

原発性高脂血症に関する調査研究

低 $\beta$ リポタンパク血症における PCSK9 変異

分担研究者 石橋 俊 （自治医科大学内分泌代謝学部門）

研究要旨

LDL コレステロール値が低い低 $\beta$ リポタンパク血症患者15人のPCSK9の遺伝子変異を検索した。その結果、2例にR93C変異のヘテロ接合体を同定した。PCSK9のR93C変異は日本人低 $\beta$ リポタンパク血症のcommonな変異である可能性がある。

A. 研究目的

血清アポB濃度の低下する原発性低脂血症の病因として現在迄に4種類の原因遺伝子が報告されている<sup>1)</sup>。われわれはこれまでに、日本人の無 $\beta$ リポタンパク血症(ABL)2例において異なるミクロソームトリグリセリド転送蛋白(MTP)の新規変異を報告し<sup>2)</sup>、短縮アポBをホモ接合体に起因する家族性低 $\beta$ リポタンパク血症(FHBL)を報告した<sup>3)</sup>。この研究の過程で、FHBLと考えられる症例の中で短縮アポBが同定される症例は一部に過ぎず、大部分の症例は短縮アポBが認められないことに気づいた。この中にはアポBの産生低下に起因するhypomorphicなアポBの異常も含まれる可能性があるが、それ以外の遺伝子変異に起因する可能性がある。血清脂質値を指標にした近年のゲノムワイド研究(GWAS)の結果、脂質異常症の古典的な原因遺伝子以外に新たな遺伝子座が同定されてきた。われわれも、その一部は日本人の血清脂質値を規定することを報告した<sup>4)</sup>。一方、PCSK9のloss of functionの変異もFHBLの原因となりうるということがJC Cohenらによって報告された<sup>5)</sup>。アフリカ系アメリカ人にはcommonな変異が存在し、それらの変異を有する集団はLDLコレステロールが著しく低値で、虚血性心疾患の発症頻度も低率である<sup>6)</sup>。そこで、われわれは、短縮アポBが認められなかったFHBLと思われる症例についてPCSK9の全長シーケンシングを行い、日本人の

FHBLにおけるPCSK9変異の有無を調べた。

B. 研究方法

自治医科大学遺伝子解析研究倫理委員会において研究計画の承認を受け(平成19年11月21日遺07-31家族性低 $\beta$ リポタンパク血症の遺伝子解析)、説明を行い、文書で同意を得た上で、本研究を実施した。H21年3月までの学内の検体数5例、学外からの解析依頼件数10例であった。全ての症例において短縮アポBの存在は否定された。

C. 研究結果

解析対象症例15例のうち2例(症例1と5)がPCSK9のR93C変異のヘテロ接合体であった。症例1は糖尿病治療を目的に当科を受診した39歳発症の1型糖尿病の症例でインスリン治療中である。現在、明らかな血管合併症は認められない。症例5は検診でTC低値を指摘され、当科を紹介された症例であり、脂質異常以外の検査異常はなく、無症状である。

D. 考察

FHBLが疑われたLDL-C低値の15例のうち2例にPCSK9のR93C変異が認められた。この変異はloss-of-functionの変異と予想され、HepG2細胞に発現し、LDLレセプター活性への影響について野生型

PCSK9 と比較検討中である。同一の変異は、一般健常 3655 人の中の治療例を除外した LDL-C 低値群 78 例、LDL-C 高値群 96 例、治療群 96 例の 3 群に、それぞれ 8 例、1 例、2 例認め、LDL-C 低値と強い相関が認められると Miyake らによって報告された。

#### E. 結論

PCSK9 の R93C 変異は日本人の低 $\beta$ リポタンパク血症の common な変異である可能性がある。

#### F. 研究発表

- 1) Nakayama, K., Bayasgalan, T., Yamanaka, K., Kumada, M., Gotoh, T., Utsumi, N., Yanagisawa, Y., Okayama, M., Kajii, E., Ishibashi, S., Iwamoto, S., Jichi Community Genetics Team (JCOG): Large scale replication analysis of loci associated with lipid concentrations in a Japanese population. *J Med Genet* 46(6):370-374, 2009.
- 2) Sekiya, M., Osuga, J., Nagashima, S., Ohshiro, T., Igarashi, M., Okazaki, H., Takahashi, M., Tazoe, F., Wada, T., Ohta, K., Takanashi, M., Kumagai, M., Nishi, M., Takase, S., Yahagi, N., Yagyū, H., Ohashi, K., Nagai, R., Kadowaki, T., Furukawa, Y., Ishibashi, S.: Ablation of neutral cholesterol ester hydrolase 1 accelerates atherosclerosis. *Cell Metab.* 10(3):219-28, 2009.
- 3) Sekiya, M., Yahagi, N., Tamura, Y., Okazaki, H., Igarashi, M., Ohta, K., Takanashi, M., Kumagai, M., Takase, S., Nishi, M., Takeuchi, Y., Izumida, Y., Kubota, M., Ohashi, K., Iizuka, Y., Yagyū, H., Gotoda, T., Nagai, R., Shimano, H., Yamada, N., Kadowaki, T., Ishibashi, S., Osuga, JI. : Hormone-sensitive lipase deficiency suppresses insulin secretion from pancreatic islets of

Lep(ob)/l(ob) mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 387(3):511-515, 2009.

- 4) Sone, H., Tanaka, S., Iimuro, S., Oida, K., Yamasaki, Y., Ishibashi, S., Oikawa, S., Katayama, S., Ito, H., Ohashi, Y., Akanuma, Y., Yamada, N.: Waist circumference as a cardiovascular and metabolic risk in Japanese patients with type 2 diabetes. *Obesity* 17(3):585-592, 2009.
- 5) Sone, H., Tanaka, S., Iimuro, S., Oida, K., Yamasaki, Y., Oikawa, S., Ishibashi, S., Katayama, S., Ito, H., Ohashi, Y., Akanuma, Y., Yamada, N.: Components of metabolic syndrome and their combinations as predictors of cardiovascular disease in Japanese patients with type 2 diabetes. Implications for improved definition. Analysis from Japan Diabetes Complications Study (JDCS). *J Atheroscler Thromb.* 16(4):380-387, 2009.
- 6) Sun, L., Ishida, T., Yasuda, T., Kojima, Y., Honjo, T., Yamamoto, Y., Yamamoto, H., Ishibashi, S., Hirata, K., Hayashi, Y.: RAGE mediates oxidized LDL-induced pro-inflammatory effects and atherosclerosis in non-diabetic LDL receptor-deficient mice. *Cardiovasc Res.* 82(2):371-381, 2009.
- 7) Tokuyama, K., Nagasaka, S., Mori, S, Takahashi N, Kusaka I, Kiyonaga A, Tanaka H, Shindo M, Ishibashi S. Hepatic insulin sensitivity assessed by integrated model of hepatic and peripheral glucose regulation. *Diabetes Technol Ther.* 11(8):487-92, 2009.

