

論文発表

Maruyama T, Yamashita S, Matsuzawa Y, et al: Mutations in Japanese subjects with primary hyperlipidemia: Results from the Research Committee of the Ministry of Health and Welfare of Japan since 1996. *J Atheroscler Thromb* 11:131-145, 2004.

Nagano M, Yamashita S, Hirano K, et al.: Molecular mechanisms of cholesteryl ester transfer protein deficiency in Japanese. *J Atheroscler Thromb* 11:110-121, 2004.

Nagano M, Yamashita S, Hirano K, et al: Molecular mechanisms of cholesteryl ester transfer protein deficiency in Japanese. *J Atheroscler Thromb* 11:110-121, 2004.

Bujo H, Takanashi K, Saito Y, et al.: Clinical features of familial hypercholesterolemia in Japan in a database from 1996-1998 by the Research Committee of the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. *J Atheroscler Thromb* 11:146-151, 2004.

Okazaki M, Usui S, Yamashita S: Measurement of serum lipoprotein subclasses by an HPLC method. *Lipoproteins and Vascular Diseases Division Newsletter "The Fats of Life"* (Published by the American Association for Clinical Chemistry) 18:64-68, 2004

Chan DC, Watts GF, Ng TW, Yamashita S, et al: Adiponectin and other adipocytokines as predictors of markers of triglyceride-rich lipoprotein metabolism. *Clin Chem* 51:578-585, 2005.

Okazaki M, Usui S, Ishigami M, et al: Identification of unique lipoprotein subclasses for visceral obesity by component analysis of cholesterol profile in high-performance liquid chromatography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, in press.

Yamashita S, Kuwasako T, Janabi M, et al: Physiological and pathological roles of a multi-ligand receptor CD36 in atherogenesis; Insights from CD36-deficient patients. *Mol Cell Biochem*, in press.

Nakagawa-Toyama Y, Hirano K, Tsujii, K, et al: Human scavenger receptor class B type I is expressed with cell-specific fashion in both initial and terminal site of reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*, in press.

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

メタボリックシンドロームにおける sdLDL 出現の頻度

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)

川尻剛照 (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) 野原 淳、小泉順二 (金沢大学総合診療部)

研究要旨

メタボリックシンドローム(MtS)は一般人口に占める頻度が高く、米国では NCEP-ATPIII の基準に従って診断し一般人口に占める頻度を求めると、年齢と共に増加し、60 代では男女とも 40%以上を占める。比較としてこれに準じた基準で、石川県で成人病検診の受診者での MtS の頻度を算出すると 40 代の男性で約 20%程度、女性はその半数以下であった。MtS の脂質代謝異常の特徴は高 TG 血症、低 HDL 血症であるが、sdLDL の出現など、LDL の質的変化が推測される。本研究では、sdLDL の評価として従来より提唱されている apoB/LDL-C 1 以上、またはポリアクリルアミド電気泳動(PAGE)による LDL の移動度がどの程度 HDL 方向に偏位しているかを示す指標である RM 値を用いて sdLDL の存在を判定した。ヘテロ型家族性高コレステロール血症(FH)患者 4 名を対照とした。

A. 研究目的

メタボリックシンドローム(MtS)は一般人口に占める頻度が高く、米国では NCEP-ATPIII の基準に従うと年齢と共に増加し、60 代では男女とも 40%以上を占める。

本邦でも 40 代以降増加し、特に男性では 20~30%を占める。海外での 12 年に及ぶ前向き研究、本邦での 5 年に及ぶ前向き研究から、MtS は nonMtS と比較し、心血管イベントの頻度が数倍高いことが明らかにされている。そのリポ蛋白プロファイルの一つの特徴として低 HDL 血症と共に高 TG 血症が挙げられる。一方、高 TG 血症は sdLDL の出現と密接に関連することが知られている。SdLDL は一般の LDL と比較し、容易に酸化され易いこと、また動脈壁の内皮下に侵入し易いことから、動脈硬化を極めて来し易いことが報告されている。

以上の背景から、MtS と診断した症例の sdLDL 出現の頻度を明らかにする。

B. 研究方法

NCEP-ATPIII の基準に準じて診断した 21 例(男/女 18:3)の MtS 例と 4 例(男/女 1:3)のヘテロ型家族性高コレステロール血症(FH)例を対象とした。MtS の診断は 1 BMI 25kg/m² 以上、2 血圧 130/85 mmHg 以上、3 TG 150mg/dl 以上、4 HDL-C 40 未満 5 空腹時血糖 110mg/dl 以上の 3 項目以上を満たすものとした。FH の診断は腱黄色腫を伴う高コレステロール血症患者とした。SdLDL を判定する方法として、apoB/LDL-C \geq 1.0 を満たすこと、あるいは、PAGE での VLDL から LDL の距離を VLDL から HDL の距離で除したものを relative migration (RM)値としてこれが 0.4 以上の場合 sdLDL 陽性と判定した。2 群間の差は

Mann-Whitney 法にて判定し 0.05 未満を統計的有意と判定した。

(倫理面への配慮)
特に該当しない。

C&D. 研究結果と考察

平成 15 年度、石川県での成人病検診を受けた者の中 13971 名(男性 3835 名、女性 10136 名)で MtS の頻度を算出すると 40 代の男性で約 20%程度、女性はその半数以下であった。また、男性では 30 代から 40 代にかけて著明に増加するが 40 代以降はあまり頻度的に変化がなかった。一方女性では、45 歳以降 70 代まで増加しつづけ 70 代前半には男性の頻度の 70%近くになる。また、各コンポーネント別の出現率を比較すると男女とも血圧異常の頻度が高く、対照的に低 HDL-C 血症の出現頻度は特に女性で低い(未発表データ)。つぎに金大付属病院受診中の外来患者を対象として MtS 患者における sdLDL についての検討を行った。sdLDL の存在を推定するための apoB/LDL-C 値と RM 値を測定し、MtS 群と FH 群で比較した。MtS 群は年齢 55 ± 16 歳(以下、平均±標準偏差)、BMI 25 ± 2.7 kg/m²、TC 226 ± 41 mg/dl、TG 246 ± 111 mg/dl、HDL-C 44 ± 11 mg/dl、LDL-C 133 ± 41 mg/dl、アポ B 値は 120 ± 21 mg/dl。一方、FH 群は年齢 44 ± 22 歳、BMI 21 ± 2.2 kg/m²、TC 373 ± 107 mg/dl、TG 76 ± 19 mg/dl、HDL-C 58 ± 19 mg/dl、LDL-C 299 ± 104 mg/dl、アポ B 値は 176 ± 46 mg/dl。RM 値は MtS 群において FH 群より有意に高値 [0.38 ± 0.047 vs. 0.31 ± 0.029 p=0.017]。また apoB /LDL-C も MtS 群において FH 群より有意に高値 [0.89 ± 0.17 vs. 0.60 ± 0.06 p=0.0046]であった。また、RM 値 ≥ 0.4 で sdLDL 陽性と判定した者の割合は MtS 群で 48%、FH 群で 0%であった。比較のために apo B/LDL-C ≥ 1.0 の割合は MtS 群で 23%、FH 群で 0%であった。

E. 結論

MS 患者では LDL 粒子の質的異常が出現する率が高く、これが動脈硬化症の発症、進展に一部関与することが推測された。一方、対照としたヘテロ FH 患者では、

このような所見はみられなかった。

また、sdLDL を評価する方法として、apoB/LDL-C ≥ 1.0 の基準の方が RM 値 ≥ 0.4 基準と比較し、感受性が低い可能性が推測された。

今後の課題としては、まず、メタボリックシンドロームの診断として、ウェスト 85cm 以上(男性)、90cm 以上(女性)を必須項目とする正式な基準を用いての検討、ならびに、今回のように sdLDL を定性するのみならず、定量する方法などとの結果の整合性に関する検討が必要と思われる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Mabuchi H, Higashikata T, Nohara A, Lu H, Yu WX, Nozue T, Noji Y, Katsuda S, Kawashiri MA, Inazu A, Kobayashi J, Koizumi J. Cutoff Point Separating Affected and Unaffected Familial Hypercholesterolemic Patients Validated by LDL-receptor Gene Mutants.

