

原発性高トリグリセリド血症におけるアポ A5、Angptl3,4 の血中濃度

分担研究者 石橋 俊 自治医科大学内分泌代謝学部門

研究協力者 田副文子、王 曉黎、野牛宏晃、大須賀淳一 同上

研究要旨

高トリグリセリド(TG)血症の発症機序については不明な部分が多く残されている。近年、リポタンパクリパーゼ (LPL) の複数の調節因子が報告された。本研究では、血清 TG>500mg/dl を呈した重症高 TG 血症患者 38 人を対象に、アポ A5・Angiopietin-like protein 3, 4 (Angptl3, 4) の血中濃度と血清 TG 値、LPL 活性、肝性リパーゼ(HL)活性との相関を検討した。対象者に 4 例の LPL 欠損症と 1 例のアポ A5 欠損症が疑われる症例が含まれた。アポ A5 濃度と血清 TG 値との間には有意な正の相関が認められた。Angptl3, 4 濃度と血清 TG 値との間には有意な相関関係は認められなかった。アポ A5・Angptl3, 4 濃度と LPL 活性や HL 活性との間にも有意な相関関係は認められなかった。アポ A5 欠損症を除いて、測定した LPL 調節因子の血中濃度が重症高 TG 血症の発症に寄与する可能性は少ない。

A. 研究目的

I 型や V 型高脂血症のような重症高トリグリセリド(TG)血症は、急性膵炎などの致死的な合併症をきたしうる¹。リポタンパクに含有される TG の水解酵素であるリポタンパクリパーゼ(LPL)やその補酵素であるアポ CII 欠損症が古くから知られていたが²、大半の重症高 TG 血症では LPL やアポ CII に異常が認められない。近年、LPL の調節因子としてアポ A5³・Angiopietin-like protein 3, 4 (Angptl3, 4)⁴が発見され、活性型である LPL 2 量体形成に関わる Lipase maturation factor 1(LMF1)^{5,6}や、内皮細胞の基底膜側から内腔側に LPL を運搬し、内皮細胞の内腔側面に LPL を固定して作用の場を提供する

Glycosylphosphatidylinositol-anchored

high-density lipoprotein-binding protein 1 (GPIHBP1)⁷など、TG-rich リポタンパク代謝に関わる新たな蛋白が同定されてきた。われわれは、重症高 TG 血症の症例を収集し、ヘパリン静注後の LPL と肝性リパーゼ活性、アポ A5・Angptl3・Angptl4 の血中濃度を測定し、相互の関連を調べた。更に、上記の遺伝的欠損症の疑われる症例では遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

空腹時の血清 TG 値が 500mg/dl を越えたことのある症例に対して説明・同意を行い、空腹時に採血し、血漿をアポ A5・Angptl3・

Angptl4 の血中濃度の測定に、血球成分から DNA を抽出し、遺伝子解析に用いた。体重 1kg 当たり 30 単位のヘパリンを静脈注射し、15 分後に採血して得られた血漿を LPL と HL 活性、LPL 蛋白量の測定に用いた。アポ A5 は BML 社に測定を依頼⁸、LPL 蛋白量は、Angptl3 は IBL 社の Human ANGPTL3 Assay Kit、Angptl4 は RayBiotech 社の Ray Bio Human ANGPTL4 ELISA Kit を用いて測定した。LPL 活性・HL 活性は、村勢らの方法に準じて測定した⁹。即ち、抗 HL 抗体を用いて HL 活性を阻害して測定した¹⁴C トリオレインの水解活性を LPL 活性とし、未処理の血漿中の TG 水解活性から LPL 活性を差し引いた値を HL 活性とした。

(倫理面への配慮)

「重症高トリグリセリド血症の遺伝子解析 (遺 06-45)」の研究申請は平成 19 年 11 月 21 日に遺伝子解析研究倫理審査委員会により承認された。説明と同意の上検体を取得し、結果は匿名化して解析した。

C. 研究結果

対象者 38 名の臨床データを表 1 に示す。平均値でみる限り、LPL 活性の低下は認められなかった。

LPL の蛋白量と LPL 活性と相関を図 1 に示す。LPL 活性値から LPL 欠損症が疑われる症例は 4 例であった。いずれも LPL 蛋白は測定感度内であり、機能欠損型の LPL 欠損症と考えられた。これらの中で DNA が採取できた 3 症例のうち 2 症例に LPL の遺伝子異常を認めた。それらの症例のプロフィールを表

2 に示す。これらの症例を加えて、LPL 活性と LPL 蛋白量は正相関を示した。

アポ A5 濃度と血清 TG 値、LPL 活性、HL 活性との相関を図 2 に示す。既報のように、アポ A5 濃度は血清 TG 値と正相関する。この相関関係から外れて、著しいアポ A5 濃度の低値を示した乳児の症例を経験した (表 2)。アポ A5 欠損症を疑い、遺伝子解析を行った。既報のバリエーションと未報告の変異の複合型ヘテロ接合体であった。アポ A5 濃度と LPL 活性と HL 活性との間には有意な相関関係は認められなかった。

Angptl3 と血清 TG 値、LPL 活性、HL 活性との相関を図 3 に示す。3 者とも有意な相関は認められなかった。LPL 欠損症や HL 欠損症でも、Angptl3 の血中濃度に特徴的な変化は認められなかった。

Angptl4 と血清 TG 値、LPL 活性、HL 活性との相関を図 4 に示す。Angptl3 の場合と同様に、3 者とも有意な相関は認められなかった。LPL 欠損症や HL 欠損症でも、Angptl4 の血中濃度に特徴的な変化は認められなかった。

D. 考察

重症高 TG 血症患者における、LPL の活性調節因子として新たに同定されたアポ A5・Angptl3・Angptl4 の血中濃度と血清 TG 値・LPL 活性・HL 活性との関係について検討した。アポ A5 は、アポ CII・アポ CIII・アポ E などの TG-rich リポタンパクの構成アポ蛋白と同様に¹⁰、血清 TG 値と強い正の相関を示した。これらの関係は LPL 欠損症においても

同様であった。一方、Angptl3・Angptl4の血中濃度と血清TG値との間には有意な相関は認められず、LPL活性とHL活性ともアポAV、Angptl3,4の血中濃度との相関関係は認められなかった。

E. 結論

アポA5欠損を除いて、アポA5・Angptl3・Angptl4の血中濃度は重症高TG血症の発症に関わっている可能性は低いと考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

- 1) Ohta K, Sekiya M, Uozaki H, Igarashi M, Takase S, Kumagai M, Takanashi M, Takeuchi Y, Izumida Y, Kubota M, Nishi M, Okazaki H, Iizuka Y, Yahagi N, Yagyu H, Fukayama M, Kadowaki T, Ohashi K, Ishibashi S, Osuga JI. Abrogation of neutral cholesterol ester hydrolytic activity causes adrenal enlargement. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011 Jan 7;404(1):254-60
- 2) Nagashima S, Yagyu H, Takahashi N, Kurashina T, Takahashi M, Tsuchita T, Tazoe F, Wang XL, Bayasgalan T, Sato N, Okada K, Nagasaka S, Gotoh T, Kojima M, Hyodo M, Horie H, Hosoya Y, Okada M, Yasuda Y, Fujiwara H, Ohwada M, Iwamoto S, Suzuki M, Nagai H, Ishibashi S. Depot-Specific Expression of Lipolytic

Genes in Human Adipose Tissues. *J Atheroscler Thromb.* 2010 Nov 11.

