

が、そのまま日本の糖尿病対策・診療に適用できるかは明らかでなく、できれば日本人糖尿病患者の動脈硬化疾患抑制対策は、日本人糖尿病患者の大規模臨床研究データに基づいて立てられることが望ましい。そのためにも本研究から今後、将来のわが国の糖尿病診療に役立つさらに多くのエビデンスが生まれることが期待される。

F. 健康危険情報

該当事項なし

G. 研究発表

論文発表

1. 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*. 279:12027-35, 2004.
2. Ide T, Shimano H, Yahagi N, Matsuzaka T, Nakakuki M, Yamamoto T, Nakagawa Y, Takahashi A, Suzuki H, Sone H, Toyoshima H, Fukamizu A, Yamada N. SREBPs suppress IRS-2-mediated insulin signalling in the liver. *Nat Cell Biol*. 6:351-7, 2004.
3. Matsuzaka T, Shimano H, Yahagi N, Amemiya-Kudo M, Okazaki H, Tamura Y, Iizuka Y, Ohashi K, Tomita S, Sekiya M, Hasty A, Nakagawa Y, Sone H, Toyoshima H, Ishibashi S, Osuga J, Yamada N. Insulin-independent induction of sterol regulatory element-binding protein-1c expression in the livers of streptozotocin-treated mice. *Diabetes*. 53:560-9, 2004.
4. Sone H, Yoshimura Y, Ito H, Ohashi Y, Yamada N. Energy intake and obesity in Japanese patients with type 2 diabetes. *Lancet* 363: 248-249, 2004
5. Sone H, Mizuno S, Ohashi Y, Yamada N. Type 2 diabetes prevalence in Asian subjects. *Diabetes Care* 27: 1251-1252, 2004.
6. Sone H, Mizuno S, Aida R, Ohashi Y, Yamada N. Alcohol Use and Diabetes Mellitus. *Ann Intern Med* 141:408-9, 2004.
7. Sone H, Yamada N, Mizuno S, Ohashi Y,

Ishibashi S, Yamazaki Y. Requirement for hypertension and hyperlipidemia medication in U.S. and Japanese patients with diabetes. *Am J Med*. 117:711-2, 2004.

H. 知的財産権の出願、登録状況

該当事項なし

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
酸化 LDL による生活習慣病の誘発—酸化 LDL と膵β細胞インスリン分泌能との関連

分担研究者 及川 眞一

（日本医科大学教授）

研究要旨

家族性高コレステロール血症は早発性粥状硬化発症の主たる原因である。この機序として酸化 LDL (oxLDL) の関与が指摘されている。oxLDL はスカベンジャー受容体から代謝されるがこの経路については動脈壁マクロファージでの検討が主である。このような変性リポ蛋白は様々な臓器に影響することが考えられる。そこでこのような変性 LDL が生活習慣病、特に糖尿病発症に影響することを想定して、インスリン分泌能との関連性を検討した。

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、生活習慣病の代表である糖尿病では高脂血症の併発が動脈硬化性疾患発症に関与する。しかし、高脂血症の存在が糖尿病誘発に関連する可能性についての検討はない。そこで酸化 LDL (oxLDL) の膵β細胞に対する影響として、インスリン分泌能を検討した。

B. 研究方法

ハムスター膵β細胞由来の Hit-T15 細胞を培養した。この細胞におけるリポ蛋白受容体 (LDL 受容体、SRB1, CD36) の発現を PCR 法で検討した。これに oxLDL 25, 50 μg/ml 添加して培養した。oxLDL のコントロールとして非変性 LDL (nLDL)、アセチル化 LDL (AcLDL) を用いて同様に行った。これらの LDL を 50 μg/ml 添加し、同時に培地内グルコース (0, 1, 3, 5mg/dl) を変化させ、24 時間培養後の細胞内インスリン含量、培地内インスリン分泌能を検討した。また、インスリン遺伝子発現、および L 型

カルシウムチャンネル遺伝子の発現を real time PCR 法で検討した。

C&D. 研究結果と考察

Hit-T15 細胞には LDL 受容体のみならずスカベンジャー受容体の一種である SRB1 や CD36 も同時に発現していた。nLDL 添加に比して oxLDL 添加培養では細胞内インスリン含量、グルコースに対するインスリン分泌能が低下した。これは AcLDL では認められなかった。同様にインスリン遺伝子あるいは L 型カルシウムチャンネル発現が有意に低下していた。

E. 結論

変性 LDL である oxLDL は膵β細胞のインスリン発現を低下させ、また、グルコースに対する分泌反応を低下させることが認められた。これらの作用はスカベンジャー受容体を介して行われる可能性が示唆された。しかし、AcLDL では認められないことから、oxLDL 粒子内の過酸化物が作用物質であることが考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okajima F, Kurihara M, Ono C, Nakajima Y, Tanimura K, Sugihara H, Tatsuguchi A, Nakagawa K, Miyazawa T, Oikawa S: Oxidized but not acetylated low-density lipoprotein reduces preproinsulin mRNA expression and secretion of insulin from HIT-T15 cells. *Biochim Biophys A (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 1687, February: 173-180. 2005

2. Yajima H, Ikeshima E, Shiraki M, Kanaya T, Fujiwara D, Odai H, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki A, Oikawa S, Kondo K: Isohumulones, bitter acids derived from hops, activate both peroxisome proliferator-activated receptor α and γ and reduce insulin resistance. *J Biol Chem* 279(32):33456-33462. 2004

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

高齢者高脂血症がADL(高齢者総合機能評価、潜在性臓器不全)及び生命予後に与える寄与の検討

分担研究者 林 登志雄（名古屋大学大学院医学系研究科老年科学）

研究要旨

目的) 1) 高齢者高脂血症患者において糖尿病合併による心血管リスクを検討した。2) 後期以降の虚弱及び自立高齢者における高脂血症と各種バイオマーカーの関係、疾病罹患及び生命予後との関係を検討した。3) 検診受診自立高齢者における高脂血症の頻度を糖尿病合併の観点から検討した。結果) 約772名の対象者のうち自立高齢者に約20%、虚弱高齢者に約8%の糖尿病患者を認め、前者には約70%、後者には約40%の高脂血症合併を認めた。高脂血症ガイドライン脂質目標値達成率は各々29%、62%であった。糖尿病非合併者の高脂血症の頻度は、各々約52%、24%であり、目標値達成率は58%、69%であった。バイオマーカーではTNF α が病態重症度とIL-6は加えて加齢にも相関していた。BNP値は多くの死亡例の前年度値が高い事が注目された。

A. 研究目的

背景) 高齢者においては高脂血症患者の頻度が増大する。本邦においては糖尿病罹患が増加しており、高脂血症合併例の増加及び心血管合併症のリスクとしての大きさが注目されている。高齢者の自立維持にCGA(高齢者総合機能評価)の重要性が指摘されて久しく、当該研究でもその有用性を報告してきたが、小規模なものが多かった。腎機能(年齢)にて補正したBNP値等、血管内分泌物質及びサイトカインのバイオマーカーの診断指標としての有用性、生命予後への関与が指摘されるが高脂血症の関与については不明である。