- 8) 永島秀一, 野牛宏晃, 高橋仁麗, 倉科智行, 高橋 学, 田中泰道, 植田武史, 田副文子, 稲葉利敬, 岡田健太, 江藤一弘, 長坂昌一郎, 岡田耕治, 石橋 俊: メタボリックシンドロームにおけるトリグリセライド水分解酵素群の脂肪部位別発現の意義. *Therapeutic Research* 30(6) : 899-904, 2009. 06

#### 参考文献

- 1) Tarugi, P., Averna, M., Di Leo, E., Cefalu, A.B., Noto, D., Magnolo, L., Cattin, L., Bertolini, S. & Calandra, S. (2007) Molecular diagnosis of hypobetalipoproteinemia: an ENID review. *Atherosclerosis* 195, e19-27.
- 2) Ohashi, K., Ishibashi, S., Osuga, J., Tozawa, R., Harada, K., Yahagi, N., Shionoiri, F., Iizuka, Y., Tamura, Y., Nagai, R., Illingworth, D.R., Gotoda, T. & Yamada, N. (2000) Novel mutations in the microsomal triglyceride transfer protein gene causing abetalipoproteinemia. *J Lipid Res* 41, 1199-1204.
- 3) Ohashi, K., Ishibashi, S., Yamamoto, M., Osuga, J., Yazaki, Y., Yukawa, S. & Yamada, N. (1998) A truncated species of apolipoprotein B (B-38.7) in a patient with homozygous hypobetalipoproteinemia associated with diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18, 1330-1334.
- 4) Nakayama, K., Bayasgalan, T., Yamanaka, K., Kumada, M., Gotoh, T., Utsumi, N., Yanagisawa, Y., Okayama, M., Kajii, E., Ishibashi, S. & Iwamoto, S. (2009) Large scale replication analysis of loci associated with lipid concentrations in a Japanese population. *J Med Genet* 46, 370-374.
- 5) Cohen, J., Pertsemlidis, A., Kotowski, I.K., Graham, R., Garcia, C.K. & Hobbs, H.H. (2005) Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nat Genet* 37, 161-165.
- 6) Cohen, J.C., Boerwinkle, E., Mosley, T.H., Jr. & Hobbs, H.H. (2006) Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med* 354, 1264-1272.
- 7) Miyake, Y., Kimura, R., Kokubo, Y., Okayama, A., Tomoike, H., Yamamura, T. & Miyata, T. (2008) Genetic variants in PCSK9 in the Japanese population: rare genetic variants in PCSK9 might collectively contribute to plasma LDL cholesterol levels in the general population. *Atherosclerosis* 196, 29-36.

平成21年度厚生労働科学研究研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業  
原発性高脂血症に関する調査研究

高度高中性脂肪血症（急性膵炎発症例を含む）50例の原因検索

分担研究者： 白井厚治 東邦大学医療センター佐倉病院、内科  
研究協力者： 大平征宏 同上  
村野武義、 同上、研究開発部

高中性脂肪血症は高度になると急性膵炎を発症することがあり、その予防という点からも原因検索は必要である。現在、血中中性脂肪（TG）加水分解酵素であるリポ蛋白リパーゼ（LPL）、アポ蛋白 C-II に加え、アポ蛋白 E や LPL 反応阻害因子である Angiopoietin like-3 (Angptl3) が知られており、LPL 遺伝子異常は、これまで全世界でエクソン全領域において 50 以上の変異が同定され、本邦においても 30 余りの例が報告されている。

今回、我々は急性膵炎を来した例も含む 50 例の高度高中性脂肪血症例について分析を行った。その中で LPL 蛋白量、活性が異常な例は約 50% 程度で残りの半数は LPL 正常な例と考えられた。また LPL 欠損症の要因と考えられる LPL 遺伝子異常は、LPL 蛋白や活性が低下している場合でもごく稀で、高度高中性脂肪血症において LPL 欠損症（遺伝子異常）以外の病態が多い可能性が考えられた。

また LPL 以外の要因としてアポ C-II の異常は今回認めず、LPL の血管内皮への係留に関連するとされる GPIIb/IIIa 遺伝子異常も認められなかったが、アポ蛋白 A-V 遺伝子異常の一つ G553T は高中性脂肪血症例で高頻度に認められ、また Angptl3 蛋白量も増加している例も認められ、これらが LPL が正常な例における高度高 TG 血症に関連している可能性が示唆され、その詳細について今後更なる検討が必要と思われた。

## A. 研究目的

高中性脂肪血症（高 TG 血症）は、比較的頻度の高い疾患であるが、高度な場合、しばしば急性膵炎を併発し、時に致死的な場合もある。この高度高 TG 血症の原因として、通常過食による合成亢進に加え、その根底には血中の TG 水解酵素であるリポ蛋白リパーゼ（LPL）の作用低下が考えられる。LPL は血管内皮細胞表面に係留し、血中のカイロミクロン、超低比重リポ蛋白（VLDL）の中性脂肪を水解する酵素で、主に脂肪細胞で合成され、活性発現にアポ蛋白 C-II を必要とする。この LPL の欠損が要因である原発性 I 型高脂血症では、LPL の作用低下により血中 TG 濃度が 3000mg/dl 以上を呈する著しい高度高中性脂肪血症を認めることが知られ、その要因として、LPL 遺伝子の異常である LPL 欠損症、LPL の活性促進因子であるアポ C-II の欠損（ア

ポ C-II 欠損症）がある。家族性 LPL 欠損症は、その頻度が 100 万人に 1 人程度の稀な疾患である。LPL 遺伝子異常は、これまで全世界でエクソン全領域において 50 以上の変異が同定され、本邦においても 20 余りの例が報告されている。

一方、実際に高度高中性脂肪血症例の LPL について調べてみると、LPL の異常が特定できない例もしばしば認められ、高中性脂肪血症発症における LPL 以外の関与が考えられる。近年、血管新生因子と考えられていた Angiopoietin like-3 (Angptl3) の LPL 阻害作用が報告されて高 TG 血症発症への関与が示唆されつつあり、また高中性脂肪血症例においてアポ蛋白 A-V（アポ A-V）の遺伝子異常が同定され、高中性脂肪血症発症におけるアポ A-V の関与の可能性が考えられつつある。さらに最近、LPL の血管内皮細胞表面へ

の係留に関連する蛋白と考えられている Glycosyl phosphatidylinositol-anchored high density lipoprotein-binding protein 1 (GPIHBP1)の遺伝子異常が高度高中性脂肪血症例において見出され、その関連が示唆されている。

今回、50例の高度高中性脂肪血症（急性膵炎発症例含む）の原因検索に関する現状を明らかにする目的で検討を行った。

## B. 研究方法

対象者：当院および他院より解析依頼のあった高度高中性脂肪血症 50 例（年齢は 0～69 歳。男性 26 例、女性 24 例、平均年齢  $34.5 \pm 13.2$  歳。）。臨床背景として急性膵炎併発例 16 例（32.0%）、糖尿病例 16 例（32.0%）であった（表 1）。

方法：

### LPL 蛋白量

ヘパリン静注 10 分後血漿およびヘパリン静注前血清を材料とし、モノクローナル抗体を用いたサンドイッチ ELISA 法（積水メディカル）を用いて行った。

### LPL 活性

ヘパリン静注 10 分後血漿を材料とし、1 M NaCl により LPL 活性のみが阻害される性質を利用した方法を用いて、得られた遊離脂肪酸量より算出した。

### LPL 遺伝子異常の検索

末梢血（EDTA-2Na 入り採血管にて採血）から DNA を抽出し、その DNA を鋳型として PCR 法にて LPL 遺伝子領域を増幅し、直接塩基配列決定法にて塩基配列を同定した。また既に日本人で報告されている遺伝子異常のうちの 7 種類（Ex3 Y61X、Ex5 D204E、Ex5 A221del、Ex6 R243C、Ex7 A334T、Ex8 W382X、Ex9 S447X）について、制限酵素断片長多型（RFLP）法にて検出を行った。

### GPIHBP1 遺伝子解析

末梢血（EDTA-2Na 入り採血管にて採血）から抽出した DNA を鋳型として PCR 法にて GPIHBP1 遺伝子領域を増幅した。既に報告されている遺伝子異常 2 種類（G56R、Q115P）について RFLP 法にて検出を行った。

