

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

・ 総合研究報告	
原発性高脂血症に関する調査研究	.....
石橋 俊	
・ 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	.....
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- G185C 変異の意味	.....
白井 厚治	
3. 原発性高脂血症に関する調査研究	.....
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」	.....
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	.....
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	.....
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	.....
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	.....
野原 淳	
9. 原発性高脂血症に関する調査研究	.....
島野 仁	
10. 原発性高脂血症に関する調査研究	.....
林 登志男	
11. 原発性高脂血症に関する研究	.....
平田 健一	
12. 型および 型高脂血症に関する遺伝学のおよび疫学的検討	.....
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	.....
斯波 真理子	
14. 原発性高脂血症に関する調査研究	.....
大須賀 淳一	
15. 原発性高脂血症に関する調査研究	.....
石垣 泰	
・ 研究成果の刊行に関する一覧表	.....

. 研究成果の刊行物・別刷 .....



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A G185C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-低下症例の遺伝子解析を通じて、アポ蛋白C-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 μg/mL（基準範囲;0.74-5.65 μg/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 型・型高脂血症、 型高脂血症の診断・予後に關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。未治療時 LDL-C 値 180 mg/dL 以上、

腱黄色腫あるいは皮膚結節性黄色腫、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- $\beta$ -lipoproteinemia 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- $\beta$ -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. 型および 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られた 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- (アポ A- ) 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-

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- 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- (アポ C- ) 低下症の病態解析

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- 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. 型および 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 型と 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 Ⅱ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（Ⅱa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（Ⅱa型6名、Ⅱb型62名、Ⅲ型66名、Ⅳ型12名、Ⅴ型22名、Ⅵ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、アンチスロンピン、ハプトグロビンなどの凝固因子、 $\alpha_2$ 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、ApoC、 $\alpha_1$  acid 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 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%に認められた。Mean IMTは、 $0.8 \pm 0.2$  mm、プラークスコアは $4.5 \pm 4.7$ 、CAVIは $8.8 \pm 1.2$ 。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なしだった。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が、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-β-lipoproteinemiaの日本における頻度

日本人におけるIsolated hypo-β-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. 型および型高脂血症

### 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-1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-1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-1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-1

アポ蛋白A-1 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、AS N43SER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- 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- 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- 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- 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- 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- 低下症の原因として、既報にあるようなアポ蛋白C- 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- 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. Ⅱ型およびⅢ型高脂血症調査に関する基礎検討

Ⅱ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、Ⅲ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以上を用いる場合が多いが、Ⅲ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( $6.9 \pm 2.6$  vs  $3.9 \pm 2.4$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $p < 0.0001$ )、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測定の基本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/m<sup>2</sup>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;  $5.7$   $\mu\text{g/mL}$ 、基準範囲(平均 $\pm 1.96\text{SD}$ );  $0.74$ - $5.65$   $\mu\text{g/mL}$ 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。b型高脂血症、I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における遺伝子変異と臨床的意義, 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

出願番号：特願 2005-243938

なし

出願日：平成 17 年 8 月 25 日

3 その他

登録日：平成 23 年 5 月 13 日

なし

2)オリゴヌクレオチド、およびオリゴヌクレオチドを有効成分として含有する高脂血症治療剤

登録番号：特願 2011-271751

出願人：国立大学法人大阪大学、独立行政法人国立循環器病研究センター

発明者：小比賀聡、斯波真理子他

出願日：平成 23 年 12 月 12 日

3)PCSK9 の吸着体および PCSK9 の吸着器

出願番号：特許 2011-153216

出願人：国立循環器病研究センター、株式会社カネカ

発明者：斯波真理子、湯浅由美子他

出願日：平成 23 年 7 月 11 日

4)高コレステロール血症と動脈硬化の検出方法

出願番号：特願 2011-100682

出願人：株式会社ビー・エム・エル、国立循環器病研究センター

発明者：斯波真理子他

出願日：平成 23 年 4 月 28 日

5)PCSK9 関連薬剤のスクリーニング、又は、当該薬剤の投与考課の確認を行うための PCSK9 測定方法

登録番号：特願 2013 - 116508

出願人：独立行政法人国立循環器病研究センター、株式会社ビー・エム・エル

発明者：斯波真理子他

出願日：平成 25 年 5 月 31 日

2 実用新案登録

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 9mm 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  $6.8 \pm 1.1$ mm、左  $6.9 \pm 1.1$ 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(9mm)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 $9.4 \pm 1.5$ mm(mean  $\pm$  SD)、左 $9.5 \pm 1.9$ mmであり、認めない症例ではそれぞれ $6.7 \pm 0.9$ mm、 $6.8 \pm 1.4$ mmであった。年齢については肥厚例 $66 \pm 14$ 歳、非肥厚例 $68 \pm 12$ 歳( $p=0.67$ )であった。ACS初発年齢は $63 \pm 15$ 歳 vs  $66 \pm 13$ 歳( $p=0.47$ )、BMIは $6.8 \pm 4.0$  vs  $23.8 \pm 3.3$ ( $p<0.01$ )、収縮期血圧 $133 \pm 27$ mmHg vs  $136 \pm 26$ mmHg( $p=0.49$ )、拡張期血圧は $74 \pm 18$ mmHg vs  $78 \pm 17$ 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 $184 \pm 48$ mg/dl vs  $179 \pm 45$ mg/dl( $p=0.76$ )、HDLコレステロール値は $42 \pm 12$ mg/dl vs  $45 \pm 13$ mg/dl( $p=0.30$ )、中性脂肪値は $34 \pm 72$ mg/dl vs  $116 \pm 84$ mg/dl( $p=0.12$ )、LDLコレステロール値は $121 \pm 52$ mg/dl vs  $114 \pm 39$ 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%vs27.9%( $p=0.61$ )であり、随時血糖値は $187 \pm 99$ mg/dl vs  $161 \pm 72$ 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 $\pm 1.0$ 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 $57.8 \pm 16.5$ 歳、身長 $160.1 \pm 9.9$ cm、体重 $61.7 \pm 9.8$ kg、BMI  $24.0 \pm 3.1$ 、収縮期血圧 $128 \pm 18$ mmHg、拡張期血圧 $74 \pm 13$ mmHg、TC  $182 \pm 35$ mg/dl、HDL-C  $49 \pm 17$ mg/dl、TG  $103 \pm 49$ mg/dl、LDL-C  $113 \pm 30$ mg/dl (mean  $\pm$  SD)であった。GH  $16.7 \pm 14.5$ 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、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- $\alpha$ 、IL-1 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 (  $\geq$  9mm) 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, Iimuro 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  $\alpha$ -glucosidase inhibitors for glycemic

control and bodyweight reduction in Japanese patients with obese type 2 diabetes. J Diabetes Invest: In press.

Nagao M, Asai A, Inaba W, et al. Characterization of pancreatic islets in two selectively bred mouse lines with different susceptibilities to high-fat diet-induced glucose intolerance. PLoS ONE 9: e84725, 2014

## 2 . 学会発表

### 1 ) 国際学会

47 回欧州糖尿病学会

Asai A, Nakagawa K, et al: Selective breeding of mice which are prone and resistant to high fat diet-induced obesity and hyperglycemia

第 48 回欧州糖尿病学会 10 月 1-5 日、2012; Berlin, Germany

Asai A, Nagao M, Kawahara M, et al: Selectively bred mice with different susceptibilities to diet-induced glucose intolerance

Nagao M, Asai A, Kawahara M, et al: Characterization of pancreatic islets from two lines of selectively bred mice with different susceptibilities to high fat diet-induced glucose intolerance

第 49 回欧州糖尿病学会

Asai A, et al. Repetitive selective breeding for susceptibility to glucose intolerance accelerates atherosclerotic lesion formation in mice. EASD Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes

Nagao M, et al. Impaired islet function and structure in mice with

hereditary predisposition to high fat diet-induced glucose intolerance. EASD Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes (49th)(Barcelona, Spain), 2013.9.

### 2 ) 国内学会

#### (1)特別講演

日本動脈硬化学会総会・学術集会(第 45 回)(東京), 2013.7

及川 眞一: 糖・脂質代謝と臓器障害..

日本油化学会年会(第 52 回)(仙台), 2013.9. 及川 眞一: 糖と脂質の代謝関連.

#### (2)パネルディスカッション

日本糖尿病学会年次学術集会(第 56 回)(熊本), 2013.5

及川 眞一: LDL-C 低下療法の意義とその目標値 LDL-C<100mg/dl を考える..

#### (3)シンポジウム

日本内分泌学会学術総会(第 86 回)(仙台), 2013.4.

長尾 元嗣ほか: 高脂肪食による体重増加や耐糖能異常の発症を規定する遺伝的要因の解析: マウスを用いた長期選抜交配からの考察(シンポジウム 肥満に関わる骨格筋・脂肪・代謝).

日本糖尿病合併症学会(第 28 回)(旭川), 2013.9. 長尾 元嗣ほか: 高血糖と動脈硬化-実験動物からのアプローチ-(シンポジウム 糖尿病大血管症の予防・治療を目指した新しい治療戦略).

日本臨床生理学会総会(第 60 回)(東京), 2013.11.

真山 大輔ほか: 間接熱量測定計を用いた 2 型糖尿病患者における食事誘導性熱産生の測定とその意義(シンポ

ジウム メタボリックシンドロームと動脈硬化).

(4)一般演題

第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会  
開催地 北海道札幌

期日 ; 2011 年 5 月 19 日 ( 月 ) ~ 21  
日 ( 金 )

長尾元嗣、浅井 明、佐藤友紀、中  
島 泰、高谷磨紀代、竹光秀司、首  
藤真理子、原田太郎、谷村恭子、岡  
島史宜、杉原 仁、及川眞一  
選抜交配により作成した高脂肪食感  
受性肥満糖尿病マウスと高脂肪食抵  
抗性マウスの耐糖能に関する検討

中島 泰、長尾元嗣、浅井 明、武  
市奈緒美、高谷磨紀代、佐藤友紀、  
竹光秀司、首藤真理子、原田太郎、  
谷村恭子、岡島史宜、杉原 仁、及  
川眞一  
選抜交配により作成した高脂肪食感  
受性肥満糖尿病マウスと高脂肪食抵  
抗性マウスの基礎代謝量に関する検  
討

竹光秀司、武市奈緒美、高谷磨紀代、  
佐藤友紀、首藤真理子、長尾元嗣、  
加納稔子、原田太郎、石崎晃、中島  
泰、岡島史宜、杉原仁、及川眞一  
頸動脈エコーにおけるプラークの存  
在部位とその関連因子との検討

第 43 回日本動脈硬化学会総会学術集  
会

Nagao M, Asai A, Sato Y, Nakajima  
Y, Takaya M, Takemitsu S, Sudo M,  
Harada T, Tanimura K, Okajima F,  
Sugihara H, Oikawa S: Analysis for  
the Lipid Profiles of Selectively  
Bred High Fat Diet Induced Obese

and Diabetes Prone Mice (SOD-P)  
and Resistant Mice (SOD-R) Strains

Yasushi Nakajima, Makiyo Takaya,  
Syuji Takemitsu, Yuki Sato, Mariko  
Sudo, Mototsugu Nagao, Kyoko  
Tanimura, Fumitaka Okajima,  
Hitoshi Sugihara, Shinichi  
Oikawa  
New nutritional approach to  
anti-atherosclerosis -The review  
and the future aspect-Practice of  
diet therapy for metabolic syndrome

浅井明、仲川清隆、永島和幸、宮澤  
陽夫、及川眞一  
Biochemistry and measurement of  
phosphatidylcholine hydroperoxide  
(PCOOH): implications for  
atherosclerosis. ( シンポジウム )

第 32 回日本肥満学会

小林俊介、長尾元嗣、中島 泰、谷  
村恭子、岡島史宜、及川眞一  
選抜交配により作成した高脂肪食誘  
導性耐糖能異常マウスと高脂肪食抵  
抗性マウスの生下時体重と乳児期体  
重の推移に関する検討

第 26 回日本糖尿病合併症学会

長尾元嗣、浅井 明、佐藤友紀、中  
島 泰、高谷磨紀代、竹光秀司、首  
藤真理子、原田太郎、谷村恭子、岡  
島史宜、杉原 仁、及川眞一  
選抜交配により作成した高脂肪食誘  
導性耐糖能異常マウスと高脂肪食抵  
抗性マウスのランゲルハンス島形態  
に関する検討

第 49 回日本糖尿病学会 関東甲信越  
地方会

高谷磨紀代、中島泰、武市奈緒美、  
佐藤友紀、竹光秀司、長尾元嗣、原  
田太郎、石崎晃、岡島史宜、杉原仁、

及川眞一

ステロイド治療が奏功した好酸球増加合併の抗インスリン抗体陽性2型糖尿病患者の一例

第21回 臨床内分泌代謝 Update 高野 綾子、中島 泰、岡本 宗雄、武市 奈緒美、若栗 稔子、石崎 晃、田村 秀人、杉原 仁、及川眞一

急性副腎不全を契機に診断された両側副腎原発悪性リンパ腫の一例  
武市奈緒美、田村秀樹、若栗稔子、石崎晃、杉原仁、渡辺淳、五十嵐健人、赤須東樹、島田隆、清水一雄、磯部和正、新里寿美子、竹越一博、及川眞一 TMEM127 遺伝子に生殖細胞変異を認め LOH を確認した両側褐色細胞腫

第38回 日本神経内分泌学会 学術集会

加納稔子、根本崇宏、石崎 晃、杉原 仁、及川眞一、芝崎 保  
ラット初代培養視床下部細胞を用いた GHRP-2 の HPA 軸に対する作用機序の解明

第84回日本内分泌学会学術総会

武市奈緒美、杉原仁、加納稔子、石崎晃、竹光秀司、佐藤友紀、長尾元嗣、首藤真理子、原田太郎、中島泰、岡島史宜、田村秀樹、芝崎保、及川眞一

GHRP 試験とインスリン低血糖試験によるコルチゾールの反応性についての比較検討

遺伝医学合同学術集会 2011/第18回  
日本遺伝子診療学会大会/第35回  
日本遺伝カウンセリング学会学術集会/  
第17回日本家族性腫瘍学会学術武市奈緒美、田村秀樹、加納稔子、石崎

晃、杉原仁、渡辺淳、五十嵐健人、赤須東樹、島田隆、清水一雄、磯部和正、新里寿美子、竹越一博、及川眞一

TMEM127 遺伝子に新規生殖細胞変異を認めた両側褐色細胞腫の1症例

第12回日本内分泌学会関東甲信越支部学術集会

武市奈緒美、杉原 仁、若栗稔子、石崎 晃、竹光秀司、佐藤友紀、長尾元嗣、近藤麻加、原田太郎、中島泰、岡島史宜、田村秀樹、中村恭子、檀 和夫、及川眞一

急速に副腎不全を来した両側副腎悪性リンパ腫の一例

第54回日本老年医学会—6月、東京  
佐藤友紀、中島 泰、長尾元嗣、他：部位別頸動脈プラーク測定は高齢者における動脈硬化性病変のリスク評価に重要である

糖尿病合併症学会—11月、福岡  
竹光秀司、原田太郎、武市奈緒美、他：糖尿病網膜症と頸動脈エコーにおけるプラークの関連について

日本内分泌学会学術総会(第86回)(仙台), 2013.4

原田 太郎ほか：原発性アルドステロン症に対してのエプレレノン投与による血管機能の改善は頸動脈プラークにより異なる..

武市 奈緒美ほか：当科における甲状腺中毒症を伴う有痛性甲状腺腫の検討.

高野 綾子ほか：原発性アルドステロン症における迅速 ACTH 試験を含む4種負荷試験についての検討.

長峯 朋子ほか：両側副腎腫瘍におけるシンチグラムの有用性について.

日本糖尿病学会年次学術集会(第56回)(熊本), 2013.5

杉原 仁ほか: 肥満 2 型糖尿病患者における  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬(GIs)3 製剤による臨床効果の比較(N-CURE study).

稲垣 恭子ほか: 糖尿病患者における non-HDL-C 濃度と各種脂質パラメーターとの関係.

原田 太郎ほか: 起立負荷時の心拍変動解析による糖尿病自律神経障害の評価.

高谷 磨紀代ほか: 2 型糖尿病患者において各種の血糖コントロール指標に加齢が与える影響.

長尾 元嗣ほか: 高脂肪食に対する耐糖能異常の感受性が異なる新規選抜交配モデルマウスの単離腓島に関する解析.

真山 大輔ほか: 2 型糖尿病患者における食事誘導性熱産生の測定とその意義.

竹光 秀司ほか: 糖尿病教育入院患者の FMD の改善と喫煙状態の関連について.

小林 俊介ほか: 高脂肪食に対する耐糖能異常の感受性を規定する遺伝的要因の考察: マウスを用いた長期選抜交配から.

日本動脈硬化学会総会・学術集会(第45回)(東京), 2013.7.

原田 太郎ほか: 原発性アルドステロン症に対してのエプレレノン投与による血管機能の改善は年齢により異なる.

長尾 元嗣ほか: 高脂肪食誘発性耐糖能異常に対する感受性の異なる 2 系統の選抜交配マウスにおける耐糖能・体重・摂餌量の世代間比較.

竹光 秀司ほか: 糖尿病教育入院患者の CAVI と CKD の関連について.

小林 俊介ほか: 詳細な脂質プロファイルを分析し得た spur cell anemia の一例.

周東 佑樹ほか: 高脂肪食誘発性耐糖能異常に対する感受性の異なる 2 系統の選抜交配マウスにおける動脈硬化巣形成の選抜交配世代間比較.

日本神経内分泌学会学術集会(第40回)(宮崎), 2013.10.

長尾 元嗣ほか: 高脂肪食誘発性耐糖能異常への感受性が異なる 2 系統のマウスにおける摂食行動の検討.

武市 奈緒美ほか: 異所性 ACTH 症候群及び Cushing 病における GHRP 試験の有用性について.

日本糖尿病合併症学会(第28回)(旭川), 2013.9.

鈴木 信也(心臓血管研究所附属病院循環器内科)ほか: 糖尿病と心房細動罹患との相関: 都心の循環器専門病院受診者を対象とした解析~心研データベースより~.

竹光 秀司ほか: 糖尿病教育入院患者の FMD と CKD の関連について.

日本内分泌病理学会学術総会(第17回)(神奈川), 2013.10.

周東 佑樹ほか: 腓神経内分泌癌による異所性 ACTH 症候群の 1 例.

日本内分泌学会関東甲信越支部学術集会(第14回)(横浜), 2013.10.

篠田 恵ほか: 高齢で診断され甲状腺髄様癌を疑われた MEN2A の一例.

日本糖尿病学会関東甲信越地方会(第51回)(横浜), 2014.1.

山本 雅昭ほか: 拳児希望の 1 型糖尿病に対し炭水化物制限食を試みた 1 例.

武市 奈緒美ほか：K.pneumoniaによる眼内炎と肝膿瘍を合併した2型糖尿病の一例。

小林 俊介ほか：糖尿病と脂質異常症を契機に診断されたspur cell anemiaの一例。

仲村 優子ほか：インスリンへのヘパリン添加が奏功したsubcutaneous insulin resistanceの1例。

山本 友也ほか：糖尿病の母系遺伝が明らかでなかったミトコンドリア糖尿病の一例。

小林 由美子ほか：外来インスリン導入がうまくいかず、血糖コントロール不良となった症例。

臨床内分泌代謝 Update(第23回)(名古屋), 2014.1.

周東 佑樹ほか：CRH 負荷で奇異性反応を認めた先端巨大症の2例。

高野 綾子ほか：分娩時大量出血から52年後に診断されたSheehan 症候群の一例。

長峯 朋子ほか：先端巨大症にPlummer病を合併した一例。

山口 祐司ほか：有痛性女性化乳房を契機に診断されたBasedow 病の1例

日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会(第28回)(宮崎), 2014.2.

長尾 元嗣ほか：高脂肪食誘導性耐糖能異常への感受性が異なる新規選抜交配モデルマウスのインスリン分泌能に関する解析。

周東 佑樹ほか：高脂肪食誘導性耐糖能異常への感受性が異なる新規選抜交配モデルマウスにおける動脈硬化巣形成に関する解析。

## H. 知的財産権の取得状況

1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし





図 1 ACS におけるアキレス腱肥厚の頻度

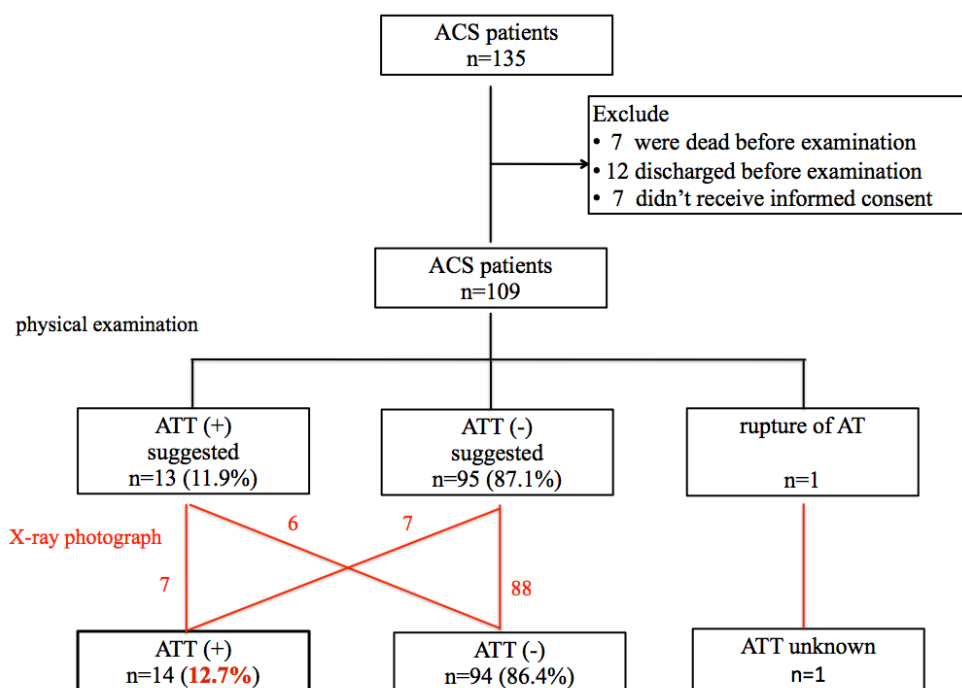


表 1 アキレス腱肥厚の有無による検査値の比較

Comparison of clinical and laboratory characteristics between patients with ATT and without ATT

	achilles tendon thickness				P value (+) v.s. (-)
	mean±SD	n	mean±SD	n	
gender (male/female)	76/18	94	12/2	14	
age (y.o.)	68±12		64±15		0.38
Hight (cm)	162±8		164±7		0.66
Weight (Kg)	64.2±11.8		70.6±12.5		0.03
BMI	24±3		26±3		0.02
SBP(mmHg)	134±25		133±17		0.76
DBP(mmHg)	76±16		74±16		0.46
onset age of first ACS (y.o.)	66±12		61±17		0.34
T-cho (mg/dl)	176±40		187±53		0.72
LDL-C (mg/dl)	111±39		120±58		0.74
HDL-C (mg/dl)	43±11		44±11		0.85
TG (mg/dl)	117±84		140±68		0.12
Plasma glucose (mg/dl)	149±64		186±91		0.21
HbA1c (% , NGSP)	6.2±1.3		7.0±1.6		0.04
hypertension	68(72.3%)		11(78.5%)		0.09
Positive for family history of CHD (%)	33(35.1%)		6(42.8%)		0.57
smoking(none/past/current)	18/37/39		5/3/6		
Statin	24(25.5%)		4(28.5%)		0.85
ACS (AMI/ recent MI/ UA)	23/3/10		3/0/1		
ACS treatment(PCI/POBA/CABG)	79/4/10		10/0/4		

Wilcoxon rank sum test    Peason's chi-square test

図 2 アキレス腱レントゲンの 2 読影者間での比較

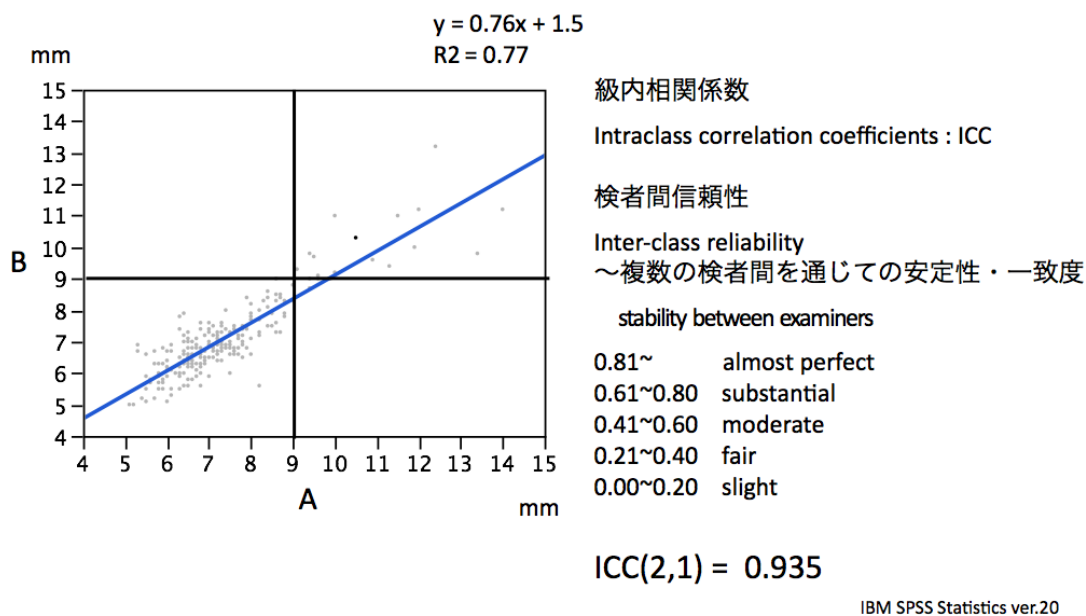
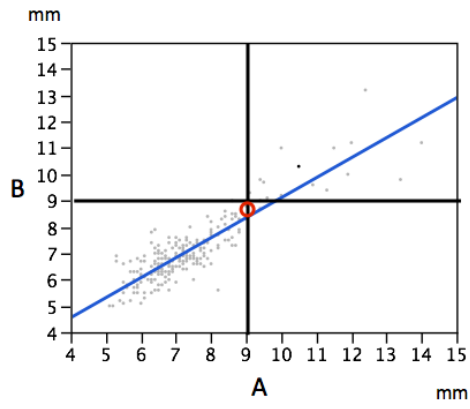