- 3) Igarashi M, Osuga J, Uozaki H, Sekiya M, Nagashima S, Takahashi M, Takase S, Takanashi M, Li Y, Ohta K, Kumagai M, Nishi M, Hosokawa M, Fledelius C, Jacobsen P, Yagyu H, Fukayama M, Nagai R, Kadowaki T, Ohashi K, Ishibashi S. The critical role of neutral cholesterol ester hydrolase 1 in cholesterol removal from human macrophages. *Circ Res.* 2010 Nov 26;107(11):1387-95.
- 4) Holmes RS, Wright MW, Lauderkind SJ, Cox LA, Hosokawa M, Imai T, Ishibashi S, Lehner R, Miyazaki M, Perkins EJ, Potter PM, Redinbo MR, Robert J, Satoh T, Yamashita T, Yan B, Yokoi T, Zechner R, Maltais LJ. Recommended nomenclature for five mammalian carboxylesterase gene families: human, mouse, and rat genes and proteins. *Mamm Genome.* 2010 Oct;21(9-10):427-41.
- 5) Okada K, Yagyu H, Kotani K, Miyamoto M, Osuga J, Nagasaka S, Ishibashi S. Lipid-lowering effects of ezetimibe for hypercholesterolemic patients with and without type 2 diabetes mellitus. *Endocr J.* 2010 Oct 30;57(10):903-8.
- 6) Miyamoto M, Kotani K, Yagyu H, Koibuchi H, Fujii Y, Konno K, Yamada T, Ishibashi S, Taniguchi N. The correlation

- between CVR-R and carotid atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus patients with diabetic neuropathy. *J Physiol Anthropol.* 2010;29(4):149-52.
- 7) Eto K, Tumenbayar B, Nagashima S, Tazoe F, Miyamoto M, Takahashi M, Ando A, Okada K, Yagyu H, Ishibashi S. Distinct association of serum FGF21 or adiponectin levels with clinical parameters in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010 Jul;89(1):52-7.
- 8) Nakayama K, Bayasgalan T, Tazoe F, Yanagisawa Y, Gotoh T, Yamanaka K, Ogawa A, Munkhtulga L, Chimedregze U, Kagawa Y, Ishibashi S, Iwamoto S; Jichi Medical University Promotion Team of a Large-scale Human Genome Bank for All over Japan. A single nucleotide polymorphism in the FADS1/FADS2 gene is associated with plasma lipid profiles in two genetically similar Asian ethnic groups with distinctive differences in lifestyle. *Hum Genet.* 2010 Jun;127(6):685-90.
- 9) Takeuchi Y, Yahagi N, Izumida Y, Nishi M, Kubota M, Teraoka Y, Yamamoto T, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Sekiya M, Iizuka Y, Ohashi K, Osuga J, Gotoda T, Ishibashi S, Itaka K, Kataoka K, Nagai R, Yamada N, Kadowaki T, Shimano H. Polyunsaturated fatty acids selectively suppress sterol regulatory element-binding protein-1 through proteolytic processing and autoloop regulatory circuit. *J Biol Chem.* 2010 Apr 9;285(15):11681-91.
- 10) Uurtuya S, Kotani K, Taniguchi N, Yoshioka H, Kario K, Ishibashi S, Yamada T, Kawano M, Khurelbaatar N, Itoh K, Lkhagvasuren T. Comparative study of atherosclerotic parameters in Mongolian and Japanese patients with hypertension and diabetes mellitus. *J Atheroscler Thromb.* 2010 Feb 26;17(2):181-8.
- 11) Sone H, Tanaka S, Iimuro S, Tanaka S, Oida K, Yamasaki Y, Oikawa S, Ishibashi S, Katayama S, Yamashita H, Ito H, Yoshimura Y, Ohashi Y, Akanuma Y, Yamada N; Japan Diabetes Complications Study Group. Long-term lifestyle intervention lowers the incidence of stroke in Japanese patients with type 2 diabetes: a nationwide multicentre randomised controlled trial (the Japan Diabetes Complications Study). *Diabetologia.* 2010 Mar;53(3):419-28.
- 12) Munkhtulga L, Nagashima S, Nakayama K, Utsumi N, Yanagisawa Y, Gotoh T, Omi T, Kumada M, Zolzaya K, Lkhagvasuren T, Kagawa Y, Fujiwara H, Hosoya Y, Hyodo M, Horie H, Kojima M, Ishibashi S, Iwamoto S. Regulatory SNP in the RBP4 gene modified the expression in adipocytes and associated with BMI.

Obesity (Silver Spring). 2010

May;18(5):1006-14.

- 13) Sakoda H, Ito S, Kanda H, Fujishiro M, Osuga JI, Tsukamoto K, Ueki K, Kadowaki T. Association between type 1 diabetes mellitus and remitting seronegative symmetrical synovitis with pitting edema: A case report. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010 Oct 28.
- 14) Uurtuya S, Kotani K, Koibuchi H, Miyamoto M, Kario K, Yamada T, Taniguchi N. The relationship between serum C-reactive protein and daily physical activity in Japanese hypertensive patients. *Clin Exp Hypertens.* 2010;32(8):517-22.

H. 知的財産権の登録・出願状況
該当なし。

I. 参考文献

- 1 Leaf, D. A., Chylomicronemia and the chylomicronemia syndrome: a practical approach to management, *Am J Med*, 2008, 121: 10-12.
- 2 John D. Brunzell, S. S. D., Familial lipoprotein lipase deficiency, apo C-II deficiency, and hepatic lipase deficiency, In: Scriver, B., Valle, Sly, Childs, Kinzler, Vogelstein (ed), *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, New York, McGraw-Hill, 2001: 2789-2816.
- 3 Wong, K. and Ryan, R. O., Characterization of apolipoprotein A-V structure and mode of plasma triacylglycerol regulation, *Curr Opin Lipidol*, 2007, 18: 319-324.
- 4 Shan, L., Yu, X. C., Liu, Z., Hu, Y., Sturgis, L. T., Miranda, M. L. and Liu, Q., The angiopoietin-like proteins ANGPTL3 and ANGPTL4 inhibit lipoprotein lipase activity through distinct mechanisms, *J Biol Chem*, 2009, 284: 1419-1424.
- 5 Boedeker, J. C., Doolittle, M. H. and White, A. L., Differential effect of combined lipase deficiency (cld/cld) on human hepatic lipase and lipoprotein lipase secretion, *J Lipid Res*, 2001, 42: 1858-1864.
- 6 Doolittle, M. H., Ehrhardt, N. and Peterfy, M., Lipase maturation factor 1: structure and role in lipase folding and assembly, *Curr Opin Lipidol*, 2010, 21: 198-203.
- 7 Fisher, E. A., GPIHBP1: lipoprotein lipase's ticket to ride, *Cell Metab*, 2010, 12: 1-2.
- 8 Henneman, P., Schaap, F. G., Havekes, L. M., Rensen, P. C., Frants, R. R., van Tol, A., Hattori, H., Smelt, A. H. and van Dijk, K. W., Plasma apoAV levels are markedly elevated in severe hypertriglyceridemia and positively correlated with the APOA5 S19W polymorphism, *Atherosclerosis*, 2007, 193: 129-134.

