

201324014B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業

原発性高脂血症に関する調査研究

平成 25 年度 総合研究報告書

研究代表者 石橋 俊

平成 26 (2014) 年 3 月

目 次

I. 総合研究報告	
原発性高脂血症に関する調査研究	1
石橋 俊	
II. 分担研究報告	
1. 急性冠症候群例のアキレス腱肥厚について	14
及川 眞一	
2. 日本人における高度高中性脂肪血症（膵炎合併例を含む）の原因検索 —高頻度みられるアポ蛋白 A-V G185C 変異の意味—	27
白井 厚治	
3. 原発性高脂血症に関する調査研究	32
代田 浩之	
4. 「アポ蛋白 B-48 濃度測定と動脈硬化リスク評価の有効性」	48
山下 静也	
5. 小児期の脂質異常及び脂質異常症と動脈硬化進展について	59
太田 孝男	
6. 家族性 LCAT 欠損症における腎不全惹起性リポ蛋白の解明と本症を対象と した遺伝子治療による酵素補充療法の開発	62
武城 英明	
7. 家族性高コレステロール血症及び低 HDL コレステロール血症に関する研究	68
荒井 秀典	
8. 家族性高コレステロール血症 (FH) と高トリグリセライド血症 LDL 受容体および Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type9 (PCSK9) 変異に 関する研究	83
野原 淳	
9. 原発性高脂血症に関する調査研究	90
島野 仁	
10. 原発性高脂血症に関する調査研究	105
林 登志男	
11. 原発性高脂血症に関する研究	111
平田 健一	
12. I 型および V 型高脂血症に関する遺伝学および疫学的検討	116
後藤田 貴也	
13. 家族性高コレステロール血症の病態についての調査と研究	120
斯波 真理子	
14. 原発性高脂血症に関する調査研究	142
大須賀 淳一	
15. 原発性高脂血症に関する調査研究	147
石垣 泰	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	154
IV. 研究成果の刊行物・別刷	161

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括総合研究報告書

原発性高脂血症に関する調査研究

研究代表者 石橋 俊 自治医科大学内分泌代謝科 教授

研究要旨

家族性高コレステロール血症（FH）、HDL代謝異常、高カイロミクロン血症、原発性高脂血症の診断・予後に関与する臨床指標を中心に班研究を行った。

FH ホモ接合体の我が国初めての全国調査を施行し、治療実態を明らかにすることが出来た。FH ヘテロ接合体の黄色腫より頻度、程度ともに高く、動脈硬化性疾患の合併率も極めて高かった。急性冠症候群発症患者においてアキレス腱肥厚を有する患者は11.6-18.5%と多く認められ、FHを合併している可能性がある。しかし、ACS後はLDL-Cが低下していることからFHと診断することは困難なことが多い。高齢のFHヘテロ接合体の解析で、動脈硬化進展に閉経、年齢、一定期間のLDL値及び遺伝子が関与していた。FHヘテロ接合体児はnon-FH児より肥厚しているため、小児期のFHではIMT等を利用して動脈硬化の進展を見ながら治療管理を行うことが推奨される。FHホモ接合体に対するLDLアフェレシスは、凝固因子、血栓促進因子、炎症関連因子など除去する優れた治療法であるが、F他の治療法も開発していく必要がある。また、冠動脈疾患のハイリスクであるFHの認知度はあまり高くないので、さらなる啓発活動が必要である。

LCAT欠損症は低HDL-C血症を呈する希少疾患であるが、表現型により腎予後が異なる。LCAT欠損症に対する本遺伝子細胞治療臨床研究が承認されたことで、家族性LCAT欠損症を対象とした遺伝子治療臨床研究の実施が可能となった。血中内皮リパーゼ（EL）濃度・活性測定法を確立した。ELは冠動脈疾患患者の血清HDL-C濃度の規定因子であることが示唆された。

高度高トリグリセリド血症例において、アポAVG185C変異が主要な要因である可能性が示唆された。また、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。未解明の症例も多く、遺伝子座の広範なresequencingにより成因解明が進むことが期待される。

アポ蛋白B-48/トリグリセリド比は、家族性Ⅲ型高脂血症患者でのみ有意な高値を示しており、投薬後でもその有意差は維持されていたので診断的価値が高い。また、アポ蛋白B-48は冠動脈疾患と相関しており、原発性高脂血症の診断・予後に関与する臨床指標として有用である。脂質異常を有さない健常者における空腹時アポB-48濃度の基準値上限は5.7 $\mu\text{g/mL}$ （基準範囲;0.74-5.65 $\mu\text{g/mL}$ ）であった。

分担研究者

及川 眞一 日本医科大学内科学講座
教授

白井 厚治 東邦大学医学部附属佐倉病院
内科学講座 教授

代田 浩之 順天堂大学医学部循環器内科学講座 教授

山下 静也 大阪大学大学院医学系研究科
准教授

太田 孝男 琉球大学医学部育成医学
教授

武城 英明 千葉大学大学院医学部研究院
教授

荒井 秀典 京都大学大学院医学研究科
教授

野原 淳 金沢大学大学院医学系研究科
特任教授

島野 仁 筑波大学大学院人間総合科学
研究科 教授

林 登志雄 名古屋大学医学部付属病院
老年内科 教授

平田 健一 神戸大学大学院医学研究科
教授

後藤田貴也 東京大学大学院医学系研究科
准教授

斯波真理子 国立循環器病研究センター
バイオサイエンス部 室長

大須賀淳一 自治医科大学内科学講座
准教授

石垣 泰 東北大学大学院医学系研究科
准教授

A. 研究目的

原発性高脂血症の新しい原因遺伝子が同定され、血清脂質値を規定する SNPs に関する知見も大きく進歩しているが、わが国における実態は不明な点が多い。また、それら遺伝子診断を勘案した予後調査も不十分である。また、診断や予後予測に用いる検査指標の適正化が必ずしも十分でない。これらの知見がなければ、有効な薬物療法の種類や開始時期についての診療ガイドラインの作成は困難である。また、希少な遺伝性脂質代謝異常症については、本邦における頻度や治療実態が不明瞭である。

本研究では、家族性高コレステロール血症 (FH)、HDL 代謝異常、原発性 I 型・V 型高脂血症、III 型高脂血症の診断・予後に関与する臨床指標を中心に研究を行うとともに、予後調査を行い、それらのデータに基づいた診療ガイドラインの改訂を目指す。

B. 研究方法

1. 家族性高コレステロール血症 (FH)

