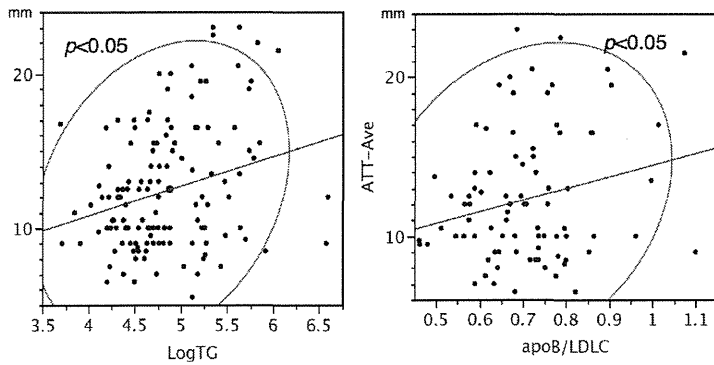


図 2



興味深いことに LDL-C 値は（ヘテロの中では）アキレス腱肥厚との相関は有意ではなかった。これは若年で腱肥厚がないが著明な高 LDL-C 血症の症例が含まれることが関与している可能性がある。

FH では腱黄色腫は必発ではないため、家族性複合型高脂血症 (FCHL) と診断される可能性が指摘されている。我々は PCSK9 遺伝子 E32K 変異が FCHL と診断されている可能性を検討した。(表 2) 一般人コントロールでは E32K 変異は 1.7%であったが、FCHL では 7.5%と有意に高値であった。

| | FCHL (n=80) | Control (n=345) | |
|------|----------------|--------------------|--------|
| E32K | 6 (7.5%) | 6 (1.7%) | p<0.05 |

表 3 に FCHL で E32K 変異の有無による血清脂質値を示すが、E32K の有無で明らかな血清脂質値の差は確認されなかった。血清脂質値からの推定するのは困難であった。また多くの症例は肥満傾向で家族調査がなければメタボリックシンドロームとされる症例であった。

| | FCHL | | |
|-----------------------|------------|-----------|----|
| | PCSK9 E32K | WT | |
| Number | 5 | 74 | |
| T.Chol (mg/dl) | 254 ± 54 | 265 ± 38 | ns |
| Triglycerides (mg/dl) | 176 ± 64 | 209 ± 115 | ns |
| HDL-C(mg/dl) | 50 ± 17 | 49 ± 17 | ns |
| LDL-C(mg/dl) | 169 ± 50 | 176 ± 35 | ns |

Mean ± S.D.

D. 考察

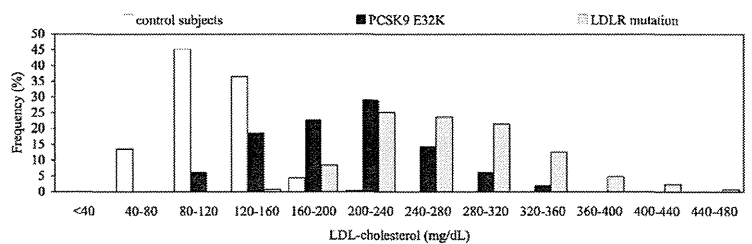
FH は早期発見早期治療が若年死予防の唯一の確立された治療方法である。本邦では FH ヘテロ接合体の診断率は 1%未満とされており、多くの FH は十分な治療および検査を受けていないため、動脈硬化性疾患が進行してしまってから精査が開始されることが多いのが現状である。最も効率的な本疾患の対策は、オランダが国を挙げて行

っているように、1 人の発端者から明確に確定診断を行い、Cascade screening と呼ばれる家族調査を行う方法であり、遺伝子診断が重要かつ効果的な手段である。

FH を来す基本的な病態は LDL 受容体機能の低下が主因であることは疑いない。その一方でアポ B 産生の主たる臓器である肝臓からはアポ B は VLDL として分泌されているが、この段階から LDL 機能関連の遺伝子は影響を持つ可能性がある。FH の原因遺伝子 (LDL 受容体, PCSK 9, アポ B100, LDLAP1) はいずれも LDL 代謝に深いつながりがある分子をコードしているが、いずれも VLDL 代謝にも影響を及ぼす可能性がある。

LDL 受容体変異が FH の典型的な臨床像であり、これが大多数であるが、アポ B100 遺伝子 R3500Q 変異を代表とする FDB は LDL 受容体変異より LDL-C は低値で、しばしば正脂血症でアキレス腱黄色腫を欠くことがあることが報告されている。我々は PCSK9 遺伝子 E32K 変異の LDL-C 値の分布は、LDL 受容体変異およびコントロールの間に分布することを報告しており、(図 4) FDB に似ていることは興味深い。

図 4



PCSK9 遺伝子は LDL 受容体の他 VLDL 受容体も制御している可能性があるが、ヒトにおける安定同位体を用いた Kinetic study において、海外では PCSK9 変異ヘテロで VLDL 合成亢進が報告されており、当施設でも PCSK9 遺伝子 E32K 変異が同様に VLDL 合成亢進を期待していることを学会報告している。(Kawashiri MA et al. アメリカ心臓病会議 2012)

今回の検討において、PCSK9 遺伝子変異が LDL 受容体変異に比べ、TG が高値であったことはこれらの知見に合致するものと言える。ただし血清脂質値から遺伝子変異の種

類を推定することはかなり困難であった。

LDL 受容体変異および PCSK9 遺伝子 E32K 変異が検出されない2割程度の臨床診断FH患者は原因遺伝子が確定されていない。PCSK9 遺伝子の他の変異が原因の可能性もあるが、LDL 受容体変異および PCSK9 変異にくらべ有意に HDL-C が高値であり、異なる遺伝的背景を持つ集団である可能性がある。今回は PCSK9 類似のメカニズムで LDL 受容体を制御する IDOL 遺伝子を HRM 法にて解析したが、FH をきたすと判断される変異は確認されなかった。病原性遺伝子の同定は新規治療薬開発に結びつくことも多く、引き続き新規原因遺伝子の探索を継続したい。

FH 以上に頻度が多い家族性複合型高脂血症 (FCHL) は近年では多因子遺伝性疾患と考えられるようになってきている。

FCHL では高 TG 血症が高頻度であり、同時に肥満、耐糖能障害や高血圧などのメタボリックシンドロームに準じる病態が良く認められ、家族調査が十分に行われないう場合はメタボリックシンドロームとされている症例が多い。

我々は PCSK9 遺伝子 E32K が FCHL の遺伝的背景である可能性を検討したところ、一般人に比べ有意に高頻度に検出された。FCHL とメタボリックシンドロームは明確な区別を付けることは困難な症例が多く、メタボリックシンドロームとされる症例に FH 遺伝子変異症例が少なからず含まれていることを示唆する。

FH を代表とする遺伝性的高脂血症は、成人後あるいは中高年で顕在化するメタボリックシンドロームとは異なり、生涯の冠疾患リスクが格段に高い。しかも社会的責任の大きい青壮年期に死亡したり後遺症を残したりと社会的損失も非常に大きい。そのため無症状の若年期に早期診断を行い、適切な時期から十分な治療を行う必要がある。

FH および FH 遺伝子異常症は非遺伝性高脂血症と明確に区別する必要があり、生活習慣病ではない。今回の検討から FCHL とされていた症例で PCSK9 遺伝子変異の有無は血清脂質値から推定することは困難で、家族調査をしていなければメタボリックシンドロームとされる症例がほ

とんどであった。これは脂質異常を主訴に外来受診をする年齢は 50-60 歳が多数であり、腱黄色腫を伴わない場合は、中年期以降に出現する高脂血症と明確な違いを見だしにくいことを意味しており、遺伝子診断が重要であることを示唆している。腱黄色腫がない場合は家族調査や遺伝子診断が行われなければ、メタボリックシンドロームやその他の高脂血症とされてしまい、その家族が FH として適切な治療を受ける機会を失ってしまう事例が起こる。FH では LDL 受容体変異でも 30%前後は生涯黄色腫が出現しないことを十分に留意し、一般診療でも FH を念頭に脂質異常症の治療を行うよう啓蒙していく必要がある。

E. 結論

臨床的にヘテロ FH と診断されている症例の約 8 割で遺伝子診断が可能で、LDL 受容体変異に比べて PCSK9 遺伝子変異症例では有意に TG が高値、高 LDL-C 血症は軽症であった。LDL 受容体変異症例では高 TG 血症とアキレス腱黄色腫の程度に正相関が見られた。PCSK9 遺伝子変異は腱黄色腫を伴わず家族性複合型高脂血症と診断されていた症例にも 7%以上が同定された。これは FH 遺伝子異常が関与する高 TG 血症を合併する一群があり、非 FH の高脂血症とされている症例があることを示唆する結果である。積極的に FH を疑い家族調査を行い、必要に応じて遺伝子診断をすることで、FH を代表とする冠疾患リスクの高い遺伝性高脂血症の早期診断・早期治療に役立つことが示唆される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Teramoto T, Sasaki J, Ishibashi S, Birou S, Daida H, Dohi S, Egusa G, Hiro T, Hirobe K, Iida M, Kihara S, Kinoshita M, Maruyama C, Ohta T, Okamura T, Yamashita S, Yokode M, Yokote K, Harada-Shiba M, Arai H, Bujo H, Nohara A, Ohta T, Oikawa S, Okada

T, Wakatsuki A. Familial Hypercholesterolemia Executive Summary of the Japan Atherosclerosis Society (JAS) Guidelines for the Diagnosis and Prevention of Atherosclerotic Cardiovascular Diseases in Japan. *J Atheroscler Thromb*. 2013 Dec 10. [Epub ahead of print].