### アポ蛋白 A-V 遺伝子解析

末梢血（EDTA-2Na 入り採血管にて採血）から抽出し

た DNA を鋳型として PCR 法にてアポ蛋白 A-V 遺伝子領域を増幅した。既に報告されている遺伝子異常のうちの 3 種類（C415T、C443T、G553T）について RFLP 法にて検出を行った。

### 血清 Angpt13 蛋白量定量

検査可能な症例（50 例中 20 例）について血清を材料としてモノクローナル抗体を用いた ELISA 法（IBL）にて測定を行った。

## C. 研究結果

### 1) 高度高中性脂肪血症例における postheparinLPLmass および LPL 活性による LPL 型別分類と分布

Postheparin plasma 中の LPL 蛋白量、活性測定値より、対象例を欠損型（LPLmass < 50、LPL 活性 < 2.0）、機能異常型（LPLmass > 100、LPL 活性 < 3.0）、発現低下型（LPLmass : 50～150、LPL 活性 : 2.0～4.0）、正常型（LPLmass > 150、LPL 活性 > 4.0）の 4 群に分類した。

（図 1）。

50 例中、欠損型は 7 例（14%）、機能異常型 4 例（8%）、発現低下型 9 例（18%）、正常型 30 例（60%）であった（表 2）。LPL 異常である欠損型、機能異常型、発現低下型を合計しても 20 例（40%）であり、対象例の半数以上は LPL が正常と考えられた。

### 2) 高度高中性脂肪血症例における LPL 遺伝子異常頻度

高度高中性脂肪血症 50 例において全エキソン領域の塩基配列について遺伝子異常を検索したところ、Ex5. D204E 1 例（2.0%）及び Ex9. S447X 6 例（10.0%）が認められたが、他の 43 例については変異を認めなかった。

### 3) LPL 型別高度高中性脂肪血症例における LPL 遺伝子異常頻度

今回の対象例で認められた LPL 遺伝子異常頻度を LPL 群別に比較したところ（表 2）、今回認められた変異例は LPL 欠損型、機能低下型、発現低下型といった LPL 異常が考えられる群で 20 例中計 5 例（Ex5. D204E 1 例及び Ex9. S447X 4 例）認められ、LPL 正常型でも S447X が 2 例認められた。

### 4) 高度高中性脂肪血症例における GPIHBP1 遺伝子異常頻度

高度高中性脂肪血症例において2種類の既知の GPIHBP1 遺伝子変異 G56R、Q115P の頻度を検討したが、変異例は認められなかった。

#### 5) 高度高中性脂肪血症例におけるアポA-V 遺伝子異常頻度

高度高中性脂肪血症例においてアポA V 遺伝子異常について検索したところ、今回検索した3種類の変異のうち G553T 保有例が認められ(表3)、正脂血症例に比して高頻度であった(表4)。LPL 群別に G553T 頻度を比較したところ LPL 欠損型、機能低下型に比して LPL 正常型、LPL 発現低下型で頻度増加を認め、LPL 群ごとに頻度の相違を認めた(表4)。

#### 6)

#### 7) 高度高中性脂肪血症例における Angptl3 蛋白量定量

検査可能であった20例について血清中 Angptl3 濃度を測定したところ、 $316.3 \pm 158.9 \text{mg/ml}$  と正脂血症例に比して高値傾向を認めた。また LPL とは相関を認めなかったが、LPL 群別の平均値を LPL 異常症型別に比較したところ、正常例では欠損型や発現低下型といった LPL 異常例に比して高値傾向を認めた(表5)。しかし LPL 正常例の中でもばらつきを認め、一様ではなかった。

## D 考察

高中性脂肪血症は40歳以上の男性では半数近くが該当するとも言われ、比較的頻度が高い疾患ではあるが、 $1000 \text{mg/dl}$  以上になるような高度な例は極めて稀である。高度高中性脂肪血症の要因として考えられる病態として LPL 欠損症がある。LPL 欠損症は、その頻度が100万人に1人程度の稀な疾患であり、LPL 遺伝子異常が要因と考えられている。

また対象例について遺伝子解析をおこなったところ、LPL 遺伝子異常の頻度は50例中7例(14.0%)であった。このことは高度高中性脂肪血症でも LPL 遺伝子異常頻度は決して高くなく、LPL 遺伝子異常以外の要因が大半であることを示唆していると考えられる。

更に今回の対象群を LPL 蛋白量、活性の数値から群分けし、各群での要因について検討した。LPL 群として、蛋白量、活性共にない場合、蛋白の発現をみない

LPL 蛋白欠損型、蛋白量は存在しているが、活性が低下している状態は機能低下型、蛋白量、活性ともに低下している場合、発現低下型、また蛋白量、活性ともに正常である場合を正常型としてみると、LPL 蛋白欠損型や機能低下型においては LPL 遺伝子異常例も半数近く認められ、この群の多くは LPL 蛋白自体の異常が高 TG 血症発症に関与している可能性が考えられた。一方、LPL 蛋白は異常にもかかわらず遺伝子異常を認めない例も半数認められ、これらの要因については更なる検討が必要と思われた。また発現低下型、正常型では糖尿病合併例も多く認められ、糖尿病、肥満、甲状腺機能低下症などによる二次性の LPL 発現量低下が関与している可能性も考えられた。また LPL 正常型は高度高中性脂肪血症の半数を占めたことから、高 TG 血症発症要因として LPL 自体の異常より LPL 蛋白異常以外が関連する場合の方が頻度が高いと考えられた。

この LPL 以外の要因として近年高度高中性脂肪血症にて見出されているアポA V 遺伝子異常と GPIHBP1 遺伝子異常について、その頻度を検討したところ、GPIHBP1 遺伝子異常は今回の対象では認められなかったが、アポA V では今回検索した3種類の変異のうち G553T 保有例が認められ、特に LPL 異常型に比して LPL 正常型で特に頻度増加を認め、LPL 正常例における高 TG 血症発症への関与の可能性が示唆された。

また近年 LPL 反応阻害作用が報告されている Angptl3 について今回の対象例における血中濃度を見たところ、正脂血症例に比して高値傾向を認め、特に LPL が正常な例で高値傾向を認めたが、正常な群の中でも低値例も高値例も混在してばらつきを認め、一様ではなく、LPL が正常な場合の高中性脂肪血症に関連する可能性は示唆されたが、その詳細は今後更に検討する必要があると思われた。

## E 結論

以上の結果より、日本人高度高中性脂肪血症例における要因について検討したところ、LPL 遺伝子異常頻度は LPL 蛋白や活性が低下している場合でも多くなく、

その要因解明には更なる検討が必要と思われた。また LPL 正常な例は半数程度認められ、LPL 以外の要因としてアポ A V 異常や LPL 阻害因子 (Angpt13) の関与が考えられる症例も認められたが、それらの高中性脂肪血症発症の関与については更なる検討が必要と思われた。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