9 Murase, T., Yamada, N., Ohsawa, N., Kosaka, K., Morita, S. and Yoshida, S., Decline of postheparin plasma lipoprotein lipase in acromegalic patients, *Metabolism*, 1980, 29: 666-672.

10 Ishibashi, S., Murase, T., Takahashi, K., Mori, N., Kawakami, M. and Takaku, F., Plasma apolipoprotein CII levels in hypertriglyceridemia, *Metabolism*, 1986, 35: 781-785.

表1 背景

Patients	N=38		
Male : Female	55% : 45%	HDL cholesterol (mg/dl)	52.6±28.2
Age (years)	50.6±11.0	Blood glucose (mg/dl)	124.2±45.6
Body weight (kg)	69.3±15.2	LPL mass (ng/ml)	189.8±98.2
Height (cm)	164.0±9.2	LPL activity (μmol FFA/hr/ml)	2.4±1.4
BMI	25.6±4.1	HL activity (μmol FFA/hr/ml)	3.1±1.6 (Normal : 2.71)
TG (mg/dl)	1134.7±1656.5	apoA5 (ng/ml)	726.1±1231.6
TC (mg/dl)	329.3±152.0		

LPL欠損症 : 2例, 高HDL血症 : 2例を含む。

表2 特殊症例

	①	②	③
Sex	M	F	F
Age	48 yo	62 yo	2 mo
TG (mg/dl)	1467	2378	28500
TC (mg/dl)	253	384	1550
HDL cholesterol (mg/dl)	34	26	
Blood glucose (mg/dl)	98	78	
LPL mass (ng/ml)	27	118	632
LPL activity (μmol FFA/hr/ml)	-0.14	-0.12	0.04
HL activity (μmol FFA/hr/ml)	-0.08	0.73	2.19
apoA5 (ng/ml)	1316.1	1551.1	20.0
遺伝子変異	LPL (N43S)	LPL (D204E)	apoA5 (V153M, T184S)

図1 LPL massとLPL活性の相関

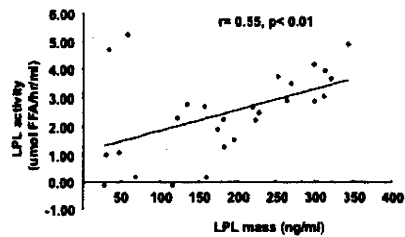


図2 apoA5とTG, LPL, HLとの相関

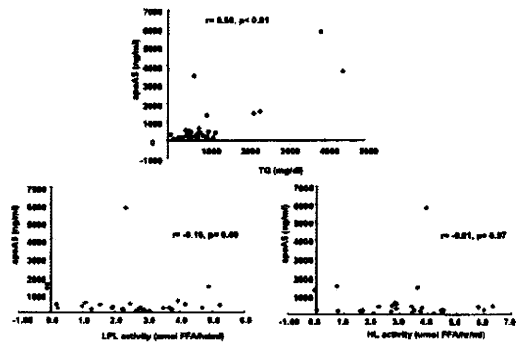


図3 Angptl3とTG, LPL, HLとの相関

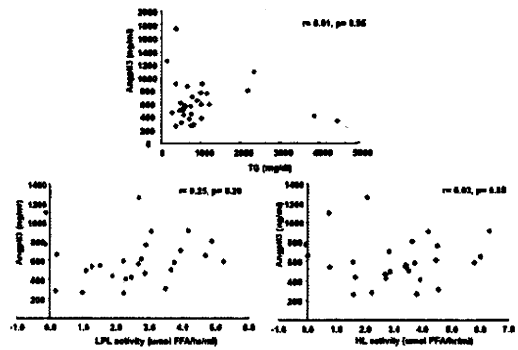
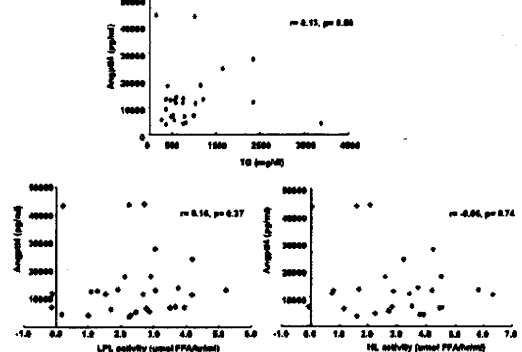


図4 Angptl4とTG, LPL, HLとの相関



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

リポ蛋白リパーゼ(LPL)遺伝子変異データベース update

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 ヒト LPL 遺伝子に関する情報を収集・整理した。LPL 欠損症の原因となる変異は世界的には 148 個（日本人患者では 31 個）報告され、日本人患者においてもいくつかの遺伝子変異は高頻度に認められる。临床上 LPL 欠損を呈するが LPL 遺伝子変異を有さない 2 症例に関して GPIHBP1 遺伝子の解析も行ったが、変異は認められなかった。

A. 研究目的

I 型・V 型高脂血症の診療ガイドラインを作成する過程において、ヒトリポ蛋白リパーゼ(lipoprotein lipase; LPL)遺伝子に関する情報を収集・整理する。

B. 研究方法

ヒト LPL 遺伝子に関する情報を、内外の文献および学会抄録データベースを検索することにより収集した。また、临床上 LPL 欠損を呈するが LPL 遺伝子に変異をもたない本邦の 2 症例に関して、GPIHBP1 遺伝子の変異の検索を行った。

C. 研究結果

ヒト LPL 遺伝子上には 400 個以上の単一塩基多型 (SNP) が報告されており、これらと表現型や病態との関連を示唆する 200 報以上の報告がなされている。当然ながら、脂質代謝や冠動脈疾患との関連を示す報告がもっとも多い一方、高血圧や慢性腎疾患、アルツハイマー病などとの関連を示唆する報告も近年は増加傾向にある。

世界的にみると、LPL 活性の変化に関連すると考えられる 163 個の変異/多型が同定され、このうち LPL 欠損症の原因となることが明らかな変異は 148 個報告されている。そのうちの 114 個 (77%) が蛋白質の 1 次構造に変化を生ずる missense/nonsense 変異であり、その 63% (72 個) は活性中心の存在するエクソン 5 および 6 に集中することが特徴的であった。

日本人患者においても、LPL 活性の変化に関連する 35 個の変異/多型と、LPL 欠損症の原因となる 31 個の変異が報告されている。複数の患者家系において同定されている変異は 9 個存在し、とりわけ Y61X、D204E、A221del(arita)、W382X 変異らが日本人患者において高頻度に認められている。

また近年、GPIHBP1 遺伝子変異症例に LPL 欠損症類似の高カイロミクロン血症が認められることが報告されており、LPL 遺伝子変異を有さない 2 症例の遺伝子解析を行ったが、4 つのエクソンおよびエクソン-イントロン境界部位に遺伝子変異は認められなかった。

D. 考察

ヒト LPL 遺伝子の多型および LPL 欠損症の原因となる変異を整理してデータベース化した。近年、高カイロミクロン血症の原因として、GPIHBP1、LMF1、APOA5、Angpt1s などの異常の関与が指摘されており、本邦症例におけるさらなる検討が必要である。

E. 結論

日本人 LPL 欠損症の遺伝的背景は多様であるが、いくつかの遺伝子変異は高頻度に認められる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Takeuchi Y, Yahagi N, Izumida Y, Nishi M, Kubota M, Teraoka Y, Yamamoto T, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Sekiya M, Iizuka Y, Ohashi K, Osuga J, Gotoda T, Ishibashi S, Itaka K, Kataoka K, Nagai R, Yamada N, Kadowaki T, Shimano H.