2) Nohara A, H Mabuchi. MTP inhibitor for treating severe LDL cholesterolemia. *Clinical Lipidology*, 2013. 8(4):387-389.

3) Nozue T, Hattori H, Ishihara M, Iwasaki T, Hirano T, Kawashiri MA, Yamagishi M, Michishita I. Comparison of effects of pitavastatin versus pravastatin on serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 levels in statin-naive patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2013;111(10):1415-9.

4) Kawashiri MA, Yamagishi M, Sakamoto T, Takayama T, Hiro T, Daida H, Hirayama A, Saito S, Yamaguchi T, Matsuzaki M; COSMOS Investigators. Impact of Intensive Lipid Lowering on Lipid Profiles Over Time and Tolerability in Stable Coronary Artery Disease: Insights From a Subanalysis of the Coronary Atherosclerosis Study Measuring Effects of Rosuvastatin Using Intravascular Ultrasound in Japanese Subjects (COSMOS). *Cardiovasc Ther*. 2013 Dec;31(6):335-43.

5) Yamaaki N, Yagi K, Kobayashi J, Nohara A, Ito N, Asano A, Nakano K, Liu J, Okamoto T, Mori Y, Ohbatake A, Okazaki S, Takeda Y, Yamagishi M. Impact of serum retinol-binding protein 4 levels on regulation of remnant-like particles triglyceride in type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Res*. 2013;2013:143515-143519.

6) Ahmadvand H, Mabuchi H, Nohara A, Kobayahi J, Kawashiri MA. Effects of coenzyme Q(10) on LDL oxidation in vitro. *Acta Med Iran*. 2013;51(1):12-8.

2. 学会発表

1) 野原 淳. 家族性高コレステロール血症の診断および治療の課題. シンポジウム 3 : 日本における原発性高脂血症の現状. 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (2013 東京)

2) Nohara A, Ohtani R, Noguchi T, Inoue T, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Usefulness of FH Gene Test in Patients with Dyslipidemia. 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (2013 東京)

3) Nohara A, Noguchi T, Inoue T, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Common PCSK9 E32K Variant as Genetic Background of Familial Combined Hyperlipidemia. The 81st European Atherosclerosis Society Congress, 2013, Lyon (France).

4) Mabuchi H, Nohara A, Noguchi T, Inoue T, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Inazu A, Yamagishi M. Hokuriku FH Research Group. High Frequency and Mild Phenotype in True Homozygous or Double Heterozygous Familial Hypercholesterolemia Caused by PCSK9 Mutation (E32K) in Japan. The 81st European Atherosclerosis Society Congress, 2013, Lyon (France).

6) Nohara A, Noguchi T, Inoue T, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Common PCSK9 E32K Variant as Genetic Background of Familial Combined Hyperlipidemia. 第 77 回日本循環器学会学術総会, (横浜 2013).

G. 知的財産権の出願, 登録状況

該当しない。

研究要旨

症例は 23 歳の女性。両親の血縁関係なし。20 歳の時に、右上下肢の筋力低下を主訴に近医受診。頭部 MRI で左内包から放線冠、脳梁の一部に T2 高信号を認め、脳梗塞もしくは多発性硬化症を疑われ、当院紹介入院。入院時、TC 108mg/dl, TG 107mg/dl, HDL-C 9mg/dl, LDL-C 87mg/dl と著明な低 HDL-C 血症を認めた。神経伝導速度では、両上下肢に脱髄優位の混合性末梢神経障害を認めた。多発性硬化症、悪性リンパ腫、MELAS、Tangier 病、apoAI 異常症によるアミロイドーシス、Charcot-Marie-Tooth 病などが疑われたが、最終的に、大阪大学で皮膚生検を施行され、ガラクトセレブロシダーゼ活性が低下していることから、Krabbe 病と診断された。低 HDL-C 血症については、患者末梢血単球由来マクロファージのコレステロール引きぬき能に低下がなく、apo AI 遺伝子にプロモーター領域を含めて遺伝子異常がないこと、LCAT 低下は認めるものの LCAT 欠損症に特徴的な所見がなく低 HDL-C 血症による二次的変化と考えられた。Krabbe 病で低 HDL-C 血症を来すという報告はなく、未知の遺伝子による疾患の可能性もある。

A. 研究目的

高比重リポ蛋白（HDL）は末梢の余剰なコレステロールを肝臓に戻すコレステロール逆転送系の中心となるリポ蛋白である。低 HDL コレステロール（HDL-C）血症は、動脈硬化性疾患、特に冠動脈疾患の発症リスクが増加することが、数多くの疫学研究から明らかになっている。

低 HDL-C 血症を引き起こす原発性高脂血症には、HDL の構成タンパクのアポリポタンパク A-I（apoAI）遺伝子異常、細胞内のコレステロールを HDL に受け渡すための膜タンパクである ATP 結合カセットタンパク A1（ABCA1）遺伝子異常、引きぬいたコレステロールを HDL 内で再エステル化するレシチン：コレステロール・アシルトランスフェラーゼ（LCAT）異常が知られており、各々、apoAI 欠損症、Tangier

病、LCAT 欠損症と呼ばれている。

今回、我々は、これらの遺伝子異常とは異なる可能性の高い著明な低 HDL-C 血症の患者を経験し、病態について解明を行った。

B. 研究方法

出生に問題なし。2010 年 1 月、一過性の右上肢の筋力低下が出現。同年 2 月、右上下肢の筋力低下が出現。近医で頭部 MRI 施行され、左内包から放線冠、脳梁の一部に高信号領域が認められ、脳梗塞と診断。同院でアルガトロバン、エダラボンが投与された。線溶系マーカー、抗カルジオリピン抗体、UCG、頸動脈エコー、ホルター心電図が施行されたが異常なし。入院時の検査で、TC 167, TG 56, HDL-C 8, LDL-C 122 であり、ロスバスタチン 2.5mg が開始となった。年齢や症状が増悪と寛解を繰り返していること

から多発性硬化症が疑われ、2010年3月に当院神経内科入院。低HDL-C血症について当科併診となった。

両親は血縁関係にない。既往歴に特記すべきことなし。家族歴は、父が2型糖尿病で治療中。生活歴は、飲酒の習慣はないが、喫煙あり。職業は事務職。

身長160.2cm、体重68kg、BMI26.5。角膜混濁やオレンジ色の扁桃腫大、肝脾腫なし。脳神経系に異常なし。筋力は右上下肢で4+~5-（手指3）。筋トーン正常で、筋萎縮や筋線維束萎縮、不随意運動は認めなかった。深部反射は正常で、温痛覚・触覚に異常なし。

初診時の血液尿所見を表1に、患者の脂質所見を表2に、家族の脂質所見を図1に示す。

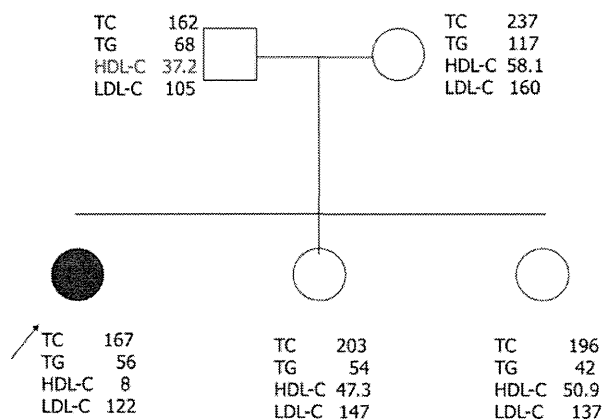
表1. 検査所見

| 尿一般 | | 生化学 | | | |
|------------------|-----------|-------|------------|-----------------|------------------|
| UP | (-) | TP | 7.2 g/dl | CK | 60 IU/l |
| US | (-) | ALB | 4.3 g/dl | Ca | 9.4 mg/dl |
| OB | (-) | AST | 17 IU/l | IP | 3.1 mg/dl |
| 血算 | | ALT | 16 IU/l | CRP | 0.19 mg/dl |
| WBC | 7,000 /μl | LDH | 188 IU/l | TSH | 0.971 μU/l |
| Hb | 12.0 g/dl | ALP | 227 IU/l | ft4 | 1.30 ng/dl |
| Plt | 12.1万 /μl | γGTP | 8 IU/l | IL-2R | 731 U/ml |
| 凝固 | | T-Bil | 0.7 mg/dl | ANA | <20 倍 |
| PT-INR | 1.11 | UN | 8.8 mg/dl | 抗DNA抗体 | <2.0 U/ml |
| APTT | 36.0 sec | Cre | 0.52 mg/dl | 抗CL-β2-GPI抗体 | <2.0 |
| (cont. 33.3 sec) | | UA | 6.5 mg/dl | ループスアンチコアグulant | 1.1 |
| | | Na | 140 mEq/l | MPO-ANCA | <10 |
| PG | 97 mg/dl | Cl | 105 mEq/l | PR3-ANCA | <10 |
| HbA1c | 4.6 % | K | 4.0 mEq/l | IgG/A/M | 1177 / 257 / 244 |