目的) 1) 高齢者高脂血症患者において糖尿病合併による、心血管リスクの増大及びその予防法を検討する。2) 外来、在宅医療、各種施設入居者等、自立及び虚弱(疾患合併)高齢者における、各々の高脂血症、糖尿病の頻度、各種バイオマーカー、疾病罹患及び生命予後との関係を検討する。3) 検診受診自立高齢者における高脂血症、糖尿病の頻度を検討する。

B&C. 研究方法と結果

老年科外来、入院(退院時)、特別養護老人ホーム、在

宅医療において高齢者の血清脂質、バイオマーカー、心機能を非侵襲的に評価した。今回は1年及び2年後の追跡調査を行い生存群死亡群で高脂血症及び血管内作動物質、サイトカインの考察を行った。75歳以上で腎機能障害を認めない(血清クレアチニン2.0mg/dl未満)高齢患者727名を対象とした。この内1年後の追跡しえたのは542名死亡が確認できたのは45名、2年後に追跡し得たのは478名、死亡は53名であった。結果は、 $BNP = 15.873 + 1.565 \times (IL-6)$ 、 $cGMP = 3.656 + 0.016 \times (BNP)$ で、高齢者にはBNP高値で潜在性心不全を疑われる患者が少なくなかった。BNPはIL-6に依存していた。cGMPは一般にはBNPに依存したが在宅群ではTNF $\cdot\alpha$ 、腎不全群ではNOに依存し病態による変動が認められた。高脂血症患者はIIaが15%、IIbが7%、その他の高脂血症を5%に認め、約772名の対象者のうち自立高齢者に約20%、虚弱高齢者に約8%の糖尿病患者を認め、前者には約70%、後者には約40%の高脂血症合併を認めた。高脂血症ガイドライン脂質目標値達成率は各々29%、62%であった。糖尿病非合併高コレステロール血症の頻度は、各々

約52%、24%であり、目標値達成率は58%,69%であった。バイオマーカーではTNF α が病態重症度とIL-6は加えて加齢にも相関していた。BNP値が多くの死亡例の前年度値が高い事が注目された。高齢者高脂血症が潜在性心不全発症及びADL障害にサイトカイン増悪を介して有意に関与している可能性が示唆された。

(倫理面への配慮)

名古屋大学医学部倫理委員会で試験の妥当性を検討し承認をえた。

D&E. 考察と結論

糖尿病及び、高コレステロール血症の合併が高齢者においても有意な冠危険因子であり、双方の合併率は高く、その場合の高脂血症管理目標値達成率は低い事が明らかになった。高齢者においては特に低く、ADLが自立している高齢者にその傾向が強かった。近年の欧米の大規模臨床試験で高齢者高脂血症の薬物療法による血管合併症予防効果が検討されているが、必ずしも十分な効果が得られていない。昨年までの本研究において高齢者高脂血症患者において、糖尿病合併患者にもスタチン製剤は内皮機能を有効に改善する効果を報告している。今後、糖尿病合併時をはじめとした合併症をもつ（高齢者）高脂血症の治療法を検討していきたい。特に、本研究班の主眼である原発性高脂血症患者も高齢者が増えており治療法の特異性につき、検討していきたい。潜在性心不全の経年的進行、炎症性サイトカイン（biomaker）の経年的上昇、血管反応の良好さの維持が生存にかかわる事が示唆された。高脂血症は本邦健常高齢者では減少していない事が示された。

F. 健康危険情報

現在のところは認めない。

G. 研究発表

(1) 論文発表

- 1 Hayashi T, Nomura H, Esaki T, Hattori A, Kano-Hayashi H, Iguchi A, The treadmill exercise-tolerance test is useful for the prediction and prevention of ischemic coronary events in elderly diabetics J Diabetes and its complication (in press)
- 2 Hayashi T, Packiasamy AR, Kano-Hayashi H, Tsunekawa T,

Dingqunfang D, Sumi D, Fukatsu A, Iguchi A. NADPH Oxidase Inhibitor, Apocynin, restores the impaired endothelial dependent and independent responses and scavenges superoxide anion in Rats with Type II Diabetes Complicated by NO Dysfunction Diabetes, Obesity and Metabolism (in press)

4. Ding Qunfang, Toshio Hayashi*, Packiasamy AR Juliet, Asaka Miyazaki, Akiko Fukatsu, Hiroaki Shiraishi, Takahide Nomura, Akihisa Iguchi The effect of high glucose on NO and superoxide anion through endothelial GTPCH1 and NADPH oxidase Life Sciences,2004. 75, 3185-3194
- 3 Nomura H, Hayashi H, Hayashi T, Endo H, Miura H, Satake S, Iguchi A "Bowel incontinence is related to improvement in basic activities of daily living (BADL) in residents of long-term care health facilities for the elderly in Japan". Geriatrics Gerontology International 4, (in press) 2004
5. Horiuchi H, Matsuzawa Y, Mabuchi H, Itakura H, Sasaki J, Yokoyama M, Ishikawa Y, Yokoyama S, Mori S, Ohruji T, Akishita M, Hayashi T, Yamane K, Egusa G, Kita T. Strategy for treating elderly Japanese with hypercholesterolemia. Geriatrics Gerontology International 4, 151-157, 2004
6. Hayashi T, Rani P JA, Fukatsu A, Matsui-Hirai H, Osawa M, Miyazaki A, Tsunekawa T, Kano-Hayashi H, Iguchi A, Sumi D, Ignarro LJ. A new HMG-CoA reductase inhibitor, pitavastatin remarkably retards the progression of high cholesterol induced atherosclerosis in rabbits. Atherosclerosis. 2004;176:255-63.
7. Juliet PA, Hayashi T, Daigo S, Matsui-Hirai H, Miyazaki A, Fukatsu A, Funami J, Iguchi A, Ignarro LJ.. Combined effect of testosterone and apocynin on nitric oxide and superoxide production in PMA-differentiated THP-1 cells. Biochim Biophys Acta. 2004;1693:185-91.
8. Takeuchi K, Watanabe H, Tran QK, Ozeki M, Sumi D, Hayashi T, Iguchi A, Ignarro LJ, Ohashi K, Hayashi H. Nitric oxide: inhibitory effects on endothelial cell calcium signaling, prostaglandin I₂ production and nitric oxide synthase expression. Cardiovasc Res. 2004 ;62:194-201.
9. 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

(2) 学会発表

- # 第33回 日本心脈管作動物質学会 宮崎朝日、林 登志雄、井口昭久 アンギオテンシン受容体拮抗薬ロサルタンの糖尿病血管への作用
第68回 日本循環器学会学術集会

- 1) Hayashi T, Osawa M, Iguchi A. et al. The high incidence of ischemic coronary lesion in elderly diabetics and the efficient prediction by the exercise tolerance test.
- 2) Hayashi T, Iguchi A. et al. Ceriprolol, β 1 antagonist, β 2 agonist retards progression of vascular lesions and restores endothelial dysfunction in Type II diabetic rats.
- 3) Kishimoto N, Sakuma I, Hayashi T, Kano H, Iguchi A. et al. Simvastatin prevents thrombotic occlusion of arterio-venous shunt in dialysis patients and improves endothelial function due to pleiotropic effects.
- 4) Osawa M, Hayashi T, Iguchi A. et al. BNP level is diagnostic for heart failure in elderly, however IL-6, TNF α , or NO is important

The American Geriatrics Society 2004 Annual Scientific Meeting Hayashi T, Osawa M, Iguchi A. In geriatric nursing home, asymptomatic cardiac disorder were frequent-The importance of vascular endocrinological substances and implication for public care insurance-

The 3rd International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications of Nitric Oxide Symposium- Hayashi T. The investigation of NO and superoxide producing enzymes in endothelial cells and macrophages for various coronary risk factors.