Polyunsaturated fatty acids selectively suppress sterol regulatory element-binding protein-1 through proteolytic processing and autoloop regulatory circuit.

J Biol Chem. 2010;285:11681-11691.

2. 学会発表

後藤田貴也、山本隆史、代田翠、喬荊、飯塚陽子、大橋健、門脇孝、藤田敏郎：高血圧自然発症ラット (SHR) の遺伝解析を通じて同定された脂肪蓄積関連遺伝子

SLC22A18

第 25 回日本糖尿病合併症学会 2010 年

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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 のカルパインによる特異的分解を薬理的に抑制することにより、ABCA1 の発現量を増加させ、HDL 産生を増加させることにより血漿 HDL 濃度を上昇させて低 HDL 血症を改善し、動脈硬化症の予防治療の技術の開発を目指した。1) 脂質低下剤 probucol は ABCA1 を不活性化して HDL 産生を抑制し血漿 HDL を低下させるが、ABCA1 のカルパインによる分解も抑制し、不活性化された ABCA1 の発現量を増加させる。この結果に基づき、probucol の代謝産物である spiroquinone (SQ) と diphenquinone (DQ) の ABCA1 への効果を検討した。SQ、DQ ともに、ABCA1 の HDL 産生活性を損なうことなく ABCA1 の分解を抑制し、*in vitro*、*in vivo* で HDL 産生を高め、コレステロール負荷家兎において動脈硬化病変の抑制が示された。2) カルモジュリン阻害剤 W7 が *in vitro* で HDL 産生を高める。ABCA1 には、カルパイン分解に重要とされる PEST 配列の近くにカルモジュリン結合部位があり、カルモジュリン結合によりカルパイン分解は抑制されることが分かった。W7 は、カルモジュリン阻害薬であるのに関わらずこの結合を高め、ABCA1 の分解抑制を促進して HDL 産生を増やすことが明らかになった。これらの結果は、ABCA1 の薬理的分解抑制による低 HDL 血症治療と動脈硬化予防治療が可能であることを示した。

A. 研究目的

ABC トランスポータは、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。後者の反応を薬剤で阻害することによる動脈硬化症の予防・治療の技術開発を目的とする。

B. 研究方法

1) Probucol 代謝産物による ABCA1 の分解阻害。脂質低下剤として用いられる probucol は HDL を低下させるが、これは probucol が ABCA1 の HDL 産生活性を阻害するためである。Probucol は同時に ABCA1 の分解を抑制するため、ABCA1 蛋白質自

身は増加する。この二つの効果の分離を目指して、probucol の生体内での酸化代謝産物と考えられる化合物の中で比較的安定と思われる spiroquinone (SQ) と diphenquinone (DQ) の効果を、以下について検討した。① 細胞レベルでの ABCA1 の遺伝子発現制御、② ABCA1 のカルパイン分解反応への効果とその機序、③ HDL 産生活性への影響、④ *In vivo* での ABCA1 発現と血漿 HDL への影響および動脈硬化病変発症進展への影響。

2) カルモジュリン阻害剤 W7 が HDL 産生を増加させることが細胞レベルで示されている。この反応機構を検討するために、カルモジュリンと ABCA1 の相互作用を免疫共沈降や glutathione S-transferase pull down により検討し、カルモジュリン結合サイトを同定して、その結合の ABCA1 の異

化に及ぼす影響を調べた。またこの反応への W7 の効果を調べた。検討はいずれも細胞レベルで行った。

C & D、研究成果と考察

1) SQ、DQ はともに ABCA1 mRNA 量に影響を与えることなく ABCA1 蛋白量を増加させ、これは SQ、DQ が ABCA1 の分解を抑制するためであることが示された。この時、HDL 産生活性は、ABCA1 の蛋白量に比例して増加することから、*probucol* における ABCA1 の不活性化は消失しており、その分解抑制能のみが保持されていることが分かった。ABCA1 はエンドサイトーシス後に *endosome* 内でカルパイン分解をうけることから、SQ、DQ の ABCA1 のエンドサイトーシスへの効果をみると、いずれもこれを抑制していた。コレステロール負荷家兎に SQ、DQ を投与すると血漿 HDL は上昇し、肝臓においては mRNA の上昇を伴わない ABCA1 蛋白質の増加が認められた。血漿抗酸化能は対照に投与した *probucol* に比べて SQ、DQ 投与では無視できる水準であった。SQ、DQ の長期投与 (8 週) により、大動脈壁への脂質沈着の計測による動脈硬化病変レベルは、いずれも有意に抑制された。動物に目立った毒性の徴候は認められなかった。

2) 免疫沈降反応と glutathione S-transferase pull down により、カルモジュリンは ABCA1 とカルシウム依存的に結合することが分かった。ABCA1 の細胞質側ループには、カルパイン分解に関連するとされる PEST 配列の近くに典型的なカルモジュリン結合配列が存在し (1254-1257)、この配列を含む ABCA1 部分ペプチドはカルモジュリンと結合しその除去により結合は失われた。カルモジュリンの発現抑制は ABCA1 の分解速度を上げ、ABCA1 蛋白量と HDL 産生能を低下させた。カルモジュリン阻害剤であるはずの W7 はカルモジュリンの ABCA1 への結合を増加させ、その結果、

分解抑制による ABCA1 蛋白と HDL 産生の増加をもたらした。

これらの結果は、ABCA1 の分解抑制を薬理的に達成することが可能であることを示しており、低 HDL 血症の治療と動脈硬化の予防/治療を目的とした HDL 増加薬の開発が、この面から開発が可能であることを示している。

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. 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, Cornelia 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 Horne, 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.

2. 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.* (2010) **17**: 667-674.

○3. Noriyuki Iwamoto, Rui Lu, Nobukiyo Tanaka, Sumiko Abe-dohmae, Shinji Yokoyama. Calmodulin Interacts with ATP Binding Cassette Transporter A1 to Protect from Calpain-Mediated Degradation and Upregulates High Density Lipoprotein Generation. *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.* (2010) **30**: 1446-1452.

4 Nobukiyo Tanaka, Sumiko Abe-Dohmae, Noriyuki Iwamoto, Michael L. Fitzgerald, and Shinji Yokoyama. Helical Apolipoproteins of High-Density Lipoprotein Enhance Phagocytosis by Stabilizing ATP-Binding Cassette Transporter A7. *J. Lipid Res.* (2010) **51**: 2591-2599.

