

200501369A

厚生労働科学研究研究費補助金
国際医学協力研究事業

生活習慣病の日米間における
健康障害とその問題に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 齋藤 康

平成18（2006）年3月

目 次

I. 総括研究報告		
生活習慣病の日米間における健康障害とその問題に関する研究	-----	1
千葉大学大学院医学研究院		齋藤 康
II. 分担研究報告		
1. 血清リポ蛋白濃度に対する環境と遺伝の影響		
一ベトナムの小児におけるコレステロールエステル転送蛋白遺伝子多型と 血清HDLコレステロール値の検討	-----	9
自治医科大学附属大宮医療センター		川上 正舒
2. 循環器疾患の診療における心血管組織の石灰化の意義	-----	12
東京大学大学院医学系研究科		大内 尉義
3. メタボリックシンドロームの高トリグリセリド血症発症の機構	-----	16
大阪大学大学院医学系研究科		山下 静也
4. ベトナム都市部住民におけるメタボリック・シンドロームおよび糖尿病に関する研究	-----	18
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部医学部		山本 茂
5. 日本人2型糖尿病患者におけるメタボリックシンドロームの頻度と動脈硬化リスク	-----	22
筑波大学大学院人間総合科学研究科(医学分野)		島野 仁
6. 国民栄養調査結果からみたわが国のメタボリックシンドロームに関する一考察	-----	26
独立行政法人国立健康・栄養研究所		松村 康弘
7. 日本人における循環器疾患の発症の危険因子に関するコホート研究	-----	32
自治医科大学地域医療学センター		石川 鎮清
8. インスリン分泌障害に関する研究	-----	35
京都大学大学院医学研究科		稲垣 暢也
9. 生活習慣病による動脈硬化性健康障害に関する研究	-----	37
千葉大学大学院医学研究院		武城 英明
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	39
IV. 研究成果の刊行物・別冊	-----	41

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（国際医学協力研究事業）
総括研究報告書

生活習慣病の日米間における健康障害とその問題に関する研究
主任研究者 齋藤 康（千葉大学大学院医学研究院 教授）

研究要旨 本研究は、日本、米国および東南アジア諸国における栄養代謝に関わる様々な諸問題に焦点を当て調査研究することを目的とする。今年度から実施された本研究事業は以下の項目を計画目標とした。1) 栄養と疾患発症、進展ならびに予後との関係を明らかにする。2) 遺伝子、血中代謝および分子マーカーを用いた各地域における疾患の相違点に関する機序解明をおこなう。これらの研究成果を基盤に、生活習慣病の予防や治療のための継続研究計画を探索した。今年度の研究成果から、日本およびベトナムにおける肥満症、糖尿病やこれらに関連した代謝疾患、とりわけ近年日米両国で問題化されているメタボリックシンドロームの疫学調査を比較検討することの重要性が示された。アジア、とりわけ急速な発展とともに食生活が変化し、栄養に関わる諸問題が顕在化したベトナムをアジア地域の中心にした疫学調査を実施することが本研究目的に有用であることが明らかになった。各地域の疫学研究、疾患モデルを用いた分子生物学的研究により、日本、米国、アジアの各々の地域で遺伝子、血中代謝、分子マーカーを用いて疾患の相違点に関する機序を解明することが生活習慣病の日米間における健康障害とその問題を解決することに重要であることが示された。

齋藤 康（千葉大学大学院教授）、川上正舒（自治医科大学教授）、大内尉義（東京大学大学院教授）、山下静也（大阪大学大学院助教授）、山本 茂（徳島大学大学院教授）、島野 仁（筑波大学大学院助教授）、松村康弘（国立健康・栄養研究所部長）、石川鎮清（自治医科大学講師）、稲垣暢也（京都大学大学院教授）、武城英明（千葉大学大学院教授）

重要課題であったミネラル等の欠損に伴う健康障害に関する研究に加えて、1990年代より脂肪や糖の過剰摂取に伴う糖尿病や動脈硬化性疾患などの健康障害が重要課題として加わった。これらの栄養代謝に関わる諸問題は、その現状を把握し、病態の解明と予防ならびに治療法の確立を早急に解決する必要がある。日本、米国および東南アジアにおけるこれらの課題に関わる専門家による、病態、疫学および治療の各方面からアプローチした研究成果は、我が国、米国における栄養代謝に関わる諸問題に加え、東南アジアにおいて顕著化している栄養不足と過栄養の混在した健康障害にかかわる問題点を明らかにすることが可能となる。さらに、近年、加齢に伴う健康障害が栄養代謝分野の医療における主要課題となり、これらを合わせた包括的な研究成果を示すことが求められている。これらを基盤として、本研究成果を公表しその解決策を提言することは、今後の日本、米国および東南

A. 研究目的

本研究は、1966年より発足した日米医学協力計画事業における栄養代謝研究部門として現在まで継続して行われ、日本、米国および東南アジア諸国における栄養代謝に関わる様々な諸問題に焦点を当てて調査研究することを目的とする。栄養異状部会として設立された本研究部会は、時代の変化とともに栄養に関わる諸問題の変化から1997年に栄養代謝部会として新たに命名された。当初、

アジア諸国の栄養代謝に関わる健康障害を解決するためにきわめて有用であると期待される。これらの背景から、今年度から実施された本研究事業は以下の項目を計画目標とした。日本、アジア地域における 1) 栄養と疾患発症、進展ならびに予後との関係を明らかにする。2) 遺伝子、血中代謝および分子マーカーを用いた各地域における疾患の相違点に関する機序解明をおこなう。これらの研究成果を基盤に、生活習慣病の予防や治療のための継続研究計画を探索する。

B. 研究方法

本研究計画は、肥満症、糖尿病および関連した代謝疾患（脂質代謝異常および動脈硬化症を含む）を研究対象とした。それぞれの問題点を解明するために、栄養疫学、分子遺伝学、代謝学ならびに臨床病態研究などによるアプローチを行う。下記に挙げた項目を具体的な研究方法とした。1) 栄養と疾患発症、進展ならびに予後に関する疫学的解析。2) 栄養と疾患発症の機序に関する分子遺伝学的解析。これらのアプローチによる個別研究の成績を基盤にして、日本、米国および東南アジア諸国における栄養代謝に関わる様々な諸問題を明らかにし、本研究事業の今後の疫学調査研究の策定において、多国間解析の比較項目、解析方法を提示する。

（倫理面への配慮）

本研究におけるヒトゲノム・遺伝子解析は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成13年3月29日 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）を遵守し、主任および分担研究者所属各施設の倫理委員会で承認された遺伝子解析実施方法に沿って進める。

C. 研究結果

1) 肥満症とその合併症の多国間解析

i) 血清リポ蛋白濃度に対する環境と遺伝の影響—ベトナムの小児におけるコレステロールエステル転送蛋白遺伝子多型と血清 HDL コレステロール値の検討

コレステロールエステル転送蛋白 (CETP) は動脈硬化の重要な予防因子である HDL コレステロールの調節因子として重要な役割を演じている。HDL コレステロールに及ぼす環境因子と CETP 遺伝子の影響を検討す