一般演題

- 1) Fukatsu A, Hayashi T, Funami J, Iguchi A. et al. The role of endothelial cells in the tolerance induced by nitric oxide donor such as glyceryl trinitrate, isosorbide dinitrate, and sodium nitroprusside.
- 2) Miyazaki A, Hayashi T, Iguchi A. et al. 17β estradiol improves eNOS dysfunction in hyperglycemia- implication for atherosclerotic effect of estrogen.

3) Matsui-Hirai H, Hayashi T, Miyazaki A, Fukatsu A, Packiasamy ARJ, Funami J, Iguchi A. The effect of estrogen on telomerase activity in cultured endothelial cells.

第41回 日本老年医学会学術集会
シンポ 林 登志雄 高齢者の脂質管理- 高齢者におけるリスクの評価と新しい治療
一般演題

- 1) 児玉充央、林登志雄、井口昭久等 高齢者における総合機能評価と心機能との関係日
- 2) 大澤雅子、林登志雄、井口昭久等 高齢者潜在性心不全及びバイオマーカーの生命予後との関係
- 3) 大西丈二、林 登志雄、遠藤英俊、井口昭久等 介護老人保健施設利用者におけるうつ構造分析
- 4) 林 登志雄、井口昭久等 培養血管内皮細胞におけるテロメラーゼ活性の制御機構について

第77回 日本内分泌学会学術集会
シンポジウム 一酸化窒素と心血管病 林 登志雄
NO と動脈硬化- 性ホルモンとスタチン製剤の pleiotropic effect として、及び遺伝子治療と NO ドナーの製剤としての抗動脈硬化作用

第36回日本動脈硬化学会 林 登志雄 児玉充央、井口昭久、高齢糖尿病合併高脂血症患者における無症候性動脈硬化進展予防の検討

第25回日本臨床薬理学会 岸本憲明、佐久間一郎、林 登志雄、井口昭久等 血液透析患者への新派スタチン投与による血流依存性血管拡張の改善効果

The 7th Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology
Hayashi T, Iguchi A et al. Usefulness of exercise tolerance test in elderly for the prevention and management of ischemic coronary artery disease.

H. 知的財産権の出願、登録状況

特になし

脂質性動脈硬化プラーク同定に関する研究

分担研究者 松崎益徳（山口大学医学部教授）

研究要旨

血管内超音波法（IVUS）の高周波信号（RF信号）のWavelet解析が脂質性動脈硬化プラーク同定に有用か否かを冠動脈疾患患者の剖検組織ならびに冠動脈アテレクトミーで得られた組織を用いて in vivo および in vitro で検討した。その結果、IVUSのRF信号のWavelet解析により80%以上の感度と特異度をもって脂質性プラークの同定が可能であった。Wavelet解析は冠動脈疾患の患者における不安定プラークの評価に有用である可能性が示唆された。現在、動脈硬化プラークにおける線維領域と脂肪領域の鑑別に信頼され、かつ市販化された手法がないことから、in vivo で正確に不安定プラークが同定でき、あるいは脂質低下療法によるプラーク安定化を経時的かつ正確に評価できるWavelet解析は冠動脈疾患患者の治療を革新させうる可能性が示唆された。

A. 研究目的

脂質に富み線維性被膜が非薄化した不安定プラークは破裂しやすく急性心血管イベントの主要原因となる(1,2)。そのため破裂する以前に不安定プラークを同定する画像診断技術の開発が試みられてきた。血管内超音波法(IVUS)は、動脈壁の断面を詳細に表示できる画像診断法であり、本法により動脈硬化プラークの量的計測が可能となった(3-15)。しかしながら、特に線維性組織と脂肪組織を区別するにあたって、IVUS画像上の定性的な輝度評価だけでプラークの組織性状評価を行うには大きな限界があることが指摘されてきた(16-19)。この限界を克服するために、線維性プラークと脂質性プラークを区別する様々な定量的組織性状同定法が提唱されてきた(19-24)。しかし、どの方法も市販されるほどには至っていないのが現状である。

Wavelet解析は時系列信号の局所的な幾何学的変化が評価可能な新しい数学的手法で(25)、複雑な信号の中に存在するある特別な局所的波形変化を抽出することができる。本研究の目的は、IVUSの高周波信号(RF信号)のWavelet解析が脂質性動脈硬化プラーク同定

に有用か否かを検討することにある。

B. 研究方法

<In Vitro での検討>

10名の患者の剖検より24片の非石灰化動脈硬化プラークを大腿動脈ならびに冠動脈から採取し、室温の生食内において40 MHz Atlantis Plus™ IVUS カテーテル(CVIS/Boston Scientific, Sunnyvale, CA, USA)でIVUS RF信号を得た。10名のうち8名は虚血性心筋症もしくは陳旧性心筋梗塞にて死亡した患者であり、2名は非心血管イベントにより死亡した患者である。採取した動脈は0.5mm以上の厚さのプラークを有し、その内腔面積は平均 $10.48 \pm 5.78 \text{ mm}^2$ (range 1.57–25.2 mm^2)であった。

プラークの組織性状同定の主眼はいかに線維性組織と脂肪組織を区別するかであり、石灰化プラークは通常の血管内超音波画像を見るだけで高い感度と特異度を持って容易に診断できるとされているため、本研究の対象外とした(13)。超音波イメージングを行った動脈切片の同一部位での病理組織学的検討を可能にするため動脈の長軸方向に対して垂直に留置した外科縫

合針を音響学的マーカーとした。

まず、採取した切片を従来の IVUS にてイメージングした後、少なくとも 0.5mm にわたって明らかに組織上の変化がない部位を選択し、IVUS カテーテルは内腔の中心に、また長軸に平行になるように注意を払い、超音波画像を super VHS テープに記録した。

<データ収集法>

ホルマリン固定した動脈硬化動脈 2 1 片（うち冠動脈 9 片、大腿動脈 1 2 片）の中で 2 7 カ所の非石灰化動脈硬化プラーク断面から、血管内超音波診断装置（ClearView Ultra System, CVIS/Boston Scientific, Sunnyvale, CA, USA）と 40 MHz の IVUS カテーテルを用いて in vitro でイメージングした。カテーテル中心の周り 3 6 0 度の血管垂直断面において、等しい角度（1.4 度）で放射状ベクトル方向に並んだ計 2 5 6 個の IVUS RF 信号を A/D 変換器により記録した（図 1）。

