

2014/2044A

厚生労働省科学研究費補助金  
循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業  
(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策政策研究事業)

# non-HDL 等血中脂質評価指針及び脂質標準化 システムの構築と基盤整備に関する研究

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 寺本 民生

平成 27 (2015) 年 3 月

I. 構成員名簿

II. 総括研究報告書

non-HDL 等血中脂質評価指針及び脂質標準化システムの  
構築と基盤整備に関する研究

寺本 民生 ..... 1

III. 分担研究報告書

1. non-HDL コレステロールの臨床的意義に関するメタアナリシス

岡村 智教 ..... 1 1

2. non-HDL コレステロールの臨床的意義に関する文献レビュー

岡村 智教 ..... 3 7

3. non-HDL コレステロールの循環器疾患発症に対する予測

LDL コレステロールと総コレステロールとの比較 —吹田研究—

宮本 恵宏 ..... 6 3

4. non-HDL 等血中脂質評価指針及び脂質標準化システムの  
構築と基盤整備に関する研究

木山 昌彦 ..... 8 1

5. 一般住民における non-HDL-C 長期冠動脈疾患予測能および、  
潜在性冠動脈硬化との関連の検討

藤吉 朗 ..... 8 9

6. non-HDL 等血中脂質評価指針及び脂質標準化システムの  
構築と基盤整備に関する研究

三井田 孝 ..... 9 7

7. non-HDL 等血中脂質評価指針及び脂質標準化システムの  
構築と基盤整備に関する研究

西村 邦宏 ..... 1 0 7

8. 糖尿病患者に合併するレムナント蓄積に対する

シタグリプチン投与の有効性～アポ蛋白 B-48 濃度の改善効果

山下 静也 ..... 1 1 3

9. HDL コレステロールの基準分析法 (Ultracentrifugation 法) の  
測定精度について

中村 雅一 ..... 1 1 9

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 1 2 5

V. 研究成果の刊行物・別刷 ..... 1 3 1

# I. 構 成 員 名 簿

平成 26 年度  
 厚生労働科学研究費補助金  
 循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業  
 non-HLD 等血中脂質評価指針及び脂質標準化システムの  
 構築と基盤整備に関する研究

構成員名簿

区分	氏名	所属	職名
主任研究者	寺本 民生	帝京大学医学部 臨床研究医学講座	特任教授
分担研究者	岡村 智教	慶應義塾大学医学部 衛生学公衆衛生学	教授
	宮本 恵宏	国立循環器病研究センター 予防医学・免疫情報部	部長
	木山 昌彦	大阪がん循環器病予防センター	副所長兼 予防健診部長
	藤吉 朗	滋賀医科大学社会医学講座 公衆衛生学部門	准教授
	三井田 孝	順天堂大学大学院 臨床病態検査医学	教授
	西村 邦宏	国立循環器病研究センター 循環器病統合情報センター	室長
	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
	中村 雅一	国立循環器病研究センター 予防健診部 脂質基準分析室	室長

## II. 総括研究報告書

総括研究報告書

「non HDL 等血中脂質評価指針及び脂質標準化システムの構築と基盤整備に関する研究」

研究代表者 寺本民生 帝京大学医学部臨床研究医学講座 特任教授

研究要旨

本研究は、（１）わが国におけるnon HDLの冠動脈疾患（CAD）リスクとしての意義をLDL-Cとの比較という観点から疫学手法で検証、（２）どのような条件（患者背景・脂質レベル・採血時間など）で測定した場合にLDL-C直接法が信頼できるのか、（３）高脂血症のタイプや採血条件により直接法で測定したLDL-Cとnon HDLの関係が異なるのか、という3点を明らかにすることを目的とした。この目的完遂のため、昨年度から、疫学グループと臨床検査グループに分けて検討した。1. 疫学グループは、本年度は、non HDLのCAD予測因子としての意義を検討するため、昨年検討対象とした95件の論文に加え、2014年7月までの論文を精査の上、最終的に119件の論文が対象となった。このうち、LDL-Cもしくはnon HDLとCADとについて検討した論文が35件であった。このうち、non HDLの予測能がLDL-Cを凌駕するとして論文が21件、同等とした論文が14件であり、LDL-Cがnon HDLを凌駕するという論文はなかった。また、国内の4つの住民健診のコホート研究（NIPPON DATA 90、吹田コホート、CIRCS、岩手県北コホート）の結果をメタ解析し、non HDLとLDL-CのCADに対する予測能を検討した。対象者は416662名であり、追跡期間は6～18年であった。その結果、non HDLとLDL-Cの間で、予測能の差は認められなかった。以上、疫学研究のレベルからは、昨年度の検討と同様、non HDLのCADの予測能はLDL-Cに勝るとも劣らないということが証明された。2. 臨床検査グループは、本年度は、健常群と患者群から空腹時および食後に183検体を採取した。検体は、大阪大学と国立循環器病研究センターの2施設において、インフォームドコンセントを取得した者から採取した。血清を分離後に2本に分け、1本はCDCの基準法により、もう1本は直接法によりLDL-CとHDL-Cを測定した。直接法は、国内で最もよく使用されている上位4試薬を用いた。現在、対象者の背景を調査中で、昨年度の検討で測定した173検体のデータと合わせて詳細に解析を行う予定である。一方、欧米と我が国のTG値の差の原因である遊離グリセロールを、グリセロール未消去法とグリセロール消去法のTG値の差として測定した。遊離グリセロールには大きな個人差を認めた。次年度では、臨床的な背景と遊離グリセロールの関係を検討する計画である。