表2. 血清脂質検査所見

| | | | |
|-------|------------|--------------|------------|
| TC | 108 mg/dl | APO-AI | 17 mg/dl |
| TG | 107 mg/dl | AII | 10.2 mg/dl |
| HDL-C | 6.2 mg/dl | CII | 2.2 mg/dl |
| LDL-C | 87.0 mg/dl | CIII | 4.5 mg/dl |
| RLP-C | 4.2 mg/dl | E | 2.7 mg/dl |
| Lp(a) | 7.4 mg/dl | LCAT | 210 U |
| | | コレステロールエステル比 | 76% |

図1. 家族の血清脂質値



髄液 IgG index 0.48, MBP <31.3, オリゴクローナルバンド陰性。

頭部MRIでは、左中心前回の運動野付近から錐体路に沿うように頭尾に長い異常信号域（DWI強陽性、T2WI高信号）。脳梁膨大部を跨いで左右方向に進展する領域にも異常信号域を認めた。頸椎・胸椎MRIでは異常所見なし。神経伝導検査では、両上下肢ともに脱髄優位の混合性末梢神経障害を認め、正中神経では伝導ブロックを認めた。体性感覚誘発電位では、両側末梢神経レベルでの伝導速度低下を認め、中枢の伝導速度も両側で左右対称に低下。

神経生検では、小径線維優位の有髄線維の軽度脱落と一部大径線維のミエリン菲薄化を認め、神経周膜下の中等度浮腫と沈着物を伴う節性脱髄。

血清脂質値の経過について表3に示す。

表3. 血清脂質値の経過

| | 2.13 | 3.15 | 3.23 | 4.12 | 4.19 | 4.26 | 5.7 |
|-------|------|---------------|------|------|----------------|----------------|-------|
| 薬剤 | | ロスバスタチン 2.5mg | なし | なし | ベザフィプラート 400mg | ベザフィプラート 400mg | なし |
| TC | 167 | 93 | 108 | 153 | 139 | 119 | 139 |
| TG | 56 | 75 | 107 | 100 | 92 | 102 | 103 |
| HDL-C | 8 | 4.7 | 6.2 | 9.2 | 3.3 | 3.1 | 6.0 |
| LDL-C | 122 | 73.3 | 87.0 | 114 | 128 | | 125.0 |

C. 研究結果

患者末梢血単球由来マクロファージのcholesterol effluxは、健常コントロールと同等であった。ApoAI遺伝子およびABCA1遺伝子

にも変異を認めなかった（福岡大学循環器内科に依頼）。

極長鎖脂肪酸 C24:0/C22:0 0.509（正常範囲 0.628-0.977）、C25:0/C22:0 0.018（0.012-0.023）、C26:0/C22:0 0.006（0.003-0.006）。

Chrcot-Marie-Tooth 病関連遺伝子検査で異常所見なし。血中ガラクトセレブロシダーゼ <3.0nmol/mg protein/17h と低下。皮膚ガラクトセレブロシダーゼ 0.2nmol/h/mg と低下。βガラクトシダーゼ、βヘキソサミニダーゼ、βグルコシダーゼ、アシルスルファターゼ A 活性は正常範囲内。

D. 考察

著明な低 HDL-C 血症を来す原発性低 HDL-C 血症の原因として、apoAI 欠損症、家族性 LCAT 欠損症、Tangier 病が知られている。特に、Tangier 病では末梢神経障害を合併し、本症例で第一に鑑別する必要な疾患である。しかし、本症例では遺伝子検査および酵素活性、cholesterol efflux から否定された。

神経内科的アプローチからは、多発性硬化症や悪性リンパ腫、ミトコンドリア病、脳梗塞、Charcot-Marie-Tooth 病、副腎白質ジストロフィー、リソゾーム病などが鑑別に上がった。最終的には、ガラクトセレブロシダーゼ活性の低下から、臨床的に Krabbe 病と診断された。しかし、Krabbe 病に本症例のような著明な低 HDL-C 血症を合併するという報告はない。また、本症例の低 HDL-C 血症は、スタチンやフィブラート薬投与で増悪し、通常では HDL-C が増加するのと逆の変化を示していることも興味深い。本症例の低 HDL-C 血症の原因として、未知の遺伝子異常が関与している可能性が考えられ、現在、エキソーム解析もしくは全ゲノム解析を予定している。

E. 結論

本症例の低 HDL-C 血症には未知の原因が関

与していると考えられた。

F. 健康被害情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Han SI, Komatsu Y, Murayama A, Steffensen KR, Nakagawa Y, Nakajima Y, Suzuki M, Oie S, Parini P, Vedin LL, Kishimoto H, Shimano H, Gustafsson JA, Yanagisawa J. ER ligands ameliorate fatty liver through a non-classical ER/LXR pathway. *Hepatology*. 2013 Nov 26. [Epub ahead of print]

2. Heianza Y, Arase Y, Kodama S, Hsieh SD, Tsuji H, Saito K, Shimano H, Hara S, Sone H. Effect of Postmenopausal Status and Age at Menopause on Type 2 Diabetes and Prediabetes in Japanese Individuals: Toranomon Hospital Health Management Center Study 17 (TOPICS 17). *Diabetes Care*. 2013 Oct 29. [Epub ahead of print]

3. Sunaga H, Matsui H, Ueno M, Maeno T, Iso T, Syamsunarno MR, Anjo S, Matsuzaka T, Shimano H, Yokoyama T, Kurabayashi M. Deranged fatty acid composition causes pulmonary fibrosis in Elovl6-deficient mice. *Nat Commun*. 2013;4:2563.

4. Kodama S, Horikawa C, Fujihara K, Hirasawa R, Yachi Y, Yoshizawa S, Tanaka S, Sone Y, Shimano H, Iida KT, Saito K, Sone H. Use of high-normal levels of hemoglobin A1C and fasting plasma glucose for diabetes screening and prediction - A meta-analysis. *Diabetes Metab Res Rev*. 2013; 29(8):680-92.

5. Izumida Y, Yahagi N, Takeuchi Y, Nishi M, Shikama A, Takarada A, Masuda Y, Kubota M, Matsuzaka T, Nakagawa Y, Iizuka Y, Itaka K,

- Kataoka K, Shioda S, Nijima A, Yamada T, Katagiri H, Nagai R, Yamada N, Kadowaki T, Shimano H. Glycogen shortage during fasting triggers liver-brain-adipose neurocircuitry to facilitate fat utilization. *Nat Commun*. 2013; Aug 13;4:2316.
6. Fujimoto Y, Nakagawa Y, Satoh A, Okuda K, Shingyouchi A, Naka A, Matsuzaka T, Iwasaki H, Kobayashi K, Yahagi N, Shimada M, Yatoh S, Suzuki H, Yogosawa S, Izumi T, Sone H, Urayama O, Yamada N, Shimano H. TFE3 Controls Lipid Metabolism in Adipose Tissue of Male Mice by Suppressing Lipolysis and Thermogenesis. *Endocrinology*. 2013; 154(10): 3577-3588.
7. Hirasawa R, Yachi Y, Yoshizawa S, Horikawa C, Heianza Y, Sugawara A, Sone Y, Kondo K, Shimano H, Saito K, Kodama S, Sone H. Quality and accuracy of Internet information concerning a healthy diet. *Int J Food Sci Nutr*. 2013; 64(8):1007-13.
8. Heianza Y, Arase Y, Kodama S, Hsieh SD, Tsuji H, Saito K, Shimano H, Hara S, Sone H. Association of living alone with the presence of undiagnosed diabetes in Japanese men: the role of modifiable risk factors for diabetes: Toranomon Hospital Health Management Center Study 13 (TOPICS 13). *Diabet Med*. 2013; 98(3):1051-60.
9. Ishida T, Ohta M, Nakakuki M, Kami H, Uchiyama R, Kawano H, Notsu T, Imada K, Shimano H. Distinct regulation of plasma LDL cholesterol by eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in high fat diet-fed hamsters: Participation of cholesterol ester transfer protein and LDL receptor. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2013 Apr;88(4):281-288.
10. Fujihara K, Suzuki H, Sato A, Kodama S, Heianza Y, Saito K, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Yamada N, Sone H, Shimano H. Carotid Artery Plaque and LDL-to-HDL Cholesterol Ratio Predict Atherosclerotic Status in Coronary Arteries in Asymptomatic Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *J Atheroscler Thromb*. 2013 May 29;20(5):452-464.
2. 学会発表
(学会発表)
1. Sakiko Yoshizawa, Yuriko Heianza, Yasuji Arase, Kazumi Saito, Shiun Dong Hsieh, Hiroshi Tsuji, Osamu Hanyu, Akiko Suzuki, Shiro Tanaka, Satoru Kodama, Hitoshi Shimano, Shigeiko Hara, Hirohito Sone; Comparison of Various Body Mass Index Histories to Identify Undiagnosed Diabetes in Japanese Men and Women: Toranomon Hospital Health Management Center Study (Topics). (Poster Session), APDO Symposium 2013 (Tokyo International Form) 2013.10.12(sat)-10.13(sun)
2. Yuriko Heianza, Yasuji Arase, Satoru Kodama, Akiko Suzuki, Kazumi Saito, Shiun Dong Hsieh, Hitoshi Shimano, Shigeiko Hara, Hirohito Sone; Prediction of the Development of Hypertension by Body Mass Index History in Japan: Toranomon Hospital Health Management Center Study (Topics). (Poster Session), APDO Symposium 2013 (Tokyo International Form) 2013.10.12(sat)-10.13(sun)
3. Yuriko Heianza, Yasuji Arase, Satoru Kodama, Osamu Hanyu, Kazumi Saito, Shiun Dong Hsieh, Hitoshi Shimano, Shigeiko Hara, Hirohito Sone; Trajectory of Body Mass Index Before the Development of Diabetes in Japanese Men: Toranomon Hospital Health Management Center Study (Topics). (Poster Session), APDO Symposium