準備中

## H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

14	34	女	-	-	34.9	.	.	WT	±	2/3
15	69	男	-	+	51	208	7.85	WT	±	2/3
16	54	男	-	-	13.4	196	7.71	WT	-	2/3
17	39	男	-	-	86.1	381	5.22	S446X	+	2/4
18	64	男	-	-	35.2	220	3.76	WT	+	2/4
19	10	女	-	-	48.3	267	6.73	WT		3/3
20	40	男	+	-	18.8	129	5.89	WT		3/3
21	.	男	-	+	28.3	242	8.27	WT	-	3/3
22	.	男	-	-	81.1	188	.	WT	-	3/3
23	67	女	-	-	56.2	.	3.9	WT	+	3/3
24	12	男	-	-	42.4	151	4.32	WT	±	3/3
25	37	女	-	+	51.4	152	5	WT	±	3/3
26	50	女	+	+	45.2	274	8.78	未	±	3/3
27	31	男	-	-	18.8	184	5.75	WT	-	3/3
28	34	男	+	+	25.3	182	4.49	未	±	3/3
29	57	男	-	-	32.1	164	5.15	WT	-	4/3
30	35	女	+	+	15.8	162	6.68	WT	±	4/3
31	38	男	-	-	59	364	9.48	WT	-	4/3
32	57	女	-	+	25.1	152	3.2	WT	±	4/3
33	43	女	+	+	40.5	.	.	未	±	4/4
34	43	男	-	-	45.9	.	.	WT	+	4/4
35	53	女	-	-	53.8	.	.	S446X	-	5/5
36	35	男	+	+	.	.	.	未	未	
37	27	女	+	-	26	194	.	WT	未	
38	0	女	-	-	103	.	.	WT	±	4/3
39	39	男	-	-	45.5	375	9.48	WT	-	3/3
40	28	男	-	-	79.7	392	10.2	WT	-	2/3
41	.	男	-	-	61.2	361	10.4	未	未	
42	40	女	-	-	38	.	.	WT	+	2/3
43	25	女	+	+	17.4	99.8	1.64	WT	-	3/3
44	32	女	+	-	22.4	.	.	WT	±	3/3
45	28	男	-	-	30.8	102	3.11	WT	+	3/3
46	0	男	-	-	32.1	73.3	0.87	S446X	-	3/3
47	45	女	-	+	52	139	3.76	WT	±	4/3
48	48	男	-	-	.	159	2.48	WT	±	4/3
49	6	男	+	-	.	97	.	WT	±	2/3
50	.	女	-	-	28.9	222	.	WT	-	3/3

表 1. 高度高中性脂肪血症解析症例

No.	年齢	性別	降炎	DM	LPL			遺伝子解析		apoE iso
					pre	post	活性	LPL gene	apoA5 553G	
1	0	女	-	-	53.5	163	2.71	WT	+	3/3
2	39	男	+	-	56	142	1.52	D204E	-	3/3
3	0	女	-	-	37	182	0	WT	-	4/3
4	15	男	+	-	.	346	2.58	未	-	
5	55	男	-	-	3.4	13.3	0.66	S446X	-	3/3
6	15	女	+	-	.	45	0.54	WT	±	3/3
7	64	女	-	+	20	39.5	1.26	WT	-	3/3
8	2	女	-	-	26.1	39.4	0.81	S446X	-	4/3
9	29	女	+	-	10.2	.	.	S446X	-	7/3
10	17	女	+	-	.	13	.	WT	±	3/3
11	50	男	+	-	6.9	6.9	0.33	WT	-	4/3
12	28	男	-	-	71.3	354	11.38		±	2/3
13	51	女	-	-	65.9	244	7.78	WT	±	2/3

図1 ヘパリン静注後血漿中LPL蛋白量及び活性とLPL異常症の分類

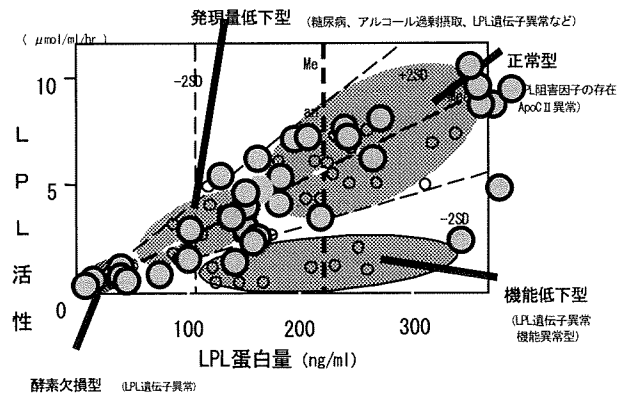


表2 LPL異常症別 LPL遺伝子異常頻度

LPL異常症分類	分布頻度	LPL遺伝子解析		
		異常例	頻度	変異種類
欠損型	7(14%)	3	42.9%	Ex9. S447X : 3例
機能異常型	4(8%)	1	25.0%	Ex5. D204E : 1例
発現低下型	9(18%)	1	11.1%	Ex9. S447X : 1例
正常型	30(60%)	2	3.7%	Ex9. S447X : 2例
Total		7	14.0%	Ex5. D204E : 1例 Ex9. S447X : 6例

表3. 高度高中性脂肪血症例におけるApoA V遺伝子異常頻度

	443C>T (Q145X)	457G>A ( V153M)	553G>T (Gly185Cys)
homo	0 (0%)	0 (0%)	7 (15.6%)
hetero	0 (0%)	0 (0%)	18 (40.0%)
WT	45 (100%)	45 (100%)	20 (44.4%)
Total	45	45	45

表4. LPL異常症別 アポA-V 553G-T変異頻度

	アポA-V 553G-T		
	Homo	Hetero	WT
正脂血症	0/44 (0%)	1/44 (2.3%)	43/44 (97.7%)
高度高TG血症	7/45 (15.6%)	18/45 (40.0%)	20/45 (44.4%)
欠損型	0/7 (0%)	2/7 (29.4%)	5/7 (64.7%)
機能異常型	1/4 (25.0%)	0/4 (0%)	3/4 (75.0%)
発現低下型	2/9 (22.2%)	4/9 (44.4%)	3/9 (33.3%)
正常型	4/25 (16.0%)	12/25 (48.0%)	9/25 (36.0%)

表5. LPL異常症別 血清Anpt13濃度

	測定	平均値
	検体数	
正脂血症	25	269.7 ± 87.1
高度高TG血症	20	316.3 ± 158.9
欠損型	1	143.6
機能異常型	0	—
発現低下型	2	165.6 ± 40.9
正常型	17	344.2 ± 156.0



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

LCAT 欠損症例の遺伝子解析

分担研究者 後藤田 貴也 東京大学大学院臨床分子疫学特任准教授

研究要旨 症例は角膜混濁に加えて貧血、蛋白尿を呈する 57 歳の男性。血液検査で HDL-C 11mg/dl、LCAT 活性感度以下であり、腎生検で糸球体病変を認める。ヒト LCAT 遺伝子の塩基配列解析の結果、C-T 点突然変異により 140 番目の Arg が Cys に置換するミスセンス変異をもつホモ接合体であることが判明した。

A. 研究目的

低 HDL-C 血症に加えて角膜混濁、正球性正色素性貧血、蛋白尿を呈する患者の LCAT (lecithin-cholesterol acyltransferase) 遺伝子を調べる。

B. 研究方法

発端者は 57 歳の男性。幼少期より角膜の混濁と尿検査における異常を指摘されていた。家族歴に明らかな近親婚歴はない。LCAT 活性は人工基質法を用い、LCAT 遺伝子は患者末梢血 DNA から全エクソンおよびエクソン-イントロン境界部位を PCR 法にて増幅後、塩基配列を決定した。腎生検により腎病変の評価も行った。

C. 研究結果

患者の血中脂質レベルは、TC=115mg/dl、TG=173mg/dl、LDL-C=56mg/dl、HDL-C=11mg/dl であり、CE 比は 24%と低値を示した。血中アポ蛋白は、A-I、A-II、C-II、C-III が低値を示し、アポ B は正常で、アポ E はやや増加する傾向を示した。

