

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合研究報告書

原発性高脂血症に関する調査研究

研究分担者 大須賀淳一 自治医科大学内分泌代謝科 准教授

研究要旨

カイロミクロン血症の成因としてリポタンパクリパーゼ(LPL)の異常が頻度として高いが、この背景にはLPLの蛋白量や活性測定が確立していることがある。カイロミクロン血症の発現時期も関与する遺伝子異常により異なることがあり、治療方法・効果や予後を観察するうえで、成因分類は重要と考えられる。LPLに異常が認められない場合は、候補遺伝子アプローチの蓄積だけでは成因診断に至らないこともあるので、成因解明に向けてのブレイクスルーが期待される。

家族性高コレステロール血症(FH)の重症度分類は確立されていないので、冠動脈疾患の既往や頸動脈IMT、アキレス腱肥厚に影響を及ぼす因子について検討した。冠動脈疾患の既往は男性に多く、低HDL-C血症を伴っていることが多かった。男性に多い喫煙は頸動脈IMTとアキレス腱厚の増加と関連していた。また、頸動脈IMTと年齢は関連していた。頸動脈IMTとアキレス腱厚は冠動脈疾患の既往の有無で有意な差はなかったが、既往で肥厚する傾向を認めている。症例数を確保した前向きコホートで証明できれば、

A. 研究目的

原発性高脂血症の中で、カイロミクロン血症と家族性高コレステロール血症(FH)を中心に研究した。

カイロミクロン血症を呈する、I・V型高脂血症では、アポB含有リポタンパクの水解過程の障害がその原因として第一にあげられる。その中でもリポタンパクリパーゼ(LPL)欠損症やアポC-II欠損症は代表的な疾患で、遺伝子異常とともにその機能が明らかにされてきた。しかしながら、カイロミクロン血症をきたす原因として、LPL

やアポC-IIに変異が同定されないことも少なからずある。近年になって、アポA-V、ANGPLT4/3、GPIHBP-1、LMF1などがアポB含有リポタンパクの水解過程に重要な役割を担っていることが、ヒトの変異・欠損症や欠損動物モデルから明らかにされているので、候補遺伝子の異常の有無を緻密に解析した。

FHでは早発性動脈硬化性疾患を併発することが多いが、FHの重症度分類については確立されていない。一次予防の観点から、非侵襲的な動脈硬化検査法(頸動脈エコー、

CAVI など)が行われることがあるが、冠動脈プラークとの関連性については確立してはいない。また、動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012 年版のリスク区分は NIPPON DATA80 に基づくもので、FH が対象になっているわけではないので、適応することができない。FH ヘテロ接合体は頻度の高い疾患なので、重症度分類に基づく治療方針の決定が望まれる。本研究では FH の重症度に関連する因子について探索した。

B. 研究方法

1) トリグリセリド (TG) 値が 500 mg/dL 以上、リポタンパク電気泳動でカイロミクロンを認める脂質異常症の症例に対して、ヘパリン 30 単位/kg・体重を静注し 15 分後に採取した血漿を用い、LPL mass および活性を測定した。また、血清アポ C-II および A-V を測定した。低値を示す症例に関して、遺伝子解析を行った。

2) 自治医科大学附属病院の内分泌代謝科に通院している家族性高コレステロール血症患者 39 名を対象とし、頸動脈エコーを施行時点での併発症や臨床指標を調査して、関連性について検討した。

3) 栃木県における平成 23 年度の生活習慣等調査研究事業・脂質異常症患者に関する実態調査から原発性高脂血症の診療状況を調べた。

4) 結果は、平均 ± 標準偏差で表示し、 $p < 0.05$ を有意とした。統計解析には IBM SPSS Statistics version 20 を用いた。

C. 研究結果

1) カイロミクロン血症の病因解析

3 例の LPL 欠損症を見出したが、全て既知の変異であった。ASP204GLU のホモ型 (Gotoda T et al. J Clin Invest 88:1856,1991)、ASN43SER のホモ型 (Kobayashi J et al. Biochem Biophys Res Commun 205:506, 1994)、LPL-ARITA (916deIG) と SER447TER の複合ヘテロ型 (Takagi A et al. J Clin Invest 89:581,1992, Kobayashi J et al. Biochem Biophys Res Commun 182: 70,1992)。

血清 TG 値が 28,500 mg/dL を示した新生児で、アポ A-V 欠損症が疑われた症例があった。アポ A-V が TG 値に比して圧倒的に低値であったが、LPL 欠損症やアポ C-II 欠損症ではなかった。アポ A-V の VAL153MET と THR184SER を認めた。症例の父親は THR184SER を有し、母親は VAL153MET を有していたが、高 TG 血症は認めなかった。

また、アポ C-II 欠損症が疑われる症例があった。30 代半ばで高脂血症を指摘され、膵炎を繰り返していた。アポ C-II は通常のアッセイで測定感度以下であったが、高感度のイムノプロットでは正常と同じ分子量の蛋白が症例からも検出された。症例のアポ C-II 濃度は 0.6 mg/dL と計算された。DNA シークエンスを行ったが、エクソン及びその境界、5' -UTR、3' -UTR には変異が認められず、サザンプロットでも大きな欠失は認められなかった。

2) FH における冠動脈疾患の既往や頸動脈 IMT、アキレス腱肥厚に影響を及ぼす因子

男性 18 名、女性 21 名で、平均年齢は 52 歳だった。冠動脈疾患の既往は男性が有意に多く、また喫煙歴も男性に多かった。FH の家族歴が確認されていたのは 17.9%、早発性冠動脈疾患（男性 55 歳未満、女性 65 歳未満）は 15.4%に認められた。アキレス腱厚の平均は 12.3 mm で、男性が有意に厚かった。頸動脈エコーで測定した、Max IMT は 1.25 mm で、やはり男性で有意に肥厚していた。Mean IMT は 0.72 mm で、男女差は認めなかった。