最終年度は、特定健診にnon HDLを導入することを前提に、基準値の設定を行う。

## A. 研究目的

本研究は、(1) わが国における non HDL の冠動脈疾患 (CAD) リスクとしての意義を LDL-C との比較という観点から疫学手法で検証、(2) どのような条件 (患者背景・脂質レベル・採血時間など) で測定した場合に LDL-C 直接法が信頼できるのか、(3) 高脂血症のタイプや採血条件により直接法で測定した LDL-C と non HDL の関係が異なるのか、という 3 点を明らかにすることを目的とする。最初の 2 年間で新鮮血を用いた LDL-C 直接法について標準的な BQ 法との比較での検討を行い、non HDL と LDL-C 直接法の関係を解析する。一方、疫学的には、わが国で既に報告されている疫学研究の中から non HDL と、比較できる LDL-C のあるものを選定し、メタ解析などの手法を用いて、わが国における CAD 発症の予測因子としていずれが優れるのか検討する。これらの検討により、将来 non HDL が特定健診で用いる指標として相応しいのか提言できる情報を提供する。また、現行の LDL-C 直接法の適用範囲を求め、従来の情報の有効活用を検討する。

2 年間の研究結果をもとに、特定健診に non HDL を導入することを前提に、その基準値や受診勧奨の値を決定することも目的とする。

## B. 研究方法

1. 疫学的検討: 本研究における文献選定基準は昨年と同様の基準に従った。基本的には 1990 年以降、2014 年 7 月までの国内外の文献から LDL-C と non HDL の CAD 発症予測を比較検討しているものを網羅することとした選択した。

さらに文献の漏れ等を防ぐために上記の検索条件から” Human” の条件 (MESH) を外した検索式で再度 2013 年 9 月 1 日～2014 年 7 月 31 日までの文献を検索した。

また、国内の 4 つのコホート研究 (NIPPON DATA90、吹田コホート、CIRCS、岩手県北コホート) の協力を得て、non HDL の CAD 発症予測能親日その LDL-C との比較を実際のデータを用いて具体的に行う。本研究のエンドポイントは心筋梗塞、冠動脈疾患 (少なくとも心筋梗塞を含む)、脳卒中 (= 脳梗塞+脳出血+くも膜下出血+分類不能)、脳梗塞、全循環器疾患 (少なくとも脳卒中と心筋梗塞を含む) の死亡 (NIPPON DATA90) または発症 (その他の 3 コホート) とした。LDL-C、Non HDL については、①39mg/dl ( $\equiv$ 1mmol/L) 増加に対するエンドポイント増加の相対リスク ②日本動脈硬化学会 (JAS) のカットオフ基準 (スクリーニング基準) に基づくエンドポイント増加の相対リスク (LDL-C : 140mg/dl 未満に対する 140mg/dl 以上の相対リスク/Non HDL : 170mg/dl 未満に対する 170mg/dl 以上のエンドポイント増加の相対リスク) ③ATP-III のカットオフ基準に基づくエンドポイント増加の相対リスク (LDL-C : 160mg/dl 未満に対する 160mg/dl 以上の相対リスク/Non HDL : 190mg/dl 未満に対する 190mg/dl 以上のエンドポイント増加の相対リスク) の 3 パターンについて検討した。また、参考として総コレステロール(TC)についても、JAS 基準(カットオフ値 220mg/dl)、ATP-III 基準(カットオフ値 240mg/dl)に基づく相対リスクを推定した。

個々のコホート研究での相対リスク (ハザード比) は男女計及び男女別に Cox 比例ハザ

ードモデルを用いて推定し、性別（男女計のみ）、年齢、HDL コレステロール (HDL-C)、高血圧の有無（収縮期血圧 $\geq 140\text{mmHg}$  or 拡張期血圧 $\geq 90\text{mmHg}$  or 降圧薬服用）、糖尿病の有無（随時血糖 $\geq 200\text{mg/dl}$  or 空腹時血糖 $\geq 126\text{mg/dl}$  or  $\geq \text{HbA1c } 6.1\%$  (JDS 値) or 血糖降下薬等の使用）、現在喫煙の有無、現在飲酒の有無、BMI を調整変数として用いた。また、サンプルサイズの的に可能であれば 65 歳未満と 65 歳以上の群に層別化して、同様の解析を行った。

上記の手法を用いて個々のコホートから得られた多変量調整ハザード比は、Random effect model である DerSimonian-Liard 法を用いて結果の統合を行い、異質性の検討は Cochrane Q 検定及び I<sup>2</sup> 値にて行い、Cochrane Q 検定の結果が  $p < 0.05$  もしくは I<sup>2</sup> 値が 40% を超える場合、異質性を無視できないと考えた。

## 2. 臨床検査学的検討

a) LDL-C 直接法の正確性とその使用適正条件の検討：

国立循環器病研究センターと大阪大学医学部附属病院において、成人被験者から、食後の絶食時間に関わらず静脈血を採取した。血清を分離後、2 本に分けた。これらの検体は、4°C 以下に保って 24 時間以内に直接法または RMP 法で LDL-C と HDL-C を測定した。

2 本に分けた検体のうちの 1 本は、国立循環器病研究センター予防健診部の脂質基準分析室（国内で唯一 CDC の認証を受けている）に送った。超遠心法で 1.006 より軽い分画をチューブスライサーで除去した上層（分画①）と、その下層にヘパリン・マンガンを添加してアポ B 含有リポ蛋白も除去した上清を得た（分画②）。分画①と②のコレステロール

濃度は Abell-Kendall 法で定量した。LDL-C は [分画①のコレステロール濃度] - [分画②のコレステロール濃度] で求め、分画②のコレステロール濃度を HDL-C とした。

2 本に分けた血清のうちもう 1 本は、京都府立医科大学検査部へ 4°C 以下で凍結しないように輸送した。先行研究と同じ分析機である Hitachi 7170 を用いて、4 社の LDL-C および HDL-C 直接法で LDL-C および HDL-C を測定した。

b) グリセロール未消去法と消去法の 2 種類の TG 測定試薬を用いた遊離グリセロール測定の検討：

生化学検査の残余血清を用いて、血清 TG 値を、グリセロール未消去法とグリセロール消去法の 2 法で測定した。両者の差を、遊離グリセロール濃度とし、その分布を調べた。また、一部の検体は凍結保存し、後日に遊離グリセロール測定と同時に、遊離脂肪酸濃度も測定し、両者の関係を調べた。