1.1. 家族性高コレステロール血症の診断基準

多施設共同研究で、脂質異常症患者 1397 例を対象とし、年齢、性別、治療開始前 LDL コレステロール値、アキレス腱肥厚の有無、2 親等以内の家族性高コレステロール血症または早発性冠動脈疾患の家族歴、LDL 受容体、PCSK9 等の遺伝子変異の有無、リンパ球 LDL 受容体活性を調査した。

1.2. FH ホモ接合体特定疾患認定患者実態調査

FH ホモ接合体で、特定疾患に認定されている患者約 120 名を対象とした。特定疾患

認定の際に厚生労働省に提出された臨床調査個人票のデータをもとに FH ホモ接合体の病態と治療の実態を解析した。また、LDL アフェレシスを施行している症例で、LDL 吸着カラムにより吸着・除去される物質についてプロテオームの技術を用いて網羅的に解析した。

1.3. 急性冠症候群におけるアキレス腱肥厚

新規に急性冠症候群を発症し集中治療室に入室した症例のうち、インフォームドコンセントの得られた 181 症例を対象とした。病歴と家族歴の聴取、皮膚黄色腫やアキレス腱肥厚の有無を確認し、アキレス腱軟部 X 線単純撮影によりアキレス腱厚を測定した。これらは盲目的に 2 名の医師が測定を行った。

1.4. 急性冠症候群における FH ヘテロ接合体の有病率

急性冠症候群を発症した患者（連続症例）に文書による同意取得後、両側アキレス腱厚をアキレス腱軟部 X 線単純撮影により測定。①未治療時 LDL-C 値 180 mg/dL 以上、②腱黄色腫あるいは皮膚結節性黄色腫、③ FH あるいは早発性冠動脈疾患の家族歴（2 親等以内）の 2 項目以上を満たす場合に家族性高コレステロール血症と診断し、有病率および特徴を検討する。多施設調査で 1,000 例を目標とする。

1.5. FH の脂質代謝

家族性高コレステロール血症ではない 140 例の血漿 PCSK9 値と総コレステロール値の相関を調べた。また、302 名の一般健

診受診者の総コレステロール値を 4 群に分け、PCSK9 の R93C 変異と W428X 変異の出現頻度を調べた。

また、北陸地方でもっとも高頻度な FH の原因である LDL 受容体 K790X 変異を持つ FH において家族性複合型高脂血症の遺伝的背景とされる USF1 遺伝子の解析を行い臨床像について検討した。また安定同位体を用いたアポ B の kinetic study を行った。

1.6. ハイリスク家族性高コレステロール血症症例の抽出方法

冠動脈疾患未発症でデータが揃っている 109 例について、LDL-C 値およびアキレス腱厚の 3 分位による冠動脈疾患リスクを計算し、家族性高コレステロール血症の中でもより高い冠動脈疾患リスクを有する群の抽出を行った。

1.7. FH ヘテロ接合体の冠動脈狭窄と血管弾性特性

冠動脈疾患の関連症状のない FH ヘテロ接合体患者 31 例を対象とした。冠動脈 CT と CAVI を行い、冠動脈 CT で 50%以上の狭窄をありとした。

1.8. FH における頸動脈硬化の特徴

FH40 名と年齢をマッチさせた糖尿病 46 名、検診受診健常者 35 名を対象に位相差トランキング法で測定した頸動脈性状、また他の動脈硬化指標を比較検討した。

1.9. 高齢者 FH の動脈硬化

FH 外来患者 38 名で頸動脈エコー及び FMD (Flow mediate dilatation, 血流依存性血管拡張反応) を施行し、関連血液成績等と比較した。

1.10. 小児 FH の動脈硬化

生活習慣病予防検診で高 LDL-C 血症 (LDL-C ≥ 140 mg/dL) を呈し、頸動脈 IMT 測定の協力が得られた児 16 名及び FH ヘテロ接合体 4 名 (9~12 歳) と別施設でフォローされている FH (compound hetero 1 名、ヘテロ 1 名 17 歳) を対象とし、頸動脈の max IMT を測定した。

2. HDL 代謝異常

2.1. LCAT 欠損症の病態解析

健常人と LCAT 異常を持ちながら腎機能障害を合併しない魚眼病 (FED) 症例とを対照として、家族性 LCAT 欠損症 (FLD) の腎機能障害合併症例のリポ蛋白をゲル濾過法で比較した。また、同じ変異を持ちながら腎不全を発症した症例と未発症の症例、また、脂肪制限食による食事療法により腎機能の改善が見られた症例において同様に解析した。

2.2. 血管内皮リパーゼと HDL 代謝

冠動脈疾患群と非冠動脈疾患群において ELISA 法による血清血管内皮リパーゼ (EL) 濃度を測定し、他の臨床指標と比較検討した。

2.3. Isolated hypo- \cdot -lipoprotein emia の日本における頻度

西暦 2000 年日本人の血清脂質調査の結果を用いて、20 歳から 79 歳までの男女 11715 例 (男性 7088 例、女性 4627 例) で脂質低下薬を服用していない参加者を解析した。Isolated hypo- \cdot -lipoproteinemia の診断基準は Huxley らの論文の基準と日本の診断基準を用いた。

3. I 型および V 型高脂血症

3.1. 妊娠と高度高トリグリセリド血症

妊娠時高度高トリグリセリド血症を認めた 6 例 (妊娠群) と、非妊娠時に高度高トリグリセリド血症を呈した 50 例 (対照群) を対象として、血清トリグリセリド代謝に関わる要因について、肥満、2 型糖尿病、アポ蛋白 E isoform の異常、血清リポ蛋白リパーゼ (LPL) 蛋白量、遺伝子解析、アポ蛋白 A-V (アポ A-V) について検討した。

3.2. 高度高トリグリセリド血症とアポ A-V

急性膵炎を起こした例も含む高度高中性脂肪血症例の症例 104 例について、アポ A-V 遺伝子 G185C 保有を中心に、分析を行った。対照として、血清 TG 値 150 mg/dL 以下例での頻度も検討した。

3.3. LPL 欠損症の病態解析

トリグリセリド値が 500 mg/dL 以上の症例を対象とし、ヘパリン静注後の血漿 LPL 蛋白量と活性を測定した。低値を示す症例に関して、それぞれの遺伝子の変異の有無について検索した。

3.4. アポ蛋白 C-II (アポ C-II) 低下症の病態解析

I 型高脂血症を呈し頻回に急性膵炎を繰り返す 47 歳の症例を検査したところ、著明な高 TG 血症 (3235 mg/dL) を呈した。血中アポ C-II 濃度は 0.6 mg/dL と著減していたため遺伝子解析を行った。

