

では HDLC は上昇する。一方、CETP 活性と冠動脈性心疾患の関連については、遺伝的な CETP 欠損症との関連が検討されてきたが一定の見解が得られておらず、低値が望ましいのか、高値が望ましいのか定かではない[1-4]。

本分担研究報告は、二つの研究で構成されている。一つは吹田研究(コホート研究)の解析を通じて、10 年以上の長期追跡において HDLC が非常に高い領域で冠動脈性心疾患および脳卒中の発症がどうなっているかを検証することである(研究1)。もう一つは、日米の地域住民を対象とした比較研究において、血清 CETP 値、CETP 遺伝子多型 (Exon 15 D442G 変異)、HDLC の関連を明らかにし、電子ビームコンピュータ断層撮影 (EBCT, electron beam computed tomography) で評価した冠動脈石灰化との関連を検討することである(研究2)。研究2においては、既に日本人での解析は実施公表されているため[5]、主に日米比較という視点で解析を実施した。なお研究1および研究2の両方とも既存試料の再解析である。

## B. 研究方法

### 研究1

吹田研究は、1989年に吹田市の住民台帳から30~79歳の12,200名を無作為抽出し、その中で同意が得られた6,485名を第一次コホートとして追跡している。吹田研究の一次コホートの対象者のうち、①循環器疾患の既往歴なし、②脂質異常症の薬物治療を行っていない、③10時間以上の空腹時採血を遵守、5,098人を対象とした。ベースラインの HDLC 値で対象者を40未満、40-59、60-79、80-99、100以上 (mg/dl) の5群に分けて、循環器疾患(冠動脈性心疾患および脳卒中)発症との

関連を検討した。発症の転帰は以下の方法により把握した。① 毎年、脳卒中・心筋梗塞発症状況調査票を送付して、脳卒中・心筋梗塞の発症を把握する。調査票が未返送の場合、電話等で確認する。② 2年に1回の健診受診時に発症の既往を聞き取る。③ 人口動態統計(死因統計)から循環器疾患死亡を確認する。①~③の内容を研究者が確認し、同意が得られた者を対象に入院時のカルテ調査を行って確定診断を得ている。なおカルテ調査が不能または人口動態統計では循環器疾患死亡が確認できるが発症歴が確認できなかった場合は「疑い」とした。

### 研究2

先行研究として平成13~16年度の基盤研究(A)(2)で、「若年男性の冠動脈石灰化と頸動脈肥厚による動脈硬化度と循環器疾患危険因子との関連(主任研究者 上島弘嗣)」に関する研究(日本学術振興会)が円滑に実施され、平成17年3月には300名の40歳代男性の EBCT による冠動脈石灰化が調査された。米国側も米国 NIH/LHBI から研究費を得て、ピッツバーグ近郊住民の調査を実施した。これらの対象者から血液検体の長期保存と他の研究への使用について文書による同意を得た。引き続き平成18~19年度の基盤研究(c)で「日米の血清 CETP およびその規定要因と冠動脈石灰化の関連(主任研究者 岡村智教)」が実施され(日本学術振興会)、保存血清を用いて日米の CETP が測定された。既に日本人での CETP と冠動脈石灰化の関連は調査済みであるが、今回初めて米国での冠動脈石灰化との関連を解析した。

## C. 研究結果

### 研究1

HDLC 40 未満、40-59、60-79、80-99、100 以上 (mg/dl) の人数は、それぞれ 829 人、2770 人、1277 人、209 人、13 人であった。平均追跡期間は 11.9 年であり、この間に 293 例の循環器疾患 (心筋梗塞 107 例、脳卒中 186 例) が発症した。HDLC 80-99、100 以上群の人数が少ないため多くの変数を同時に多変量調整することは困難であった。そこで Cox の比例ハザードモデルを用いてまず性、年齢だけを調整して HDLC 区分と循環器疾患との関連をみた (図1)。HDLC 40 未満の発症率を 1 とすると、40-59、60-79、80-99 群のリスクはそれぞれ 0.77、0.59、0.73 となり、60-79 群では有意差があった。また 100 以上群の発症者はいなかった。主要な交絡要因である高血圧、糖尿病、喫煙、高LDLC血症をそれぞれ一つずつ共変量として調整してもこの結果は変わらなかった。心筋梗塞と脳卒中を分けた場合はサンプル数が少なくなり、HDLC 80 以上の 2 群ではモデルの係数が収束しなかった。