（倫理面への配慮）

無作為抽出した者のうち口頭による事前説明を行った後、書面での同意を得た者が本コホートの対象者である。また、本コホート研究は滋賀医大の倫理委員会の査定後、承認を得ている（No.17-19、No.17-83）。

## C. 結果

1. 疫学的検討：今年度は、検索式の条件で 121 件、検索式から” Human” を外した条件で 191 件の論文が新たに選定された（重複あり）。これを各研究分担者等に送付し、昨年度選定済みのものを除くと計 19 件がエビデンステーブル作成の対象となった。昨年度（2013 年度）は 1085 件の論文が選定さ

れ、100 件の論文についてエビデンステーブルが作成されており、今年度と合わせると計 119 件のエビデンステーブルが作成された。

この 119 件の文献から、①特定健診対象者のセッティングが近い（地域、職域、健診受診者の集団など）、②エンドポイントが脳・心血管疾患、冠動脈疾患（心筋梗塞）、心不全、冠動脈石灰化、頸動脈 IMT、糖尿病のいずれか、③Non-HDL または LDL-L のいずれかがこれらのエンドポイントと関連を示しているものを選定すると 35 件が該当した。研究の行われた地域の内訳は、日本 4 件、東アジア 1 件、非アジア（欧米）30 件であった。そして Non HDL の予測能が LDL-C より優れるという論文が 21 件（日本人集団の論文は 1 件）、両者の予測能に差はないという論文が 14 件（日本人集団の論文は 3 件）であり、LDL-C の予測能が Non-HDL-C を凌駕するという論文はなかった。

## 2、国内地域コホートのメタ解析

解析対象者の総数は 41,662 名（男性 15,372 名／女性 26,290 名）、追跡期間は 6 年（岩手）～18 年（NIPPON DATA90）であった。

JAS 基準によるスクリーニング値を閾値とした解析では、LDL-C、Non-HDL-C、HDL-C、TC の心筋梗塞に対する予測能は同程度であると考えられる。また、ATP-III 基準を用いた解析でも同様の結果であった。

男女別に検討したところ、女性では、男性と異なり LDL-C、Non-HDL-C、TC のいずれも心筋梗塞と有意な関連が見られなかった。また、女性では男性と比べて研究間の異質性が高い傾向にあった。

一方、脳卒中および脳梗塞については、男女共に有意な関連は見られなかった。

また、65 歳未満及び 65 歳以上に対する年齢階層別の検討では、個々の年齢層におけるイベント発生数が十分ではないために、安定した結果を得ることができなかった。

## 3. 臨床検査学的検討

a)LDL-C 直接法の正確性とその使用適正条件の検討：

2 施設において、合計で 183 人からサンプルを採取した。TG 値は、最大値が 1,518 mg/dL、最小値は 31 mg/dL であった。解析対象となる TG が 1,000 mg/dL 未満の検体は 180 例で、前回の検体数と合わせると 353 例となった。また、LDL-C 直接法の正確性に試薬間の性能の差が大きかった 400 mg/dL 以上の高 TG 血症の検体は 10 例（5.6%）を占めた。

次に、採取した検体の LDL-C 値の分布を同様に調べた。LDL-C が 300 mg/dL 以上の高度な高 LDL-C 血症の検体は認めなかった。しかし、家族性高コレステロール血症のヘテロ型の典型例に認められる 200～299 mg/dL の高 LDL-C 血症検体は、6 例（3.3%）であった。前回の検討と合わせると、この範囲の検体数は 10 例となった。Miller らの検討では、200 mg/dL 以上の高 LDL-C 血症の検体が 5 例しかなく、日常臨床で遭遇する LDL-C の範囲を十分にカバーしていないと思われた。一方、50 mg/dL 未満の低 LDL-C 血症の検体は 3 例（1.7%）しかなく、Miller らの検討では 13 例もあり、低 LDL-C 血症の頻度（7.4%）高すぎると思われた。

最後に、採取した検体の HDL-C の分布を検討した（表 2）。HDL-C 値は、最大値が 239 mg/dL、最小値は 15 mg/dL だった。HDL-C が 100 mg/dL 以上で、本検討の除外対象となる検体が 7 例と多く、前回と合わせ

ると 13 例になった。また、HDL-C が 20 mg/dL 未満の症例は 1 例のみであった。Miller らの検討では、著明な高 HDL-C 血症は 1 例のみだったが、逆に低 HDL-C 血症が 4 例あり、頻度が高すぎると考えられた。

#### b) TG の標準化に関する検討：

外来および入院患者の生化学検体の残余検体 94 例について、グリセロール未消去法と消去法による TG 値の差として、遊離グリセロール濃度の分布を測定した。平均は 6.0 ± 5.4 mg/dL であった。10 mg/dL 以上の値を示す検体が 18 例 (19.1%) 認められ、なかには 20 mg/dL 以上の高い値を示す検体もあった。一部の症例では、遊離グリセロールがマイナスとなり、検体中の干渉物質の影響が疑われた。

94 例中 52 例については、遊離グリセロール濃度と遊離脂肪酸濃度を同時に測定した。両者の間には、有意な正の相関を認めた ( $Y = 0.0435X + 0.368$ ,  $R = 0.701$ ,  $p < 0.0001$ )。

#### D. 考察

疫学的検討：1990 年以降、non-HDL コレステロールの臨床的意義に関するエビデンスは着実に蓄積されていた。そして健診集団と近い非患者の一般集団の研究に限っても 35 件あり、日本におけるエビデンスも 4 件あった。論文の数としては、Non-HDL-C の予測能が LDL-C より優れるという論文が多いが、これらには Publication Bias が考えられ、Non-HDL-C の予測能が高いという結論の論文のほうが公表されやすい傾向にあると考えられる。また日本のエビデンスに限ると 4 つのうち 3 つまでもが両者の予測能に差はないという結果であった。以上のことから文献レビューの結論としては、「プライマリ