2013 (Tokyo International Form)

2013.10.12(sat)-10.13(sun)

4. 久保田みどり、矢作直也、武内謙憲、志鎌明人、松坂賢、中川嘉、升田紫、西真貴子、泉田欣彦、飯塚陽子、山田信博、島野仁、門脇孝：脂肪細胞のインスリン抵抗性における p21 WAF1/CIP1 の関与の分子機構の解明 (ポスター)、第 34 回日本肥満学会 (東京国際フォーラム) 2013. 10. 11(金)-10. 12(土)
5. 泉田欣彦、矢作直也、武内謙憲、山田哲也、西真貴子、升田紫、久保田みどり、志鎌明人、宝田亜矢子、高梨幹生、高瀬暁、岡崎佐智子、飯塚陽子、岡崎啓明、塩田清二、片桐秀樹、岡芳知、山田信博、島野仁、門脇孝：飢餓において神経が肝の貯蔵グリコーゲン減少を感知して脂肪酸系エネルギー利用を促す (一般演題口演)、第 34 回日本肥満学会 (東京国際フォーラム) 2013. 10. 11(金)-10. 12(土)
6. 煙山(鈴木)紀子、松坂賢、所司慶太、加藤淳子、唐ネ、久芳素子、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、石井清明、中川嘉、嶋田昌子、矢作直也、鈴木浩明、山田信博、島野仁：脂肪酸伸長酵素 Elovl6 欠損マウスにおける食餌嗜好性への影響 (一般演題口演)、第 34 回日本肥満学会 (東京国際フォーラム) 2013. 10. 11(金)-10. 12(土)
7. 松坂賢、渥美綾香、煙山紀子、山田信博、島野仁：非アルコール性脂肪性肝炎における脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の役割 (一般演題口演)、第 34 回日本肥満学会 (東京国際フォーラム) 2013. 10. 11(金)-10. 12(土)
8. 矢藤繁、渋谷正俊、岩崎仁、小林和人、矢作直也、鈴木浩明、島野仁：副腎インシデンタローマとして発見された小さな褐色細胞腫の 1 例 (一般演題)、第 14 回日本内分泌学会関東甲信越支部学術集会 (パシフィコ横浜) 2013.9.28(土) (会期：2013.9.27(金)-9.28(土))
9. 島野仁：脂質の質に視点を置いた代謝異常と心血管病治療戦略 (シンポジウム 臨床「代

謝異常と心血管病」)、第 21 回日本血管生物医学学会学術集会 (千里阪急ホテル) 2013.9.28(土) (会期：2013.9.26(木)-9.28(土))

10. 奥田佳菜子、中川 嘉、島野仁：TFE3 は脂肪組織での脂肪分解と熱産生を抑制することで脂質代謝を制御する (ポスター)、第 18 回アディポサイエンス・シンポジウム (大阪千里ライフサイエンスセンター) 2013.8.24(土)
11. 島野仁 (研究代表者)、松坂 賢 (連携研究者)：脂肪酸伸長酵素 Elovl6 欠損マウスにおけるシヨ糖嗜好性亢進機序の解明 (平成 25 年度～26 年度)、新学術領域研究 (研究領域提案型)「食欲と脂肪蓄積の制御と破綻の分子基盤の解明」第 4 回班会議 (大阪千里ライフサイエンスセンター) 2013.8.22(木)-23(金)
12. 藤原和哉他：2 型糖尿病患者における MDA-LDL を用いた脂質指標の冠動脈狭窄病変予測能の検討 (ポスター)、第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (京王プラザホテル) 2013.7.19(金) (会期：2013.7.18(木)-7.19(金))
13. 泉田欣彦他：飢餓において神経が肝の貯蔵グリコーゲン減少を感知して脂肪酸系エネルギー利用を促す (ポスター)、第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (京王プラザホテル) 2013.7.19(金) (会期：2013.7.18(木)-7.19(金))
14. 久保田みどり他：細胞周期調節因子 p21WAF1/CIP1 による糖代謝制御機構の解明 (ポスター)、第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (京王プラザホテル) 2013.7.19(金) (会期：2013.7.18(木)-7.19(金))
15. 武内謙憲他：KLF5 の新機能—糖代謝と脂質代謝の新たな接点 (ポスター)、第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (京王プラザホテル) 2013.7.19(金) (会期：2013.7.18(木)-7.19(金))
16. 久芳素子他：脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の欠損は高コレステロール食誘導性脂肪肝を改善する (ポスター)、第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (京王プラザホテル) 2013.7.18(金) (会

期：2013.7.18(木)-7.19(金))

17. 西真貴子他：脂肪組織における in vivo Ad-luc 法による fatty acid synthase のプロモーター解析 (ポスター)、第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (京王プラザホテル)

2013.7.19(金) (会期：2013.7.18(木)-7.19(金))

18. Hitoshi Shimano : Quality control of lipids: a novel aspect in metabolic risks and atherosclerosis.

(English Session)、第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (京王プラザホテル) 2013.7.19(金)

(会期：2013.7.18(木)-7.19(金))

19. 志鎌明人、矢作直也、武内謙憲、西真貴子、宝田亜矢子、升田紫、久保田みどり、泉田欣彦、松坂賢、中川嘉、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、鈴木浩明、山田信博、門脇孝、島野仁 : apoE 遺伝子プロモーターの TFEL scan 解析、第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会総会 (熊本市市民会館)

2013. 5. 16(木)~18(土)

20. 武内謙憲、矢作直也、西真貴子、志鎌明人、宝田亜矢子、升田紫、久保田みどり、泉田欣彦、山本隆史、石井清朗、松坂賢、中川嘉、位高啓史、片岡一則、永井良三、山田信博、門脇孝、島野仁 : KLF15 の新機能—糖代謝と脂質代謝の新たな接点、第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会総会 (熊本市市民会館) 2013. 5. 16(木)~18(土)

21. 煙山 (鈴木) 紀子、松坂賢、所司慶太、加藤淳子、唐ネ、久芳素子、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、石井清朗、中川嘉、嶋田昌子、矢作直也、鈴木浩明、山田信博、島野仁 : 脂肪酸伸長酵素 Elovl6 欠損マウスの摂食行動解析、第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会総会 (熊本市市民会館)

2013. 5. 16(木)~18(土)

22. 平安座依子、原茂子、児玉暁、謝勲東、羽入修、齋藤和美、山田信博、島野仁、荒瀬康司、曾根博仁 : 単身生活と未診断 2 型糖尿病に関する大規模検討 : Toranomon Hospital Health Management Center Study (TOPICS)、第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会総会 (熊本市市民会館)

2013. 5. 16(木)~18(土)

23. 西真貴子、矢作直也、武内謙憲、志鎌明人、石井清朗、松坂賢、中川嘉、升田紫、久保田みどり、泉田欣彦、飯塚陽子、山田信博、島野仁、門脇孝 : 脂肪組織における in vivo Ad-luc 構による fatty acid synthase のプロモーター解析、第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会総会 (熊本市市民会館) 2013. 5. 16(木)~18(土)

24. 久保田みどり、矢作直也、武内謙憲、松坂賢、中川嘉、西真貴子、泉田欣彦、飯塚陽子、山田信博、島野仁、門脇孝 : 脂肪細胞のインスリン抵抗性における p21 WAF1/CIP1 の関与の分子機構、第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会総会 (熊本市市民会館) 2013. 5. 16(木)~18(土)

25. 矢藤繁、志鎌明人、高木聡、岩崎仁、小林和人、矢作直也、鈴木浩明、須藤玲子、高木彩、木村かよ、杉本佳奈美、伊藤由実子、高橋弘文、岩部博子、鈴木康裕、横井麻加、大畑瞳、及川仁、島野仁 : 一般市民向け世界糖尿病デーイベントでの指先採血による HbA1c 測定と体組成測定の有用性に関する検討、第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会総会 (熊本市市民会館) 2013. 5. 16(木)~18(土)

26. 横尾友隆、渡邊和寿、飯田薫子、鈴木浩明、島野仁、菅原泉、石川三衛、川上正舒、山田信博、岡崎康司、豊島秀男 : 新規消化管ホルモン IBCAP による膵β細胞分化・増殖作用の解析、第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会総会 (熊本市市民会館) 2013. 5. 16(木)~18(土)

27. 升田紫、矢作直也、武内謙憲、西真貴子、久保田みどり、泉田欣彦、飯塚陽子、位高啓史、片岡一則、山田信博、島野仁、門脇孝 : 多価不飽和脂肪酸(PUFA)による SREBP-1 特異的な抑制機序の解明、第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会総会 (熊本市市民会館) 2013. 5. 16(木)~18(土)

28. 泉田欣彦、矢作直也、武内謙憲、山田哲也、西真貴子、升田紫、久保田みどり、志鎌明人、宝田亜矢子、高梨幹生、高瀬暁、岡崎佐智子、

飯塚陽子、岡崎啓明、塩田清二、位高啓史、片岡一則、新島旭、片岡秀樹、岡芳知、山田信博、島野仁、門脇孝：飢餓において神経が肝の貯蔵グリコーゲン減少を感知して脂肪酸系エネルギー利用を促す、第56回日本糖尿病学会年次学術集会総会（熊本市市民会館）2013.5.16(木)～18(土)