るため、栄養状態の異なるベトナム人小児 348 人について CETP 遺伝子の I14A、D442G、および TaqIB の多型について検討した。D442G 変異型は 0.034 の頻度で存在したが、I14A は検出できなかった。D442G 変異型をもつ小児の血清 HDL コレステロール値は、栄養状況にかかわらず、野生型の小児に比し有意に高値を示した。しかし、LDL コレステロール値は D442G 変異型を持つ小児で有意に低値であるということは認められなかった。TaqIB については TaqIB 2 の出現頻度は 0.34 で他の多くのアジア民族に比べて低頻度であった。TaqIB 2 を持つ小児の HDL コレステロール値も有意に高値であったが D442G 変異型に比べると弱い相関であった。これらの結果は、HDL コレステロール値は栄養状態に関わらず遺伝的素因の影響を強く受けることを明らかにした。

ii) 生活習慣病による動脈硬化性健康障害に関する研究

生活習慣病にともなう動脈硬化性疾患は、糖尿病、高脂血症、高血圧等の複数の危険因子により引き起こされ、その基盤に存在するメタボリックシンドロームの病態を把握することが重要である。メタボリックシンドロームにともなう動脈硬化の進展は画一的でなく、地域による生活習慣を考慮する必要がある。本研究は、動脈硬化の進展に及ぼす個々の生活習慣病の寄与を明らかにする目的で行なわれた。生活習慣病に関連する危険因子として、年齢、BMI に加え、血圧、血清総コレステロール値、LDL コレステロール値、HDL コレステロール値、トリグリセリド値、マロンジアルデヒド化 (MDA-) LDL 値を測定した。動脈硬化の指標は内臓中膜肥厚度を超音波法により計測した。対象 368 名の危険因子と内臓中膜肥厚度の相関を検討したところ、年齢、最高血圧、最低血圧、BMI、MDA-LDL と正の相関、HDL-C と負の相関を示した。これらの結果は、高脂血症を有する対象において、他の危険因子の重積が動脈硬化の進展をひき起こすことを示唆する。今後、生活習慣病の各々の因子の動脈硬化進展に及ぼす寄与度を検討する必要がある。

iii) ベトナム・ホーチミン市住民のメタボリックシンドローム、糖尿病に関する疫学研究

ホーチミン市の 238 地区から 20 地区を無作為に抽出し、各地区から 35 名を無作為に抽出し 611 名のうち、年齢と性で補正したメタボリック・シンドローム罹患率は 12.0%

と高かった。ベトナムでは、農村部の低栄養のみならず、都市部のメタボリックシンドロームが重要な疾患になっていることがあきらかになった。

ホーチミン市の糖尿病発症率とその要因について調べた。303 の区域から 60 区および対象者 2,932 名を無作為に抽出した。糖尿病 (7.0 mmol/dl 以上) および空腹時血糖異常 (IFG) (6.1-6.9 mmol/dl) 者率は、それぞれ 6.6% および 3.2% であった。ベトナム人口調査による年齢調整の結果、糖尿病発症率は 3.8%、空腹時血糖異常者率は 2.5% であった。糖尿病患者と対照群を比較すると、BMI は 22.5 ± 3.4 対 22.9 ± 3.7 kg/m² で両群に差がなく、しかも正常範囲内にあった。両群のウエスト・ヒップ比は、0.91 ± 0.07 対 0.86 ± 0.08 (p < 0.001) と糖尿病患者で有意に高かった (p < 0.001)。体脂肪率は 31.1 ± 5.8% 対 27.7 ± 6.2% で糖尿病患者の値が有意に高かった (p < 0.001)。ベトナム人は、正常域の BMI でも糖尿病になることが示唆された。ベトナム人糖尿病患者の体位と食事に関して、糖尿病患者 48 名と、マッチした正常者 96 名の身体計測と非連続 3 日間の 24 時間思いだし法栄養調査を行った。糖尿病患者と正常者では、BMI は差がなかったが、体脂肪率は糖尿病患者で高かった (男性 28.3 ± 5.4% vs. 22.1 ± 4.9%、女性 31.8 ± 5.7% vs. 28.9 ± 5.8%)。ウエスト・ヒップ比は、女性糖尿病患者で正常者よりも高かった。食物・栄養素摂取では、肉およびタンパク質が糖尿病患者で高かったが、他は差が見られなかった。

iv) 日本人 2 型糖尿病患者におけるメタボリックシンドロームの頻度と動脈硬化リスク

わが国の 2 型糖尿病患者におけるメタボリックシンドロームの頻度を調べ、その心血管系イベント発症の予測能力を評価した。特に国内新基準と従来の国際的基準と比較検討した。その結果日本人のメタボリックシンドロームは、男性糖尿病患者の 31%、女性糖尿病患者の 8% と、従来の海外診断基準を適用した場合 (WHO 基準で男性 45%、女性 38%) に比べ特に女性において低頻度を示した。また従来の診断基準よりむしろ心血管疾患予知能が低く、男性患者においても女性患者においても、虚血性心疾患・脳卒中いずれのハザード比も有意の上昇を認めなかった。2 型糖尿病における心血管リスクは極めて高くその管理が重要であるが、日本人の場合、肥満が欧

米に比べ少なく程度も軽いため、メタボリックシンドロームの診断による心血管リスクの予知能は必ずしも高くない。むしろ高トリグリセリド血症など個別のリスクに注意すべきことが示唆された。

v) 国民栄養調査結果からみたわが国のメタボリックシンドロームに関する一考察

1995 年から 2001 年まで日本の国民栄養調査データを用いて、大規模集団を対象としたメタボリックシンドロームの有病割合およびそれに関連する要因の検討を行い以下の結果を得た。肥満、高 TG 低 HDL、高血圧、高血糖のいずれも無い者の割合は 27.4% であった。各診断要素の保有割合は、肥満 24.8%、高 TG 低 HDL 30.3%、高血圧 58.8%、高血糖 13.4% であった。わが国の成人のメタボリックシンドローム保有割合は 12.0% (男性: 15.0%、女性: 9.3%) であった。メタボリックシンドロームの保有割合は、年齢とともに上昇し、1 日歩数が多いほど低かった。

vi) 日本人における循環器疾患の発症の危険因子に関するコホート研究

データの収集期間は 1992 年から 1995 年で、主として各地区 3 年間で、対象者数は、全対象者が 12,490 人であった。頻度調査を用いた食品の項目と栄養関連疾患として肥満、メタボリック症候群などについてベースライン時の情報より検討した。食品頻度調査は、30 品目について、5 段階の摂取頻度調査で、それぞれを頻度別に 3 群に分けて、肥満、高血圧、メタボリック症候群との関連を検討した。パン、卵、バター、コーヒーなどの摂取頻度と肥満や高血圧の間に負の関連があった。年齢などによる交絡が考えられる。