### 研究2

滋賀県と Pennsylvania 州の地域住民から作為抽出された 40 歳代の日本人男性 412 人、米国白人男性 318 人の血清 CETP 値を日本側の検査室で ELISA 法にて測定した。冠動脈石灰化 (CAC) は日米とも GE-Imatron C150 で計測され、米国でスコア化された。したがって日米を同じ条件で比較検討できる。既に別の研究で報告したように血清 CETP の 4 分位で分けると、日本人集団では血清 CETP 値が高いほど CAC (Agatston Score>10) の有病率が高くなる傾向を示した。ロジスティック回帰で

他の危険因子を調整すると、CETP 1mg/L 上昇に伴う CAC のオッズ比は、日本集団では 3.93 (95% 信頼区間 1.44-10.7) であった (図2)。この関連は最も多い遺伝的 CETP 欠損症である Exon15 D442G 変異の有無を調整しても同様であった。また日本人集団では、CETP と CAC の関連は喫煙群、飲酒群でより明確であった。

日米集団を比較すると (図3)、日本人集団の CETP 値は米国白人集団よりも有意に低く (2.24 vs. 2.43 mg/L)、これを反映して HDLC は有意に高かった (54 vs. 48 mg/dl)。

米国集団では日本集団に比し CAC の保有率が高く、また血清 CETP と石灰化は一定の関連を示さなかった (図4)。ロジスティック回帰で他の危険因子を調整すると、CETP 1mg/L 上昇に伴う CAC のオッズ比は、米国集団では 0.67 (0.32-1.38) であった。

## D. 考察

CETP と循環器疾患の関連を考える際には、常に HDLC のレベルや CETP 遺伝子変異の存在を考慮する必要があるが、特に一般集団を対象としたコホート研究で遺伝子多型まで踏み込んでデータ収集された例はない。そのため次善の方法として NIPPON DATA90 などを実施したように [6]、HDLC を指標とし、特に遺伝的な CETP 欠損症の影響が強い 80 以上、100 以上の高 HDLC 血症のリスクを評価するという手法が考えられる。本研究でも同様の方法で検討したが、高 HDLC 血症のサンプル数が少なく満足な多変量解析ができず、少なくとも高 HDLC 血症領域で明確なリスク上昇はない、という以上のことは言えなかった。

一方、日米の地域住民の血清 CETP と冠動脈石灰化との関連を検討したところ、日本人集団では血清 CETP 値が高いほど冠動脈石灰化

の有病率が高くなる傾向を示したが、米国白人集団では CETP と石灰化に関連を認めなかった。もともと米国人集団では、石灰化の有病率が日本人の2～3倍と高く、日米の有病率の差に CETP 濃度などのコレステロール逆転送系が関与している可能性も考えられた。なお米国集団で飲酒や喫煙、肥満の有無で層別化して sensitivity analysis を実施したが、やはり CETP と石灰化の間に関連を認めなかった。

#### E. 結論

本研究において、少なくとも日本人集団では、高 HDLC 血症および低 CETP 値は循環器病のリスクではなく、むしろ防御要因である可能性が高いと考えられた。しかしながらより大きなサンプルサイズでさらなる検証が必要である。一方、米国人集団では CETP 値と冠動脈石灰化の関連において、日本人集団とは異なる結果が得られており、未知の交絡要因の探索を含めて更に研究を進める必要がある。