ケアのセッティングで、Non-HDL-C の脳・心血管疾患等のイベント予測能は LDL-C と同等(もしくは優れるかもしれない)と考えられた

なお尤度比検定などを用いて non-HDL-C と LDL-C の予測能を直接比較した 9 件の文献において、ほとんどの研究で LDL-C の測定法としては Friedewald 式を用いていた。したがって LDL-C を直接法で測定した場合の発症予測能と Non-HDL-C の発症予測能についてはほとんど検証されていない。

いずれにせよ、Non-HDL-C のプライマリアでの検査項目としての有用性に関するエビデンスについては今後さらに集積が必要である。また現状のエビデンスはほとんどが観察研究 (コホート研究) に基づいており、無作為化比較試験において Non HDL の治療効果を検証した文献はない。ただし既存の多くの臨床試験で、総コレステロールと HDL-C の測定はなされているため、既存データの再解析等を行えば容易に検証は可能と考えられた。

なお現在の日本動脈硬化学会等の内外のガイドラインでは、Non-HDL-C の基準値は、LDL-C プラス 30mg/dl とされている。これは Non HDL が LDL-C の管理目標値達成後の二次目標とされているためであり、対象者の TG が 150mg/dl 以上あることが前提となっている。しかしながら、今後、Non-HDL-C を LDL-C の代わりに一次予防の指標として用いるとすると、全員が高 TG 血症を有するわけではないため、Non-HDL-C について健診用の基準値が必要とされる。吹田研究においては Non-HDL と LDL-C の心筋梗塞の発症予測能は同等であることが示されているが、Non-HDL-C と LDL-C 値のカットオフ

ポイントの対応については検証されていない。今後、この分野でも再検討が必要となるであろう。

臨床検査学的検討：LDL-C と HDL-C の直接法は、リポ蛋白中のコレステロール濃度を測定する検査である。1990年代に、我が国の試薬メーカーが、前処理をせず血清を使って直接これらを測定する方法を発表した。それまでは、LDL-C は研究室レベルで行われている超遠心法か計算式で、HDL-C も超遠心法か前処理を必要とする沈殿法でしか定量できなかった。現在では、LDL-C と HDL-C 直接法は、健診や医療施設におけるルチン検査として一般に使用されるようになった。

しかし、化学的な純物質が存在するコレステロールとは異なり、LDL-C や HDL-C 直接法は、標準物質を用いて精度管理することができない。さらに、直接法では、凍結検体や長期保存検体を用いると、マトリックス効果のために新鮮検体とは異なった測定値となることが知られている。そこで、本検討では、これまでの検討と同様に、新鮮な検体を新たに採取して正確性を検討することにした。検体の輸送・保存方法、測定手技（大型自動分析機のメーカーと型番号なども含め）を前回と同様に行い、我が国で行われた検討結果を合わせて解析できるように計画した。

前回の検討では、TG が 1,000mg/dL 以上、HDL-C が 100 mg/dL 以上、LDL-C または HDL-C が 20 mg/dL 未満の場合に、直接法の正確性を検討する対象から除外した。しかし、この範囲内であっても、I 型 (n=1) および III 型高脂血症 (n=2) では、CDC の RMP 法と直接法の LDL-C の間に乖離が認められた。直接法は、LDL や HDL の組成が正常の

粒子と著しく異なる場合に、異なる試薬間での測定値にばらつきが生じる。現在、今回の検討で集めた解析対象者の背景因子を調査中である。従来、胆汁うっ滞性肝疾患では直接法でうまく LDL-C や HDL-C を測定できないことが知られている。今回の検討で、直接法を使用すべきでないその他の疾患群を明確にすることが期待される。また、前回と今回のデータを一緒に解析することにより、食後検体でも LDL-C と HDL-C 直接法が正確であるか、結論を出すことができると考えられる。

今年度から、TG 測定に関連して、遊離グリセロールの検討を新しく開始した。臨床検体において、遊離グリセロール濃度の個人差が予想以上に大きいこと、遊離グリセロール濃度と遊離脂肪酸濃度が有意に正相関することが示された。一般に、遊離脂肪酸は空腹時に高く、食事摂取で低下する。これは、空腹時に分泌が高まるカテコラミンの作用で、脂肪組織の TG がグリセロールと遊離脂肪酸に分解されるためと推定されている。以上の結果から、空腹時の遊離グリセロールは、脂肪組織の TG の分解を反映している可能性が考えられる。したがって、TG 測定法をグリセロール消去法からグリセロール未消去法に変えた場合、リポ蛋白由来でない TG (すなわち脂肪組織由来の TG) を血清 TG として測りこむ危険性があることがわかった。また、遊離グリセロール濃度に個人差が大きいため、HbA1c の国際標準化で行ったように、一律に一定の値を加えて補正することができないことも示唆された。次年度では、肥満の有無や食事後の絶食時間なども加味して、遊離グリセロールを TG として測定すべきか否かさらに検討する予定である。

## E. 結論

文献レビューで選定された 119 件の前向き研究のうち、特定健診対象者と属性に近い集団に限定した 35 件の文献を精査した。その結果、出版バイアスの影響等を考慮すると、Non-HDL-C の循環器系・代謝系疾患の発症予測能は LDL-C と同等と考えられ、簡便性やコストを考えると Non-HDL-C は有用であると考えられた。ただし無作為化比較対照試験でのエビデンスは少なく、すぐに LDL-C の代替指標になるかどうかは未知数な点も残る。

また、国内コホート研究のメタ解析から、男性ではコレステロール 1 mmol/L (39mg/dl) の増加に対するリスク、JAS 基準に基づくリスク、ATP III 基準に基づくリスク、いずれの場合も LDL-C、Non-HDL-C とともに特に心筋梗塞の発症もしくは死亡と有意な関連を示し、異質性も確認されなかった。女性においてはそもそもエンドポイントとの有意な関連が明瞭ではなく、異質性も高かった。男女計では、イベント数の多い男性と同様となったが、39mg/dl 増加に対するリスクでは男女差による顕著な異質性が見られた。