2) 肥満合併症およびメタボリックシンドロームの機序解明

i) メタボリックシンドロームの高トリグリセリド血症発症の機構

メタボリックシンドローム (MS) の発症機構の解明は代謝学の大きな命題のひとつである。MS の原因が極めて多様であることはいうまでもないが、その発症には、遺伝的素因 (遺伝子変異など) と後天的素因、それぞれのインパクトのみならず組み合わせが重要であると考えられる。CD36 欠損に起因する MS をモデルとして、MS の診断基準である高トリグリセリド (TG) 血症発症の機構に

ついて検討した。CD36 欠損症、CD36 ノックアウトマウス (KO) ではいずれも空腹時、脂肪負荷後、高 TG 血症を示した。ヒト欠損症において、血清アポ B48 の高値を認め、小腸由来リポ蛋白の増加が示唆された。KO を用い、TritonWR 静注によるリポ蛋白異化の阻害実験を空腹時、脂肪負荷時に行ったところ、脂肪負荷時において野生型に比べて KO の血漿中の TG が有意に増加した。また、腸リンパ管中の TG 値も、KO において明らかな高値を示した。以上より、CD36 欠損状態においては、小腸におけるリポ蛋白産生の増加が高 TG 血症の一因である可能性が示唆された。

ii) インスリン分泌障害に関する研究

アジア地区における糖尿病の病態はインスリン分泌障害が強いことが特徴であり、アジアの糖尿病の診療にあたっては、インスリン分泌障害を的確に評価することが必要である。膵島移植患者における空腹時血糖と血清 C ペプチド値の相関解析から膵島量を反映する新たなインスリン分泌の指標 SUIT (secretory units of islets in transplantation) を開発し 2 型糖尿病患者への応用を試みたところ、SUIT はグルカゴン負荷 6 分後の C ペプチドと相関し、インスリン治療の必要性を決定する因子となることを明らかにした。SUIT は空腹時の 1 回の採血で得られること、インスリン注射施行中の症例にも応用できること、さらに、SUIT はインスリン治療の必要性を決定する因子であることから、とくにインスリン分泌障害が主体であるアジア地区の 2 型糖尿病患者の管理に有用であることが示唆された。

3) 動脈硬化の発症進展における代謝異常の役割の解明

i) 循環器疾患の診療における心血管組織の石灰化の意義

心血管疾患の発症や病態には同組織の石灰化が重要な役割を果たしているが、分子メカニズム及びその制御法に関する研究はほとんど進んでいない。我々は培養系石灰化モデルの一つとして、リン刺激による血管平滑筋細胞の石灰化誘導を用いて、従来言われていた同細胞の骨芽細胞様細胞への形質転換が必須であるだけでなく、細胞のアポトーシスが重要であり、その分子機序として Gas6-Axl survival pathway の抑制が関与

しており、スタチンはその経路を復活させアポトーシスを抑えることによって石灰化を抑制することを見出した。心血管組織の石灰化は、循環器疾患の診療を行う上で、極めて重要な病態であるとともに、治療のターゲットとなりうるため、心血管石灰化に対する今後の詳細な解明により、石灰化現象を制御できる治療法の開発へと期待される。

D&E. 考察および結論

我が国およびアジア地域、とりわけベトナムにおける生活習慣病の疫学調査、また疾患モデルを用いた生活習慣病、動脈硬化の機序解明により、日米間における健康障害とその問題を解決するために、生活習慣病における肥満とその合併症、メタボリックシンドロームが重要であることが明らかになった。特に、異なった生活習慣を有する地域間で病態を解明し、それぞれで比較検討することが、これらの疾患の予防および治療を探索するために有用である。このような観点から、1) アジア、とりわけ急速な発展とともに食生活が変化し、栄養に関わる諸問題が顕在化したベトナムをアジア地域の中心にした疫学調査を実施することが有用であること、2) 日本、米国およびベトナムにおける肥満症、糖尿病およびこれらに関連した代謝疾患、とりわけ近年日米両国で問題化されているメタボリックシンドロームの疫学調査を比較検討することの重要性が示された。今年度得られた研究成果をデータベースとして用い、来年度、日米医学協力計画事業における栄養代謝研究部門で計画されるベトナムにおけるメタボリックシンドロームに関する疫学研究の計画に結びつける。来年度より栄養代謝部会で開始される予定である異なった地域における栄養代謝に関わる健康障害である、肥満症、肥満合併症およびメタボリックシンドローム、動脈硬化症、加齢にともなう代謝異常の多国間比較研究により得られる成果は、これらの栄養代謝疾患の予防治療法の探索を可能にすると期待される。遺伝子、血中代謝および分子マーカーを用いた本研究結果を基盤に疫学研究を推進することは、今後の我が国の栄養代謝に関わる健康障害の予防に多大な貢献をすることが確実である。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1: Yamaguchi M, Matsumoto F, Bujo H, Shibasaki M, Takahashi K, Yoshimoto S, Ichinose M, Saito Y. Revascularization determines volume retention and gene expression by fat grafts in mice. *Exp Biol Med* (Maywood). 2005 Nov;230(10):742-8.

2: Ito M, Bujo H, Takahashi K, Arai T, Tanaka I, Saito Y. Implantation of primary cultured adipocytes that secrete insulin modifies blood glucose levels in diabetic mice. *Diabetologia*. 2005 Aug;48(8):1614-20.

3: Seki N, Bujo H, Jiang M, Tanaga K, Takahashi K, Yagui K, Hashimoto N, Schneider WJ, Saito Y. LRP1B is a negative modulator of increased migration activity of intimal smooth muscle cells from rabbit aortic plaques. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005 Jun 17;331(4):964-70.

4: Fujita Y, Ezura Y, Bujo H, Nakajima T, Takahashi K, Kamimura K, Iino Y, Katayama Y, Saito Y, Emi M. Association of nucleotide variations in the apolipoprotein B48 receptor gene (APOB48R) with hypercholesterolemia. *J Hum Genet*. 2005;50(4):203-9.

5: Miyazawa-Hoshimoto S, Takahashi K, Bujo H, Hashimoto N, Yagui K, Saito Y. Roles of degree of fat deposition and its localization on VEGF expression in adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005 Jun;288(6):E1128-36.

6: 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):1-7.

7: Hirano K, Ikegami C, Tsujii K, Zhang Z, Nakagawa-Toyama Y, Koseki M, Masuda D, Shimomura I, Ueda Y, Maruyama T, Yamashita S. ProbucoI enhances

the expression of scavenger receptor class B type I possibly through species-specific fashion.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 25: 2422-2427, 2005.

8: Zhang Z, Hirano K, Tsukamoto K, Ikegami C, Koseki M, Saijo K, Ohno T, Sakai N, Hiraoka H, Shimomura I, Yamashita S. Defective cholesterol efflux in Werner syndrome fibroblasts and its phenotypic correction by Cdc42, a RhoGTPase. *Exp Geront*. 40: 286-294, 2005.

9: Son le NT, Kunii D, Hung NT, Sakai T, Yamamoto S: The metabolic syndrome: prevalence and risk factors in the urban population of Ho Chi Minh City. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005 67:243-250.