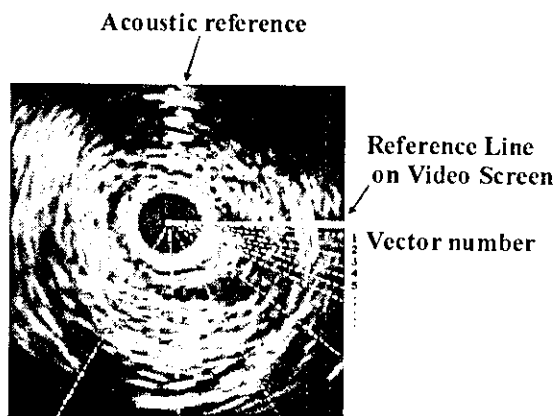


図 1

さらに、RF 信号は 500 MHz 8-bit のサンプリング分解能でリアルタイムに記録され、ハードディスクに記録した。それぞれの動脈切片の IVUS 画像はビデオテープにも記録した。解析した RF 信号はイメージングしたプラークで最も厚い部位から取り込み、その後、その部位より少なくとも 1 5 度（RF ベクトル 10 個分）以上離れた隣接部位からも RF 信号を複数サンプリングし、プラークの厚さが 0.5mm 以上の部分のみを検討対象とした。明らかな画像の歪み(NURD)、石灰化、エコー信号の dropout などを認める部位からの RF 信号は除外し、最終的に 8 5 ベクトルを検討対象とした。

<Wavelet解析>

IVUS RF 信号の Wavelet 解析(25)は MATLAB (The MathWorks, Natick, MA, USA) を用いてオフラインで行った。Wavelet 解析は、信号を時間スケール領域に展開して表示する解析で、Wavelet のスケールはその伸縮の度合いをさす。Wavelet 解析を行うにあたっては以下の操作を行う（図 2）。

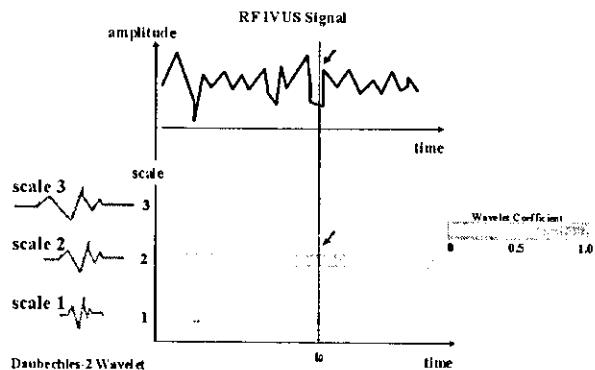


図 2

1) ある Wavelet を選び、解析する信号の最初のセクションと比較する。2) Wavelet とそのセクションの相関係数 C を計算する。その値は Wavelet がいかにその信号のセクションと相関しているかを示す。 C が大きいほど、相関性が高いことになる。その結果は選んだ Wavelet の形状に左右される。3) Wavelet を時間軸の右方向へシフトさせて、上記 1)2) を繰り返す。対象とする信号がすべて解析されるまで行う。4) 次に Wavelet をスケール（伸展）させて、1)-3) のステップを繰り返す。5) すべてのスケールについて 1)-4) のステップを繰り返す。この操作により、Wavelet 係数 (C) が、スケールと時間軸上の位置の関数として算出される。本研究では、最小のサンプリング間隔に応じた最小の Wavelet のスケールから上記の操作を自動的に始めるプログラムを用いた。これらのステップが終了すると、Wavelet と解析する信号との間の相関係数である Wavelet 係数を信号のそれぞれのセクションに対してそれぞれのスケールについて算出した。この係数の値は、 x 軸を時系列信号の時間軸上の位置（時刻）、 y 軸をスケールに対応させて xy 軸上に、Wavelet 係数が高いものほどピンクに、低いものほどブルーにカラー表示するように設定した。

<In Vivo での検討>

13名の冠動脈疾患患者(平均 65 ± 6 歳, 54-74歳)より29片の冠動脈プラーク切片について同様の解析を行った。13名のうち7名は安定狭心症、6名は急性冠症候群の患者である。IVUS RF信号はプラークの最も厚い部分より記録した。これらのプラークを方向性冠動脈アテレクトミー(FLEXI-CUT/GUIDANTカテーテル, Indianapolis, IN, USA)を行い、病理学的に組織性状を検討した。元のプラーク量の1/3以上が残存した不十分なアテレクトミー施行例は除外した。なお本研究は患者のインフォームドコンセントを取得後に施行した。

<病理組織学的検討>

In vitroでのWavelet解析は、血管内超音波イメージングが終了後、音響マーカー用外科縫合針を抜去し、同部位にindia inkで印をつけてMasson's trichrome染色を行った。血管内超音波イメージングと病理組織学的検討はそれぞれ別の観察者により行った。視診により、脂質コアがもとのプラーク断面積の50%以上を占めるプラークを脂質性プラークとした。脂質コアは、脂質含有泡沫細胞、細胞外脂質、コレステリン結晶、脂質プール、壊死物質などからなる領域と定義した。一方、明らかな脂質コアがなく、密なコラーゲン線維に満ちた細胞に乏しい組織からなるプラークを線維性プラークとした。脂質コアの厚さは少なくとも0.3mmで、かつ、プラーク面積の50%以上のプラークのみを対象とした。

In vivoの検討では、アテレクトミーで得られた標本をHematoxylin-EosinならびにAzanで染色し、プラーク断面積の80%以上が脂質コアであるものを脂質性プラーク、プラーク断面積の80%以上が線維領域であるものを線維性プラークとし、典型的な脂質優位のプラークまたは線維優位のプラークを検討対象とした。

<統計手法>

本論文では数値は平均±標準偏差(SD)で表示した。ROC解析はWavelet解析による組織性状同定の最適な診断基準を決定するために行った。

C&D. 研究結果と考察

<In Vitro での検討結果>

本研究で用いたプラークの厚さは平均 1.42 ± 0.47 mmであった。病理組織学的検討によれば、検討した85RFベクトルのうち、29ベクトルに相当する部位が脂質性プラークであった。図3に、脂質性プラークと線維性プラークからのIVUS RF信号のWaveletの結果の代表例を示す。脂質性プラークに対してDaubechies-2 wavelet関数を用いたWavelet a解析を行うと、スケール20から30にかけて、明らかに特異的なパターンが認められた。このIVUS RF信号のWavelet解析の時間—スケール領域表示では、脂質性プラークには、脂質コアのない線維性プラークでは見られないピンク色のパターンが観察された。

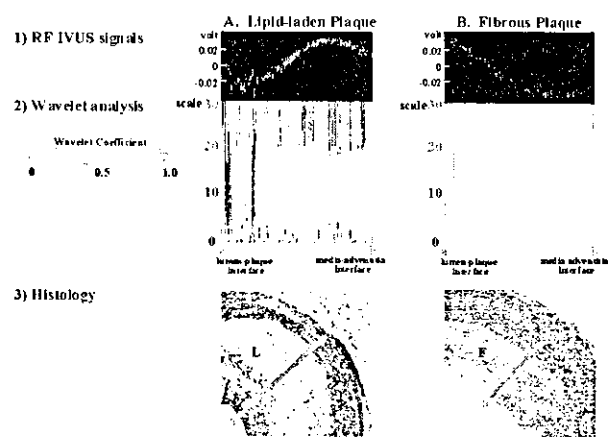


図3

スケール20から30にかけて、Wavelet係数(C)がある値以上になると脂質性領域がしばしば認められた。そのため、ROC解析を行った結果、Wavelet係数が0.6以上である時という基準が脂質性プラークを同定するのに最適であることが判明した(図4)。

