131.7 ± 36.3	1.37	0.64-2.94	n.s.
	IGT	69.3 (%)		11.4 (%)				IGT	44.7 (%)	4.4 (%)	2.42	(1.31-4.46)	p<0.05



た。TG は男性では両群とも同程度であったが、女性では症例群で約 30mg/dl 高かった。今回の検討で最も特徴的なものは、症例群で HDL-C が低いことであり、男性では対照群より 15mg/dl ほど低く、女性では 20mg/dl 以上低かった。LDL-C は男性では両群で同様、女性では 10mg/dl ほど症例群で低値であった。また、耐糖能異常の両群間の差は著しく、男性症例群で対照群の約 3 倍、女性症例群で 6 倍以上存在した。

## 2. 急性心筋梗塞発症に関する各冠動脈危険因子の相対危険率 (表 1)

肥満、高血圧症、喫煙、高 C 血症、高 TG 血症、低 HDL-C 血症、高 LDL-C 血症、および耐糖能異常の 8 項目につきロジスティック回帰分析を施行したところ、男性では低 HDL-C 血症が OR 8.34 (95%CI 5.42~12.81,  $p<0.001$ ) で有意となり、次いで耐糖能異常が OR 5.38 (95%CI 3.79~7.63,  $p<0.001$ )、喫煙が OR 3.10 (95%CI 2.13~4.52,  $p<0.001$ ) で有意となった。また、高 TG 血症は OR 0.61 (95%CI 0.39~0.94,  $p<0.001$ ) と有意に負の危険因子となった。他の危険因子では、肥満、高血圧症は有意とならず、また脂質では TC と LDL-C は有意ではなかった。

一方、女性では耐糖能異常が OR 24.97 (95%CI 10.05~35.23,  $p<0.001$ )、低 HDL-C 血症が CR 23.11 (95%CI 4.75~112.47,  $p<0.001$ ) と高く、次いで喫煙が OR 12.45 (95%CI 4.40~35.23,  $p<0.001$ ) となった。他は有意の値とはならなかった。

## 3. 4 年前と今回のデータの比較 (表 1)

4 年前のデータは今回よりデータ数が多いことから、95%CI のレンジも狭く、より有意差が出やすい状態と考えられるが、男女ともに低 HDL-C 血症が高い OR となったのは同様であった。また、4 年前は男女ともに高血圧の OR が高かったが、今回は有意とならず、一方耐糖能異常の OR と喫煙の OR がより最も高くなった。

## D. 考察

欧米で高 C 血症が虚血性心疾患の重要な危険因子であることは、Framingham Study や MRFIT をはじめとする多くの疫学研究で示されている。以前、わが国は IHD

発症率が欧米に比して少なく、また、総じて国民の血清総 C 値は低い国であった。しかし、わが国においても、沖縄スタディーや広島・長崎スタディーといった比較的大規模な前向きコホート研究で、高 C 血症が独立した IHD 発症の危険因子であることが報告されている。また、脂質代謝異常の IHD 発症に対する寄与について、わが国では 1987 年の原発性高脂血症調査研究班の報告で、総 C 値および LDL-C 値の増加に伴い、IHD の合併率が漸次増加することが示されている。

しかしその一方、秦らの報告などにより、わが国では IHD 発症例の血清総 C 値は必ずしも高くはなく、単純に高 C 血症が独立した危険因子とはならない場合もあるということが示されている。これらを説明し得る病態として metabolic syndrome という疾患概念が提唱された。

Metabolic syndrome は、Framingham Study をはじめとする疫学研究の結果から導き出され、1970 年代に発表されたものである。すなわち、IHD 危険因子には高血圧症、脂質代謝障害、耐糖能異常、喫煙、肥満など複数が存在し、個々のリスクが軽度であっても、その重複により IHD の発症リスクが増大するという概念である。これは本態性高血圧症を対象とした大規模臨床試験の結果から、高血圧を是正することにより脳血管疾患、心不全や腎不全の発症リスクは軽減されたが、IHD については疫学研究から予想されるほどのリスク軽減がみられなかったことに裏付けされている。Metabolic syndrome は 1987 年松澤らが提唱した visceral fat syndrome で示される内臓脂肪型肥満を主因とし、高 TG 血症、低 HDL-C 血症、高血圧症、耐糖能異常、高インスリン血症などが cluster として出現する病態であり、同様な病態を 1988 年に Reaven らが syndrome X、1990 年には Kaplan らが the deadly quartet、1991 年には De Fronzo らが insulin resistance syndrome と命名している。