29. 中川嘉、佐藤葵、松坂賢、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、嶋田昌子、矢作直也、山田信博、鈴木浩明、島野仁：糖・脂質代謝調節におけるCREBH-PPAR α 相互作用の解明、第56回日本糖尿病学会年次学術集会総会（熊本市市民会館）2013.5.16(木)～18(土)

30. 松坂賢、渥美綾香、唐ネ、煙山紀子、久芳素子、中川嘉、嶋田昌子、小林和人、矢藤繁、高橋昭光、曾根博仁、矢作直也、鈴木浩明、中牟田誠、山田信博、島野仁：非アルコール性脂肪性肝炎における脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の役割、第56回日本糖尿病学会年次学術集会総会（熊本市市民会館）2013.5.16(木)～18(土)

31. 中川嘉、島野仁：糖・脂質代謝調節における絶食応答転写因子 CREBH の機能（シンポジウム）、第56回日本糖尿病学会年次学術集会総会（熊本市市民会館）2013.5.16(木)～18(土)

32. 島野仁：実験動物研究から見えてくる生活習慣病の基礎から治療・予防～脂質の質に視点を置いた新たな戦略～（市民公開講座）、第60回日本実験動物学会総会（つくば国際会議場）2013.5.15(水)～17(金)

33. 島野仁：脂質の質に視点を置いた生活習慣病治療戦略（ランチョンセミナー）、第86回日本内分泌学会学術総会（仙台青葉城本丸会館）2013.4.27(土)（会期：2013.4.25-2013.4.27）

34. 唐ネ、松坂賢、鈴木真璃衣、中野雄太、煙山（鈴木）紀子、久芳素子、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、石井清明、中川嘉、嶋田昌子、矢作直也、鈴木浩明、山田信博、島野仁：膵 β 細胞における脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の機能解析（一般

演題口演）第86回日本内分泌学会学術総会（仙台青葉城本丸会館）2013.4.26(金)（会期：2013.4.25-2013.4.27）

35. 豊島秀男、横尾友隆、鈴木浩明、島野仁、石川三衛、川上正舒、山田信博、岡崎康司：消化管ホルモン IBCAP による膵 β 細胞分化増殖に与える影響（一般演題ポスター）第86回日本内分泌学会学術総会（仙台青葉城本丸会館）2013.4.25(木)（会期：2013.4.25-2013.4.27）

36. 煙山（鈴木）紀子、松坂賢、所司慶太、加藤淳子、唐ネ、久芳素子、岩崎仁、小林和人、矢藤繁、石井清明、中川嘉、嶋田昌子、矢作直也、鈴木浩明、山田信博、島野仁：脂肪酸伸長酵素 Elovl6 欠損マウスはシヨ糖嗜好性が亢進する（一般演題口演）第86回日本内分泌学会学術総会（仙台青葉城本丸会館）2013.4.25(木)（会期：2013.4.25-2013.4.27）

37. Hitoshi Shimano：Journey for sightseeing energy metabolism from metabo to brain. The 1st Annual IIIS Symposium(Tsukuba International Congress Center) 2013.3.27(水)

38. 島野仁：リピッドサイエンスからみた動脈硬化性疾患予防の展望（教育講演）、日本動脈硬化学会 第13回動脈硬化教育フォーラム（国立京都国際会館）2013.2.3(日)

39. 古川祥子、矢藤繁、村山友樹、高木聡、渋谷正俊、岩崎仁、小林和人、高橋昭光、矢作直也、鈴木浩明、島野仁：膵頭十二指腸切除術後に脂肪肝の増悪を認めた膵性糖尿病・吸収不良症候群の一例、第50回日本糖尿病学会関東甲信越地方会（パシフィコ横浜）2013.1.26(土)

40. 戸塚久美子、岩部博子、藤原剛司、高橋弘文、浅見暁子、崎野美和、江口清、上野友之、加藤寿々恵、川村美幸、菊池裕美、染谷あゆみ、鈴木浩明、島野仁：多職種連携による嚥下訓練食改訂の取り組み、第16回日本病態栄養学会年次学術集会（国立京都会館）2013.1.12(土)-13(日)

41. 平安座依子、原茂子、謝勲東、齋藤和美、辻

裕之、児玉暁、荒瀬康司、島野 仁、山田信博、曾根博仁：糖尿病スクーリングスコアの開発とその後の発症リスク予測可能性の検討：TOPICS、第16回日本病態栄養学会年次学術集会（国立京都会館）2013.1.12(土)-13(日)

42. 平安座依子、原茂子、謝勲東、齋藤和美、辻裕之、児玉暁、荒瀬康司、島野 仁、山田信博、曾根博仁：飲酒パターンと2型糖尿病発症リスク-10年間の縦断調査：TOPICS、第16回日本病態栄養学会年次学術集会（国立京都会館）2013.1.12(土)-13(日)

43. 岩部博子、藤原剛司、高橋弘文、浅見暁子、

戸塚久美子、崎野美和、鈴木浩明、島野 仁、溝上裕士、正田純一：胃内バルーン留置術後の継続的な栄養指導の実施により肝機能および耐糖能改善を認めた一例、第16回日本病態栄養学会年次学術集会（国立京都会館）2013.1.12(土)-13(日)

H. 知的所有権の取得状況

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 林 登志雄（名古屋大学大学院医学系研究科老年科学）

研究要旨 1) 当科及び関連施設通院中の家族性高コレステロール血症(FH)患者の動脈硬化症進展度と遺伝子変異との関連を頸動脈エコー及び血流依存性血管拡張反応(FMD)にて検討した。2) 当該地区からの原発性高脂血症患者に対する病診連携状況について当科の例を解析した。3) 全国 40 病院にて施行している 2 型糖尿病患者 4014 名の前向きコホート研究にて 9 年経過時の成績を回収し虚血性心疾患(IHD), 脳血管障害(CVA)の危険因子を解析した。4) 同研究対象患者の高脂血症薬の作用及び作用機序を検討した。
目的・方法 FH患者の動脈硬化症と遺伝子変異. 当科及び関連施設にFHで通院している外来患者 80 名中 56 名に頸動脈エコー及びFMD及びLDL 遺伝子変異(主要 6 因子), PCSK9 蛋白質定量を行い, 関連血液成績等と比較した。2) 当該地区の原発性高脂血症患者に対する病診連携状況を当科対象に解析した。3) 前向きコホートとして登録した 4014 名(平均 67 歳)の 9 年経過時の IHD, CVA 及び三大合併症の危険因子を検討した。ケースコホート研究は 405 名のサブコホートにて 5.5 年時の IHD/CVA への高脂血症治療薬の効果を検討した。
結果 1) FH ヘテロ 80 名(平均 66 歳)を高年齢者/非高年齢者に分類し IHD/CVA 合併率を中心に, 各生活習慣病合併率, 脂質等の検査値等もみた。FMD は IMT や直近の脂質成績には比例せず, 閉経, 年齢, 一定期間の LDL 値及び遺伝子の関与が大きかった。2) 過去 3 年間に東海三県の大学, 公立病院小児科, 産婦人科より 20 件の相談を受け小児脂質異常症への関心が強かった。3) IHD, CVA, 死亡は各々 218, 138, 144 例認め, IHD は後期高年齢者で登録時 LDL-C が, CVA は全年代で登録時低 HDL-C が risk で, 年代により危険因子が異なっていた。ケースコホート研究ではスタチン無投薬群では IHD, CVA 共加齢にて発症率が上昇した。IHD でスタチン効果は不十分であったが CVA は服薬者の発症率が半減し, 直接作用の影響が強い傾向にあった。

A. 研究目的

1) 家族性高コレステロール血症(FH)患者の動脈硬化症検査 当研究班の尽力により家族性高コレステロール血症(FH) ホモ患者が特定疾患に認定された。ストロングスタチン等の強力な高脂血症薬により, 虚血性心疾患等のイベント発症年齢がFHにても高齢化している可能性が推測され, 原因遺伝子の影響も既報のように大きい可能性がある。当科及び関連施設のFH患者の動脈硬化症につき検討した。

2) 原発性高脂血症研究班班員名簿が難病 HP に掲載以来増加傾向にある当該地区の原発性高脂血症患者に対する当科との病診連携状況につき解析した。3) 前向きコホート研究として登録した 4014 名(平均 67 歳)の 9 年経過時の観察記録を調査し解析した。高脂血症治療薬の影響を検討した。糖尿病罹患は虚血性心疾患罹患年齢を 14 年早めるというカナダの大規模研究も踏まえ全国 40 病院にて施行するコホート研究の登録後 5.5 年間の動脈硬化性疾患合併例の高脂血症の関与, 高脂血症薬の効果の観点から検討した。

B&C. 研究方法と結果

方法) 1) FH 患者の動脈硬化症 当科及び関連施設にFHで通院する外来患者 80 名の内, 同意を得た

56 名に頸動脈エコー及び FMD(Flow mediate dilatation, 血流依存性血管拡張反応)を施行し, 遺伝子変異検査を含む血液検査成績と比較した。2) 過去 3 年間に東海三県の大学, 公立病院より 20 件の相談を認め解析した。3) 前向きコホート研究として 2 型糖尿病 4014 名(平均 67 歳, 1016 名が後期高年齢者)を登録, 5.5 年経過時の心血管及び三大合併症の危険因子を検討した。IHD, CVA は 218, 138 例発症し, 各々の危険因子を解析した。405 例のサブコホートコントロールをおきケースコホート研究にて, スタチン製剤の効果を検証した。4) ケースコホート研究として, 405 名のサブコホート患者と IHD/CVA 発症者 257 名にて高脂血症治療薬の影響を検討した。