J Atheroscler Thromb. 2005;12(1):35-40.

2) Todo Y, Kobayashi J, Higashikata T, Kawashiri M, Nohara A, Inazu A, Koizumi J, Mabuchi H. Detailed analysis of serum lipids and lipoproteins from Japanese type III hyperlipoproteinemia with apolipoprotein E2/2 phenotype. Clin Chim Acta. 2004 Oct;348(1-2):35-40.

3) Kobayashi J, Sasaki T, Watanabe M. The relationship of abdominal fat mass assessed by helical or conventional computed tomography to serum leptin concentration. J Atheroscler Thromb. 2004;11(3):173-9.

4) Murase Y, Asano A, Kobayashi J, Yamaaki N, Mabuchi H. Impact of adiposity on carotid atherosclerosis in Japanese males with metabolic syndrome. J Intern Med. 2005 Mar;257(3):311-2.

5) Liang H, Yagi K, Asano A, Kobayashi J, Mabuchi H. Association between CTLA-4 +49 A/G Polymorphism and Type 1B Diabetes in Japanese Population.

Endocrine. 2004 Nov;25(2):105-10.

6) Shimizu M, Ino H, Yasuda T, Fujino N, Uchiyama K, Mabuchi T, Konno T, Kaneda T, Fujita T, Masuta E, Katoh M, Funada A, Mabuchi H. Gene mutations in adult Japanese patients with dilated cardiomyopathy.

Circ J. 2005 Feb;69(2):150-3.

7) Inoue M, Shimizu M, Ino H, Yamaguchi M, Terai H, Fujino N, Sakata K, Funada A, Tatami R, Ishise S, Kanaya H, Mabuchi H. Differentiation between patients with takotsubo cardiomyopathy and those with anterior acute myocardial infarction. Circ J. 2005 Jan;69(1):89-94.

8) Mabuchi H, Haba T, Tatami R, Miyamoto S, Sakai Y, Wakasugi T, Watanabe A, Koizumi J, Takeda R. Effects of an inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase on serum lipoproteins and ubiquinone-10 levels in patients with familial hypercholesterolemia. 1981. Atheroscler Suppl. 2004 Oct;5(3):51-5.

9) Mabuchi H.

Penicillin for hypercholesterolemia.

Atheroscler Suppl. 2004 Oct;5(3):23.

10) Kobayashi J.

Pre-heparin lipoprotein lipase mass.

J Atheroscler Thromb. 2004;11(1):1-5.

11) 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 Intern Med. 2004 Jun;255(6):688-9.

12) Murase Y, Yagi K, Kobayashi J, Nohara A, Asano A, Koizumi K, and Mabuchi H.

Association of coronary artery ectasia with plasma insulin levels in Japanese men of heterozygous familial hypercholesterolemia with the low-density lipoprotein receptor gene mutation K790X. Clin Chim Acta

(in press)

H. 知的財産権の出願、登録状況

該当しない。

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 IIb 型高脂血症の特徴

分担研究者 太田 孝男 (琉球大学医学部 教授)

研究要旨 昨年度作成した家族性高コレステロール血症(FH)の診断基準(案)の妥当性を調べるため、FH 小児の全国調査を行った。全国 115 カ所の小児内分泌学会評議員所属医療施設にフォロー中 FH 患児の初診時脂質レベルについてアンケート調査を行った。その結果、フォロー中の患児総数は 206 名(ホモ 3 名、ヘテロ 203 名)であった。FH 診断基準(案)で採用した総コレステロール 220mg/dl 以下の患児は 1 名認められたが、3 ヶ月後の値は 220mg/dl 以上に上昇しており、結果として診断基準案で 100%の患児を発見可能であることが明確になった。また家族性複合型高脂血症(FCHL)の小児での診断基準作成のために、学童の IIb 型高脂血症について検討した。その結果 IIb 型では成人と同様に LDL 粒子サイズは小さく apoB/LDL-C 比もやや高値を示した。しかし、両パラメーターともに学童では肥満の影響を強く受けるため、FCHL の診断では肥満の影響を除外する必要性が強く示唆された。ちなみに成人 FCHL の診断基準を用いた学童での FCHL 頻度は非肥満では 0.36%、肥満では 6.75%であった。

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昨年度作成した小児期 FH 診断基準(案)の妥当性を全国調査を行い確立することを目的とする。更に、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 IIb 型高脂血症の特徴について学童を中心に検討を行った。

B. 研究方法

昨年度作成した FH 診断基準案は「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(3 ヶ月毎に 1-2 回再検査を行い常にこの値を超えていることを確認する)。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。」であっ

た。本年度は全国 115 カ所の小児内分泌学会評議員所属の医療施設にフォロー中の FH 患児の初診時の脂質レベルについてアンケート調査を行った。

IIb 型学童については、沖縄県で私たちが行っている小児生活習慣病検診受診児(939 名)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、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

FH アンケートでは 115 施設のうち 32 施設から回答を得た。FH 総数は 206 名でありホモ型が 3 名、ヘテロ型が 203 名であった。ホモ 3 名の初診時年齢は 2 歳、2 歳、13 歳であり、総コレステロール(TC)は 1000、861、1088

mg/dl であった。ヘテロ患児 203 名のなかで、幼児期に 128 名(平均年齢は 2 歳)が診断され、学童期に 71 名(平均年齢 11 歳)、高校時代に 4 名(平均年齢 18 歳)が診断されていた。幼児期、学童期、その他の TC 値は 290 ± 47 、 303 ± 51 、 316 ± 68 mg/dl (mean \pm SD)であった。LDL-C はそれぞれ、 220 ± 48 、 228 ± 52 、 246 ± 67 mg/dl であった。アポ B は 136 ± 25 、 147 ± 28 、 141 ± 40 mg/dl であった。成人と比較してやや低い傾向にあったが、有意差は認められなかった。FH 診断基準案での TC のカットオフ値は 220 mg/dl に設定していたが、1 名で初診時の TC がこの値以下(190mg/dl)であった。しかし、この子の場合兄弟が FH であったためにフォローしていたが、3 ヶ月後の検査では TC 値は 250 mg/dl まで上昇していた。結果として昨年度作成した、FH 診断基準で見落とす FH 児はいなかった。ただ、現在日本人学童の TC95%値は 220mg/dl であり、かなりの疑陽性児が見つかることが予想される。アポ B や LDL-C 値でのスクリーニングも可能ではあるが一般小児科医がスクリーニングを行うことや費用の面からも TC でスクリーニングする方がベターであると思われる。