10: Sone H, Tanaka S, Ishibashi S, Yamasaki Y, Oikawa S, Ito H, Saito Y, Ohashi Y, Akanuma Y, Yamada N, Japan Diabetes Complications Study (JDACS) Group. The new worldwide definition of metabolic syndrome is not a better diagnostic predictor of cardiovascular disease in Japanese diabetic patients than the existing definitions. Additional analysis from the Japan Diabetes Complications Study. *Diabetes Care* 29(1):145-7 2006

11: Sone H, Mizuno S, Fujii H, Yoshimura Y, Yamasaki Y, Ishibashi S, Katayama S, Saito Y, Ito H, Ohashi Y, Akanuma Y, Yamada N; Japan Diabetes Complications Study. Is the diagnosis of metabolic syndrome useful for predicting cardiovascular disease in asian diabetic patients? Analysis from the Japan Diabetes Complications Study. *Diabetes Care*. 28(6):1463-71 2005.

12: Sone H, Mizuno S, Yamada N. Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N Engl J Med*. 2005;352:1925-7.

13: Nakagawa Y, Shimano H, Yoshikawa T, Ide T, Tamura M, Furusawa M, Yamamoto T, Inoue N, Matsuzaka T, Takahashi A, Hastly AH, Suzuki H, Sone H, Toyoshima H, Yahagi N, and Yamada N/ TFE3 transcriptionally activates hepatic IRS-2, participates in insulin-signaling and , ameliorates diabetes. *Nat Med*. 2006 Jan;12(1):107-113

- 14: Inoue N, Shimano H, Nakakuki M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Yamamoto T, Sato R, Takahashi A, Sone H, Yahagi N, Suzuki H, Toyoshima H, Yamada N. Lipid Synthetic Transcription Factor SREBP-1a Activates p21WAF1/CIP1, a Universal Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor. *Mol Cell Biol.* 2005 Oct;25(20):8938-47.
- 15: Amemiya-Kudo M, Oka J, Ide T, Matsuzaka T, Sone H, Yoshikawa T, Yahagi N, Ishibashi S, Osuga JI, Yamada N, Murase T, Shimano H. SREBPs activate insulin gene promoter directly and indirectly through synergy with BETA2/E47. *J Biol Chem.* 2005 Oct 14;280(41):34577-89.
- 16: Najima Y, Yahagi N, Takeuchi Y, Matsuzaka T, Sekiya M, Nakagawa Y, Amemiya-Kudo M, Okazaki H, Okazaki S, Tamura Y, Iizuka Y, Ohashi K, Harada K, Gotoda T, Nagai R, Kadowaki T, Ishibashi S, Yamada N, Osuga J, Shimano H. High mobility group protein-B1 interacts with sterol regulatory element-binding proteins to enhance their DNA binding. *J Biol Chem.* 2005 Jul 29;280(30):27523-32.
- 17: Takahashi A, Shimano H, Nakagawa Y, Yamamoto T, Motomura K, Matsuzaka T, Sone H, Suzuki H, Toyoshima H, Yamada N. Transgenic mice overexpressing SREBP-1a under the control of the PEPCK promoter exhibit insulin resistance, but not diabetes. *Biochim Biophys Acta.* 2005 Jun 10;1740(3):427-33.
- 18: Suzuki M, Kakuta H, Takahashi A, Shimano H, Tada-Iida K, Yokoo T, Kihara R, Yamada N. Effects of atorvastatin on glucose metabolism and insulin resistance in KK/Ay mice. *J Atheroscler Thromb.* 2005;12(2):77-84.
- 19: Yahagi N, Shimano H, Hasegawa K, Ohashi K, Matsuzaka T, Najima Y, Sekiya M, Tomita S, Okazaki H, Tamura Y, Iizuka Y, Ohashi K, Nagai R, Ishibashi S, Kadowaki T, Makuuchi M, Ohnishi S, Osuga J, Yamada N. Co-ordinate activation of lipogenic enzymes in hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer.* 2005 Jun;41(9):1316-22.
- 20: Takahashi A, Motomura K, Kato T, Yoshikawa T, Nakagawa Y, Yahagi N, Sone H, Suzuki H, Toyoshima H, Yamada N, Shimano H. Transgenic mice overexpressing nuclear SREBP-1c in pancreatic beta-cells. *Diabetes,* 54, 492-9, 2005
- 21: Nakagawa Y, Aoki N, Aoyama K, Shimizu H, Shimano H., Yamada N, Miyazaki H: Receptor-type protein tyrosine phosphatase epsilon (PTPepsilon) is a negative regulator of insulin signaling in primary hepatocytes and liver. *Zoolog Sci,* 22, 169-75, 2005
- 22: Kikuchi H, Kawakami Y, Kakihana K, Kawai K, Murayama Y, Iizuka Y, Suzuki S, Suzuki H, Sone H, Toyoshima H, Shimano H., Yamada N: Plasma chloride concentration as a new diagnostic indicator of insulin insufficiency. *Diabetes Res Clin Pract,* 67, 137-43, 2005
- 23: Thu NN, Mai TT, Ohmori R, Kuroki M, Van Chuyen N, Hung NT, Kawakami M, Kondo K, Effect of the cholesteryl ester transfer protein genotypes on plasma lipid and lipoprotein levels in Vietnamese children. *Pediatr Res* 58: 1249-53, 2005
- 24: Yorifuji T, Nagashima K, Kurokawa K, Kawai M, Oishi M, Akazawa Y, Hosokawa M, Yamada Y, Inagaki N, Nakahata T: The C42R mutation in the Kir6.2 (KCNJ11) gene as a cause of transient neonatal diabetes, childhood diabetes, or later-onset, apparently type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 90(6): 3174-3178, 2005.
- 25: Kawasaki Y, Taniguchi A, Fukushima M, Nakai Y, Kuroe A, Ohya M, Nagasaka S, Yamada Y, Inagaki N, Seino Y: Soluble TNF receptors and albuminuria in non-obese Japanese type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res* 37(10):617-621, 2005.
- 26: Suzuki H, Fukushima M, Okamoto S, Takahashi O, Shimbo T, Kurose T, Yamada Y, Inagaki N, Seino Y, Fukui T: Effects of thorough mastication on postprandial plasma glucose concentrations in non-obese Japanese subjects. *Metabolism* 54(12): 1593-1599, 2005.
- 27: Mitsui R, Fukushima M, Nishi Y, Ueda N, Suzuki H, Taniguchi A, Nakai Y, Kawakita T, Kurose T, Yamada Y, Inagaki N, Seino Y: Factors responsible for

deteriorating glucose tolerance in newly diagnosed type 2 diabetes in Japanese men. *Metabolism* 55(1):53-8, 2006.

28: Sassa M, Fukuda K, Fujimoto S, Toyoda K, Fujita Y, Matsumoto S, Okitsu T, Iwanaga Y, Noguchi H, Nagata H, Yonekawa Y, Ohara T, Okamoto M, Tanaka K, M.D., Seino Y, Inagaki N, Yamada Y: A single transplantation of the islets can produce glycemic stability and reduction of basal insulin requirement. *Diabetes Res Clin Pract* (in press)

29: Ishikawa S, Gotoh T, Nago N, Kayaba K, and the Jichi Medical School (JMS) Cohort Study Group. The Jichi Medical School (JMS) Cohort Study: Design, and Standardized Mortality Ratios. *J Epidemiol.* 2002;12:408-417.