#### 参考文献

1. Hirano K, et al. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1053-1059
2. Zhong S, et al. *J Clin Invest* 1996; 97: 2917-23
3. Moriyama Y, et al. *Prev Med* 1998; 27: 659-667
4. Curb JD, et al. *J Lipid Res* 2004; 45: 948-53)
5. Okamura T, et al. *Am J Cardiol* 2009; 104: 818-822
6. Okamura T, et al. *Atherosclerosis* 2006; 184: 143-150

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

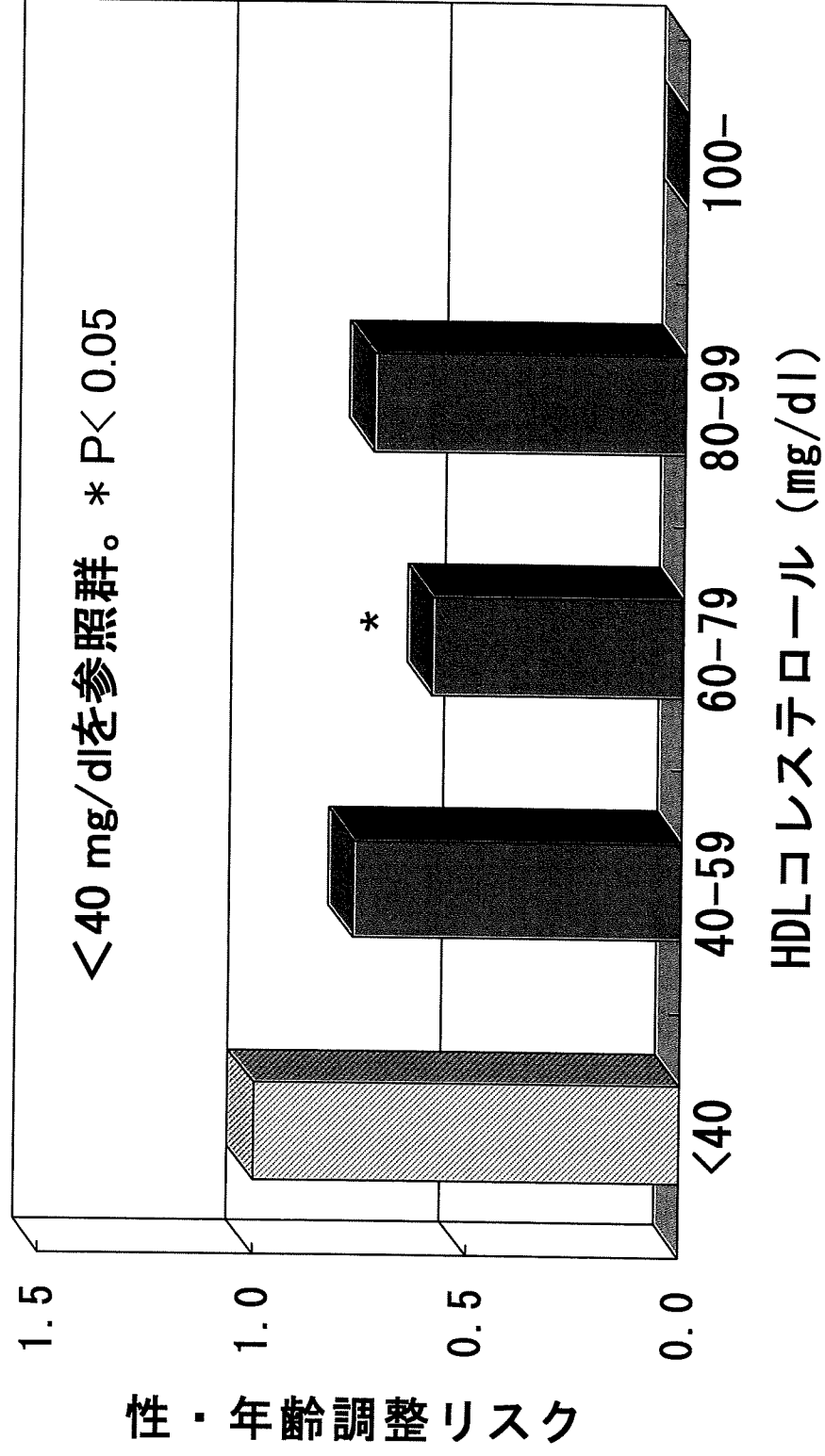
1. Okamura T. Dyslipidemia and Cardiovascular Disease: A series of Epidemiologic Studies in Japanese population. *J Epidemiol*, in press
2. 岡村智教. 動脈硬化リスクとしての脂質異常症：実地診療に役立つ日本人のエビデンス. 脂質異常症・明日からの実地診療に役立つ最新の知識. *Medical Practice* 27: 431-436, 2010