FCHL との関連で小児期の IIb 型高脂血症の検討を行った。939 名の学童の血清脂質およびインスリン、血糖、LDL 粒子サイズを測定した。その結果 251 名が高脂血症を呈していた[IIa 型 154 名(16.4%)、IIb 型 32 名(3.4%)、IV 型 65 名(6.9%)]。IIb および IV 型では LDL 粒子サイズは IIa や正脂血症に比較して有意差をもって小さくなっていた。その他、BMI、インスリン、HOMA-R も有意に IIb および IV 型で高値を示した。次に、肥満の影響を考え、肥満児と非肥満児で同様な検討を行った。非肥満学童(554 名)では IIa、IIb、IV 型の頻度はそれぞれ 12.6%、0.7%、3.4%であった。IIIb 及び IV 型患児では LDL 粒子サイズは小型化していた。血糖、インスリン、HOMA-R については有意差は認めなかったが高い傾向にあった。肥満学童(385 名)では IIa、IIb、IV 型の頻度はそれぞれ 21.8%、7.2%、11.9%であり、非肥満児に比べると IIa、IIb、IV 型ともに増加していた。IIb、IV 型では非肥満児と同様に LDL 粒子サイズは小型化し、インスリン、HOMA-R ともに有意な高値を示した。FCHL 成人の新診断基準に当てはめてみると、FCHL の頻度は非肥満学童では 0.36%、

肥満学童では 6.75%であった。以上から、FCHL の新診断基準は肥満の影響を強く受けるため、肥満が FCHL に伴うものか否かについての検討が診断の際に重要になるであろう。ただ、非肥満学童でも有意差はないが IIb、IV 型の児は BMI、インスリン、HOMA-R が高い傾向にあることから、小児の IIb、IV 型高脂血症では何らかの脂肪及び糖代謝に問題があるのかもしれない。今後の更なる検討が必要である。

E. 結論

昨年度に作成した小児での FH の診断基準が有用であることが本年度の研究から明らかになった。FH の頻度から推測すると 15 歳までに限っても 3 万人 FH 患児がいるはずであり、将来の虚血性心疾患発症防止のためにもこの診断基準を普及させいく必要がある。FCHL の診断に関しては、小児でも成人でも肥満の影響を考慮していくことが FCHL の病態把握のために重要であることを再認識させられた。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 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 Biochim Biophys Acta* 1682: 56-62, 2004
- Simabukuro T, Sunagawa M, Ohta T. Low-Density Lipoprotein Particle Size and Its Regulatory Factors in School Children. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 2923-2927, 2004
- Fukuyama S, Hiramatsu M, Akagi M, Higa M, Ohta T. Novel Mutations of the Chloride Channel Kb (ClC-Kb) Gene in Two Japanese Patients Clinically diagnosed as Bartter Syndrome with Hypocalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 5847-5850, 2004

H. 知的財産権の出願、登録状況

該当なし。

HDL に関する研究

分担研究者 横山信治 （名古屋市立大学教授）

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。1) ABCA1 は、PPAR α アゴニストであるフィブラート剤により LXR を介した転写促進により蛋白質レベルが増加し、HDL 新生が増加することが分かった。2) ABCA1 による HDL 新生には細胞外に遊離のアポリポ蛋白質が存在することが必要で、末梢細胞では HDL からの apoA-I 等の遊離により、肝細胞では自ら分泌するアポリポ蛋白質の autocrine 作用により反応が進行する。3) HDL 増加は LDL 低下よりも全般的な治療効率が高く、我が国における心筋梗塞予防の最終的な期待値は LDL 低下によっては 40 % に止まるのに対し、HDL 増加によれば 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) ABCA1 とアポリポ蛋白質の相互作用を、遊離型 apoA-I に特異的なモノクローナル抗体を用いて研究した。3) 日本人の LDL、HDL の分布と同勢調査に

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するシグナルである LXR ををして、その転写レベルで発現増加が起こる。PPAR α アゴニストであるフィブラート剤による治療で HDL が上昇することが知られ、その機序の一つとして ABCA1 の転写促進が示唆されていた。我々は、臨床的に降圧剤として広く用いられているフェノフィブラートが LXA を介して ABCA1 遺伝子の転写促進を行うことを直接証明した (ATVB in press)。

2) ABCA1 と遊離アポリポ蛋白質の相互作用による HDL 新生。ABCA1 は遊離型ヘリックス型アポリポ蛋白質に反応して HDL を新生する。この時、遊離型アポリポ蛋白質がどのように供給されるのかは明白ではない。この点について、HDL が細胞と作用する際には apoA-I

などが HDL から遊離して新たな HDL を新生すること、また肝細胞など自ら apoA-I 等を合成・分泌する細胞では、これらが一旦遊離のかたちで分泌された後細胞と作用するという autocrine 作用で HDL が新生することが明らかにされた。これらは、遊離型 apoA-I にのみ反応しその機能を抑制するモノクローナル抗体の使用により、分かった (Journal of Lipid Research 45: 645-652, 2004; Journal of Lipid Research 46: 154-162, 2005)。

3) 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 (Atherosclerosis in press)。

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

論文発表当該年度内の発表論文

1. 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

2. 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.

3. 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) 45: 645-652.

4. 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) 45: 23-30

5. Cheng-Ai Wu, Maki Tsujita, Michi Hayashi, and Shinji Yokoyama. Probucol Inactivates ABCA1 in Plasma Membrane for its Function to Mediate Apolipoprotein Binding and HDL Assembly and for its Proteolytic Degradation. *J. Biol. Chem.* (2004) 279: 30168-30174

6. Hidehisa Yamagata, Yusen Chen, Hiroyasu Akatsu, Kouzin Kamino, Jin-ichi Ito, Shinji Yokoyama, Takayuki Yamamoto, Kenji Kosaka, Tetsuro Miki, Ikuko Kondo. Promoter polymorphism in FGF1 gene increases risk of definite Alzheimer's disease *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2004) 321: 320-323

7. Yoshio Yamauchi, Catherine C. Y. Chang, Michi Hayashi, Sumiko Abe-Dohmae, Patrick C. Reid, Ta-Yuan Chang and Shinji Yokoyama. Intracellular Cholesterol Mobilization Involved in the ABCA1/Apolipoprotein-Mediated Assembly of High Density Lipoprotein in Fibroblasts. *J. Lipid*

Res. (2004) 45: 1943-1951.

8. Jin-ichi Ito, Hao Li, Yuko Nagayasu, Alireza Kheirollah and Shinji Yokoyama. Apolipoprotein A-I Induces Translocation of Protein Kinase-C α to a Cytosolic Lipid-Protein Particle in Astrocytes. *J. Lipid Res.* (2004) 45: 2269-2276.

9. Mariko Harada-Shiba, Atsuko Takagi, Kousuke Marutsuka, Sayaka Moriguchi, Hiroaki Yagy, Shun Ishibashi, Yujiro Asada, and Shinji Yokoyama. Disruption of autosomal recessive hypercholesterolemia gene shows different phenotype in vitro and in vivo. *Circulation Res.* (2004) 95: 945-952.