今回の急性心筋梗塞発症例では、男女を問わず高 C 血症の OR は 1 未満となった。また、高 LDL-C 血症についても、男女とも OR は有意とはならなかった。一方、低 HDL-C 血症の OR は男女ともに高く、特に女性では非常に高い値となった。さらに、耐糖能異常の OR が非常

に高い値となった。本研究は心筋梗塞発症に関する症例対照研究であるが、従来言われていた高C血症や高LDL-C血症よりも、metabolic syndromeと心筋梗塞発症との間により密接な関係があることを示したといえる。また、同時に低HDL-C血症が心筋梗塞発症の独立した危険因子であることを、比較的小規模な対象数ではあるが、証明したものである。わが国では、大規模な調査研究ではないが、一般の集団においても低HDL-C血症が冠動脈疾患の独立した危険因子であることを、1994年に北村らが前向き研究で示している。また、わが国でスタチン（シンバスタチン）より治療されている症例を対象にして行われた大規模臨床試験J-LITでは、HDL-Cが低値となるに従い、IHD発症の相対危険度が増加することが認められている。

一方、今回の急性心筋梗塞発症例では、低C血症に低HDL-C血症を伴う、いわゆる isolated low HDL-Cが存在する症例が比較的多かった。この状態は、small dense LDLが増加した状態であるとも言われており、今後さらなる検討が必要と思われる。

前回（4年前）との対比では、高血圧症の関与の低下と耐糖能異常の寄与の増加が認められた。前者には、近年の高血圧治療の進歩により、たとえばアンジオテンシン変換酵素阻害薬やアンジオテンシン受容体拮抗薬を使用している場合、IHD発症が抑制された可能性が挙げられる。また、耐糖能異常のORの増加は、その罹患率の上昇と、IHDへの進展への関与が重要度を増したことを示すものと考えられる。

北海道は日本の最北端に位置し、その気候風土は北米や北欧と類似している。今回の検討により、北海道においては高C血症よりも、metabolic syndromeをはじめとする生活習慣に起因する他の危険因子の重積と心筋梗塞発症との関係が明らかとなった。北海道は冬が長く、冬期間に戸外で運動することが少なくなりがちであることから、その際糖尿病の悪化や肥満の進展が認められることが多い。このことが北海道におけるmetabolic syndromeと心筋梗塞発症との密接な関係の要因のひとつとなっている可能性がある。また、北海道は喫煙率が高いが、その影響も大きいことが明らかとなった。

今後の検討課題として、本邦において低HDL-CとIHD発症とに関する全国レベルでの前向きコホート研究や、低HDL-Cを呈する患者における遺伝子解析を用いた病因の検索が重要となろう。また、本研究でmetabolic syndromeやisolated low HDL-Cの心筋梗塞発症への関与が強く示唆されたことから、small dense LDLを代表とするリポ蛋白粒子のプロファイルと心筋梗塞発症の関係についても検討する必要があると考えられる。本研究の問題点としては、まず心筋梗塞急性期には総C値は低値を示すことがあり、HDL-C値についても入院後ある一定の期間安静臥床すると低下するとされている。従って本研究では、相対的に症例群でHDL-C血症が多く、高C血症が少なくなる傾向にあったことを考慮しなければならない。また、metabolic syndromeの主病態にはインスリン抵抗性および高インスリン血症が加えられているが、本研究では血漿インスリン値等が測定されておらず、同病態の存在の有無については検証されていない。加えて、臍周囲径を計測しておらず、内臓肥満と心筋梗塞発症との関係は解析できなかった。

## E. 結論

心筋梗塞は生活習慣および食習慣の欧米化に伴い、わが国でも増加傾向となっている。しかし、心筋梗塞発症に関し、わが国で各冠動脈危険因子の相対危険度を大規模の症例について検討したデータは少ない。本研究では、日本の最北端に位置する北海道において、急性心筋梗塞発症症例と健診を受診した対照を用いた症例対照研究を行った。その結果、心筋梗塞の発症には従来指摘されていた高C血症や高LDL-C血症ではなく、低HDL-C血症、耐糖能異常といった、いわゆるmetabolic syndromeの症候に含まれる危険因子の重積、さらにisolated low HDL-Cが重要であることが示された。以上より、今後原発性高脂血症のなかでも、低HDL-Cを呈する患者の遺伝子異常の同定に関する研究の重要性が確認されたといえる。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 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
2. 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
3. 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
4. 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
5. 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
6. 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
7. 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
8. 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
9. 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
10. 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
11. 佐久間一郎、空野浩司: 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
12. 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
13. 佐久間一郎: small dense LDL—metabolic syndrome でみられる LDL 異常. *ACROSS* 3: 4-5, 2003
14. 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
15. 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.