尿検査では顕微鏡的血尿を認め、24 時間尿中蛋白は 0.71g/日であったが、血清 BUN と Cr は正常範囲内であった。また、正球性正色素性貧血を認めた。

腎生検では、糸球体の 10%に広範な硬化像を認め、糸球体基底膜の肥厚に加えて、基底膜およびメサンギウム領域に空泡変性と電顕で高電子密度領域を認めた。尿細管間質領域にはわずかな変化のみが認められた。

患者 LCAT 遺伝子の全エクソンとエクソン-イントロン境界部位の塩基配列を調べた結果、唯一、エクソン 4 内における C から T への点突然変異が同定された。患者ではこの変異により成熟 LCAT 蛋白質の 140 番目（開始コドンの Met からは 164 番目）のアミノ酸が Arg (CGC) から Cys (TGC) へ置換されることとなり、患者はこのミスセンス変異をホモ接合体の形で有していた。100 名の対照日本人 DNA 中に同じ変異が同定されなかったことから、本変異は common な遺伝子多型ではなく、病的意義をもつ変異であると考えられた。

#### D. 考察

今回同定された R140C (p. R164C) 変異は、同一部位におけるより軽度なミスセンス変異 (R140H) が欧米人で LCAT 欠損症の原因となり、発現実験で機能喪失型変異であることが確認されていること (Hum Genet 96:105-109, 1995) から、LCAT 欠損症の原因と考えられる。興味深いことに、まったく同一の変異が学会抄録ではあるが、日本人患者において報告されている (動脈硬化 23 巻 p847, 1996)。この既報症例と本症例との血縁関係は明らかではなく、また本症例はホモ接合体であるにも関わらず近親婚歴を欠くため、本 R140C (p. R164C) 変異は日本人において比較的高頻度に存在する可能性が考えられる。

#### E. 結論

新規の日本人 LCAT 欠損症例の遺伝子解析を行い R140C (p. R164C) 変異を同定した。なお、本研究は広島大学病院腎臓内科の平塩秀磨先生との共同研究による。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Sekiya M, Yahagi N, Tamura Y, Okazaki H, Igarashi M, Ohta K, Takanashi M, Kumagai M, Takase S, Nishi M, Takeuchi Y, Izumida Y, Kubota M, Ohashi K, Iizuka Y, Yagyu H, Gotoda T, Nagai R, Shimano H, Yamada N, Kadowaki T, Ishibashi S, Osuga J: Hormone-sensitive lipase deficiency suppresses insulin secretion from pancreatic islets of Lep ob/ob mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;387:511-515.

##### 2. 学会発表

後藤田貴也、飯塚陽子、周宇ハン、和泉梢、喬荊、代田翠、山本隆史、伊藤哲、小松一俊、藤田敏郎: SHR を用いて同定された高血圧・内臓脂肪蓄積関連遺伝子の遺伝子改変マウスの作製 第45回高血圧関連疾患モデル学会学術総会 (シンポジウム) 2009年

G. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

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

家族性高コレステロール血症患者におけるプロブコール投与時の HDL の機能解析

分担研究者 山下 静也（大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学）  
共同研究者 外山裕美子（大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学）  
稲垣美和子（大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学）

研究要旨

家族性高コレステロール血症（FH）は早発性冠動脈疾患の頻度が高く、極めてハイリスクであり、その治療は重要である。高比重リポ蛋白（HDL）はマクロファージからのコレステロール引き抜きと肝臓へのコレステロール逆転送系の促進に加え、抗酸化作用、抗炎症作用、抗凝固作用なども有し、それらを介して抗動脈硬化作用を発揮することが明らかとなってきた。一方、プロブコールは HDL コレステロール（HDL-C）濃度を低下させるものの、強力な抗酸化能を併せ持つことが知られている。そこで我々は FH ヘテロ接合体患者におけるプロブコール投与時の HDL 機能を解析し、プロブコールによる HDL の抗酸化能に及ぼす影響を検討した。その結果、プロブコール投与群の HDL は非投与群に比べて LDL に対する強い抗酸化能を持つことが示され、その作用は PON1 を介して行われることが示唆された。本研究により我々は、HDL 粒子の抗酸化作用の増強というプロブコールの持つ新たな抗動脈硬化作用機序を明らかにした。

A. 研究目的

原発性高脂血症の中で、家族性高コレステロール血症（FH）は早発性冠動脈疾患の頻度が高く、極めてハイリスクであり、その治療は重要である。FH ヘテロ接合体患者ではスタチン、陰イオン交換樹脂、プロブコール、小腸コレステロールトランスポーター阻害薬（エゼチミブ）を中心とした薬物が投与されているが、イベントの抑制に繋がったという大規模試験の成績は未だなかった。しかし、昨年度の報告において、我々は日本の 15 の医療センターの循環器及び代謝専門医のもとに通院している FH ヘテロ接合体患者 541 人を対象とした後ろ向きコホート研究により、プロブコール投与群、非投与群で生存曲線を検討したところ、プロブコール投与

群では非投与群に比べて LDL コレステロール（LDL-C）値が高く、重症例であったが、それにもかかわらず特に二次予防例でイベント発生がプロブコール投与群では強く抑制されることを報告した。また、プロブコール投与による HDL-C 低下の程度に関わりなく、心血管イベント発生が有意に強く抑制されていた（ハザード比 0.13 ; 95% confidence interval [CI], 0.05-0.34) ( $P < 0.001$ ) (Yamashita S, et al, J Atheroscler Thromb 15:292-303, 2008)。従って、長期間のプロブコール投与は FH ヘテロ接合体の特に二次予防症例において、心血管イベントの再発を抑制する可能性が示唆された。

FH 患者はアキレス腱肥厚を中心とする黄色腫が特徴的であり、プロブコールは LDL-C 値の低下のみならず、LDL の酸化を強く抑制すると

いう特長を有し、さらにアキレス腱黄色腫の退縮も促進する。しかし、プロブコールはコレステロールエステル転送蛋白 (CETP) の活性増加によって HDL-C も低下させる。このプロブコール投与によって低下した HDL 粒子が、抗酸化作用をどの程度有するのかは明らかでない。そこで、本研究では FH 症例におけるプロブコール投与時の HDL 機能を解析し、プロブコールによる HDL の抗酸化能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

FH 症例のうち、プロブコール投与群 21 例、非投与群 15 例の血液を採取し、以下の項目につき検討した。

(1) 血清脂質プロファイル、(2) HPLC によるリポタンパク分析、(3) AAPH induced LDL oxidation における HDL 添加による抗酸化能解析、(4) HDL 上に存在するタンパクの活性と抗酸化能との関連。

### (倫理面への配慮)

本研究は大阪大学医学部附属病院倫理委員会で承認されており、血液採取前に全例において同意書を取得している。

## C. 研究結果

### 1. プロブコール投与の血清脂質、リポ蛋白質、アポ蛋白濃度に及ぼす効果

プロブコール投与群は非投与群に比し、HDL-C 濃度が 47%、アポ蛋白 (Apo) A-I 濃度が 38% 低下していたが、LDL-C 濃度に有意差はなかった。

### 2. プロブコール投与のリポ蛋白粒子径に及ぼす影響

HPLC 解析により、プロブコール投与群の HDL は非投与群の HDL に比し、小粒子化していた。

### 3. HDL の抗酸化能に及ぼすプロブコール投与の効果

プロブコール投与群の HDL は酸化薬添加後の LDL oxidation において lag phase duration を

112% 延長させ、maximum oxidation rate を 14%、maximum concentration of conjugated dienes を 15% 低下させた。

## 4. プロブコール投与後の PON-1 活性

ApoA1 で補正した PON1 活性は酸化薬添加後の LDL oxidation において lag phase duration と正の相関を、maximal oxidation rate と maximum concentration of conjugated dienes に対して負の相関を示した。