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

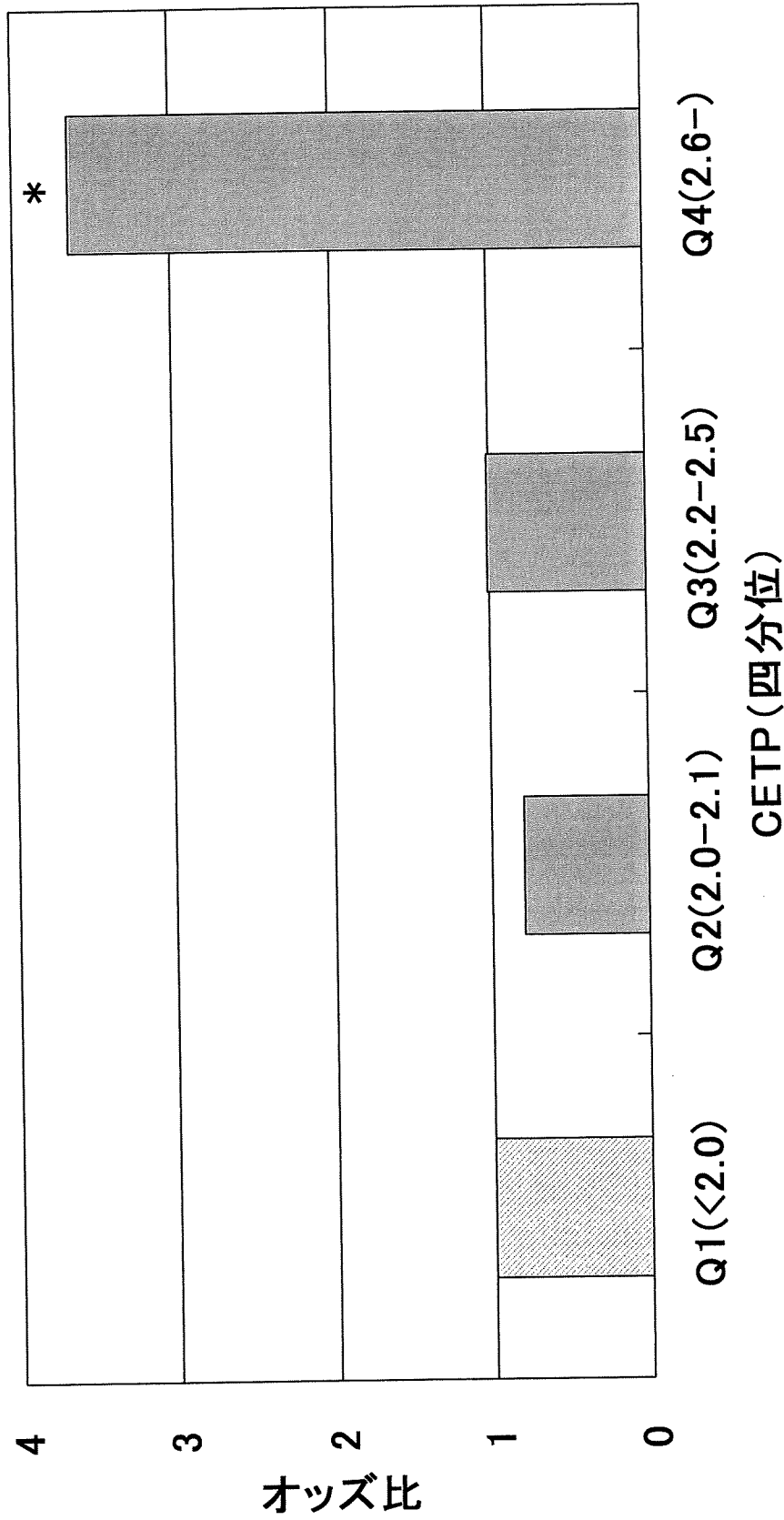
# 図1. HDLコレステロールと循環器疾患の発症

-吹田研究, 5098人を11.9年追跡-