### 2. 論文発表

1. Noriaki Kishimoto, Ichiro Sakuma, Akira Kitabatake: Japanese Young Women With Normal Body Mass Index But Increased Body Fat, So-called Masked obesity, Have Increased LDL Cholesterol and Decreased HDL Cholesterol Levels. 2<sup>nd</sup> American Heart Association Asian Pacific Session, Honolulu, U.S.A. 2003. 6.9.
2. S. Jesmin, I. Sakuma, Y. Hattori, A. Kitabatake: Hypofibrinolysis and increased metalloproteinase expression associated with coronary vasculopathy in type 2 diabetes mellitus: primary role of angiotensin II type 1 receptor. 2003 Congress of the European

- Society of Cardiology, Vienna, Austria, 2003.9.2..
3. Subrina Jesmin: Role of Angiotensin II in Altered Expression of Molecules Responsible for Coronary Matrix Remodeling in Insulin-Resistant Diabetic Rats. Cardiomyopathy and Heart Failure 2003, Sapporo, Japan, 2003.10.18.
  4. Noriaki Kishimoto, Ichiro Sakuma, Hitoshi Chiba, Satoshi Nawate, Takamitsu Soma, Kazuhiko Nagai, Kojiro Ishii and Akira Kitabatake: Decreased Plasma Adiponectin Concentration and Deteriorated Lipid Metabolic Profile in Young Women With Normal Body Mass Index But Increased Body Fat, So-Called Masked Obesity. 2003 American Heart Association Scientific Sessions, Orlando, U.S.A., 2003.11.11.
  5. Subrina Jesmin, Yuichi Hattori, Ichiro Sakuma, Akira Kitabatake: Angiotensin II regulates expression of the molecules responsible for coronary matrix remodeling in insulin-resistant diabetic rats. International Society for Heart Research (ISHR) The 20th Annual Meeting of the Japanese Section, Tokyo, Japan, 2003.11.23.
  6. Subrina Jesmin, Ichiro Sakuma, Yuichi Hattori, Akira Kitabatake, Takashi Miyauchi: Endothelin-1-JNK Pathway is Upregulated in the Heart of Rats With Type 2 Diabetes at the Insulin-Resistant Stage-Potential Reversal by Calcium Channel Antagonism. 8th International Conference on Endothelin, Tsukuba, Japan, 2003.11.23-26
  7. Noriaki Kishimoto, Ichiro Sakuma, Naotsugu Oyama, Yasuaki Saijo, Kazushi Urasawa, Reiko Kishi, Akira Kitabatake: Low HDL-Cholesterol, Hypertension, Diabetes, But Not High LDL-Cholesterol As Predictors of Acute Coronary Syndrome in Northern Area of Japan: A Case-Control Study. The American College of Cardiology Annual Scientific Session 2004, New Orleans, U.S.A., 2004.3.7.
  8. 岸本憲明, 佐久間一郎, 千葉仁志, 川口秀明, 北島 顕: 高脂血症患者に対する陰イオン交換樹脂投与の LDL 粒子サイズへの影響. 第 100 回日本内科学会総会, 福岡, 2003.4.1.
  9. 佐久間一郎, Jesmin Subrina, 服部裕一, 北島 顕: Diminished penile expression of VEGF, its receptors Flk-1 and Flt-1, Akt, nNOS and eNOS, but not iNOS in a model of type 2DM: possible cause of erectile dysfunction in DM. 第 3 回日本 NO 学会学術集会, 熊本, 2003.5.30.
  10. 岸本憲明, 佐久間一郎, 大山尚貢, 浦澤一史, 小林 毅, 北島 顕: Metabolic syndrome as the most causative risk factor of acute myocardial infarction in the northern area of Japan. 第 51 回日本心臓病学会学術集会, 東京, 2003.9.9.
  11. 石井好二郎, 佐久間一郎, 千葉仁志, 小林範子: 青年女性における正常体重肥満者および低体重正常体脂肪者の身体的特徴. 第 24 回日本肥満学会, 千葉, 2003.11.14.
  12. 佐久間一郎, 岸本憲明, 北島 顕: フィブラートの各種薬剤・用量による脂質改善効果の比較. 第 24 回日本臨床薬理学会年会, 横浜, 2003.12.12.
  13. Noriaki Kishimoto, Ichiro Sakuma, Kojiro Ishii, Akira Kitabatake: Masked Obesity in Young Women Manifest With Deteriorated Metabolic Indices and They Are Reversed by Regular Exercise Practice. The 68<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Circulation Society. Tokyo, 2004.3.27.
  14. Noriaki Kishimoto, Ichiro Sakuma, Toshio Hayashi, Hatsuyo Kano, Taku Tsunekawa, Hitoshi Chiba, Satoshi Nawate, Takamitsu Soma, Kazuhiko Nagai, Akihisa Iguchi: Simvastatin Prevents Thrombotic Occlusion of Arterio-Venous Shunt in Dialysis Patients With Chronic Renal Failure And Improves