結果) 主なものを記す

1) FH 患者の動脈硬化症

当科及び関連施設にFHで通院している外来患者 56 名の頸動脈エコー, FMD, 遺伝子変異検査を含む血液検査成績等との比較では, エコーでの動脈硬化(IMTmax), FMD 低下度とも遺伝子変異 LDL-R, 年齢, LDL-C 平均値が相関した。2) 過去 3 年間の紹介は小児科, 産婦人科より難病情報センターの HP をみて

20 件なされた。20 件は FH ヘテロ、前者と LPL 欠損症等、他の遺伝子異常との合併であり、班員の先生方に遺伝子検査等、御指導を頂いた。3) IHD, CVA は 218, 138 例発症し、IHD は後期高齢者で登録時 LDL-C が、CVA は全高齢者では低 HDL-C が risk で、年代により危険因子が異なっていた。4) ケースコホート研究で 5.5 年経過時の成績を、405 名のサブコホート患者と IHD/CVA 発症者 257 名(5.5 年観察時の成績)で高脂血症治療薬の影響を検討した。スタチン無投薬群では IHD, CVA 共加齢にて発症率が上昇した。IHD ではスタチン効果は不十分であったが CVA は服薬者の発症率が半減し、直接作用の影響が強い傾向にあった。

(倫理面への配慮)

いずれの研究も名古屋大学医学部倫理委員会で試験の妥当性を検討し承認をえた。

D&E. 考察と結論

考察) 1) FH ヘテロに対する検討では遺伝子変異と IHD/CVA/死亡発症年との関連は明らかにはならなかったが、FMD と IMT は直近の脂質成績には比例せず、遺伝子の関与が大きかった。LDL 受容体の遺伝子変異は動脈硬化進展の段階より影響し、IHD, CVA 発症率の差に繋がる可能性が示唆された。2) 原発性高脂血症研究班に対する関心は、小児科、産婦人科に広く及んでいる事が理解され、当研究班及び学会より報告された診断基準(案)等の一層の普及及び 2 次検査体制の確立が必要と示唆された。3) ADL の自立した後期高齢者 1000 名以上を含む 2 型糖尿病コホートにおいて、IHD は前期高齢者で登録時 LDL-C が、CVA は全高齢者に対し登録時低 HDL-C が risk で、年代により危険因子が異なっているととも所謂 Legend 効果が脂質にも認められる可能性が示唆された。IHD は 2, 5.5 年経過と異なり 9 年経過では後期高齢者に登録時 LDL-C 値がリスクである事を認め、CVA には 2 年では後期、5.5 年では前後期、そして 9 年では全患者に対して HDL-C が危険因子である事が理解され、少なくともこのコホートでは Legend 効果の判定は慎重にしたい。スタチン無投薬群では IHD, CVA 共加齢にて発症率が上昇した。IHD ではスタチン効果は不十分であったが LDL-C 低下量は平均 10mg/dl に留まっており、本研究開始時 2004 年に使用可能であった高脂血症薬に限られていた事、また本邦のガイドライン内容が糖尿病患者には十分ではなかった事を示唆するかもしれない。しかしながら

現況 (TG8mg/dl 低下、HDL-C5mg/dl 上昇) にて CVA は服薬者の発症率が半減し、同時に血糖コントロールも改善傾向に有る事等より、薬剤疫学的解析では直接作用の影響が強い傾向であったと判断した。糖尿病患者の半数以上が高齢者、1/4 以上が後期高齢者である事より当コホートでの解析は一定の意味を持つ者と推察されさらに詳細な解析を進めていくべきだと考えられた。

結論) 1) FH ヘテロ 80 名(平均 66 歳)の解析より動脈硬化進展に閉経、年齢、一定期間の LDL 値及び遺伝子の関与が大きい事が示された 2) 過去 3 年間に当科に紹介された原発性高脂血症では、小児科、産婦人科における小児脂質異常症への関心が高い事が理解され、検査、診断体制の一層の拡充が望まれた。3) 後期高齢者 1016 名を含む 2 型糖尿病患者 4014 名前向きコホート患者 9 年の観察で IHD, CVA, 死亡は各々 218, 138, 144 例を認め、IHD は後期高齢者で登録時 LDL-C が、CVA は全年代で登録時低 HDL-C が risk で、あり一定の legend 効果を認めた。更に、ケースコホート研究ではスタチン無投薬群では IHD, CVA 共加齢にて発症率が上昇した。IHD ではスタチン効果は不十分であったが CVA は服薬者の発症率が半減し、直接作用の影響が強い傾向にあった。

F. 健康危険情報

現在のところ認めていない。

G. 研究発表

(1) 論文発表

- 1: Hayashi T, Kotania H, Yamaguchi T, Taguchi K, Iida M, Ina K, Maeda M, Kuzuya M, Hattori Y, Ignarro L. J. Endothelial cellular senescence is inhibited by liver X receptor activation with an additional mechanism for its atheroprotection in diabetes. PNAS USA2014. 111 (in press)
- 2: Hayashi T, Araki A, Kawashima S, Sone H, Watanabe H, Ohru T, Yokote K, Takemoto M, Kubota K, Noda M, Noto H, Ina K, Nomura H; Japan CDM group. Metabolic predictors of ischemic heart disease and cerebrovascular attack in elderly diabetic individuals: difference in risk by age. Cardiovasc Diabetol. 2013 12:10. doi: 10.1186/1475-2840-12-10.
- 3: Ina K, Hayashi T, Araki A, Kawashima S, Sone H, Watanabe H, Ohru T, Yokote K, Takemoto M, Kubota K,

Noda M, Noto H, Ding QF, Zhang J, Yu ZY, Yoon BK, Nomura H, Kuzuya M; Japan CDM Group. Importance of high-density lipoprotein cholesterol levels in elderly diabetic individuals with type IIb dyslipidemia: A 2-year survey of cardiovascular events. *Geriatr Gerontol Int*. 2013 doi: 10.1111/ggi.12168.

4. Umegaki H, Hayashi T, Nomura H, Yanagawa M, Nonogaki Z, Nakshima H, Kuzuya M. Cognitive dysfunction: an emerging concept of a new diabetic complication in the elderly. *Geriatr Gerontol Int*. 2013;13:28-34.

【書籍】

Hayashi T. Interdisciplinary Concepts in Cardiovascular Health Volume 1 Primary Risk Factors: 2 Aging, 3Gender pp.25-52, Wakabayashi I. and Groschner K. eds. Springer. 2013

【総説】

1. 林 登志雄 高齢者の糖尿病 V.1. 大血管合併症 日本臨床 71:1999-2004:2013
2. 林 登志雄「アミノ酸機能のニューパラダイム」L-arginineとL-citrulline 生化学 2014:86 (印刷中)
3. 林 登志雄 エストロゲンと血管機 2014:39 (印刷中)
(2) 学会発表 (主なもののみ)

<国内>

第28回日本老年学会総会(老年医学会、同歯科医学会、同社会学会、同看護学会、同精神医学会、基礎老化学会、ケアマネジメント学会合同学会、隔年開催)6月大阪 最優秀演題候補優秀演題 林 登志雄 他、高脂血症薬の2型糖尿病患者心血管病合併予防効果について-非高齢者から後期高齢者までの年代別検討

一般演題①糖尿病性心血管病危険因子の検討:5.5年コホート研究より 林登志雄, 井藤英喜, 荒木厚, 大類孝, 横手幸太郎, 竹本稔, 伊奈孝一郎, 梅垣宏行, 野村秀樹

②閉経後高齢女性の骨粗鬆症におけるホルモン補充療法(HRT)後の選択的エストロゲン受容体調節薬(SERM)の効果 伊奈孝一郎, 林 登志雄

③高齢者におけるアンジオテンシン II 受容体拮抗薬(ARB)高用量投与効果の検討 伊奈孝一郎, 林 登志雄

④脂質制御の糖尿病性心血管病予防効果-コホート研究 5.5年の医療経済効果 林 登志雄, 伊奈孝一郎, 野村秀樹
⑤核内受容体と細胞老化-肝臓 X 受容体の作用を中心に- 林 登志雄, 伊奈孝一郎

第36回日本基礎老化学会一般演題

①後期高齢者テロメア長測定の意義について 飯田万由, 林 登志雄, 前田守彦, 伊奈孝一郎, 山口知恵

②Liver X 受容体アゴニストにより内皮細胞老化は抑制される. 林 登志雄, 山口知恵, 前田守彦, 伊奈孝一郎, 飯田万由

③食品成分(L-シトルリン及びL-アルギニン)投与が動脈硬化及び血管老化の進展抑制に及ぼす影響に関する研究. 山口知恵, 林 登志雄, 前田守彦, 伊奈孝一郎, 飯田万由

④高グルコース間歇刺激による血管内皮細胞の老化機序について 前田守彦, 林 登志雄, 山口知恵, 伊奈孝一郎, 飯田万由

第45回日本動脈硬化学会総会・学術集会 2013年7月19-20日東京 優秀演題 林 登志雄 他 血管内皮細胞老化は肝X受容体アゴニストにより制御される <海外>

#20th International Association of Gerontology and Geriatrics: World Congress June 23-27 Seoul Korea

① Japan Cholesterol and Diabetes Mellitus Study-New findings in late elderly. Hayashi T. Symposium: Necessity of specific treatment of life style related disease for elderly.