30: 石川鎮清、中村好一. 自殺者の疫学: JMS コホート研究. *厚生指標* 2002; 49(15): 16-21.

Ⅲ. 知的財産権の出願、登録状況

特になし。

Ⅱ. 分 担 研 究 報 告

厚生科学研究費補助金（国際医学協力研究事業）

分担研究報告書

血清リポ蛋白濃度に対する環境と遺伝の影響—ベトナムの小児におけるコレステロールエステル
転送蛋白遺伝子多型と血清 HDL コレステロール値の検討

分担研究者 川上 正舒（自治医科大学附属大宮医療センターセンター長, 総合医学1主任 教授）

研究要旨

コレステロールエステル転送蛋白（CETP）は動脈硬化の重要な予防因子である HDL コレステロールの調節因子として重要な役割を演じている。HDL コレステロールに及ぼす環境因子と CETP 遺伝子の影響を検討するため、栄養状態の異なるベトナム人小児 348 人について CETP 遺伝子の I14A、D442G、および TaqIB の多型について検討した。D442G 変異型は 0.034 の頻度で存在したが、I14A は検出できなかった。D442G 変異型をもつ小児の血清 HDL コレステロール値は、栄養状況にかかわらず、野生型の小児に比し有意に高値を示した。しかし、LDL コレステロール値は D442G 変異型を持つ小児で有意に低値であるということは認められなかった。TaqIB については TaqIB 2 の出現頻度は 0.34 で他の多くのアジア民族に比べて低頻度であった。TaqIB 2 を持つ小児の HDL コレステロール値も有意に高値であったが D442G 変異型に比べると弱い相関であった。これらの結果は、HDL コレステロール値は栄養状態に関わらず遺伝的素因の影響を強く受けることを明らかにした。

A. 研究目的

冠動脈疾患の危険因子としてコレステロールの重要性は良く知られているが、HDL・コレステロールは逆に予防因子である。血中HDL・コレステロール濃度は食事、運動、肥満、アルコール摂取など様々な環境因子の影響を受けるが、遺伝因子の影響も強いとされている。コレステロールエステル転送蛋白（CETP）活性はHDL・コレステロール濃度を決める重要な要素の1つである。わが国では、イントロン14のG→A（I14A）とエクソン15の Asp 442 → Gly（D442G）の2つのCETP遺伝子変異が知られており、いずれもCETP活性の低下とHDL・コレステロールの増加をもたらす。その他にも幾つかの制限酵素断片長多型（RFLP）が知られている。TaqIBは比較的多くの人にみられる多型で第1イントロンの277ヌクレオチドの変異でB2アレルはCETP活性の低下とHDL・コレステロールの増加をもたらす。

わが国では食料事情が均一化しており、栄養状態の個人間の差はあるものの集団的な差異は認め難いが、ベトナムは現在急速な経済発展の途上にあり、都市部と農村部での経済格差が生じ、その為、食料事情も大きく異なることが知られている。そこで、本研究では、栄養状態が異なる地域での小児を対象として、CETP遺伝子変異によるHDL・コレステロール値の増加に対して、栄養状態がどのような影響を及ぼすかについて検討した。

B. 研究方法

対象者：ホーチミン市の小学校で都市部の2校と農村部の3校から無作為に選ばれた女兒（7-9歳）348人。

身体計測及び栄養調査：身長、体重および左上腕中点周囲を計測した。体脂肪量はインピーダンス法による体脂肪測定器により測定した。食事調査は児童の親

の面接による3日間連続の聞き取り調査を行い、栄養評価はベトナム版食品成分表を用いて計算した。

臨床検査：早朝空腹時に採血し、血清は分離後、コレステロール、LDL-コレステロール、HDL-コレステロール、TGは臨床自動分析器により測定した。DNAの抽出は市販のキットを用いて行った。Invaderアッセイ及びTaqIB多型はNaganoらの既報(J Lipid Res 43: 1011, 202)の方法に従って解析した。

都市部と農村部における CETP 遺伝子多型の頻度の差は X^2 検定、CETP 遺伝子多型による血清脂質の比較はANOVA 及び *post hoc test* を用いて行った。 $P<0.05$ を有意とした。

この研究計画についてはホーチミン市小児栄養センターの倫理委員会の承認の下に、対象者の親に説明し了承を得た。

C&D. 結果と考察

CETP 遺伝子多型について今回検討した対象者の中にはI14A 変異は検出できなかった。D442G 変異は都市部で4.5%、農村部で8.8%であった。TaqIB 多型については、B1B1、B1B2、B2B2 がそれぞれ都市部で44.5%、45.8%、9.7%、農村部で43.5%、44.6%、11.9%であった。D442G 変異の頻度は、中国人、台湾人、韓国人、日本人で報告されている頻度をほぼ同様である。興味深いことにこの変異はヨーロッパ人には見られないとされている。一方、TaqIB 多型におけるB2アレルの頻度は日本人、台湾人、ヨーロッパ人ではほぼ同様の42~50%と報告されているが、本研究の対象者は34%と低く、韓国人とほぼ同様であった。I14A 変異は中国人で1%、日本人で0.5%と報告されているが、日本での調査では日本の中でもある地域に高頻度で見られることから、より地域性の強い変異と考えられる。今回の対象者の中にはこの変異は見られなかった。

栄養状態については、都市部の児童の総エネルギー摂取量は平均1782 KCalで、農村部での1267 KCalに比し1.4倍と有意に多く、また、脂肪エネルギー比率も都市部では22.4%で、農村部の15.6%に比し高かった。また、都市部児童ではD442G 変異保持者と、

B2B2 保持者はそれぞれ野生型、B1B1 の保持者に比し脂肪エネルギー摂取比率が高かった。

D442G 変異保持者のHDL-コレステロールは、都市部(変異 1.5 ± 0.1 対野生 1.25 ± 0.3 mM)、農村部(変異 1.14 ± 0.3 対野生 0.96 ± 0.2 mM)ともに野生型に比し高値を示したが、都市部児童の方が全体に高く、都市部では野生型でも農村部の変異型よりも高値を示した。

TaqIB 多型もHDL-コレステロール値に影響を示し、都市部、農村部ともにB2保持者はB1保持者に比し高値を示す傾向がみられた。しかし、ここでも都市部のB1B1保持(1.23mM)は農村部のB2B2(1.0mM)よりも高値であった。

D442G 変異とTaqIB 多型の関係においては、全てのTaqIB 多型においてD442G 変異者は野生型に比し高値を示し、D442G 変異とB2B2を持つ者のHDL-コレステロールが最も高く(都市部1.57mM、農村部1.25mM)、野生型とB1B1の組み合わせが最も低値を示した(都市部1.22mM、農村部0.93mM)であった。しかし、ここでも栄養摂取の影響は大きく、都市部の野生型・B1B1は農村部のD442G 変異・B2B2とほぼ同じHDL-コレステロール値を示した。