Endothelial Function Due to Its Pleiotropic Effects. The 68<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Circulation Society. Tokyo, 2004.3.27.

15. Subrina Jesmin, Ichiro Sakuma, Yuichi Hattori, Akira Kitabatake, Takashi Miyauchi: Endothelin-1 and its Signaling Pathway is Upregulated in a Type 2 Diabetic Rat Heart: Potential Reversal by Calcium Channel Antagonism. Effects. The 68<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Circulation Society. Tokyo, 2004.3.29.

16. Subrina Jesmin, Ichiro Sakuma, Yuichi Hattori, Akira Kitabatake: Reduced Activity and Expression of Matrix Metalloproteinase-2 and Membrane-Type-1-MMP in Coronary Matrix Remodeling in NIDDM Rat: Role of Angiotensin II. The 68<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Circulation Society. Tokyo, 2004.3.29.

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

特になし

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  
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

分担研究者 山田信博（筑波大学臨床医学系内科教授）

島野仁（筑波大学臨床医学系内科講師）

### 研究要旨

動脈硬化症との関連が注目される食後高脂血症のモデル動物の作製を試み、レムナントリポタンパクなど中性脂肪の質的異常を伴うタイプの高脂血症の病態解明と動脈硬化への影響の検討をおこなった。SREBP-1c トランスジェニックマウスに LDL 受容体を欠損したダブルミュータントマウスを作製し、肝臓での中性脂肪合成系の活性化と血中リポタンパクの停滞の病態を複合させたところ、食後のみ中性脂肪値や高レムナント血症が著明になるヒトの食後高脂血症の病態を再現することができた。このマウスは、対照群の LDL 受容体欠損マウスに比べ、普通食においても大動脈の起始部にアテロームが強く形成された。エネルギー代謝とレムナントリポタンパクの形成の関連を検討できるとともに、食後高脂血症やレムナントの動脈硬化惹起性のメカニズム解明のためのよいモデルになると期待される。

### A. 研究目的

動脈硬化性疾患の危険因子である高 LDL 血症は、スタチンによりその治療成績が向上している反面、メタボリックシンドロームや糖尿病に随伴することも多い食後高脂血症、レムナントリポタンパクなど中性脂肪の質的異常を伴うタイプの高脂血症が動脈硬化症のリスクとして注目されている。レムナント血症は、メタボリックシンドロームや糖尿病に随伴することも多く、その病態解明と治療方法の開発が臨まれる。我々は、エネルギー代謝異常を伴う病態が、いかに高脂血症や血中リスクの形成につながるかを、特に遺伝子転写調節異常に焦点をあてて、高脂血症の形成機序の解明を試みている。我々は以前、肥満、インスリン抵抗性のモデル動物であるレプチン欠損 ob/ob マウスに LDLR 欠損マウスを交配して作製したマウスが、著明な高脂血症ならびに動脈硬化症を形成することを示し、マルチプルリスクシンドロームのモデル動物として確立した。本年はこの一貫として栄養過多に応じて脂肪酸、中性脂肪の合成を転写レベルで活性化する転写因子 SREBP-1c の肝臓で作用とメタボリックシ