5 Tamio Teramoto, Noriaki Nakaya, Shinji Yokoyama, Yasuo Ohashi, Kyoichi Mizuno, Haruo Nakamura. Association between Lowering Low-Density Lipoprotein Cholesterol with Pravastatin and Primary Prevention of Cardiovascular Disease in Mild to Moderate Hypercholesterolemic Japanese. *J Atheroscler. Thromb.* 2010, in press

5. Nobukatsu Akita, Maki Tsujita, Tomo Yokota, Frank J. Gonzalez, Nobuyuki Ohte, Genjiro Kimura, and Shinji Yokoyama. High Density Lipoprotein Turnover is Dependent on Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α in Mice. *J. Atheroscler. Thrombosis.* (2010) **17**: 1149-1159

6. Nobukiyo Tanaka¹, Sumiko Abe-Dohmae¹, Noriyuki Iwamoto¹, and Shinji Yokoyama New insight into the relation between cholesterol homeostasis and host defense system-Helical Apolipoproteins of High-Density Lipoprotein Enhance Phagocytosis by Stabilizing ATP-Binding

Cassette Transporter A7. *J Atheroscler. Thromb* in press.

7. Noriyuki Iwamoto and Shinji Yokoyama. Protein kinase D regulates the adiponectin gene expression through phosphorylation of AP-2; a common pathway to the ABCA1 gene regulation. *Atheroscler.* in press.

平成22年度厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
研究分担報告書

家族性LCAT欠損症に対する遺伝子細胞治療の開発
研究分担者 武城英明、研究協力者 青柳靖之、浅田咲世、黒田正幸
(千葉大学大学院医学研究院)

研究要旨 原発性脂質異常症には根本的治療法がなく欠損蛋白質の持続的補充を可能とする新規治療法の開発が期待される疾患がある。家族性レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ(LCAT)欠損症は稀な常染色体劣性遺伝性疾患であり、人工透析、腎移植、角膜移植を必要とする難治性疾患である。本研究は家族性LCAT欠損症を対象に、患者脂肪組織由来の初代培養細胞(前脂肪細胞)に補充目的LCAT遺伝子を導入しこれを自家移植する遺伝子細胞治療法の開発を目的とする。LCAT遺伝子導入ヒト前脂肪細胞は、GMP製造、移植細胞の品質試験にもとづいて調整し、この細胞が移植後がん化しないことを*in vitro*及び動物実験で確認した。これらの結果、1)形成外科領域で安全に摘出される皮下脂肪組織から比重特性を利用して単離することが可能である、2)レトロウイルスベクターによる遺伝子導入効率が高い、3)形質転換が確認されない、という特性が明らかになった。さらに遺伝子導入前脂肪細胞の分泌するLCAT蛋白質の機能評価としてLCAT欠損症患者血清への*in vitro*添加試験により、LCAT機能欠損によるHDLの成熟障害が改善された。移植時の細胞のscaffoldとしてフィブリンゲルに着目、マウス移植実験で血中へのLCAT蛋白質補充を指標において評価した結果、マウス実験で用いられるマトリゲルと同等の性能を見出した。本移植技術の臨床応用に向け厚生労働省へ本計画を申請し厚生科学審議会による審議を受け、その指摘事項に対応する追加検討を実施している。今後、移植技術を至適化し、本治療法の安全性とLCAT欠損マウスモデルで有効性評価及び生着性を確認し本治療法の臨床適用を予定する。

A. 研究目的

家族性LCAT欠損症などの脂質代謝に必要な正常蛋白質を遺伝的に欠損した原発性脂質異常症は、根本的治療法が存在しないあるいは既存療法に様々な問題点を有することなどから欠損蛋白質の持続的補充を可能とする新規治療法の開発が求められている。

われわれは、単離・培養及び遺伝子導入の容易さに加えて、特異的に脂肪細胞に分化しがん化などの形質転換の報告がない前脂肪細胞と、分裂細胞への遺伝子導入効率が高く、長期にわたる蛋白質発現が可能なレトロウイルスベクターとの組み合わせに着目し、脂肪

細胞移植を用いた新規の蛋白質補充技術のコンセプトを糖尿病モデルマウスとヒトインスリン遺伝子導入マウス前脂肪細胞を用いて明らかにした。本研究は、この新規技術を根本的治療法のない家族性LCAT欠損症を対象として臨床応用し新規治療法を実用化することを目的とする。

B & C. 研究方法と結果

1. ヒトLCAT遺伝子導入前脂肪細胞が分泌するLCAT蛋白質の機能発現評価

天井培養法により調製した前脂肪細胞に対して、レトロウイルスベクターを用いてhLCAT遺伝子を導入し、

得られた細胞より培養上清中に分泌されたLCAT蛋白についてその遊離型コレステロールのエステル化能を³H-コレステロールを含む人工基質をもちいて評価した。その結果、導入されたhLCAT遺伝子コピー数に依存したエステル化活性が認められた。また、遺伝子導入法の工夫により、さらに高コピー数の遺伝子導入が可能となっており、臨床効果の発揮に治療用蛋白の更なる分泌が要求される病態にも将来的に応用可能であることが示唆された。

このLCAT欠損症は現在まで報告されているだけでも80種類以上の遺伝子変異が存在するが、この治療技術を臨床応用するためには、本治療法による効果が期待できるかどうかを評価し得る薬効解析システムを構築する必要がある。

われわれは、LCAT欠損症患者血清と健常人血清のリポ蛋白分布の違いに着目し、患者血清に前脂肪細胞が分泌したLCAT蛋白を添加し、添加後のHDLの成熟の度合いを2次元電気泳動とApoA-Iに対するウェスタンブロット法を組み合わせることで評価した。その結果、魚眼病 (T123I変異) 患者血清において、ApoA-I含有HDLが添加したLCATの用量依存的に高分子側にシフトすること、すなわちHDLの成熟に寄与することを明らかにした (図1, Mol. Genet. Metab. 2011)。このことは、前脂肪細胞が分泌するLCAT蛋白が、患者血清中に補充された際に薬効が期待できることを示している。現在、この解析系を患者適合性評価試験として確立するべく、LCAT欠損症15症例を有するアムステルダム大学アカデミックメディカルセンター (Kastelein教授) との国際共同研究を進めている。

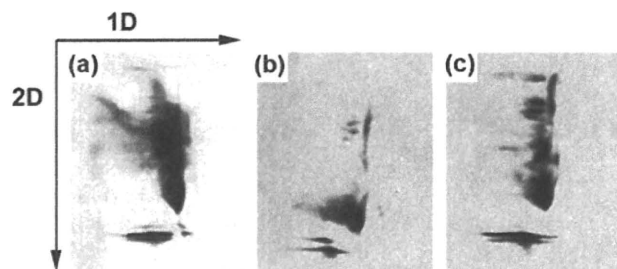


図1 患者血清でのリポ蛋白 (Apo-AI) 分布改善効果 (a) 健常人血清、(b) 魚眼病患者血清、未処置、(c) 魚眼病患者血清、hLCAT添加24時間処理、について2次元電気泳動後、ApoA-Iに対するウェスタンブロットを行った。