また、LDL-C と Non HDL の心筋梗塞の発症もしくは死亡に対する相対リスクは、39mg/dl 増加に対して約 1.5、各学会基準のカットオフ値以上で約 2.0 であり、両者で差を認めず、ほぼ同等の予測能であることが示された。

LDL-C と HDL-C 直接法の正確性について信頼性のある結論を得るために、適切な検体収集をすることができた。比較対照法である CDC の基準測定法で、一週間に最大 10 本までしか LDL-C と HDL-C の測定ができない

ことと、TG、LDL-C、HDL-C の 3 項目について解析のために望ましい値の範囲の検体を集めるのが困難であったため、検体収集に時間がかかってしまった。次年度には、前回の検討で得られた結果と合わせて、Error Component Analysis を行う予定である。

また、遊離グリセロールについての検討では、グリセロール未消去法とグリセロール消去法の 2 つの TG 値の差として、遊離グリセロール値を求めることの妥当性が検証できた。次年度は、遊離グリセロールと絶食時間の関係、ヘパリン使用者において様々な条件下で保存した検体を二法で測定した TG 値の安定性、肥満や内服薬等が遊離グリセロールに与える影響などを検討する計画である。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Hirayama A, Honarpour N, Yoshida M, Yamashita S, Huang F, Scott M W, Asserman, Teramoto T. Effects of Evolocumab (AMG145), a Monoclonal Antibody to PCSK9, in Hypercholesterolemia, Statin-Treated Japanese Patients at High Cardiovascular Risk - Primary Results From the Phase 2 YUKAWA Study- Circulation Journal 78(5):1073-1082, 2014
2. The STABILITY Investigators, White HD, Held C, Stewart R, Tarka E, Brown R, Davies RY, Budaj A, Harrington RA, Steg PG, Ardissino D, Armstrong PW, Avezum A, Aylward

- PE, Bryce A, Chen H, Chen MF, Corbalan R, Dalby AJ, Danchin N, De Winter RJ, Denchev S, Diaz R, Elisaf M, Flather MD, Goudev AR, Granger CB, Grinfeld L, Hochman J S, Husted S, Kim HS, Koenig W, Linhart A, Lonn E, López-Sendón J, Manolis AJ, Mohler ER 3rd, Nicolaou JC, Pais P, Parkhomenko A, Pedersen TR, Pella D, Ramos-Corrales MA, Ruda M, Sereg M, Siddique S, Sinnaeve P, Smith P, Sritara P, Stewart HP, Sy RG, Teramoto T, Tse HF, Watson D, Weaver WD, Weiss R, Viigimaa M, Vinereanu D, Zhu J, Cannon CP, Wallentin L. Darapladib for Preventing Ischemic Events in Stable Coronary Heart Disease. *N Engl J Med* 370(18):1702-1711,2014
3. Teramoto T, Masakazu T, Yoji M, Giacomo R, Kathryn A. Krueger. Efficacy, safety, tolerability, and pharmacokinetic profile of evacetrapib administered as monotherapy or in combination with atorvastatin in Japanese patients with dyslipidemia. *Am J Cardiol.* 133(12):2021-2029,2014
  4. Naveed A.Sattar, Henry Ginsberg, Kaushik Ray, M. John Chapman, Marcello Arca, Maurizio Averna, D. John Betteridge, Deepak Bhatnagar, Elena Biliano, Rafael Carmena, Richard Ceska, Alberto Corsini, Raimund Erbel, Paul D. Flynn, Xavier Garcia-Moll, Janusz Gumpracht, Ishibashi S, Selim Jambart, John J.P. Kastelein, Vincent Maher, Pedro Marques da Silva, Luis Masana, Odawara M, Terje R. Pedersen, Carlo Maria Rotella, Ibrahim Salti, Teramoto T, Lale Togooglu, Peter P. Toth, Paul Valensi, Bruno Verges. The use of statins in people at risk of developing diabetes mellitus: Evidence and guidance for clinical practice. *Atherosclerosis Supplements* XX:1-15,2014
  5. Teramoto T, Kawamori R, Miyazaki S, Teramukai S, Sato Y, Okuda Y and Shirayama M. Lipid and Blood Pressure Control for the Prevention of Cardiovascular Disease in Hypertensive Patients: A Subanalysis of the OMEGA Study. *J Atheroscler Thromb* 21,2014
  6. Nakamura M, Yokoyama S, Kayamori Y, Iso H, Kitamura A, Okamura T, Kiyama M, Noda H, Nishimura K, Nakai M, Koyama I, Mahnaz D, Hubert W, Teramoto T, Miyamoto Y. HDL cholesterol performance using an ultracentrifugation reference measurement procedure and the designated comparison method. *clinica chimica Acta.* 439:185-190,2015
  7. Ikeda Y, Shimada K, Teramoto T, Uchiyama S, Yamazaki T, Oikawa S, Sugawara M, Ando K, Murata M, Yokoyama K, Ishizuka N. Low-Dose Aspirin for Primary Prevention of Cardiovascular Events in Japanese Patients 60 Years or Older With Atherosclerotic Risk Factors. A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 312(23):2510-20,