ンドローム、特にレムナントリポタンパクの形成への関与を食後高脂血症との関連で検討し、食後高脂血症モデル作製と動脈硬化症への関連の検討を目的としている。

### B. 研究方法

PEPCK プロモーター支配下の活性型 SREBP-1c トランスジェニックマウスと LDL 受容体欠損マウスを交配し、SREBP-1c トランスジェニック/LDL 受容体欠損ダブルミュータントマウス (C57Bl6 バックグラウンド) を作製、確立した。このマウスの空腹時、再摂食時の血中脂質、HPLC リポタンパクパターン、大動脈起始部の病理切片、オイルレッド O 染色を行い動脈硬化への影響を検討した。対照群は同胞の LDL 受容体欠損マウスとした。

本研究は、本学動物実験センターの倫理規定に基づいて施行しており、倫理面への問題はない。

### C&D. 研究結果と考察

SREBP-1c トランスジェニック・LDLR マウスダブ

ルミュータントマウスでは、LDLR 単独欠損動物に比べ血中 LDL コレステロールは同程度、食後のみ血中トリグリセリドが上昇、逆に血中 HDL コレステロールは低下した。HPLC によるリポタンパク分画は、VLDL から LDL ピークにかけてレムナント様のリポタンパクが食後のみ増加した。8 か月後の大動脈の動脈硬化症アテローム形成は、LDL 受容体ではごく軽度に限られたが、ダブルミュータントマウスでは、明確なアテローム巣の肥厚が認められた。

脂肪酸合成転写因子 SREBP-1c の肝臓過剰発現は中性脂肪合成に関わる合成酵素が誘導増加し、軽度の脂肪肝を呈するが、血中の中性脂肪は高くない。マウスの正常レベルの LPL 活性や LDL 受容体機能は、血中脂質の蓄積を起こさせないと推測される。しかし、LDL 受容体の欠損により、VLDL や IDL などのレムナントリポタンパクのクリアランスが低下した場合、食事由来のカロリーが SREBP-1c を介したトリグリセリド合成に変換され、食後高脂血症が惹起されると思われる。

マウスの場合 LDL 受容体が欠損して、高 LDL 血症になっても著明な動脈硬化症は自然発症しない。しかし本マウスでは、大動脈にアテロームが形成し、食後高脂血症や HDL の低下がそれに関与していると推測される。

#### E. 結論

新たなヒト家族性高コレステロール血症における食後高脂血症、レムナント血症のよいマウスモデルが作成された。またその病態の動脈硬化症への関連も示唆され、今後原発性高脂血症と動脈硬化研究のよいツールになることが期待される。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

Yamada N, Leptin and atherosclerosis  
Invited Lecture American Heart  
Association 76th Scientific Sessions 2003

Shimano H, Transcriptional regulation of

energy metabolism and atherosclerosis  
XIIIth International Symposium on  
Atherosclerosis Workshop 2003

Shimano H, Energy transcription factors  
and atherosclerosis XIIIth International  
Symposium on Atherosclerosis Satellite  
Symposium 2003

原著、

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 38/6 :1529-1539

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, Hasty 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.

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.

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.

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.

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.

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.

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

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.

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

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

### 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

分担研究者 及川眞一 (日本医科大学 教授)

#### 研究要旨

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ろう。

#### A. 研究目的

高コレステロール血症を呈する原発性高脂血症が動脈硬化性疾患に関与することは良く理解されている。一方、軽度の高 TG 血症や低 HDL-C 血症の存在が耐糖能障害や軽症高血圧・内臓肥満などと同時に認められる病態が存在し、このような病態もまた動脈硬化性疾患に強く関与する。このような病態はシンドローム X といった呼称から始まり、最近ではメタボリックシンドロームといった概念でまとめられている。このような病態に対する判定基準が世界保健機構(WHO)や National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP-ATPIII)から提唱されている。しかし、これらの基準値を日本人にそのまま当てはめることはできない。そこで、日本人におけるメタボリックシンドロームにあてはまる病態を検証し、日本における基準の設定を検討する。

#### B. 研究方法

これまで原発性高脂血症調査研究班で検討されてきた疫学研究の中で登録されている症例を対象として身長と体重から算出される BMI ウエスト周囲径・血圧・血清脂質(TC、TG、HDL-C)・血糖値などを用い、これらの集積が