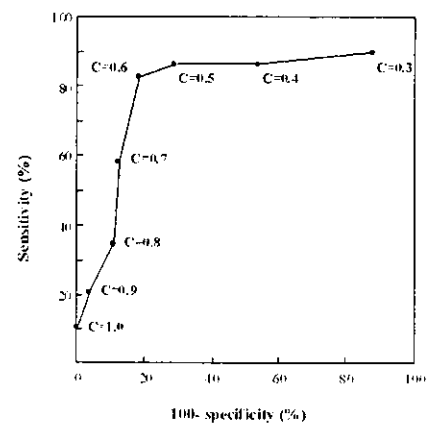


図4

この基準により、脂質性プラークが感度83% (24/29)、特異度82% (46/56)の精度で同定できることが判明した。

<In Vivo での検討結果>

アテレクトミー後の病理組織学的検討により、冠動脈プラーク29片のうち16片が脂質優位であった。残りの13片においては明らかな脂肪領域は認められなかった。脂質性プラークにおいて、Daubechies-2 wavelet を用いた Wavelet 解析により、同様のカラーパターンが認められた (図5)。In vitro での検討と同じ基準を用いたところ、脂質性プラークは感度81% (13/16)、特異度85% (11/13)の精度で同定できた。

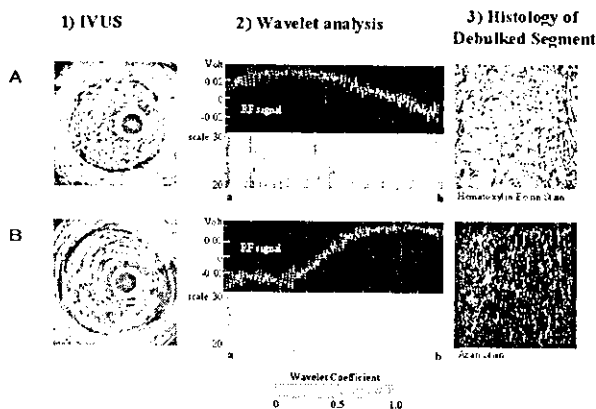


図5

E. 結論

本研究の結果、Wavelet 解析により80%以上の感度と特異度をもって脂質性プラークの同定が可能であったことから、この方法は冠動脈疾患の患者における不安定プラークの評価に有用であるかもしれない。現在、動脈硬化プラークにおける線維領域と脂肪領域の鑑別に信頼され、かつ市販化された手法がないことから、In vivo で正確に不安定プラークが同定でき、あるいは脂質低下療法によるプラーク安定化を経時的かつ正確に評価できる方法が出現すれば、冠動脈疾患患者の治療を革新させるものと考えられる。今後は、Wavelet 解析の結果と臨床データや炎症性マーカーなど動脈硬化の指標と比較検討を行い、冠動脈疾患患者における将来の心血管イベントを予測する上で本法の臨床的有用性を評価していく必要がある。

参考文献

1. Fuster V, Badimon L, Badimon J, et al. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1992;326:242-250,310-318.
2. Libby P: The molecular basis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91:2844-2850.
3. Yock PG, Johnson EL, Linker DT. Intravascular ultrasound: Development and clinical potential. *Am J Card Imag* 1988;2:185-193.
4. Gussenhoven EJ, Essed CE, Lancee CT, et al. Arterial wall characteristics determined by intravascular ultrasound imaging: an in vitro study. *J Am Coll Cardiol* 1989;14:947-952.
5. Tobis JM, Mallery J, Mahon D, et al. Intravascular ultrasound imaging of human coronary arteries in vivo. Analysis of tissue characterizations with comparison to in vitro histological specimens. *Circulation* 1991;83:913-926.
6. Mallery JA, Tobis JM, Griffith J, et al. Assessment of normal and atherosclerotic arterial wall thickness with an intravascular ultrasound imaging catheter. *Am Heart J* 1990;119:1392-1400.
7. Nissen SE, Grines CL, Gurley JC, et al. Application of a new phased-array ultrasound imaging catheter in the assessment of vascular dimensions: In vivo comparison to cineangiography. *Circulation* 1990;81:660-666.
8. Potkin BN, Bartorelli AL, Gessert JM, et al. Coronary artery imaging with intravascular high-frequency ultrasound. *Circulation* 1990;81:1575-1585.
9. Nissen SE, Gurley JC, Grines CL, et al. Intravascular ultrasound assessment of lumen size and wall morphology in normal subjects and patients with coronary artery disease. *Circulation* 1991;84:1087-1099.
10. Nishimura RA, Edwards WD, Warnes CA, et al. Intravascular ultrasound imaging: in vitro validation and pathologic correlation. *J Am Coll Cardiol* 1990;16:145-154.
11. Hodgson JM, Graham SP, Savakus AD, et al. Clinical percutaneous imaging of coronary anatomy using an over-the-wire ultrasound catheter system. *Int J Card Imaging* 1989;4:187-193.
12. Di Mario C, The SH, Madretsma S, et al. Detection and characterization of vascular lesions by intravascular ultrasound:

- an in vitro study correlated with histology. *J Am Soc Echocardiogr* 1992;5:135-146.
13. Friedrich GJ, Moes NY, Muhlberger VA, et al. Detection of intralésional calcium by intracoronary ultrasound depends on the histologic pattern. *Am Heart J* 1994;128:435-441.
14. Bartorelli AL, Potkin BN, Almagor Y, et al. Plaque characterization of atherosclerotic coronary arteries by intravascular ultrasound. *Echocardiography* 1990;7:389-395.
15. Peters RJ, Kok WE, Havenith MG, et al. Histopathologic validation of intracoronary ultrasound imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 1994;7:230-241.
16. Hiro T, Leung CY, Russo RJ, et al. Variability in tissue characterization of atherosclerotic plaque by intravascular ultrasound: a comparison of four intravascular ultrasound systems. *Am J Card Imaging* 1996;10:209-218.
17. Hiro T, Leung CY, De Guzman S, et al. Are soft echoes really soft? Intravascular ultrasound assessment of mechanical properties in human atherosclerotic tissue. *Am Heart J* 1997;133:1-7.
18. Kimura BJ, Bhargava V, DeMaria AN. Value and limitations of intravascular ultrasound imaging in characterizing coronary atherosclerotic plaque. *Am Heart J* 1995;130:386-396.
19. Jeremias A, Kolz ML, Ikonen TS, et al. Feasibility of in vivo intravascular ultrasound tissue characterization in the detection of early vascular transplant rejection. *Circulation* 1999;100:2127-2130.
20. Bridal SL, Fornes P, Bruneval P, et al. Parametric (integrated backscatter and attenuation) images constructed using backscattered radio frequency signals (25-56 MHz) from human aortae in vitro. *Ultrasound Med Biol* 1997;23:215-229.
21. Linker DT, Yock PG, Gronningsaether A, et al. Analysis of backscattered ultrasound from normal and diseased arterial wall. *Int J Card Imaging* 1989;4:177-185.
22. Kawasaki M, Takatsu H, Noda T, et al. Non-invasive tissue characterization of human atherosclerotic lesions in carotid and femoral arteries by ultrasound integrated backscatter: comparison between histology and integrated backscatter images before and after death. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:486-492.
23. Kawasaki M, Takatsu H, Noda T, et al. In Vivo quantitative tissue characterization of human coronary arterial plaques by use of integrated backscatter intravascular ultrasound and comparison with angioscopic findings. *Circulation* 2002;105:2487-2492.
24. Wilson LS, Neale ML, Talhami HE, et al. Preliminary results from attenuation-slope mapping of plaque using intravascular ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 1994;20:529-542.
25. Daubechies I, Grossmann A. An integral transform related to quantization. *J Mat Phys* 1980;21:2080-2090.
26. Benkeser PJ, Churchwell AL, Lee C, et al. Resolution limitations in intravascular ultrasound imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 1993;6:158-165.
27. Nair A, Kuban BD, Tuzcu EM, et al. Coronary plaque classification with intravascular ultrasound radiofrequency data analysis. *Circulation* 2002;106:2200-2206.
28. de Korte CL, Siervogel MJ, Mastik F, et al. Identification of atherosclerotic plaque components with intravascular ultrasound elastography in vivo: a Yucatan pig study. *Circulation* 2002;105:1627-1630.
29. Hiro T, Fujii T, Yasumoto K, et al. Detection of fibrous cap in atherosclerotic plaque by intravascular ultrasound by use of color mapping of angle-dependent echo-intensity variation. *Circulation* 2001;103:1206-1211.