表2 アキレス腱肥厚 触診とレントゲンでの判定の異なった症例

physical examination ATT(+)	X-ray photograph ATT(-)	年齢	ACS初発	CHD家族歴	TC	LDL	BMI
+/+	5.8/6.4 5.7/6.0	43M	43	+	217	140	27
+/+	7.1/7.4 6.9/7.0	42M	42	-	259	172	34
+/-	8.0/8.0 7.7/7.8	53M	48	-	145	80	23
+/+	8.5/8.3 7.9/8.3	63M	52	+	123		26
+/+	8.6/8.7 7.6/7.3	46M	46	-	170	107	29
+/+	7.6/8.8 6.9/7.9	61M	61	-	193	118	33
physical examination ATT(-)	X-ray photograph ATT(+)						
-/-	10.5/13.4 10.3/9.8	75M	75	-	170	98	26
-/-	11.9/10.0 11/10	41M	41	+	265	188	26
-/-	9.4/8.7 9.0/8.4	70M	70	+	168	100	26
-/-	11.3/7.6 9.4/7.4	74M	74	-	140	35	17
-/-	9.4/9.5 9.7/9.8	80M	80	-	160		27
-/-	9.6/9.6 9.0/9.0	63M	63	-	172		26
-/-	9.9/9.0 9.0/8.3	45M	45	-	135	73	26

図3 2読影者間でアキレス腱肥厚の判定が異なった1例

physical examination ATT(+)	X-ray photograph ATT(-)	年齢	ACS初発	CHD家族歴	
+/+	8.4/9.0 8.1/8.8 mm	<b>36M</b>	36	+	父56歳時



smoking	TC	LDL-C	PG	HbA1c	BMI
+	250	204	199	7.9	<b>29</b>

平成 25 年度厚生労働科学研究研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

原発性高脂血症に関する調査研究

(総合) 研究報告書

## 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- G185C 変異の意味

分担研究者：	白井厚治	東邦大学医療センター佐倉病院、血管機能学 ( 寄付 )
研究協力者：	永山大二	同 内科学講座
	龍野一郎	同 内科学講座
	村野武義、	同 研究開発部
	武城英明	同 臨床検査医学研究室

#### 研究要旨

背景と目的：高中性脂肪血症は高度になると急性膵炎を発症し、まれに死に至る例がある。高度高中性脂肪血症の原因として、従来、血中中性脂肪 ( TG ) 分解酵素であるリポ蛋白リパーゼ ( LPL ) を中心に検索されてきたが、LPL 遺伝子や反応異常が見いだせない例、また L P L 活性化因子アポ C についても異常が見いだせない例が多くみられ、原因特定はまだ充分とは言えない。近年、海外では、新たに GPIHBP1、Lmf1、Angiopoietin like-3(Angptl3)、またアポ蛋白 A-V 異常が指摘されている。

本研究班では、これらについて日本人での実態を明らかにするため、1 . 高度高中性脂肪血症例 ( TG>1000mg / dl ) 69 例、うち急性膵炎発症例 12 例 ) を対象に分析を行った。その結果を踏まえ、さらに、2、頻度が高かったアポ蛋白 A- 遺伝子変異については症例を増やし 104 例さらに健常例も含めて検索した。

結果：研究 1 : LPL 異常型 ( LPL 欠損型、機能低下型、発現低下型 ) 25 例中、変異は計 6 例 ( Ex5.D204E 1 例 ex4 G215R 1 例及び Ex9.S447X 4 例 ) 認められた。既知の GPIHBP1 遺伝子変異 G56R、Q115P の頻度を検討したが、変異例は認められなかった。2 種類の既知の Lmf1 遺伝子変異 Y439X、W464X の頻度を検討したが、変異例は認められなかった。しかし、アポ A-V 遺伝子異常は、5 種類の変異のうち G185C 保有例が認められ、53.3%と、明らかに高頻度みとめられた。

研究 2 . 高度高中性脂肪血症例 104 例について、アポ蛋白 A- 遺伝子 G185C 保有を中心に分析を行った。対照健常人 ( 血清 TG 値 150 mg / dl 以下例 ) では、2 . 3 %であったが、高度高中性脂肪血症例では、高頻度 58.7%に認められた。

考察：、通常、高中性脂肪血症は、肥満、糖尿病、アルコール飲酒で見られる。また、妊婦において高度高中性脂肪血症がみられることがあり、急性膵炎発症例もある。今後、日本人で特異的にみられたこのアポ蛋白 A- G185C の高度高中性脂肪血症における広範な実態調査、特に妊婦において、急性膵炎予防の観点から、実態調査を開始する必要がある。また、本遺伝子異常 ( A- G185C ) 蛋白が高度高中性脂肪血症をおこす機序については、まだ十分解明されておらず、治療を見据えた原因分析が必要である。

研究分担者氏名：白井厚治

所属機関：東邦大学医療センター佐倉病院、

血管機能学（寄付）

職位；客員教授、

## A. 研究目的

高中性脂肪血症（高 TG 血症）は、高度な場合（5000mg/dl 以上）しばしば急性膵炎を発症し、腹膜炎から時に致死的な場合がある。主に、肥満、アルコール摂取、糖尿病が原因として上げられるが、妊婦でも、まれながらこの高度高 TG 血症が認められる。原因として、通常過食による TG の合成亢進に加え、その背景には血中の TG 水解酵素であるリポ蛋白リパーゼ（LPL）の作用低下が考えられてきた。しかし、実際に高度高 TG 血症例の LPL について調べてみると、これまで知られている LPL の遺伝子異常、蛋白異常が特定できない例もしばしば認められる。近年、血管新生因子と考えられていた Angiopoietin like-3 (Angptl3) TG 血症発症への関与が指摘、また、LPL の血管内皮細胞表面への係留に関連する Glycosyl phosphatidylinositol-anchored high density lipoprotein-binding protein 1 (GPIHBP1) やリパーゼの成熟に関与すると言われる Lipase maturation factor-1 (Lmf1) の遺伝子異常が報告されている。

そこで、本研究班では、2011 年、69 例の高度高 TG 血症 (>1000mg/dl) 例で、上記、異常についての検索を行った（研究 1）。その結果を踏まえ、研究 2 では、更に症例を増やし、研究 1 で顕著であったアポ蛋白 A-1 (アポ A-1) の遺伝子、G185C 型の頻度について、健常人での頻度も合わせ検討した。

## B. 研究方法

### 研究 1

**対象；**当院および他院より解析依頼のあった高度高中性脂肪血症 (TG>1000mg/dl) 69 例。年齢は 0~75 歳。男性 39 例、女性 30 例、平均年齢 39.0±19.3 歳) を用いた。急性膵炎併発が 69 例中 12 例 (17.4%) に認められた。

**方法：**

**LPL 蛋白量**

ヘパリン 30 単位/kg 静注 10 分後血漿（検査可能な症例（69 例中 44 例））についておよびヘパリン静注前血清を材料とし、モノクローナル抗体を用いたサンドイッチ ELISA 法（積水メディカル）を用いて行った。

### LPL 活性

検査可能な症例（69 例中 44 例）についてヘパリン静注を行い、静注 10 分後血漿を材料とし、1MNaCl により LPL 活性のみが阻害される性質を利用した方法を用いて、得られた遊離脂肪酸量より算出した。

### LPL 遺伝子異常の検索

末梢血 (EDTA-2Na 入り採血管にて採血) から DNA を抽出し、その DNA を鋳型として PCR 法にて LPL 遺伝子領域を増幅し、直接塩基配列決定法にて塩基配列を同定した。また既に日本人で報告されている遺伝子異常のうちの 7 種類 (Ex3 Y61X、Ex5 D204E、Ex5 A221del、Ex6 R243C、Ex7 A334T、Ex8 W382X、Ex9 S447X) について、制限酵素断片長多型 (RFLP) 法にて検出を行った。

### GPIHBP1 遺伝子解析

末梢血 (EDTA-2Na 入り採血管にて採血) から抽出した DNA を鋳型として PCR 法にて GPIHBP1 遺伝子領域を増幅した。既に報告されている遺伝子異常 2 種類 (G56R、Q115P) について RFLP 法にて検出を行った。

### Lmf1 遺伝子解析

末梢血 (EDTA-2Na 入り採血管にて採血) から抽出した DNA を鋳型として PCR 法にて Lmf1 遺伝子領域を増幅した。既に報告されている遺伝子異常 2 種類 (Y439X、W464X) について RFLP 法にて検出を行った。

### 血清 Angptl3 蛋白量定量

検査可能な症例（50 例中 29 例）について血清を材料としてモノクローナル抗体を用いた ELISA 法 (IBL) にて測定を行った。

### アポ蛋白 A-1 遺伝子解析

末梢血 (EDTA-2Na 入り採血管にて採血) から抽出した DNA を鋳型として PCR 法にてアポ A-V 遺伝子領域を増幅した。既に報告されている遺伝子異常のうちの 5 種類 (S19W、Q139X、Q145X、V153M、G185C) について RFLP 法にて検出を行った。

## 研究2

**対象者：**当院および他院より解析依頼のあった高度高TG血症104例（年齢は0～76歳。男性66例、女性38例、平均年齢 $43.9 \pm 18.0$ 歳）（表1）を用いた。

なお今回の対象例にて急性膵炎併発が19例（18.3%）認められた。健常対照者は、血清TG値 $<150\text{mg/dl}$ 例44例。

本研究は、東邦大学医学部倫理委員会にて承認を受け実施した。

### 方法：

研究と同様。

## C. 研究結果

### 研究1

#### 1) 高度高TG血症におけるヘパリン静注後LPL蛋白量と活性

Postheparin plasma中のLPL蛋白量、活性測定値より、対象例を欠損型（LPLmass $<50$ 、LPL活性 $<2.0$ ）、機能異常型（LPLmass $>100$ 、LPL活性 $<3.0$ ）、発現低下型（LPLmass $:50\sim150$ 、LPL活性 $:2.0\sim4.0$ ）、正常型（LPLmass $>150$ 、LPL活性 $>4.0$ ）の4群に分類した。

69例中、欠損型は7例（10.1%）、機能異常型4例（5.8%）、発現低下型14例（20.3%）、正常型44例（63.8%）であった（表2）。LPL異常である欠損型、機能異常型、発現低下型を合計しても25例（36.2%）であり、対象例の半数以上はLPLが正常と考えられた。

なお今回の対象例にてLPL遺伝子異常を検索したところ、変異例はLPL欠損型、機能低下型、発現低下型といったLPL異常が考えられる群で25例中計6例（Ex5.D204E 1例 ex4 G215R 1例及びEx9.S447X 4例）認められ、LPL正常型でもS447Xが2例認められた（表1）。尚、G215R変異は今までに未報告の遺伝子変異であった。

#### 2) GPIIbP1遺伝子異常頻度

高度高中性脂肪血症例において2種類の既知のGPIIbP1遺伝子変異G56R、Q115Pの頻度を検討したが、変異例は認められなかった。

#### 3) Lmf1遺伝子異常頻度

高度高中性脂肪血症例において2種類の既知のLmf1遺伝子変異Y439X、W464Xの頻度を検討したが、変異例

は認められなかった。

#### 4) Angpt13蛋白量定量

検査可能であった29例について血清中Angpt13濃度を測定したところ、 $414.4 \pm 257.0\text{ng/ml}$ とTG150mg/dl未満の正脂血症群 $269.7 \pm 87.1\text{ng/ml}$ に比して有意な高値を認めた（図2）。

#### 5) アポA-遺伝子異常頻度

高度高中性脂肪血症例においてアポA-V遺伝子異常について検索したところ、今回検索した5種類の変異のうちG185C保有例が認められ、高度抗中性脂肪血症の中で53.3%と、明らかな高頻度であった。

## 研究2

### 1) 高度高TG血症例の臨床背景（表2, 3）

対象は、当院、および精査依頼を受けた高度高TG血症（ $>1000\text{mg/dl}$ ）患者104名で、男性66名、女性38名。糖尿病合併例47.1%。肥満合併（BMI $>25\text{kg/m}^2$ ）48.1%。急性膵炎発症例は18.3%にみられた。なお健常対照は、血清TG150mg/dl以下、糖尿病、肥満のない例44名。

高度高TG血症の血清脂質値を表3に示した。平均TG値2029mg/dl。アポ蛋白では、アポC、C、Eとも高値であった。

### 2) 結果

#### アポA-遺伝子異常頻度

アポA遺伝子異常について検索したところ、今回検索した5種類の変異のうちヘテロ型、ホモ型は、G185C保有例のみが認められ、ヘテロ型46.2%、ホモ型12.5%であった。（表4）

正脂血症例ではG185Cのヘテロ型、ホモ型は、2.3%しか認められず、高度高TG血症例にて有意に高頻度であった（ $p<0.05$ ）（表5）。

#### アポA-遺伝子G185Cのヘテロ、ホモ型と血清脂質、アポ蛋白値の関係（表6）

アポA-遺伝子G185Cのヘテロ、ホモ型と血清脂質の関係をみると、高度高TG血症患者のなかでは、TG値、総コレステロール値、HDL-コレステロール値に差は見られず、また、アポ蛋白C、C、アポEも3群間に差を認めなかった。

糖尿病、肥満も3群間では、ややホモ型で高頻度を認めた。アポA Vは、ヘテロ型でやや低下傾向を認め

た。

#### D 考察

研究 では、高度高 TG 血症 69 例で、LPL 遺伝子異常の頻度は 69 例中 8 例 (11.6%) であった。LPL 以外の要因としてアポ A 遺伝子異常、GPIHBP1 遺伝子異常と Lmf1 遺伝子異常について、検討したところ、GPIHBP1 遺伝子異常と Lmf1 遺伝子異常は認められなかったが、アポ A では検索した 5 種類の変異のうち G185C 保有例のみが認められた。そこで研究 では、高度高 TG 血症の対象を 104 例に増やし、アポ A V G185C 変異を中心に、健常対照も合わせ検討した、

その結果、アポ A V G185C は、研究 と同様、高度高 TG 血症では、ヘテロ、ホモ型は合わせて、58.7% の頻度でみられた (1)。

一方、血清 TG 値 150mg/dl 以下の脂質正常群では 2.9% みられた。以上から、アポ A V G185C 変異は、高度高 TG 血症群で明らかに高頻度であり、日本人高度高 TG 血症でみられた特異的な所見と思われる。

アポ A の血清脂質代謝への影響とそのメカニズムについては、まだ明らかでなく、様々な説がある。

アポ A V ノックマウスでは、高 TG 血症が生じること (2) 一方、TG rich-lipoprotein の heparan sulfate proteoglycan との結合に關与し、レムナントの組織への取り込みに關与するとの報告もある (3)。

後者では、LDL-レセプターファミリーの中でも、LRP1、SorLA/LR11 への親和性があり、さらに sortilin への親和性があり、これらを介して、TG rich-lipoprotein の取り込みに關与しているとの説もある (4)。

アポ A V G185C 変異について、血清脂質レベルをみると、野生型、ヘテロ型、ホモ型間では、特に相異はなかった。血清アポ A の濃度が、ヘテロ型でやや低下していたが、ホモ型でより顕著な現象は見られず、濃度に依存するとは思われなかった。また臨床背景の導尿病、肥満の頻度は、ヘテロ型でやや低い傾向をみたが顕著でなく、体質的な原因に加えて、糖尿病、肥満が増悪要因になっていると思われた。

以上から、一般に高度高中性脂肪血症の主な原因は、肥満、糖尿病、アルコール摂取であるが、遺伝子変異の中では、アポ A- 遺伝子 G185C が半数以上にみられ

たことは、日本人の高度高 TG 血症の重要な原因遺伝子異常と考えられる。今後、しばしばみられる乳児、及び妊婦での高度高 TG 血症における意味など、広範な疫学的調査が必要と思われた。またそのメカニズムの検討も必要と思われる。

#### E 結論

日本人高度高 TG 血症例では、アポ A G185C 変異が主要な要員である可能性が示唆された。今後、さらに広範な調査、特に乳児、妊婦での検討が必要と思われる。

### G . 研究発表

#### 1. 論文発表

準備中

### H . 知的財産権の出願、登録状況

なし

#### 引用文献

- 1 . 白井厚治、永山大二、大平征宏、村野武義  
日本人における高度高中性脂肪血症 ( 肺炎合併例を含む ) の原因検索 中性脂肪分解系に作用する諸因子とその意義 . 2011 年度厚生労働省「原発性高脂血症」班会議報告
- 2 . Fruchart-Najib J, Baugé E, Niculescu LS, et al.  
Mechanism of triglyceride lowering in mice expressing human apolipoprotein A5. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;319:397-404.
- 3 . Merkel M, Loeffler B, Kluger M, et al. Apolipoprotein AV accelerates plasma hydrolysis of triglyceride-rich lipoproteins by interaction with proteoglycan-bound lipoprotein lipase. *J Biol Chem.* 2005;280:21553-21560.
- 4 . Stefan K, Nilsson<sup>‡</sup>, Stine Christensen et al ,  
Endocytosis of Apolipoprotein A-V by Members of the Low Density Lipoprotein Receptor and the Vps10p Domain Receptor Families\* *J Biol Chemistry*, 2008, 283,38, 25920-25927

表1 高度高TG血症のLPL遺伝子変異

The categorized the LPL abnormality	n	LPL gene analysis	
		Mutant case	Kind of mutations
Protein deficiency type	7 (10.1%)	3	Ex9. S447X: 3
Functional deficiency type	5 (7.2%)	2	Ex5. D204E: 1 Ex5. G215R: 1
Expression decreasing type	13 (18.8%)	1	Ex9. S447X: 1
Normal type	44 (63.8%)	2	Ex9. S447X: 2
<b>Total</b>	<b>69 (100%)</b>	<b>8</b>	Ex5. D204E: 1 Ex5. G215R: 1 Ex9. S447X: 6

表4 Incidence of ApoA-V mutation in severe hypertriglyceridemia

	S19W	Q139X	Q145X	V153M	G185C
Wild type (%)	100	100	100	100	41.3
Heterozygote (%)	0	0	0	0	46.2
Homozygote (%)	0	0	0	0	12.5

表2 高度高TG血症患者の臨床背景 (n=104)

年齢	43.9±18.0 歳
性別	男性66例、女性38例
糖尿病 <sup>*</sup> 合併頻度	49例 (47.1%)
肥満 <sup>**</sup> 合併頻度	50例 (48.1%)
BMI	25.4±4.1 kg/m <sup>2</sup>
急性膵炎発症例	19例 (18.3%)

表5 Comparison of incidence of G185C mutation in patients and normal control

	TG<150 mg/dl n=44	TG>1000 mg/dl n=104
Wild type (%)	97.7	41.3 *
Heterozygote or Homozygote (%)	2.3	58.7 *

\* P<0.05 vs TG<150

表3 高度高TG血症患者の脂質値 (n=104)

T-CHO (mg/dl)	349.6±172.9	LPL <sup>*</sup> mass (pre) (ng/ml)	39.6±20.9 (45~60)
TG (mg/dl)	2029.6±1581.1	LPL mass (post) (ng/ml)	187.0±109.4 (150~250)
HDL-C (mg/dl)	32.4±10.6	LPL activity (μmol/l/37°C)	6.37±4.02 (3~8)
ApoC-II (mg/dl)	17.9±7.3 (1.5~3.8)	HL <sup>**</sup> activity (μmol/l/37°C)	4.86±2.72 (4~10)
ApoC-III (mg/dl)	42.8±21.0 (5.4~9.0)		
ApoE (mg/dl)	18.3±11.1 (2.8~4.3)		

表6 Laboratory data in apoA-V gene mutation G185C

	Wildtype	heterozygote	homozygote
n	43	48	13
Age	43.7±19.2	37.6±19.5	47.0±13.6
BMI	25.3±4.1	25.0±4.4	26.9±2.2
Total Cholesterol	356.5±157.8	352.6±198.3	316.7±117.9
Triglyceride	1952.0±1127.2	2161.6±2006.1	1796.6±1011.1
HDL-C	32.2±10.1	32.4±11.3	32.7±10.3
Apolipoprotein C-II	17.2±8.6	18.3±6.9	19.2±3.6
Apolipoprotein C-III	40.4±22.1	44.6±21.9	43.5±15.5
Apolipoprotein E	17.7±10.3	18.6±11.3	18.8±14.1
Apolipoprotein A-V	1192.8±1090.8	601.8±689.7	937.7±756.1
Diabete%	48.9	43.8	53.8
obesity %	50.0	41.3	66.7
Acute pancreatitis %	20.9	20.0	7.7



**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**

**研究分担者 代田浩之 順天堂大学医学部 循環器内科学講座 教授**

**研究要旨：** 急性冠症候群（ACS）の患者にはヘテロ接合体家族性高コレステロール血症（hFH）が高率に存在すると予測されるが、ACS 発症早期から LDL-C が低下すること、早期からスタチンが投与されることによって本来の LDL-C 値を把握することが難しいために hFH の診断と合併率の把握が困難である。しかし、高 LDL-C 血症暴露時間と相関を示すアキレス腱厚（ATT）の測定により hFH 有病率を推測することが可能と考えられる。多施設研究により hFH 合併率と臨床的特徴を検討することにより、hFH が ACS 発症の高リスクであり、早期診断および薬物介入の重要性を広く認識させることが、医療経済および健康寿命の延長に重要と考える。

**A.研究目的**

ATT 測定により ACS 患者における hFH 合併率と臨床的特徴を明らかにする。

**B.研究方法**

ACS を発症した患者（連続症例）に文書による同意取得後、両側 ATT を軟 X 線撮影により測定。アキレス腱厚 9mm 以上で hFH と判断し、その合併率および臨床的特徴を多施設調査で検討。

**（倫理面への配慮）**

- ・人権擁護：症例は施設内で暗号化し、患者情報は個人名を特定できないよう無記名（数値）で提出する。また、調査への参加および参加辞退は個人の自由意志に基づいて実施される。
- ・対象者への不利益：日常診療範囲内の医療行為および、包括医療範囲内の血液検査とレントゲン撮影で、参加しない場合と比較して医療費や健康面の不利益を被ることは無いと考える。
- ・説明と同意：担当医師より書面および口頭にて十分な説明を行い、文書による同意を得る。

**C.研究結果**

ACS 連続症例（n=344, M/F=274/70）の平均年齢は 65 歳、平均 LDL-C 値  $119 \pm 41$  mg/dL で、スタチン系薬剤の内服率は 20.3%。ATT 9mm 以上

の症例は 17.9% で、9mm 未満の症例と比較して、有意に若年（ $61 \pm 13$  vs.  $65 \pm 13$ ）で、LDL-C 高値（ $135 \pm 50$  vs.  $118 \pm 37$ ）かつ HDL-C 低値（ $42 \pm 9$  vs.  $46 \pm 12$ ）であった。BMI、喫煙率、高血圧および糖代謝異常の合併率には差がなく、早発性冠動脈疾患の家族歴は 13.2% と高率であったが対照群と有意差なし（6.6%）。hFH の診断基準を満たす症例は 28.3% で対照群の 0.8% に比べて有意に高率で、ACS 症例ではアキレス腱厚による hFH の診断は有用と考えられる。ACS の病型に特徴はないが、左前下行枝の 1 枝病変が多い傾向を認める。また、院内予後は良好であった。1970 年代の米国の報告と比較して、60 歳未満での hFH 合併率は非常に高い（23.5 vs. 4.1%）が、一方で、日本人の hFH は 60 歳以上で ACS を発症する患者が多いことも明らかになった（14.9 vs. 0.7%）。

**D.考察**

ATT 測定は ACS を発症した症例における hFH 診断に有用と考えられる。臨床的特徴として、比較的若年で高 LDL-C 血症を呈する以外に非 hFH と有意差がないため、ATT 測定が少なくとも ACS を発症する高リスク病態の患者をスクリーニングするのに有用な検査と考えられた。

## E. 結論

軟 X 線撮影による ATT 測定は ACS 発症後の hFH 診断に有用で、アキレス腱厚を基準とした hFH の合併率は約 18%であったが、60 歳未満で早発性に発症した ACS 症例では約 4 人に 1 人が hFH と高率である。早期診断と薬物介入により心血管事故の抑制は可能と考えられ、医療経済と健康寿命の延長にとっても重要である。

## F. 研究発表

(論文発表)

1. Yaginuma K, Kasai T, Miyauchi K, Kajimoto K, Amano A, Daida H. Propensity score analysis of 10-year long-term outcome after bypass surgery or plain old balloon angioplasty in patients with metabolic syndrome. *Int Heart J.* 52: 372-376; 2011
2. Ogita M, Miyauchi K, Dohi T, Wada H, Tsuboi S, Miyazaki T, Nishino A, Yokoyama T, Kojima T, Yokoyama K, Kurata T, Daida H. Gender-based outcomes among patients with diabetes mellitus after percutaneous coronary intervention in the drug-eluting stent era. *Int Heart J.* 52: 348-352; 2011
3. Dohi T, Miyauchi K, Okazaki S, Yokoyama T, Ohkawa R, Nakamura K, Yanagisawa N, Tsuboi S, Ogita M, Yokoyama K, Kurata T, Yatomi Y, Daida H. Decreased circulating lipoprotein-associated phospholipase A2 levels are associated with coronary plaque regression in patients with acute coronary syndrome. *Atherosclerosis.* 219:907-912; 2011
4. Nishino A, Kasai T, Miyauchi K, Nakajima N, Yokoyama T, Yokoyama K, Kurata T, Daida H. Long-term effect of metabolic syndrome with and without diabetes mellitus on coronary revascularization in Japanese patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Clin Cardiol.* 34: 610-616; 2011
5. Dohi T, Miyauchi K, Ohkawa R, Nakamura K, Kishimoto T, Miyazaki T, Nishino A, Nakajima N, Yaginuma K, Tamura H, Kojima T, Yokoyama K, Kurata T, Shimada K, Yatomi Y, Daida H. Increased circulating plasma lysophosphatidic acid in patients with acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta.* 413: 207-212; 2011
6. Inoue K, Suwa S, Ohta H, Itoh S, Maruyama S, Masuda N, Sugita M, Daida H. Heart fatty acid-binding protein offers similar diagnostic performance to high-sensitivity troponin T in emergency room patients presenting with chest pain. *Circ J.* 75: 2813-2820; 2011
7. Fukao K, Shimada K, Hiki M, Kiyonagi T, Hirose K, Kume A, Ohsaka H, Matsumori R, Kurata T, Miyazaki T, Daida H. Effects of calcium channel blockers on glucose tolerance, inflammatory state, and circulating progenitor cells in non-diabetic patients with essential hypertension: a comparative study between Azelnidipine and amlodipine on glucose tolerance and endothelial function - a crossover trial (AGENT). *Cardiovasc Diabetol.* 10: 79-85; 2011
8. Ogita M, Miyauchi K, Kurata T, Yokoyama K, Dohi T, Tsuboi S, Miyazaki T, Nishino A, Yokoyama T, Daida H. Clinical impact of angiographic restenosis after bare-metal stent implantation on long-term outcomes