3.5. I 型および V 型高脂血症調査に関する基礎検討

自験例を含めた日本人の I 型と V 型高脂

血症患者に関する報告文献を整理して、それらの特徴や頻度に関する考察を加える。

4. 原発性高脂血症の診断・予後に関する臨床指標

4.1. 家族性Ⅲ型高脂血症の診断

既に診断のついた投薬治療中の各種高脂血症患者（Ⅰ～Ⅴ型）及び高脂血症のない患者を集積し、空腹時採血を行い、血清脂質およびアポ蛋白測定し比較検討した（Ⅰ型6名、Ⅱa型62名、Ⅱb型66名、Ⅲ型12名、Ⅳ型22名、Ⅴ型23名、正常群25名）。

4.2. 血清アポリポ蛋白 B-48 (アポ B-48) 濃度と虚血性心疾患罹患率の相関

脂質異常症治療薬内服のない患者 189 症例のうち、冠動脈造影検査にて 75%以上の狭窄を 1ヶ所以上有する冠動脈疾患群（96例）および年齢性別 BMI を一致させた非冠動脈疾患群 67 例で空腹時アポ B-48 値および糖質・脂質代謝に影響する血液マーカーについて測定を行い解析した。

4.3. アポ B-48 測定の基準値の設定と臨床評価

カイロミクロンレムナントの健常者におけるスクリーニングを目指し検診例で空腹時アポ B-48 濃度を検討した。

4.4. MDA-LDL と冠動脈病変

2型糖尿病の入院患者で、IMT 肥厚例、心電図異常例、運動負荷心電図にて陽性所見から無症候性心筋虚血が疑われ、CCTA を施行した症例のうち、MDA-LDL を含む脂質値を測定した 37 例について検討を行った。

CCTA において 50%以上の狭窄病変を冠動

脈病変とした。

（倫理面への配慮）

本研究の対象者には、臨床研究に関する倫理指針および疫学研究に関する倫理指針に則って、共通の患者説明書および同意書を作成し、各施設の倫理委員会で承認を得た後、原発性高脂血症の実態調査および治療状況調査を行う。

ヒトゲノム・遺伝子解析は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守し、主任および分担研究者所属各施設の倫理委員会で承認された遺伝子解析実施方法に沿って進める。

C&D. 研究結果と考察

1. 家族性高コレステロール血症 (FH)

1.1. 家族性高コレステロール血症の診断基準

家族性高コレステロール血症でアキレス腱肥厚を認めるのは約65%であった。85%の家族性高コレステロール血症に2親等以内の家族性高コレステロール血症の家族歴があった。LDL-Cの基準として190 mg/dLに比べ、180 mg/dLを用いたほうが、感度に優れ、特異度に差がなかった。また、LDL-Cが250 mg/dL以上の患者は高脂血症外来通院患者においても5%ときわめて少ないことから、LDL-Cが250 mg/dL以上の場合にはそれだけで家族性高コレステロール血症を強く疑うことができると考えられた。

1.2. FHホモ接合体特定疾患認定患者実態調査

特定疾患に認定されているFHホモ接合体

130例（男性65人、女性65人、年齢 51 ± 15歳）のデータについて、解析を行った。65%に皮膚黄色腫、78%に腱黄色腫を認め、初診時アキレス腱肥厚は平均21.9 mmであり、FHヘテロ接合体において認められる黄色腫よりも頻度、程度ともに高いことが示された。34%に弁疾患、65.3%に冠動脈疾患の合併を認め、9.2%に大動脈瘤を合併することから、動脈硬化性疾患の合併率も、極めて高いことが改めて示された。未治療時のLDL-C値の平均が450 mg/dL、薬物治療時は222 mg/dLであり、薬物のみでは十分な効果が得られていない。LDLアフェレシス治療中の患者においては、治療前LDL-C値は212 ± 108 mg/dL、治療後は52 ± 30 mg/dLであり、LDL-C値は積分平均すればまだ高値であり、治療が十分ではない可能性が示唆された。また、抗凝固剤、抗血小板剤なども併用されており、イベントの抑制効果に寄与していると考えられた。

また、プロテオーム解析の結果、LDL吸着カラムより溶出されたタンパク質は、フィブリノーゲン、アンチスロンビンⅢ、ハプトグロビンなどの凝固因子、β2グリコプロテイン、フィブロネクチン、キニノーゲンなどの血栓促進因子、ApoCⅢ、α1acid glycoproteinなどの炎症性関連因子、vitronectinなどのadhesion moleculeなど、多くの種類のタンパク質が同定された。凝固因子、血栓促進因子、演奏制関連因子などの多くの種類のタンパク質が除去されることが予後改善に役立っている可能性がある。

1.3. 急性冠症候群におけるアキレス腱

肥厚

集中治療室に入室したACSの患者181例（男性142例、女性39例）に対する検討ではアキレス腱レントゲン撮影にて確実にアキレス腱肥厚あり（アキレス腱厚 \geq 9 mm）と診断された患者は20例（男性18例、女性2例）で、全体の11.6%であり、FHヘテロの頻度0.2%に比し高頻度であった。また、アキレス腱レントゲン撮影で肥厚を認めた14例の入室時の血清脂質の中央値は総コレステロール値 184 mg/dL、HDL-C 42 mg/dL、TG 134 mg/dL、LDL-C（直接法）121 mg/dLであり高値とは考えられなかった。また、FH全例が腱肥厚を示すものでは無いので、FHが強く疑われたもののレントゲン上腱肥厚が認められず、FHと診断できない症例もあった。家族歴がCHDの独立した危険因子であることはよく知られているが、その原因は明らかとはなっておらず、FHの存在がCHD家族歴の原因の一部を占めている可能性が考えられる。また、ACSにおけるアキレス腱肥厚例がFHであるとの確診は得られず、FH診断をどのように行うかは今後の課題である。

1.4. 急性冠症候群におけるFHヘテロ接合体の有病率

調査対象は254例（男203例、女51例）で、アキレス腱厚9 mm以上の症例は47名（18.5%）、ヘテロ接合体FHの診断基準を満たす患者は13名（5.1%）であった。平均年齢は58歳、FHを診断されている患者は0名、約60%で早発性冠動脈疾患の家族歴を認める。8名は未治療で、平均LDL-C値は170 mg/dL、アキレス腱厚は10.0 mmと対照群と比較して