本研究では、まず、今日のベトナムにおいては都市部の女兒の栄養状態は、総エネルギー摂取量、脂肪摂取比率ともに農村部に比し有意に多く、体格も都市の女兒は農村部に比べてBMI、皮下脂肪ともに有意に高値であることが認められ、このように明らかに栄養状態の異なる集団間で、CETP 遺伝子多型がHDL-コレステロール値に及ぼす影響を検討することが出来たことは、血清脂質代謝における環境と遺伝の関わりを明らかにする上で有意義であったと考える。D442G 変異保持者ではHDL-コレステロール値が野生型に比し約20%高値を示した。この増加率は都市部と農村部の栄養状態に関わり無く同様であり、また、脂肪摂取率が更に高い(25.2%)日本人でみられたものともほぼ同様であることから脂肪摂取量はこの変異がもたらすHDL-コレステロールの増加“率”には影響しないと考えられた。TaqIB 多型もHDL-コレステロール値に影響したが、その影響はD442G 変異に比し弱く、B1

アリルに比し B2 アリルは都市部で 8%、農村部で 15% であった。D442G 変異は CETP 蛋白量と比活性の両方を低下させることが知られているが、TaqIB 多型の CETP 活性に影響を及ぼす機序については知られていない。

E. 結論

CETP の遺伝子変異によるコレステロールエステル転送活性の低下は血中 HDL・コレステロール値を増加させ、その増加率は、総エネルギー摂取量や脂肪摂取量の影響を受けなかった。しかし、HDL・コレステロールの絶対値は栄養状態の影響を強く受け、高カロリー高脂肪食の都市部の女兒では野生型でも低カロリー低脂肪食の変異型の女兒よりも高値であった。HDL・コレステロール値の規定因子としては遺伝背景の影響が大きいが食環境はそれを凌駕することが明らかとなった。

本研究は御茶ノ水女子大学の近藤和雄教授、日本女子大学のグエン・ヴァン・チュエン教授を中心に自治医科大学大宮医療センター、防衛医科大学、ホーチミン市小児栄養センターの共同研究として行われた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Thu NN, Mai TT, Ohmori R, Kuroki M, Van Chuyen N, Hung NT, Kawakami M, Kondo K, Effect of the cholesteryl ester transfer protein genotypes on plasma lipid and lipoprotein levels in Vietnamese children. *Pediatr Res* 58: 1249-53, 2005

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（国際医学協力研究事業）

分担研究報告書

循環器疾患の診療における心血管組織の石灰化の意義

分担研究者 大内 尉義（東京大学医学部 大学院医学系研究科加齢医学講座（老年病科））

研究要旨

心血管疾患の発症や病態には同組織の石灰化が重要な役割を果たしているが、分子メカニズム及びその制御法に関する研究はほとんど進んでいない。我々は培養系石灰化モデルの一つとして、リン刺激による血管平滑筋細胞の石灰化誘導を用いて、従来言われていた同細胞の骨芽細胞様細胞への形質転換が必須であるだけでなく、細胞のアポトーシスが重要であり、その分子機序として Gas6-Axl survival pathway の抑制が関与しており、スタチンはその経路を復活させアポトーシスを抑えることによって石灰化を抑制することを見出した。心血管組織の石灰化は、循環器疾患の診療を行う上で、極めて重要な病態であるとともに、治療のターゲットとなりうるため、心血管石灰化に対する今後の詳細な解明により、石灰化現象を制御できる治療法の開発へと期待される。

A. 研究目的

心血管疾患の発症や病態には「心血管組織の石灰化」が大きく関与していることが知られており、また、高血圧や糖尿病性腎症などの腎不全患者にも高頻度に認められることから、生活習慣病が石灰化現象に寄与する可能性も十分考える。そして、血管石灰化は血管の伸展性低下を引き起こし収縮期高血圧の原因となり、それ自体が心血管イベント発症の危険因子となる。大動脈や筋性動脈を中心とする血管石灰化の存在は粥状動脈硬化の強力な指標であり、その程度は全粥状動脈硬化病変量と直接相関する。実際に臨床においては、腎不全・糖尿病・高齢者などにみられる大動脈や中小動脈の「メンケベルグ型血管中膜石灰化」、冠状動脈や頸動脈の「粥状動脈硬化巣内の石灰化」などが多く認められ、多様な成因と多彩な要因の関与が想定されている。

この心血管組織石灰化は、その部位に受動的にカルシウム成分が沈着するだけでなく、骨組織における骨化ときわめて類似の能動的なメカニズムによって制御されているダイナミックな病態であることが想定され

ている。しかしながら、脂質代謝異常を中心とした心血管組織石灰化の分子メカニズム及びその制御法に関する研究はほとんど進んでいない。我々は心血管組織の石灰化がどのようなメカニズムで起こるのかを培養細胞系および動物モデルを用いて分子生物学的に明らかにし、関連因子の同定と役割の解明により、新たな治療法の開発につなげることを目的としている。

B&C. 研究方法と結果

血管石灰化の発症機序の一つとして血清リン値 (P) および血清カルシウム (Ca) 値と血清リン値の積 (Ca XP) の上昇が重要と考えられている。糖尿病患者には腎機能障害および腎不全による透析症例が多く、それによる高リン血症も（血管石灰化も含めた）心血管イベントに関係していることが報告されている¹⁾。その事実注目し、我々はすでに培養系におけるリン (Inorganic phosphate: Pi) 刺激によるヒト大動脈平滑筋細胞 (HASMC) の石灰化誘導モデルを確立し、その機序の一つとして Na 依存性リン共輸送体 (Na-dependent Phosphate Cotransporter: NPC) を介

した血管平滑筋細胞の骨芽細胞様形質転換が重要であることを確認した。

さらに、HASMC の石灰化現象においてリン刺激によりアポトーシスが濃度依存的に増加し、Caspase 阻害薬(ZVAD. fmk)により石灰化・アポトーシスともに有意に抑制されたことから、石灰化におけるアポトーシスの関与が示された。さらに、この過程において、アポトーシス調節因子でありビタミン K 依存性分泌タンパクである「Gas6 (growth arrest-specific gene6)」とそのチロシンキナーゼ型受容体である「Ax1」の発現及び Gas6 の分泌が減少することも発見した。一方、recombinant human Gas6 (rhGas6) 添加は石灰化・アポトーシスをともに抑制し、Ax1 の細胞外ドメイン(Ax1-ECD)によってその抑制効果がブロックされたことから Ax1 を介する作用と考えられた(図1)。リン刺激によるこのアポトーシスは PI3K-Akt 依存的であり、さらに同刺激により Bcl2・Bad のリン酸化が低下し、これらの現象も rhGas6 添加により復元された。

現在、臨床研究における報告では、心血管石灰化に対し高脂血症治療薬である HMG-CoA 還元酵素阻害剤(スタチン)の作用はまだ議論の余地があるところではあるが、我々はこの培養系石灰化モデルを用いてスタチンの石灰化への作用を検討したところ、アトルバスタチンは石灰化とともにアポトーシスを抑制し、リン刺激で減少された Gas6・Ax1 の発現、Akt、Bcl2・Bad のリン酸化を回復させることによる効果であることを明らかにした(図2)。しかしながら、もう一つの機序として確認した NPC 活性に対してスタチンは有意な抑制効果を示さなかった。