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

第9回しまなみカンファレンス、愛媛、2004.6
廣 高史

特別講演「血管内エコー法による動脈硬化病変の組織性状診断～読影の基礎と最近の動向～」

1. 論文発表

J Am Coll Cardiol 2005 (*in press*)

H. 知的財産権の出願、登録状況

特になし。

家族性複合型高脂血症の症例解析

分担研究者 （小堀祥三）

研究要旨

V型高脂血症により急性腹症を来した16歳女子高生を通して発見された家族性複合型高脂血症の一家系について報告する。両親は又従兄妹結婚であり、発端者の父親がIIa型高脂血症であった。そこで、発端者の家系者26名中19名が調査された。その結果、V型高脂血症は発端者のみ、父親、父方祖母、2名の父方伯母、2名の父方いとこにIIa型高脂血症、父方の従兄弟3名にIV型高脂血症がみられた。19名中10名に何らかの高脂血症がみられ家族性複合型高脂血症の多数例の一家系と考えられた。家系者の高脂血症者と正脂血症者の間でアポリポ蛋白Bに有意の差がみられた。

A. 研究目的

家族性複合型高脂血症の多数例家系者に対する脂質、アポリポ蛋白および関連酵素等についての特徴を検討することを目的とした。

B. 研究方法

対象は発端者を含むその家系者26名中19名である。血清脂質[総コレステロール(TC)、トリグリセリド(TG)、高比重リポ蛋白コレステロール(HDL-C)]、アポリポ蛋白(Aポ) A-I、A-II、B、C-II、C-III、E、アガロース電気泳動、等電点電気泳動、リポ蛋白リパーゼ(LPL)、肝性リパーゼ(HTGL)、レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ(LCAT)が測定された。

(倫理面への配慮)

対象者の人権の擁護について一得られた成績に関しては、個々の症例で発表は行わず、単に統計上の数値として発表する。

C&D. 研究結果と考察

発端者にV型高脂血症、父親、父方祖母、2名の父方伯母、2名の父方いとこにIIa型高脂血症、父方の従

兄弟3名にIV型高脂血症がみられた。19名中10名に何らかの高脂血症がみられ家族性複合型高脂血症と考えられた。家系者の高脂血症者と正脂血症者の間でアポリポ蛋白Bに有意の差がみられた。その他には有意の差はみられなかった。

E. 結論

家族性複合型高脂血症の多数例の一家系の高脂血症者と正脂血症者の間でアポBに二峰性の変化がみられ高脂血症者における肝でのアポB合成亢進が推測された。

F. 健康危険情報

本研究においては該当する健康危険情報は認めなかった。

G. 研究発表

なし。

H. 知的財産権の出願、登録状況

出願・登録の予定なし。

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

日本人における高コレステロール血症治療目標値に関する研究

国際医療福祉大学大学院
医療福祉学研究科保健医療学専攻
分担研究者（佐々木 淳）

研究要旨

日本で始めての大規模コレステロール低下介入試験である九州脂質治療研究（KLIS: Kyushu Lipid Intervention Study）のデータを用い、総コレステロール値の低下率と冠動脈イベントおよび脳梗塞発症に関する解析を行った。その結果、冠動脈イベントおよび脳梗塞発症のリスクは総コレステロール低下率 15%以上、治療後の総コレステロール目標値は 220mg/dl 以下が望ましいと考えられた。

A. 研究目的

KLIS (Kyushu Lipid Intervention Study: 九州脂質治療研究) は中高年の日本人男性高コレステロール血症患者を対象に、HMG-CoA 還元酵素阻害薬（スタチン）であるプラバスタチン投与による冠動脈イベントおよび脳梗塞の初発抑制効果を確認する目的で実施された非無作為一次予防試験である。対照としては従来の治療薬または食事・運動を含む生活習慣改善群とし平均 5 年間追跡した。その結果、プラバスタチン治療により冠動脈イベントおよび脳梗塞予防効果を示す結果が得られた。しかし、日本人高コレステロール血症患者における目標値に関しては十分に評価されていない。

本研究では KLIS 患者における総コレステロール低下率および到達値と冠動脈イベントおよび脳梗塞発症に及ぼす影響を検討した。

B. 研究対象および方法

KLIS のデータを用いて解析を行った。解析対象症例は登録された 5640 例より、同意撤回 147 例、契約不備 616 例、除外規定違反 97 例、追跡開始 6 ヶ月以内に冠イベントおよび脳梗塞を起こした

13 例、追跡開始後の総コレステロール値が無い

152 例を除外した 4615 例について検討を行った。評価項目は冠動脈イベントおよび脳梗塞とした。冠動脈イベントは、致死性・非致死性心筋梗塞の発症、冠動脈インターベンションの施行および心臓死・突然死と定義した。脳梗塞の診断基準は症状に加え CT、MRI、血管造影で確認された場合とした。

統計解析は Cox 比例ハザードモデルを用い、総コレステロール低下率、治療後の総コレステロールと冠動脈イベントおよび脳梗塞のリスクの解析を行った。調整因子として、年齢、TC、HDL-C、BMI、飲酒習慣の有無、高脂血症治療歴、スタチン系薬剤使用歴の有無を用いた。

（倫理面への配慮）

KLIS 開始に際し試験目的・内容および結果の発表に関して本人に十分説明し、Informed consent を取得した。

C&D. 研究結果と考察

表1. 総コレステロール低下率と冠イベント・脳梗塞の相対リスク

低下率(%)	n	冠イベント		脳梗塞	
		RR	(95%CI)	RR	(95%CI)
<5	1,098	27	1.00	31	1.00
5-14	1,805	49	0.98(0.61-1.59)	33	0.56(0.34-0.92)
≥15	1,712	49	0.78(0.46-1.32)	28	0.39(0.22-0.69)

表2. 治療中総コレステロール値と冠イベント・脳梗塞の相対リスク

治療中総コレステロール値/dl	n	冠イベント		脳梗塞	
		RR	(95%CI)	RR	(95%CI)
>240	946	1.00		1.00	
220-239	1,408	0.53	(0.33-0.86)	0.60	(0.35-1.02)
200-219	1,404	0.48	(0.29-0.79)	0.32	(0.18-0.59)
<200	857	0.50	(0.28-0.89)	0.30	(0.15-0.59)

総コレステロール値低下率5%以下に比べ15%以上では、冠動脈イベントリスクは22%、脳梗塞リスクは61%の低下を認めた。総コレステロールの到達値240mg/dl以上に比べ220mg/dl以下では冠動脈イベントリスクは50%、脳梗塞リスクは70%の低下を認めた。

E. 結論

- 冠動脈イベント、脳梗塞は総コレステロール値の低下率が高いほど相対リスクが低下し、低下率15%以上が適当と考えられた。
- 高コレステロール血症治療目標値として総コレステロール値220mg/dl以下が示された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

I. 論文発表

- Iwashita M, Matsushita Y, Sasaki J, Arakawa K, Kono S; Kyushu Lipid Intervention Study (KLIS) Group. Relation of serum total cholesterol and other factors to risk of cerebral infarction in Japanese men

with hypercholesterolemia.