有意に高値を示した。冠動脈病変では左前下行枝（LAD）の1枝病変が多かったが、ACSの病型と院内予後に関しては両群で差がなかった。

ACSを発症した症例におけるヘテロ接合体FHの合併率は一般人口に比較して非常に高率であるが、全例でACS発症前に診断がされずに放置されている症例が多い。ACSの病型と院内予後は対照群と同様であるがLADの1枝病変が多く、突然死など院外予後は不良である可能性も示唆される。

1.5. FHの脂質代謝

血漿PCSK9値と総コレステロール値は正相関を示し、PCSK9のR93C変異は機能低下を示すことが示唆された。更に、一般健診集団では総コレステロール値の第1四分位、第2四分位、第3四分位、第4四分位でPCSK9のR93C変異のキャリアを調べたところ総コレステロール低値群で出現頻度がより高かった。

家族性高コレステロール血症にPCSK9 R93C変異を合併すると、LDL-Cの増加が軽減するので、PCSK9の阻害はLDL-C低下の治療として有用と期待できる。

また、家族性複合型高脂血症の遺伝的背景とされるUSF1遺伝子変異を併せ持つFHはトリグリセライド（TG）が有意に高値であった。またFHホモ接合体に類似する臨床像のARH症例では、kinetic studyでLDLおよびVLDLのFCRは低下しているが、VLDLレムナント異化は何らかの機序によりむしろ亢進しており、脂肪負荷試験でもARHのレムナント代謝はヘテロFHより良好であった。LDLR遺

伝子変異ホモ接合体ではVLDL産生増加があるとされており、FHの原因遺伝子であるPCSK9機能亢進型変異のkinetic studyでは同様にVLDL産生増加がみとめられた。LDLに影響する遺伝子はVLDL代謝にも少なからず影響しており、これら代謝メカニズム解明が創薬にも役立つ可能性がある。

1.6. ハイリスク家族性高コレステロール血症症例の抽出方法

冠動脈疾患を起こした群は高齢で、アキレス腱が厚く、角膜輪を有する例が多く、未治療時の総コレステロール値、LDL-C値が高値、喫煙の習慣のある例が多く、高血圧の頻度が高値であり、従来との一致を見た。ただし、未治療時LDL-C値が260 mg/dL以上、あるいはアキレス腱厚が14.5 mm以上の例ではリスクが極端に高いことが示されたので、より積極的に脂質低下治療を行う必要がある症例の抽出が可能になった。

1.7. FHヘテロ接合体の冠動脈狭窄と血管弾性特性

冠動脈狭窄病変は 22.6%に認めた。Mean IMTは、 0.8 ± 0.2 mm、プラークスコアは 4.5 ± 4.7 、CAVIは 8.8 ± 1.2 。狭窄有群と、無群を比較すると、男性/女性、LDL-C、糖尿病の頻度、mean IMT、max IMT、プラークスコアは、狭窄有群で有意に高値であったが、CAVIには差を認めなかった。血管弾性能は、FHヘテロ接合体では亢進が認められず、硬化病変形成が糖尿病などと異なる可能性がある。

1.8. FHにおける頸動脈硬化の特徴

位相差トラッキング法で評価した頸動脈

測定値はFHで39.9 kPa、糖尿病で54.6 kPa、健常者で28.0 kPaであった。測定値150 kPa以上のいわゆる「硬い」部分の血管壁に存在する割合を定量した。糖尿病の頸動脈では総計測点の1.20%が150 kPaを上回っていたのに対して、FHではその割合は0.54%と低値であった。糖尿病の頸動脈内中膜は膠原繊維が豊かである一方FHの頸動脈には脂質成分が多く沈着しているものと推察された。

1.9. 高齢者FHの動脈硬化

FMDは0.5～12.0%の間で変動し、IMTや直近の脂質成績には比例せず、閉経、年齢及び一定期間のLDLコントロールの関与が示唆された。

1.10. 小児FHの動脈硬化

non-FH 児でもIMTはLDL-Cと正相関を示した。LDL-C 160 mg/dL未満の12名のmean IMTは0.55 mm、LDL-C 160 mg/dL以上の4名は0.78 mmと有意な相違が認められた。FHヘテロ接合体4名のIMTは0.85 mmであった。別にフォローしている2名のIMTは治療介入により5-7年の間で改善あるいは変化がなかった。ただし、複合ヘテロ接合体のような著明な高LDL-C血症を呈する児ではスタチン投与でも思春期以降では完全に動脈硬化の進展を抑えるのは難しいようである。

2. HDL代謝異常

2.1. LCAT欠損症の病態解析

LCAT欠損症で同じ変異 (C313Y) を持ちながら、腎不全の合併症例と非合併症例を比較すると、粒子サイズの大きな分画 (VLDL、LDL相当分画) の増加を認めた。LCAT欠損症によるネフローゼ症候群は蛋白制限食に抵

抗性であるものの、脂肪制限食は有効であり、粒子サイズの大きなリポ蛋白分画の減少を伴っていた。また、FLDではFEDに比べ、粒子サイズの大きな分画 (フラクション5) が顕著であることも明らかとなった。

また、FLDのLDLは、健常人で認められるLDLよりも粒子サイズが大きくFEDのLDLよりも小さかった。またコレステリルエステルが存在せず、トリグリセリドが高値であった。FLDのLDLはLCATのin vitro添加インキュベーションに反応し脂質組成が変化した。FEDのLDLでは脂質組成に変化は認められなかった。以上からFLD患者ではそのLCAT異常により、FEDと健常人の中間的なサイズの、そして脂質組成の異常なLDLが産生され、それが腎機能障害の進展に関与していることが考えられた。

この疾患では、LCAT酵素の補充療法が根治療法である。Ex vivo遺伝子治療法の標的細胞として前脂肪細胞を選択し、レトロウイルスベクターにより遺伝子導入した。前脂肪細胞の産生するLCAT蛋白はLCAT欠損症患者血清におけるリポ蛋白代謝異常を改善し、皮下脂肪組織への細胞移植後、LCAT欠損マウスモデルの脂質異常を改善した。すなわち、移植した前脂肪細胞が分泌するLCATが血中に補充されることでLCAT欠損症の病態を改善することが示唆された。これらの研究成果とともに、遺伝子治療臨床研究を申請し、平成25年度5月に遺伝子治療臨床研究 (課題名：家族性LCAT (レシチン：コレステロールアシルトランスフェラーゼ) 欠損症を対象としたLCAT遺伝子導入ヒト前