## 図2. 血清CETP値と冠動脈石灰化の関連

石灰化スコア(CCS)  $\geq 10$ の割合 (Agatston score) \* P < 0.05



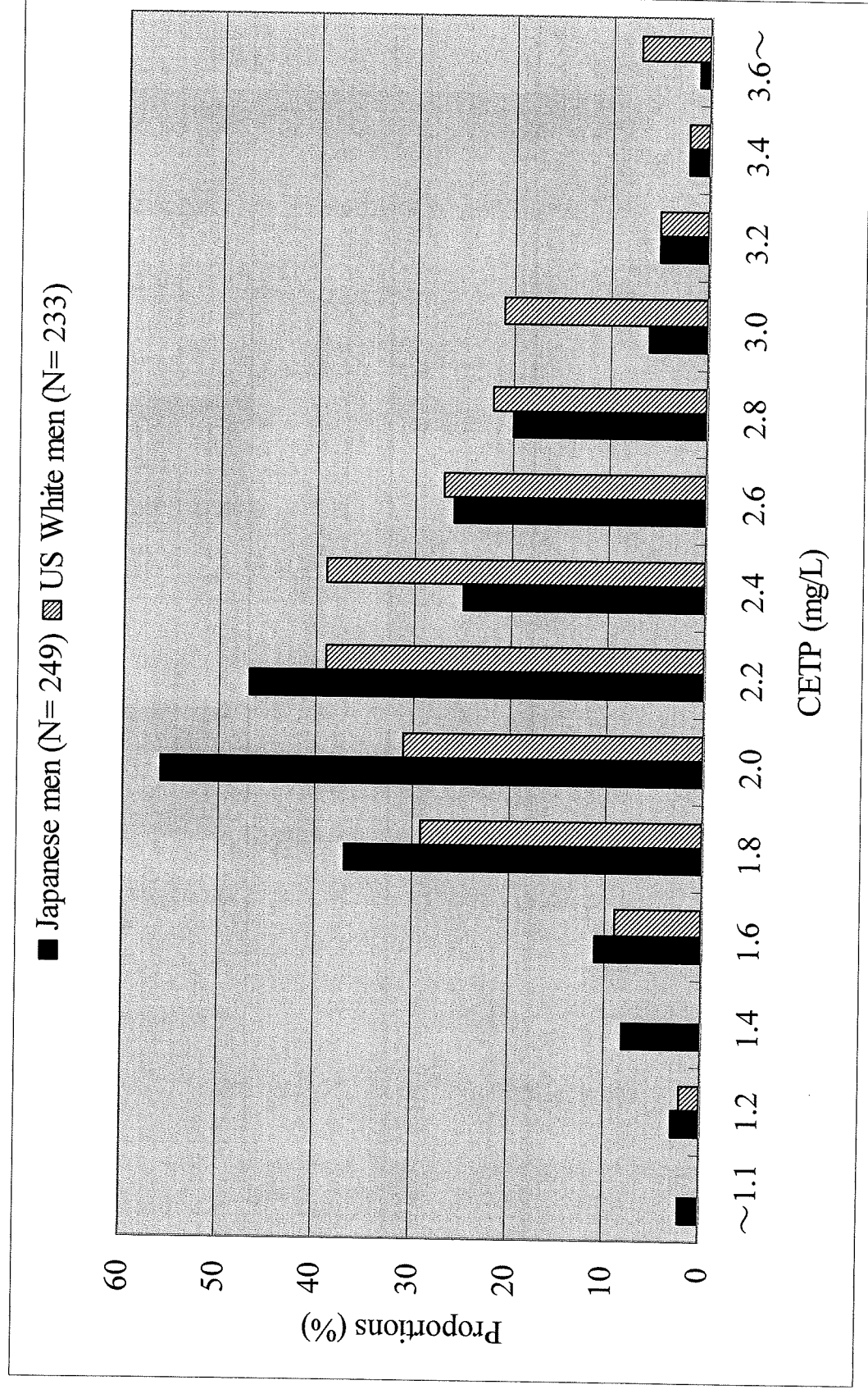
注) 年齢、BMI、高血圧、糖尿病、TG(対数変換)、喫煙、飲酒、スタチン服用、D442G変異を調整