## D. 考察

FH 症例において、プロブコールによって小粒子化した HDL は非投与群に比べて LDL に対する強い抗酸化能を示し、その作用は HDL 粒子上に存在する PON1 を介していることが示唆された。

## E. 結論

我々はこれまでプロブコールにはコレステロール逆転送系を促進させる作用があることを報告してきたが、さらに本研究により、HDL の抗酸化能増強作用を有することを見出し、プロブコールの持つ新たな抗動脈硬化作用機序を明らかにした。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 第 74 回日本循環器学会学術集会 発表予定

## H. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 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

原発性高脂血症に関する調査研究

分担研究者 横山信治 名古屋市立大学大学院医学研究科 生物化学分野 教授

研究要旨 ABCA1 による HDL 新生の活性制御と生理的役割について研究した。1) ABCA1 の遺伝子の転写は細胞内コレステロールを検知する LXR $\alpha$ により促進され、ステロール代謝による直接的制御が主要であるとされる。しかし脂肪酸や糖代謝などエネルギー代謝に関わる転写因子 PPAR による制御も知られており、これらも LXR 系を介することを以前に報告した。その機序について検討した結果、PPAR $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$ の各 subtype とも ABCA1 遺伝子の転写促進には LXR $\alpha$ を介し、しかも LXR $\alpha$ 自身が PPAR $\alpha$ の転写促進を行うことから、LXR $\alpha$ と PPAR $\alpha$ の間には遺伝子転写促進の propagation loop が存在することが分かった。また PPAR $\alpha$  欠損マウスでは HDL 代謝に見るべき変化がないことから、この回路は他の PPAR についても存在していると考えられる。2) コレステロール異化のための末梢細胞からのその搬出の二大因子である ABCA1 と LCAT の double knockout mouse を作成し、ステロール代謝を検討した。これらのマウスには劇的なコレステロールの蓄積は認められず、唯一コレステロール負荷時に肝臓へのステロール蓄積が見られ、HDL 新生の主要臓器が肝臓であることが分かった。いわゆるコレステロール逆転送には多くの代償系のバックアップが存在することが示唆された。

A. 研究目的

ABC トランスポーターは、細胞内の物質を細胞外に搬出することにより、代謝制御に重要な役割を果たす。ABCA1 は末梢細胞で異化できないコレステロールを膜磷脂質とともに HDL 粒子を形成することで細胞外に放出する機能を持ち、その活性は遺伝子転写と蛋白質分解により調節される。これらの制御機構を研究することで、ステロール代謝平衡異常の是正と動脈硬化症の予防・治療の技術開発を目的とする。

B. 研究方法

1) PPAR 系転写因子(核内受容体)を介する ABCA1 遺伝子の転写制御機構を研究するため、PPAR $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$ 各 subtype に対する選択的アゴニスト ( fenofibrate 、 LY518674 、 bezafibrate 、 gemfibrozil 、 GW501516 、 pioglitazone)と PPAR $\alpha$ 欠損マウスを用いて検

討した。2) 末梢細胞からのコレステロール搬出の二大機構である ABCA1 による HDL 新生と LCAT による細胞コレステロールの HDL への流入促進の両方を、それぞれの遺伝子欠損により同時に阻止 (double knockout mouse)し、これらの生理的役割を検討した。

C & D. 研究成果と考察

1) ABCA1 の転写促進について PPAR と LXR の相互関連を検討の結果①PPAR 系のアゴニスト刺激により、LXR 系 PPAR 系受容体の転写が促進される。この時 PPAR $\alpha$  の欠損 (knockout mouse 細胞)によりこれらの促進はいずれも低下する。②LXR $\alpha$ の遺伝子発現阻害 (siRNA)により、PPAR 系アゴニストによる PPAR $\alpha$ の転写促進はなくなる。③PPAR $\alpha$ 欠損により、PPAR 系アゴニストによる PPAR $\alpha$ レポータ遺伝子の転写促進は低下する。④LXR $\alpha$

欠損により **LXRE** 遺伝子 (**ABCA1** モデル) **PPAR** 系アゴニストによる転写促進効果はなくなる。以上の結果より、**PPAR $\alpha$** は **LXR $\alpha$** との間で **propagation loop** を形成する事が示された。また他の **PPAR** 系受容体も同様の **propagation loop** が形成されることが強く示唆された (*Atherosclerosis* 205: 413-419, 2009)。HDL 代謝に対する **PPAR** 系の役割についての *in vivo* での検証のために、**PPAR $\alpha$** 欠損マウスの HDL 代謝を検討した。予想に反し、血漿における代謝回転速度の僅かな低下以外に HDL に目立った変化は見られなかった。

2) **ABCA1** による HDL 形成と **LCAT** による細胞コレステロールの HDL への流入の促進の両方を、**double knockout** により阻害によって、いわゆるコレステロール逆転送系の生理的役割を検討した。各臓器に於けるコレステロール蓄積に目立った変化はなく、コレステロールの食餌性の負荷により肝臓のコレステロールの増強が見られた。これにより、細胞コレステロールの搬出と肝臓への輸送には、**ABCA1/HDL/LCAT** 系以外にこれをバックアップするシステムが存在し、**ABCA1** と **LCAT** の両遺伝子の先天性欠損においても、臓器への急激なコレステロール蓄積は起こらないことが示された。これらの経路の後天的な阻害による効果を調べる必要がある (*BBA* 1791: 1197-1205, 2009)。

## F、研究発表

当該年度内の発表論文(○印が本研究課題と直接関連する論文)

### 発表論文リスト

- 1. Masaki Ogata, Maki Tsujita, Mohammad Anwar Hossain, Nobukatsu Akita, Frank J. Gonzalez, Bart Staels, Shogo Suzuki, Tatsuya Fukutomi, Genjiro Kimura, and Shinji Yokoyama. On the Mechanism for PPAR Agonists to Enhance

**ABCA1** Gene Expression (2009) *Atherosclerosis* (2009) **205**: 413-419.

2. Rui Lu, Jinichi Ito, Noriyuki Iwamoto, Tomoko Nishimaki-Mogami, and Shinji Yokoyama. Fibroblast Growth Factor-1 Induces Expression of LXR $\alpha$  and Production of 25-Hydroxycholesterol to Up-Regulate Apolipoprotein E Gene Transcription in Rat Astrocytes. *J. Lipid Research* (2009) **50**: 1156-1164.

- 3. Reijiro Arakawa, Maki Tsujita, Noriyuki Iwamoto, Chisato Ito-Ohsumi, Rui Lu, Chen-Ai Wu, Kenji Shimizu, Tomoji Aotsuka, Hashime Kanazawa, Sumiko Abe-Dohmae, and Shinji Yokoyama. Pharmacological Inhibition of ABCA1 Degradation Increases HDL Biogenesis and Exhibits Antiatherogenesis. *J. Lipid Research* (2009) **50**: 2299-2305.

4. Tomo Nishida, Jin-ichi Ito, Yuko Nagayasu, and Shinji Yokoyama. FGF-1-Induced Reactions for Biogenesis of apoE-HDL are Mediated by Src in Rat Astrocytes. *J. Biochemistry* (2009) **146**: 881-886.

- 5. Mohammad Anwar Hossain, Maki Tsujita, Nobukatsu Akita, Fumihiko Kobayashi, and Shinji Yokoyama. Cholesterol Homeostasis in ABCA1/LCAT Double-Deficient Mouse. *Biochim. Biophys. Acta*, (2009) **1791**: 1197-1205.