脂肪細胞の自家移植に関する臨床研究)の実施が承認された。

2.2. 血管内皮リパーゼとHDL代謝

IBLと共同研究を行い、新たな抗体を作成し、Sandwich ELISAを作製した。冠動脈疾患患者では、非冠動脈疾患患者と比較して、低HDL-コレステロール値かつ高EL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値に有意な負の相関関係を認めた。さらに、急性心筋梗塞発症数日後からHDL-C値が低下し、EL値増加と逆相関することを見いだした。また、肥満症例において、食事前後においてHDL-C値低下とEL値増加が確認された。ELは、HDL濃度の規定因子であるとともに、ELは炎症や食後における低HDL-C血症に関連している。

2.3. Isolated hypo- α -lipoproteinemiaの日本における頻度

日本人におけるIsolated hypo- α -lipoproteinemiaの頻度は、Huxleyらの論文の基準では男性5.6%、女性10.0%であった。男女とも60歳代からその頻度は増加した。日本の診断基準を用いて頻度を解析すると男性の頻度は3.7%、女性1.3%となった。男性では60歳代から、女性では40歳代から頻度が増加した。いずれの解析結果もHuxleyらの日本人を含むアジア人における頻度(22%)より低かった。このことは日本人における低い冠動脈疾患の発症頻度と合致する結果と考えられた。

3. I型およびV型高脂血症

3.1. 妊娠と高度高トリグリセリド血症 血清脂質を妊娠群と非妊娠群を比較する

と、両群間の血清脂質レベルに明らかな差異は認めなかった。妊娠群では出産後、平均トリグリセリド値は1727 mg/dLから272 mg/dLへと約84%の減少を認めた。このことは、妊娠自体が高度高トリグリセリド血症の発症において独立した寄与因子であることを示唆している。血清LPL蛋白量の低値は、妊娠群で優位に低値であった。興味深いことに、アポA-Vの遺伝子変異(全てG185C)が妊娠群6例中4例に認められた。妊娠を契機にLPLの発現が低下し、高度高トリグリセリド血症が顕性化したと推察されるが、アポA-V変異は重要な背景因子と考えられる。妊娠中の膵炎の発症は児と母体に致死的になるので、妊婦高トリグリセリド血症を対象としたアポA-V変異の検索は重要と考えられる。検査プロトコールについては今後の課題である。

3.2. 高度高トリグリセリド血症とアポA-V

アポ蛋白A-V G185Cが高度高中性脂肪血症例で高頻度58.7%(対照者=2.3%)に認められ、我国で本遺伝子異常が高度高TG血症発症や急性膵炎併発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より広範な検討が必要と思われた。

3.3. LPL欠損症の病態解析

LPL欠損症を3例同定したが、いずれも既報の変異であった。ASP204GLUのホモ型、ASN43SERのホモ型、LPL-ARITA(916delG)とSER447TERの複合ヘテロ型であった。ヘパリン静注後の血漿LPL活性の測定は、LPL遺伝子の変異を検索する前に重要である。

3.4. アポ蛋白C-II低下症の病態解析

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。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。

3.5. I型およびV型高脂血症調査に関する基礎検討

I型の多くはリポ蛋白リパーゼ(LPL)を中心とした遺伝子の劣性変異に起因するのに対し、V型はより非特異的な遺伝的背景と多様な環境要因との相互作用に起因する雑多な病態を含む。診断には便宜的に空腹時血清TG 1000 mg/dL以上を用いることが多いが、V型の遺伝的背景はI型と比較するとより希薄で非特異的である。

4. 原発性高脂血症の診断・予後に関する臨床指標

4.1. 家族性III型高脂血症の診断

アポB-48/トリグリセリド比は、家族性III

型高脂血症患者でのみ有意な高値を示しており、投薬後でもその有意差は維持されていた。診断のためのCut-Off値は0.110であった。このことは、治療を行ったとしても、家族性III型高脂血症ではアポB-48の増加とトリグリセリドの相対的減少、すなわちカイロミクロンレムナントの残存を示しており、治療が十分でないことを意味している。治療効果の判定にも有効であると考えられる。

4.2. 血清アポB-48濃度と虚血性心疾患罹患率の相関

空腹時アポB-48濃度は冠動脈疾患群において非冠動脈疾患群に比較して有意に高値であり(6.9 ± 2.6 vs 3.9 ± 2.4 μg/mL, p<0.0001)、Multiple logistic regression analysisの結果他のマーカーと比較して最も強く冠動脈疾患罹患率に相関していた。また、空腹時アポB-48の高値は高TG血症、低HDL-C血症、高HbA1c、低アディポネクチン血症と重複するとより冠動脈疾患罹患率を有意に上昇させることが判明した。

4.3. アポB-48測定 of 基準値の設定と臨床評価

アポB-48濃度は、男性(閉経女性)、BMI 25 kg/m²以上、脂質異常症およびメタボリックシンドローム(MetS)患者で有意に高値であり、これらのリスク因子数の増加に相関して上昇した。さらに脂質異常のない健常例では基準値上限;5.7 μg/mL、基準範囲(平均±1.96SD);0.74-5.65 μg/mLであった。また、CKD患者ではアポB-48濃度の上昇が観察された。

4. 4. MDA-LDLと冠動脈病変
 冠動脈病変検出のareas under the curve (AUC)は、MDA-LDL 0.693 (95%信頼区間 0.520-0.866)、MDA-LDL/LDL-C 0.784 (0.629-0.938)、MDA-LDL/HDL-C 0.766 (0.612-0.920)、(MDA-LDL/LDL-C)/HDL-C 0.810 (0.661-0.959)であった。性、年齢、BMI、収縮期血圧、糖尿病罹病期間、HbA1c、喫煙で調整した冠動脈病変と上記の脂質パラメーターについてロジスティック回帰分析を行うと、いずれも冠動脈病変と有意な関連が認められた。

E. 結論

原発性高脂血症の早期診断、早期介入は、患者の予後の改善のために重要であることが再確認された。本研究期間にFHに関しては、診断基準や診療ガイドラインの改訂を行った。IIb型高脂血症、I/V型高脂血症、HDL-Cに関する診療ガイドラインの礎になる英文総説を発表した。

しかし、臨床検査指標や診療ガイドラインの整備や周知が不十分なため、これらの脂質異常症は診断されず放置されている症例が少なからず存在する。わが国での実態が解明されれば、早期診断と治療の啓蒙に役立てることができると期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1) 国内