- in patients with coronary artery disease. *Circ J.* 2011 75: 2566-2572; 2011
9. Sato H, Kasai T, Miyauchi K, Kubota N, Kajimoto K, Miyazaki T, Nishino A, Yaginuma K, Tamura H, Kojima T, Yokoyama K, Kurata T, Amano A, Daida H. Long-term outcomes of women with coronary artery disease following complete coronary revascularization. *J Cardiol.* 58: 158-164; 2011
  10. Konishi H, Kasai T, Miyauchi K, Kajimoto K, Kubota N, Dohi T, Amano A, Daida H. Association of low glomerular filtration rate with the incidence of stroke in patients following complete coronary revascularization. *Circ J.* 75:2372-2378; 2011
  11. Nishitani M, Shimada K, Sunayama S, Masaki Y, Kume A, Fukao K, Sai E, Yamashita H, Ohmura H, Onishi T, Shioya M, Sato H, Shimada A, Yamamoto T, Amano A, Daida H. Impact of diabetes on muscle mass, muscle strength, and exercise tolerance in patients after coronary artery bypass grafting. *J Cardiol.* 58: 173-180; 2011
  12. Miyazaki S, Daimon M, Miyazaki T, Onishi Y, Koiso Y, Nishizaki Y, Ichikawa R, Chiang SJ, Makinae H, Suzuki H, Daida H. Global longitudinal strain in relation to the severity of aortic stenosis: a two-dimensional speckle-tracking study. *Echocardiography.* 28: 703-708; 2011
  13. Fukushima Y, Hirayama S, Ueno T, Dohi T, Miyazaki T, Ohmura H, Mokuno H, Miyauchi K, Miida T, Daida H. Small dense LDL cholesterol is a robust therapeutic marker of statin treatment in patients with acute coronary syndrome and metabolic syndrome. *Clin Chim Acta.* 412: 1423-1427; 2011
  14. Yokoyama K, Miyauchi K, Kawamura M, Kajimoto K, Dohi T, Yamagami S, Kano T, Amano A, Hosoda Y, Daida H. String-sign in left internal thoracic artery is associated with regression in left main trunk stenosis after coronary artery bypass. *Int Heart J.* 52: 84-87; 2011
  15. Kojima T, Miyauchi K, Yokoyama T, Yokoyama K, Kurata T, Suwa S, Kawamura M, Tamura H, Okazaki S, Inoue K, Fujiwara Y, Sumiyoshi M, Tanimoto K, Nakazato Y, Yamagami S, Hiro T, Komiyama N, Daida H. Azelnidipine and amlodipine anti-coronary atherosclerosis trial in hypertensive patients undergoing coronary intervention by serial volumetric intravascular ultrasound analysis in Juntendo University (ALPS-J). *Circ J.* 75: 1071-1079; 2011
  16. Sekita G, Hayashi H, Nakazato Y, Daida H. Ventricular fibrillation induced by short-long-short sequence during managed ventricular pacing. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 22: 1181; 2011
  17. Kina K, Masuda H, Nakayama H, Nagatsuka Y, Nabetani T, Hirabayashi Y, Takahashi Y, Shimada K, Daida H, Ogawa H, Takamori K, Iwabuchi K. The novel neutrophil differentiation marker phosphatidylglucoside mediates neutrophil apoptosis. *J Immunol.* 186: 5323-5332; 2011

18. Masaki Y, Shimada K, Kojima T, Miyauchi K, Inoue K, Kiyonagi T, Hiki M, Fukao K, Hirose K, Ohsaka H, Kume A, Miyazaki T, Ohmura H, Ohsaka A, Daida H. Clinical significance of the measurements of plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in patients with coronary artery disease who have undergone elective drug-eluting stent implantation. *J Cardiol.* 57: 303-310; 2011
19. Dohi T, Miyauchi K, Iesaki T, Tsuruta R, Tsuboi S, Ogita M, Kubota N, Kasai T, Yokoyama T, Daida H. Candesartan with pioglitazone protects against endothelial dysfunction and inflammatory responses in porcine coronary arteries implanted with sirolimus-eluting stents. *Circ J.* 75: 1098-1106; 2011
20. Dohi T, Miyauchi K, Okazaki S, Yokoyama T, Tamura H, Kojima T, Yokoyama K, Kurata T, Daida H. Long-term impact of mild chronic kidney disease in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary interventions. *Nephrol Dial Transplant.* 26: 2906-2911; 2011
21. Kiyonagi T, Iwabuchi K, Shimada K, Hirose K, Miyazaki T, Sumiyoshi K, Iwahara C, Nakayama H, Masuda H, Mokuno H, Sato S, Daida H. Involvement of cholesterol-enriched microdomains in class A scavenger receptor-mediated responses in human macrophages. *Atherosclerosis.* 215: 60-69; 2011
22. Hirose K, Iwabuchi K, Shimada K, Kiyonagi T, Iwahara C, Nakayama H, Daida H. Different responses to oxidized low-density lipoproteins in human polarized macrophages. *Lipids Health Dis.* 10: 1; 2011
23. Tsuruta R, Miyauchi K, Yamamoto T, Dohi S, Tambara K, Dohi T, Inaba H, Kuwaki K, Daida H, Amano A. Effect of preoperative hemoglobin A1c levels on long-term outcomes for diabetic patients after off-pump coronary artery bypass grafting. *J Cardiol.* 57: 181-186; 2011
24. Kasai T, Miyauchi K, Kajimoto K, Kubota N, Dohi T, Tsuruta R, Ogita M, Yokoyama T, Amano A, Daida H. Prognostic significance of glomerular filtration rate estimated by the Japanese equation among patients who underwent complete coronary revascularization. *Hypertens Res.* 34: 378-383; 2011
25. Dohi T, Miyauchi K, Okazaki S, Yokoyama T, Yanagisawa N, Tamura H, Kojima T, Yokoyama K, Kurata T, Daida H. Plaque regression determined by intravascular ultrasound predicts long-term outcomes of patients with acute coronary syndrome. *J Atheroscler Thromb.* 18: 231-239; 2011
26. Dohi T, Miyauchi K, Okazaki S, Yokoyama T, Yanagisawa N, Tamura H, Kojima T, Yokoyama K, Kurata T, Daida H. Higher baseline LDL-C levels amplify the short-term benefit of early intensive statin treatment in acute coronary syndrome. *J Atheroscler Thromb.* 18: 42-48; 2011
27. Dohi T, Kasai T, Miyauchi K, et al. Prognostic impact of chronic kidney disease on 10-year clinical outcomes among patients with acute

- coronary syndrome. *J Cardiol* 60: 438-442, 2012
28. Nishizaki Y, Yamagami S, Suzuki H, et al. Red blood cell distribution width as an effective tool for detecting fatal heart failure in super-elderly patients. *Intern Med* 51: 2271-2276, 2012
29. Dohi T, Miyauchi K, Ohkawa R, et al. Higher lipoprotein-associated phospholipase A2 levels are associated with coronary atherosclerosis documented by coronary angiography. *Ann Clin Biochem* 49: 527-533, 2012
30. **Daida** H, Takayama T, Hiro T, et al. ; COSMOS Investigators. High HbA1c levels correlate with reduced plaque regression during statin treatment in patients with stable coronary artery disease: results of the coronary atherosclerosis study measuring effects of rosuvastatin using intravascular ultrasound in Japanese subjects (COSMOS). *Cardiovasc Diabetol* 11: 87-96, 2012
31. Miyauchi K, Yamazaki T, Watada H, Tanaka Y, Kawamori R, Imai Y, Ikeda S, Kitagawa A, Ono Y, Murayama F, Choi JB, Suwa S, Hayashi D, Kishimoto J, **Daida** H; ADVANCED-J investigators. Management of home blood pressure by amlodipine combined with angiotensin II receptor blocker in type 2 diabetes. *Circ J* 76: 2159-2166, 2012
32. Yamada A, Takeuchi Y, Nishizaki Y, et al. Bag-valve-mask ventilation with airway adjuncts improves neurological outcomes of in-hospital cardiac arrest. *Intern Med* 51: 1517-1521, 2012
33. Hashimoto R, Katoh Y, Nakamura K, et al. Enhanced accumulation of adipocytes in bone marrow stromal cells in the presence of increased extracellular and intracellular  $[Ca^{2+}]$ . *Biochem Biophys Res Commun* 423: 672-678, 2012
34. Yamase M, Nakazato Y, **Daida** H. Effectiveness of amiodarone versus bepridil in achieving conversion to sinus rhythm in patients with persistent atrial fibrillation: a randomised trial. *Heart* 98: 1067-1071, 2012
35. Matsumori R, Shimada K, Kiyonagi T, et al. Clinical significance of the measurements of urinary liver-type fatty acid binding protein levels in patients with acute coronary syndrome. *J Cardiol* 60: 168-173, 2012
36. Suzuki T, Shioya T, Murayama T, et al. Multistep ion channel remodeling and lethal arrhythmia precede heart failure in a mouse model of inherited dilated cardiomyopathy. *PLoS One* 7: e35353, 2012
37. Nishizaki Y, Yamagami S, Haga K, et al. Usefulness of prominently projected aortic arch on chest radiograph to predict severe tortuosity of the right subclavian or brachiocephalic artery in patients aged >44 years undergoing coronary angiography with a right radial artery approach. *Am J Cardiol* 110: 203-207, 2012
38. Miyauchi K, **Daida** H, Morimoto T, et al. Reverse vessel remodeling but not coronary plaque regression could predict future cardiovascular events in ACS patients with intensive statin therapy--the extended JAPAN-ACS study. *Circ J* 76: 825-832, 2012
39. Hirano K, Yamashita T, Suzuki S, et al. Relationship between 24-h Holter recordings and clinical outcomes in patients with permanent atrial fibrillation. *J Cardiol* 60: 42-46, 2012

40. Kajimoto K, Miyauchi K, Yamamoto T, et al. Meta-analysis of randomized controlled trials on the treatment of unprotected left main coronary artery disease: one-year outcomes with coronary artery bypass grafting versus percutaneous coronary artery intervention with drug-eluting stent. *J Card Surg* 27: 152-157, 2012
41. Okai I, Inoue K, Maruyama M, et al. Transbrachial intra-aortic balloon pumping for a patient with fulminant myocarditis. *Heart Vessels* 27: 639-642, 2012
42. Inoue K, Kodama T, **Daida** H. Pentraxin 3: a novel biomarker for inflammatory cardiovascular disease. *Int J Vasc Med* 657025, doi: 10.1155/2012/657025. 2012
43. Fukushima Y, Ohmura H, Mokuno H, et al. Non-high-density lipoprotein cholesterol is a practical predictor of long-term cardiac death after coronary artery bypass grafting. *Atherosclerosis* 221: 206-211, 2012
44. Sekita G, Fukushima K, Takeuchi H, et al. Coronary artery fistula with giant aneurysm. *J Card Surg* 27: 602-603, 2012
45. Kasai T, Miyauchi K, Kubota N, et al. Probucol therapy improves long-term (>10-year) survival after complete revascularization: a propensity analysis. *Atherosclerosis* 220: 463-469, 2012
46. Dohi T, Miyauchi K, Ohkawa R, et al. Increased circulating plasma lysophosphatidic acid in patients with acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta* 413: 207-212, 2012
47. Ohmura T, Iwama Y, Kasai T, Kato T, Suda S, Takagi A, Daida H. Impact of pre-discharge nocturnal pulse oximetry (sleep-disordered breathing) on post-discharge clinical outcomes in hospitalized patients with left ventricular systolic dysfunction after acute decompensated heart failure. *Am J Cardiol* 2013 Nov 23. doi: 10.1016/j.amjcard.2013.10.048. [Epub ahead of print]
48. Chiang SJ, Daimon M, Ishii K, Kawata T, Miyazaki S, Hirose K, Ichikawa R, Miyauchi K, Yeh MH, Chang NC, Daida H. Assessment of elevation of and rapid change in left ventricular filling pressure using a novel global strain imaging diastolic index. *Circ J* 2013 Dec 10. [Epub ahead of print]
49. Nishizaki Y, Shimada K, Tani S, Ogawa T, Ando J, Takahashi M, Yamamoto M, Shinozaki T, Miyauchi K, Nagao K, Hirayama A, Yoshimura M, Komuro I, Nagai R, Daida H. Significance of imbalance in the ratio of serum n-3 to n-6 polyunsaturated fatty acids in patients with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2013 Nov 7. doi: 10.1016/j.amjcard.2013.10.011. [Epub ahead of print]
50. Hirayama A, Tanahashi N, Daida H, Ishiguro N, Chachin M, Sugioka T, Kawai S; on behalf of all ACCEPT study investigators in Japan. Assessing the cardiovascular risk between celecoxib and nonselective nonsteroidal antiinflammatory drugs in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Circ J* 2013 Oct 22. [Epub ahead of print]
51. Nishizaki Y, Daimon M, Miyazaki S, Suzuki H, Kawata T, Miyauchi K, Chiang SJ, Makinae H, Shinozaki T, Daida H. Clinical factors associated with classical symptoms of aortic valve stenosis. *J Heart Valve Dis* 22: 287-294, 2013.
52. Yang B, Daimon M, Ishii K, Kawata T, Miyazaki S, Hirose K, Ichikawa R, Chiang SJ, Suzuki H, Miyauchi K, Daida H. Prediction of coronary artery stenosis at rest in patients with normal left

- ventricular wall motion. Segmental analyses using strain imaging diastolic index. *Int Heart J*54: 266-272, 2013.
53. Miura Y, Fukumoto Y, Miura T, Shimada K, Asakura M, Kadokami T, Ando S, Miyata S, Sakata Y, Daida H, Matsuzaki M, Yasuda S, Kitakaze M, Shimokawa H. Impact of physical activity on cardiovascular events in patients with chronic heart failure. *Circ J*77:2963-2972, 2013.
  54. Ueno Y, Yamashiro K, Tanaka Y, Watanabe M, Shimada Y, Kuroki T, Miyamoto N, Daimon M, Tanaka R, Miyauchi K, Daida H, Hattori N, Urabe T. Rationale and Design of the EPISTEME Trial: Efficacy of Post-Stroke Intensive Rosuvastatin Treatment for Aortogenic Embolic Stroke. *Cardiovasc Drugs Ther*2013 Sep 27. [Epub ahead of print]
  55. Naito R, Miyauchi K, Ogita M, Kasai T, Kawaguchi Y, Tsuboi S, Konishi H, Okazaki S, Kurata T, Daida H. Impact of admission glycemia and glycosylated hemoglobin A1c on long-term clinical outcomes of non-diabetic patients with acute coronary syndrome. *J Cardiol*2013 Sep 4. doi: 10.1016/j.jjcc.2013.07.009. [Epub ahead of print]
  56. Kawata T, Daimon M, Hasegawa R, Toyoda T, Sekine T, Himi T, Uchida D, Miyazaki S, Hirose K, Ichikawa R, Maruyama M, Suzuki H, Daida H. Prognostic value of coronary flow reserve assessed by transthoracic Doppler echocardiography on long-term outcome in asymptomatic patients with type 2 diabetes without overt coronary artery disease. *Cardiovasc Diabetol*12: 121-128, 2013.
  57. 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; Japan Atherosclerosis Society. Executive summary of the Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines for the diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases in Japan -2012 version. *J Atheroscler Thromb*20: 517-523, 2013.
  58. Dohi T, Miyauchi K, Ohkawa R, Nakamura K, Kurano M, Kishimoto T, Yanagisawa N, Ogita M, Miyazaki T, Nishino A, Yaginuma K, Tamura H, Kojima T, Yokoyama K, Kurata T, Shimada K, Daida H, Yatomi Y. Increased lysophosphatidic acid levels in culprit coronary arteries of patients with acute coronary syndrome. *Atherosclerosis*229: 192-197, 2013.
  59. Sai E, Shimada K, Yokoyama T, Sato S, Miyazaki T, Hiki M, Tamura Y, Aoki S, Watada H, Kawamori R, Daida H. Association between myocardial triglyceride content and cardiac function in healthy subjects and endurance athletes. *PLoS One*8(4): e61604, 2013.
  60. Ogita M, Miyauchi K, Miyazaki T, Naito R, Konishi H, Tsuboi S, Dohi T, Kasai T, Yokoyama T, Okazaki S, Kurata T, Daida H. Low high-density lipoprotein cholesterol is a residual risk factor associated with long-term clinical outcomes in diabetic patients with stable coronary artery disease who achieve optimal control of low-density lipoprotein cholesterol. *Heart Vessels*2013 Mar 21. [Epub ahead of print]
  61. Daida H, Miyauchi K, Ogawa H, Yokoi H, Matsumoto M, Kitakaze M, Kimura T, Matsubara T, Ikari Y, Kimura K, Tsukahara K, Origasa H, Morino Y, Tsutsui H, Kobayashi M, Isshiki T; PACIFIC investigators. Management and two-year long-term clinical outcome of acute coronary syndrome in Japan: prevention

- of atherothrombotic incidents following ischemic coronary attack (PACIFIC) registry. *Circ J* 77: 934-943, 2013.
62. Nohara R, Daida H, Hata M, Kaku K, Kawamori R, Kishimoto J, Kurabayashi M, Masuda I, Sakuma I, Yamazaki T, Yokoi H, Yoshida M; Justification For Atherosclerosis Regression Treatment (JART) Investigators. Effect of long-term intensive lipid-lowering therapy with rosuvastatin on progression of carotid intima-media thickness--Justification for Atherosclerosis Regression Treatment (JART) extension study. *Circ J* 77: 1526-1533, 2013.
63. Nishizaki Y, Yamagami S, Joki Y, Takahashi S, Sesoko M, Yamashita H, Yokoyama T, Uehara Y, Daida H. Japanese features of native valve endocarditis caused by coagulase-negative staphylococci: case reports and a literature review. *Intern Med* 52: 567-572, 2013.
64. Ichikawa R, Daimon M, Miyazaki T, Kawata T, Miyazaki S, Maruyama M, Chiang SJ, Suzuki H, Ito C, Sato F, Watada H, Daida H. Influencing factors on cardiac structure and function beyond glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol* 12: 38-46, 2013.
65. Daida H, Iwase T, Yagi S, Ando H, Nakajima H. Effect of darapladib on plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 activity in Japanese dyslipidemic patients, with exploratory analysis of a PLA2G7 gene polymorphism of Val279Phe. *Circ J* 77: 1518-1525, 2013.
66. Yamazaki T, Nohara R, Daida H, Hata M, Kaku K, Kawamori R, Kishimoto J, Kurabayashi M, Masuda I, Sakuma I, Yokoi H, Yoshida M; Justification for Atherosclerosis Regression Treatment (JART) Investigators. Intensive lipid-lowering therapy for slowing progression as well as inducing regression of atherosclerosis in Japanese patients: subanalysis of the JART study. *Int Heart J* 54: 33-39, 2013.
67. 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* 31: 335-343, 2013.
68. Sugihara M, Odagiri F, Suzuki T, Murayama T, Nakazato Y, Unuma K, Yoshida K, Daida H, Sakurai T, Morimoto S, Kurebayashi N. Usefulness of running wheel for detection of congestive heart failure in dilated cardiomyopathy mouse model. *PLoS One* 8(1):e55514, 2013.
69. Nishizaki Y, Daida H. Red blood cell distribution width for heart failure. *Intern Med* 52(3):417, 2013.
70. Nishitani M, Shimada K, Masaki M, Sunayama S, Kume A, Fukao K, Sai E, Onishi T, Shioya M, Sato H, Yamamoto T, Amano A, Daida H. Effect of cardiac rehabilitation on muscle mass, muscle strength, and exercise tolerance in diabetic patients after coronary artery bypass grafting. *J Cardiol* 61:216-221, 2013.
71. Fukushima Y, Daida H, Morimoto T, Kasai T, Miyauchi K, Yamagishi S, Takeuchi M, Hiro T, Kimura T, Nakagawa Y, Yamagishi M, Ozaki Y, Matsuzaki M; JAPAN-ACS Investigators. Relationship between advanced glycation end products and plaque progression in patients with acute coronary syndrome: the



- JAPAN-ACS sub-study. *CardiovascDiabetol* 12:5, 2013.
72. Ogita M, Miyauchi K, Morimoto T, Daida H, Kimura T, Hiro T, Nakagawa Y, Yamagishi M, Ozaki Y, Matsuzaki M. Association between circulating matrix metalloproteinase levels and coronary plaque regression after acute coronary syndrome--subanalysis of the JAPAN-ACS study. *Atherosclerosis* 226:275-280, 2013.
  73. Matsumori R, Miyazaki T, Shimada K, Kume A, Kitamura Y, Oshida K, Yanagisawa N, Kiyanagi T, Hiki M, Fukao K, Hirose K, Ohsaka H, Mokuno H, Daida H. High levels of very long-chain saturated fatty acid in erythrocytes correlates with atherogenic lipoprotein profiles in subjects with metabolic syndrome. *Diabetes Res Clin Pract* 99:12-18, 2013.
  74. Ogita M, Miyauchi K, Dohi T, Tsuboi S, Miyazaki T, Yokoyama T, Yokoyama K, Shimada K, Kurata T, Jiang M, Bujo H, Daida H. Increased circulating soluble LR11 in patients with acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta* 415:191-194, 2013.
  75. Kasai T, Miyauchi K, Yanagisawa N, Kajimoto K, Kubota N, Ogita M, Tsuboi S, Amano A, Daida H. Mortality risk of triglyceride levels in patients with coronary artery disease. *Heart*. 99:22-29, 2013.
  76. Sumi S, Origasa H, Houkin K, Terayama Y, Uchiyama S, Daida H, Shigematsu H, Goto S, Tanaka K, Miyamoto S, Minematsu K, Matsumoto M, Okada Y, Sato M, Suzuki N. A modified Essen stroke risk score for predicting recurrent cardiovascular events: development and validation. *Int J Stroke* 8:251-257, 2013. Dohi T, Kasai T, Miyauchi K, et al. Prognostic impact of chronic kidney disease on 10-year clinical outcomes among patients with acute coronary syndrome. *J Cardiol* 60: 438-442, 2012 (学会発表)
1. 第 43 回 動脈硬化学会総会・学術集会 . 札幌
    - Ohmura H, Fukushima Y, Daida H, et al. The effects of pitavastatin on plasma levels of apolipoprotein C- in subjects with lower levels of HDL-C.
    - Fukushima Y, Ohmura H, Daida, et al. The effects of ezetimibe on postprandial hyperlipidemia and endothelial function in patients with type b hyperlipidemia.
    - Matsumori R, Daida H, Shimano H, et al. PEGylated and quaternized polyamine nanogel a novel bile salt sequestering agent, ameliorates dyslipidemia through reduction of VLDL and LDL cholesterol.
    - Miyazaki T, Aikawa M, Daida H, et al. Molecular imaging identify subclinical inflamed atherosclerotic plaque.
  2. The 84<sup>th</sup> Scientific Sessions 2011, American Heart Association, Orlando, USA
    - Matsumori R, Shimano H, Daida H, et al. PEGylated Quaternized Polyamine Nanogel Prevents Development of Atherosclerosis in Mice through Novel Mechanism of Raising HDL.
    - Sai E, Shimada K, Daida H, et al. Multiple Biomarker Panels for Risk Assessment of Cardiocerebrovascular Events and Mortality after Elective Percutaneous Coronary Intervention with Drug-Eluting Stent.
    - Hirose K, Iwabuchi K, Daida H, et al. M1, but Not M2 Macrophages, Characteristically Respond to Oxidized Low-Density Lipoprotein: Transcriptional Analysis in Human Polarized Macrophages.