- 2014
8. Miida T, Nishimura K, Okamura T, Hirayama S, Ohmura H, Yoshida H, Miyashita Y, Ai M, Tanaka A, Sumino H, Murakami M, Inoue I, Kayamori Y, Nakamura M, Nobori T, Miyazawa Y, Teramoto T, Yokoyama S. Validation of homogeneous assays for HDL-cholesterol using fresh samples from healthy and diseased subjects. *Atherosclerosis*, 233(1), 253-259, 2014.
  9. Yamaguchi S, Zhang B, Tomonaga T, Seino U, Kanagawa A, Nagasaka H, Suzuki A, Miida T, Yamada S, Sasaguri Y, Doi T, Saku K, Okazaki M, Tochino Y, Hirano K. Selective evaluation of high density lipoprotein from mouse small intestines by an in situ perfusion technique. *J Lipid Res*, 55(5), 905-918, 2014.
  10. Yokoyama S, Ueshima H, Miida T, Nakamura M, Takata K, Fukukawa T, Goto T, Harada-Shiba M, Sano M, Kato K, Matsuda K. High-density lipoprotein levels have markedly increased over the past twenty years in Japan. *J Atheroscler Thromb*, 21(2), 151-160, 2014.
  11. Idei M, Hirayama S, Miyake N, Kon M, Horiuchi Y, Ueno T, Miyake K, Sato N, Yoshii H, Yamashiro K, Onuma T, Miida T. The mean postprandial triglyceride concentration is an independent risk factor of carotid atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *Clin Chim Acta*, 430, 134-139, 2014.
  12. Tabe Y, Jin L, Konopleva M, Shikami M, Kimura S, Andreeff M, Raffeld M, Miida T. Class IA PI3K inhibition inhibits cell growth and proliferation in mantle cell lymphoma. *Acta Haematol*, 131(1), 59-69, 2014.
  13. Shoji H, Murano Y, Mori M, Matsunaga N, Ohkawa N, Suganuma H, Ikeno M, Hisata K, Hirayama S, Ueno T, Miida T, Shimizu T. Lipid profile and atherogenic indices soon after birth in Japanese preterm infants. *Acta Paediatr*, 103(1), 22-26, 2014.
  14. Nagasaka H, Tsukahara H, Okano Y, Hirano K, Sakurai T, Hui S-P, Ohura T, Usui H, Yorifuji T, Hirayama S, Ohtake A, Miida T. Changes of lipoproteins in phenylalanine hydroxylase-deficient children for the first early of life. *Clin Chim Acta*, 433, 1-4, 2014.
  15. Nishioka E, Yokoyama K, Matsukawa T, Vigeh M, Hirayama S, Ueno T, Miida T, Makino S, Takeda S. Evidence that birth weight is decreased by lead at its maternal levels below 5µg/dl in male but not in female newborns. *Reprod Toxicol*, 47, 21-26, 2014.
  16. Ikeda N, Shoji H, Murano Y, Mori M, Matsunaga N, Suganuma H, Ikeno M, Hisata K, Hirayama S, Ueno T, Miida T, Shimizu T. Effects of

breastfeeding on the risk factors for metabolic syndrome in preterm infants. *J Dev Orig Health Dis*, 5(6), 459-464, 2014.

17. Miller WG, Myers GL, Sakurabayashi I, Nakamura M, et al. Seven direct methods for measuring HDL and LDL cholesterol compared with ultracentrifugation reference measurement procedures. *Clin Chem* 2010;56:977-986.
18. Nakamura M, Iso H, Kitamura A, et al. Total cholesterol performance of Abell-Levy-Brodie-Kendall reference measurement procedure: Certification of Japanese in-vitro diagnostic assay manufacturers through CDC's Cholesterol Reference Method Laboratory Network. *Clin Chim Acta* に投稿中

## 2. 学会発表

1. Lipoprotein Particle Profiles by Nuclear Magnetic Resonance, Standard Lipids and Coronary Artery Calcification in a Japanese General Population: the Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis (SESSA)

2. Relationship of High-density Lipoprotein Cholesterol and Particle Concentrations with Subclinical Carotid Atherosclerosis in Japanese Men

上記2演題とも、第45回日本動脈硬化学会にて発表[平成25年7月18-19日、於：新宿]

3. 岡村智教. 動脈硬化性疾患予防のための脂質異常症の管理: 最新の疫学知見と日米の

ガイドラインから. *東京都医師会雑誌* 67(10): 1283-1290, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし。

### Ⅲ. 分 担 研 究 報 告 書

「non-HDL 等血中脂質評価指針及び脂質標準化システムの構築と基盤整備に関する研究」

Non-HDL コレステロールの臨床的意義に関するメタアナリシス

分担研究者 岡村智教 慶應義塾大学医学部 衛生学公衆衛生学  
木山昌彦 大阪がん循環器病予防センター  
宮本恵宏 国立循環器病研究センター 予防健診部/予防医学疫学情報部  
藤吉 朗 滋賀医科大学 社会医学講座 公衆衛生学部門

研究協力者 杉山大典 慶應義塾大学医学部 衛生学公衆衛生学  
村木 功 大阪がん循環器病予防センター  
竹上未紗 国立循環器病研究センター予防医学疫学情報部  
伊藤隆洋 滋賀医科大学 社会医学講座 公衆衛生学  
丹野高三 岩手医科大学 衛生学公衆衛生学  
田中文隆 (岩手医科大学医学部内科学講座 心血管・腎・内分泌内科分野)  
岩手県北地域コホート研究グループ \*  
(\* 章末にリストを記載)

研究要旨: LDL コレステロール(LDLC)と Non-HDL コレステロール(Non-HDLC)の脳・心血管疾患に対する発症・死亡イベントに対する予測能について、国内4か所の地域住民のコホート研究の結果から、メタアナリシスの手法を用いて比較検討した。対象としたのは、NIPPON DATA90、吹田コホート、CIRCS (Circulatory Risk in the Communities)、岩手県北コホートの4コホートであり、エンドポイントは心筋梗塞、冠動脈疾患、脳卒中、脳梗塞、全循環器疾患の発症または死亡とした。解析対象者数は 41,662 名(男性 15,372 名/女性 26,290 名)、追跡期間は 6 年(岩手)~18 年(NIPPON DATA90)である。除外基準は、①40 歳未満もしくは 75 歳以上、②脳・心血管疾患の既往、③脂質低下薬の服用、④欠損値のある者、⑤トリグリセライド 400mg/dl 以上、である。相対リスクの推計は Cox の比例ハザードモデルで行い、性別(男女計のみ)、年齢、HDL コレステロール、高血圧、糖尿病、喫煙、飲酒、BMI を調整変数として用いた。個々のコホートから得られた多変量調整ハザード比を DerSimonian-Liard 法で統合した。異質性の検討は Cochrane Q 検定及び I<sup>2</sup> 値にて行い、Cochrane Q 検定の結果が p<0.05 もしくは I<sup>2</sup> 値が 40%を超える場合、異質性を無視できないとした。男性においては 39mg/dl 増加に対するリスク、JAS 基準に基づくリスク、ATP III 基準に基づくリスク、いずれの場合も LDL、Non-HDL ともにエンドポイントと有意な関連を示し、異質性も確認されなかった。女性においてはエンドポイントとの有意な関連が明瞭ではなかった。男女計では、イベント数の多い男性と同様となったが、39mg/dl 増加に対するリスクでは男女差による顕著な異質性が見られた。LDLC と Non-HDLC の心筋梗塞に対する相対リスクは、39mg/dl 増加に対して約 1.5、各学会基準のカットオフ値以上で約 2.0 であり、両者で差を認めなかった。