動脈硬化性疾患の発症に関与することを検討する。

#### C&D. 研究結果と考察

検討する因子はいわゆる動脈硬化危険因子である。これらの重積は動脈硬化性疾患を増加させると考えられる。このような結果は欧米と同様と考えられる。したがって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、概念的な呼称である。このようなことから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ことが必要となる。

#### E. 結論

日本人でも危険因子の集積が重要であることが考えられる。このような観点から、メタボリックシンドロームの基準を考慮することは重要である。しかし、独立した疾患であるか否かの検討が必要である。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 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

2. 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

3. 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

4. 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

5. 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

## 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

### 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

分担研究者 山下 静也（大阪大学医学系研究科分子制御内科学）

研究協力者 丸山 貴生（大阪大学医学系研究科分子制御内科学）

#### 研究要旨

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試みた。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。家族性複合型高脂血症は頻度的には高いと推定され、診断・治療法の確立が急務であるが、単一遺伝子異常はいまだ同定されておらず、本疾患の分子機構の解明が重要な課題と考えられた。

#### A. 研究目的

高脂血症は近年著しく増加している虚血性心疾患などの動脈硬化性疾患の基盤をなし、その病態の分子レベルでの解明と治療法の確立は緊急の課題である。なかでも、遺伝性かつ難治性である原発性高脂血症には、リポ蛋白代謝に関与する様々な分子異常に起因する疾患が含まれている。平成8年度から10年度までの厚生省特定疾患・原発性高脂血症調査研究班（班長：京都大学・北徹教授）では、本邦における原発性高脂血症の実態調査、とりわけ遺伝子解析の現状評価のため、症例調査票を用いた全国調査を行い、結果を集計し報告した<sup>(1,2,3)</sup>。今回は、3年間の症例調査結果を基礎として、文献的検索を行い、データをupdateし、平成15年現在の日本人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目的として検討を行った。

#### B. 研究方法

図1に示す症例調査票を、日本動脈硬化学会評議員の所属施設及び関連施設に送付し、平成10年までに返送された調査票に基

づき、疾患別の集計を行った。調査の対象疾患は、原発性の脂質代謝異常症として、種々の脂質代謝関連分子の異常を対象とした。具体的には、アポ蛋白としてアポA-I、A-II、A-IV、B、C-II、C-III、E、酵素転送蛋白として lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT)、lipoprotein lipase (LPL)、hepatic lipase (HL)、cholesterol ester transfer protein (CETP)、microsomal triglyceride transfer protein (MTP)及び低比重リポ蛋白(LDL)受容体を対象とした。この中には、高脂血症ではなく低脂血症を生じる分子異常も含まれるが、合わせて検討した。調査票では、臨床診断・動脈硬化性疾患などの合併症の有無・血清脂質及び、測定していれば各酵素・転送蛋白の活性、さらに、もし判明していれば原因遺伝子異常も合わせて調査した。さらに、データのupdateのため、遺伝子異常については、平成15年までの日本動脈硬化学会など国内学会での発表および内外の論文で公表された遺伝子変異についても、各学会誌の調査、MedLine や医学中央雑誌の検索など、可能な範囲で調査蒐集し、極力、遺漏がないようにつとめ、結果を遺伝子ごとに集計した。

（倫理面への配慮）

本研究はすでに学会・論文等で公表された遺伝子変異の集計・データベース化を目的としたものであり、患者個人からの直接のインフォームドコンセントは得ていない。

## C. 研究結果

### 1. 症例調査票に基づく症例登録

平成 10 年までに調査研究班に登録された症例は合計 111 症例であり、疾患別登録数では、FH が最も多く、以下アポ E 異常・欠損症、CETP 欠損症、LPL 欠損症、アポ A-I 異常・欠損症の順であった<sup>(9)</sup>。この調査票をもとに文献的検索を加え、遺伝子異常のデータベースを作成した。

### 2. 主としてコレステロール代謝異常を惹起する疾患の遺伝子異常

表 1 に、これまでに日本人で報告された家族性高コレステロール血症(FH)における LDL 受容体遺伝子変異の一覧を示す。LDL 受容体遺伝子変異の報告数は 80 以上に達し、今回の対象疾患中最多であった。変異は LDL 受容体遺伝子全 18 exon の全体に亘り報告され、変異様式も大きな欠失・挿入から点変異まできわめて多彩であった。この中で、いわゆる common mutation については、大阪地区、金沢地区、千葉地区でそれぞれ検討され報告されており<sup>(2,15)</sup>、exon 7 の C317S 変異<sup>(6)</sup>、exon 14 の P664L 変異<sup>(7)</sup>、exon 17 の K790X 変異<sup>(1)</sup>などが common とされているが、後述の CETP の如き高頻度の変異はなく、最も common な変異でも全体の数%で、FH の遺伝子診断の困難さを思わせる結果であった。