- Tsuboi S, Miyauchi K, Daida H, et al. Impact of Red Blood Cell Distribution Width on Mortality in Diabetic Patients after Percutaneous Coronary Intervention.
- Ogita M, Miyauchi K, Daida H, et al. Decreased Circulating Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Levels are Associated with Coronary Plaque Regression in Patients with Acute Coronary Syndrome.
- Sonomi Maruyama, Noriyuki Ouchi, Daida H, et al. A Fat-Derived Factor Omentin Functions as a Modulator of Endothelial Cell Function and Ischemia-induced Revascularization.
- 代田浩之．生活習慣病の疫学研究から動脈硬化を予防する 一次予防高リスク患者におけるプラバスタチン投与下でのLDLコレステロール値と心血管疾患との関係 APPROACH-J Study 主解析結果．日本動脈硬化学会総会プログラム・抄録集 44回: 128, 2012
- 内藤 亮, 宮内克己, 葛西隆敏ほか．急性冠症候群患者のスタチンとエゼチミブ併用でのプラーク退縮効果：吸収・合成マーカーの意義．日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 447, 2012
- 坪井秀太, 宮内克己, 荻田 学ほか．PCI後糖尿病患者の長期転帰における基準血圧値の影響 ( Impact of baseline blood pressure on long-term outcomes in diabetic patients after PCI ). 日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 445, 2012
- 蔡 榮龍, 島田和典, 宮内克己ほか．待機的冠動脈形成術後患者におけるシスタチンC測定の臨床的有用性．日本心臓病学会 7巻Suppl.I: 431, 2012
- 吉原琢磨, 島田和典, 蔡 榮龍ほか．イルベサルタンの降圧効果および腎保護作用における検討．日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 423, 2012
- 市川良子, 大門雅夫, 川田貴之ほか．2型糖尿病患者における内臓脂肪が左室拡張能に与える影響．日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 373, 2012
- 松永江律子, 木下良子, 比企 誠ほか．2型糖尿病患者の冠動脈疾患の診断におけるMDCT検査の有用性：糖尿病患者においての無症候性冠動脈病変の捉え方．日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 350, 2012
- 内藤 亮, 宮内克己, 荻田 学ほか．長期臨床転帰における急性冠動脈症候群を有する非糖尿病患者の急性高血糖とHbA1cの影響 ( Impact of acute hyperglycemia and HbA1c in non-diabetic patients with acute coronary syndrome on long-term clinical outcomes ). 日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 332, 2012
- 宮崎哲朗, 島田和典, 鬼柳 尚ほか．非糖尿病本態性高血圧患者におけるカンデサルタンのグルコース・インスリン分泌に対する影響．日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 300, 2012
- 西谷美帆, 島田和典, 砂山 聡ほか．高齢冠動脈バイパス術後患者における糖尿病の影響：心臓リハビリテーション前後の運動耐容能・筋力・筋肉量の比較．日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 281, 2012
- 西崎祐史, 島田和典, 谷 樹昌ほか．都市部在住者の血中脂肪酸濃度および脂肪酸バランスと冠動脈疾患および急性冠症候群との関連：多施設共同横断研究の結果から．日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 273, 2012
- 宮内克己, 代田浩之．日本人冠動脈疾患予防における脂質管理目標：二次予防における脂質管理．日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I:184, 2012

- 冠動脈疾患の2次予防：残された課題 . 日本成人病 (生活習慣病) 学会誌 38巻: 48, 2012
  - Kawata T. Prognostic Value of Coronary Flow Reserve on Long-Term Outcome in Asymptomatic Diabetic Patients without Overt Cardiovascular Disease. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  - Maruyama S. A Fat-derived Secreted Factor Omentin Promotes Endothelial Cell Function and Ischemia-induced Revascularization. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  - Matsumori R. PEGylated-quaternized-polyamine Nanogel, a Novel Bile Acid Sequestrant, Ameliorates Dyslipidemia and Reduces Atherosclerosis in Low-density Lipoprotein Receptor-Deficient and Apo-lipoprotein E-Deficient Mice. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  - Ogita M. Increased Circulating Soluble LR11 in Patients with Acute Coronary Syndrome. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  - Ogita M. Association between Circulating Adiponectin and Lipid Plaque Regression using Integrated Backscatter Intravascular Ultrasound in Patients with Stable Coronary Artery Disease. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  - Fukushima Y, Ohmura H. Plasma Levels of Myeloperoxidase are Possible Biomarker of Coronary Plaque Vulnerability and Possible Predictor of Responsibility to Lipid-Lowering Therapy. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  - Kawaguchi Y. Impact of Admission Glycosylated Hemoglobin on Long-term Mortality in Nondiabetic Patients with Acute Coronary Syndrome. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
- 平成24年度**
1. 代田浩之 . 生活習慣病の疫学研究から動脈硬化を予防する 一次予防高リスク患者におけるプラバスタチン投与下でのLDLコレステロール値と心血管疾患との関係 APPROACH-J Study主解析結果 . 日本動脈硬化学会総会プログラム・抄録集 44回: 128, 2012
  2. 内藤 亮, 宮内克己, 葛西隆敏ほか . 急性冠症候群患者のスタチンとエゼチミブ併用でのプラーク退縮効果：吸収・合成マーカーの意義 . 日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 447, 2012
  3. 坪井秀太, 宮内克己, 荻田 学ほか . PCI後糖尿病患者の長期転帰における基準血圧値の影響 ( Impact of baseline blood pressure on long-term outcomes in diabetic patients after PCI ). 日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 445, 2012
  4. 蔡 榮龍, 島田和典, 宮内克己ほか . 待機的冠動脈形成術後患者におけるシスタチンC測定の臨床的有用性 . 日本心臓病学会 7巻Suppl.I: 431, 2012
  5. 吉原琢磨, 島田和典, 蔡 榮龍ほか . イルベサルタンの降圧効果および腎保護作用における検討 . 日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 423, 2012
  6. 市川良子, 大門雅夫, 川田貴之ほか . 2型糖尿病患者における内臓脂肪が左室拡張能に与える影響 . 日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 373, 2012
  7. 松永江律子, 木下良子, 比企 誠ほか . 2型糖尿病患者の冠動脈疾患の診断におけるMDCT検査

- の有用性：糖尿病患者におけるの無症候性冠動脈病変の捉え方．日本心臓病学会誌 7巻 Suppl.I: 350, 2012
8. 内藤 亮, 宮内克己, 荻田 学ほか．長期臨床転帰における急性冠動脈症候群を有する非糖尿病患者の急性高血糖とHbA1cの影響 (Impact of acute hyperglycemia and HbA1c in non-diabetic patients with acute coronary syndrome on long-term clinical outcomes) .日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 332, 2012
  9. 宮崎哲朗, 島田和典, 鬼柳 尚ほか．非糖尿病本態性高血圧患者におけるカンデサルタンのグルコース・インスリン分泌に対する影響．日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 300, 2012
  10. 西谷美帆, 島田和典, 砂山 聡ほか．高齢冠動脈バイパス術後患者における糖尿病の影響：心臓リハビリテーション前後の運動耐容能・筋力・筋肉量の比較．日本心臓病学会誌 7巻 Suppl.I: 281, 2012
  11. 西崎祐史, 島田和典, 谷 樹昌ほか．都市部在住者の血中脂肪酸濃度および脂肪酸バランスと冠動脈疾患および急性冠症候群との関連：多施設共同横断研究の結果から．日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I: 273, 2012
  12. 宮内克己, 代田浩之．日本人冠動脈疾患予防における脂質管理目標：二次予防における脂質管理．日本心臓病学会誌 7巻Suppl.I:184, 2012
  13. 冠動脈疾患の2次予防：残された課題．日本成人病（生活習慣病）学会誌 38巻: 48, 2012
  14. Kawata T. Prognostic Value of Coronary Flow Reserve on Long-Term Outcome in Asymptomatic Diabetic Patients without Overt Cardiovascular Disease. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  15. Maruyama S. A Fat-derived Secreted Factor Omentin Promotes Endothelial Cell Function and Ischemia-induced Revascularization. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  16. Matsumori R. PEGylated-quaternized-polyamine Nanogel, a Novel Bile Acid Sequestrant, Ameliorates Dyslipidemia and Reduces Atherosclerosis in Low-density Lipoprotein Receptor-Deficient and Apo- lipoprotein E-Deficient Mice. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  17. Ogita M. Increased Circulating Soluble LR11 in Patients with Acute Coronary Syndrome. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  18. Ogita M. Association between Circulating Adiponectin and Lipid Plaque Regression using Integrated Backscatter Intravascular Ultrasound in Patients with Stable Coronary Artery Disease. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  19. Fukushima Y, Ohmura H. Plasma Levels of Myeloperoxidase are Possible Biomarker of Coronary Plaque Vulnerability and Possible Predictor of Responsibility to Lipid-Lowering Therapy. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  20. Kawaguchi Y. Impact of Admission Glycosylated Hemoglobin on Long-term Mortality in Nondiabetic Patients with Acute Coronary Syndrome. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  21. Miyazaki T. Increased Adiponectin Levels in Coronary Circulation are Associated with

- Myocardial Injury, Inflammation and Restenosis in Patients with Percutaneous Catheter Intervention. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
22. Dohi T. Higher Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Levels are Associated with Coronary Atherosclerosis Documented by Coronary Angiography. Higher Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Levels are Associated with Coronary Atherosclerosis Documented by Coronary Angiography. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  23. Miyauchi K. Effect of Aldosterone on Coronary Plaque Volume in Hypertensive Patients with Stable Coronary Artery Disease ALPS-J Subanalysis. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  24. Tamura H. Correlation between Circulating Serum MCP-1 and Plaque Progression in Diabetic Patients with Coronary Artery Disease. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  25. Sai E, Shimada K, et al. Association between Myocardial Triglyceride Content and Cardiac Function in Healthy Subjects and Endurance Athletes: Assessed by 1H-Magnetic Resonance Spectroscopy and Magnetic Resonance Imaging. *Circulation* 126: A14142, 2012
  26. Katoh Y, Nagamine S, Wada T, et al. Association of Plasma Omega-3 to Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acid Ratio with Apical Ballooning Syndrome (Tako-Tsubo cardiomyopathy -TTC). *Circulation* 126: A18475, 2012
  27. Daimon M, Kawata T, Miyazaki S, et al. Determinant Factors of Elevated Plasma B-type Natriuretic Peptide Level in Severe Aortic Stenosis. *Circulation* 126: A9451, 2012
  28. Ogita M, Miyauchi K, Naito R, et al. Synergic Impact of C-reactive Protein and High-density Lipoprotein Cholesterol on Long-term Clinical Outcomes in Patients With Coronary Artery Disease Treated With Statin. *Circulation* 126: A9451, 2012
  29. Ohmura H, Fukushima Y, Daida H, et al. Plasma levels of myeloperoxidase are possible biomarker of coronary plaque vulnerability and predictor of responsibility to lipid-lowering therapy. 80<sup>th</sup> European Atherosclerosis Society Congress, 2012 Miyazaki T. Increased Adiponectin Levels in Coronary Circulation are Associated with Myocardial Injury, Inflammation and Restenosis in Patients with Percutaneous Catheter Intervention. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  30. Dohi T. Higher Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Levels are Associated with Coronary Atherosclerosis Documented by Coronary Angiography. Higher Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Levels are Associated with Coronary Atherosclerosis Documented by Coronary Angiography. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  31. Miyauchi K. Effect of Aldosterone on Coronary Plaque Volume in Hypertensive Patients with Stable Coronary Artery Disease ALPS-J Subanalysis. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012
  32. Tamura H. Correlation between Circulating Serum MCP-1 and Plaque Progression in

Diabetic Patients with Coronary Artery Disease. The 76<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, 2012

33. Sai E, Shimada K, et al. Association between Myocardial Triglyceride Content and Cardiac Function in Healthy Subjects and Endurance Athletes: Assessed by 1H-Magnetic Resonance Spectroscopy and Magnetic Resonance Imaging. *Circulation* 126: A14142, 2012
34. Katoh Y, Nagamine S, Wada T, et al. Association of Plasma Omega-3 to Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acid Ratio with Apical Ballooning Syndrome (Tako-Tsubo cardiomyopathy -TTC). *Circulation* 126: A18475, 2012
35. Daimon M, Kawata T, Miyazaki S, et al. Determinant Factors of Elevated Plasma B-type Natriuretic Peptide Level in Severe Aortic Stenosis. *Circulation* 126: A9451, 2012
36. Ogita M, Miyauchi K, Naito R, et al. Synergic Impact of C-reactive Protein and High-density Lipoprotein Cholesterol on Long-term Clinical Outcomes in Patients With Coronary Artery Disease Treated With Statin. *Circulation* 126: A9451, 2012
37. Ohmura H, Fukushima Y, Daida H, et al. Plasma levels of myeloperoxidase are possible biomarker of coronary plaque vulnerability and predictor of responsibility to lipid-lowering therapy. 80<sup>th</sup> European Atherosclerosis Society Congress, 2012

#### 平成25年度

1. 110th Scientific Meeting of the Japanese Society of Internal Medicine: Panel discussion: Development of a social system for the best medical quality and security: 4. Investigation of cause of death in cardiovascular disease--current status and problems]. Daida H,

Suzuki H. *Nihon Naika Gakkai Zasshi*. 2013 Sep 10;102(9):2341-6.

2. 森永弘章(順天堂大学循環器内科), 宮内克己, 荻田学, 坪井秀太, 岡崎真也, 代田浩之. CHADS2 スコアは糖尿病合併重症冠動脈疾患の死亡・脳卒中の予測因子となりうる. *脈管学* 53 : S135(2013.09)
3. 松本紘毅(順天堂大学医学部), 宮内克己, 荻田学, 坪井秀太, 岡崎真也, 代田浩之. 末梢動脈疾患を合併する冠インターベンション施行患者の長期予後とその臨床的特徴と予後. *脈管学* 53 : S121-S122(2013.09)
4. 石橋陽介, 関田学, 住吉正孝, 小松さやか, 小松かおる, 林英守, 戸叶隆司, 中里祐二, 代田浩之. 内因性房室伝導障害と迷走神経の過緊張による発作性房室ブロックの比較検討. *心電図* 33 : S-4-193(2013.09)
5. 山下晴世, 森永弘章, 瀬底正宏, 西崎祐史, 藤本進一郎, 山上伸一郎, 代田浩之. 虚血の判定に冠血流予備量比が有効で、虚血の解除により心拍依存性左脚ブロックが消失した一例. *日本心臓病学会誌* 8 : Suppl.I 665(2013.09)
6. 西崎祐史, 山上伸一郎, 瀬底正宏, 藤本進一郎, 山下晴世, 代田浩之. トルバプタン追加投与によりフロセミド作用増強効果を認めうっ血の解除に成功した高齢心不全の1例. *日本心臓病学会誌* 8 : Suppl.I 663(2013.09)
7. 森永弘章, 宮内克己, 坪井秀太, 荻田学, 葛西隆敏, 小西宏和, 内藤亮, 田村浩, 岡崎真也, 代田浩之. PCI後の腎機能不全患者の死亡率に対する赤血球細胞分布幅の影響(Impact of Red Cell Distribution Width On Mortality in Patients with Renal Insufficiency After PCI) *日本心臓病学会誌* 8 : Suppl.I 638(2013.09)
8. 比企優, 宮内克己, 岡崎真也, 田村浩, 荻田学, 華藤芳輝, 坪井秀太, 小西宏和, 内藤亮, 蔵田健, 代田浩之. 若年発症急性冠症候群患者の臨床

- 的・冠動脈造影上の特徴と長期予後．日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 616(2013.09)
9. 蔡榮龍, 島田和典, 横山貴之, 宮崎哲朗, 廣瀬邦章, 市川良子, 圓山雅己, 比企誠, 大門雅夫, 代田浩之．1H-MRS を用いた心筋内中性脂肪測定と拡張能評価項目との検討．日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 600(2013.09)
  10. 小西宏和, 宮内克己, 内藤亮, 坪井秀太, 荻田学, 葛西隆敏, 田村浩, 岡崎真也, 代田浩之．左室機能保持された急性心筋梗塞患者における $\beta$ 遮断薬の長期治療成績．日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 590(2013.09)
  11. 圓山雅己, 大門雅夫, 市川良子, 宮崎彩記子, 川田貴之, 大村寛敏, 鈴木宏昌, 天野篤, 代田浩之．新しいタイプの生体弁 Trifecta 本邦における大動脈弁狭窄症患者に対する弁置換術後早期成績．日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 541(2013.09)
  12. 内藤亮, 宮内克己, 荻田学, 坪井秀太, 小西宏和, 葛西隆敏, 岡崎真也, 代田浩之．診療における小型 EES の安全性と治療効果(The safety and efficacy of small size of EES in clinical practice) 日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 526(2013.09)
  13. 内藤亮, 宮内克己, 荻田学, 坪井秀太, 小西宏和, 葛西隆敏, 岡崎真也, 代田浩之 Sirolimus と paclitaxel 溶出性ステントの長期治療成績の比較(Comparison of long-term clinical outcomes between Sirolimus- and Paclitaxel-eluting stents) 日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 526(2013.09)
  14. 華藤芳輝, 宮内克己, 岡崎真也, 田村浩, 坪井秀太, 小西宏和, 内藤亮, 蔵田健, 代田浩之ロータブレードステント後の予後 BMS と SES、PES、EES の再造影所見と長期予後の比較 日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 519(2013.09)
  15. 吉原琢磨, 島田和典, 深尾宏祐, 代田浩之．多価不飽和脂肪酸は大動脈瘤の形成を抑制するか大動脈瘤モデルマウスによる検討 日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 517(2013.09)
  16. 市川良子, 大門雅夫, 川田貴之, 宮崎彩記子, 圓山雅己, 星野祐里子, 牧正彬, 大村寛敏, 鈴木宏昌, 代田浩之．2 型糖尿病患者(高血圧合併、非合併)と高血圧症患者の心機能の比較検討．日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 515(2013.09)
  17. 須田翔子, 葛西隆敏, 加藤隆生, 市川良子, 大村貴康, 岩間義孝, 宮崎哲朗, 高木篤俊, 宮内克己, 代田浩之．左室収縮機能不全を有し急性心不全で入院した症例における睡眠時無呼吸症の頻度と関連因子．日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 479(2013.09)
  18. 坪井秀太, 宮内克己, 荻田学, 葛西隆敏, 小西宏和, 内藤亮, 田村浩, 岡崎真也, 諏訪哲, 代田浩之．待機的経皮冠動脈インターベンション(PCI)後の脳卒中の発症率に対する赤血球細胞分布幅の影響(Impact of Red Blood Cell Distribution Width on Incidence of Stroke After Elective Percutaneous Coronary Intervention)．日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 472(2013.09)
  19. 横山美帆, 宮内克己, 島田和典, 荻田学, 久米淳美, 深尾宏祐, 蔡榮龍, 吉原琢磨, 大坂裕通, 岡崎真也, 塩谷みき, 小林洋一, 濱寄裕司, 辻田裕昭, 木庭新治, 代田浩之急性冠症候群患者の冠動脈プラーク退縮における回復期心臓リハビリテーションの効果．日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 460(2013.09)
  20. 小西宏和, 岡崎真也, 内藤亮, 荻田学, 坪井秀太, 田村浩, 葛西隆敏, 宮内克己, 代田浩之．PCI 施行した糖尿病患者において CHADS2 score と HAS-BLED score は脳卒中の予測因子となるか．日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 451(2013.09)
  21. 大村寛敏, 代田浩之, 綿田裕孝, 三田智也．2 型糖尿病患者に対する DPP-4 阻害薬の短期血糖管理に対する有効性と長期の心血管イベントに関する追跡調査(SPIRITS-J 中間報告)．日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 362(2013.09)

22. 瀬底正宏, 西崎祐史, 山上伸一郎, 藤本進一郎, 山下晴世, 代田浩之 . 難治性甲状腺クリーゼに伴う心不全にトルバプタンが有効であった 1 例 . 日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I339(2013.09)
23. 藤本進一郎, 近藤武, 高村和久, 松永江律子, 木下良子, 高瀬真一, 代田浩之 . 冠動脈 CT からみた急性冠症候群における年齢層による責任プラークの特徴の違いについて . 日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 330(2013.09)
24. 森永弘章, 宮内克己, 坪井秀太, 葛西隆敏, 内藤亮, 小西宏和, 野澤由美, 荻田学, 田村浩, 岡崎真也, 蔵田健, 代田浩之 . 冠動脈疾患患者でのCHA2DS2-VASc Score の脳梗塞・総死亡に対する予測因子としての有用性 . 日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 328(2013.09)
25. 宮崎哲朗, 比企優, 高木篤俊, 加藤隆生, 須田翔子, 葛西隆敏, 島田和典, 宮内克己, 代田浩之 . CCU 患者における血中 DPP-IV 濃度と心不全との関連 . 日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I 319(2013.09)
26. 宮崎哲朗, 加藤隆生, 高木篤俊, 須田翔子, 比企優, 葛西隆敏, 島田和典, 宮内克己, 代田浩之 . CCU 患者における血中多価不飽和脂肪酸濃度と心不全ならびに院内死亡との関連 . 日本心臓病学会誌 8 : Suppl.I318(2013.09)
27. 代田浩之.Management and Two-year Long-term Clinical Outcomes of Patients with Acute Coronary Syndrome in Japan: The PACIFIC Registry. The 77<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society. March 15-17, 2013

#### **G.知的財産権の出願・登録状況**

なし



## 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( $6.9 \pm 2.6$  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  $25 \text{kg/m}^2$ 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<sup>1</sup>・CLEIA法<sup>2</sup>)。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<sup>3</sup>やCD36欠損症<sup>4</sup>、やカイロミクロン蓄積を有する患者<sup>1</sup>)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<sup>5</sup>、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<sup>6</sup>。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<sup>7</sup>、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<sup>8-10</sup>。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。

<sup>1</sup> J Lipid Res. 2003;44:1256-1262. <sup>2</sup> Clin Chim Acta. 2012;413:160-165. <sup>3</sup> Eur J Clin Invest. 2009;39(8):689-98. <sup>4</sup> J Lipid Res, 2009;50(5):999-1011. <sup>5</sup> J Atheroscler Thromb. 2011;18:1062-70. <sup>6</sup> Atherosclerosis. 2011;218:226-32. <sup>7</sup> J Lipid Res, 2009;50(5):999-1011. <sup>8</sup> Eur J Clin Invest. 2009;39(8):689-98. <sup>9</sup> J Atheroscler Thromb. 2010;17(9):914-24. <sup>10</sup> 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 m<sup>2</sup>)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<sup>1</sup>、apoB/TC<sup>2</sup>、TC/apoBおよびTG/apoB<sup>3</sup>、nonHDL-C/apoB<sup>4</sup>、apoE/apoC<sup>5</sup>)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)<sup>1</sup> *Eur J Clin Chem Clin Biochem* **31**:743-747, 1993、<sup>2</sup> *Clin Chem* **51**:904-907, 2005、<sup>3</sup> *J Clin Lipidol* **1**:256-263, 2007、<sup>4</sup> *J Clin Lipidol* **4**:99-104, 2010、<sup>5</sup> *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 $\mu$ 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  $\mu$ g/mL vs 2.4 $\pm$ 1.9  $\mu$ g/mL,  $p < 0.001$ )(図1-1)、BMI25kg/m<sup>2</sup>以上(4.4 $\pm$ 3.7  $\mu$ g/mL vs 2.8 $\pm$ 2.4  $\mu$ g/mL,  $p < 0.001$ )およびMetS患者(6.5 $\pm$ 4.3  $\mu$ g/mL vs 3.0 $\pm$ 2.6  $\mu$ 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  $\mu$ g/mL、平均値は2.04  $\mu$ g/mL(基準範囲; 0.74-5.65  $\mu$ 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 $\mu$ 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  $\mu$ 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 $\mu$ 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  $\mu$ g/mL (基準範囲:0.74-5.65  $\mu$ 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 <sup>†</sup> (m vs. w)	49 vs. 18	71 vs. 25
Smoking (%)	48.2	60.4
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.1 ± 3.6	24.4 ± 2.8
Prevalence of Dyslipidaemia <sup>‡</sup> (%)	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 <sup>§</sup> (%)	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 <sup>¶</sup> (%)	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

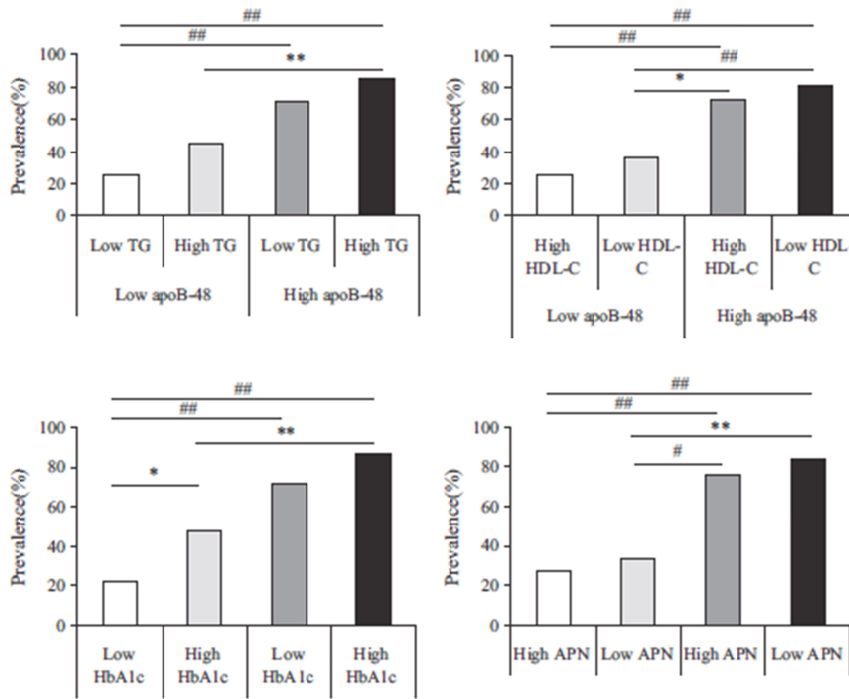
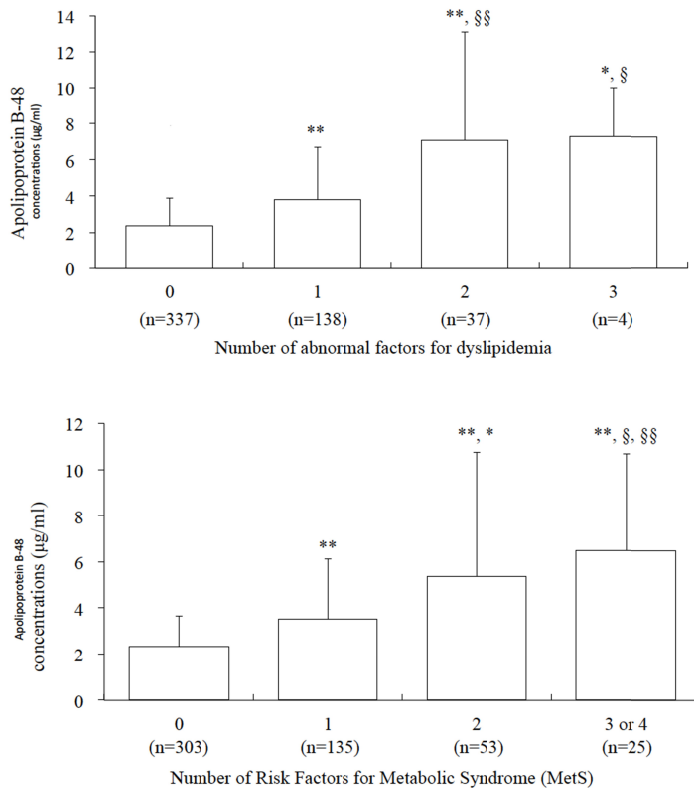


図2 脂質異常因子数・MetS 因子数とアポ B-48 濃度の分布



(\* 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 <sup>2</sup> )		Low eGFR (<60 ml/min/1.73m <sup>2</sup> )		p values <sup>a</sup>
	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 <sup>2</sup> )	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 <sup>bcd</sup>	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) <sup>bcd</sup>	0.000
eGFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	80±18	79±16	36±16 <sup>c</sup>	34±17 <sup>c</sup>	0.000
UA (mg/dl)	5.3±1.2	5.3±1.5	6.8±1.3 <sup>bc</sup>	7.0±1.6 <sup>bc</sup>	0.000
Prevalence of drug-treated patients (%)	8 (16)	7 (9)	10 (14)	25 (38) <sup>cd</sup>	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 <sup>b</sup>	2.1±0.2 <sup>b</sup>	2.1±0.2 <sup>b</sup>	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 <sup>b</sup>	0.78±0.32 <sup>b</sup>	0.89±0.26 <sup>bc</sup>	0.000
Log-ApoB-48/TG	0.28±0.13	0.35±0.13 <sup>b</sup>	0.35±0.16 <sup>b</sup>	0.41±0.11 <sup>bc</sup>	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/1.73m<sup>2</sup>) and high (>60 ml/min/1.73m<sup>2</sup>) 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.