さらに、今後、前述のスタチンによる血管石灰化抑制作用を動物モデルにて検討するために、ラットを用いた大動脈石灰化モデルの作成に取り組んだ。雄 Wistar ラット(12週)にアデニン(0.75%)含有餌を6週間投与することにより著明な腎機能障害(クレアチニン値:コントロール群 0.28±0.04 mg/dL、腎不全群 3.29±0.10 mg/dL)を誘発し、最終的に開始8週後の時点で大動脈(特に上行大動脈→大動脈弓)に著明な石灰化を誘導し得(図3)、大動脈内カルシウム含有量の著明な上昇(コントロール群 0.09±0.03

μg/mg、腎不全群は 18.66±7.32 μg/mg)も認めた。

D. 考察

リン刺激によるヒト血管平滑筋細胞の石灰化には、従来言われていた血管平滑筋細胞の骨芽細胞様細胞への形質転換が必須であるだけでなく、細胞のアポトーシスが重要であり、その分子機序として Gas6-Ax1 survival pathway の抑制が関与しており、スタチンはその経路を復活させ、アポトーシスを抑えることによって石灰化を抑制することを見出した。以前から言われており、血管石灰化に重要とされている血管平滑筋細胞の骨芽細胞様細胞への形質転換において、その主要因子の一つに転写因子 cbfa-1 がある²⁾。今後、まず高リン刺激により HASMC において cbfa-1 の発現(mRNA レベルや蛋白レベル)および EMSA を用いて転写活性の制御について検討が必要と考えられる。また、オステオポンチンやマトリックス Gla 蛋白などの骨代謝関連因子の発現についても検討を加え、それらの発現に対してスタチンの作用も検討をする必要がある。

さらに、今回の我々の研究で示したように、もう一つの重要なメカニズムとしての石灰化に先行するアポトーシスに関して、今後より詳細な機序の解明が求められる。Gas6-Ax1 survival pathway は細胞増殖や接着、遊走など様々な細胞機能を担っている経路であり³⁻⁶⁾、血管平滑筋細胞石灰化におけるその詳細な解明は報告が無い。今後は、Gas6 の発現が高リン刺激によりどのように制御されているのか、また、この経路に対するスタチンの保護効果の詳細な機序を細胞内シグナルの点から解明しなければならない。

また、ラット腎不全モデルにおける大動脈石灰化を確立したことにより、このモデルを用いてスタチン投与による影響、また機序の解明のために血管における NPC の発現やアポトーシスの関与などを検討したいと考えている。さらに、cbfa-1 の発現や石灰化部位との局在を組織学的にも検討する。動物実験における血管石灰化の評価は①大動脈における組織中 Ca 濃度測定と②von Kossa 染色にて行っているが、血管機能として摘出大動脈を用いた血管伸展性(stiffness)を評価

することも予定している。スタチンの心血管組織石灰化に対する作用は臨床研究において幾つか報告されており、レトロスペクティブな研究ではスタチン内服により大動脈弁石灰化の進行に抑制効果が見られたが 7、8)、プロスペクティブ研究ではスタチンによる石灰化抑制効果は不十分であり 9、10)、まだ議論の残すところである。そのために、我々が遂行している培養系および動物を用いた血管石灰化モデルにより、スタチンの作用を詳細に検討することは非常に重要である。

我々は上記の基礎研究だけでなく、臨床的検討も平行して進行している。当科外来もしくは入院中の患者を対象とし、側面 X 線による腹部大動脈石灰化と腹部 CT スキャンによる腹部大動脈石灰化のスコアリングや心エコーによる大動脈弁石灰化を評価することにより心血管石灰化の臨床指標を得て、石灰化の程度を規定する因子を探索するために、血管壁硬化の定量（脈波伝播速度 PWV）、脂質 profile や血管障害マーカーとして高感度 CRP、Adiponectin、PAI-1、Homocysteine、MCP-1、血管石灰化関連マーカーとして可溶性 RANKL と osteoprotegerin の血中濃度など幅広く測定している。横断調査により心血管石灰化と血圧（特に脈圧）との有意な相関が認められ、今後も経年変化として縦断調査し、石灰化の進行および脳心血管イベントの予測因子を探索する予定にしている

E. 結論

心血管組織の石灰化は、循環器疾患の診療を行う上で、極めて重要な病態であるとともに、治療のターゲットとなりうる。心血管石灰化を制御することができれば、心血管を“若くしなやかに”保つことが可能となり、石灰化を背景とした循環器疾患の発症・進展を抑制することができると考えられる。本研究を通じ、今後も従来あまり研究の進んでいない心血管組織石灰化の分子メカニズムを新しい視点から明らかにし、それに基づく新たな治療法の開発が期待される。

【参考文献】

1) Marcello Tonelli, Frank Sacks, Marc Pfeffer, Zhiwei Gao,

Gary Curhan for the Cholesterol And Recurrent Events (CARE) Trial Investigators. Relation Between Serum Phosphate Level and Cardiovascular Event Rate in People With Coronary Disease. *Circulation* 2005; 112: 2627-2633.

2) Engelse MA, Neele JM, Bronckers AL, Pannekoek H, de Vries CJ. Vascular calcification: expression patterns of the osteoblast-specific gene core binding factor alpha-1 and the protective factor matrix gla protein in human atherogenesis. *Cardiovasc Res.* 2001;52:281-289.

3) Yanagita M, Arai H, Ishii K, Nakano T, Ohashi K, Mizuno K, Varnum B, Fukatsu A, Doi T, Kita T. Gas6 regulates mesangial cell proliferation through Axl in experimental glomerulonephritis. *Am J Pathol.* 2001;158:1423-1432.

4) Goruppi S, Ruaro E, Schneider C. Gas6, the ligand of Axl tyrosine kinase receptor, has mitogenic and survival activities for serum starved NIH3T3 fibroblasts. *Oncogene.* 1996;12:471-480.

5) Nakano T, Ishimoto Y, Kishino J, Umeda M, Inoue K, Nagata K, Ohashi K, Mizuno K, Arita H. Cell adhesion to phosphatidylserine mediated by a product of growth arrest-specific gene 6. *J Biol Chem.* 1997;272:29411-29414.

6) Fridell YW, Villa J Jr, Attar EC, Liu ET. Gas6 induces Axl-mediated chemotaxis of vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.* 1998;273:7123-7126.

7) Shavelle DM, Takasu J, Budoff MJ, Mao S, Zhao XQ, O'Brien KD. HMG CoA reductase inhibitor (statin) and aortic valve calcium. *Lancet.* 2002;359:1125-1126.

8) Novaro GM, Tiong IY, Pearce GL, Lauer MS, Sprecher DL, Griffin BP. Effect of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on the progression of calcific aortic stenosis. *Circulation.* 2001;104:2205-2209.

9) Callister TQ, Raggi P, Coil B, Lippolis NJ, Russo DJ. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on coronary artery disease as assessed by electron-beam computed tomography. *N Engl J Med.* 1998;339:1972-1978.