なお、LDL 受容体のリガンドであるアポ B の異常を基盤とし、FH 様の病態を呈する家族性欠陥アポ B-100 (FDB)は、欧米では比較的高頻度とされるものの<sup>(6)</sup>、日本人では 200 例以上の FH 症例での検討で一例も発見されなかったとの報告があり<sup>(9)</sup>、その後の調査でも依然として報告例はない。

最近、Autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH)が新たな疾患概念として報告されており、日本人においても ARH 遺伝子変異の報告例がある<sup>(10)</sup>。

一方、家族性複合型高脂血症(FCHL)は、頻度的には原発性高脂血症の中では最も多いと推測されるものであるが<sup>(9)</sup>、確たる原因遺伝子が同定されていない現状であり、今回の調査では、垂井班時代の診断基準に基づき<sup>(11)</sup>、症例調査票による家系登録の集計のみを行った<sup>(9)</sup>。

一方、アポ B の異常による低コレステロール血症としては、アポ B の truncation による家族性低βリポ蛋白血症 familial hypobetalipoproteinemia が知られている。日本人においても、表 2

に示すように 3 種類の変異が報告されており、いずれもアポ B の truncation をきたす変異であった。

また、無βリポ蛋白血症 abetalipoproteinemia についても、日本人での MTP 遺伝子異常が報告されている(表 3)。

### 3. 主として中性脂肪代謝異常を惹起する疾患の遺伝子異常

表 5 には高 TG 血症、高カイロミクロン血症を呈する LPL 欠損症の遺伝子変異のまとめを示す。25 種類もの遺伝子変異が報告されており、中でも LPL-Arita<sup>(12)</sup>と S447X 変異<sup>(13)</sup>が比較的 common な変異として報告されている。

一方、表 6 には LPL の補酵素であるアポ C-II 欠損症の遺伝子異常を示す。日本人においては、これまで 3 種類の遺伝子異常が報告されている。

また、表 7 に示すように、日本人における肝性リパーゼの遺伝子異常の報告例も認められる<sup>(14)</sup>。

表 8 には、これまでに日本人で報告されたアポ E の遺伝子異常を示す。III 型高脂血症の遺伝素因であるアポ E2/2 以外に、比較的高頻度とされるアポ E5、E7、dominant で III 型高脂血症を呈する遺伝子変異、など多彩な遺伝子異常が報告されている。また、リポ蛋白糸球体症(LPG)が及川らにより明らかにされ、新たな疾患として注目されているが<sup>(15)</sup>、原因であるアポ E 遺伝子異常も Sendai、Kyoto など、報告例が増えつつあり、LPG においても原因遺伝子変異の多様性が明らかとなりつつある。

### 4. 高比重リポ蛋白(HDL)代謝異常を惹起する疾患の遺伝子異常

原発性の高 HDL コレステロール血症の代表は CETP 欠損症であるが、表 8 に示すように日本人でも遺伝子異常の報告例が増えてきている。中でも common な変異として、intron 14 の+1G/A 変異<sup>(16)</sup>と、exon 15 の D442G ミスセンス変異が知られている<sup>(17)</sup>。この 2 種の変異で大部分の CETP 欠損症が説明できると報告されており<sup>(18)</sup>、CETP 欠損症は遺伝子診断の可能性が考慮できる数少ない疾患のひとつと考えられる。

一方、原発性の低 HDL コレステロール血症には、LCAT 欠損症、アポ A-I 欠損症、家族性 HDL 欠損症や Tangier 病などにみられる ABCA1 異常など、様々な分子異常が含まれる。表 9 には、日本人の LCAT 欠損症で報告された遺伝子異常をまとめたが、これまでのところ、common mutation といえる変異は報告されていない。一部は、魚眼病症例で同定された変異も含まれる。

次に、アポ A-I 異常症は、福岡大学を中心として解析が行われており、表 10 に示すように、A-I variant、A-I 欠損症とも多数の遺伝子異常が報告されている。