Okamura T, et al. Am J Cardiol 2009; 104: 818-822

# 図3. 日米40歳代男性の血清CETP値の分布

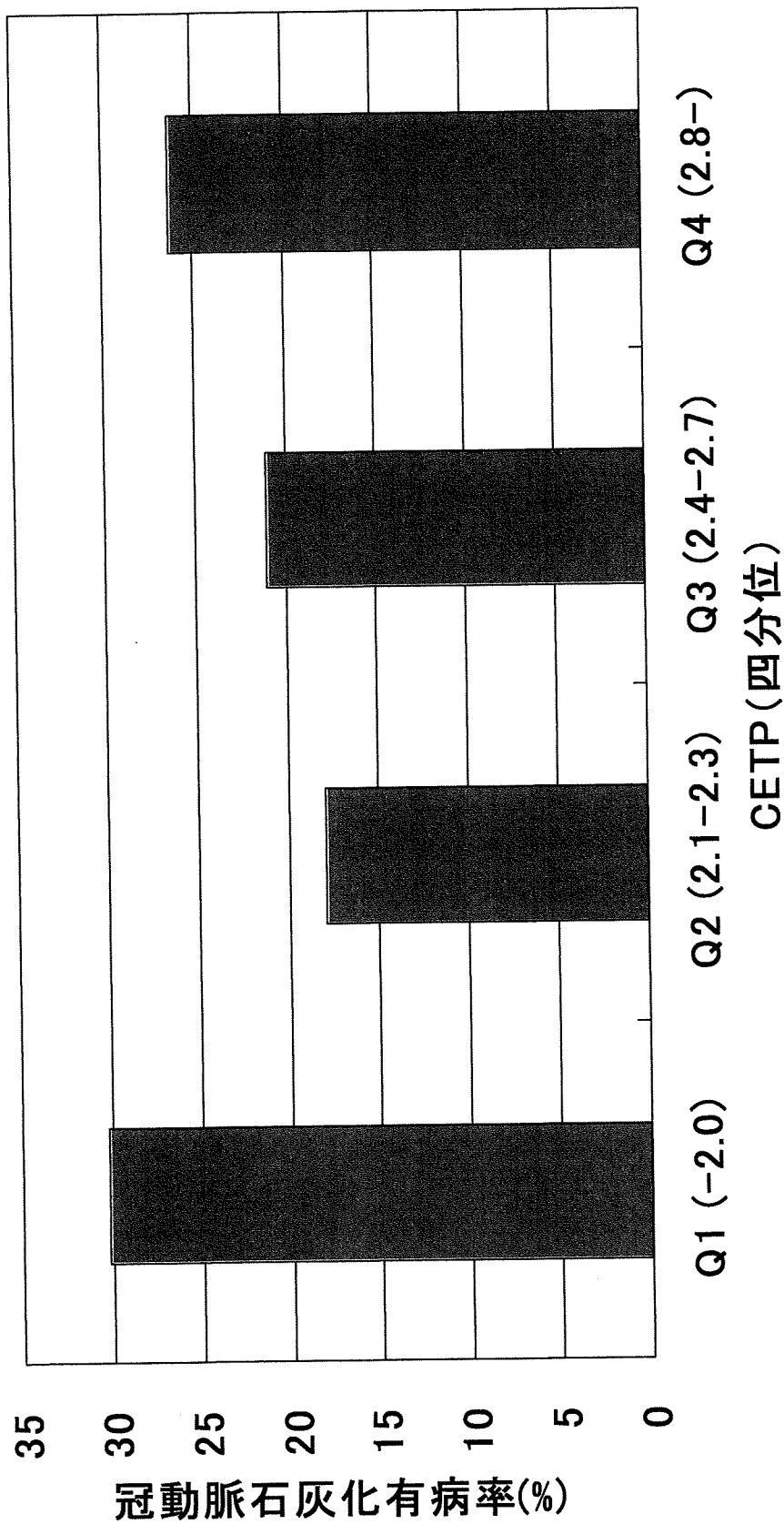
CETP, mg/L 日本人 2.24 米国人 2.43

HDLC, mg/dl 日本人 54 米国人 48



# 図4. 血清CETP値と冠動脈石灰化の頻度

米国白人40歳代男性(ピッツバーグ)



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

高 HDL コレステロール血症におけるコレステロールエステル転送蛋白遺伝子変異の頻度  
および臨床的特徴

研究分担者 高田 耕基 中国労災病院 勤労者予防医療センター 部長

研究要旨

広島近隣の原発性高 HDL コレステロール血症(HDL-C $\geq$ 100mg/dl、アルコール摂取量 $\leq$ 20g/day)の CETP 遺伝子変異の関与について検討した結果、約 45%の症例に CETP 遺伝子の変異を確認した。日本全体で頻度の高い変異のほかに、極めて稀な変異種を 2 種類同定した。さらに、HDL コレステロール値との関係からは、ホモ接合体については 100mg/dl 以上、ヘテロ接合体については 80mg/dl 以上を検討基準にすべきと思われた。また、特徴的な臨床所見についても未だに一定した見解はなく、今後検討する必要があると思われる。

A. 研究目的