<sup>a</sup> p values for ANOVA test or  $\chi^2$  test.

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

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

<sup>d</sup> 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		

## 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）分担総合研究報告書

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

分担研究者 太田 孝男（琉球大学大学院医学研究科育成医学講座 教授）

**研究要旨** 3年間の研究期間で小児期の脂質異常症と非遺伝要因及び小児期における家族性高コレステロール血症(FH)と動脈硬化の関連を検討した。子宮内発育との関連研究では、沖縄県でNICUに入院した生下時体重1500未満の100名を対象とした検討を行った。低出生体重児でも学童期にはLDL-C、TG、アポBレベルの上昇は認められず、HDL-Cはむしろ高い傾向にあった。ただ、BMIz-scoreは対象児で低値を示しており、成人迄の体格変化と脂質レベルの関連の更なる検討が必要だと思われた。脂質異常症と動脈硬化進展の関連解析はIMTを用いて検討した。その結果、LDL-CはIMTと正相関していること、HDL-Cが逆相関していること、FHヘテロ児のIMTはnon-FH児より肥厚していることが明らかになった。また、17歳まではFH児でIMTの変化は認められなかったが18歳以降compound HeteroのFH児ではIMT肥厚がスタチン使用にも拘らず認められた。症例が少なく結論は出せなかったが、小児期のFH及び高LDL-C血症では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必要だと思われた。

### A. 研究目的

動脈硬化性疾患は多くの場合、成人後に臨床症状が現れるため小児期にはあまり注目されていない。しかし、動脈硬化の危険因子が小児期から存在していることは多くの研究で明らかにされている。近年、欧米では小児期の危険因子と動脈硬化の関連調査が行われ、危険因子の除去が動脈硬化の進展を抑制することが明らかにされつつある。わが国ではまだ同様な研究はなされていない。本研究では、その第一歩として小児期の動脈硬化性心疾患危険因子と動脈硬化進展の関連を日本人小児を対象に検討した。また、これまでの研究の継続として、小児脂質異常症に及ぼす環境因子の影響について、子宮内発育不全と脂質異常症の関連についても検討した。

### B. 研究方法

1) 初年度は沖縄県立中部病院でNICUに入院した1500g未満の小児100名(VLBW)を対象に血清脂質、ア

ポB、インスリン、血糖を測定した。採血は朝食前空腹時に行った（朝食の摂取は自己申告で摂取児は本研究対象から除いた）。インスリン抵抗性の指標としてはHOMA-IRを用いた。体重はBMI z-score (BMISD)を用いて評価した。対照群には沖縄県で行った小児生活習慣病健診受診児のデータを用いた。

2) 2～3年度は熊本市での生活習慣病予防検診で高LDL-C血症(LDL-C $\geq$ 140 mg/dL)を呈し、IMT測定の協力が得られた児及びヘテロFHで熊本大学附属病院小児科及び琉球大学附属病院小児科フォロー中の児を対象とした。IMTの測定は日本超音波学会ガイドライン「超音波による頸動脈病変の標準的評価法」に準じて行った。7.5MHz リニアプローブを用いて、左右の総頸動脈及び内頸動脈での最大内膜中膜複合体厚(Max IMT)を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は全て保護者の同意を得て行われている。

## C&D . 研究結果と考察

1) 体格を調整して各種データを比較するため、極低出生体重児、対照群ともに BMISD で 4 群に分け比較検討を行った。2.0 < A 群 < -1.0、-1.0 ≤ B 群 < 0.0、0.0 ≤ C 群 < 1.0、1.0 ≤ D 群。対照群には BMISD < -1.0 はいなかったため比較できなかった。VLBW 児は学童期でも体格的には小柄でやせ形の児が多く、Catch-up growth は不十分であった。また、VLBW 児ではコントロール群に比べ LDL-C、TG は低値であり、HDL-C は高値を示した。アポ B も VLBW 児は低値を示した。脂質レベルから判断すると、動脈硬化に関して VLBW 児は low-risk の状態であった。糖代謝に関しては、脂質レベルと同様に VLBW 群ではインスリン値は低く、インスリン抵抗性も弱かった。

2) FH 患児の LDL-C と IMT には有意な相関が認められた。また、HDL-C は LDL-C と異なり負の相関が認められたが、その相関は LDL-C よりも強かった。FH 患児の IMT 経時変化では、治療にも拘らず 18 歳頃より compound Heterozyote 児で IMT の進展が認められた。他の FH 児では IMT の変化は軽度であった。

## E . 結論

1) 子宮内発育不全や早産児が将来の生活習慣病発症の危険因子であることから、学童期を迎えた極低出生体重児の脂質・糖代謝関連因子について検討した。しかし、私達の予想に反し、極低出生体重学童では対照群に比べ生活習慣病のリスクは低いことを示唆する結果を得た。これ迄の報告の多くは成人後のデータであり、学童期の状況についての報告は少なため本結果が成人後の状況を予測可能か否かについては明確でない。ただ、これ迄の報告では子宮内発育不全や低出生体重児は、軽度の体重増加でも小児期のインシュリン抵抗性が強まっていおり私達の結果とは矛盾している。その理由として、報告されている子宮内発育不全や低出生体重の程度が本研究の対象児に比べて軽度である点に注目している。つまり、疫学調査がなされたのは 20 年以上前であり、本研究の対象児のような極低出生体重児は含まれていなかった可能性が高い。一般に軽度の子宮内発育不全や低出生体重児には catch-up

成長が認められ、正常群との差は小さいと報告されている。しかし、私達の症例では catch-up 成長は不十分であった。もし、今後、体重の増加がこれ迄以上に起れば、急速に high risk 化する可能性も否定できない。今後も十分な医学的管理が必要だと思われる。

2) 本研究でわが国小児でも欧米と同様に IMT が LDL-C 及び HDL-C と相関する事が確認できた。

Compound Heterozyote 児は LDL 受容体遺伝子のエクソン 4-12 deletion と L547V のであり 11 歳時に FH と診断した。初診時に IMT で動脈硬化の進展が認められ、幸いにもスタチン製剤に反応が認められたので、ロスバスタチンとエゼチミブで治療を開始している症例である。薬剤治療開始 1 年著明な IMT の改善が認められ (1.3 mm から 0.7 mm) その後 0.5-0.6 mm 台でコントロールできていた。しかし、18 歳時点から 0.7mm-0.8mm と IMT の進展を認め始めている。その間の LDL-C は以前と大きな変化は認められていない。冠動脈の狭窄は 3D-CT で認められていない。IMT の値はそれほど大きくないが今後進展が進むようなら LDL apheresis の導入も検討する必要があると考えている。また、怠薬があった場合、LDL-C は 300mg/dL を超えるので、厳格な服薬指導を続けている。他の FH 児では食事及び生活指導のみで診ているが IMT の増強は殆ど認められていない。症例が少なく結論は出せないが、一般的な FH の場合は欧米と異なり、LDL-C 200mg/dL 前後では小児期での動脈硬化の進展はそれほど大きくないのかも知れない。ただ、ある時期から急速に進行する可能性もあり、個別症例の注意深い観察が必要だと思われる。最後に、小児期の FH 及び高 LDL-C 血症では 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必要だと思われる。動脈硬化が進展する場合に限っては、スタチン系薬剤の使用も考慮すべきであろう。

## F . 健康危険情報

該当なし。

## G . 研究発表



1. **論文発表**

- Yoshida T, Nagasaki H, Asato Y, Ohta T. Early weight changes after birth and serum high-molecular-weight adiponectin in preterm infants. *Pediatrics Int* 53: 926-929, 2011.
- Katsuren K, Nakamura K, Ohta T. Effect of body mass index Z-score on adverse levels of cardiovascular disease risk factors. *Pediatrics International* 54 : 200-204, 2012

2. **学会発表**

無し

**H . 知的財産権の出願、登録状況**

該当なし。



平成25年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
研究分担（総合研究）報告書

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  
研究分担者 武城英明（東邦大学医療センター佐倉病院）  
研究協力者 黒田正幸（千葉大学医学部附属病院）

**研究要旨** 原発性脂質異常症の1つである家族性レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ（LCAT）欠損症（FLD）は、重篤な腎不全を合併する。LCAT酵素の補充療法が根治療法と考えられるが、その疾患の希少性などにより開発が進んでいない。本研究は腎不全に関連したリポ蛋白異常の解明と持続的LCAT蛋白補充に基づく新規治療法を実用化・提案することを目的とする。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）症例を対照として、FLDの腎機能障害合併と関連するリポ蛋白の同定をリポ蛋白の分画解析とrLCATに対する反応性を指標として試みた。その結果、FLD患者では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。一方、Ex vivo遺伝子治療法の標的細胞として、脂肪組織から天井培養法によって調製される前脂肪細胞を選択し、レトロウイルスベクターによりLCAT遺伝子を導入した前脂肪細胞を自家移植する新たな治療法の開発研究を進めてきた。前脂肪細胞の産生するLCAT蛋白はLCAT欠損症患者血清において障害されているリポ蛋白代謝異常を改善し、LCAT欠損マウスモデルへの移植によりLCAT欠損マウスにおいても脂質異常を改善した。これらの研究成果を元に、遺伝子治療臨床研究の申請作業を進め、本年度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）の実施承認を受けた。前脂肪細胞を用いた遺伝子細胞治療技術はさまざまな酵素欠損症の移植技術に有用であることが明らかになり、今後さまざまな酵素補充療法に応用する予定である。

## A. 研究目的

私たちは、原発性脂質異常症の1つである家族性レシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ（LCAT）欠損症に対して、これまで自己の脂肪組織から調製されるLCAT遺伝子導入脂肪細胞を用いた新規遺伝子細胞治療の開発研究を進めている。本研究で実用化を目指す遺伝子細胞移植技術に基づく持続的酵素補充療法は、患者皮下脂肪組織から採取した脂肪組織から増殖可能な前脂肪細胞を調製、それにレトロウイルスベ

クターで治療遺伝子を導入し、遺伝子導入前脂肪細胞を拡大培養した後に患者皮下脂肪組織に移植することで治療蛋白を血中に供給する治療法である。

本研究では、これまでの研究活動で入手したLCAT欠損症患者血清検体とLCAT欠損マウスを用い、その病態改善効果を検討し、根本的治療法がなく腎不全に至る家族性LCAT欠損症を対象として、世界で初めて実用化することを目的とする。

## B & C. 研究方法と結果

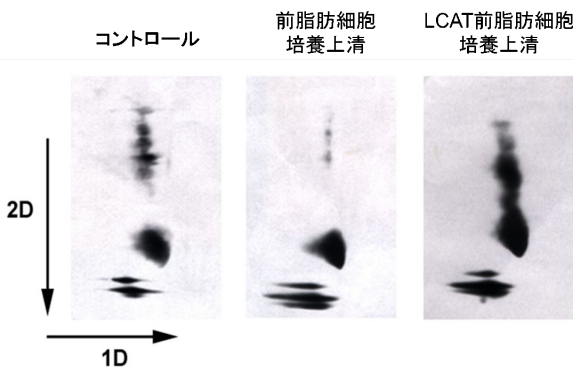
## 1. 用いた症例

今回の解析に用いた症例は、国内4症例（千葉大、自治医大、北里大、大阪大）、オランダ5症例（アムステルダム大学アカデミックメディカルセンター）であり、それに健常人の4検体を加えた合計13検体を用い、国際共同研究として実施した。LCAT欠損症症例の内訳は家族性LCAT欠損症（FLD）5症例、魚眼病（FED）4症例である。いずれも血清におけるLCAT活性は健常人の1~2%程度であった。また、リポ蛋白二次元電気泳動とApoAIウェスタンブロット解析においてHDLの著しい成熟障害が認められた。

## 2. LCAT遺伝子導入前脂肪細胞が分泌するLCATの患者HDLに対する改善効果

前脂肪細胞が分泌するLCAT酵素の機能を評価する目的で、健常人ドナーの脂肪組織から天井培養法により前脂肪細胞を調製し、レトロウイルスベクターによりLCAT遺伝子を導入、その培養上清を濃縮した。

LCAT欠損症患者血清と健常人血清のリポ蛋白分布の違いに着目し、患者血清に前脂肪細胞が分泌したLCAT蛋白を添加し、添加後のHDLの成熟の度合いを二次元電気泳動とHDLの主要アポリ蛋白であるApoAIに対するウェスタンブロット法を組み合わせ、患者血清中のHDL粒子の成熟を指標とした治療反応性評価を行った。腎機能障害を合併する家族性LCAT欠損症症例を含め、全ての患者血清において、ApoAI含有HDLが前脂肪細胞の産生するrLCATの添加により高分子側にシフトすること、すなわちHDLの成熟に機能することを確認した（図1）。少なくとも検討できた症例については、前脂肪細胞が分泌するLCAT蛋白は、患者血清中に補充された際には患者の病態を改善できることが示唆された。



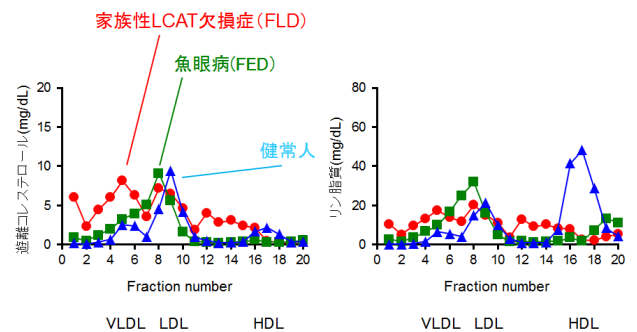
## 図1 .LCAT遺伝子導入前脂肪細胞の培養上清による患者HDLの成熟

培養上清を添加インキュベーションした後、二次元電気泳動を行い、HDLの主要アポリ蛋白であるApoAIに対するウェスタンブロットを行った。

## 3. 患者血清リポ蛋白のサイズによる分画解析

2の結果からLCAT遺伝子導入前脂肪細胞の培養上清は患者HDLの成熟に機能することが明らかになった。LCAT欠損による最も重篤な合併症は腎不全であり、本遺伝子細胞治療開発の第一目標は腎不全への移行の阻止である。

以前より家族性LCAT欠損症の腎不全合併には異常LDLが関与することが報告されているが、個々の症例の検討にとどまっておらず、詳細は不明である。そこで、腎機能障害を合併しないFED症例と健常人を対照としてFLD症例のリポ蛋白異常を解析した（図2）。LCAT欠損症の病態とリポ蛋白異常との相関を検討するため、リポ蛋白の粒子サイズに着目し、それぞれの血清検体をゲル濾過で20個に分画し、それぞれの分画における総コレステロール（TC）、遊離コレステロール（FC）、トリグリセリド（TG）、リン脂質（PL）の定量を行った。その結果FLDに特徴的なリポ蛋白異常として、フラクション11~16にFCとPLに富んだ不均一なサイズのリポ蛋白が認められた。FLD、FEDに共通して、すなわちLCAT欠損に共通してLDL分画のピークが9から8になっている、すなわちLDLの粒子サイズが健常人に比べて大きいことがわかった。



## 図2. FLD、FED、健常人のゲルろ過分画パターンと比較

分画後、それぞれのフラクションについて総コレステロール、トリグリセリド、遊離コレステロール、リン脂質の濃度を測定した。図に

は遊離コレステロール（左）とリン脂質（右）の結果を示した。

#### 4．腎不全に関連したリポ蛋白の解析

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について2と同様の解析を行い、粒子サイズの大きな分画（VLDL、LDL相当分画）において、明瞭な相違を認めた（図3）。

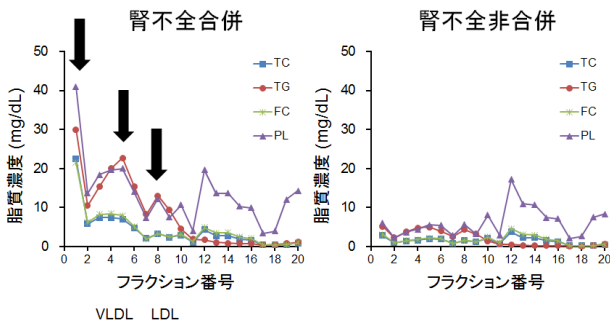


図3. 腎不全合併、非合併症例の比較

C313Y変異を有する姉妹症例についてリポ蛋白ゲル濾過分画解析を実施した。

次に、C313Yとは異なる変異を有する患者について脂肪制限による食事療法の効果について検討した。その結果、粒子サイズの大きな分画（VLDL、LDL相当分画）においてリポ蛋白の減少を認めた（図4）。

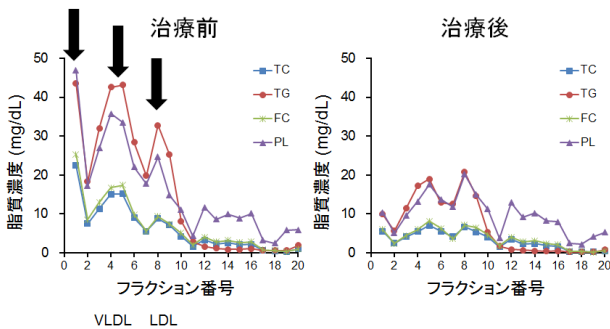


図4. FLD患者における脂肪制限食によるリポ蛋白プロファイルの変化

C74Y変異を有する症例について食事療法前後でリポ蛋白ゲル濾過分画解析を実施し比較した。

以上の解析から、腎機能障害の発現には、フラクション11までに認められる比較的サイズの大きいリポ蛋白が関与することが示唆された。

#### 5．家族性LCAT欠損症に認められるリポ蛋白異常

以上の結果を元に、FLD、FED、健常人において粒子サイズの大きな分画に図5のような相違が認められることが考えられた。

この結果、フラクション11までのフラクションについて、健常人では5と9にピークを持つリポ蛋白粒子（それぞれVLDLとLDL）が存在しているのに対して、腎機能障害を合併しない病態であるFEDでは8にピークを持ち、それまでのフラクションにはっきりとしたピークが認められないこと、腎機能障害を合併するFLDでは、5と8にピークを持つ粒子が存在していることが分かった。

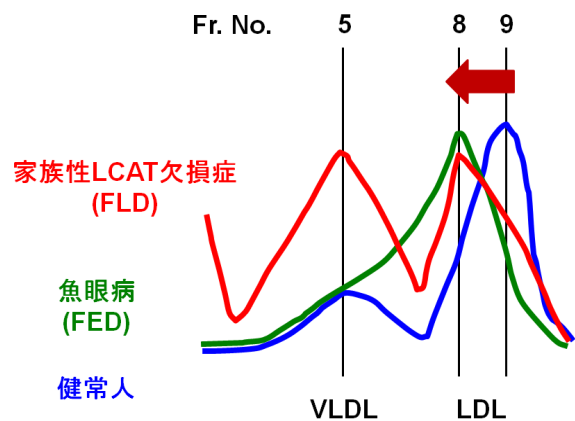


図5 FLD、FEDにおけるリポ蛋白サイズの異常

FLD、FED、健常人の解析より、健常人におけるVLDL、LDL分画付近について比較し、その傾向を図示した。

#### 6．家族性LCAT欠損症のリポ蛋白異常に対するLCATの影響

LCAT欠損症ではHDLの機能異常が認められる。前述の2の結果について同様のゲルろ過分画解析を実施した。FLD、FEDともに、LCAT遺伝子導入前脂肪細胞の培養上清の添加インキュベーションによりFCの減少とCEの増加が認められ、HDLの組成が改善することが示唆された。

次に、LCAT異常によりサイズ異常が生じ、腎不全でその量が変動するLDL分画についてその脂質組成をさらに検討した（図5）。

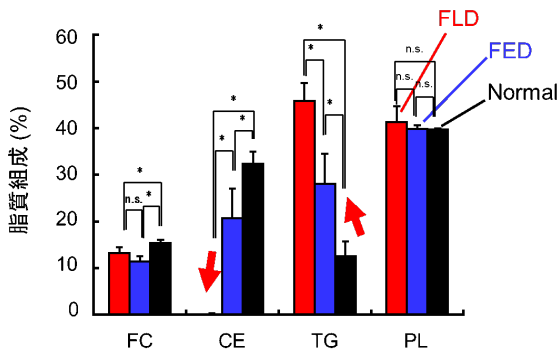


図5 FLD、FEDにおけるLDLの異常

FLD、FED、健常人の解析より、脂質組成を比較解析した。

その脂質組成はFLDではCEが低値であり、TGが高値であった。

このFLD、FEDの間で組成に違いの認められたLDLについてLCAT遺伝子導入ヒト前脂肪細胞が産生・分泌するrLCATの反応性を評価した。その結果FLDのLDLではCEの出現とPLの減少が観察され、rLCATに反応したが、FEDのLDLはrLCAT添加に対して反応しなかった(図6)。

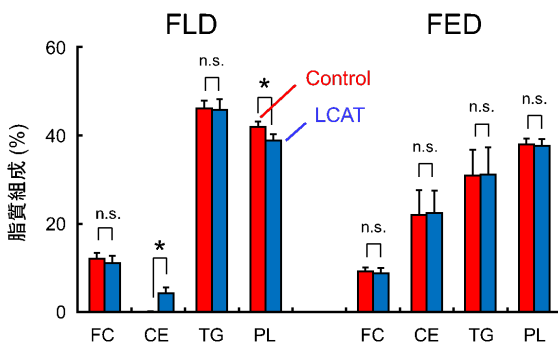


図6 FLD、FEDにおけるLDLのrLCATに対する反応性

FLD、FEDの血清にrLCATを添加反応させ、反応前後の脂質組成を比較した。

### 7. LCAT 欠損マウスでの有効性解析

本症の患者を対象とした遺伝子治療臨床研究を計画し、その承認に向けた審議を厚生労働省で受けた。作業委員会審査の過程において必要となったモデル動物での薬効解析を実施した。

名古屋市立大学・横山信治教授、群馬大学・佐藤幸市先生のご協力の下、LCAT 欠損モデルマウス(以下、K0 マウス)を入手し、本解析に向けた繁殖を平成 22

年度 8 月より実施し、平成 23 年度から移植実験への使用が可能となった。繁殖維持を繰り返しながら、薬効試験を実施した。

K0 マウスへの移植実験の結果、移植 7 日後までは血中に hLCAT を検出したが、その後検出できなくなり、検討の結果 hLCAT に対する抗体の出現を確認した。そこで、免疫抑制剤(シクロフォスファミド)を併用する薬効試験を実施した。その結果、移植 7 日以降も、血中に LCAT 活性(コレステロールのエステル化活性)を検出した(図 7)。その活性はヒト ApoA1 の存在下で活性化されることから、血中に検出された hLCAT は活性体としてマウス血中に分泌されていることが分かった。

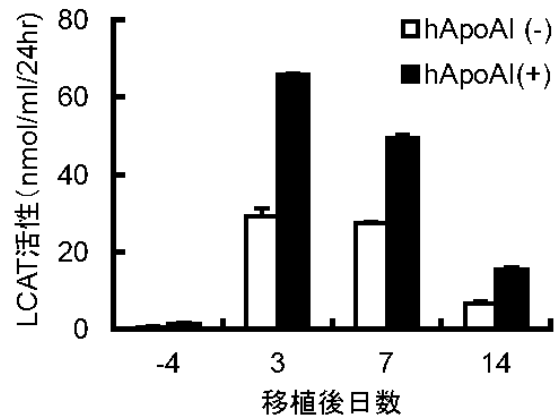


図 7. LCAT 欠損マウス血中へ分泌されたヒト LCAT の活性

移植 7 日後の血清検体についてリポ蛋白の分画解析を実施したところ、HDL 分画のコレステロールエステル比の上昇と LDL の脂質組成の改善を認め(図 8)、免疫排除機構を抑制した実験系において脂質代謝異常の改善を認めた。生理学的に LCAT を産生する臓器は肝臓であるが、以上の結果は、前脂肪細胞が異所性に産生する LCAT が、本研究が目的とする LCAT 欠損症の病態の改善に機能し得ることを示唆している。

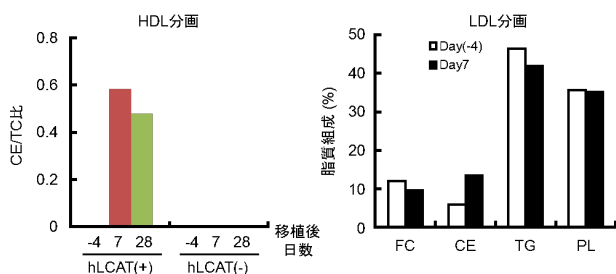


図 8. LCAT 遺伝子導入マウス前脂肪細胞移植による LCAT 欠損マウスの脂質異常の改善

## 8. 遺伝子治療臨床研究の申請作業と実施承認

これらの有効性解析結果に加え、動物試験による安全性解析等の結果をまとめ、遺伝子治療臨床研究実施計画書を厚生労働省に申請し、H25年5月13日付で遺伝子治療臨床研究の実施承認を受けた。

### (倫理面への配慮)

移植細胞の薬効薬理および生着性に関する研究は、千葉大学大学院医学研究院の規定に従い、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則並びに国で定められている、ヒト生体由来細胞を用いた実験、組換え DNA 実験、動物取り扱いに関する指針に従い、千葉大学で開催される各委員会で実験許可を受けて実施した。

遺伝子治療臨床研究実施に向けて、「臨床研究に関する倫理指針」、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」及び「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用規程を遵守し、また「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」および「その一部を改正する省令ならびにそれらの関連通知」に準拠研究を実施した。移植細胞の調製業務は、「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針」、「ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方について」、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」に基づく「治験薬の製造管理及び品質管理基準および治験薬の製造施設の構造設備基準(治験薬 GMP)」について」を満たす製造設備及び手順に遵守し実施した。

## DおよびE. 考察および結論

LCAT 欠損症は酵素補充療法が有効と考えられるが、希少疾病であることに加え、様々な制約により、その治療法開発が進んでいなかった。

本研究で家族性 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り、本遺伝子細胞治療が薬事承認を受ける第一歩を踏み出すことができた。

また、本症の腎不全発症に関与するリポ蛋白の性状が明らかになってきた。これらのリポ蛋白異常が家族性 LCAT 欠損症を対象とした遺伝子治療臨床研究における臨床評価マーカーとなる可能性がある。

今後は PMDA 薬事戦略相談等を利用し、より良い遺伝子細胞治療の開発を目指す予定である。

(謝辞)

本研究成果は患者さん検体の解析により得られたものであり、貴重な検体をご提供いただいた患者さんに感謝いたします。

## F. 健康危険情報

特記事項なし

## G. 研究発表

### 論文発表

- 1) Aoyagi Y, Kuroda M, Asada S, Tanaka S, Konno S, Tanio M, Aso M, Okamoto Y, Nakayama T, Saito Y, Bujo H. Fibrin glue is a candidate scaffold for long-term therapeutic protein expression in spontaneously differentiated adipocytes *in vitro*. *Exp Cell Res*. 2012;318:8-15
- 2) Kuroda M, Bujo H, Aso M, Saito Y. Adipocytes as a vehicle for *ex vivo* gene therapy: Novel replacement therapy for diabetes and other metabolic diseases. *J Diabet Invest*. 2011;2:333-340.
- 3) Asada S, Kuroda M, Aoyagi Y, Fukaya Y, Tanaka S, Konno S, Tanio M, Aso M, Satoh K, Okamoto Y, Nakayama T, Saito Y, Bujo H. Ceiling culture-derived proliferative adipocytes



retain high adipogenic potential suitable for use as a vehicle for gene transduction therapy. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2011;301:C181-C185.