- 6. Reecha Sofat, Aroon D Hingorani, Liam Smeeth, Steve E Humphries, Philippa J Talmud, Jackie Cooper, Tina Shah, Manjinder S Sandhu, Sally L Ricketts, S Matthijs Boekholdt, Nicholas Wareham, Kay Tee Khaw, Meena Kumari, Mika Kivimaki, Michael Marmot, Folkert W Asselbergs, Pim van der Harst, Robin P F Dullaart, Gerjan Navis, Dirk J van Veldhuisen, Wiek H Van Gilst, John F Thompson, Pamela McCaskie, Lyle J Palmer, Marcello Arca, Fabiana Quagliariini, Carlo Gaudio, François Cambien, Viviane Nicaud, Odette Poirer, Vilmundur Gudnason, Aaron Isaacs, Jacqueline C M Witteman, Comelia M van Duijn, Michael Pencina, Ramachandran. S Vasan, Ralph B D'Agostino, Jose Ordovas, Tricia Y. Li, Sakari Kakko,

Heikki Kauma, Markku J. Savolainen, Y. Antero Kesäniemi, Anton Sandhofer, Bernhard Paulweber, Jose V Sorli, **Akimoto Goto, Shinji Yokoyama**, Kenji Okumura, Benjamin D Home, Chris Packard, Dilys Freeman, Ian Ford, Naveed Sattar, Valerie McCormack, Debbie Lawlor, Shah Ebrahim, George Davey Smith, John J P Kastelein, John Deanfield, Juan P Casas. Separating the mechanism-based and off-target actions of CETP-inhibitors using *CETP* gene polymorphisms. *Circulation*. (2010) **121**: 52-62.

6. Mariko Harada-Shiba, Takako Sugisawa, Hisashi Makino, Mitsuru Abe, Motoo Tsushima, Yasunao Yoshimasa, Takahiro Yamashita, Yoshihiro Miyamoto, Akira Yamamoto, Hitonobu Tomoike, Shinji Yokoyama. Impact of statin treatment on the clinical fate of heterozygous familial hypercholesterolemia. *J. Atherosclerosis and Thrombosis*. In press.

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

原発性高脂血症に関する調査研究

高齢者におけるメタボリックシンドロームの解析

研究分担者 荒井秀典 京都大学人間健康科学科 教授

#### 研究要旨

加齢によるメタボリックシンドローム (MS) 及びそれに関連する代謝異常への影響を検討するため、ATP III と日本の診断基準を用いて、西暦 2000 年日本人の血清脂質調査における 40 から 79 歳までの 2366 人の解析を行った。MS の頻度は中年女性に比べ、高齢者女性において ATP III 基準で約 3 倍、日本の基準で約 2 倍高かった。男性においてはいずれの基準を用いても高齢者における頻度の増加はなかった。耐糖能異常、高血圧は加齢により男女で増加したが、内臓肥満、脂質異常症は女性でのみ増加した。危険因子数は女性において加齢とともに増加し、ATP III 基準を満たした MS の中では、総コレステロール、non-HDL コレステロールが加齢とともに女性で増加した。このように、加齢は代謝異常に影響を及ぼす重要な要因であり、MS の予防と管理に関するさらなる対策が必要と考えられた。

#### A. 研究目的

生活習慣の欧米化に伴い、肥満が増加していることに加え、加齢とともに皮下脂肪が減少し、内臓脂肪が増加する傾向にあるため、インスリン抵抗性が亢進する。また、脂質異常症や高血圧、耐糖能異常に関しても加齢の影響が大きいとされている。すでに我々は 2005 年に作成された日本のメタボリックシンドローム (MS) の基準を用いて、その頻度に関する解析結果を報告し、女性における MS の頻度が非常に少ないことを報告した。2009 年 ATP III より世界的基準の統一に関する報告があったため、本研究では ATP III 及び日本の基準を用いて、日本人の MS の頻度に関して、中年、高齢者に分けて解析するとともに、加齢による代謝異常への影響に関して解析を行った。また、内臓肥満の指標として使われているウエスト周囲径に関しても日本の基準とともにアジア人用の基準を用いた検討も併せて行った。

#### B. 研究方法

西暦 2000 年日本人の血清脂質調査においてウエスト周囲径を測定した 40 歳から 79 歳までの男女 2366 名 (男 1425 名、女 941 名) を対象として 2005 年の日本の MS 診断基準及び ATP III の基準 (ウエスト周囲径の基準はアジア人用の基準男性 90cm 以上、女性 80cm 以上を用いる) を用いて、40 歳から 64 歳までを中年とし、65 歳から 79 歳までを高齢者として、MS の頻度及び各代謝異常の頻度、特徴に関して解析を行った。中年者に関しては 40 歳から 49 歳までを前期中年、50 歳から 64 歳までを後期中年と分類し、さらに解析を行った。

#### C. 研究結果

表 1 に示すように日本の基準を用いた場合中年男性、高齢者男性の MS 頻度はそれぞれ 13.3, 18.9% であったが、女性はそれぞれ



れ1.5、4.8%であった。一方、ATPIIIの基準を用いた場合中年男性、高齢者男性のMS頻度はそれぞれ33.5、30.8%であり、女性はそれぞれ17.3、34.0%であった。このように女性において高齢者のMS頻度はいずれの基準を用いても高く、男性では有意な差を認めなかった。ATPIIIの基準によるMS該当者は男性で2倍程度、女性で約7から12倍であった。

次に年代ごとに危険因子、MSの合併頻度について日本、ATPIIIの基準別に解析を行った。表2に示すように女性においては日本の基準を用いるとMSの頻度は5%前後であり、中年女性のMS合併頻度はきわめて低かった。しかしながら、ATPIIIの基準を用いると女性におけるMS合併頻度は増加し、高齢者女性においては男性とほぼ同程度となった。女性においては内臓肥満、脂質異常症、高血圧、耐糖能異常いずれの項目も年齢とともにその合併頻度は増加傾向を示した。一方、男性では高血圧、耐糖能異常は年齢による増加傾向を示すものの、内臓肥満、脂質異常症については大きな変化を示さず、むしろ脂質異常症は加齢とともに減少傾向を示した。

次にATPIIIの基準によりMSと診断された人の臨床データの男女別比較を行った。表3に示すように年齢は有意に女性が高く、ウエスト周囲径、拡張期血圧、トリグリセリド、RLPコレステロール、空腹時血糖は有意に男性において高値を示した。

さらに閉経による影響を明らかにするため、中年を50歳未満と以上に分けて解析を行った。表4に示すようにATPIIIの基準によりMSに該当する男女において、中年前期、中年後期、高齢者に分けて各指標の比較検討

を行った。その結果血圧は中年後期から男女ともに上昇し、総コレステロール、non-HDLコレステロールは女性において中年後期から増加することがわかった。男性においては加齢によりインスリン値の減少を認めた。

最後に表4と同じ年代ごとの各危険因子の合併頻度の比較を行ったところ、表5に示すように男性においては加齢とともに高TG血症及び脂質異常症の合併頻度が減少し、女性においては加齢とともに内臓肥満の合併頻度が増加し、中年後期で高TG血症の合併頻度が多く、中年前期で低HDL血症の合併頻度が高かった。また、高血圧の合併は男女ともに加齢とともに増加した。

#### D. 考察

本研究結果から日本人におけるMSの合併頻度に関して、中年、高齢者における合併頻度とその臨床的な特徴が明らかになった。議論になることが多いウエスト周囲径に関してはこの解析結果からは日本人における基準、あるいはアジア人の基準、いずれがより適当であるかという結論は導き出せないが、近年の研究においては女性においては80cm以上を採用した方が他のリスク因子や予後との関係が優れているという報告がみられる。今後検討を要する課題であると考えられる。女性における低HDL血症のカットオフ値についても日本では40mg/dlを採用しているが、ATPIIIの基準では50mg/dlとなっており、今後の検討が必要と考えられる。