10. Maki Tsujita, Cheng-Ai Wu, Sumiko Abe-Dohmae, Shinichi Usui, Mitsuyo Okazaki, and Shinji Yokoyama. On the Hepatic Mechanism of HDL Assembly by the ABCA1/ApoA-I Pathway. *J. Lipid Res.* (2005) 46: 154-162.

11. Jin-ichi Ito, Yuko Nagayasu, Rui Lu, Alireza Kheirollah Michi Hayashi and Shinji Yokoyama. Astrocytes produce and secrete fibroblast growth factor-1 that promotes production of apoE-high density lipoprotein in a manner of autocrine action. *J. Lipid Res.* in press.

12. Shinji Yokoyama. HDL can be a more effective target than LDL for primary prevention of coronary heart disease in Japan: An attempt for estimation of treatment-effectiveness. *Atheroscler.* in press.

13. Reijiro Arakawa, Norimasa Tamehiro, Tomoko Nishimaki-Mogami, Kazumitsu Ueda and Shinji Yokoyama. Fenofibric acid, an active form of fenofibrate, increases apoAI-mediated HDL biogenesis by enhancing transcription of ABCA1 gene in an LXR-dependent manner. *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.* in press.

血清中性脂肪値と動脈硬化発症の疫学調査

分担研究者： 白井厚治 （ 東邦大学医学部附属佐倉病院 内科学 ）

佐々木 淳 （ 国際医療福祉大学 保健医療学 ）

血清トリグリセリドの動脈硬化進展閾値の設定根拠について、前向き疫学調査とレムナント出現閾値から検討した。

1. 高コレステロール血症患者で、5年間、前向き調査が行なわれた九州脂質介入試験（KLIP）と千葉脂質介入試験（CLIP）の計8,889例における心筋梗塞発生94例を対象に、トリグリセリド（TG）との関わりを検討した。TG値を6細分してみると70-110mg/dlでは心筋梗塞発症1000人、1年当たり2.2人に比し、110-150mg/dlで3.0人、それ以上では、150-210、210-270、270-350、350以上層別にみても、増加傾向は認めなかった。一方、70mg/dl以下では3.0人と高値を示した。

TG値を3分画に大別すると、150mg/dl以下では、1000人1年当たり2.8人、150-299mg/dlでは3.0人、300mg/dl以上では3.98人であった。従って、今回の分析ではTGの冠動脈疾患発生に対する閾値は、大別すると傾向が窺えるが、細分化すると明確には求められなかった。

2. レムナントは冠動脈疾患の危険因子とされているが、レムナント出現に対するトリグリセリド値の閾値を求めた。対象は健康診断受診者と糖尿病患者で、レムナントはリポ蛋白ディスク電気泳動でのミドバンドの出現で検出した。非糖尿病患者では150mg/dl以上でミドバンドが出現し始め、糖尿病患者では100mg/dlから増加傾向を認めた。また食前食後とも同様であった。従って、レムナントの出現を目安にすると、トリグリセリド値は健常者では150mg/dl以下、糖尿病患者では100mg/dl以下が望ましいと思われた。

以上から、今回の前向き疫学試験からは、TG値は冠動脈疾患のリスクにはなりうるが、明確な閾値はもとめられなかった。一方、レムナント出現という病態から考慮すると、背景にリスクのない場合はトリグリセリド値150mg/dl、しかし糖尿病患者では100mg/dl前後である可能性がみられたが、今後、更なる前向き調査・検討が必要である。

A. 研究目的

動脈硬化症への血清脂質の危険度は、従来コレステロールについては大規模前向き調査がありある程度のエビデンスがあったが中性脂肪については、まだ十分な前向き調査はない。日本人の前向き調査として、大規模なものには、シンバスタチン投与者についての報告があり、トリグリセリドについては3段階に分けると差のあることが提示されている。プラバスタチンを主に5年間投与した試験では、九州脂質介入試験と千葉脂質介入試験がある。今回この両者について血清トリグリセリド値と心血管イベント発

生との関わりについて、メタアナリシスを試みた。

また、レムナントは従来からリスク因子としてあげられている。特に日本人ではデスク電気泳動法によるミドバンドがレムナントに相当すると考えられ、その危険因子としての有用性が指摘されている。そこで、このミドバンドの出現に対するトリグリセリド閾値について、検診者で検索した。

B. 研究方法

1. 九州脂質介入試験（KLIP）と千葉脂質介入試験（CLIP）のメタアナリシス

九州脂質介入試験 (KLIP) では、総コレステロール値 220mg/dl 以上の男性 5640 名、千葉脂質介入試験 (CLIP) では、4999 名を初期登録し、5 年間追跡した。分析可能例はKLIS 3,853 例、CLIP 2,529 例、計 6,382 例であった。冠動脈疾患は、心筋梗塞+心臓死をエンドポイントとしたところ、KLIS 81 例、CLIP 13 例みられた。KLIS では半数にプラバスタチン、半数にニコチン酸製剤、クロフィブラート、コレスチラミンが服用されていた。CLIP では全例プラバスタチン (5-10mg/日) が服用された。

血清脂質値は、観察開始 6 ヶ月以降の値を平均化して用いた。

2. ミドバンド出現とトリグリセリド値の検討

対象は、検診受信者 221 人と糖尿病患者 120 名で、空腹時採血した。血清中のミドバンドの検出は、常光のリポフォーを用いたポリアクリルアミドディスク電気泳動法にて行った。検出は、LDL ピークの VLDL よりに非対称的なノッチを認めたものとした。

C&D. 研究結果と考察

1. KLIS, CLIP メタアナリシス

心筋梗塞発生に対する LDL コレステロール値は、図 1 に示すごとく、90mg/dl 以下で、1.1 人/1,000 人/年に比べ、90-130mg/dl で 2.2、130-150mg/dl で 3 人、170-190、190 以上では 5 人と増加を認めたが、150-170 mg/dl では、1.0 人と低率であった。

心筋梗塞発生に対する Non-HDL コレステロールをみると、図 2 に示すごとく、110 mg/dl 以下 1.3 人/1,000 人/年に対して、110-150mg/dl、150-190mg/dl、190-230mg/dl、230-mg/dl それぞれ、2.8、2.5、3.2、5 人/1,000 人/年と、増加傾向を示した。

心筋梗塞発生に対するトリグリセリド (TG) との関わりを検討した。図 3 に示すごとく、まず TG 値を細分 6 区画でみた。TG 70-110 mg/dl では、2.2 人/1000/年に比し、110-150 mg/dl で 3.0、それ以上のグループ TG150-210、210-270、270-350、350 mg/dl 以上で、増加傾向は認めなかった。一方、TG 70mg/dl 以下での 3.0 と高値を示した。

次に、トリグリセリドを 3 区画に大別した。表 1 に示

すごとく、150mg/dl 以下では、1000 人 1 年当たり、2.8 人、150-299mg/dl では 3.00 人、300mg/dl 以上では 3.98 人であった。

以上より、トリグリセリド値は、大別すると冠動脈疾患の危険因子として窺えるが、細分化し、その発症閾値を求めようとしても明確には求められなかった。

2. ミドバンドの出現とトリグリセリド値

一般検診受信者と糖尿病患者で、血清トリグリセリド値と、レムナント出現の関係を見た。

一般検診受診者では、図 4 に示すごとく、ミドバンドは TG150mg/dl を超えると出現し始め、190mg/dl 以上では、60%に見られた。

したがって、非糖尿病患者でのレムナント出現閾値は、TG 150mg/dl で適切と考えられた。

糖尿病患者で見ると、図 5 に示すごとく、食後「3 時間」と食前について検討した。いずれも 150mg/dl 以下でも見受けられたが、100 mg/dl 以下ではほとんど認めなかった。

したがって、糖尿病患者と健常者でのレムナント出現に対するトリグリセリドの閾値画異なっており、糖尿病ではより出現しやすいことが示唆された。

F. 結論

トリグリセリドの動脈硬化への閾値については、暫定的に、150 mg/dl 前後が想定されているが、今回の KLIS+CLIS 調査からは、必ずしもリスク性に対して閾値が見出せなかった。それは、対象が高コレステロール血症として集められた集団であり、しかも、抗脂血剤を服用していたことなど諸因子が関わり、必ずしも、理想的な一般対象者ではないことが要因と考えられた。今後、さらに層別などの検討が必要である。

一方、トリグリセリドの動脈硬化推進性の因子としてレムナントがあげられているが、その閾値は 150 mg/dl であった。糖尿病患者では、100mg/dl であったことから、背景疾患によっては、変更する必要性があると思われた。

今後、糖尿病患者での前向き調査などが必要である。

G. 研究発表 なし

I. 論文発表 なし

H. 知的財産権の出願、登録状況 なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

スタチンによる脂質プロファイルの検討
分担研究者 佐久間 一郎（北海道大学病院講師）

研究要旨 アトルバスタチンはスタチンとしては第3世代ともいえるべきものであるが、強力な LDL-C 低下作用を有し、TG 低下作用も強く、HDL-C も増加し、望ましい脂質改善効果が期待される薬剤である。本研究では、アトルバスタチンによる脂肪、リポ蛋白、アポ蛋白、さらに NMR を利用したリポ蛋白粒子のプロファイルへの効果を、プラバスタチンのそれと比較検討した。対象は、3ヶ月間以上のスタチン非投与のコントロール期間、3ヶ月間以上のアトルバスタチン 10mg 投与期間、3ヶ月間以上のプラバスタチン 10mg 投与期間の3期間を有し、採血に同意を得られた高脂血症患者 29 例（男性 13 例、女性 16 例）である。本検討の結果より、脂質低下作用に関しては第3世代のスタチンであるアトルバスタチン 10mg 投与が、第一世代のスタチンであるプラバスタチン 10mg 投与の約2倍の効果を有していた。アトルバスタチンはプラバスタチンに比べ、以前より強力な LDL-C 低下作用と ApoB 低下作用を有することが知られていたが、本検討により、さらに LDL 粒子数の低下を伴うことが証明され、これらの低下率もプラバスタチンより有意に高いことが明らかとなった。また、LDL 粒子のなかでもアトルバスタチンでは small LDL 粒子数の低下が著明であり、その結果、small dense LDL-C もより低下していた。結論として、アトルバスタチン 10mg 投与による脂肪、リポ蛋白、アポ蛋白、さらにリポ蛋白粒子のプロファイルへの効果を、プラバスタチン 10mg 投与のそれと比較検討したところ、アトルバスタチンはプラバスタチンに比し、強力かつ効果的に脂質プロファイルを改善した。また、small dense LDL-C 直接測定法の利用が有用であることが明らかとなった。

A. 研究目的

食事の欧米化が進んだわが国では、高脂血症を呈する症例が増加しつつあり、特に女性ではエストロゲンの作用低下に起因して閉経後にコレステロールが増加するため、50 歳代や 60 歳代の女性では、基準値を 220mg/dl とすると半数近くが高コレステロール血症と診断されるまでになっている。高脂血症の治療には、わが国で最初に開発されたスタチンが非常に有効であり、現在 5 種類のスタチンが上梓され、臨床応用さ

れている。スタチンは第1世代ともいえるべきプラバスタチンから、新製品が出されるたびにその力価が強くなり、脂質低下作用は強力となってきている。

脂質低下治療は、症例毎にどのレベルにまで脂質を改善するかを選択する必要がある。日本動脈硬化学会の指針によれば¹⁾、動脈硬化の危険因子を有しない症例では、LDL-C の目標値は 160mg/dl とされている。一方、すでに虚血性心疾患を有する症例では LDL コレステロール(-C)として 100mg/dl

未満まで低下させるべきとしており、現在米国ではさらにそれを 70mg/dl にまで下げべきとなっている²⁾。従って、スタチンの投与方法も、その種類と用量を考えて行われるべきであろう。

また、虚血性心疾患など動脈硬化性疾患では、LDL-Cのみならず、HDL-C 低値や中性脂肪 (TG) 高値も重要な因子であり、アポ蛋白としてはアポ A1 の低下やアポ B の増加、またリポ蛋白としてレムナントや small dense LDL の増加が病態の促進に寄与することが知られている³⁾。さらに最新の NMR 測定法を用いたりポ蛋白の粒子サイズ測定により⁴⁾、大きな VLDL 粒子や小さな HDL 粒子の存在や、LDL 粒子数の増加が虚血性心疾患と関連することが報告されている⁵⁾。従って、スタチンによる治療の際には、これらの因子がどのように改善されるかが、スタチンによる動脈硬化疾患進展抑制に大いに関与することが予想される。

アトルバスタチンはスタチンとしては第 3 世代ともいうべきものであるが、強力な LDL-C 低下作用を有し、TG 低下作用も強く、HDL-C も増加し、望ましい脂質改善効果が期待される薬剤である⁶⁾。本研究では、アトルバスタチンによる脂肪、リポ蛋白、アポ蛋白、さらにリポ蛋白粒子のプロファイルへの効果を、プラバスタチンのそれと比較検討した。

B. 研究方法

対象は、3ヶ月間以上のスタチン非投与のコントロール期間、3ヶ月間以上のアトルバスタチン 10mg 投与期間、3ヶ月間以上のプラバスタチン 10mg 投与期間の 3 期間

を有し、採血に同意を得られた高脂血症患者 29 例 (男性 13 例、女性 16 例、平均年齢 69.5 ± 6.4 (SD) 歳) である。各期間の終了期に空腹時採血を行い、そのデータを基に 3 期間の検査プロファイルと比較検討した。

検査項目は総コレステロール (TC)、TG、HDL-C、Friedwald の式を用いた LDL-C、アポリポ蛋白 (Apo) A1、ApoB、Lp(a)、RLP-C、直接測定法を用いた small dense LDL-C (sdLDL-C)⁷⁾、ポリアクリルアミドゲル電気泳動法による HDL、LDL と VLDL のピークより計測して small dense LDL を間接的に求める migration index (MI)⁸⁾、NMR Lipoprofile⁴⁾ を用いたりポ蛋白粒子のプロファイルである。リポ蛋白粒子プロファイルとしては、VLDL、LDL、HDL の各粒子数、さらに VLDL を large VLDL、medium VLDL、small VLDL の 3 分画、LDL を IDL、large LDL、small LDL の 3 分画、HDL を large HDL、medium HDL、small HDL の 3 分画に分けて測定値を解析した。なお、sdLDL-C は -80℃ に保存した凍結血漿を、NMR Lipoprofile は -80℃ に保存した凍結血清を用いて、他は採血直後の血漿を用いて測定を行った。

統計方法としてはコントロール期とスタチン投与後の比較を Wilcoxon 順位和検定により、各スタチン投与後の比較も Wilcoxon 順位和検定にて行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

(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

TC はコントロール期の 252.7 mg/dl から、

アトルバスタチンにより 177.8 mg/dl に 29.4%低下し、プラバスタチンにより 217.4 mg/dl に 13.7%低下した。両スタチンの低下作用は有意であり、両者間には有意差が認められた。TG はコントロール期の 159.9 mg/dl から、アトルバスタチンにより 113.6 mg/dl に 25.5%低下し、プラバスタチンにより 147.3 mg/dl に 1.9%低下した。アトルバスタチンの低下作用は有意であり、両スタチン間には有意差が認められた。HDL-C はコントロール期の 57.9 mg/dl から、アトルバスタチンにより 65.6mg/dl に 8.2%増加し、プラバスタチンにより 64.0 mg/dl に 6.1%増加した。両スタチンの増加作用は有意であった。LDL-C はコントロール期の 159.9 mg/dl から、アトルバスタチンにより 89.5 mg/dl に 43.8%低下し、プラバスタチンにより 124.0 mg/dl に 22.3%低下した。両スタチンの低下作用は有意であり、両者間には有意差が認められた。

ApoA1 はコントロール期の 139.3 mg/dl から、アトルバスタチンにより 142.9 mg/dl に 3.2%増加し、プラバスタチンにより 144.4 mg/dl に 4.3%増加した。プラバスタチンの増加作用は有意であった。ApoB はコントロール期の 126.9 mg/dl から、アトルバスタチンにより 82.9 mg/dl に 34.4%低下しプラバスタチンにより 108.4 mg/dl に 14.3%低下した。両スタチンの低下作用は有意であり、両者間には有意差が認められた。Lp(a) はコントロール期の 19.5 mg/dl から、アトルバスタチンにより 19.8 mg/dl に 3.4%増加し、プラバスタチンにより 20.0 mg/dl に 2.7%増加した。両スタチンの増加作用は有意ではなかった。

RLP-C はコントロール期の 7.03 mg/dl か

ら、アトルバスタチンにより 4.19 mg/dl に 32.6%低下し、プラバスタチンにより 5.82 mg/dl に 9.3%低下した。アトルバスタチンの低下作用は有意であり、両スタチン間には有意差が認められた。SdLDL-C はコントロール期の 23.7 mg/dl から、アトルバスタチンにより 14.5 mg/dl に 29.3%低下し、プラバスタチンにより 19.1 mg/dl に 14.0%低下した。両スタチンの低下作用は有意であり、両者間には有意差が認められた。MI はコントロール期の 0.362 から、アトルバスタチンにより 0.340 に 5.9%低下し、プラバスタチンにより 0.345 に 4.6%低下した。両スタチンの低下作用は有意であった。

VLDL 総粒子数はコントロール期の 102.8 nmol/L から、アトルバスタチンにより 59.0 nmol/L に 44.4%低下し、プラバスタチンにより 86.5 nmol/L に 10.4%低下した。両スタチンの低下作用は有意であり、両者間には有意差が認められた。VLDL 粒子サイズではアトルバスタチンにより medium および small VLDL が有意に低下し、プラバスタチンにより small VLDL が有意に低下した。Small VLDL 低下作用について、両者間には有意差が認められた。

LDL 粒子数はコントロール期の 1498.6 nmol/L から、アトルバスタチンにより 1003.5 nmol/L に 30.5%低下し、プラバスタチンにより 1286.2 nmol/L に 12.0%低下した。両スタチンの低下作用は有意であり、両者間には有意差が認められた。LDL 粒子サイズに関しては、アトルバスタチンは IDL、large LDL、small LDL のすべてを有意に低下させ、プラバスタチンは large LDL のみを有意に低下させた。

HDL 粒子数はコントロール期の 24.9 nmol/L から、アトルバスタチンにより 27.1 nmol/L に 11.3%増加し、プラバスタチンにより 26.3 nmol/L に 6.8%増加した。両スタチンの増加作用は有意であった。HDL 粒子に関しては、両スタチンとも large HDL を有意に増加させた。

D. 考察

本検討の結果より、脂質低下作用に関しては第3世代のスタチンであるアトルバスタチン 10mg 投与が、第一世代のスタチンであるプラバスタチン 10mg 投与の約2倍の効果を有していたが、これはアトルバスタチンの臨床第 III 相治験における、アトルバスタチン 10mg 投与とプラバスタチン 10mg 投与との比較の際の結果とほぼ同様である⁶⁾。その結果ではアトルバスタチン 10mg とプラバスタチン 10mg による TC 低下率、TG 低下率、LDL-C 低下率はそれぞれ、29.3%と 14.5%、21.0%と 5.4%、41.8%と 21.5%であったが、今回の検討の結果ではそれぞれ、29.4%と 13.7%、25.5%と 1.9%、43.8%と 22.3%であった。臨床第 III 相治験における両薬の HDL-C 増加の平均値はそれぞれ、7.5mg/dl と 5.9mg/dl であったが、本検討ではそれぞれ 8.2mg/dl と 6.1mg/dl であった。

ApoA1 については、臨床第 III 相治験における両薬による増加率は 10%と 9%であったが、本検討では 3.2%と 4.3%であり、多少低めであった。ApoB については前治験における両薬のよる低下率は 36%と 17%であったが、本検討では 34.4%と 14.3%であり、ほぼ同等であった。

アトルバスタチンはプラバスタチンに比

べ、以前より強力な LDL-C 低下作用と ApoB 低下作用を有することが知られていたが⁶⁾、今回の検討により、さらに LDL 粒子数の低下を伴うことが証明され、これらの低下率もプラバスタチンより有意に高いことが明らかとなった。また、LDL 粒子のなかでもアトルバスタチンでは small LDL 粒子数の低下が著明であり、その結果、sdLDL-C もより低下していた。

アトルバスタチンのもうひとつの特徴は TG の強力な低下作用である。それは VLDL 分泌抑制作用によると想定されていたが⁹⁾、今回の検討により、実際に VLDL 粒子数の低下がもたらされており、それが証明されたことになる。また、RLP-C の低下と IDL 粒子数の低下、さらに small LDL 粒子数の低下と HDL 粒子、とくに large HDL 粒子数の増加を惹起しているが、これはアトルバスタチンの TG 強力な低下作用に付随する効果といえよう。

今回得られたアトルバスタチンの脂質改善効果のプロファイル、すなわち TG 低下、HDL-C 増加、LDL-C 低下、ApoB 低下、RLP-C 低下、sdLDL-C 低下、MI 低下、VLDL 総粒子数低下、LDL 総粒子数低下、small LDL 粒子数低下、HDL 総粒子増加、large HDL 増加は、すべて抗動脈硬化作用に資するものである。しかもそれらの作用のほとんどがプラバスタチンより強力であったことは、同用量のアトルバスタチンとプラバスタチンでは、脂質のプロファイル改善を介して、前者がより強力に動脈硬化予防に効果があることを示唆する。従って、すでに虚血性心疾患や動脈硬化性疾患を有する患者や、動脈硬化の危険因子を多数有する患者では、LDL-C を指標とした治療目標値も低く設定されて

いることから^{1, 2)}、より強力であるアトルバスタチンの使用が望ましいと考えられる。

Small dense LDL は強力な動脈硬化惹起粒子である³⁾。従来その測定には超遠心法が利用されていたが、特別な機器を必要とし、測定や時間に手間がかかり、操作に熟練を要するなど問題があった。そのためポリアクリルアミド電気泳動法を利用し、MIを求める方法で日常臨床では代用されていた。しかし、電気泳動により分子サイズで分離された HDL、LDL、VLDL 間の距離を利用するため、small dense LDL が増加するような病態では、HDL の小粒子化を伴うことがあり、一方、small dense LDL が減少する場合には HDL の大粒子化を伴うことが多いため、MI 値の差が出にくいのではないかと指摘があった。それらに比し、今回の検討で用いた sdLDL 直接測定法は、検体の前処置としてポリアニオンと二価の陽イオンにより、正常サイズ以上の LDL 分画を除去した後、small dense LDL 中のコレステロール量を測定するものである⁷⁾。今回の検討でも、アトルバスタチンとプラバスタチンによる MI 値の低下に有意差は認められなかったものの、両スタチン間に sdLDL-C には有意差が得られ、それは NMR を利用した small LDL 粒子と同様の変化であった。従って、sdLDL-C は両スタチンの効果を明確に差別化することが可能であり、非常に有用な検査法であることが示唆された。今回用いた NMR 法によるリポ蛋白粒子プロファイル測定は、VLDL、LDL、HDL 粒子に関し、詳細な情報を提供し、非常に有用な検査であるが、現在米国へ検体を送付し外注しなければ検査ができない。従って、現在のところ、リポ蛋白粒子プロファイルは、ポリ

アクリルアミド電気泳動法を利用せざるを得なかったが、今後 sdLDL-C 直接測定法を利用し、検討を行うべきと思われる。

E. 結論

アトルバスタチン 10mg 投与による脂肪、リポ蛋白、アポ蛋白、さらにリポ蛋白粒子のプロファイルへの効果を、プラバスタチン 10mg 投与のそれと比較検討したところ、アトルバスタチンはプラバスタチンに比し、強力かつ効果的に脂質プロファイルを改善した。また、sdLDL-C 直接測定法の利用が有用であることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

特になし

参考文献

1. 日本動脈硬化学会 (編) : 動脈硬化性疾患診療ガイドライン 2002 年版、2002
2. Grundy, S.M., Cleeman, J.I., Merz, N.B. et al.: Implications of recent clinical trials for the national cholesterol education program adult treatment panel III guidelines. *Circulation* 110: 227-239, 2004
3. Austin, M.A., Breslow, J.L., Hennekens, C.H. et al.: Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* 260: 1917-1921, 1988
4. Otvos, J.D., Jeyarajah, E.J., Bennett, D.W. et al.: Development of a proton nuclear magnetic resonance spectroscopic method for determining plasma lipoprotein

- concentrations and subspecies distributions from a single, rapid measurement. *Clin. Chem.* 38: 1632-1638, 1992
5. Freedman, D.S., Otvos, J.D., Jeyarajah, E.J. et al.: Relation of lipoprotein subclasses as measured by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy to coronary artery disease. *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 18: 1046-1053, 1998
 6. Japan Cholesterol Lowering Atorvastatin Study (J-CLAS) Group: HMG-CoA還元酵素阻害薬 CI-981 (アトルバスタチン) の臨床効果—プラバスタチンを対照薬とした第 III 相二重盲検群間比較試験—。 *Prog. Med.* 18: 2251-2300, 1998
 7. Hirano, T., Ito, Y., Saegusa, H. et al.: A novel and simple method for quantification of small dense low-density lipoprotein. *J. Lipid. Res.* 44: 2193-2201, 2003
 8. 三島康男ほか: PAG disk 電気泳動 (Lopophor) における低比重リポ蛋白分画の相対移動度に関する検討。 *動脈硬化* 23: 884, 1996
 9. Burnett, J.R., Wilcox, L.J., Telford, D.E. et al.: Inhibition of HMG-CoA reductase by atorvastatin decreases both VLDL and LDL apolipoprotein B production in miniature pigs. *Artheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17: 2589-, 1997

G. 研究発表

論文発表

1. Kon Koh K, Yeal Ahn J, Hwan Han S, Kyu Jin D, Sik Kim H, Cheon Lee K, Kyun Shin E, Sakuma I: Effects of fenofibrate on lipoproteins, vasomotor function, and serological markers of inflammation, plaque stabilization, and hemostasis. *Atherosclerosis.* 174(2): 379-383, 2004
2. 佐久間一郎、芳野 原、吉岡充弘、筒井裕之: アトルバスタチン 10mg 投与とプラバスタチン 10mg 投与による脂肪、リポ蛋白、アポ蛋白、およびリポ蛋白プロファイルへの効果の比較検討。 *Prog. Med.* 24:2779-2783, 2004
3. 佐久間一郎: ホルモン補充療法の臨床的作用、5) 脂質代謝、インスリン抵抗性、肥満。改訂高齢女性の健康増進のためのホルモン補充療法ガイドライン。武谷雄二、大内尉義編集。 *メディカルレビュー社*、東京。 pp152-159, 2004. 5. 15.
4. 佐久間一郎: 日本人におけるコレステロールと冠動脈疾患および総死亡の関係。 *性差と医療* 1(1): 19-24, 2004
5. 佐久間一郎: 心血管イベントを予防する薬物治療は何か—ホルモン補充療法。 *内科* 94(2): 327- 330, 2004
6. 佐久間一郎: 虚血性心疾患の一次予防ガイドラインとは? Q&A でわかる肥満と糖尿病 3(5): 784-787, 2004
7. 佐久間一郎: ホルモン補充療法と虚血性心疾患。 *Mebio* 21(11): 55-62, 2004
8. 佐久間一郎: 閉経後女性の高コレステロール血症。 *性差と医療* 1(5): 557-561, 2004

9. 佐久間一郎:内科学領域におけるホルモン補充療法の今後. 骨粗鬆症治療 4(1): 36-41, 2005

2. 学会発表

1. 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. 第68回日本循環器学会学術集会、東京、2004.3.29.
2. Noriaki Kishimoto, Ichiro Sakuma, Koujiro Ishii, Akira Kitabatake: asked Obesity in Young Women Manifest with Deteriorated Metabolic Indices and They are Reversed by Regular Exercise Practice. 第68回日本循環器学会学術集会、東京、2004.3.27.
3. Noriaki Kishimoto, Ichiro Sakuma, Toshio Hayashi, Hatsuyo Kano, Taku Tsunekawa, Masako Osawa, Mitsuteru Kosama, Satoshi Nawate, Takamitsu Soma, Kazuhiko Nagai, Hitoshi Chiba, Akihisa Iguchi: Simvastatin Prevents Thrombotic Occlusion of Internal Arterio-Venous Shunt in Dialysis Patients With Chronic Renal Failure And Improves Endothelial Function Due to Its Pleiotropic Effects. 第68回日本循環器学会学術集会、東京、2004.3.27.
4. 岸本憲明, 佐久間一郎, 石井好二郎, 北畠 顕: 若年女性隠れ肥満症例でのリポ蛋白代謝とアディポネクチンについて

の検討. 第101回日本内科学会総会、東京、2004.4.8.