口頭発表 153件

それ以外（レビュー等）の発表 21件

そのうち主なもの

学会発表

- 1: 日本における原発性高脂血症の現状
 原発性高脂血症調査研究班の動向, 石橋俊, 45回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 東京, 2013年
- 2: アポ蛋白B-48測定法の確立とその臨床応用, 山下静也, 45回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 東京, 2013年
- 3: 動脈硬化性疾患予防ガイドライン普及啓発セミナーにおけるアンケート調査, 荒井秀典, 45回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 東京, 2013年
- 4: Guideline for Management of FH in Japan, 斯波真理子, 第45回日本動脈硬化学会総会・学術集会, APSAVD-JAS Joint Symposium, 東京, 2013年
- 5: 脂質異常症と遺伝子の変異 我が国における脂質異常症遺伝子変異データベースの構築, 荒井秀典, 第44回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 福岡, 2012年
- 6: FHにおける遺伝子異変と臨床的意義, 斯波真理子, 第44回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 福岡, 2012年
- 7: Management of familial hypercholesterolemia(FH), 斯波真理子, 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 札幌, 2011年

2) 海外

口頭発表

47件

原著論文による発表 224件

それ以外（レビュー等）の発表 2件

そのうち主なもの

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. *J Atheroscler Thromb.* 2013 Dec 10. [Epub ahead of print] No abstract available.

2: Harada-Shiba M, Arai H, Oikawa S, Ohta T, Okada T, Okamura T, Nohara A, Bujo H, Yokote K, Wakatsuki A, Ishibashi S, Yamashita S. Guidelines for the Management of Familial Hypercholesterolemia. *J Atheroscler Thromb.* 2012;19(12):1043-60. Epub 2012 Oct 25.

3: Yokoyama S, Yamashita S, Ishibashi S, Sone H, Oikawa S, Shirai K, Ohta T, Bujo H, Kobayashi J, Arai H, Harada-Shiba M, Eto M, Hayashi T, Gotoda T, Suzuki H, Yamada N. Background to discuss guidelines for control of plasma HDL-cholesterol in Japan. *J Atheroscler Thromb.* 2012;19(3):207-12. Epub 2012 Jan 12.

4: Arai H, Ishibashi S, Bujo H, Hayashi T,

Yokoyama S, Oikawa S, Kobayashi J, Shirai K, Ota T, Yamashita S, Gotoda T, Harada-Shiba M, Sone H, Eto M, Suzuki H, Yamada N; Research Committee for Primary Hyperlipidemia, Research on Measures against Intractable Diseases by the Ministry of Health, Labour and Welfare in Japan. Management of type IIb dyslipidemia. *J Atheroscler Thromb.* 2012;19(2):105-14. Epub 2011 Dec 3.

5: Gotoda T, Shirai K, Ohta T, Kobayashi J, Yokoyama S, Oikawa S, Bujo H, Ishibashi S, Arai H, Yamashita S, Harada-Shiba M, Eto M, Hayashi T, Sone H, Suzuki H, Yamada N; Research Committee for Primary Hyperlipidemia, Research on Measures against Intractable Diseases by the Ministry of Health, Labour and Welfare in Japan. Diagnosis and management of type I and type V hyperlipoproteinemia. *J Atheroscler Thromb.* 2012;19(1):1-12. Epub 2011 Dec 1.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）。

1 特許取得

1) 高コレステロール血症の疾患モデルマウス

登録番号：第 4734523 号

特許権者：財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

発明者：斯波真理子、寒川賢治

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
（総合）研究報告書

急性冠症候群例のアキレス腱肥厚について

研究分担者 及川眞一 日本医科大学医学部 内分泌糖尿病代謝内科学分野

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）によってアキレス腱肥厚（ATT）を診断し、その頻度を明らかにすること、また、腱肥厚の有無による脂質値の差異を検討する。
対象と方法：同意の得られた 181 例（男性 142 名、女性 39 名）を対象とした。X-p 上、アキレス腱厚 $\geq 9\text{mm}$ の肥厚例は 20 例（男性 18 例、女性 2 例）で、全体の 11.6%であった。非 ACS 例として先端肥大症（14 例）のアキレス腱厚を測定（右 $6.8 \pm 1.1\text{mm}$ 、左 $6.9 \pm 1.1\text{mm}$ ）したが、9mm 以上を示す例はみとめられなかった。
結論：集中治療室に入室した例では血清脂質に基づく FH 診断は困難であった。アキレス腱肥厚を示す例は 11%と、FH ヘテロの頻度 0.2%に比し高頻度であった。しかし、ACS におけるアキレス腱肥厚例が FH であるとの確診は得られず、FH 診断をどのように行うかは今後の課題である。

A. 研究目的

我々はこれまで CCU に入室した急性冠症候群（Acute Coronary Syndrome, ACS）患者のアキレス腱肥厚を診断するために触診とレントゲン撮影を行い、アキレス腱肥厚の存在を診断してきた。この中でアキレス腱肥厚を示す例の頻度を明らかにし、ACS 例のアキレス腱肥厚例が家族性高コレステロール血症として診断しうるか否かを検討した。これを明らかにするため、一定期間内に ACS によって CCU に入院した連続症例についてアキレス腱厚を測定し、9mm 以上の肥厚を示す頻度を比較した。

B. 対象と方法

新規に ACS を発症し、日本医科大学付属病院集中治療室（CCU）に入室した症例のうち、インフォームドコ

ンセントの得られた症例を対象とした。CCU 入室後、患者本人から病歴および家族歴の聴取、皮膚黄色腫やアキレス腱肥厚の有無などに関する診察および、血液生化学検査や冠動脈造影の所見の収集を行った。これらの症例についてアキレス腱単純 X-P 撮影を行った。

対照群として非 ACS 例のアキレス腱肥厚を検討するため、先端巨大症と診断された 14 人（男性 4 人 女性 10 人）を取り上げた。アキレス腱測定の際に施行している両側足軟線撮影と同様の方法で撮影された heel pad 測定のためのレントゲン写真からアキレス腱厚を測定し、肥厚の有無を検討した。

C. 研究結果

2010年10月1日から2011年5月31日に新規にACSを発症し、日本医科大学付属病院集中治療室(CCU)に入室したなかで、インフォームドコンセントの得られた22例に対して、レントゲン撮影を行った。アキレス腱肥厚($\geq 9\text{mm}$)を認めた症例は2例(9%)であった。

上記の結果を受け、2011年7月1日から2013年11月30日にCCUにACSを発症して入室した連続235症例の中で、インフォームドコンセントの得られた181例について、さらに同様の検討を行った。

181症例(男性142例、女性39例)すべてにアキレス腱レントゲン撮影を行った。アキレス腱肥厚を認めた症例は20例(11.6%、男性18例、女性2例)であった。

アキレス腱肥厚を示した例の実測値は右 $9.4 \pm 1.5\text{mm}$ (mean \pm SD)、左 $9.5 \pm 1.9\text{mm}$ であり、認めない症例ではそれぞれ $6.7 \pm 0.9\text{mm}$ 、 $6.8 \pm 1.4\text{mm}$ であった。年齢については肥厚例 66 ± 14 歳、非肥厚例 68 ± 12 歳($p=0.67$)であった。ACS初発年齢は 63 ± 15 歳 vs 66 ± 13 歳($p=0.47$)、BMIは 6.8 ± 4.0 vs 23.8 ± 3.3 ($p<0.01$)、収縮期血圧 $133 \pm 27\text{mmHg}$ vs $136 \pm 26\text{mmHg}$ ($p=0.49$)、拡張期血圧は $74 \pm 18\text{mmHg}$ vs $78 \pm 17\text{mmHg}$ ($p=0.18$)、現喫煙者率は47.6% vs 40.5%($p=0.53$)、総コレステロール値は $184 \pm 48\text{mg/dl}$ vs $179 \pm 45\text{mg/dl}$ ($p=0.76$)、HDLコレステロール値は $42 \pm 12\text{mg/dl}$ vs $45 \pm 13\text{mg/dl}$ ($p=0.30$)、中性脂肪値は $34 \pm 72\text{mg/dl}$ vs $116 \pm 84\text{mg/dl}$ ($p=0.12$)、LDLコレステロール値は $121 \pm 52\text{mg/dl}$ vs $114 \pm 39\text{mg/dl}$ であった。LDL-コレステロール値の測定は採血はCCU入室時で随時のため、直説法による成績

を示した。発症前スタチン内服率は33.3% vs 27.9%($p=0.61$)であり、随時血糖値は $187 \pm 99\text{mg/dl}$ vs $161 \pm 72\text{mg/dl}$ 、HbA1c(NGSP値)では $6.9 \pm 1.4\%$ vs $6.3 \pm 1.3\%$ ($p=0.02$)であった。

また、2親等以内に冠動脈疾患の家族歴を有する割合それぞれ42.8%、34.7%($p=0.47$)、2親等以内に早発性冠動脈疾患を有する割合では同様に、4.8%、6.2%($p=0.49$)であった。

今回アキレス腱肥厚の測定はノギスを用いて小数点一桁(mm)まで測定を行っているが、レントゲン写真218枚での検討で2検者間の測定結果には相関を認めた($y=0.76x+1.50$, $r^2=0.77$, $p<0.01$)。また、検者間の信頼性の検討を級内相関係数を用いておこなったところICC(2,1)=0.935であった。また、2検者間の測定数値にはおおむね $\pm 1.0\text{mm}$ の差があるが、9mm以上のアキレス腱肥厚を認めるものと認めないものの判定に影響を及ぼした例は1例のみであった。ただし、この一例に関しては9.0mmと8.8mmという結果の違いであったが、36歳の男性で喫煙者、糖尿病であるものの、父親が56歳時に冠動脈疾患の既往があること、ACS発症直後でもTC 250mg/dl 、LDL-C 209mg/dl であり、臨床的にはFHも念頭におき経過を見る必要のある症例である。

先端巨大症の14例では、年齢 57.8 ± 16.5 歳、身長 $160.1 \pm 9.9\text{cm}$ 、体重 $61.7 \pm 9.8\text{kg}$ 、BMI 24.0 ± 3.1 、収縮期血圧 $128 \pm 18\text{mmHg}$ 、拡張期血圧 $74 \pm 13\text{mmHg}$ 、TC $182 \pm 35\text{mg/dl}$ 、HDL-C $49 \pm 17\text{mg/dl}$ 、TG $103 \pm 49\text{mg/dl}$ 、LDL-C $113 \pm 30\text{mg/dl}$ (mean \pm SD)であった。GH $16.7 \pm 14.5\text{ng/ml}$ 、IGF-1

504±181ng/ml と高値を認め、heel pad は右 23.0±2.4mm、左 22.5±2.4mm と肥厚を認め、先端巨大症に合致した所見であった。アキレス腱厚は右 6.8±1.1mm、左 6.9±1.1mm (mean±SD) であり、左右とも 9mm を超える症例はいなかった。

D. 考察

家族性高コレステロール血症(FH)は、ヘテロ接合体が 500 人に 1 人に認められる頻度の高い常染色体優性遺伝の遺伝性疾患である。原因は低比重リポ蛋白受容体(low density lipoprotein receptor: LDL-R)および LDL-R に関連する蛋白質の異常とされている。これらの異常により、低比重リポ蛋白(LDL)の細胞内への取り込みは低下し、それにより患者は高 LDL コレステロール血症 (LDL-C) を呈する。高 LDL-C 血症は冠動脈疾患 (CHD) の強力な危険因子であることはよく知られているが、一般的に高 LDL-C 血症は、40~50 歳頃に出現するのに対し、FH では生来高 LDL-C 血症を呈していることから、若年性 CHD の原因となる代表的な疾患であると考えられている。本疾患の診断は、①高 LDL-C 血症 症腱黄色腫 黄 FH あるいは早発性冠動脈疾患の家族歴 (二親等以内) のうち 2 項目が当てはまる場合とされている。

急性冠症候群 (ACS) と称される心筋梗塞や不安定狭心症では、発症時に、TNF- α 、IL-1 β などのサイトカインの血中濃度が上昇し、それらのサイトカインが LDL-R の発現を上昇させ、血清 LDL-C 濃度は発症後速やかに低下していくことが知られている。さらに、ACS においては、発症早期からスタチン系薬剤を投与するこ

とで予後が改善するという報告が多く、ほとんどの症例で、発症早期からスタチンが投与される。このため、ACS 発症後の患者では、本来の血清脂質の濃度が判定できない。

実際に、アキレス腱レントゲン撮影でアキレス腱肥厚を認めた 20 例の血清脂質の中央値は TC184mg/dl、HDL-C 42mg/dl、TG 134mg/dl、LDL-C(直接法) 121mg/dl であり、アキレス腱肥厚を認めない群との比較では有意な差異を認めなかった。

このためか、ACS における FH の頻度に関する報告はこれまでなく、FH 診断の困難性が考えられる。

日本医科大学付属病院集中治療室に 2011 年 7 月から 2013 年 11 月の間に入室した ACS の患者連続 235 症例の中で同意の得られた 181 例に対する検討ではアキレス腱レントゲン撮影にてアキレス腱肥厚ありと診断された患者は 20 例 (11.6%) であった。これらを FH と診断する根拠は乏しい。そこで、軟部組織の肥大を来す末端肥大症におけるアキレス腱厚を検討した。これらの例ではアキレス腱厚は全てが 9mm 未満であり、肥厚を示す例は認められなかった。しかし、これらは少数例であり今後、さらに検討することが必要である。

E. 結論

3 年に渡り、ACS 症例におけるアキレス腱肥厚例の頻度を解析した。一般の臨床で示されている腱肥厚では FH の診断基準として用いられるが、ACS 患者では血清コレステロール値の高値を認めない例でもアキレス腱肥厚 (≥ 9 mm) を示す例が存在

(約 11%) していた。ACS 例では血清コレステロール値で FH

の診断をスクリーニングすることは困難であり、アキレス腱厚などを参考にすることが必要と考えられるが、その確定診断についてはなお検討を要すると考えられた。

F. 健康危険情報

本研究においては、病歴聴取、及びアキレス腱レントゲンの施行のみであり侵襲性の高い医療行為は行っておらず健康危険は生じていない。

G. 研究発表

1. 原著論文

1. 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*. 2011;18(2):99-107
2. Asai, A., F. Okajima, Nakajima Y, Nagao M, Nakagawa K, Miyazawa T, Oikawa S: Involvement of Rac GTPase activation in phosphatidylcholine hydroperoxide-induced THP-1 cell adhesion to ICAM-1. *Biochem Biophys Res Commun* 2011;406(2): 273-277
3. Asai A, Nakagawa K, Higuchi O, Kimura T, Kojima Y, Kariya J, Miyazawa T, Oikawa S: Effect of meberry leaf extract with enriched 1-deoxynojirimycin content on postprandial glycemic control in subjects with impaired glucose metabolism. *J Diab Inv* 2011: 2(4)318-323

4. Sone H, Tanaka S, Tanaka S, Imuro S, Oida K, Yamasaki Y, Oikawa S, Ishibashi S, Katayama S, Ohashi Y, Akanuma Y, Yamada N: for the Japan Diabetes Complications Study Group: Serum Level of Triglycerides Is a Potent Risk Factor Comparable to LDL Cholesterol for Coronary Heart Disease in Japanese Patients with Type 2 Diabetes: Subanalysis of the Japan Diabetes Complications Study (JDACS). *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Aug 24. [Epub ahead of print]

5. Hotta K, Kitamoto T, Kitamoto A, Mizusawa S, Matsuo T, Nakata Y, Hyogo H, Ochi H, Kamohara S, Miyatake N, Kotani K, Komatsu R, Itoh N, Mineo I, Wada J, Yoneda M, Nakajima A, Funahashi T, Miyazaki S, Tokunaga K, Masuzaki H, Ueno T, Chayama K, Hamaguchi K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Yoshimatsu H, Sakata T, Tanaka K, Matsuzawa Y, Nakao K, Sekine A: Computed tomography analysis of the association between the SH2B1 rs7498665 single-nucleotide polymorphism and visceral fat area. *J Hum Genet*. 2011;56(10):716-9. Epub 2011 Jul 28.

6. Hotta K, Kitamoto T, Kitamoto A, Mizusawa S, 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, Masuzaki H, Ueno T, Hamaguchi K, Tanaka K, Yamada K, Hanafusa T, Oikawa S, Yoshimatsu H, Sakata T, Matsuzawa Y, Nakao K, Sekine

- A: Association of variations in the FTO, SCG3 and MTMR9 genes with metabolic syndrome in a Japanese population. *J Hum Genet.* 2011 Sep;56(9):647-51.
7. Mototsugu Nagao, Akira Asai, Momoyo Kawahara, Yasushi Nakajima, Yuki Sato, Kyoko Tanimura, Fumitaka Okajima, Makiyo Takaya, Mariko Sudo, Shuji Takemitsu, Taro Harada, Hithoshi Sugihara, Shinichi Oikawa: Selective breeding of mice for different susceptibilities to high fat diet-induced glucose intolerance: development of two novel mouse lines, Selectively bred Diet-induced Glucose intolerance-Prone (SDG-P) and -Resistant (SDG-R). *J Diabetes Investigation*, 3(3)245-251, 2012
- Hotta K, Kitamoto A, Kitamoto T, et al: Genetic variations in the CYP17A1 and NT5C2 genes are associated with a reduction in visceral and subcutaneous fat areas in Japanese women. *J Hum Genet.* 2012 Jan;57(1):46-51, 2012.
- Itakura H, Yokoyama M, Matsuzaki M: The Change in Low-Density Lipoprotein Cholesterol Concentration is Positively Related to Plasma Docosahexaenoic Acid but not Eicosapentaenoic Acid. *J Atheroscler Thromb.* 27;19(7):673-9, 2012.
- Sasaki J, Yokoyama M, Matsuzaki M, et al: JELIS Investigators: Relationship between coronary artery disease and non-HDL-C, and effect of highly purified EPA on the risk of coronary artery disease in hypercholesterolemic patients treated with statins: sub-analysis of the Japan EPA Lipid Intervention Study (JELIS). *J Atheroscler Thromb.* 19(2):194-204, 2012
- Takeichi N, Midorikawa S, Watanabe A: Identical germline mutations in the TMEM127 gene in 2 unrelated Japanese patients with bilateral pheochromocytoma. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012 Apr 27. doi: 10.1111/j.1365-2265.2012.04421.x. [Epub ahead of print]
- Yokoyama S, Yamashita S, Ishibashi S, Sone H, Oikawa S, Shirai K, Ohta T, Bujo H, Kobayashi J, Arai H, Harada-Shiba M, Eto M, Hayashi T, Gotoda T, Suzuki H, Yamada N: Background to discuss guidelines for control of plasma HDL-cholesterol in Japan. *J Atheroscler Thromb.* 2012;19(3):207-12. Epub 2012 Jan 12.
- Sato Y, Nagao M, Asai A, et al. Association of glycated albumin with the presence of carotid plaque in patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Invest* 2013; 4(6): 634-639.
- Asai A, Nagao M, Kawahara M, et al. Effect of impaired glucose tolerance on atherosclerotic lesion formation: an evaluation in selectively bred mice with different susceptibilities to glucose intolerance. *Atherosclerosis* 2013; 231(2): 421-426.
- Sugihara H, Nagao M, Harada T, et al. Comparison of three α -glucosidase inhibitors for glycemic