2. 移植細胞の機能評価 (LCAT蛋白の機能発現評価) と移植用のscaffoldの検討

移植後の持続的なLCAT産生を確保するための、移植細胞の生着率向上を目的とする製剤化検討を実施した。特に、移植細胞懸濁液に混合するscaffoldとして臨床での使用が可能なフィブリンゲルに着目した。マウス脂肪組織より、LCAT遺伝子導入マウス前脂肪細胞を調製、フィブリンゲルと共にマウスへの移植実験を行い、経時的に血清および移植細胞を回収した。マウス移植モデルにてLCAT蛋白の血中への分泌を評価した。その結果、フィブリンゲルは細胞の生存とその後のLCAT蛋白の血中への補充に寄与することが明らかとなった。同時に、マウスでの移植実験でscaffoldとして頻用されるマトリゲルと同等の血中分泌が認められ、フィブリンゲルが遺伝子治療臨床研究で使用可能なscaffoldであることが示唆された (図2)。現在、フィブリンゲルを用いた移植効率の最適化検討を実施している。

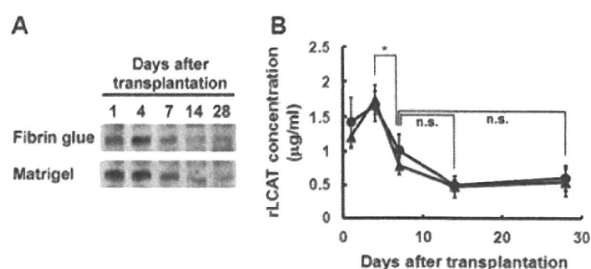


図2 フィブリンゲルの生着、LCAT分泌促進効果

フィブリンゲルとマトリゲルをscaffoldとしてhLCAT遺伝子導入マウス前脂肪細胞をB6マウスに皮下移植し、血中へのhLCAT補充について経時的に検討した。A、マウス1個体で経時的に採血を実施し、血中のhLCATを検出した。B、マトリゲル移植群 (●) とフィブリンゲル移植群 (▲) について血中hLCAT分泌量の比較を行った。

3. 家族性LCAT欠損症患者を対象とした臨床研究

平成22年4月、厚生労働省へ遺伝子治療実施計画を、それ申請し厚生科学審議会により審議された。6月、厚生科学審議会作業委員会にて本臨床研究実施計画の概要を説明し、質問・照会事項を7月に受理し、それに対する回答書を10月に提出し追加検討を開始した。平成23年度は、改訂した臨床研究実施計画書を提出する予定である。臨床試験は千葉大学医学部附属病院で実施予定

である。

(倫理面への配慮)

・ 移植細胞の薬効薬理および生着性に関する研究は、千葉大学大学院医学研究院の規定に従い、国で定められている、ヒト生体由来細胞を用いた実験、組換え DNA 実験、動物取り扱いに関する指針に従い、千葉大学で開催される各委員会で実験許可を受けて実施した。移植細胞の調製業務は、「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針」、「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方について」、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」に基づく「治験薬の製造管理及び品質管理基準および治験薬の製造施設の構造設備基準（治験薬 GMP）について」を満たす製造設備及び手順に遵守し製造した。臨床研究の実施に先立ち、臨床研究に関する計画書などについて、千葉大学医学部附属病院遺伝子治療審査委員会において、科学的、倫理的な観点から審議を受け、承認を受けた。さらに臨床研究計画書について厚生科学審議会での審議の後、厚生労働大臣の承認を受けた上で臨床研究を開始する。

DおよびE. 考察および結論

本研究は、根本的治療法のない家族性LCAT欠損症を対象として、遺伝子導入脂肪細胞の自己移植という新規の補充療法を実用化するトランスレーショナル研究である。家族性LCAT欠損症に対する食事療法及び輸血によるLCAT補充療法はいずれも効果が不十分であるとともに、遺伝子組換え型LCAT製剤の研究開発は行われていない。他の疾患治療法としてアデノウイルスベクターを用いた動物での遺伝子治療法の検討が報告されているが実用化までの課題は多い。

これらの課題を克服できる本治療法の特徴は、すでに形成外科臨床領域で行われている脂肪吸引、脂肪移植を応用して遺伝子導入脂肪細胞を製品化し、自己移植により目的蛋白を長期にわたり安定して補充するという、これまで医療経済的に蛋白補充が困難であったまれな難治性疾患に広く応用することが可能な新規技術であることである。しかしながら、自家移植した前脂肪細胞は、その

生存が認められるとはいえ、移植後の減少は避けられず、治療目的に応じた移植条件の最適化検討が求められる。外来遺伝子を導入した移植細胞での治療目的蛋白質の持続的発現は動物及びヒトで一部見られているが、その安定した薬効発現のためには、*in vitro* 及び *in vivo* での多面的検討が必要である。

本研究により、LCAT搭載レトロウイルスベクター及び移植細胞のGMP製造法と品質試験法を確立した。また、*in vitro* 及び動物でのそれらの安全性を確認してきた。さらに、hLCAT遺伝子導入前脂肪細胞が分泌するLCAT蛋白が、LCAT欠損症患者血清中で障害されているHDLの成熟を健康人のそれに近づける改善効果があることを明らかにした。また移植における遺伝子導入前脂肪細胞の生着向上にフィブリンゲルが使用できることが示唆された。今後、移植後の持続的なLCAT産生を確保するための細胞移植技術の最適化を行い臨床研究の実施準備を着手する。厚生科学審議会追加検討事項の1つにLCAT遺伝子欠損マウスでの薬効評価試験があり、これまで検討してきた移植生着技術を応用予定である。これらの基礎検討を実施し安全性配慮と法令等遵守のもと本治療法の安全性並びに有効性評価及び生着性を検証する臨床研究を実施する予定である。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表 論文発表

- 1) Kuroda M, Aoyagi Y, Asada S, Bujo H, Tanaka S, Konno S, Tanio M, Ishii I, Machida K, Matsumoto F, Satoh K, Aso M, Saito Y. Ceiling culture-derived proliferative adipocytes are a possible delivery vehicle in enzyme replacement therapy in lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency. *Open Gene Ther.* J. 2011; in press.
- 2) Asada S, Kuroda M, Aoyagi Y, Bujo H, Tanaka S, Konno S, Tanio M, Ishii I, Aso M, Saito Y. Disturbed apolipoprotein A-I-containing

lipoproteins in fish-eye disease are improved by the lecithin:cholesterol acyltransferase produced by gene-transduced adipocytes in vitro. *Mol Genet Metab.* 2011;102:229-231

- 3) Ikeuchi T, Hirayama S, Miida T, Fukamachi I, Tokutake T, Ebinuma H, Takubo K, Kaneko H, Kasuga K, Kakita A, Takahashi H, Bujo H, Saito Y, Nishizawa M. Increased levels of soluble LR11 in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010;30:28-32.
- 4) Unoki-Kubota H, Yamagishi S, Takeuchi M, Bujo H, Saito Y. Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation end product (AGE) formation ameliorates insulin resistance in obese, type 2 diabetic mice. *Protein Pept Lett.* 2010;17:1177-1181.
- 5) Takahashi M, Bujo H, Jiang M, Noike H, Saito Y, Shirai K. Enhanced circulating soluble LR11 in patients with coronary organic stenosis. *Atherosclerosis.* 2010;210:581-584.