5. 岸本憲明, 佐久間一郎, 林登志雄, 加納初世, 恒川 卓, 大澤雅子, 児玉充央, 千葉仁志, 井口昭久: 血液透析患者へのシンバスタチン投与による血流依存性血管拡張の改善効果. 第25回日本臨床薬理学会年会、静岡、2004.9.18.
6. 岸本憲明, 西條泰明, 大山尚貢, 浦澤一史, 小林 毅, 佐久間一郎, 北畠 顕, 岸 玲子: 北海道における急性心筋梗塞発症に対するマルチプルリスクファクターの意義について~症例対照研究からの検討~. 第18回日本疫学会総会、山形、2004.11.22.

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

日本の糖尿病患者における高脂血症の現況と治療

分担研究者 山田 信博 筑波大学大学院人間総合科学研究科教授

研究要旨

わが国有数の2型糖尿病患者コホートの中間解析により、日本人2型糖尿病患者においても、高血圧や高脂血症が大血管合併症のリスクを大きく上昇させており、その予防のためには、血糖や血圧のコントロールと共に脂質のコントロールも重要であることが明らかになった。また糖尿病患者では、虚血性心疾患が脳血管障害より高頻度にみられるなど、非糖尿病患者にはみられない特徴が明らかになっている。さらに日本人糖尿病患者と欧米人糖尿病患者との間には、基礎的病態から薬物の効果に至るまで多くの違いが存在していることもわかってきた。

A. 研究目的

糖尿病患者における動脈硬化合併症（すなわち大血管合併症）は、糖尿病患者の健康寿命および生命予後を規定する重要な合併症である。糖尿病（耐糖能障害を含む）患者は非糖尿病患者と比較して、動脈硬化性疾患（大血管合併症）の合併頻度・重症度が高いことが多くの疫学研究で示されており、2型糖尿病患者がわが国成人の6-7人に一人を占めるまでに増加している現在、その対策は急務である。

日本の糖尿病患者数は先進諸国の中でも多く、平成14年度糖尿病実態調査では疑い例を含めると国民成人の6.3人に1人が糖尿病であることが明らかにされている。このようなわが国の糖尿病患者急増の背景には、遺伝背景と共に戦後のライフスタイルの急激な欧米化が関与している。糖尿病患者急増に伴い糖尿病合併症も急増しており、特に動脈硬化合併症は国民の生命予後や生活の質を著しく障害し、大きな

社会経済学的損失も生み出している。糖尿病に関するものを含めて、これまでの多くの大規模臨床研究は欧米で行われており、対象患者も白人を中心に行っていることが多い。このような欧米発の大規模臨床研究から得られたエビデンスを、日本人（アジア人）患者を対象にした日常診療に適用する場合には、日本人患者と欧米人患者との病態背景の相違を考慮に入れて行う必要がある。しかしその相違に関する客観的データはまだ十分でない。そこで日本人2型糖尿病患者の病態や合併症の特徴を、生活習慣改善の効果や診療内容も含めて前向き調査により明らかにし、今後の診療に役立てることを目的として検討を行った。

B. 研究方法

登録患者は、全国59ヶ所の糖尿病専門施設外来に通院中の、日本糖尿病学会の診断基準に合致する45-70歳の2型糖尿病患者で、開始時

にHbA_{1c} 6.5%以上であった2200名である。新たに発症または増悪してきた糖尿病合併症をとらえることを目的としているため、すでに進行した合併症を有していた方は対象から除外した。全登録患者の開始時平均年齢は59歳、平均糖尿病罹患年数は11年、平均HbA_{1c}値は約7.7%であった。各患者の血糖、血清脂質、血圧などのコントロール状態、および細小血管（網膜症・腎症・神経障害）・動脈硬化合併症などが平成8年度から毎年調査されてきた。動脈硬化合併症の主要なエンドポイントは、虚血性心疾患（狭心症、心筋梗塞）または脳卒中（脳梗塞、脳出血）の発症である。

（倫理面の配慮）

本研究のプロトコールは、各施設の倫理委員会によって承認されており、本研究へ参加する患者には、本研究の目的や実施方法について説明がなされ、informed consent を取得している。現在まで8年間で倫理的問題を生じたことはない。

C&D. 研究結果と考察

登録患者の降圧薬および高脂血症薬の使用状況から推測して、わが国の2型糖尿病患者のうち、高血圧を合併する者は少なくとも約4割以上、高脂血症を合併する者は少なくとも約4割以上、さらに約2割以上はその両方を合併していると考えられる。開始後6年間で、降圧薬使用者は27%から41%へと、高脂血症薬使用者は25%から34%へとそれぞれ増加した。糖尿病患者が高血圧と高脂血症を合併するとメタボリックシンドロームの診断基準を満たす可能性があり、心血管疾患に対する嚴重な注意が必要である。

米国の糖尿病患者の脂質や血圧のコントロールが不十分であることはいくつかの研究によって明らかにされているが、日本人糖尿病患者データを、この米国糖尿病患者の血圧や血清脂質データ（NHANES）と比較してみると、肥満

度が極端に違うことを除くとかなり近似していた。しかもJDCS登録患者でも登録時から6年間、血圧や脂質の平均値は大きく変化していなかった。したがって残念ながら日本でも米国同様、血圧や血清脂質が目標域に達しない患者がかなりいるものと推測される。糖尿病患者に発症する虚血性心疾患や脳血管障害を抑制するためには、このような血圧・血清脂質コントロール不良者に対する強化治療が必要であろう。

一方、本研究登録患者と米国の糖尿病患者では、前述のように血圧や脂質の平均値がそれほど極端には違わないにも関わらず、降圧薬・高脂血症薬の使用頻度が極端に違うことが示唆されており、日本人と欧米人とで、これらの薬物に対する感受性が異なる可能性も考えられる。

さらに欧米人患者のメタアナリシスで、適度のアルコール摂取（エタノール換算で一日38g以下）が、糖尿病患者において冠動脈疾患抑制効果を有することが示唆されているが、同じ境界区分で検討してみても、本研究登録患者の検討ではそのような適量飲酒による心血管疾患抑制現象は認められなかった。したがって日本人2型糖尿病患者に対しては、たとえ適量でも積極的に飲酒を勧める必要はないものと思われる。

E. 結論

本研究は日本全国の糖尿病専門医ならびに関係者の長年の努力により構築されつつある貴重なデータベースである。その解析により、わが国の2型糖尿病患者における動脈硬化合併症の発症率、リスクファクターなどが明らかになりつつある。その過程で明らかになったように日本人糖尿病患者と欧米人患者とでは、多くの違いが存在している。したがって、欧米人患者を対象にした大規模臨床研究のエビデンス