② Low HDL-Cholesterol is Associated With Risk of Ischemic heart disease and Stroke in Elderly Diabetic Individuals. Hayashi T. Symposium: Necessity of specific treatment of life style related disease for late elderly.

③ East Asian Research for Health and Longevity supported by JSPS. Hayashi T. Symposium: "HEALTH AND LONGEVITY OF EAST ASIAN ELDERLY FEMALE".

④ Medical economic analysis of elderly diabetic individuals. Hayashi T. Panel symposium: Elder Healthcare burden; Is there best way for medical cost saving?

#2013 49th Annual meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) Sep. 20-25 Balcerona. Spain

⑤ The effect of HMG-CoA reductase inhibitor of ischaemic heart disease and cerebrovascular attack in elderly diabetic individuals: difference in risk by age. Hayashi T., et al. *Diabetologia* 56 suppl 1 S

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（平成 25 年度）

原発性高脂血症に関する研究

研究代表者 石橋 俊 自治医科大学 教授
研究分担者 平田 健一 神戸大学大学院医学研究科 教授

研究要旨

高比重リポ蛋白(High density lipoprotein, HDL)は、動脈硬化性疾患の負の危険因子であり、新たな治療標的として注目されている。血管内皮リパーゼ(endothelial lipase, EL)は、血管内皮細胞などから産生・分泌されるリン脂質分解酵素で、主に HDL 中のリン脂質を分解することにより HDL 代謝を促進している。本研究では、ヒトにおいて血中の EL 蛋白濃度および活性の測定系を開発し、原発性低あるいは高 HDL 血症の診断の一助となる診断法の開発を行なうとともに、EL の血清 HDL-C 濃度に及ぼす作用を明らかにすることを旨とした。冠動脈疾患患者においては血中 EL 濃度・活性が HDL-C 濃度の規定因子であることが明らかとなった。とくに、炎症や急性心筋梗塞などの病態で EL 血中濃度が増加し、HDL-C 濃度を下げる要因となることが示唆された。また、スタチンは EL を抑制するとともに、コレステロール引抜き能や抗酸化能を保った HDL を上昇させた。その機序として、EL の抑制により HDL 粒子中のリン脂質の含有量が増加させることが関与しているものと考えられた。本研究により、EL はヒトにおいて血清 HDL-C 濃度の規定因子であり、とくに、炎症や急性心筋梗塞などの病態で EL 血中濃度が増加し、HDL-C 濃度低下の要因となることが示唆された。

研究目的

多くの疫学・観察研究から、高比重リポ蛋白(High density lipoprotein, HDL)が冠動脈疾患の負の危険因子であることが証明され、HDL 増加療法は動脈硬化性疾患の新規治療法として期待されている。しかし、HDL 産生・代謝は複雑であり、HDL 増加療法の適切な分子標的は未だに確立していない。また、非常に多くの分子が関与するために、低あるいは高 HDL 血症の原因を同定することは極めて困難である。

血管内皮リパーゼ(EL)は、血管内皮細胞をはじめとして多彩な細胞から産生・分泌されるホスホリパーゼ A1 分子である。EL は HDL 粒子と高い親和性をもって結合し、その表面のリン脂質を分解することにより HDL 代謝を促進している。その結果、EL は血清 HDL コレステロール(HDL-C)濃度の制御因子である^{1, 2}。

本研究では、EL と冠動脈疾患進展の関連性、急性心筋梗塞患者や炎症性疾患患者における EL や経時的変化、さらに HDL 変動における EL の役割を解明することを目的とする。これらの検討を通して、原発性高あ

るいは低 HDL 血症の原因分子としての EL の関与を明らかにするとともに、EL が冠動脈疾患の発症・進展においてどのような役割を演じているかを解明することを目指す。

研究方法

本研究は、神戸大学医学部附属病院において倫理委員会による承認のもとに、患者個人とインフォームドコンセントを得た上で行なわれた。循環器内科の入院患者から入院翌朝に空腹時採血を行い、血清を凍結保存した。対象患者を、冠動脈造影検査で 75%以上の有意狭窄ありと診断された冠動脈疾患群と、不整脈や心不全で入院された非冠動脈疾患群の 2 群に分けて、血清 EL 蛋白濃度、血清 EL 酵素活性、血清脂質等の比較検討を行った。

1) 血清 EL 蛋白濃度

血清 EL 蛋白濃度は、Sandwich ELISA (免疫生物研究所, 藤沢, 群馬)を用いて測定した³。定量化に必要な EL 標準蛋白は、ヒト EL を定常発現する CHO 細胞の培養上清を、抗 EL 抗体アフィニティーカラムを用いて精製した。

2) 血清 EL 酵素活性

血清中の EL 以外のリパーゼ分子の関与を除外し EL 特異的活性を測定するために、まず血清からヒト EL 抗体を用いた免疫沈降法にて血清中 EL を選択的に分離した。つぎに、免疫沈降物のホスホリパーゼ活性を、蛍光リン脂質 (Bis-BODIPY FL C11-PC, Invitrogen 社) を用いて、リン脂質分解活性として測定した。

3) 種々の病態における EL と HDL との関係

EL の発現は炎症性刺激により増加することから、血清 EL 濃度・活性と高感度 CRP との関係を検討した。また、急性心筋梗塞の発症後に低 HDL-C 血症が認められることが知られているが、急性心筋梗塞患者において発症から経時的に血清 EL 濃度・活性や血清脂質を検討した。さらに、食事摂取前後や糖負荷試験前後での EL 量変化と血清脂質への影響も検討した。

4) スタチンが EL と HDL に及ぼす影響

スタチンは血清 HDL-C 濃度を軽度ながら上昇させるが、その機序のひとつとして、EL の抑制を介していることが報告されている。そこで、スタチンの中でも HDL 上昇作用が比較的強いとされるピタバスタチンを 30 名の脂質異常症患者に投与し、血清脂質と EL 濃度を測定するとともに、ピタバスタチン投与前後の血清から分離した HDL 分画を用いて HDL の抗炎症作用を検討した。

研究結果

1) 血清 EL 蛋白濃度と血清脂質との関係

ヒト血清 EL 蛋白濃度を、ELISA 法を用いて検討したところ、ヒト EL 血中濃度は 319.9 ± 9.0 (32.3 ~ 1193.7) pg/mL で、正規分布せず分布曲線は左方へ変位していた。

1000 名以上の全患者における解析では、血清 EL 濃度と HDL-C 濃度との間に有意な相関は認められなかった。冠動脈疾患患者は、非冠動脈疾患患者と比較して HDL-C 濃度が低値で EL 濃度が高値であったため、冠動脈疾患患者のみで検討を行ったところ、EL 値と HDL-C 値に有意な逆相関関係を認めた。一方、血清 EL 濃度は LDL-C 濃度やトリグリセリド濃度と相関は認めなかった。

2) 血清中 EL 酵素活性と血清脂質との関係

血中 EL 活性は正規分布せず分布曲線は左方へ変位していた。血中 EL 活性と血清 HDL-C 値との関係を検討したところ、EL 活性は血清 HDL-C 値と有意な逆相関関係を示したが、血清 LDL-C 濃度や中性脂肪濃度とは関連がなかった。また、冠動脈疾患患者

は、非冠動脈疾患患者と比較して血清中の高感度 CRP 濃度が高値を示すとともに、血清 EL 活性が上昇しており、血清 HDL-C 値は低値であった。また、血清 EL 活性は高感度 CRP 濃度と有意な正相関を示した。また、血清 EL 活性は冠危険因子と正の相関を示した。ただし、EL 蛋白量と活性は有意な相関は示さず、これは血清中の EL には不活性型が多く含まれる可能性もあり、更なる検討が必要であると考えられた。

3) EL 濃度・活性の変化と血清脂質の関係

EL は患者間での濃度差が大きいいため、同一患者における EL 蛋白濃度変化が血清脂質にどのような影響を及ぼすのかを検討した。まず、急性心筋梗塞患者において来院時から経時的に HDL-C 値と EL 値を測定したところ、急性心筋梗塞発症後から高感度 CRP の増加に伴って EL 蛋白濃度と内因性の EL 阻害分子である Angpt13 濃度がともに増加した。Angpt13 濃度が発症 1 週間程度で減少に転じるのに対して EL 濃度は持続的に高値を示し、この時期に一致して血清 HDL-C 値が低下した。

また、肥満症例において、食事摂取によって RLP-TG 濃度の増加に伴って血清 EL 値が増加し、HDL-C 値は低下した。一方、EL 蛋白量や EL 活性は、血糖およびインスリン上昇による変化を受けなかった。

4) EL を介するスタチンの HDL 修飾作用

脂質異常患者に対してピタバスタチン 2mg を 1 ヶ月間投与したところ、血清 EL 蛋白濃度は約 15% 減少し、HDL-C 濃度は約 12% 増加した。次に、ピタバスタチン投与前後の HDL の抗炎症作用の変化を検討したところ、ピタバスタチン投与後に増加した HDL はコレステロール引抜き作用が増強しており、HDL 中の抗酸化酵素であるパラオキソナーゼ 1 (PON1) 活性が増加していた。ピタバスタチンによる血清 EL の抑制が HDL の量のみならず質の改善をもたらすことが明らかとなった。