Circ J. 2005 Jan;69(1):1-6.

- Horiuchi H, Kita T, Mabuchi H, Matsuzaki M, Matsuzawa Y, Nakaya N, Oikawa S, Saito Y, Sasaki J, Shimamoto K, Itakura H; J-LIT Study Group.

Primary cardiovascular events and serum lipid levels in elderly Japanese with hypercholesterolemia undergoing 6-year simvastatin treatment: a subanalysis of the Japan lipid intervention trial. J Am Geriatr Soc. 2004 ;52(12):1981-7.

- Horiuchi H, Matsuzawa Y, Mabuchi H, Itakura H, Sasaki J, Yokoyama M, Ishikawa Y, Yokoyama S, Mori S, Phruai T, Akishita M, Hayashi T, Yamane K, Egusa G, Kita T: Strategy for treating elderly Japanese with hypercholesterolemia. Geriatr Gerontol Internat 2004; 4: 151-156

- 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.

- 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.

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

動脈硬化発症要因の遺伝子およびその重積性に関する研究

— 一般住民におけるSNPsデータベースの作成 —

分担研究者 武城英明（千葉大学大学院医学研究院 教授）

研究協力者 上村公平（安房医師会病院 院長）

研究協力者 江見 充（日本医科大学 教授）

研究要旨 虚血性心疾患等の動脈硬化性疾患は、高脂血症等の複数の危険因子により引き起こされる。しかしながら、高脂血症にともなう動脈硬化の進展は画一的でなく、生活様式および遺伝的背景を考慮する必要がある。多様性の原因として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。登録を終了した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、今年度 537 検体、413SNPs の頸動脈内膜中膜肥厚度（IMT）および血清脂質値に対する多変量解析を終了した。その結果、IMT および補正 LDL、HDL、TG 各血清濃度に対する従来の危険因子と統計学的有意な SNPs による重回帰式を得た。IMT は性別、年齢、最高血圧、HDL に加え、6 種類の SNPs による回帰式を得た。年齢、性別で標準化した血清脂質についても同様に、危険因子と SNPs による回帰式を得た。本研究結果により、一般住民における動脈硬化の進展の多様性は、年齢、性別などの危険因子に加え、遺伝子多型の組み合わせにより生じることが明らかになった。これらの遺伝子多型を考慮した診療体系を構築することが有用であると考えられる

A. 研究目的

虚血性心疾患等の動脈硬化性疾患は、高脂血症等の複数の危険因子により引き起こされる。しかしながら、高脂血症にともなう動脈硬化の進展は画一的でなく、生活様式および遺伝的背景を考慮する必要がある。多様性の主な原因である重積遺伝子異常の差異について、同一地区の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。

B. 研究方法

住民健診受診者の中から高脂血症を有する 1100 名について、性別、年齢、血圧、血清脂質等の動脈硬化の危険因子を登録した。537 検体を対象に、Japanese Single Nucleotide Polymorphisms (JSNP) からゲノムワイドに抽

出された 413SNPs の解析（高脂血症に関連していると考えられる 46SNPs を含む）を行った。動脈硬化の進展程度の指標として、冠動脈疾患の既往に加え頸動脈内膜中膜肥厚度（IMT）を計測、血中危険因子として酸化 LDL 濃度（MDA-LDL）を測定した。解析 SNPs と血清脂質値、動脈硬化進展指標について統計学的に重回帰解析を行った。血清脂質値は、2000 年の日本人の血清脂質調査の結果から年齢、性別を 40 才男性における数値に補正して解析に用いた。

（倫理面への配慮）

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

C. 研究結果

高脂血症を有する一般住民 537 名における 413 種類の SNPs を解析した。対象の臨床的指標は、男女比 3:7、年齢 61±10 才、喫煙者 11%、総コレステロール値 249±37 mg/dl、中性脂肪値 129±77 mg/dl、HDL コレステロール値 53±18 mg/dl だった。高血圧は 12% にみられ、糖尿病の既往は除かれた。

SNPs 解析は $R > 0.1$ を有する SNPs を最初にスクリーニングした。その結果、統計学的有意な SNPs は、標準化 LDL コレステロールを規定する 12 種類（高脂血症関連 SNPs 4 種類）、標準化 HDL コレステロールを規定する 32 種類（高脂血症関連 SNPs 4 種類）、標準化中性脂肪を規定する 14 種類（高脂血症関連 SNPs 4 種類）、IMT を規定する 16 種類（高脂血症関連 SNPs は含まれず）を同定した。

これらの抽出した SNPs と危険因子を合わせて下記の重回帰式を得た。

$$\begin{aligned} [\text{標準化 LDL}] = & 160.08 - 0.2082[\text{年齢}] + 0.2141[\text{血圧}] \\ & + 10.769 [\text{LRP5}] - 5.219[\text{MMP8}] - 9.421 [\text{LHCGR}] - \\ & 7.517[\text{CENTG1}] \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} [\text{標準化 HDL}] = & 94.889 - 0.1778[\text{体重}] - 21.895[\log \\ & (\text{adj-TG})] + 9.228[\text{CETP}] - 2.112[\text{AMPK1}] + \\ & 3.141[\text{ABCA1}] + 1.899[\text{SCARB1}] \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} [\text{標準化 TG}] = & 268.16 + 0.8634[\text{血圧}] - \\ & 2.470[\text{Adj-HDL}] + 19.287[\text{MC3R}] - 62.338[\text{KCNA10}] \\ & + 15.401[\text{MMP3}] + 13.032[\text{MIZF}] \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} [\text{IMT}] = & 0.8223 - 0.08595[\text{女性}] + 0.005203[\text{年齢}] + \\ & 0.002172[\text{最高血圧}] - 0.002183[\text{HDL}] - 0.5794[\text{KIF9}] - \\ & 0.04985[\text{MEP1A}] + 0.07177[\text{INTERIM}] + 0.04165[\text{LEPRE1}] \\ & - 0.04425[\text{CHN2}] + 0.04550[\text{CHSY1}] \end{aligned}$$

D. 考察

一般住民における IMT 進展因子を同定するために、従来の危険因子と解析 SNPs を合わせた寄与度として重回帰分析を行った。IMT（標準化なし）を規定する因子は、従来報告されている性別、年齢が大きく寄与することが本