男性に冠動脈疾患の既往が多い。アキレス腱や IMT については冠動脈疾患の既往症例で肥厚傾向にあるが、有意には達していなかった。また、冠動脈危険因子の関連性について Pearson の 2 検定を行ったが、冠動脈疾患の既往は低 HDL-C 血症との関連は認められたが、それ以外との関連はなかった。喫煙習慣はアキレス腱と頸動脈 IMT を肥厚させることが示された。各臨床指標との相関係数を調べたところ、年齢はアキレス腱と頸動脈 IMT の肥厚と相関していた。この相関は男女別にしても、頸動脈 IMT 肥厚は年齢と有意に相関していた。

3) 栃木県における原発性高脂血症の診療状況

7013 名の診療状況を集計した。FH と診断されているのは全体の 3.6%、III 型高脂血症は 4.1%と FH より高率であった。

D. 考察

カイロミクロン血症を呈した 5 症例について遺伝子解析を行った。

LPL 欠損症と診断しえたのは 3 例であった。いずれも LPL 活性は極めて低値であったことが手掛かりとなっている。見いだされた変異は全て既報のものであった。204 残基の ASP は種間で保存されるアミノ酸で酵素活性に必須とされている。43 残基の ASN は糖鎖修飾されるもので、LPL の成熟に重要であり、その変異により分泌障害が起こるとされている。エクソン 5 の 916 番目のヌクレオチドの G が欠損することでフレームシフトによる早期停止が起こる LPL-ARITA では mRNA は検出されないの、蛋白も当然検出されない。

アポ A-V の VAL153MET についてはレムナントの量には影響を及ぼさないことが報告されているので (Arterioscler Thromb Vasc Biol 26:1236,2006)、THR184SER が原因との可能性はあるが、父親も同じ遺伝子型にもかかわらず、TG 値は正常であった。母乳という高脂肪負荷により一過性にカイロミクロン血症が出現したとも考えられる。但し、THR184SER が影響を及ぼさないかどうかについては検討を要する。

アポ C-II 欠損症においては、エクソンには変異を見出すことはできなかった。アポ C-II の発現量を低下させる原因として、プロモーター領域も調べているが、現在のところ変異は見つかっていないので、trans-element の異常の可能性も考慮して、今後解析する必要がある。全ゲノムシーケンシングによるアプローチも必要かもしれない。

FH において、冠動脈疾患の既往は男性に

多く、低 HDL-C 血症を伴っていることが多かった。男性に多い喫煙は頸動脈 IMT とアキレス腱厚の増加と関連していた。また、頸動脈 IMT と年齢は相関していた。

一般に、高齢、男性、低 HDL-C 血症、喫煙習慣は動脈硬化を進展させる因子だが、FH においても再確認された。頸動脈 IMT とアキレス腱厚は冠動脈疾患の既往の有無で有意な差はなかったが、既往で肥厚する傾向を認めている。これまでの研究の結果でもアキレス腱の肥厚は冠動脈疾患発症のハイリスクであることが示されている。今回の調査は横断的であり、症例数も少ない。症例数を確保した前向きコホートで証明する必要がある。

本来、重症度分類は病理あるいは病態生理に基づいて設定されていることが多い。代謝指標は変動があるため、経時的観察を要する。こうした観点からも、頸動脈 IMT などを指標にした前向きコホートの結果が重症度分類の設定に必要と考えられる。

また、栃木県の脂質異常症患者の実態調査から、III 型高脂血症と診断されているものが 4.1%であった。FH は約 500 人に 1 人の頻度に対し、III 型高脂血症は約 1 万人に 1 人の頻度である。本調査では III 型高脂血症が FH(3.6%)より多くなっているため、診断が的確でない可能性が考えられる。

E. 結論

カイロミクロン血症の原因検索には、LPL 活性の測定が先決となること、LPL に異常が認められない場合の原因の同定は困難で

あることからカイロミクロン血症の成因は多様である。

FH において、高齢、男性、低 HDL-C 血症、喫煙習慣は動脈硬化を進展させる因子である。

また、原発性高脂血症の診断は適切にされていないので、非専門医に啓蒙する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1: Wang XL, Osuga J, Tazoe F, Okada K, Nagashima S, Takahashi M, Ohshiro T, Bayasgalan T, Yagyu H, Okada K, Ishibashi S. Molecular analysis of a novel LCAT mutation (Gly179 Arg) found in a patient with complete LCAT deficiency. *J Atheroscler Thromb.* 2011;18(8):713-9. Epub 2011 May 20.

2: Yagyu H, Nagashima S, Takahashi M, Miyamoto M, Okada K, Osuga J, Ishibashi S. Ezetimibe, an inhibitor of Niemann-Pick C1-like 1 protein, decreases cholesteryl ester transfer protein in type 2 diabetes mellitus. *Endocr J.* 2012 Dec 28;59(12):1077-84.

3: Okada K, Yagyu H, Kotani K, Yamazaki H, Ozaki K, Takahashi M, Nagashima S, Osuga J, Ishibashi S. Effects of miglitol versus sitagliptin on

postprandial glucose and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. Endocr J. 2013;60(7):913-22. Epub 2013 Apr 10.

4: Takase S, Osuga J, 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. 2013;20(5):481-93. Epub 2013 Mar 7.

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 なし