考察

冠動脈疾患患者において血清 EL 濃度・活性が血清 HDL-C 値と逆相関を示したことから、ヒトにおいて EL mass は HDL-C 濃度の規定因子であることが確認された。しかし、EL 蛋白濃度が約 30 ~ 1200 pg/mL の変動であるのに対して、HDL-C の変動は約 30 ~ 100 mg/dL の変動であったことを考えると、血中の EL 蛋白には不活性型が含まれている可能性が示唆される。一方、血清 EL 活性は、

約 1.5 ～3.5 Unit の変動であることを考えると、活性の方がより鋭敏に血清 HDL-C 濃度を反映することが示唆された。しかし、本研究で用いた EL 活性測定法は、免疫沈降に多量の抗体を必要とし手順も複雑で汎用性に欠ける。今後、より簡便で信頼性の高い EL 活性の測定法の開発が望まれる。これらの検査法の臨床応用により原発性低あるいは高 HDL 血症の原因診断に役立つことが期待される。

血清 HDL-C 濃度は、遺伝的要因と環境的要因がそれぞれ 50%程度関与すると報告されている。本研究の全患者群においては、EL 蛋白濃度と HDL に相関が見られなかったことから、EL の血清 HDL-C 濃度の基礎値への寄与は少なく、CETP や apoA-I 等の HDL 関連蛋白の影響が大きいものと考えられる⁵。しかし、急性心筋梗塞や炎症の病態や食後では、EL の血中濃度が増加し、血清 HDL-C 濃度が減少する。すなわち、炎症や食後における EL 濃度・活性の変動は個々の患者における HDL-C 濃度に影響を与えることが推察された。EL は炎症等の病態でその発現が著明に亢進することから、遺伝子要因のみならず環境的要因として血清 HDL-C 濃度を制御する可能性がある。換言すれば、慢性炎症等に伴う低 HDL-C 血症を呈する患者には EL を阻害することにより血清 HDL-C 濃度を上昇させることが示唆された。

本研究では、ピタバスタチンが EL を抑制するとともに、コレステロール引抜き能や抗酸化能を保った HDL を上昇させることが証明された。コレステロール引抜き能は HDL リン脂質含有量に依存すると報告されていることから、スタチンが EL の抑制により HDL 粒子中のリン脂質の含有量を増加させ、HDL の機能を保持させる機序が示唆された。EL の抑制によりリン脂質に富み抗炎症作用を有した HDL 粒子が増加することは、将来 EL 阻害薬が開発されればその有効性を示唆するものと考えられる。

結論

血中 EL 濃度・活性は、冠動脈疾患患者の血清 HDL-C 濃度の規定因子である。とくに、炎症や急性心筋梗塞などの病態で EL 血中濃度が増加し、HDL-C 濃度低下の要因となることが示唆された。

研究発表

1. 論文発表

- 1) Sun L, Ishida T, Miyashita K, Kinoshita N, Mori K, Yasuda T, Toh R, Nakajima K, Imamura S, Hirata K. Plasma activity of endothelial lipase impacts high-density lipoprotein metabolism and coronary risk factors in humans. *J Atheroscler Thromb. In press.*
- 2) Sasaki-Miyamoto M, Yasuda T, Monguchi T, Nakajima H, Mori K, Toh R, Ishida T, Hirata K. Pitavastatin increases HDL particles functionally-preserved with cholesterol efflux capacity and anti-oxidative action in dyslipidemia patients. *J Atheroscler Thromb. 2013; 20: 708-16.*
- 3) Nakajima H, Ishida T, Satomi-Kobayashi S, Mori K, Hara T, Sasaki N, Yasuda T, Toh R, Tanaka H, Kawai H, Hirata K. Endothelial Lipase Modulates Pressure Overload-Induced Heart Failure Through Alternative Pathway for Fatty Acid Uptake. *Hypertension. 2013; 61: 1002-7.*

2. 学会発表

- 1) Ishida T, Hirata K. Role of endothelial lipase in high-density lipoprotein (HDL) metabolism in humans. The 81st Congress of the European Atherosclerosis Society (EAS 2013), Lyon, France.
- 2) Mori K, Ishida T, Miyashita K, Kinoshita N, Nakajima H, Yasuda T, Toh R, Kawata M, Sakamoto S, Nakajima K, Hirata K. Increases of Serum Mass of Endothelial Lipase Impact Plasma High-Density Lipoprotein-Cholesterol Concentrations in Acute Myocardial Infarction. The 81st Congress of the European Atherosclerosis Society (EAS 2013), Lyon, France.
- 3) Ishida T. Endothelial Lipase would be a molecular target for HDL-raising therapy. 2013 Workshop on Innovation and Pioneering Technology (WINPTECH) 2013.

知的財産権の出願・登録状況

無し。

Reference

- [1] Badellino, KO, Wolfe, ML, Reilly, MP, et al., Endothelial lipase concentrations are increased in metabolic syndrome and associated with coronary atherosclerosis, *PLoS Med*, 2006;3:e22.
- [2] Ishida, T, Choi, S, Kundu, RK, et al., Endothelial lipase is a major determinant of HDL level, *J Clin Invest*, 2003;111:347-355.
- [3] Ishida, T, Miyashita, K, Shimizu, M, et al., ELISA system for human endothelial lipase, *Clin Chem*, 2012;58:1656-1664.
- [4] Khera, AV, Cuchel, M, de la Llera-Moya, M, et al., Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis, *N Engl J Med*, 2011;364:127-135.
- [5] Takeuchi, F, Isono, M, Katsuya, T, et al., Association of genetic variants influencing lipid levels with coronary artery disease in Japanese individuals, *PLoS One*, 2012;7:e46385.

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患等克服研究事業)

分担研究報告書

アポ蛋白 C-II 低下症の分子機構の解明

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

共同研究者 高瀬 暁、岡崎 啓明 東京大学医学部附属病院糖尿病・代謝内科

研究要旨 アポ蛋白 C-II 低下症を呈する日本人患者の遺伝子解析を行った結果、アポ蛋白 C-II 遺伝子の mRNA への転写が低下している一方、アポ蛋白 C-II 遺伝子自体にはその低下を説明する変異や多型は認めず、アポ蛋白 C-II レベルに trans に働く別個の遺伝子の存在が示唆された。

A. 研究目的

リポ蛋白リパーゼ (LPL) の補因子であるアポ蛋白 C-II を先天的に欠損する家族性アポ蛋白 C-II 欠損症は高トリグリセリド (TG) 血症を主徴とする非常に稀な常染色体劣性遺伝性疾患である。多くの症例では蛋白をコードする領域に変異が認められるが、いくつかの症例ではプロモーター領域の変異や mRNA スプライシング変異により血中で検出可能ではあるが著減したアポ蛋白 C-II を認めることが報告されている。このような“アポ蛋白 C-II 低下症”の原因となる分子機構を探る目的で、日本人のアポ蛋白 C-II 低下症患者の遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

発端者は I 型高脂血症を呈し頻回に急性膵炎を繰り返す 47 歳の男性であり、血中総コレステロール値は 385mg/dl であるのに対し、血中 TG 値は 3235mg/dl に達した。家族歴の一部に近親結婚歴を認め、血中アポ蛋白 C-II 濃度は 0.6mg/dl と著減を認めた。

遺伝子解析は被験者の書面による同意と東京大学のヒトゲノム遺伝子解析研究倫理委員会による承認のもと行われた。

C. 研究結果

患者の末梢血単球由来マクロファージを培養し解析することにより、患者では従来の報告同様にアポ蛋白 C-II 遺伝子の mRNA への転写が低下していることを確認した。同様な結果は、患者アポ蛋白 C-II 遺伝子を内包するミニ遺伝子を用いたリポーターアッセイにおいても確認された。しかしながら、患者のアポ蛋白 C-II 遺伝子全長の塩基配列を解析した結果、50 個の単一遺伝子多型を検出したが、アポ蛋白 C-II mRNA の転写レベルでの低下を説明するような遺伝子変異・多型はまったく検出されなかった。

D. 考察

アポ蛋白 C-II 低下症の原因として、既報にあるようなアポ蛋白 C-II 遺伝子のプロモーター領域の変異や mRNA スプライシング変異以外に、アポ蛋白 C-II レベルに trans に働く別個

の遺伝子の異常が関与する可能性が初めて示された。

E. 結論

日本人のアポ蛋白 C-II 低下症例の遺伝子解析を通じて、アポ蛋白 C-II レベルに trans に働く新規遺伝子の存在が初めて示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Takase S, Osuga JI, Fujita H, Hara K, Sekiya M, Igarashi M, Takanashi M, Takeuchi Y, Izumida Y, Ohta K, Kumagai M, Nishi M, Kubota M, Masuda Y, Taira Y, Okazaki S, Iizuka Y, Yahagi N, Ohashi K, Yoshida H, Yanai H, Tada N, Gotoda T, Ishibashi S, Kadowaki T, & Okazaki H: Apolipoprotein C-II deficiency with no rare variant in the APOC2 gene.

J Atheroscler Thromb 20:481-493, 2013.

Yamamoto T, Izumi-Yamamoto K, Iizuka Y, Shirota M, Nagase M, Fujita T, & Gotoda T: A novel link between Slc22a18 and fat accumulation revealed by a mutation in the spontaneously hypertensive rat.

Biochem Biophys Res Commun 440:521-526, 2013

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)。

3. 特許取得

なし

1. 実用新案登録

なし

2. その他

なし