A.. 研究目的

『動脈硬化性疾患ガイドライン 2012 年版』  
では<sup>[1]</sup>、Non-HDL コレステロール (Non-HDLC)

をLDLCの管理目標達成後の二次目標としている。また食後採血の場合やTG高値の場合には、LDLCではなくNon-HDLCによるリスク評価を推奨している。血清総コレステロールとHDLCは、食事の影響を比較的受けにくく、また、日本の臨床検査室における測定精度も高く、LDLCに比べて運用性・妥当性の高い検査項目と考えられる。さらにNon-HDLCはレムナントリポ蛋白に代表される動脈硬化惹起性リポ蛋白を全て含む指標となるため、健診などプライマリアケア時のスクリーニング指標としてLDLCに代わりNon-HDLCを用いることも一考の余地がある。特に条件を選ばず使いやすい指標として登場したLDLCの直接測定法の精度が不十分であるとの指摘がなされた現状においては<sup>[2]</sup>、Non-HDLCの重要性はますます高まっている。しかしNon-HDLCとLDLCの発症予測能について国内で比較した研究は少ない。

そこで国内の4つの研究:吹田コホート、NIPPON DATA90、岩手県北コホート、CIRCS (Circulatory Risk in the Communities)の結果から、LDLコレステロール(LDLC)とNon-HDLコレステロール(Non-HDL)の循環器イベントに対する発症予測能をメタアナリシスの手法を用いて比較検討することとした。

なお、今回協力を要請した4つのコホートはすべて日本の代表的なコホートとして、動脈硬化性疾患予防ガイドライン2012年版で紹介されている。

## B. 研究方法

本研究のエンドポイントは心筋梗塞、冠動脈疾患(少なくとも心筋梗塞を含む)、脳卒中(=脳梗塞+脳出血+くも膜下出血+分類不能)、脳梗塞、全循環器疾患(少なくとも脳卒中と心筋梗塞を含む)の死亡(NIPPON

DATA90)または発症(その他の3コホート)とした。

LDLC、Non-HDLCについては、①39mg/dl(≒1mmol/L)増加に対するエンドポイント増加の相対リスク ②日本動脈硬化学会(JAS)のカットオフ基準(スクリーニング基準)に基づくエンドポイント増加の相対リスク(LDLC:140mg/dl未満に対する140mg/dl以上の相対リスク/Non-HDLC:170mg/dl未満に対する170mg/dl以上のエンドポイント増加の相対リスク) ③ATP-IIIのカットオフ基準に基づくエンドポイント増加の相対リスク(LDLC:160mg/dl未満に対する160mg/dl以上の相対リスク/Non-HDLC:190mg/dl未満に対する190mg/dl以上のエンドポイント増加の相対リスク)の3パターンについて検討した。また、参考として総コレステロール(TC)についても、JAS基準(カットオフ値220mg/dl)、ATP-III基準(カットオフ値240mg/dl)に基づく相対リスクを推定した。

各コホートにおける除外基準として、以下の条件を設定した。

- ① ベースライン時点で40歳未満もしくは75歳以上の参加者(対象者を特定健診の年齢範囲に合わせるため)。
- ② ベースライン時点で心血管疾患の既往のある参加者(一次予防のセッティングにするため)。
- ③ ベースライン時点で脂質降下薬を服用している参加者。
- ④ 使用すべき変数に欠損値のある参加者。
- ⑤ トリグリセライド400mg/dl以上の参加者。

また、①~⑤の条件に空腹条件を加えた対象者に対する解析も同時に実施した。

個々のコホート研究での相対リスク(ハザード比)は男女計及び男女別にCox比例ハザードモデルを用いて推定し、性別(男女計の

み)、年齢、HDL コレステロール (HDLc)、高血圧の有無 (収縮期血圧 $\geq 140$ mmHg or 拡張期血圧 $\geq 90$ mmHg or 降圧薬服用)、糖尿病の有無 (随時血糖 $\geq 200$ mg/dl or 空腹時血糖 $\geq 126$ mg/dl or  $\geq$ HbA1c 6.1% (JDS 値) or 血糖降下薬等の使用)、現在喫煙の有無、現在飲酒の有無、BMI を調整変数として用いた。また、サンプルサイズの的に可能であれば 65 歳未満と 65 歳以上の群に層別化して、同様の解析を行った。

上記の手法を用いて個々のコホートから得られた多変量調整ハザード比は、Random effect model である DerSimonian-Liard 法を用いて結果の統合を行い、異質性の検討は Cochrane Q 検定及び I<sup>2</sup> 値にて行い、Cochrane Q 検定の結果が  $p < 0.05$  もしくは I<sup>2</sup> 値が 40% を超える場合、異質性を無視できないと考えた。

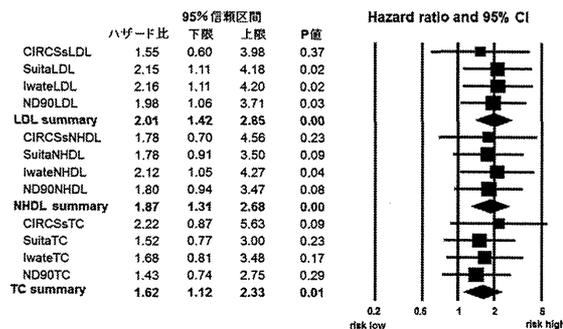
### C. 研究結果

解析対象者の総数は 41,662 名 (男性 15,372 名 / 女性 26,290 名)、追跡期間は 6 年 (岩手) ~ 18 年 (NIPPON DATA90) であった。表 1 (1) ~ 1 (5) にエンドポイント別の対象者数及びイベント発生数をまとめた。