H. 知的財産権の出願、登録状況

「遺伝子治療用脂肪細胞の調製のための外来遺伝子の導入に適した細胞集団かどうかを判定する方法」

出願番号：特願 2010-011248 号

出願日：平成 22 年 1 月 21 日

平成 22 年度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

「急性冠症候群（ACS）患者のアキレス腱肥厚に関する研究-2年次の解析-」

分担研究者 及川眞一 日本医科大学内科学講座代謝内分泌部門

研究要旨：

目的：日本医科大学付属病院集中治療室に入室した急性冠症候群(ACS)例を対象とし、レントゲン写真(X-P)および超音波検査(US)によってアキレス腱肥厚を診断し、同時に LDL 受容体遺伝子異常の頻度を明らかにする。このことにより、ACS 例のアキレス腱肥厚と LDL 受容体変異との関連性および家族性高コレステロール血症 (FH) の頻度を明らかにする。

経過：現時点で同意の得られた例は 18 例(男性 15 名、女性 3 名)である。アキレス腱肥厚(ATT)は触診で 5 例(28%)に認められ、これらは X-P 上もアキレス腱肥厚が 9mm 以上を呈していた。さらに触診で ATT なしと判断されていた患者においても、5 例(28%)が X-P にて ATT ありと診断され、全体で 9 例(56%)に ATT が認められた。また、LDL 受容体遺伝子変異の解析法の確立を目指している。

A. 研究目的

家族性高コレステロール血症 (FH)は 500 人に 1 人が保有する頻度の高い遺伝疾患である。また、若年にて虚血性心疾患を発症させる代表的な原因疾患として知られている。しかしながら、急性冠症候群(acute coronary syndrome: ACS)患者における FH の合併率に関する検討はほとんど見当たらない。この為、我々は ACS 患者における FH の合併率を明らかにするための調査をこれまでに行ってきた。この検討では、触診でアキレス腱肥厚(Achilles Tendon

Thickness: ATT)が疑われた症例に対してアキレス腱レントゲンを施行し、ATT の評価をおこなった。この結果、アキレス腱厚がレントゲン上 9mm 以上を呈して ATT ありと判定された患者が、ACS 患者の約 20%に認められ、これらの患者では FH の合併が疑われた。しかしながら、ATT を有した症例の多くにおいて、血清コレステロール値は上昇しておらず、現行の FH 診断基準を用いると、FH の診断に至らない症例が多く認められた。一般的に、ACS 発症後には血清脂質が低下してしまうことが知られてお

り、ACS 発症後の患者においては FH を診断することは困難であると考えられた。しかしながら、ATT ありに対する各因子の関係を多変量解析で検討すると、TC(LDL-C)のみが ATT ありと有意な関係を有しており、この所見は、ATT ありが FH の存在を疑わせる所見として矛盾していないと考えられた。これらの結果をふまえ、今回の検討では、対象症例全例に対し、アキレス腱レントゲン(X-P) 検査に加えアキレス腱超音波検査(US) を行うことで、正確に ATT の評価を行う。さらに LDL 受容体の遺伝子解析を行うことで、より確実な FH の診断を行う。

B. 対象と方法

日本医科大学付属病院集中治療室に平成 22 年 10 月から平成 22 年 12 月の間に入室した連続 32 例のうち、診察前に死亡された 4 例、退院された 5 例及び研究参加を拒否された 5 例を除き、日本医科大学付属病院倫理委員会および日本医科大学遺伝子研究倫理審査委員会で認められたプロトコルに則り、書面にてインフォームドコンセントの得られた 18 例(男性 15 名、女性 3 名)に対し、患者本人から病歴および家族歴の聴取、皮膚黄色腫や ATT の有無などに関する診察、血液生化学検査や冠動脈造影所見の収集、アキレス腱 X-P、アキレス腱 US 及び LDL 受容体遺伝子解析を行うための DNA 採取を行った。LDL-C の測定(直接法)は、コレテスト LDL(積水メディカル)を用いた。

C. 研究結果

対象の年齢の平均値は 71 歳であった。ACS の疾患の内訳は、急性心筋梗塞 13 例、不安定狭心症 5 例であった。発症後測定された血清脂質(平均±標準偏差)は、TC 156±52mg/dl、HDL-C 43±10mg/dl、TG 99±67mg/dl、LDL-C(直接法) 92±46mg/dl であった。ACS 発症前にスタチン系薬剤を投与されていた症例は 6 例(33%)であった。また、5 例 (28%)に冠動脈疾患の既往歴を認めた。虚血性心疾患の初発年齢が若年(男性<55 歳、女性<65 歳)であった症例は 4 例 (22%)であった。また、冠動脈疾患の家族歴を有するものは 7 例(39%)であったが、その中で 1 親等の若年性冠動脈疾患という条件を満たすものは 1 例 (6%)のみであった。今回の対象においては、アキレス腱肥厚(ATT)は触診で 5 例(28%)に認められ、これらは X-P 上もアキレス腱厚が 9mm 以上を呈していた。さらに触診で ATT なしと判断されていた患者においても、5 例(28%)が X-P にて ATT ありと診断され、全体で 10 例(58%)に ATT が認められた(図 1)。また、アキレス腱 US にて得られたアキレス腱前後径の最大値はアキレス腱 X-P の最大値と有意な正相関を認めた(図 2)。発症後初回測定の血清脂質(平均±標準偏差) は、ATT の有 / 無でそれぞれ T-cho 147±15 / 168±16mg/dl、HDL-C 43±6 / 44±4mg/dl、TG 70±28 / 135±31mg/dl、LDL-C(直接法) 84±13 / 101±15mg/dl であり、それぞれ群間に有意差はなかった。FH ヘテロ接合体の臨床診断(成人

用)を用いると、今回の対象患者内にはFHの確診例が0例、疑い例が11例であった。

D. 考察

今回の検討においても、ACS発症急性期における、FHの診断は非常に困難であった。ATTの頻度に関しては、アキレス腱X-Pを全症例に対して行ったことで、前回の検討よりも大幅に頻度が増加した。アキレス腱厚の評価は、一般的に、アキレス腱X-Pを用いて行われており我々も同様の方法を用いてきた。しかし、一部の症例においてアキレス腱と軟部組織の境界が不明瞭で判定が困難な場合が認められた。今回の検討では、アキレス腱USを用いてアキレス腱厚の測定を行った。USを用いた検討では、X-P上境界不明瞭であった症例においても、比較的容易に境界を判断することができた。今後、健常者や明らかなアキレス腱黄色腫を有するFH患者など、様々なアキレス腱厚を有する多くの症例にて同様の検討を行い、X-P所見と比較する必要があると考えられた。また、今回同意の得られた対象患者においては、末梢血よりDNAの抽出を行っており、LDL受容体の遺伝子解析を行い、ACS患者のATTがFHを示す所見か否かを明らかにしていく。

E. 結論

ACS患者は、高率にアキレス腱肥厚を有し、

FHの合併率が高い可能性が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Mano-Otagiri A, Iwasaki-Sekino A, Nemoto T, Ohata H, Shuto Y, Nakabayashi H, Sugihara H, Oikawa S, Shibasaki T.