対象においても明らかになった。加えて、最高血圧、HDL 値が規定因子として抽出された。これらと同様に SNPs を検討すると、KIF9、MEP1A、INTERIM、LEPRE1、CHN2、CHSY1 のゲノムワイドに抽出された SNPs が同定された。これらの SNPs の各々の寄与度は、性別等の危険因子と比較して大きくないが、もっとも差異を表す SNPs ハプロタイプの間で比較すると IMT において 0.17mm の差異となることから、これらの差異が遺伝的多様性を表すことが推測される。これらの SNPs には高脂血症に関連した抽出 SNPs は含まれず、各々の SNPs の機能的または遺伝学的意義については今後検討する必要がある。

血清脂質を規定する因子の重回帰式から特筆すべき結果が得られた。性別、年齢を標準化した LDL を規定する因子として、血圧に加え、LRP5、MMP8、LHCGR、CENTG1 の SNPs が同定された。LRP5 は高脂血症関連 SNPs として抽出された LDL 受容体関連遺伝子である。標準化 HDL を規定する因子として、体重、TG に加え、CETP、AMPK1、ABCA1、SCARB1 の SNPs が同定された。CETP 変異は、すでに我が国において高頻度で存在する HDL 規定因子として本研究班で同定した遺伝子異常であり、本対象における解析が適切であることを示す結果である。ABCA1、SCARB1 も高脂血症関連遺伝子として抽出されたものであり、HDL 濃度はこれらの HDL 代謝に機能的に関連する SNPs 異常により規定されていることが明らかになった。標準化 TG は、血圧、HDL に加え、MC3R、KCNA10、MMP3、MIZF の SNPs が同定された。これらの結果は、これまで明らかにされていた個々の危険因子、遺伝子異常が、全体としてどの程度 IMT や血清脂質に寄与しているかを初めて明らかにすることができた貴重な成果と考えられる。

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重積することにより高脂血症を起因する可能性を明らかにした。今後 SNPs の重積性と寄与度を評価するために、さらに大規模な対象にゲノムワイドな SNPs 解析が必要と考えられる。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

論文発表

- 1: Ito M, Bujo H, Takahashi K, Arai T, Tanaka I, Saito Y. Implantation of primary cultured adipocytes secreting insulin modifies plasma glucose levels in diabetic mice. *Diabetologia* 2005 in press.
- 2: Miyazawa-Hoshimoto S, Takahashi K, Bujo H, Hashimoto N, Yagui K, Saito Y. The roles of degree of fat deposition and its localization on VEGF expression in adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004 Dec 21; [Epub ahead of print]
- 3: Seki N, Bujo H, Jiang M, Shibasaki M, Takahashi K, Hashimoto N, Saito Y. A potent activator of PPARalpha and gamma reduces the vascular cell recruitment and inhibits the intimal thickening in hypercholesterolemic rabbits. *Atherosclerosis.* 2005 Jan;178:1-7.
- 4: Kitagawa Y, Bujo H, Takahashi K, Shibasaki M, Ishikawa K, Yagui K, Hashimoto N, Noda K, Nakamura T, Yano S, Saito Y. Impaired glucose tolerance is accompanied by decreased insulin sensitivity in tissues of mice implanted with cells that overexpress resistin. *Diabetologia.* 2004;47:1847-53.
- 5: Bujo H, Takahashi K, Saito Y, Maruyama T, Yamashita S, Matsuzawa Y, Ishibashi S, Shionoiri F, Yamada N, Kita T; Research Committee on Primary Hyperlipidemia of the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan. 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.* 2004;11:146-51.
- 6: Zhu Y, Bujo H, Yamazaki H, Ohwaki K, Jiang M, Hirayama S, Kanaki T, Shibasaki M, Takahashi K, Schneider WJ, Saito Y. LRP11, an LDL Receptor Gene Family Member, Is a Novel Regulator of Smooth Muscle Cell Migration. *Circ Res.* 2004; 94:752-8
- 7: 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.

8: Tanaga K, Bujo H, Zhu Y, Kanaki T, Hirayama S, Takahashi K, Inoue M, Mikami K, Schneider WJ, Saito Y. LRP1B attenuates the migration of smooth muscle cells by reducing membrane localization of urokinase and PDGF receptors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1422-8.

9: 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.

10: Shibasaki M, Bujo H, Kobayashi H, Takahashi K, Saito Y. Statins as a possible distribution modulator of bone marrow-derived smooth muscle cells in plaques? *Atherosclerosis.* 2004;176:427-8.

11: Yoshida Y, Hashimoto N, Tokuyama Y, Kitagawa H, Takahashi K, Yagui K, Kanatsuka A, Bujo H, Higurashi M, Miyazawa S, Yoshida S, Saito Y. Effects of weight loss in obese subjects with normal fasting plasma glucose or impaired glucose tolerance on insulin release and insulin resistance according to a minimal model analysis. *Metabolism.* 2004;53:1095-100.

12: Mabuchi H, Nohara A, Higashikata T, Ueda K, Bujo H, Matsushima T, Ikeda Y, Nii M. Clinical efficacy and safety of rosuvastatin in Japanese patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *J Atheroscler Thromb.* 2004;11:152-8.

13: Scherzer CR, Offe K, Gearing M, Rees HD, Fang G, Heilman CJ, Schaller C, Bujo H, Levey AI, Lah JJ. Loss of apolipoprotein E receptor LRP11 in Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2004;61:1200-5.

H. 知的財産権の出願、登録状況
特になし。

III.研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ito M, Bujo H, Takahashi K, Arai T, Tanaka I, Saito Y.	Implantation of primary cultured adipocytes secreting insulin modifies plasma glucose levels in diabetic mice.	Diabetologia	in press		2005
Miyazawa-Hoshimoto S, Takahashi K, Bujo H, Hashimoto N, Yagui K, Saito	The roles of degree of fat deposition and its localization on VEGF expression in adipocytes	Am J Physiol Endocrinol Metab.	in press		2005
Seki N, Bujo H, Jiang M, Shibasaki M, Takahashi K, Hashimoto N, Saito Y	A potent activator of PPARalpha and gamma reduces the vascular cell recruitment and inhibits the intimal thickening in hypercholesterolemic rabbits	Atherosclerosis.	178	1-7	2005
Kitagawa Y, Bujo H, Takahashi K, Shibasaki M, Ishikawa K, Yagui K, Hashimoto N, Noda K, Nakamura T, Yano S, Saito Y	Impaired glucose tolerance is accompanied by decreased insulin sensitivity in tissues of mice implanted with cells that overexpress resistin.	Diabetologia	47	1847-55	2004
Bujo H, Takahashi K, Saito Y, Maruyama T, Yamashita S, Matsuzawa Y, Ishibashi S, Shionoiri F, Yamada N, Kita T. Research Committee on Primary Hyperlipidemia of the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan.	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.	94	146-51	2004
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	94	752-8	2004
Yamazaki K, Bujo H, Taira K, Ito 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	172	181-7	2004
Tanaga K, Bujo H, Zhu Y, Kanaki T, Hirayama S, Takahashi K, Inoue M, Mikami K, Schneider WJ, Saito Y	LRP1B attenuates the migration of smooth muscle cells by reducing membrane localization of urokinase and PDGF receptors	Arterioscler Thromb Vasc Biol	24	1422-8	2004
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	49	24-8	2004
Shibasaki M, Bujo H, Kobayashi H, Takahashi K, Saito Y	Statins as a possible distribution modulator of bone marrow-derived smooth muscle cells in plaques? Statins as a possible distribution modulator of bone marrow-derived smooth muscle cells in plaques?	Atherosclerosis	176	427-8	2004