非空腹時条件におけるエンドポイント別の統合結果の要約を表 2 (1) ~ 2 (5) にまとめた。

その中から、心筋梗塞に対する JAS 基準を基にした男性の解析結果を示す (図 1)。

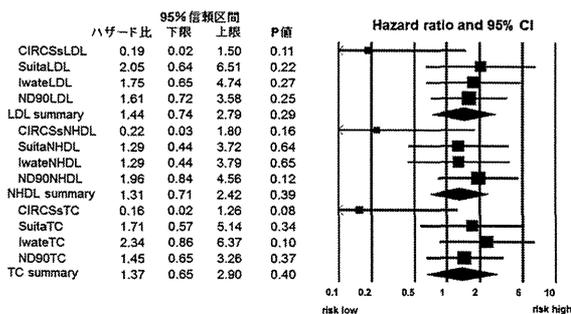
図 1. 心筋梗塞: JAS 基準 (男性・非空腹)



JAS 基準によるスクリーニング値を閾値とした解析では、LDLc、Non-HDLc、HDLc、TC の心筋梗塞に対する予測能は同程度であると考えられる。また、ATP-III 基準を用いた解析でも同様の結果であった。

次に心筋梗塞に対する JAS 基準を基にした女性の解析結果を示す (図 2)。

図 2. 心筋梗塞: JAS 基準 (女性・非空腹)



女性では、男性と異なり LDLc、Non-HDLc、TC のいずれも心筋梗塞と有意な関連が見られなかった。また、女性では男性と比べて研究間の異質性が高い傾向にあった。

一方、脳卒中および脳梗塞については、男女共に有意な関連は見られなかった (表 2 (4)、(5) 参照)。

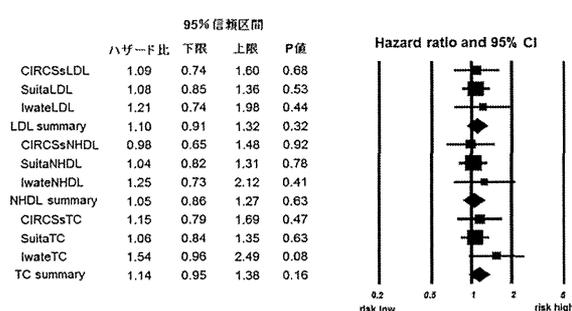
また、65 歳未満及び 65 歳以上に対する年齢層層別の検討では、個々の年齢層におけるイベント発生数が十分ではないために、安定した結果を得ることができなかった (表 2 (1) ~ 2 (5))。

空腹条件を加えた場合、NIPPON DATA90の対象者のほとんどが非空腹条件での採血であることに加えて、その他の3つのコホートでも解析対象者数が大幅に減ってしまうことになった(表3(1)~2(5))。

そのため、結果を統合した場合にほとんどの場合で有意差が消失することとなった(表4(1)~2(5))。

一例として、全循環器疾患に対するJAS基準を基にした結果を示す(図3)。

図3. 全循環器疾患:JAS基準(男女計・空腹)



また、空腹条件を加えた場合、イベント発生数がさらに少なくなるため、年齢階層別の検討は困難であった(表4(1)~2(5))。

#### D. 考察

本メタアナリシスの結果から、心筋梗塞の発症もしくは死亡に対するLDLとNon-HDLの予測能は、特に男性においてほぼ同等と考えられた。その一方、女性では各研究間の異質性が高く、いずれの脂質、いずれのカットオフポイントを用いても統合結果は心筋梗塞のリスク上昇に対して有意とはならなかった。これらの結果は国内の先行研究の結果とほぼ合致していた。また、異質性が高いものの男女計の統合結果では男性と同様の傾向となった。しかしながら、この傾向は女性のイベント数が少ないため男性の結果の影響を受けていると考えられる。日本人女性については、特にJAS基準やNCEP基準よりも高

いレベルの脂質上昇が心筋梗塞のリスクとなるかどうかについて、更なる検証が必要であると考えられた。

一方、脳梗塞を含む脳卒中との関連は、これも国内の先行コホート研究と同様、本研究においてもいずれの脂質とも有意な関連は見られなかった。先行研究から、脳梗塞の一病型あるアテローム血栓性脳梗塞と脂質異常症の関連が示唆されているが、個々の研究において脳梗塞の病型まで同定する事は困難であり、また我が国においてアテローム血栓性脳梗塞が脳梗塞に占める割合は25~30%程度といわれており、以上2つの理由から本研究で脳梗塞と脂質異常症の関連を評価する事は非常に難しいと推測された。

本研究では、Non-HDLのカットオフ値を、動脈硬化性疾患予防ガイドライン2012年版に従って、「LDL-C+30mg/dl」と設定したが、

- ① 海外において「LDL-C+30mg/dl」と設定している事が一般的であること
- ② わが国でも臨床現場をベースにした検討においても「LDL-C+30mg/dl」が妥当であること<sup>[3]</sup>

以上の2点が根拠となっている。しかしLDLCプラス30mg/dlとされているのは、Non-HDLCがLDLCの管理目標値達成後の二次目標とされているためであり、対象者のTGが150mg/dl以上あることが前提となっている。そのためわが国の一般健診において同様のカットオフ値で良いのかどうかについては議論が必要である。

#### E. 結論

本研究の結果から、男性ではコレステロール1mmol/L(39mg/dl)の増加に対するリスク、JAS基準に基づくリスク、ATP III基準に基づくリスク、いずれの場合もLDLC、Non-HDLCともに特に心筋梗塞の発症もしくは