一般人口における高 HDL コレステロール血症( $\geq$ 100mg/dl)の頻度は 100~200 人に 1 人といわれているが、1990 年にその過半数の症例の責任遺伝子がコレステロールエステル転送蛋白(CETP)であることが明らかにされた。しかし、CETP 変異と高 HDL コレステロール血症の関係が明らかにされた後も、動脈硬化性疾患との関連は明らかでない。

B. 研究方法

原発性高 HDL コレステロール血症症例 112 例(平均年齢 52 才、男/女 : 33/79)について、CETP 遺伝子のエクソン 1 から 16 までの塩基配列をダイレクトシーケンス法によって検討した。

C. 研究結果

イントロン 14 のスプライシングドナー部位の変異 14+1(G $\rightarrow$ A)ホモ接合体 7 例、ヘテロ接合体 17 例、イントロン 14 のスプライシングドナー部位の変異(14+1,G $\rightarrow$ A)とイントロン 14 のスプライシングドナー部位の変異(14+3,T)の複合ヘテロ接合体 2 例、イントロン 14 のスプライシングドナー部位の変異(14+3,T)のヘテロ接合体 1 例、エクソン 6 のナンセンス変異(Q182X)ホモ接合体 1 例、エクソン 15 ミスセンス変異(442,A $\rightarrow$ G)ホモ接合体 1 例、ヘテロ接合体 17 例、イントロン 14 のスプライシングドナー部位の(14+1,G $\rightarrow$ A)とエクソン 15 ミスセンス変異の複合ヘテロ接合体 3 例が明らかにされた。すなわち、遺伝子解析では、112 例中 49 例(43.8%)に明らかな CETP 変異が存在した。なかでも、イントロン 14 の



スプライシングドナー部位の変異(14+3,T)およびエクソン 6 のナンセンス変異(Q182X)は中国地方にのみ存在する稀な変異で、それぞれ 1 家系にのみ確認された。