- 4) Fukaya Y, Kuroda M, Aoyagi Y, Asada S, Kubota Y, Okamoto Y, Nakayama T, Saito Y, Satoh K, Bujo H. Platelet-rich plasma inhibits the apoptosis of highly adipogenic homogeneous preadipocytes in an in vitro culture system. *Exp Mol Med.* 2012;44:330-339.
- 5) Naito S, Kamata M, Furuya M, Hayashi M, Kuroda M, Bujo H, Kamata K. Amelioration of circulating lipoprotein profile and proteinuria in a patient with LCAT deficiency due to a novel mutation (Cys74Tyr) in the lid region of LCAT under a fat-restricted diet and ARB treatment. *Atherosclerosis.* 2013; 228: 193-197.

酵素添加による改善. 日本小児脂質研究会(福井市) H25.11.9-10

## H. 知的財産権の出願、登録状況

特記事項なし

## 学会発表

- 1) 浅田咲世、黒田正幸、青柳靖之、石橋 俊、鎌田貢壽、山下静也、John J.P. Kastelein、武城英明. 家族性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における腎不全を惹起する異常リポ蛋白、日本小児脂質研究会(川越市) H24.11.30-12.1
- 2) 青柳靖之、黒田正幸、浅田咲世、麻生雅是、武城英明. 前脂肪細胞を用いた遺伝子細胞治療による家族性 LCAT 欠損症モデルの病態改善効果、日本小児脂質研究会(川越市) H24.11.30-12.1
- 3) Kuroda M, Aso M, Saito Y, and Bujo H. Self-transplantation using therapeutic-enzyme secreting adipocytes for familial LCAT deficiency syndrome. 第45回日本動脈硬化学会総会・学術集会シンポジウム。(東京) H25.7.18-19
- 4) 黒田正幸、浅田咲世、青柳靖之、石橋俊、山下静也、鎌田貢壽、AG. Holleboom、武城英明. LCAT 欠損症の腎不全に関わる異常リポ蛋白の同定と



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

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

研究分担者 荒井秀典 京都大学人間健康科学科 教授

研究協力者 斯波真理子 国立循環器病研究センター部長

及川眞一 日本医科大学教授

野原淳 金沢大学特任准教授

横手幸太郎 千葉大学教授

山下静也 大阪大学教授

研究要旨

本研究では、高 LDL コレステロール血症、腱黄色腫、および若年性心筋梗塞や狭心症を示す家族性高コレステロール血症（FH）ヘテロ接合体について、的確に診断できる診断基準作成を目的として、多施設共同研究を行った。脂質異常症患者の未治療時の血清脂質値、家族歴、アキレス腱肥厚などの臨床所見を解析し、FH 診断のための LDL コレステロールの基準として 190mg/dL に比べ、180mg/dL を用いたほうが、感度に優れており、特異度に差がないことを明らかにした。本研究で作成した診断基準は動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012 年版に採用された。また、日本人における Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia の頻度を明らかにする目的で、西暦 2000 年日本人の血清脂質調査のデータを解析した。20 歳から 79 歳までの男女で脂質低下薬を服用していないそれぞれ 7088 名、4627 名を解析し、欧米の基準を用いた Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia の頻度は男性 5.64%、女性 10.0%であった。男女とも、60 歳代以降に頻度が増加した。全体での頻度は 7.5%であった。日本における Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia に関する調査はほとんどなく、原発性高脂血症の一つとして、その原因遺伝子や予後に関する調査を行うべきである。

A. 研究目的

高コレステロール血症、黄色腫、および早発性冠動脈疾患を示す家族性高コレステロール血症（FH）ヘテロ接合体の診断基準は垂井班が 1986 年に作成した後、改定が行われていない。垂井班が作成した診断基準の大項目には“LDL 受容体の活性低下ないしは異常”が含まれているが、現在一般臨床において LDL 受容体の異常を診断するこ

とは非常に困難である。従って、本研究は専門医を含めた一般臨床医が診断を行うための新たな FH ヘテロ接合体の診断基準作成を目的として、多施設共同研究を行うこととした。また、診断基準における LDL コレステロールのカットオフ値を決定するとともに新しい診断基準の感度、特異度を決定する。

また、低 HDL コレステロール血症は粥状

動脈硬化と関係し、冠動脈疾患や非心原性脳梗塞の発症が増えることが疫学的に知られている。一般的に低 HDL コレステロール血症は高 LDL コレステロール血症のみならず、高トリグリセライド症、糖尿病、慢性腎臓病 (CKD) を合併することが多く、それらの因子が交絡因子として作用するため、HDL コレステロールが低値であるだけの人の頻度やリスクについては十分に知られていない。2011 年に Huxley らにより報告された論文 (Circulation, 2011: 124, 2056) によれば、日本人を含むアジア人の頻度は 22% と報告されている。本研究では西暦 2000 年日本人の血清脂質調査のデータを用いて原発性高脂血症の一つである原発性低 HDL コレステロール血症 (Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia) の日本人における頻度を明らかにする。

## B. 研究方法

1) 研究 1 は、国立循環器病研究センター、大阪大学、京都大学、京都予防医学センター、金沢大学、日本医科大学による多施設共同研究である。

対象者：各共同研究施設受診歴のある脂質異常症患者 1400 例を対象とする。脂質異常症の抽出にはカルテの診断名をもとに行う。新しい FH の診断基準としては、山田班における研究成果を元に以下のものを用いることとした。

1. 高 LDL コレステロール血症
2. アキレス腱肥厚または皮膚結節性黄色腫が存在する (眼瞼黄色腫は除く)
3. 2 親等以内に FH の確定診断を受けている、あるいは早発性冠動脈疾患の家族がいる。

1 から 3 のうち 2 つ以上を満たしている患者を FH と診断する。

評価項目：患者属性 (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 FH 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)

今回の解析における FH、非 FH の診断は遺伝子解析で診断が明らかとなった FH 症例及び専門医による診断に基づくこととした。なお、本研究計画は国立循環器病研究センターによる承認を受けた後、実施した (主任研究者: 斯波真理子)。

2) 研究 2 では西暦 2000 年日本人の血清脂質調査の結果を解析する。20 歳から 79 歳までの男女 11715 名 (男性 7088, 女性 4627) で脂質低下薬を服用していない参加者を解析する。

Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia の診断基準は Huxley らの論文と同様に

1. LDL コレステロール 160mg/dL 未満
2. トリグリセライド 200mg/dL 未満
3. HDL コレステロール、男性 40mg/dL 未満、女性 50mg/dL 未満とした。

また、日本の診断基準である

1. LDL コレステロール 140mg/dL 未満
  2. トリグリセライド 150mg/dL 未満
  3. HDL コレステロール 40mg/dL 未満
- による解析も行った。

## C. 研究結果

研究 1

今回収集したデータは 1397 名分であるが、欠損値があった 41 名を除く FH418 名、非 FH935 名、計 1356 名のデータを解析した。

採血時の平均年齢は 56.6 歳、男性 46.6%、女性 53.4% である。FH でアキレス腱肥厚を認めるのは遺伝子変異の有無にかかわらず、約 65% であり、85% の FH に 2 親等以内の FH の家族歴があった(表 1)。

図1に未治療時のFH、非FHのLDLコレステロール値の分布を示す。FH群で明らかにLDLコレステロールの高値を認めたが、重なりも認められた。180mg/dLをカットオフ値とすると180mg/dLの患者中、FHの頻度は63.4%であり、190mg/dLをカットオフ値とすると70.5%がFHとなった。なお、250mg/dL以上の集団では95%がFHであった。従って、LDLコレステロールが250mg/dL以上であれば、FHである可能性が極めて高い。

表2には遺伝子変異の有無別のLDLコレステロール値を示す。遺伝子変異有り、なし、及び未実施の3群におけるLDLコレステロール値をANOVAで比較すると遺伝子変異のない群のLDLコレステロール値は有意に有りの群に比べ低いことが明らかとなった。

次にLDLコレステロールのカットオフ値として180及び190mg/dLを採用した際にFHがどの程度診断できるかを検討した。表3に示すように、180mg/dL以上とした場合にFHの91.6%が含まれるが、非FHも24.2%含まれる。一方190mg/dL以上とした場合、FHの86.1%が含まれ、非FHの中でこれを満たすのは16.5%であった。

最後にLDLコレステロールのカットオフ値による診断基準の感度、特異度を決定した。その結果、LDLコレステロールのカットオフを180mg/dLとし、新診断基準の大項目のうち2つ以上を満たす場合をFHとすることにした場合、感度は94.5%、特異度は99.2%であった。一方、190mg/dLとした場

合の感度は91.7%、特異度は99.2%であった。遺伝子変異によりFHが確診されている症例に限っても同じ傾向が認められた。従って、180mg/dLを用いたほうが、特異度は変わらず、感度が高いことが示された。

## 研究 2

表 4, 図 2 に示すように日本人における Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia の頻度は、男性 5.64%、女性 10.0% であり、女性に多く、男女とも 60 歳代からその頻度は増加した。全体での頻度は 7.5% であった。一方、図 3 に示すように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% となり、男性の頻度が高くなった。男性ではやはり 60 歳代から、女性では、40 歳代から頻度の増加が認められた。いずれにしても Huxley らの報告の頻度より低かった。

## D. 考察

### 研究 1

本研究において FH ヘテロ接合体の診断基準作成のため、多施設での共同研究を行った。すなわち、高脂血症外来通院患者のデータを用いて今回作成した診断基準の中での LDL コレステロールのカットオフ値として 180mg/dL を用いたほうが妥当であると判断した。また、LDL コレステロールが 250mg/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 コレステロールが 250mg/dL 以上の場合にはそれだけで FH を強く疑うことができることとした。

今回の検討はすべて高脂血症外来を行っている専門医が行ったものであり、非専門医が診断する際には家族歴の聴取がやや不

正確となり、診断の精度が落ちることが懸念される。本診断基準はあくまで非専門医を含めた医師による診断のために作成したものであり、今後は非専門医に周知するとともに、非専門医における診断感度の検証を行う必要があると考えられる。今後はガイドラインに採用されたことにより、FHの診断・治療に寄与することが期待される。

## 研究2

今回の解析で日本人における Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia の頻度は欧米の基準では7.5%、日本の基準では2.8%であり、いずれにしても Huxley らの日本人を含むアジア人における頻度より低かった。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、日常診療における観察結果とも合致する。そのため、なぜ Huxley らの報告で日本人における頻度が高かったのか不明である。しかしながら、過去20年間の日本人における HDL コレステロール値の推移を見ると男女とも増加傾向にある。生活習慣の変化だけで説明しにくい減少である。HDL コレステロールの測定に関しては現在ホモジニアス法が用いられているが、1996年以前は沈殿法が用いられていた。1996年を境にアッセイ法が変更されており、このアッセイ法の変更も HDL コレステロール値に影響を及ぼしている可能性があり、今後検討が必要である。

## E. 結論

### 研究1

今回の研究結果を基に新しい FH ヘテロ接合体の診断基準を作成した。

### 大項目

1. 血清 LDL コレステロール値 180mg/dL 以上
2. アキレス腱肥厚あるいは皮膚結節性黄色腫
3. 2親等以内の家族歴(FHあるいは早発性冠動脈疾患)

以上3つのうち2つ以上を満たす場合、FHと診断することとした。この診断基準は動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012年版において採用された。

### 研究2

西暦2000年日本人の血清脂質調査のデータを解析した結果、Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia の頻度は7.5%であり、Huxley らによる報告(22%)の約3分の1の頻度であった。今後 HDL コレステロールのアッセイ法を含め、検証を行うとともに、Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia のイベント発症についても調査を行うべきと考える。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Chen LK, Liu LK, Woo J, Assantachai P, Auyeung TW, Bahyah KS, Chou MY, Chen LY, Hsu PS, Krairit O, Lee JS, Lee WJ, Lee Y, Liang CK, Limpawattana P, Lin CS, Peng LN, Satake S, Suzuki T, Won CW, Wu CH, Wu SN, Zhan Chen LK, Liu LK, Woo J, Assantachai P, Auyeung TW, Bahyah KS, Chou MY, Chen LY, Hsu PS, Krairit O, Lee JS,

- Lee WJ, Lee Y, Liang CK, Limpawattana P, Lin CS, Peng LN, Satake S, Suzuki T, Won CW, Wu CH, Wu SN, Zhang T, Zeng P, Akishita M, Arai H, g T, Zeng P, Akishita M, Arai H, Sarcopenia in Asia: consensus report of the asian working group for sarcopenia, *J Am Med Dir Assoc*, 15:95-101, 2014.
- 2) Arai H, Akishita M, Chen LK, Growing research on sarcopenia in Asia, *Geriatr Gerontol Int*, 14 Suppl 1:1-7, 2014.
  - 3) Yamada M, Moriguchi Y, Mitani T, Aoyama T, Arai H, Age-dependent changes in skeletal muscle mass and visceral fat area in Japanese adults from 40 to 79 years-of-age. *Geriatr Gerontol Int*, 14 Suppl 1:8-14, 2014.
  - 4) Sampaio RA, Sewo Sampaio PY, Yamada M, Yukutake T, Uchida MC, Tsuboyama T, Arai H, Arterial stiffness is associated with low skeletal muscle mass in Japanese community-dwelling older adults, *Geriatr Gerontol Int*, 14 Suppl, 1:109-14, 2014.
  - 5) Yamada M, Nishiguchi S, Fukutani N, Tanigawa T, Yukutake T, Kayama H, Aoyama T, Arai H, Prevalence of sarcopenia in community-dwelling Japanese older adults, *J Am Med Dir Assoc*, 14: 911-5, 2013.
  - 6) Sampaio PYS, Sampaio RAC, Yamada M, Ogita M, Arai H, Validation and Translation of the Kihon Checklist (frailty index) into Brazilian Portuguese, *Geriatr Gerontol Int*, in press.
  - 7) Sampaio RAC, Sampaio PYS, Yamada M, Tsuboyama T, Arai H, Self-reported quality of sleep is associated with bodily pain, vitality and cognitive impairment in Japanese older adults, *Geriatr Gerontol Int*, in press.
  - 8) Tanigawa T, Takechi H, Arai H, Yamada M, Nishiguchi S, Aoyama T, Effect of physical activity on memory function in older adults with mild Alzheimer's disease and mild cognitive impairment, *Geriatr Gerontol Int*, in press.
  - 9) Yukutake T, Yamada M, Fukutani N, Nishiguchi S, Kayama H, Tanigawa T, Adachi D, Hotta T, Morino S, Tashiro Y, Arai H, Aoyama T, Arterial stiffness determined by cardio-ankle vascular index (CAVI) is associated with poor cognitive function in community-dwelling elderly, *J Atheroscler Thromb*, in press.
  - 10) Yamada M, Arai H, Nishiguchi S, Kajiwara Y, Yoshimura K, Sonoda T, Yukutake T, Kayama H, Tanigawa T, Aoyama T, Chronic kidney disease (CKD) is an independent risk factor for long-term care insurance (LTCI) need certification among older Japanese adults: A two-year prospective cohort study, *Arch*

- Gerontol Geriatr, 57: 328-32, 2013.
- 11) Sampaio RAC, Sampaio PYS, Yamada M, Ogita M, Sandra Marcela Mahecha Matsudo, Raso V, Tsuboyama T, Arai H, Factors associated with falls in active older adults in Japan and Brazil, *J Clin Gerontol Geriatr*, 4:89-92, 2013.
  - 12) Sampaio PYS, Sampaio RAC, Yamada M, Ogita M, Arai H, Importance of Physical Performance and Quality of Life for Self-Rated Health in Older Japanese Women, *Phys Occup Ther Geriatr*, 31:1-11, 2013.
  - 13) Akishita M, Ishii S, Kojima T, Kozaki K, Kuzuya M, Arai H, Arai H, Eto M, Takahashi R, Endo H, Horie S, Ezawa K, Kawai S, Takehisa Y, Mikami H, Takegawa S, Morita A, Kamata M, Ouchi Y, Toba K, Priorities of healthcare outcomes for the elderly, *J Am Med Dir Assoc*, 14:479-484, 2013.
  - 14) Arai H, Kokubo Y, Watanabe M, Sawamura T, Ito Y, Minagawa A, Okamura T, Miyamoto Y, Small Dense Low-Density Lipoproteins Cholesterol can Predict Incident Cardiovascular Disease in an Urban Japanese Cohort: The Suita Study, *J Atheroscler Thromb*, 20:195-203, 2013.
  - 15) Sampaio RAC, Sampaio PYS, Yamada M, Ogita M, and Arai H, Urban-rural Differences in Physical Performance and Health Status in Japanese Community-Dwelling Older Women, *J Clin Gerontol Geriatr*, 3: 127-131, 2012.
  - 16) Yamada M, Takechi H, Mori S, Aoyama T, Arai H, Global brain atrophy is associated with physical performance and the risk of falls in older adults with cognitive impairment, *Geriatr Gerontol Int*, 13:437-42, 2013.
  - 17) Okura M, Noro C, Arai H, Development of a career-orientation scale for public health nurses, *Open Journal of Nursing*, 3:16-24, 2013.
  - 18) Yamada M, Mori S, Nishiguchi S, Kajiwara Y, Yoshimura K, Sonoda T, Nagai K, Arai H, Aoyama T, Pedometer-based behavioral change program can improve dependency in sedentary older adults a randomized controlled trial, *J Frailty Aging*, 1:39-44, 2012.
  - 19) Arai H, Ouchi Y, Yokode M, Ito H, Uematsu H, Eto F, Oshima S, Ota K, Saito Y, Sasaki H, Tsubota K, Fukuyama H, Honda Y, Iguchi A, Toba K, Hosoi T, Kita T, Toward the realization of a better aged society: messages from gerontology and geriatrics, *Geriatr Gerontol Int*, 12:16-22, 2012.
  - 20) 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, Management of type IIb dyslipidemia, *J Atheroscler Thromb*, 19:115-124, 2012.
- 21) Yamada M, Arai H, Yoshimura K, Kajiwara Y, Sonoda T, Nishiguchi S, Aoyama T, Nutritional Supplementation during Resistance Training Improved Skeletal Muscle Mass in Community-dwelling Frail Older Adults, *J Frailty Aging*, 1, 2012.
- 22) Tsuji Y, Watanabe T, Kudo M, Arai H, Strober W, Chiba T. Sensing of commensal organisms by the intracellular sensor NOD1 mediates experimental pancreatitis, *Immunity*, 37:326-38, 2012.
- 23) Torikoshi K, Abe H, Matsubara T, Hirano T, Ohshima T, Murakami T, Araki M, Mima A, Iehara N, Fukatsu A, Kita T, Arai H, Doi T, Protein inhibitor of activated STAT, PIASy regulates  $\alpha$ -smooth muscle actin expression by interacting with E12 in mesangial cells, *PLOS one*, 7:e41186, 2012.
- 24) Harada-Shiba M, Arai H, Okamura T, Yokote K, Oikawa S, Nohara A, Okada T, Ohta T, Bujo H, Watanabe M, Wakatsuki A, and Yamashita S, Multicenter Study to Determine the Diagnosis Criteria of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia in Japan, *J Atheroscler Thromb*, 19:1019-26, 2012.
- 25) Harada-Shiba M, Arai H, Oikawa S, Ohta T, Okada T, Okamura T, Nohara A, Bujo H, Yokote K, Wakatsuki A, Ishibashi S, and Yamashita S, Guidelines for the Management of Familial Hypercholesterolemia, *J Atheroscler Thromb*, 19:1043-60, 2012.
- 26) Yamada M, Arai H, Sonoda T, and Aoyama T, Community-based exercise program is cost-effective by preventing care and disability in Japanese frail older adults, *J Am Med Dir Assoc*, 13:507-511, 2012.
- 27) 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*, 19: 207-212, 2012.
- 28) Takechi H, Sugihara Y, Kokuryu A, Nishida M, Yamada H, Arai H, Hamakawa Y, Both conventional indices of cognitive function and frailty predict levels of care required in a long-term care insurance program for memory clinic patients in Japan. *Geriatr Gerontol Int*, 12:630-636, 2012.
- 29) Ogita M, Takechi H, Kokuryu A, Kondoh H, hamakawa Y, Arai H,

- Identifying cognitive dysfunction using the nurses' rapidly clinical judgment in elderly inpatients, *J Clin Gerontol Geriatr*, 3: 21-24, 2012.
- 30) Tamura Y, Murayama T, Minami M, Matsubara T, Yokode M, Arai H, Ezetimibe ameliorates early diabetic nephropathy in db/db mice, *J Atheroscler Thromb*, 19:608-618, 2012.
- 31) Ogita M, Utsunomiya H, Akishita M, Arai H, Indications and practice for tube feeding in Japanese geriatricians: Implications of multidisciplinary team approach, *Geriatr Gerontol Int*, 12:643-51, 2012.
- 32) Yamada M, Aoyama T, Arai H, Nagai K, Tanaka B, Uemura K, Mori S, Ichihashi N, Complex obstacle negotiation exercise can prevent falls in community-dwelling elderly Japanese aged 75\_years and older, *Geriatr Gerontol Int*, 12:461-7, 2012.
- 33) Yamada M, Uemura K, Mori S, Nagai K, Uehara T, Arai H, Aoyama T, Faster decline of physical performance in higher levels of baseline locomotive function, *Geriatr Gerontol Int*, 12:238-46, 2012.
- 34) Yamada M, Arai H, Nagai K, Tanaka B, Uehara T, Aoyama T, Development of a new index for fall risk assessment in older adults, *Int J Gerontol*, 6:160-162, 2012.
- 35) Kanamori H, Nagai K, Matsubara T, Mima A, Yanagita M, Iehara N, Takechi H, Fujimaki K, Usami K, Fukatsu A, Kita T, Matsubayashi K, Arai H, Comparison of the psychosocial quality of life in hemodialysis patients between the elderly and non-elderly using a visual analogue scale: The importance of appetite and depressive mood, *Geriatr Gerontol Int*, 12:65-71, 2012.
- 36) 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, Diagnosis and management of type I and type V hyperlipoproteinemia, *J Atheroscler Thromb*, 19:1-12, 2012.
- 37) Kanamori H, Yanagita M, Nagai K, Matsubara T, Takechi H, Fujimaki K, Hara A, Usami K, Fukatsu A, Kita T, Matsubayashi K, Arai H, Psychosocial quality of life of elderly hemodialysis patients using visual analogue scale: comparing with healthy elderly in Japan, *J Clin Gerontol Geriatr*, 2:116-120, 2011.
- 38) Tamura Y, Murayama T, Minami M, Yokode M, Arai H, Differential effect of statins on diabetic nephropathy in db/db mice, *Int J Mol Med*, 28:683-687, 2011.