Genetic suppression of ghrelin receptors activates brown adipocyte function and decreases fat storage in rats.

Regul Pept. 2010; 160(1-3):81-90

Kano T, Sugihara H, Sudo M, Nagao M, Harada T, Ishizaki A, Nakajima Y, Tanimura K, Okajima F, Tamura H, Ishii S, Shibasaki T, Oikawa S.

Comparison of pituitary-adrenal responsiveness between insulin tolerance test and growth hormone-releasing peptide-2 test: a pilot study. Peptides. 2010; 31(4):657-61.

Saito Y, Kita T, Mabuchi H, Matsuzaki M, Matsuzawa Y, Nakaya N, Oikawa S, Sasaki J, Shimamoto K, Itakura H.

Obesity as a risk factor for coronary events in Japanese patients with hypercholesterolemia on low-dose simvastatin therapy.

J Atheroscler Thromb. 2010; 17(3):270-7.

Teramoto T, Shimada K, Uchiyama S, Sugawara M, Goto Y, Yamada N, Oikawa S,

Ando K, Ishizuka N, Yamazaki T, Yokoyama K, Murata M, Ikeda Y.

Rationale, design, and baseline data of the Japanese Primary Prevention Project (JPPP)-a randomized, open-label, controlled trial of aspirin versus no aspirin in patients with multiple risk factors for vascular events. *Am Heart J.* 2010; 159(3):361-369

Nakajima Y, Sato K, Sudo M, Nagao M, Kano T, Harada T, Ishizaki A, Tanimura K, Okajima F, Tamura H, Sugihara H, Tsuda K, Oikawa S. Practical dietary calorie management, body weight control and energy expenditure of diabetic patients in short-term hospitalization. *J Atheroscler Thromb.* 2010; 17(6):558-67.

Shoji N, Nakagawa K, Asai A, Fujita I, Hashiura A, Nakajima Y, Oikawa S, Miyazawa T. LC-MS/MS analysis of carboxymethylated and carboxyethylated phosphatidylethanolamines in human erythrocytes and blood plasma. *J Lipid Res.*; 51(8):2445-53

Ishikawa Y, Yokoyama M, Saito Y, Matsuzaki M, Origasa H, Oikawa S, Sasaki J, Hishida H, Itakura H, Kita T, Kitabatake A, Nakaya N, Sakata T, Shimada K, Shirato K, Matsuzawa Y; JELIS Investigators.

Preventive effects of eicosapentaenoic acid on coronary artery disease in patients with peripheral artery disease.

Circ J. 2010; 74(7):1451-7.

Hotta K, Nakamura M, Nakamura T, Matsuo T, Nakata Y, Kamohara S, Miyatake N, Kotani K, Komatsu R, Itoh N, Mineo I, Wada J, Yoneda M, Nakajima A, Funahashi T, Miyazaki S, Tokunaga K, Kawamoto M, Masuzaki H, Ueno T, Hamaguchi K, Tanaka K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Yoshimatsu H, Nakao K, Sakata T, Matsuzawa Y, Nakamura Y, Kamatani N.

Polymorphisms in NRXN3, TFAP2B, MSRA, LYPLAL1, FTO and MC4R and their effect on visceral fat area in the Japanese population. *J Hum Genet.* 2010; 55(11):738-42

Kojima Y, Kimura T, Nakagawa K, Asai A, Hasumi K, Oikawa S, Miyazawa T. Effects of mulberry leaf extract rich in 1-deoxynojirimycin on blood lipid profiles in humans. *J Clin Biochem Nutr.* 2010; 47(2):155-61.

Itakura H, Yokoyama M, Matsuzaki M, Saito Y, Origasa H, Ishikawa Y, Oikawa S, Sasaki J, Hishida H, Kita T, Kitabatake A, Nakaya N, Sakata T, Shimada K, Shirato K, Matsuzawa Y. Relationships between Plasma Fatty Acid Composition and Coronary Artery Disease. *J Atheroscler Thromb.* in press 2010.

2. 学会発表

(1) 第42回日本動脈硬化学会総会

Taro Harada, Yuki Satou, Shuji Takemitsu,
Mototsugu Nagao, Mariko Sudou, Yasushi
Nakajima, Kyouko Tanimura, Fumitaka
Okajima, Hideki Tamura, Hitoshi Sugihara,
Shinichi Oikawa

Cardio-Ankle Vascular Index (CAVI) is
associated with diabetic autonomic neuropathy

Mototsugu Nagao, Fumitaka Okajima, Yuki
Sato, Syuji Takemitsu, Mariko Sudo, Taro
Harada, Yasushi Nakajima, Kyouko Tanimura,
Akira Asai, Shinichi Oikawa

Analysis of Spontaneous Diabetic Mice by
Repetitive Selective Breeding with High Fat
Diet

Fumitaka Okajima, Mariko Sudo, Taro Harada,
Yuki Sato, Syuji Takemitsu, Mototugu Nagao,
Yasushi Nakajima, Kyoko Tanimura, Hitoshi
Sugihara, Keiji Tanaka, Shinichi Oikawa
Frequency of Achilles tendon xanthoma and
serum lipid profile in acute coronary syndrome

Yuki Sato, Fumitaka Okajima, Shuji Takemitsu,
Mariko Sudo, Mototsugu Nagao, Taro Harada,
Yasushi Nakajima, Kyoko Tanimura, Hitoshi
Sugihara, Koji Shirai, Shinichi Oikawa

The efficacy of a low-fat diet for
hyperchylomicronemia

Yasushi Nakajima, Syuji Takemitsu, Yuki Sato,
Mariko Sudo, Mototsugu Nagao, Toshiko Kano,
Taro Harada, Akira Ishizaki, Kyoko Tanimura,
Fumitaka Okajima, Hideki Tamura, Hitoshi
Sugihara, Shinichi Oikawa

The effect of diabetic control in short term to
Mid-band expression on PAGE

(2) 第53回日本糖尿病学会年次学術集会

堀田紀久子, 中田由夫, 松尾知明, 蒲原聖
可, 和田淳, 伊藤直人, 嶺尾郁夫, 浜口和之,
船橋徹, 宮崎滋, 徳永勝人, 益崎裕章, 田中
喜代次, 山田研太郎, 花房俊昭, 及川眞一,
吉松博信, 中尾一和, 坂田利家, 松澤佑次
メタボリックシンドローム関連遺伝子の同
定

首藤真理子, 佐藤友紀, 竹光秀司, 長尾元
嗣, 原田太郎, 中島泰, 谷村恭子, 岡島史宜,
及川眞一

脂質異常症を合併した糖尿病患者に対して
のエゼチミブ単剤投与の効果

岡島史宜, 石川まゆみ, 佐藤友紀, 竹光秀
司, 首藤真理子, 長尾元嗣, 原田太郎, 中島
泰, 谷村恭子, 栗原美樹子, 浅井明, 杉原仁,
島野仁, 及川眞一

スタチン系薬剤のインスリン分泌能に対す