これらの症例における CETP 蛋白量は HDL コレステロール値と有意の負の相関( $p<0.001$ )を認め、HDL コレステロール値が  $119\pm 39\text{mg/dl}$ (mean  $\pm$ SD)、LDL コレステロール値が  $119\pm 39\text{mg/dl}$ 、中性脂肪値が  $77\pm 34\text{mg/dl}$  を示した。中でも、血清中に CETP を全く認めない完全欠損症例 10 例(平均年齢 53 才,男/女:4/6)では HDL コレステロール値が  $148\pm 44\text{mg/dl}$ 、LDL コレステロール値が  $113\pm 48\text{mg/dl}$ 、中性脂肪値が  $97\pm 47\text{mg/dl}$  を示し、合併症としては高血圧 18.2%、糖尿病 0%、脳梗塞 0%、虚血性心疾患 0%を認めた。

#### D. 考察

これらの結果から、CETP 遺伝子変異に起因する高 HDL コレステロール血症は、ヘテロ接合体では  $80\text{mg/dl}$  以上、ホモ接合体では  $100\text{mg/dl}$  以上に集積しており、原発性高 HDL コレステロール血症の診断には、ヘテロ接合体の診断には  $80\text{mg/dl}$  以上、ホモ接合体の診断には  $100\text{mg/dl}$  以上が有効であることが示唆された。また、CETP 遺伝子変異による臨床所見を明らかにするためには、一般に高 HDL コレステロール血症として定義されている  $70\sim 80\text{mg/dl}$  以上ではなく、 $100\text{mg/dl}$  以上の症例における臨床所見を多数症例にて検討する必要があると考えられた。また、CETP 遺伝子変異を否定された症例の原因はまだ不明であり、他の責任遺伝子の検討も必要である。最後に、現在までに CETP 遺伝子ホモ接合体の

なかの死亡症例はウイルス性肝硬変による 1 例のみであり、今後加齢とともに出現するであろう心血管系疾患の発症年齢および重症度、死亡原因などの検討結果が待たれる。

#### E. 結論

原発性高 HDL コレステロール血症の原因として、CETP 遺伝子は重要であるが、HDL コレステロール血症以外の特徴的な臨床所見はいまだ不明であり、今後多数症例による長期観察研究が必要である。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1.論文発表

なし

##### 2.学会発表

なし

#### H. 知的財産の出願・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

コレステリルエステル転送蛋白欠損症の病態把握のための疫学研究  
本症の分子遺伝学的解析

研究分担者 戸田 達史 神戸大学神経内科・分子脳科学 教授

研究要旨

コレステリルエステル転送蛋白 (CETP)欠損症の common mutation として、報告のある 2 つの変異について、本研究で新たに登録された高 HDL 血症例のゲノム DNA サンプルを用いて、その頻度を検討した。この 2 つの変異は、今回の症例においても比較的高頻度に認められた。

A. 研究目的

本研究において、登録された高 HDL 血症例において、CETP 欠損症の 2 つの common mutation の有無を解析する。

B. 研究方法

CETP 遺伝子のイントロン 14 スプライス異常とエクソン 15 のミスセンス変異の有無をダイレクトシーケンス法により、検討した。

(倫理面への配慮)

大阪大学倫理委員会にて承認された研究において、インフォームドコンセントを得た高 HDL 血症例の匿名化された試料を用いた。

C. 研究結果

1) イントロン 14 スプライス異常

検討した 191 例中、ホモ接合体 2 例、ヘテロ接合体 26 例を同定した。

2) エクソン 15 ミスセンス変異

検討した 165 例中、ホモ接合体 1 例、ヘテロ接合体 27 例を同定した。

D. 考察

CETP 遺伝子変異が高 HDL 血症例の中に、高頻度に認められた。

E. 結論

今回の検討でも、イントロン 14 スプライス異常とエクソン 15 のミスセンス変異は、common mutation 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

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特になし