- 39) Yamada M, Aoyama T, Arai H, Uemura K, Mori S, Nagai K, Tanaka B, Terasaki Y, Iguchi M, Effect of resistance training on physical performance and fear of falling in elderly with different levels of physical well-being, *Age and Ageing*, 40:637-641, 2011.
- 40) Yamada M, Arai H, Nagai K, Uemura K, Mori S, Aoyama T, Differential determinants of physical daily activities in frail and nonfrail community-dwelling older adults, *J Clin Gerontol Geriatr*, 2:42-46, 2011.
- 41) Mima A, Abe H, Nagai K, Arai H, Matsubara T, Araki M, Torikoshi K, Tominaga T, Iehara N, Fukatsu A, Kita T, Doi T, Activation of Src mediates PDGF-induced Smad1 phosphorylation and contributes to the progression of glomerulosclerosis in glomerulonephritis, *PLoS One*, 6:e17929:1-11, 2011.
- 42) Akishita M, Arai H, Arai H, Inamatsu T, Kuzuya M, Suzuki Y, Teramoto S, Mizukami K, Morimoto S, Toba K, Survey on geriatricians' experiences of adverse drug reactions caused by potentially inappropriate medications: commission report of the Japan Geriatrics Society, *Geriatr Gerontol Int*, 11:3-7, 2011.
- 43) Yamada M, Aoyama T, Arai H, Nagai K, Tanaka B, Uemura K, Mori S, Ichihashi N, Dual-task walk is a reliable predictor of falls in robust elderly adults, *J Am Geriatr Soc*, 59:163-4, 2011.
2. 学会発表
- 1) Arai H, Family care for frail older in Japan (Symposium) Role of family in care of older people in Asian countries, The 9th Congress of the EUGMS ( European Union Geriatric Medicine Society ), Oct.2-4, 2013, Venice Lido, Italy.
- 2) Arai H, (Symposium) Health Promotion and Disease Prevention for older persons: Cardiometabolic health care in older people in Japan, IAGG2013 (The 20th IAGG World Congress Of Gerontology And Geriatrics), Jun. 23-27, 2013, Seoul, Korea.
- 3) Yamada M, Nishiguchi S, Tanigawa T, Kayama H, Yukutake, Aoyama T, Arai H, Nutritional supplementation during resistance training improved skeletal muscle mass in community-dwelling Japanese frail older adults, IAGG2013 (The 20th IAGG World Congress Of Gerontology And Geriatrics), Jun. 23-27, 2013, Seoul, Korea.
- 4) Arai H, (Symposium) Roundtable On Advances In Strategies On Fall Prevention: Prevention Of Falls By Complex Course Obstacle

- Negotiation Exercise In Japanese Elderly, IAGG2013 (The 20th IAGG World Congress Of Gerontology And Geriatrics), Jun. 23-27, 2013, Seoul, Korea.
- 5) Arai H, (Symposium) Frailty And Sarcopeni: Reversibility Is The Main And Common Characteristics Of Frailty And Sarcopenia, IAGG2013 (The 20th IAGG World Congress Of Gerontology And Geriatrics), Jun. 23-27, 2013, Seoul, Korea.
  - 6) 荒井秀典, ACC/AHAガイドラインをどう読み解くのか?, 第14回動脈硬化教育フォーラム, 2010年2月1日, 仙台国際センター (宮城)
  - 7) 荒井秀典, 動脈硬化性疾患予防ガイドライン・治療ガイドのエッセンスー血清脂質評価の最新の考え方ー, シンポジウム「動脈硬化性疾患の予防および診療における脂質検査の現状と課題」, 第60回日本臨床検査医学会学術集会, 平成25年10月31日～11月3日, 神戸国際会議場 (兵庫)
  - 8) 荒井秀典, 山田実, 青山朋樹, サルコペニアおよびサルコペニア肥満は要介護と関連する, 第34回日本肥満学会, 2013年10月11日～12日, 東京国際フォーラム (東京)
  - 9) 荒井秀典, 糖尿病大血管症の予防・治療を目指した脂質管理のEBM, シンポジウム3 「糖尿病大血管症の予防・治療を目指した新しい治療戦略」, 第28回糖尿病合併症学会, 2013年9月13日～14日, 旭川グランドホテル (北海道)
  - 10) 荒井秀典, 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, 第45回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 2013年7月18～19日, 京王プラザホテル (東京)
  - 11) Arai H, Tamura Y, Murayama T, Minami M, Yokode M, Amelioration of diabetic nephropathy by ezetimibe in db/db mice, XVI International Symposium on Atherosclerosis, Mar.25-29, 2012, Sydney, Australia.
  - 12) 荒井秀典, 明日へのシンポジウム2 「脂質異常症と遺伝子の変異」 5. 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, 第44回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 2012年7月19～20日, ヒルトン福岡シーホーク (福岡)
  - 13) 荒井秀典, Prevalence of isolated low HDL cholesterolemia in Japanese, 第44回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 2012年7月19～20日, ヒルトン福岡シーホーク (福岡)
  - 14) 荒井秀典, Meet the Expert (教育企画)1 高齢者の診かた, 第54回日本老年医学会学術集会, 2012年6月28日～30日, 東京国際フォーラム (東京)
  - 15) 荒井秀典, 日本老年医学会はハンドブックをどう活用するか: 学究的立場から, シンポジウム7: 「健康長寿診療ハンドブック」は健康長寿 に貢献できるか? 第54回日本老年医学会学術集会, 2012年6月28日～30日, 東京国際フォーラム (東京)
  - 16) 小島太郎, 秋下雅弘, 荒井秀典, 神崎恒一, 葛谷雅文, 江頭正人, 荒井啓行,

- 高橋龍太郎、江澤和彦、鳥羽研二、高齢者医療の優先順位に関する意識調査（続報）、第54回日本老年医学会学術集会、2012年6月28日～30日、東京国際フォーラム（東京）
- 17) 丸山宗一郎、井上大輔、地家淳史、山岡彩加、山田実、荒井秀典、青山朋樹、高齢者における熱中症の認知度の実態調査、第54回日本老年医学会学術集会、2012年6月28日～30日、東京国際フォーラム（東京）
- 18) 山田実、青山朋樹、荒井秀典、介護予防事業の効果検証-新規介護認定者数と費用対効果の側面から-、第54回日本老年医学会学術集会、2012年6月28日～30日、東京国際フォーラム(東京)
- 19) 山田実、園田拓也、青山朋樹、荻田美穂子、高橋さゆり、佐竹登志子、荒井秀典、基本チェックリストを用いた1年間および2年間の要介護認定発生の予測妥当性-米原コホート-、第22回日本疫学会学術総会、2012年1月26-28日、学術総合センター他（東京）
- 20) 大倉美佳、荻田美穂子、荒井秀典、行政分野で働く保健師に求められる能力の自己評価とキャリア志向との関連、第22回日本疫学会学術総会、2012年1月26-28日、学術総合センター他（東京）
- 21) Arai H, Kokubo Y, Sawamura T, Okamura T, Impact of small dense low-density lipoproteins cholesterol on cardiovascular disease in an urban Japanese cohort: The Suita study, American Heart Association 2011, Nov. 12-16, 2011, Orland, U.S.A.
- 22) Arai H, Impact of Frailty in Japan: Can Resistance Exercise Help?, International Conference on Frailty Research 2011, Nov. 25 - 27, 2011, Taipei, Taiwan.
- 23) Arai H, (Eto M, Arai, H Akishita M, Kozaki K), (Symposium) OP51 - what are Appropriate Medical Services for Geriatric Patients? : Clinical and Ethical Dilemmas of Tube Feeding for Elderly, gerontology & geriatrics 2011, Ninth Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology and Geriatrics, Oct.23-27, 2011, Melbourne, Australia.
- 24) Arai H, Kokubo Y, Watanabe M, Miyamoto Y, Sawamura T, Okumura T, Small dense low-density lipoprotein is a risk for coronary artery disease in an urban Japanese cohort: the Suita study, ESC(European Society of Cardiology) Congress 2011, Aug.27-31, 2011, Paris, France.
- 25) Ogita M, Takechi H, Kokuryu A, Arai H, Association of the judgment of cognitive function by nurses with Mini Mental State Examination in elderly patients, IAGG VII EUROPEAN INTERNATIONAL CONGRESS, Apr.14-17, 2011, Bologna, Italy.
- 26) Arai H, Kita T, Metabolic Syndrome in elderly -Comparison between

- East and West -, IAGG VII  
EUROPEAN INTERNATIONAL  
CONGRESS, Apr.14-17, 2011,  
Bologna, Italy.
- 27) Arai H, Yokode M, Inflammation and MCP-1-mediated macrophage recruitment in adipose tissue and the liver, シンポジウム3: The Role of Abdominal Organs in Atherogenesis (脂肪組織・消化管と動脈の炎症), 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 2011年7月15-16日, ロイトン札幌(北海道)
- 28) Arai H, Kobubo Y, Watanabe M, Miyamoto Y, Sawamura T, Okamura T, Implication of small dense LDL as a risk for coronary artery disease in an urban Japanese cohort: The Suita study, 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 2011年7月15-16日, ロイトン札幌(北海道)
- 29) 山田 実、武地 一、荒井秀典、青山朋樹、市橋則明, 公共交通機関の利用の可否には認知機能と運動機能が関与している, 第53回日本老年医学会学術集会, 2011年6月15-17日, 京王プラザホテル他(東京)
- 30) 秋下雅弘、江頭正人、荒井秀典、神崎恒一、葛谷雅文、荒井啓行、高橋龍太郎、江澤和彦、川合秀治、鳥羽研二, 高齢者医療の優先順位に関する意識調査, 第53回日本老年医学会学術集会, 2011年6月15-17日, 京王プラザホテル他(東京)
- 31) 荒井秀典、荻田美穂子、秋下雅弘, 高齢者の経管栄養療法の実態 第一報: 老年病専門医が高齢者に経管栄養療法導入を決定する理由, 第53回日本老年医学会学術集会, 2011年6月15-17日, 京王プラザホテル他(東京)
- 32) 荻田美穂子、秋下雅弘、荒井秀典, 高齢者の経管栄養療法の実態 第二報: 老年病専門医師が考える高齢者の経管栄養療法適応基準, 第53回日本老年医学会学術集会, 2011年6月15-17日, 京王プラザホテル他(東京)
- 33) 荻田美穂子、武地 一、荒井秀典, 高齢者の認知機能評価に対する看護師の主観的判断とMMSEとの関連, 第53回日本老年医学会学術集会, 2011年6月15-17日, 京王プラザホテル他(東京)
- 34) 武地 一、国立淳子、荒井秀典、山田裕子, もの忘れ外来に求められる機能～家族へのアンケート調査から～, 第53回日本老年医学会学術集会, 2011年6月15-17日, 京王プラザホテル他(東京)
- 35) 荒木真、安部秀斉、鳥越和雄、松原雄、家原典之、深津敦司、北徹、荒井秀典、土井俊夫, 腎炎モデルの糸球体硬化におけるSmad1の役割の検討, 第54回日本腎臓学会, 2011年6月15日～17日, パシフィコ横浜(神奈川)
- 36) 松原雄、安部秀斉、上田乙也、寺社下浩一、美馬晶、後藤千里、荒木真、鳥越和雄、長井幸二郎、家原典之、福島直、深津敦司、木野崎雅彦、荒井秀典、土井俊夫, 糖尿病性腎症における糸球体硬化とアルブミン尿には異なる病態形成機構が存在する, 第54回日本腎臓学会, 2011年6月15日～17日,

パシフィコ横浜（神奈川県）

- 37) 鳥越和雄、大島隆幸、平野隆弘、安部秀斉、松原雄、荒木真、家原典之、深津淳司、荒井秀典、土井俊夫, PIASy はメサングウム細胞においてE12と共役し SMAの発現を制御する, 第54回日本腎臓学会, 2011年6月15日～17日, パシフィコ横浜（神奈川県）
- 38) 荒井 秀典、北 徹 , 動脈硬化発症進展における炎症の重要性, 第28回日本医学会総会2011, 2011年4月8日～10日, 東京国際フォーラム（東京）

#### **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

表 1. FHの有無、遺伝子変異の有無別の患者背景。FH(Mut+) : 遺伝子変異が確認された FH、FH(Mut-) : 遺伝子変異が認められなかった FH、FH(Mut未) : 遺伝子検査を行っていない FH。

背景因子	全体	非FH	FH	FH(Mut+)	FH(Mut-)	FH(Mut未)
N	1356	937	419	223	41	155
age	56.6 ± 17.2	58.3 ± 16.3	52.9 ± 18.6	50.9 ± 20.2	68.0 ± 11.5	51.4 ± 15.9
sex: male	632(46.6)	453(48.4)	179(42.7)	101(45.3)	28(31.7)	65(41.9)
アキレス腱肥厚: 有	305(22.5)	14(1.5)	291(69.5)	143(64.1)	27(65.9)	121(78.1)
皮膚結節性黄色腫: 有	59(4.4)	4(0.4)	55(13.1)	21(9.4)	11(26.8)	23(14.8)
2親等以内にFH既往者: 有	417(30.8)	60(6.4)	357(85.2)	219(98.2)	41(100)	97(62.6)
2親等以内に若年齢冠動脈疾患既往者: 有	164(12.1)	34(3.6)	130(31.0)	63(28.3)	14(34.1)	53(34.2)

表 2. 遺伝子変異の有無での LDL コレステロール値の差。平均値、SD 及び中央値、IQ を示す。

LDL-C値(mg/dL)	FH全体	FH(Mut+)	FH(Mut-)	FH未実施	p-value
N	438	224	41	173	
Mean	257.4	266.2*	229.0*	252.9	0.003
SD	67.39	69.85	60.14	63.70	
MEDIAN	244	253	216	241	
IQ					
25%	205	213	189	203	
75%	300	308	244	295	

p-valueは一元配置分散分析にて算出

\*Bonferroni,  $p < 0.005$

表 3. LDL コレステロールのカットオフを 180mg/dL, 190mg/dL 以上とした時の FH、非FHの割合。FH(Mut+) : 遺伝子変異が確認されている FH

未治療時 LDL-C 値	非 FH	FH	FH (Mut+)
180 以上	24.2	91.6	93.7
180 未満	75.8	8.4	6.3
190 以上	16.5	86.1	89.2
190 未満	83.5	13.9	10.8

表 4. 各年代別、男女別 Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia の頻度(欧米の基準)

age	men		women	
	n	%	n	%
20-29	392	4.85	858	6.18
30-39	1077	5.11	537	8.75
40-49	2332	5.23	1158	11.0
50-59	2226	5.17	1102	8.89
60-69	802	7.98	722	13.3
70-79	259	9.65	250	16.8
total	7088	5.64	4627	10.0

図1. FH、非FHにおける未治療時のLDLコレステロール値の分布

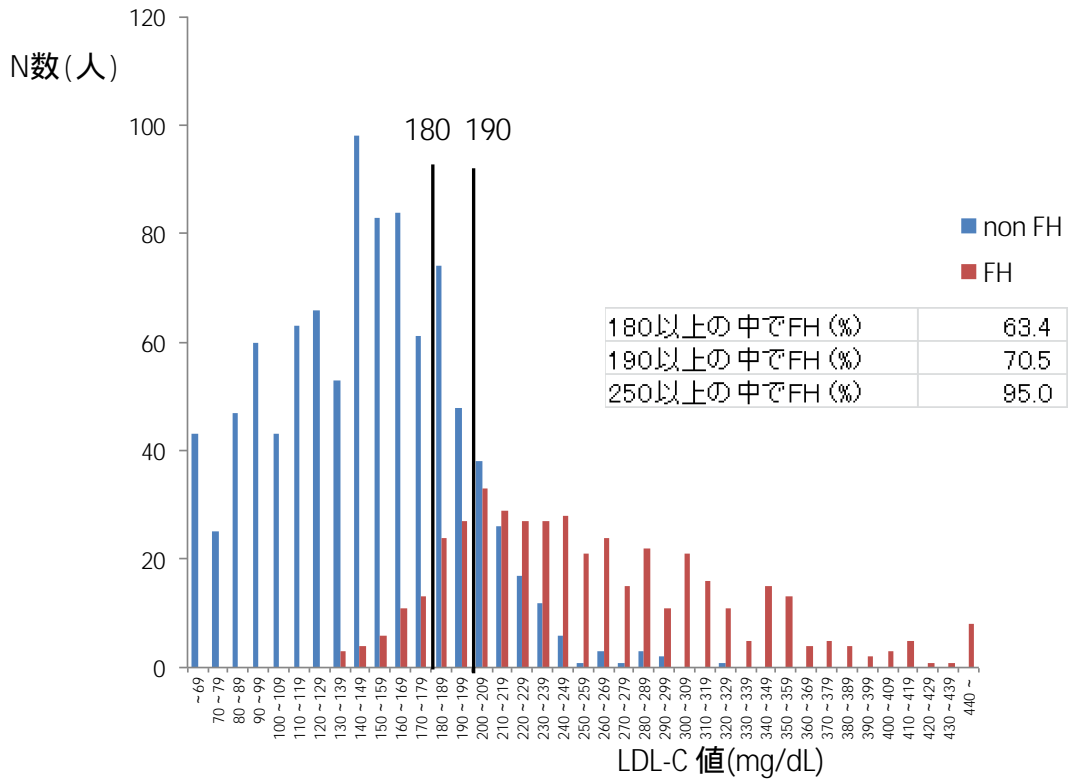


図2. 各年代別、男女別 Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia の頻度(欧米の基準)

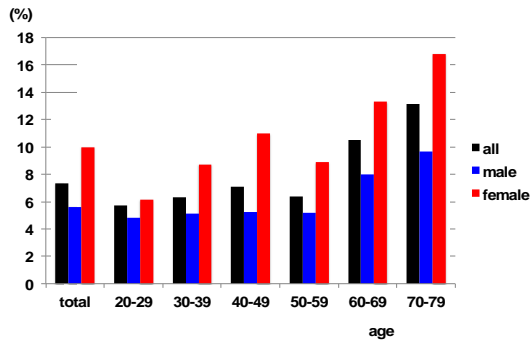
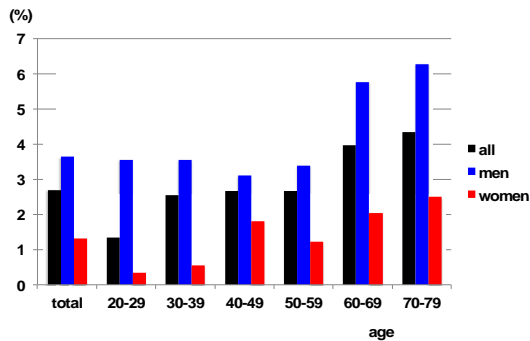


図3. 各年代別、男女別 Isolated hypo- $\alpha$ -lipoproteinemia の頻度(欧米の基準)



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

原発性高脂血症に関する調査研究

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

分担研究者 野原 淳 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科脂質研究講座

研究協力者 川尻剛照, 岡崎智子, 野口 徹, 小林淳二, 馬淵 宏

**研究要旨** FH は高 LDL 血症と早発性冠動脈硬化症を呈する常染色体優性遺伝性疾患であるが、現在の標準的治療では治療および予後改善がしばしば不十分な難治性疾患である。我々は遺伝子解析により日本人では LDL 受容体(LDLR)遺伝子に加え、LDLR を制御する PCSK9 遺伝子、ARH 遺伝子がある原因となることを示してきた本邦における遺伝学的研究として、臨床診断 FH の 940 例においてその原因遺伝子を検討したところ 77% が LDLR 変異、5%が PCSK9 変異によるものであったが、PCSK9 変異による FH は有意に TG 高値であった。さらに腱黄色腫を欠く FH は TG が高い場合に家族性複合型高脂血症(FCHL)と診断される可能性があるため FCHL80 家系で PCSK9 遺伝子を検討したところ 7.9%に PCSK9 変異を確認した。これは非 FH とされる患者でも FH 遺伝子変異を持つ症例が少なからず混在しており、早期診断・早期治療に遺伝子解析が有用であることを示唆する。PCSK9 は近年治療標的となっているが、本邦では機能亢進型では E32K 変異、機能低下変異として R93C 変異が比較的高頻度であることを見いだした。LDLR 遺伝子変異ホモ接合体では VLDL 産生増加が報告されているが、我々は FH の原因遺伝子である PCSK9 機能亢進型ホモ接合体変異の kinetic study では同様に VLDL 産生増加を確認する一方、ARH 症例の 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、脂肪負荷試験でも ARH のレムナント代謝はヘテロ FH より良好である結果を得た。これらの結果はいずれの FH 原因遺伝子変異も LDL 高値に寄与する一方、VLDL 代謝にはそれぞれ異なったメカニズムで作用していることを示唆する。

**A. 研究目的**

FH は高 LDL 血症を特徴とする常染色体優性遺伝性疾患であるが、現在の標準的治療では治療および予後改善がしばしば不十分な難治性疾患である。しばしば高 TG 血症を伴い、高 TG も冠動脈疾患発症を促進する可能性が示唆されている。古典的 FH は LDL 受容体(LDLR)遺伝子変異により発症するもので、その機序からは LDL 代謝遅延がその主たる病態であることは明らかである一方、ホモ接合体では VLDL 産生増加が生じるとことも報告されているが機序は十分解明されていない。近年の遺伝子解析の進展により LDLR に加え、APOB、PCSK9、ARH 遺伝子が遺伝性高 LDL 血症の成因になることが示されてきているが、これらの遺伝子変異による TG 代謝の理解は不十分である。PCSK9 遺伝子は現在治療標的として新薬の開発が競って行われており、本邦でも治験が行われているが、日本人における PCSK9 遺伝子変異についての情報は重要である。

本研究において我々は FH 症例における原因遺伝子の遺伝学的研究を行い、またその遺伝子変異が TG 代謝に及ぼす影響について検討した。

**B. 研究方法**

臨床診断された FH ヘテロ接合体の 940 例において、High Resolution Melting (HRM) 法 および Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)法、直接塩基配列決定法を用いて、LDLR 遺伝子全エクソンの変異を検出、PCSK9 遺伝子において本邦で高頻度に FH の原因となることを確認した E32K 変異の解析を行い、臨床像の検討を行った。この検討において PCSK9 変異は有意に TG が高値であったため、TG および LDL-C 高値を特徴とする家族性複合型高脂血症(FCHL)と診断されている可能性が想定されたため PCSK9 遺伝子 E32K 変異を FCHL80 家系で検討した。また FH 遺伝子変異が確認されている症例に



については安定同位体を用いたアポ B の kinetic study を防衛医科大学 (神経・抗加齢・血管内科)との共同研究で行った。なお遺伝子解析は本学倫理委員会承認されており、患者からすべて文書による同意を得たうえでやっている。

### C. 研究結果

FH の原因遺伝子についての遺伝疫学的調査では、LDL 受容体変異が 732 例、PCSK9 変異が 56 例、LDL 受容体変異と PCSK9 変異の合併が 9 例、変異が検出されなかったのは 143 例であった (表 1) なお LDL 受容体変異と PCSK9 変異の合併例は表 1 の臨床像の解析からは除外した。

表 1

	LDLR mutations	PCSK9 mutation	Not detected	p-value
Number	732	56	143	
Age (years)	62 ± 17	61 ± 18	68 ± 20	ns
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.0 ± 2	23.9 ± 3	23.9 ± 3	ns
T.Chol (mg/dl)	344 ± 71	280 ± 81	281 ± 59	<0.001
Triglycerides (mg/dl)	126 ± 94	150 ± 84	145 ± 74	<0.05*
HDL-C(mg/dl)	47 ± 15	51 ± 15	55 ± 27	<0.001
LDL-C(mg/dl)	268 ± 73	198 ± 82	198 ± 65	<0.001
F-Chol(mg/dl)	60 ± 9	74 ± 2	74 ± 2	<0.05
apoAI	122 ± 27	142 ± 28	139 ± 30	<0.01
apoAII	32 ± 7	35 ± 11	32 ± 6	ns
apoB	183 ± 51	130 ± 49	148 ± 42	<0.001
apoCII	4.3 ± 2	5.1 ± 2	5.7 ± 2	<0.001
apoCIII	10 ± 4	12 ± 5	11 ± 4	ns
apoE	6.3 ± 3	5.4 ± 1	5.5 ± 1	ns

\* log-transformed

LDL 受容体変異は PCSK9 変異および変異非検出例に比べ有意に LDL-C が高値である一方 PCSK9 変異および変異非検出例においては TG が有意に高値であった。

また軟線撮影によるアキレス腱肥厚は LDL 受容体変異で 13.6 ± 5 (mm)、PCSK9 変異で 13.7 ± 4、変異非検出例で 10.9 ± 3 で、臨床診断されている FH の中では変異非検出例で低値であった。

FH では腱黄色腫は必発ではないため、黄色腫がない場合は通常の高 LDL 血症と診断されたり、TG 高値の場合は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。

表 2	FCHL	Control	p<0.05
	(n=80)	(n=345)	
	E32K 6 (7.5%)	6 (1.7%)	

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ず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されてい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。

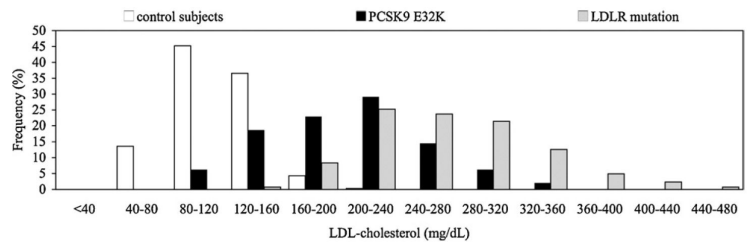
表 3

	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.

PCSK9 変異と LDLR 変異における LDL-C の分布は図 1 の通りであり LDLR に比べ機能亢進型 PCSK9 変異 E32K の分布は正常範囲にまで広がっているものであった。(表 2)

図 1.



我々は一般人集団における PCSK9 機能低下型変異と考えられる R93C 変異を検討した。(表 4)

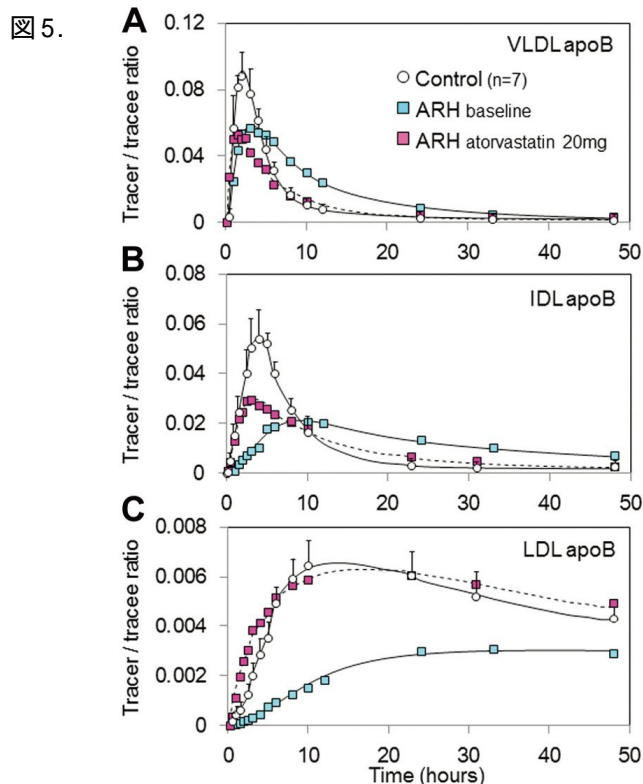
表 4 一般集団での PCSK9 R93C 変異保有者の分布

	TC quartile			
	1 (n=78) TC 114-173	2 (n=76) TC 174-194	3 (n=75) TC 195-223	4 (n=73) TC 224-343
PCSK9 R93C Carrier(s)	5	5	2	1
%	6.41%	6.58%	2.67%	1.37%
TC (mg/dL)	153.1 ± 15.9	183.6 ± 6.1	209.9 ± 7.8	243.1 ± 22.0
TG (mg/dL)	101.7 ± 51.1	115.4 ± 60.9	122.6 ± 57.7	141.5 ± 53.1
HDL-C (mg/dL)	44.8 ± 10.9	47.7 ± 11.8	50.0 ± 12.3	52.9 ± 14.4
nonHDL-C (mg/dL)	108.3 ± 18.5	135.9 ± 12.4	159.8 ± 13.9	190.1 ± 27.4
LDL-C (mg/dL)	87.9 ± 15.3	112.8 ± 13.1	135.3 ± 13.4	161.8 ± 24.4
PCSK9 (ng/mL) (n=140)	247.9 ± 104.1 (n=38)	261.7 ± 127.4 (n=30)	286.8 ± 111.6 (n=33)	293.2 ± 123.5 (n=39)

HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; TC, total cholesterol; TG, triglycerides; Values represent mean ± S.D.