10) Cowell SJ, Newby DE, Prescott RJ, Bloomfield P, Reid J, Northridge DB, Boon NA. A randomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aortic stenosis. *N*

Engl J Med. 2005;352:2389-2397.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Son BK, Kozaki K, Iijima K, Eto M, Kojima T, Ota H, Senda Y, Maemura K, Toru Nakano, PhD; Masahiro Akishita, MD, PhD; Yasuyoshi Ouchi, MD, PhD. Statin Protects Human Aortic Smooth Muscle Cells from Inorganic Phosphate-induced Calcification by Restoring Gas6-Axl Survival Pathway. (投稿中)
- 2) Nakamura T, Akishita M, Kozaki K, Toba K, Orimo H, Ouchi Y. Influence of sex and estrogen on vitamin D-induced arterial calcification in rats. *Geriatr Gerontol Int.* 2003;3:145-149.
- 3) Ouchi Y, Akishita M, de Souza AC, Nakamura T, Orimo H. Age-related loss of bone mass and aortic/aortic valve calcification--reevaluation of recommended dietary allowance of calcium in the elderly. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;15:297-307.

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

分担研究者（大阪大学大学院 山下 静也）

研究要旨

メタボリック症候群（Metabolic Syndrome, MS）の発症機構の解明は代謝学の大きな命題のひとつである。MS の原因が極めて多様であることはいままでのないが、その発症には、遺伝的素因（遺伝子変異など）と後天的素因、それぞれのインパクトのみならず組み合わせが重要であると考えられる。本研究において、我々はCD36欠損に起因するMS をモデルとして、MS の診断基準である高トリグリセリド（TG）血症発症の機構について検討した。CD36欠損症、CD36ノックアウトマウス（KO）ではいずれも空腹時、脂肪負荷後、高TG血症を示した。ヒト欠損症において、血清アポB48の高値を認め、小腸由来リポ蛋白の増加が示唆された。KOを用い、TritonWR 静注によるリポ蛋白異化の阻害実験を空腹時、脂肪負荷時に行ったところ、脂肪負荷時において野生型に比べてKO の血漿中のTGが有意に増加した。また、腸リンパ管中のTG値も、KOにおいて明らかな高値を示した。以上より、CD36欠損状態においては、小腸におけるリポ蛋白産生の増加が高TG血症の一因である可能性が示唆された。

A. 研究目的

メタボリック症候群（Metabolic Syndrome）の発症機構の解明、治療法の開発は今世紀の医学の最も大きな命題のひとつである。メタボリック症候群の原因が極めて多様であることはいままでのないが、その発症には、遺伝的素因（遺伝子異常、変異、多型など）と後天的素因、それぞれのインパクトのみならず組み合わせが重要であると考えられる。

CD36欠損症は、申請施設にて発見された我が国に高頻度に認められる遺伝的疾患であり、申請者らは世界に先駆けて本症が、インスリン抵抗性、脂肪酸ダイナミズム異常に関連して高脂血症、耐糖能障害などメタボリック症候群の表現型を呈すること、またその表現型は、加齢、脂肪負荷など後天的要因によって大きく変化する可能性を示した（Lancet 2001, Diabetes Care. 2003）。そこで、本研究は、CD36欠損状態をモデルに、メタボリック症候群発症の分子機構の詳細を明らかにするとともに、後天的因子、特に食事由来脂質がメタボリック症候群の表現型に与える影響、メカニズムについて検討することを目的とする。

B. 研究方法

- 1) 対象：CD36欠損症患者5例及びCD36ノックアウトマウス
- 2) リポ蛋白リパーゼ阻害によるリポ蛋白産生の評価：空腹時または脂肪負荷時にマウスにTritonWRをマウスに静注し、経時的に採血して血清のトリグリセリド値を測定した。
- 3) 腸リンパ管中のリポ蛋白の解析
マウスを麻酔下にて開腹し、腸リンパ管より乳びを採取して、そのTG値を測定した。

（倫理面への配慮）

大阪大学倫理委員会、大阪大学動物実験委員会の承認を受けている。

C&D. 研究結果と考察

- 1) CD36欠損症患者、CD36KOマウスでは、空腹時、脂肪負荷時、いずれも高TG血症を認めた。
- 2) CD36欠損症患者では、血清アポB48の増加を認めた。
- 3) 空腹時、脂肪負荷時にTritonWRによるリパーゼ阻害実験を行ったところ、脂肪負荷時にKOにおいて野生型に比し、明らかな高TG値を認めた。
- 4) 脂肪負荷時に腸リンパ管より乳びを採取して脂質値を測定したところ、TG値の増加を認めた。

CD36 は、小腸上皮細胞の apical 面において発現しており、脂肪酸トランスポーターの活性を有することから、CD36 欠損状態では、脂質の吸収が障害されている可能性も考えられていた。しかし本研究によって、脂肪負荷時において、脂質吸収、カイロミクロン産生がむしろ増加している可能性が示唆された。メタボリック症候群の高トリグリセリド血症の表現型の発現には、その遺伝的素因が大きく関わっていると考えられた。

E. 結論

CD36欠損状態においては、小腸におけるリポ蛋白産生の増加が高TG血症の一因である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. Masuda D, et al. Accelerated intestinal absorption of dietary lipids caused by postprandial hypertriglyceridemia in CD36 knockout mice. TG 2005, New York, 2005.

1. 論文発表

- (1) Hirano K, Ikegami C, Tsujii K, Zhang Z, Nakagawa-Toyama Y, Koseki M, Masuda D, Shimomura I, Ueda Y, Maruyama T, Yamashita S. Probucol enhances the expression of scavenger receptor class B type I possibly through species-specific fashion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 25: 2422-2427, 2005.
- (2) Zhang Z, Hirano K, Tsukamoto K, Ikegami C, Koseki M, Saijo K, Ohno T, Sakai N, Hiraoka H, Shimomura I, Yamashita S. Defective cholesterol efflux in Werner syndrome fibroblasts and its phenotypic correction by Cdc42, a RhoGTPase. *Exp Geront.* 40: 286-294, 2005.
- (3) Hirano K, Yamashita S, Sakai N, Matsuzawa Y. Low and high HDL syndrome. *The encyclopedia of endocrinology and endocrine disease.* Vol 3. 2004.
- (4) Kuwasako T, Hirano K, Sakai N, Ishigami M, Hiraoka H, Janabi MY, Yamauchi-Takahara K, Yamashita S, Matsuzawa Y. Lipoprotein abnormalities in human genetic CD36 deficiency associated with insulin resistance and abnormal fatty acid metabolism. *Diabetes Care.* 26: 1647-1648, 2003.

- (5) Hirano K, Kuwasako T, Toyama Y, Janabi MY, Yamashita S, Matsuzawa Y. Pathophysiology of human genetic CD36 deficiency. *Trends Cardiovas Med.* 13: 136-141, 2003.
- (6) Miyaoka K, Kuwasako T, Hirano K, Yamashita S, Matsuzawa Y. CD36 deficiency is associated with insulin resistance. *Lancet.* 357: 686-687, 2001.

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし。