

厚生労働科学研究費補助金（原発性高脂血症に関する調査研究事業）

（総合）研究報告書

「アポ蛋白B-48濃度測定と動脈硬化リスク評価の有効性」

分担研究者 山下静也 大阪大学大学院医学系研究科

総合地域医療学寄附講座 教授

研究要旨

食後に小腸から産生されるカイロミクロン(CM)の水解産物であるカイロミクロンレムナント(CM-R)は動脈硬化プラークを形成・進展させることが基礎実験で示されているが、臨床評価は不十分である。我々はCM-Rの動脈硬化リスクの定量的評価を目的として、CM・CM-R1粒子に1個含まれるアポリポ蛋白(アポ)B-48の濃度測定およびその自動測定化に成功した。本研究ではアポB-48濃度測定による動脈硬化リスク状態の定量的評価およびその有用性に関して検討を続けている。H23年度は、治療介入されている原発性高脂血症患者においてアポB-48濃度を測定し、家族性III型高脂血症では他の原発性高脂血症患者よりもアポB48/TG比が有意に高値であり、同指標はレムナント蓄積のスクリーニングに用いられることを見いだした。H24年度は、冠動脈造影検査を行った患者でアポB-48濃度の測定を行い、空腹時アポB-48濃度は冠動脈疾患(CHD)群(75%以上の狭窄あり、96例)では年齢性別BMIを一致させた非CHD群67例より有意に高値であり(6.9 ± 2.6 vs $3.9 \pm 2.4 \mu\text{g/ml}$, $p < 0.0001$)、動脈硬化リスクに関連するバイオマーカーの中で最も強くCHD罹患率に相関し、アポB-48濃度高値と高TG、低HDL-C、高HbA1c、低adiponectin血症の重複はCHD罹患率を上昇させることを見いだした。H25年度は、健診例で空腹時アポB-48濃度を測定し、アポB-48濃度は男性・閉経女性、BMI 25kg/m^2 以上、脂質異常症およびメタボリックシンドローム患者で高値であり、リスク因子数の増加とともに増加し、脂質異常のない健常例では基準値上限; $5.7 \mu\text{g/mL}$ 、基準範囲(平均 $\pm 1.96\text{SD}$); 0.74 - $5.65 \mu\text{g/mL}$ で分布することを示した。さらに阪大病院受診例でアポB-48濃度を測定し、尿蛋白陽性群あるいはeGFR低値群で有意に高値であり、その重複によりさらに上昇した。eGFRはlogアポB-48濃度とlogアポB-48/TG比と強く逆相関し、logアポB-48/TG比はeGFR低下の有意な規定因子であった。以上のように、空腹時アポB-48濃度はCM-R蓄積リスクを評価するのに有用であり、アポB-48濃度高値は虚血性心疾患やCKDなどの動脈硬化性疾患のリスク上昇と相関していた。

共同研究者

大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学講座 特任助教 増田大作、大学院生 川瀬 都

大阪大学保健センター 准教授 西田 誠

大阪大学医学部附属病院 臨床検査部 花田浩之、大久保学

奥羽大学 薬学部疾患薬理・臨床医学 教授 衛藤雅昭、奥羽大学附属病院 内科 斉藤美恵子

東京慈恵会医科大学 臨床医学研究所 客員教授 多田紀夫、臨床検査医学講座 教授 吉田博

セントマーガレット病院 健康管理センター 新井俊彦

A. 研究目的

高LDLコレステロール(LDL-C)血症のみならず、高トリグリセライド(TG)血症は動脈硬化性疾患の危険因子でありI型、Ib型、III型、IV型及びV型高脂血症において認められる。この背景にはTGリッチリポ蛋白(TRL、小腸由来のカイロミクロン[CM]および肝臓由来のVLDL)の増加が存在しており、それがリポ蛋白リパーゼ(LPL)により水解されて生じたレムナントリポ蛋白(RLP)の蓄積も認められている。このRLPの蓄積はsmall dense LDLの蓄積、低HDL-C血症を合併させるのみでなく、血管壁に直接浸潤し、マクロファージの泡沫化や血小板凝集能の促進作用を有し動脈硬化惹起性を有している。食後にこのTRLおよびRLPが増加した状態が食後高脂血症であり、動脈硬化性疾患との相関が指摘されている。レムナントの評価にはレムナントコレステロール(RLP-C、RemL-C)測定がすでに確立されているが、食後高脂血症の状態が増加しているのはCM由来のカイロミクロンレムナント(CM-R)であり、これらCMおよびCM-Rの定量的評価が求められていた。これに対し我々は世界に先駆けてCM1粒子に1分子存在するアポB-48の測定系を開発した(ELISA法¹・CLEIA法²)。以後我々は空腹時アポB-48濃度は食後高脂血症患者(IIb型高脂血症³やCD36欠損症⁴、やカイロミクロン蓄積を有する患者¹)で有意に高値であり、食後のTG値の推移と強く相関する食後高脂血症のマーカーであり⁵、空腹時TG値正常群(100<TG<150 mg/dl)において頸動脈内膜中膜複合体の肥厚度と相関する事を見いだした⁶。さらに食後高脂血症のメカニズムをCD36欠損状態をモデルに検討したところ、本病態では小腸での脂肪酸・カイロミクロンの過剰な産生が存在し⁷、Ezetimibeやfenofibrateは小腸での脂肪酸の吸収抑制を介して食後高脂血症を抑制することを突き止めた⁸⁻¹⁰。以上のことから、空腹時アポB-48濃度はCM-Rの蓄積を反映し、レムナントによる動脈硬化の発症進展を示すマーカーである可能性が示唆され、その分布や動脈硬化性疾患との相関についてH23年度からH25年度にかけて検討を続けている。

H23年度は、レムナントの蓄積を示すアポB-48濃度が、レムナントが蓄積する家族性III型高脂血症のスクリーニングに有効であるかについて検討した。同疾患はアポEの遺伝的な異常により蓄積したレムナントにより早発性の動脈硬化性疾患をしばしば合併し、その診断にはPAG電気泳動(broad patternの確認)やアポE

フェノタイプ確認(アポE2/2またはアポE欠損)を要し手技が煩雑で時間を要する。また脂質異常症の患者ではTC値やTG値から治療介入がされるためいずれも改善しており、この数値から本症の患者をスクリーニングすることは難しい。我々の治療介入前のアポB-48濃度の検討では、アポB-48濃度はI型・II型・V型高脂血症で高値であり、とくにII型高脂血症患者のみでアポB-48/TG比が有意に高値であった。これはレムナントの蓄積を示すものであり、同じくレムナントの蓄積を示すリポ蛋白電気泳動におけるbroad patternは薬物治療後も残存していた。よって治療介入後のIII型高脂血症のスクリーニングにおいてアポB48/TG比が有用かを検討した。

H24の検討ではカイロミクロンレムナントの蓄積を示す空腹時アポB-48濃度が代表的な動脈硬化性疾患である狭心症の罹患率と相関するか、また他の動脈硬化性疾患リスク因子との重複により如何にハイリスク状態となるかを冠動脈造影を行った患者を対象として検討を行った。

H25年度の検討では、健康診断受診例を用いてアポB-48濃度はどのような背景因子を有する対象で高値となるかを検討し、また脂質異常を有さない集団における正常範囲(upper limitおよびreference interval)の決定を目指して検討を行った。また動脈硬化性疾患の進行に関連する慢性腎臓病(chronic kidney disease, CKD)を有する患者群をにおける空腹時アポB-48濃度測定を行い、CM-Rの蓄積とCKD病態の悪化が相関を有するかどうかを検討した。

¹ J Lipid Res. 2003;44:1256-1262. ² Clin Chim Acta. 2012;413:160-165. ³ Eur J Clin Invest. 2009;39(8):689-98. ⁴ J Lipid Res, 2009;50(5):999-1011. ⁵ J Atheroscler Thromb. 2011;18:1062-70. ⁶ Atherosclerosis. 2011;218:226-32. ⁷ J Lipid Res, 2009;50(5):999-1011. ⁸ Eur J Clin Invest. 2009;39(8):689-98. ⁹ J Atheroscler Thromb. 2010;17(9):914-24. ¹⁰ J Atheroscler Thromb 2010;17(6):610-8.

(倫理面への配慮)

本研究はすべて大阪大学医学部附属病院・大阪大学保健センター・奥羽大学附属病院・慈恵医大柏病院・セントマーガレット病院の各IRBにて承認され、測定データ及び生体材料は匿名化され研究終了時に破棄された。被験者に不利益が生じた場合には同意撤回及び相談可能とし、

参加者の権利に配慮した。

B . 研究方法

(平成23年度)

[対象]大阪大学医学部附属病院に通院中で、既に診断され投薬治療中の高脂血症患者(I型6名、a型62名、b型66名、型12名、IV型22名、V型23名)および高脂血症を有さない正常群25名。

[方法]以下の項目を測定し、各群間での有意差検定を行った;TC、TG、HDL-C、LDL-C、アポ蛋白濃度(AI, A, B, C, E, アポB-100 (ELISA法)、アポB48 (CLEIA法)、レムナントリポ蛋白コレステロール(RLP-C)、空腹時血糖、HbA1c、インスリン

(平成24年度)

[対象]大阪大学医学部附属病院あるいは関連施設にて冠動脈カテーテル検査を実施した脂質代謝異常治療薬の内服を行っていない患者(189名)

[方法]冠動脈の主要3分枝に75%以上の有意狭窄を1ヶ所でも有する症例を冠動脈疾患(CHD)群とし(96例)、年齢性別BMIを一致させた狭窄を有さない非CHD群(67例)と比較する。以下の項目を測定して有意差検定を行い、さらにこれらの測定項目を説明変数、冠動脈疾患罹患の有無を目的変数としてMultiple logistic regression analysisを行う(age, sex, smoking, BMI, TC, TG, HDL-C, LDL-C, 収縮期血圧、拡張期血圧、FPG, HbA1c, アポB-48, adiponectin)。またアポB-48濃度のcut-off値を決定しその高値・低値と他の動脈硬化性疾患リスク因子(高TG血症 150mg/dl、低HDL-C血症<40mg/dl、高HbA1c血症 5.8%、低アディポネクチン血症<4.0 μg/ml)が重複した場合の冠動脈疾患罹患率について有意差があるかどうかを検討した。

(平成25年度)

[対象]大阪大学医学部附属病院・大阪大学保健センター・慈恵医大柏病院・セントマーガレット病院に健康診断で来院し多無投薬の連続516症例。および、大阪大学医学部附属病院に通院中の264症例

[方法]BMI、ウェスト周囲径、血圧、LDL-C、TG、HDL-C、アポB-48を測定し、アポB-48濃度を年齢・閉経前後・脂質代謝異常の有無と因子数、MetSの有無と因子数で比較する。さらに、脂質代謝異常を有さない1332例のアポB-48濃度の分布を平均値 \pm 2.58SDの外れ値の除外を繰り返し、基準値上限、基準範囲(平均 \pm 1.96SD)を決定した。阪大病院通院症例についてはさらに推定糸球体濾過量(estimated Glo-

merular Filtration Rate, eGFR)および定性的尿蛋白量(-, \pm , +, 2+, 3+)を測定し、eGFR高値群(>60 mL/min/1.73 m²)および低値群、尿蛋白陽性(\geq 1+)および陰性で4群に分け群間で測定した項目の比較およびMultiple regression analysisによるeGFRと最も強い相関を示す因子を検討した。

C . 研究結果

(H23年度)

高脂血症の各表現型の患者における治療介入後の脂質プロファイルを表1に示す。治療介入によりLDL-C・アポB濃度は正常群と有意差がなかったが、フィブラート等の投与にかかわらずI型、型、V型患者で有意なTGおよびアポB-48濃度の高値を認めた。特に、アポB-48/TG比は型患者でのみ有意な高値を示しており、投薬後もその有意差は維持されていた(表1および文献1)。家族性III型高脂血症の診断のためのCut-Off値を検討すると0.110であった(ROC解析;sensitivity:0.750, AUC=0.895)。さらに、従来報告されている他の家族性型高脂血症のスクリーニング法(apoE/apoB比¹、apoB/TC²、TC/apoBおよびTG/apoB³、nonHDL-C/apoB⁴、apoE/apoC⁵)と今回のアポB-48/TG比を比較すると、III型患者が他の高脂血症患者と比較して有意差を認める指標はアポB-48/TG比のみであった(表2)。以上のことから、アポB-48/TG比は家族性型高脂血症患者の検出能に優れており、極めて有意なマーカーであることが判明した(Error rate;2.8%)、前述の他指標との組み合わせによりError rateは低下した(アポB-48/TG比、apoE/apoB比、apoB/TC比、TC/apoB比、TG/apoB比の5項目の組み合わせで0.9%)。

(文献)¹ *Eur J Clin Chem Clin Biochem* **31**:743-747, 1993、² *Clin Chem* **51**:904-907, 2005、³ *J Clin Lipidol* **1**:256-263, 2007、⁴ *J Clin Lipidol* **4**:99-104, 2010、⁵ *Clin Chim Acta* **348**:35-40, 2004

(H24年度)

冠動脈疾患群は非冠動脈疾患群と比較して空腹時血糖、HbA1cが有意に高値でありHDL-Cおよびadiponectin値が有意に低値であった。また、アポB-48およびTG値も有意に高値であり、その有意差は最も高値であった(P<0.0001)(表3)。ROC解析により(AUC-ROC;0.79)、アポB-48のcut-off値は4.34μg/mlだった(sensitivity, 0.82; 1-specificity, 0.33; predictive positive value, 79; predictive negative value, 61)。冠動脈疾患罹患率に与える代謝マーカーの影響についてlogistic regression analysisを行ったと

ころ、相関の見られた喫煙、HDL-C、TG、FPG、HbA1c、Log-アポB-48濃度およびLog-adiponectin値のうちlog-アポB-48濃度が最も強く冠動脈疾患の罹患に相関していた(表4)。さらにアポB-48濃度の高値(4.34 μ g/ml)及び低値と、高TG、低HDL-C、高HbA1c、低adiponectin濃度の併存の有無について冠動脈疾患罹患率を検討すると、高アポB-48濃度および他の項目が併存しているときに最も高く、また他の項目が単独で存在するより高アポB-48濃度が単独で存在している方がより高値であった。

(H25年度)

空腹時アポB-48濃度は男性で高値であり(3.8 \pm 3.3 μ g/mL vs 2.4 \pm 1.9 μ g/mL, p <0.001)(図1-1)、BMI25kg/m²以上(4.4 \pm 3.7 μ g/mL vs 2.8 \pm 2.4 μ g/mL, p <0.001)およびMetS患者(6.5 \pm 4.3 μ g/mL vs 3.0 \pm 2.6 μ g/mL, p <0.001)において有意に高値であり、脂質異常やMetSのリスク因子の増加に相関して上昇していた(図2)。さらに、脂質代謝異常を有さない1332例を用い検討した結果、空腹時アポB-48濃度の基準値上限は5.7 μ g/mL、平均値は2.04 μ g/mL(基準範囲; 0.74-5.65 μ g/mL)と判明した。全体を尿蛋白陽性あるいは陰性、またはeGFR高値群と低値群に分けた場合、尿蛋白陰性群よりも陽性群が、またeGFR低値群が高値群よりもアポB-48値は高値に分布し、logアポB-48濃度およびlogアポB-48/TG比は高eGFR尿蛋白陽性群、低eGFR尿蛋白陰性群、低eGFR尿蛋白陽性群が高eGFR尿蛋白陰性群に比較して有意に高値であり、その相違は測定項目の中で最も強かった(表5)。さらに、検査項目ごとの相関の検討では、eGFRはlogアポB-48濃度とlogアポB-48/TG比と強く相関していたが、蛋白尿はlogアポB-48比と強く相関していた(表6,7)。この結果、eGFR低値および尿蛋白陽性は高アポB-48濃度の独立した規定因子である事が判明し、アポB-48濃度の上昇は心血管イベントのみではなく腎機能障害のリスクを増加させる事が判明した。

D. 考察

3年間にわたる検討を通じて、我々は現在、スタチンの登場によってコントロールが可能になりつつある高LDL-C血症とは別の”residual risk”としての高レムナント血症の病態をとらえるべく、カイロミクロンレムナントを定量的に把握することが可能となった血清アポB-48濃度を様々な病態の患者や健康対象において測定した。H21年度の検討では、既に治療介入されている脂質代謝異常の患者の本邦での病態もあわせて検討した。高LDL-C血症患者に

対しスタチンが投与されLDL-C<140 mg/dlが達成されているが、高TG血症に対してはフィブラートやEPAにより有意なTG値の低下を認める症例もあるが、治療効果不十分な例も混在している。投薬治療後の患者においてもアポB-48/TG比は有意な高値を示しており、予想通り治療介入にも関わらずレムナントは依然蓄積していることが判明した(表1)。家族性III型高脂血症患者においてはapoE蛋白の異常によりレムナントの肝細胞内への取り込みが障害されており、レムナントが増加している。このレムナントに作用するLPLあるいはHLの活性には異常がないため、蓄積しているレムナントはTGは少なく相対的にコレステロール含量が増加した粒子が中心と考えられる。このため、アポB-48をTGで除したアポB-48/TG比は高値となる。我々の以前の検討では高TG血症治療薬のフィブラートは小腸由来カイロミクロン産生の抑制とLPLの活性を亢進させるが、アポEの異常がある場合CM-Rのクリアランスは改善しない。結果、家族性III型高脂血症では治療介入によってもそのカイロミクロンレムナントの蓄積は改善を認めておらず、依然動脈硬化惹起性が残存しているものと考えられる。よって、本疾患の治療には、ニコチン酸誘導体やEPA、小腸コレステロールトランスポーター阻害薬(エゼチミブ)、スタチンやプロブコールの併用によるレムナント減少、抗血小板作用、抗酸化作用や血管炎症の改善など、脂質代謝異常の治療以外の介入も必要であることが推察される。

また、H24の検討では空腹時アポB-48濃度が冠動脈疾患の罹患に相関し、高アポB-48濃度がメタボリックシンドロームのリスク項目と重複すると冠動脈疾患の罹患率が上昇させることが明らかとなった。アポB-48濃度が10 μ g/ml以下に中心的に分布しており、冠動脈疾患群において高値であることが判明した。冠動脈疾患患者群においてはMetSの構成因子である脂質代謝異常(高TG/低HDL-C)、高血糖、高血圧が非冠動脈疾患患者群と比較してより有意に蓄積しており(表3)、このことは冠動脈疾患患者においては食後レムナント代謝の障害を来すインスリン抵抗性を背景に持ち、両者による動脈硬化惹起性が存在し続けていることを示している。カイロミクロンレムナントの蓄積を表す空腹時アポB-48の濃度はmultiple regression analysisの結果他の冠動脈疾患のリスクファクターよりも最も強力な相関を有していた(表4)。さらに、MetSの項目と重複した場合に冠動脈疾患の罹患率は最も高くな

ったが(図1)、これらの項目自身もレムナントの代謝障害と関連していることが指摘されており、相乗的な動脈硬化惹起性の悪化に繋がっているものと考えられる。これらCM-Rの蓄積に対してはatorvastatinおよびfenofibrateが有効であることが示されている。我々の検討でも、小腸コレステロールトランスポーターであるezetimibeが食後高脂血症を改善することを示しているが、これは小腸でのカイロミクロンの産生を抑えていることがわかっている。今後、このような治療介入により食後高脂血症が有効に改善されているか否かについての検討が空腹時アポB-48値の測定により進められていけば残存リスクとしてのレムナントの蓄積に対する治療介入に取って極めて有意義であると考えられる。

さらに、H25の検討では健診例における空腹時アポB-48濃度の分布を検討し、さらにCKD患者における尿蛋白やeGFRの低下とアポB-48濃度の間の相関を見出した。4施設516人の健診例を登録し検討したところ、空腹時アポB-48濃度は男性および閉経後女性において高値であり、女性ホルモンによるレムナント蓄積改善を示唆する結果であった。さらに、脂質代謝異常や肥満、MetSはそのリスク因子が1個でも存在するとアポB-48濃度が上昇した。この結果を受けて脂質代謝異常を有さない健常例を検討したところ基準値上限は5.7 μ g/mLの結果を得た。H24年の検討で冠動脈疾患罹患率でのアポB-48のcut-off値は4.34 μ g/mlであり、今回の基準値上限よりも低い結果であった。この事は冠動脈リスクの集積がアポB-48濃度の上昇で示されるCM-Rの蓄積が比較的少ない状態からも存在することを示しており、冠動脈リスク評価に関して更なる評価項目の検討が必要である事が示唆された。現在の動脈硬化性疾患ガイドラインにはこのマーカーは含まれておらず、潜在的な動脈硬化リスクに適切なスクリーニングマーカーの開発が急がれる。さらに、CKD患者に認められる蛋白尿の有無、eGFRの低下の有無とアポB-48濃度との相関について検討し、表5に示すように尿蛋白陽性群およびeGFR高値群でアポB-48値は高値であり、クリアランスの低下によるCM-Rの血管内蓄積を示唆する結果が得られた。またlogアポB-48濃度およびlogアポB-48/TG比はeGFRの低下・尿蛋白の出現がいずれかでも高値となり、その両者の重複でより上昇した。多変量解析でもこれらはeGFR低下の有意な規定因子であったことから、CM-Rの蓄積はeGFRの低下に強く影響を与えられている事が示唆された。このことはCKDに

よるeGFRの低下・クリアランスの低下はCM-Rの蓄積を招き、心血管イベントを増加させ、さらにCM-Rの蓄積はeGFRを悪化させる悪循環を形成している事が示唆された。

E . 結論

継続してカイロミクロンレムナントの蓄積を示唆する血清アポB-48濃度測定の有用性について検討を行い、以下の知見を得た；1、治療介入中の家族性III型高脂血症患者のスクリーニングにアポB-48/TG比の高値が極めて有用であること、2、空腹時アポB-48濃度が冠動脈疾患の罹患に相関し、高アポB-48濃度がメタボリックシンドロームのリスク項目と重複すると罹患率を上昇させること、3、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 μ g/mL (基準範囲:0.74-5.65 μ g/mL)であり、CKDにおいて認められるeGFRの低下・尿蛋白野出現によりアポB-48濃度が増加しCKDの病態の進行と相関すること、が判明した。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

Nakatani K, Sugimoto T, Masuda D, Okano R, Oya T, Monden Y, Yamashita T, Kawase R, Nakaoka H, Inagaki M, Yuasa-Kawase M, Tsubakio-Yamamoto K, Ohama T, Nishida M, Ishigami M, Komuro I, Yamashita S. Serum apolipoprotein B-48 levels are correlated with carotid intima-media thickness in subjects with normal serum triglyceride levels. *Atherosclerosis*. 2011;218(1):226-32.

Masuda D, Sakai N, Sugimoto T, Kitazume-Taneike R, Yamashita T, Kawase R, Nakaoka H, Inagaki M, Nakatani K, Yuasa-Kawase M, Tsubakio-Yamamoto K, Ohama T, Nakagawa-Toyama Y, Nishida M, Ishigami M, Masuda Y, Matsuyama A, Komuro I, Yamashita S. Fasting Serum Apolipoprotein B-48 Can be a Marker of Postprandial Hyperlipidemia. *J Atheroscler Thromb*. 2011;18(12):1062-70.

Hanada H, Mugii S, Okubo M, Maeda I, Kuwayama K, Hidaka Y, Kitazume-Taneike R, Yamashita T, Kawase R, Nakaoka H, Inagaki M, Yuasa-Kawase M, Nakatani K, Tsubakio-Yamamoto K, Masuda D, Ohama T, Matsuyama A, Ishigami M, Nishida M, Komuro I, Yamashita S. Chemiluminescence enzyme immunoassay for apolipoprotein B-48

and its clinical applications for evaluation of impaired chylomicron remnant metabolism. *Clin Chim Acta*. 2012;413(1-2):160-5.

Yuasa-Kawase M, Masuda D, Yamashita T, Kawase R, Nakaoka H, Inagaki M, Nakatani K, Tsubakio-Yamamoto K, Ohama T, Matsuyama A, Nishida M, Ishigami M, Kawamoto T, Komuro I, Yamashita S. Patients with CD36 Deficiency Are Associated with Enhanced Atherosclerotic Cardiovascular Diseases. *J Atheroscler Thromb*. 2012;19(3):263-75.

Masuda D, Sugimoto T, Tsujii K, Inagaki M, Nakatani K, Yuasa-Kawase M, Tsubakio-Yamamoto K, Ohama T, Nishida M, Ishigami M, Kawamoto T, Matsuyama A, Sakai N, Komuro I, Yamashita S. Correlation of fasting serum apolipoprotein B-48 with coronary artery disease prevalence. *Eur J Clin Invest*. 2012;42(9):992-9.

Mugii S, Hanada H, Okubo M, Masuda D, Takeoka K, Hidaka Y, Ohama T, Matsuyama A, Nakagawa-Toyama Y, Nishida M, Ishigami M, Komuro I, Yamashita S. Thyroid function influences serum apolipoprotein B-48 levels in patients with thyroid disease. *J Atheroscler Thromb*. 2012;19(10):890-6.

Yuasa-Kawase M, Masuda D, Kitazume-Taneike R, Yamashita T, Kawase R, Nakaoka H, Inagaki M, Nakatani K, Tsubakio-Yamamoto K, Ohama T, Toyama-Nakagawa Y, Nishida M, Ishigami M, Saito M, Eto M, Matsuyama A, Komuro I, Yamashita S. Apolipoprotein B-48 to triglyceride ratio is a novel and useful marker for detection of type III hyperlipidemia after antihyperlipidemic intervention. *J Atheroscler Thromb*. 2012;19(9):862-71.

Masuda D, Nishida M, Arai T, Hanada H, Yoshida H, Yamauchi-Takahara K, Moriyama T, Tada N and Yamashita S. Reference Interval of Apolipoprotein B-48 Concentration in Healthy Japanese Individuals (*J Atheroscler Thromb*印刷中)

Okubo M, Hanada H, Matsui M, Hidaka Y, Masuda D and Yamashita S. Serum Apolipoprotein B-48 Levels Are Associated with Reduced Estimated Glomerular Filtration Rate and Increased Proteinuria (投稿中)

2. 学会発表

日本動脈硬化学会学術集会(H23,H24, H25)

日本循環器学会学術集会(H23, H24, H25)

European Society of Cardiology(H24)

European Atherosclerosis Society(H23, H24, H25)

American Heart Association(H23, H25)

H .知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3.その他

表1 治療中患者の脂質プロファイル

	I	IIa	IIb	III	IV	V	正常群 (NC)
TC (mg/dl)	227±59	226±49*	210±47	209±63	192±34	237±65*	195±31
HDL-C (mg/dl)	31±14***	67±16*	56±13	60±12	43±15**	41±11***	59±14
LDL-C (mg/dl)	76±40	137±44	122±25	85±47	115±31	111±47	118±23
TG (mg/dl)	1096±610***	103±62	156±71	213±122**	190±120	571±440***	95±44
ApoB (mg/dl)	79±34	107±27	107±25	84±48	105±24	120±32*	91±19
ApoE (mg/dl)	10.5±2.8***	4.9±1.5	4.9±1.3	10.3±3.4***	6.3±4.9	8.6±4.9***	4.9±1.1
ApoCIII (mg/dl)	21.9±5.3***	10.3±3.0	11.1±4.0	13.4±5.4	12.1±8.1	20.1±12.8***	8.2±2.4
nonHDL-C (mg/dl)	195±63*	159±49	144±28	148±67	142±47	186±76***	136±27
ApoB48 (µg/ml)	24.7±8.4**	3.5±3.8	5.5±5.2	22.9±11.9***	8.4±15.1	19.6±14.4***	3.3±2.3
ApoB48 / TG ratio	0.026±0.010	0.032±0.016	0.035±0.034	0.137±0.08****	0.026±0.017	0.038±0.017	0.036±0.019

***p<0.0001 vs other types of HLP and NC analysis of variance by Dunnett's multiple comparison test and the Wilcoxon's Rank Sum test.

Values are expressed as means ± S.D. Normally distributed variables were analyzed by one-way ANOVA with Dunnett's Multiple Comparison test and the nonparametric variables (apoB-48 and apoB-48/TG ratio) were analyzed by Kruskal-Wallis' test with Steel's test between NL and other type of HL. †p < 0.05 vs NL, **p < 0.01 vs NL, ***p < 0.001 vs NL.

表2 薬物治療介入後の家族性 型高脂血症簡易判別のための他指標との比較

	NL (n=25)	type I (n=6)	type IIa (n=62)	type IIb (n=66)	type III (n=12)	type IV (n=22)	type V (n=23)
apoE/apoB	0.05±0.01 †	0.15±0.07 ***	0.05±0.02 †	0.05±0.01 †	0.15±0.05 ***	0.06±0.04 †	0.07±0.04 †
apoB/TC	0.47±0.06 †	0.37±0.16 **	0.47±0.06	0.51±0.05 *, †	0.38±0.09 ***	0.55±0.07 ***, †	0.51±0.06 †
TC/apoB	2.17±0.27 §	3.75±3.17 ***, §	2.15±0.27 §	1.88±0.45 †	2.76±0.57 †	1.78±0.46 †	1.89±0.48 †
TG/apoB	1.02±0.36	20.99±24.3 ***, †	0.97±0.48	1.42±0.56	2.49±0.94	1.75±1.19	5.17±4.66 **
non-HDL-C /apoB	1.49±0.07	3.33±3.07 ***, †	1.48±0.11	1.03±0.64 *, §	1.83±0.25	1.36±0.32	1.55±0.47
apoE/apoCI II	0.30±0.04 †	0.36±0.00 †	0.40±0.03 ***, †	0.52±0.04 ***, †	0.62±0.01 ***	0.70±0.04 ***	0.97±0.25 ***
apoB48/TG ratio	0.036±0.019 †	0.026±0.010 †	0.032±0.016 †	0.035±0.034 †	0.137±0.08 ***	0.026±0.017 †	0.038±0.017 †

All data are expressed as means ± S.D. Multiple comparisons between NL and any types of HL were analyzed by Dunnett's Multiple Comparison test or Steel's test (apoB-48/TG ratio). *p < 0.05 vs NL, **p < 0.01 vs NL, ***p < 0.001 vs NL. Multiple comparisons between type III HL and NL or any types of HL were analyzed by Dunnett's Multiple Comparison test or Steel's test (apoB-48/TG ratio). § p < 0.05 vs type III HL, †p < 0.001 vs type III HL.

正脂血症とIII型のみで有意差をみとめ、かつ、他の高脂血症群と有意差をみとめるのは、apoB48/TG ratioのみ。1

表3 脂質・糖質代謝のマーカーと冠動脈疾患の罹患の有無

Table 1 Clinical Profiles of the Non-CAD subjects and the patients with CAD

	non-CAD (n = 67)	CAD (n = 96)
Age (years)	62.7 ± 10.8	65.1 ± 9.9
Sex [†] (m vs. w)	49 vs. 18	71 vs. 25
Smoking (%)	48.2	60.4
BMI (kg/m ²)	24.1 ± 3.6	24.4 ± 2.8
Prevalence of Dyslipidaemia [‡] (%)	40.2	66.7
TC (mg/dL)	197.6 ± 37.1	199.5 ± 36.5
TG (mg/dL)	121.4 ± 37.1	163.1 ± 83.3**
HDL-C (mg/dL)	49.5 ± 13.3	43.8 ± 13.2*
LDL-C (mg/dL)	125.1 ± 34.3	125.5 ± 34.3
Prevalence of Hypertension [§] (%)	64.1	78.2
Systolic BP (mmHg)	130.0 ± 17.2	130.0 ± 22.9
Diastolic BP (mmHg)	74.6 ± 10.6	75.4 ± 12.2
Prevalence of drug-treated patients (%)	53.1	68.3
Prevalence of High fasting glucose [¶] (%)	19.3	40.0
FPG (mg/dL)	100.5 ± 25.1	116.7 ± 42.4*
HbA1c (%)	5.4 ± 1.0	6.3 ± 1.7*
Fasting apo B-48 µg/mL	3.9 ± 2.4	6.9 ± 2.6**
Adiponectin µg/mL	7.8 ± 4.3	6.4 ± 4.2*
Prevalence of the metabolic syndrome		
In Japanese criteria (%)	17.2	29.2*
In NCEP-ATPIII criteria (%)	22.6	53.1*

表4 Multiple Regression Logistic Analysis による脂質・糖質代謝のマーカーと冠動脈疾患罹患の有無との相関

Table 2 Univariate and multivariate analyses of correlations between the existence of coronary artery disease and various metabolic parameters

	Univariate P value	Multivariate P value
Age	0.1581	–
Sex	0.3698	–
Log-BMI	0.4645	–
Smoking	0.0492	–
TC	0.7440	–
LDL-C	0.8508	–
HDL-C	0.0085	0.3721
Triglyceride	0.0017	0.1098
Systolic BP	0.9747	–
Diastolic BP	0.6757	–
FPG	0.0081	0.6110
HbA1c	0.0008	0.3036
Log-apo B-48	< 0.0001	< 0.0001
Log-APN	0.0239	0.6039

BMI, body mass index; TC, total cholesterol; BP, blood pressure; FPG, fasting plasma glucose; HbA1c, haemoglobin A1c. APN, adiponectin. Univariate analysis was assessed using Pearson's correlation analysis. Multivariate analysis was assessed using stepwise multiple regression analysis.

図1 空腹時アポ B-48 の高値と他の動脈硬化性疾患リスク因子の重複と冠動脈疾患罹患率

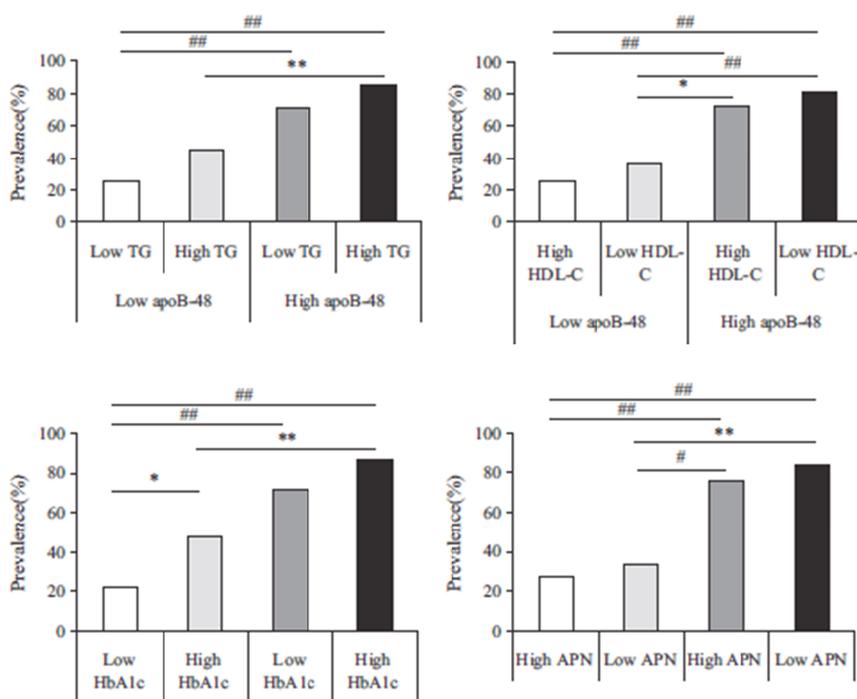
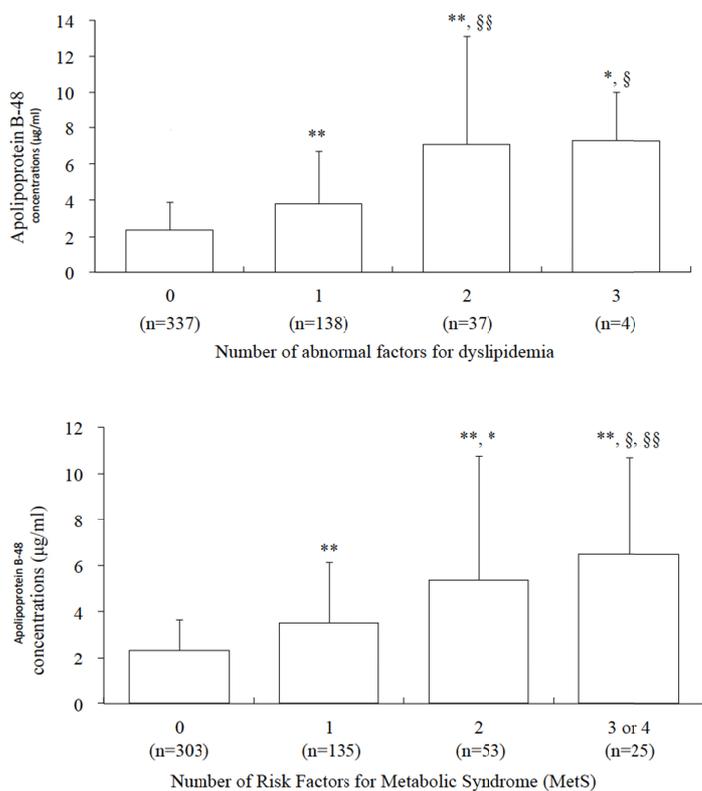


図2 脂質異常因子数・MetS 因子数とアポ B-48 濃度の分布



(* p<0.01, ** p<0.001 against cases with no abnormal factor, § p<0.05, §§ p<0.001 against cases with 1 abnormal factor, assessed by Mann-Whitney U test)

表5 eGFR値および尿蛋白の有無と測定項目

	High eGFR (>60 ml/min/1.73m ²)		Low eGFR (<60 ml/min/1.73m ²)		p values ^a
	without proteinuria	With proteinuria	without proteinuria	with proteinuria	
Age (year)	60±15	61±17	65±12	63±13	0.215
Sex (m/f)	26/24	38/37	39/35	35/30	0.88
BMI (kg/m ²)	22±4	22±3	23±3	23±4	0.362
Diabetes (%)	16 (32)	27 (36)	21 (28)	24 (37)	0.581
Prevalence of drug-treated patients (%)	7 (14)	10 (14)	10 (14)	13 (20)	0.666
Systolic BP (mmHg)	123±24	122±18	122±21	136±23 ^{bcd}	0.000
Diastolic BP (mmHg)	76±13	74±11	72±10	77±14	0.052
Prevalence of drug-treated patients (%)	10 (20)	26 (35)	30 (41)	43 (66) ^{bcd}	0.000
eGFR (ml/min/1.73m ²)	80±18	79±16	36±16 ^c	34±17 ^c	0.000
UA (mg/dl)	5.3±1.2	5.3±1.5	6.8±1.3 ^{bc}	7.0±1.6 ^{bc}	0.000
Prevalence of drug-treated patients (%)	8 (16)	7 (9)	10 (14)	25 (38) ^{cd}	0.000
T-CHO (mg/dl)	194±42	205±58	296±47	205±70	0.648
Log-TG	2.0±0.2	2.2±0.2 ^b	2.1±0.2 ^b	2.1±0.2 ^b	0.000
HDL-C (mg/dl)	62±16	55±19	57±16	60±26	0.209
LDL-C (mg/dl)	109±44	121±49	114±41	117±48	0.495
Non-HDL-C(mg/dl)	133±40	150±55	139±33	145±63	0.301
Log-ApoB-48	0.57±0.28	0.74±0.29 ^b	0.78±0.32 ^b	0.89±0.26 ^{bc}	0.000
Log-ApoB-48/TG	0.28±0.13	0.35±0.13 ^b	0.35±0.16 ^b	0.41±0.11 ^{bc}	0.000

Data represent the means ± S.D. Comparisons between patients were divided into 4 groups based on eGFR and proteinuria. We divided all subjects (n=220) into low (<60 ml/min/1.73m²) and high (>60 ml/min/1.73m²) eGFR levels; these two groups were also divided according to without or with proteinuria (by diptick). p values refer to results after analysis with adjustment for age, gender, and BMI. BMI, body mass index; BP, blood pressure; eGFR, estimated glomerular filtration rate; UA, uric acid; T-CHO, total cholesterol; TG, triglyceride; HDL-C, high density lipoprotein-cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol.

^a p values for ANOVA test or χ^2 test.

^b Bonferroni's post-hoc analysis < 0.05 vs High eGFR without proteinuria.

^c Bonferroni's post-hoc analysis < 0.05 vs High eGFR with proteinuria.

^d Bonferroni's post-hoc analysis < 0.05 vs Low eGFR without proteinuria.

表6 尿蛋白の有無と測定項目の相関

	Coefficient	Univariate <i>p</i> value
age	-0.1123	0.0826
BMI	-0.0195	0.7653
Systolic BP	-0.2034	0.0017
Diastolic BP	-0.1151	0.0782
eGFR	-0.0240	0.7057
T-CHO	0.0515	0.4262
Log-TG	0.2876	0.0000
HDL-C	-0.1475	0.0220
LDL-C	0.0954	0.1398
Non-HDL-C	0.0930	0.1502
Log-ApoB-48	0.2622	0.0000
Log-ApoB-48/TG	0.0876	0.1751

表7 eGFR値と測定項目の相関

	Coefficient	Univariate <i>p</i> value
age	-0.3938	0.0000
BMI	-0.1121	0.0843
Systolic BP	-0.1208	0.0646
Diastolic BP	-0.0223	0.7341
Urin protein	-0.0244	0.7057
T-CHO	0.0489	0.4498
Log-TG	-0.0218	0.7359
HDL-C	-0.0270	0.6764
LDL-C	-0.0106	0.8704
Non-HDL-C	-0.2693	0.0000
Log-ApoB-48	-0.3090	0.0000
Log-ApoB-48/TG	-0.3161	0.0000

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
増田大作	脂質（コレステロール，トリグリセライド）吸収の分子機構と食後高脂血症	山下静也	レジデント	医学出版	東京	2011	4(8):58-63
増田大作	高トリグリセリド血症と食後高脂血症	山下静也	Heart View	メジカルビュー社	東京	2012	16(11):1136-1143, 2012
増田大作	食後高脂血症の病態と治療	山下静也	呼吸と循環	医学書院	東京	2013	61(1):70-79
増田大作	TG-richリポ蛋白代謝とその制御因子	山下静也	日本臨床	日本臨床	東京	2013	71(9):1514-16

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakatani K, Sugimoto T, Masuda D, Okano R, Oya T, Monden Y, Yamashita T, Kawase R, Nakaoka H, Inagaki M, Yuasa-Kawase M, Tsubakio-Yamamoto K, Ohama T, Nishida M, Ishigami M, Komuro I, Yamashita S.	Serum apolipoprotein B-48 levels are correlated with carotid intima-media thickness in subjects with normal serum triglyceride levels.	Atherosclerosis	218(1)	226-32.	2011
Masuda D, Sakai N, Sugimoto T, Kitazume-Taneike R, Yamashita T, Kawase R, Nakaoka H, Inagaki M, Nakatani K, Yuasa-Kawase M, Tsubakio-Yamamoto K, Ohama T, Nakagawa-Toyama Y, Nishida M, Ishigami M, Masuda Y, Matsuyama A, Komuro I, Yamashita S.	Fasting Serum Apolipoprotein B-48 Can be a Marker of Postprandial Hyperlipidemia.	J Atherosclerosis and Thrombosis	18(12)	1062-70	2011
Hanada H, Mugii S, Okubo M, Maeda I, Kuwayama K, Hidaka Y, Kitazume-Taneike R, Yamashita T, Kawase R, Nakaoka H, Inagaki M, Yuasa-Kawase M, Nakatani K, Tsubakio-Yamamoto K, Masuda D, Ohama T, Matsuyama A, Ishigami M, Nishida M, Komuro I, Yamashita S.	Chemiluminescence enzyme immunoassay for apolipoprotein B-48 and its clinical applications for evaluation of impaired chylomicron remnant metabolism.	Clinical Chemistry Acta.	413(1-2)	160-5	2012

Yuasa-Kawase M, Masuda D, Yamashita T, Kawase R, Nakaoka H, Inagaki M, Nakatani K, Tsubakio-Yamamoto K, Ohama T, Matsuyama A, Nishida M, Ishigami M, Kawamoto T, Komuro I, Yamashita S.	Patients with CD36 Deficiency Are Associated with Enhanced Atherosclerotic Cardiovascular Diseases.	J Atheroscler Thromb	19(3)	263-75	2012
Masuda D, Sugimoto T, Tsujii K, Inagaki M, Nakatani K, Yuasa-Kawase M, Tsubakio-Yamamoto K, Ohama T, Nishida M, Ishigami M, Kawamoto T, Matsuyama A, Sakai N, Komuro I, Yamashita S.	Correlation of fasting serum apolipoprotein B-48 with coronary artery disease prevalence.	Eur J Clin Invest.	42(9)	992-9	2012
Mugii S, Hanada H, Okubo M, Masuda D, Takeoka K, Hidaka Y, Ohama T, Matsuyama A, Nakagawa-Toyama Y, Nishida M, Ishigami M, Komuro I, Yamashita S.	Thyroid function influences serum apolipoprotein B-48 levels in patients with thyroid disease.	J Atheroscler Thromb	19(10)	890-6	2012
Yuasa-Kawase M, Masuda D, Kitazume-Taneike R, Yamashita T, Kawase R, Nakaoka H, Inagaki M, Nakatani K, Tsubakio-Yamamoto K, Ohama T, Toyama-Nakagawa Y, Nishida M, Ishigami M, Saito M, Eto M, Matsuyama A, Komuro I, Yamashita S.	Apolipoprotein B-48 to triglyceride ratio is a novel and useful marker for detection of type III hyperlipidemia after antihyperlipidemic intervention.	J Atheroscler Thromb	19(9)	862-71	2012
Masuda D, Nishida M, Arai T, Hanada H, Yoshida H, Yamauchi-Takahara K, Moriama T, Tada N and Yamashita S.	Reference Interval of Apolipoprotein B-48 Concentration in Healthy Japanese Individuals	J Atheroscler Thromb	in press		
Okubo M, Hanada H, Matsui M, Hidaka Y, Masuda D and Yamashita S.	Serum Apolipoprotein B-48 Levels Are Associated with Reduced Estimated Glomerular Filtration Rate and Increased Proteinuria	J Atheroscler Thromb	in press		