#### E. 結論

本研究により高齢者におけるMSの合併頻度

及び中年と比較した場合の臨床的な特徴が明らかとなった。日本、及びATPIIIいずれの基準を用いても高齢者女性においてMSの合併頻度が高くなるため、高齢期を迎えるまでの生活習慣の改善が重要であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

1. Arai H. Geriatrics in the most aged country, Japan. Arch Gerontol Geriatr. 49:S1-2, 2009
2. Sugimoto M, Arai H, Tamura Y, Murayama T, Khaengkhan P, Nishio T, Ono K, Ariyasu H, Akamizu T, Ueda Y, Kita T, Harada S, Kamei K, Yokode M. Mulberry leaf ameliorates the expression profile of adipocytokines by inhibiting oxidative stress in white adipose tissue in db/db mice. Atherosclerosis 204:388-94, 2009
3. Tamura Y, Sugimoto M, Murayama T, Minami M, Nishikaze Y, Ariyasu H, Akamizu T, Kita T, Yokode M, and Arai H. C-C Chemokine receptor 2 inhibitor improves diet-induced development of insulin resistance and hepatic steatosis in mice. J Atheroscler Thromb, in press

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）。

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表 1 男女別、年齢別 MS 頻度。日本及び ATP III の基準による頻度を示す。

%	男 (1425)		女 (941)	
	40-64 (1266)	65-79 (159)	40-64 (732)	65-79 (209)
日本	13.3	18.9	1.5	4.8
ATP III	33.5	30.8	17.3	34.0

表 2 男女別、年齢別、MS 及び各危険因子合併頻度。高 TG 血症、高血圧に関しては同じ基準のため、ATPIII より削除。

性別	男								女							
	年齢	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	65-69	70-74	75-79	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	65-69	70-74
n	291	289	359	191	136	67	62	30	171	123	185	108	145	93	75	41
日本																
内臓肥満	49.1	56.4	54.0	57.1	55.1	61.2	48.4	43.3	5.3	11.4	16.8	16.7	11.7	16.1	14.7	17.1
高TG血症	33.7	43.6	31.2	28.8	33.1	25.4	25.8	13.3	6.4	7.3	15.1	22.2	20.7	20.4	18.7	14.6
低HDL血症	11.3	14.2	12.3	13.1	12.5	9.0	9.7	13.3	1.8	4.1	2.2	2.8	2.8	6.5	2.7	4.9
脂質異常症	36.4	46.0	34.5	33.5	36.0	31.3	30.6	20.0	7.6	8.9	15.1	22.2	22.1	21.5	20.0	19.5
高血圧	16.2	20.8	28.7	27.2	49.3	41.8	43.5	40.0	8.8	8.9	17.8	19.4	49.7	49.5	40.0	43.9
耐糖能異常	11.3	15.6	19.5	23.6	22.8	22.4	25.8	16.7	1.8	4.9	3.8	10.2	9.7	15.1	16.0	14.6
MS	9.6	15.2	14.2	12.0	16.2	22.4	17.7	13.3	0.0	0.8	2.2	3.7	1.4	5.4	4.0	4.9
ATP III																
内臓肥満	23.7	34.6	30.1	26.7	30.9	38.8	22.6	23.3	18.7	32.5	31.4	47.2	36.6	48.4	60.0	63.4
低HDL血症	11.3	14.2	12.3	13.1	12.5	9.0	9.7	13.3	8.2	15.4	15.7	12.0	17.9	23.7	24.0	19.5
脂質異常症	36.4	46.0	34.5	33.5	36.0	31.3	30.6	20.0	12.9	17.9	22.7	26.9	29.7	33.3	32.0	31.7
耐糖能異常	34.7	38.4	43.2	44.0	39.7	41.8	40.3	36.7	8.8	15.4	14.6	18.5	24.8	29.0	33.3	26.8
MS	30.6	38.1	33.1	30.4	35.3	32.8	30.6	26.7	5.8	14.6	19.5	25.0	24.8	34.4	33.3	34.1

表 3 ATPIII の基準により MS と診断された男女の臨床データの比較

	男 (n=467)		女 (n=201)		p value
	mean	SD	mean	SD	
年齢	52.4	8.6	60.3	9.7	0.015
BMI	25.2	3	25.2	3.1	0.256
ウエスト周囲径	89.2	7.5	83.6	9.3	<0.001
SBP (mmHg)	132	19.4	132	19.2	0.796
DBP (mmHg)	82	12.9	79	11.3	0.023
T-Cho (mg/dl)	213	35.4	222	36.1	0.96
TG (mg/dl)	194	158, 271	158	117, 191	<0.001
HDL-C (mg/dl)	46	11.5	51	11.3	0.996
LDL-C (mg/dl)	125	33.6	138	30.8	0.118
non-HDL-C (mg/dl)	167	34.8	171	34.5	0.793
RLP-C (mg/dl)	6.9	4.6, 11.7	4.8	3.4, 7.9	<0.001
HbA1c (%)	5.2	0.9	5.3	0.7	0.262
FBS (mg/dl)	108	26	100	18.4	0.029
Insulin ( $\mu$ U/ml)	7.5	4.4	7.7	4.3	0.341

表 4 ATPIII の基準により MS と診断された男女の前期中年、後期中年、高齢者に分けた際の臨床データの比較

	性別	40-49 (M; 195, ;F; 27)		50-64 (M; 223, F; 102)		65-79 (M; 49, F; 72)		p value
		M	F	M	F	M	F	
BMI	M	25.3	2.9	25.1	3.0	25.0	3.0	0.64
	F	24.6	3.5	25.2	3.2	25.5	2.9	0.37
ウエスト周囲径 (cm)	M	89.0	7.2	89.0	7.7	90.0	7.3	0.90
	F	82.0	11.1	83.0	10.1	85.0	7.0	0.14
SBP (mmHg)	M	128	18.5	134	20	138	17.5	<0.0001
	F	121	17.5	134	21	134	15.4	0.003
DBP (mmHg)	M	80	13.3	83	12.9	80	10.2	0.03
	F	76	13.7	81	12.4	79	7.9	0.08
T-Cho (mg/dl)	M	215	33.4	213	36.7	208	37.5	0.45
	F	205	38.7	228	36.1	219	33.2	0.01
TG (mg/dl)	M	255	136	239	214	192	128	0.08
	F	183	200	185	83	144	57	0.02
HDL-C (mg/dl)	M	44.5	9.4	46.7	12.7	46.6	13.1	0.14
	F	46.8	10.9	52.0	11.5	51.1	10.9	0.11
LDL-C (mg/dl)	M	124	33.8	125	33	125	36.1	0.95
	F	128	31.6	140	31.5	139	29.2	0.20
non-HDL-C (mg/dl)	M	170	32.9	166	36	161	36.9	0.19
	F	159	37.8	176	34.4	168	32.1	0.04
HbA1c (%)	M	5.1	0.9	5.2	0.8	5.3	0.6	0.13
	F	5.1	0.5	5.2	0.8	5.4	0.7	0.08
FBS (mg/dl)	M	107.0	27.3	109.0	25.8	106.0	21.4	0.77
	F	97.0	12.2	99.0	19.4	103.0	18.8	0.26
Insulin ( $\mu$ U/ml)	M	8.0	5.2	7.3	3.8	6.3	3.3	0.03
	F	8.2	5.0	7.7	3.3	7.6	5.1	0.80