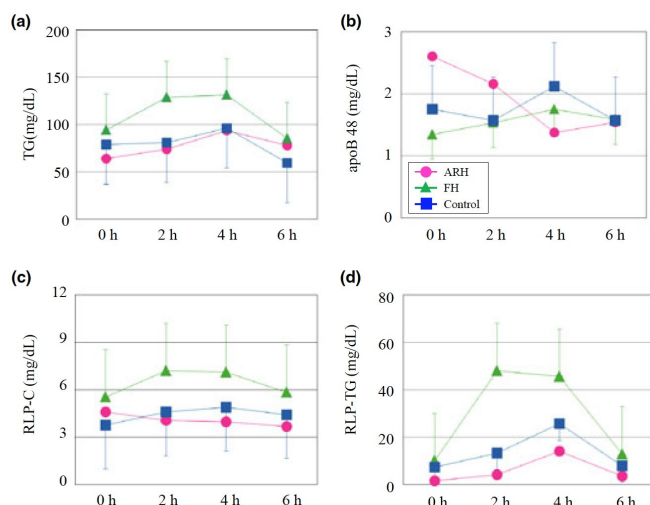
PCSK9 R93C ヘテロは non-carrier と比較して TC が 11.0% 低値、TG が 14.1% 低値、LDL-C が 12.7% 低値、また、血漿 PCSK9 濃度は non-carriers と比較し 12.4% 低値であった。遺伝的に LDL-C が高い FH が、非 FH の LDL-C 高値と比較しても格段に高い冠疾患罹患率を示すのと同様に、生来 LDL-C が低い PCSK9 変異は冠疾患の生涯リスク軽減に大きく影響している可能性がありさらなる検討を行う必要がある。

ARH(LDLRAP1) 遺伝子変異による autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH) は FH ホモ接合体類似の高 LDL-C 血症及び腱黄色腫を呈する。ARH マウスモデルで LDL 異化は低下しているが、一方 VLDL 異化については保たれていることが報告されている。我々は本邦 2 例目の ARH の家系を同定し、安定同位体を用いたアポ B の kinetic study を行った。その結果 ARH では 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いることが明らかとなった。(図 5)



さらに ARH 症例におけるレムナント代謝を明らかにするため行った脂肪負荷試験では ARH のレムナント代謝はヘテロ FH より良好であった。(図 6)

図 6



我々は臨床診断 FH の遺伝子解析から PCSK9 E32K 変異ホモ接合体を 2 症例同定した。これらの症例におけるアポ B 代謝を明らかにするため kinetic study を行ったところ、LDL 異化低下に加えて VLDL 産生過剰が認められた。1 例ではスタチンによる治療後も再評価を行ったところ、LDL 異化低下は改善したが VLDL 産生過剰は改善が見られなかった。これらの結果は、PCSK9 機能亢進型遺伝子変異は LDL 受容体のリサイクル量低下による LDL 取り込み低下とは別に、何らかの機序により VLDL の産生に関わっていることを示唆すると考えられた。

## D. 考察

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。LDLR 遺伝子変異ホモ接合体で肝臓からの VLDL 産生増加が報告されているが、我々は FH 原因遺伝子である PCSK9 遺伝子や ARH 遺伝子の変異も VLDL 産生に関わるものの LDL 代謝とは異なったメカニズムで作用している結果を得た。スタチンの登場により LDL-C の治療は大幅に進歩しているが、冠疾患の「残存リスク」の一つである VLDL 代謝異常はまだまだコントロールが容易ではない。我々はこれらの FH 遺伝子による知見が新たな治療標的を見いだすことを期待している。

また FH 以上に頻度が多い家族性複合型高脂血症では高 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る。腱黄色腫を欠く FH はしばしば臨床的に診断困難であるが、PCSK9 変異は有意に TG 高値であり FCHL やメタボリックシンドロームと診断されていることが示唆された。PCSK9 変異は LDLR 遺伝子変異より軽症の症例もいるが、LDLR 変異同様に重症も患者も多く存在しており、確定診断することで家族全体の予後を改善することは LDLR 変異による FH と変わらない。腱黄色腫がなくてもプライマリーケアレベルから積極的に家族調査を行い、

遺伝子診断も駆使して早期診断・早期治療を家族全体に行うことを啓蒙しなければならないことを示唆する。

## 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。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。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。

また FH 原因遺伝子である LDLR 変異と PCSK9 機能亢進型変異は LDL-C 高値に加え, VLDL 産生も亢進をしめすが, ARH 遺伝子変異では LDL-C 高値にもかかわらず VLDL 代謝は良好に保たれている結果であった。残存リスクである VLDL 代謝の新しいコントロール方法につながる知見の可能性がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kobayashi J, Noguchi T, Nohara A, Mabuchi H: Comparison of the effects of losartan vs. ramipril on several adipocytokines and vascular remodeling biomarkers. *Hypertens Res.* 34: 52-54, 2011
- 2) Mabuchi H, Nohara A, Noguchi T, Kobayashi J, Kawashiri MA, Tada H, Nakanishi C, Mori M, Yamagishi M, Inazu A, Koizumi J; Hokuriku FH Study Group: Molecular genetic epidemiology of homozygous familial hypercholesterolemia in the okuriku district of Japan. *Atherosclerosis* 214: 404-407, 2011
- 3) Kawashiri MA, Kobayashi J, Nohara A, Noguchi T, Tada H, Nakanishi C, Inazu A, Mabuchi H, Yamagishi M: Impact of bezafibrate and atorvastatin on lipoprotein subclass in patients with type III hyperlipoproteinemia:

result from a crossover study. *Clin Chim Acta.* 412: 1068-107, 2011

- 4) Nakajima K, Nakano T, Tokita Y, Nagamine T, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Stanhope KL, Havel PJ, Okazaki M, Ai M, Tanaka A: Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs. chylomicrons. *Clin Chim Acta.* 412: 1306-1318, 2011

- 5) Noguchi T, Kobayashi J, Yagi K, Nohara A, Yamaaki N, Sugihara M, Ito N, Oka R, Kawashiri MA, Tada H, Takata M, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H: Comparison of effects of bezafibrate and fenofibrate on circulating proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 and adipocytokines levels in dyslipidemic subjects with impaired glucose tolerance or type 2 diabetes mellitus: Results from a crossover study. *Atherosclerosis.* 217:165-170, 2011

- 6) Tada H, Kawashiri MA, Ohtani R, Noguchi T, Nakanishi C, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. A novel type of familial hypercholesterolemia: Double heterozygous mutations in LDL receptor and LDL receptor adaptor protein 1 gene. *Atherosclerosis.* 219:663-666, 2011

- 7) Kawashiri MA, Nohara A, Noguchi T, Tada H, Nakanishi C, Mori M, Konno T, Hayashi K, Fujino N, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. Efficacy and Safety of Coadministration of Rosuvastatin, Ezetimibe, and Colestimide in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.* 109:364-9, 2012

- 8) Ohtani R, Inazu A, Noji Y, Wakasugi T, Miwa K, Tada H, Kawashiri MA, Noguchi T, Nohara A, Kobayashi J, Koizumi J, Yamagishi M, Mabuchi H. Novel mutations of cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene in Japanese hyperalphalipoproteinemic subjects. *Clin Chim Acta.* 413(5-6):537-43, 2012

- 9) Tada H, Kawashiri MA, Tanaka A, Nakano T, Nakajima K, Inoue T, Noguchi T, Nakanishi C, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. Post-prandial remnant lipoprotein metabolism in autosomal recessive

- hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest*. 2012 Oct;42(10):1094-9.
- 10) Tada H, Kawashiri MA, Ikewaki K, Terao Y, Noguchi T, Nakanishi C, Tsuchida M, Takata M, Miwa K, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. Altered metabolism of low-density lipoprotein and very-low-density lipoprotein remnant in autosomal recessive hypercholesterolemia: results from stable isotope kinetic study in vivo. *Circ Cardiovasc Genet*. 2012 Feb 1;5(1):35-41.
- 11) 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.
- 12) Harada-Shiba M, Arai H, Okamura T, Yokote K, Oikawa S, Nohara A, Okada T, Ohta T, Bujo H, Watanabe M, Wakatsuki A, Yamashita S. Multicenter study to determine the diagnosis criteria of heterozygous familial hypercholesterolemia in Japan. *J Atheroscler Thromb*. 2012 Nov 26;19(11):1019-26.
- 13) Kawashiri MA, Nohara A, Noguchi T, Tada H, Nakanishi C, Mori M, Konno T, Hayashi K, Fujino N, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. Efficacy and safety of coadministration of rosuvastatin, ezetimibe, and colestimide in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2012 Feb 1;109(3):364-9.
- 14) Tada H, Kawashiri MA, Ohtani R, Noguchi T, Nakanishi C, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. A novel type of familial hypercholesterolemia: double heterozygous mutations in LDL receptor and LDL receptor adaptor protein 1 gene. *Atherosclerosis*. 2011 Dec;219(2):663-6.
- 15) 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].
- 16) Nohara A, H Mabuchi. MTP inhibitor for treating severe LDL cholesterolemia. *Clinical Lipidology*, 2013.8(4):387-389.
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) Ahmadvand H, Mabuchi H, Nohara A, Kobayashi 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) Tada H, Takata M, Tetsuka N, Takenaka M, Noguchi T, Nakanishi C, Mori M, Kawashiri MA, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Yamagishi M, Mabuchi H

Identification of a Novel Mutation for Sitosterolemia: An Infantile Case with Severe Hypercholesterolemia and Systemic Xanthomatosis Resembling Homozygous Familial Hypercholesterolemia. 第43回日本動脈硬化学会総会 July 16-17, 2011 (札幌)

2) Kawashiri MA, Oka R, Kobayashi J, Noguchi T, Tada H, Nakanishi C, Mori M, Nohara A, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Oral supplementation of Coenzyme Q10 to hypercholesterolemic patients under statin therapy: A prospective randomized double-blinded pilot study.

第43回日本動脈硬化学会総会 July 16-17, 2011 (札幌)

3) Kawashiri MA, Nohara A, Noguchi T, Tada H, Nakanishi C, Mori M, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M  
Elevation of PCSK9 levels after statin therapy: study with different types of lipid lowering drugs

第43回日本動脈硬化学会総会 July 16-17, 2011 (札幌)

4) Kawashiri MA, Ikewaki K, Tada H, Noguchi T, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H and Yamagishi M Impaired LDL catabolism and increased VLDL and VLDL remnant production in homozygous familial hypercholesterolemia with PCSK9 gene mutation. 第75回日本循環器学会総会

(Yokohama) August 3-4, 2011

5) Tada T, Kawashiri MA, Nakanishi C, Hodatsu A, Mori M, Tsubokawa T, Konno T, Hayashi K, Uchiyama K, Nohara A, Fujino N, Ino H, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M Impact of Double Heterozygous Mutation in LDL Receptor (LDLR) and LDL Receptor Adaptor Protein 1 (LDLRAP1) gene on Clinical Phenotype of Atherosclerosis

第75回日本循環器学会総会 August 3-4, 2011 (横浜)

6) Tada H, Kawashiri MA, Nakano T, Nakajima K, Nakanishi C, Tsubokawa T, Konno T, Hayashi K, Uchiyama K, Nohara A, Fujino N, Ino H, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M Altered Metabolism of Post-prandial Remnant Lipoprotein Fractions in Autosomal Recessive Hypercholesterolemia. The 84th American Heart Association

2011 Scientific Sessions Nov.12-16, 2011 (Orlando)

7) Tada H, Kawashiri MA, Nakanishi C, Hodatsu A, Mori M, Tsubokawa T, Konno T, Hayashi K, Uchiyama K, Nohara A, Fujino N, Ino H, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. A Novel Type of Homozygous Familial

Hypercholesterolemia: Double Heterozygous Mutations in LDL Receptor and LDL Receptor Adaptor Protein 1 gene  
The 84th American Heart Association 2011 Scientific Sessions Nov.12-16, 2011 (Orlando)

8) Tada H, Kawashiri MA, Nakanishi C, Hodatsu A, Mori M, Tsubokawa T, Konno T, Hayashi K, Uchiyama K, Nohara A, Fujino N, Ino H, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. Lack of Association between Common p.T111I Variant in the Endothelial Lipase Gene and the Risk for Coronary Artery Disease in Familial Hypercholesterolemia: Insights from the Modulation of Phospholipids in the HDL Particles

The 84th American Heart Association 2011 Scientific Sessions Nov.12-16, 2011 (Orlando)

9) Kawashiri MA, Ikewaki K, Tada H, Noguchi T, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. Statin Therapy Improves Fractional Catabolic Rate of LDL without Affecting Impaired VLDL and VLDL Remnant Catabolism in Homozygous FH Patient Due to PCSK9 Gene Mutation: Evidence from Kinetic Study with Stable Isotope. American Heart Association's Scientific Sessions, 2012, Los Angeles (USA). (Circulation, 126(22S): A13869. 2012)

10) Nohara A, Noguchi T, Tada H, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Inazu A, Kobayashi J, Yamagishi M, Mabuchi H. Impact of ER-Stress Affecting Variant of XBP-1 Gene on Lipids, Diabetes, Chronic Kidney Disease, and Coronary Artery Disease. American Heart Association's Scientific Sessions, 2012, Los Angeles (USA). (Circulation, 126(22S): A18569. 2012)

11) Nohara A, Inazu A, Noguchi T, Tada H, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Kobayashi J, Yamagishi M, Mabuchi H. Triglyceride-Rich High-Density Lipoprotein Composition as Residual

Risk Biomarker of Coronary Artery Disease Including Reduced eGFR and Pre-diabetes. American Heart Association's Scientific Sessions, 2012, Los Angeles (USA). (Circulation, 126(22S): A18745. 2012)

12) 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)

13) 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)

14) 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 81<sup>st</sup> European Atherosclerosis Society Congress, 2013, Lyon (France).

15) 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 81<sup>st</sup> European Atherosclerosis Society Congress, 2013, Lyon (France).

16) 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.

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  
原発性高脂血症に関する調査研究  
分担研究者 島野 仁（筑波大学医学医療系 教授）

研究要旨

高 LDL-C 血症や低 HDL-C 血症などの脂質異常症は将来の心血管イベント発症を予測する独立した危険因子である。また、また、酸化 LDL の一種である MDA-LDL が冠動脈疾患の新たなバイオマーカーとして利用されてきている。しかし、これらは現在の動脈硬化の状態を反映しているかどうか明らかではない。我々は、冠動脈疾患の既往のない 2 型糖尿病患者を対象に、冠動脈 CT での有意狭窄（50%以上）を指標にこれらの危険因子が冠動脈病変を予測できるかどうか ROC 解析で検討を行った。

冠動脈病変は Framingham Risk Score (FRS), UKPDS リスクエンジン (UKPDS), Japan atherosclerosis longitudinal study (JALS)における AUC は、各々、0.766 (95%信頼区間 0.680-0.852)、0.746 (0.659-0.833)、0.730 (0.640-0.819) であった。これに最大 IMT を加えると冠動脈病変の予測能は有意に向上した。MDA-LDL の冠動脈病変検出に関する 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。以上の結果より、MDA-LDL、特に LDL-C かつまたは HDL-C との比は、冠動脈疾患の既往のない 2 型糖尿病患者の冠動脈病変を予測できる可能性が示唆された。

原発性低 HDL-C 血症の原因遺伝子としては、apoA-1 欠損症・異常症、Tangier 病、LCAT 欠損症、Angptl-3 変異などが知られているが、今回、我々はこれらの異常の可能性の低い中枢・末梢神経病変を合併する低 HDL-C 血症の症例を経験した。白血球および皮膚生検によるガラクトセレブロシダーゼ活性低下から Krabbe 病と診断されたが、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

現在、様々な心血管疾患に関するリスクスコアやバイオマーカーが発表されており、日常臨床に活用されている。一般的にリスクスコアは未来の心血管疾患の予測能として使用されるが、必ずしも対象の現在の冠動脈の状態を評価できるかは明らかではない。また、リスクスコアの心血管予測

能が十分高くないことも報告されている。

マロンジアルデヒド低比重リポ蛋白 (MDA-LDL) は酸化 LDL の一種で、動脈硬化惹起性の高いリポ蛋白である。MDL-LDL は冠動脈疾患や頸動脈内膜中膜複合体厚 (IMT) 肥厚と関連することが報告されている。

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、アポリタンパク A-I (apoAI) 遺伝子異常、ATP 結合カセットタンパク A1 (ABCA1) 遺伝子異常、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、angiopoietin-like 3 遺伝子異常が知られている。

今回我々は、リスクスコアおよび MDA-LDL が 2 型糖尿病患者の現在の冠動脈の状態を予測できるかどうかを明らかにすること、および、新たな原発性低 HDL-C 血症と考えられる症例について解析を行った。

## B. 研究方法

### 1. リスクスコアと冠動脈病変予測

2009 年 4 月から 2011 年 12 月までに筑波大学附属病院内分泌代謝・糖尿病内科に入院した冠動脈疾患の既往のない 2 型糖尿病患者のうち冠動脈 CT (CCTA) を施行した 125 症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。使用したリスクスコアは、Framingham risk score (FRS), UKPDS risk engine (UKPDS), Japan Atherosclerosis Longitudinal Study (JALS) である。これらのリスクスコアの冠動脈病変予測能について、リスクスコア単独もしくはリスクスコアと max-IMT, との組み合わせによる指標における ROC 解析を行った。更にリスクスコアを 3 分位とし、狭窄病変に対し max-IMT を追加しリスクスコアへの追加効果を検討した。

### 2. MDA-LDL と冠動脈病変予測

2009 年 4 月から 2012 年 3 月までに筑波大学附属病院内分泌代謝・糖尿病内科に入院し

た冠動脈疾患の既往のない 2 型糖尿病患者で 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。

MDA-LDL、MDA-LDL/LDL-C、MDA-LDL/HDL-C、(MDA-LDL/LDL-C)/HDL-C、LDL-C/HDL-C、HDL-C の冠動脈狭窄病変予測能を ROC 曲線を用い評価した。更に、MDA-LDL、MDA-LDL/LDL-C、MDA-LDL/HDL-C、(MDA-LDL/LDL-C)/HDL-C を 3 分位とし、冠動脈狭窄病変を有する割合を一般線型モデルで解析した。多変量解析にて、これらの脂質パラメーターが冠動脈狭窄病変を有するオッズ比を算出した。

### 3. 末梢中枢神経病変を合併した原発性低 HDL-C 血症患者の解析

症例は 23 歳女性。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た。入院時の検査で、TC 167mg/dl, TG 56mg/dl, HDL-C 8mg/dl, LDL-C 122mg/dl であった。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。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、筋萎縮や筋線維束攣縮、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。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。

### C. 研究結果

#### 1. リスクスコアと冠動脈疾患予測

リスクスコアを 3 分位にして検討すると、FRS、UKPDS、JALS とともに、リスクスコアが増加すると、冠動脈病変を有する患者の割合が有意に増加した (図 1)。リスクスコアに max-IMT の 3 分位を加えると、T2 で冠動脈病変の予測能が有意に向上した (図 2)。

#### 2. MDA-LDL と冠動脈病変予測

図 3 に、各脂質パラメーターの 3 分位と冠動脈狭窄患者の割合を示す。MDA-LDL/LDL ( $P=0.001$ )、MDA-LDL/HDL ( $p=0.033$ )、(MDA-LDL/LDL)/HDL ( $P=0.001$ ) で冠動脈狭窄と有意な関連が認められたが、MDA-LDL のみでは有意ではなかった ( $P=0.075$ )。

冠動脈病変検出の AUC は、MDA-LDL 0.693 (0.520-0.866)、MDA-LDL/LDL 0.784 (0.629-0.938)、MDA-LDL/HDL 0.766 (0.612-0.920)、(MDA-LDL/LDL)/HDL 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。

### 3. 末梢中枢神経病変を合併した原発性低 HDL-C 血症患者の解析

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)。LCAT 活性も低下は認めなかった。血中ガラクトセレブロシダーゼ  $<3.0\text{nmol/mg protein/17h}$  と低下。皮膚ガラクトセレブロシダーゼ  $0.2\text{nmol/h/mg}$  と低下。ガラクトシダーゼ、ヘキソサミニダーゼ、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

#### 1. リスクスコアと冠動脈疾患予測

FRS に max-IMT を加えることで、将来の心血管イベントの予測能が向上することが、一般住民を対象とした研究および日本人 2 型糖尿病患者を対象とした研究で示されている。本研究も、冠動脈病変については max-IMT と組み合わせることで各リスクスコアの予測能が向上した。特に、T1、T2 といった比較的风险の高くない患者で予測能が向上しており、臨床での有用性が高いと考えられた。

冠動脈疾患のリスクは、欧米人のリスクスコア (FRS、UKPDS) と日本人のリスクスコア (JALS) で大きく異なるが、リスクスコアの点数と冠動脈病変もしくは冠動脈不安定プラークの割合の関係は、各リスクスコアともほぼ同一であり、各リスクが冠動脈病変に与える影響は人種によらないことが示唆された。

#### 2. MDA-LDL と冠動脈病変予測

冠動脈疾患の既往のない 2 型糖尿病患者において、MDA-LDL および MDA-LDL と脂質比が冠動脈 CT にて評価した冠動脈病変を予測することが可能であること、特に、(MDA-LDL/LDL)/HDL で最も高い AUC を示した。

MDA-LDL および MDA-LDL/LDL は、冠動脈疾

患者で、冠動脈疾患を有さない患者に比べて有意に高いことが報告されている。今回の我々の結果も同様であった。一方、(MDA-LDL/LDL)/HDL は、MDA-LDL/LDL よりもさらに大きな AUC であった。今回の検討では、症例数が 37 例と少なく、偶然にこのような結果となった可能性は否定できないが、MDA-LDL/LDL が LDL の酸化されやすさと捉えると、抗酸化作用を有する HDL との比が最も AUC が高かったのは偶然とはいえないと考えられた。今後、症例数を増やし検討すること、前向きに観察し、心血管イベントとこれらのパラメーターとの関連を明らかにしていく必要がある。

### 3 . 末梢中枢神経病変を合併した原発性低 HDL-C 血症患者の解析

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、Angiopietin-like 3 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 Tangier 病、apoA-1 欠損症、LCAT 欠損症は否定された。また、Angiopietin-like 3 異常では複合型の低脂血症を呈する。すなわち、HDL-C だけでなく LDL-C や TG も低下しているのが特徴である。しかし、本症例では HDL-C のみが低値であり、Angiopietin-like 3 異常の表現型とは異なる。

本症例は、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。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

冠動脈疾患の既往のない 2 型糖尿病患者において、最大 IMT を既存のリスクスコアに組み合わせることで、リスクスコアの冠動脈疾患予測能を向上させることができることが示された。また、MDA-LDL および MDA-LDL と脂質の比は、2 型糖尿病の冠動脈病変予測に有用であると考えられた。

未知の低 HDL-C 血症原因遺伝子が存在する可能性が示唆された。

## F. 健康被害情報 なし

## G. 研究発表

### 1 . 論文発表

- 1.Teramoto T, Urashima M, Shimano H, Yokote K, Saito Y, LIVES Study Extension Group. A large-scale survey on cardio-cerebrovascular events during pitavastatin (LIVALO Tablet) therapy in Japanese patients with hypercholesterolemia. *Jpn Pharmacol Ther.* 2011 Sep; 39(9): 789-803.
- 2.Horikawa C, Kodama S, Yachi Y, Heianza Y, Hirasawa R, Ibe Y, Saito K, Shimano H, Yamada N, Sone H. Skipping breakfast and prevalence of overweight and obesity in Asian and Pacific regions: A meta-analysis. *Prev Med.* 2011 Oct;53(4-5):260-267.
- 3.Hirasawa R, Saito K, Yachi Y, Ibe Y, Kodama S, Asumi M, Horikawa C, Saito A, Heianza Y, Kondo K, Shimano H, Sone H. Quality of Internet information related to the Mediterranean diet. *Public Health Nutr.* 2011 Sep 19:1-9.
- 4.Kumadaki S, Karasawa T, Matsuzaka T, Ema M, Nakagawa Y, Nakakuki M, Saito R, Yahagi N, Iwasaki H, Sone H, Takekoshi K, Yatoh S, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki H, Takahashi S, Yamada N, Shimano H.

Inhibition of Ubiquitin ligase F-box and WD repeat domain-containing 7{alpha} (Fbw7{alpha}) (Fbw7{alpha}) causes hepatosteatosis through the Kruppel-like factor 5 (KLF5)/PPAR{gamma}2 pathway, but not SREBP-1c in mice. *J Biol Chem.* 2011 Nov 25; 286(47):40835-46. Epub 2011 Sep 12.

5. Totsuka K, Maeno T, Saito K, Kodama S, Asumi M, Yachi Y, Hiranuma Y, Shimano H, Yamada N, Ono Y, Naito T, Sone H. Self-reported fast eating is a potent predictor of development of impaired glucose tolerance in Japanese men and women: Tsukuba Medical Center Study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011 Dec; 94(3): e72-4. Epub 2011 Sep 9.

6. Saito R, Matsuzaka T, Karasawa T, Sekiya M, Okada N, Igarashi M, Matsumori R, Ishii K, Nakagawa Y, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Sone H, Suzuki H, Yahagi N, Yamada N, Shimano H. Macrophage elov16 deficiency ameliorates foam cell formation and reduces atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 Sep;31(9):1973-1979. Epub 2011 Aug 4.

7. Heianza Y, Hara S, Arase Y, Saito K, Fujiwara K, Tsuji H, Kodama S, Hsieh SD, Mori Y, Shimano H, Yamada N, Kosaka K, Sone H. HbA1c 5.7-6.4% and impaired fasting plasma glucose for diagnosis of prediabetes and risk of progression to diabetes in Japan (TOPOCS 3): a longitudinal cohort study. *Lancet.* 2011 Jul 9;378(9786):147-155. Epub 2011 Jun 24.

8. Amemiya-Kudo M, Oka J, Takeuchi Y, Okazaki H, Yamamoto T, Yahagi N, Matsuzaka K, Okazaki S, Osuga J, Yamada N, Murase T, Shimano H. Suppression of the

Pancreatic Duodenal Homeodomain Transcription Factor-1 (Pdx-1) Promoter by Sterol Regulatory Element-binding Protein-1c (SREBP-1c). *J Biol Chem* 2011 Aug; 12: 286(32): 27902-27914.

9. Yokote K, Shimano H, Urashima M, Teramoto T. Efficacy and safety of pitavastatin in Japanese patients with hypercholesterolemia: LIVES study and subanalysis. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2011 May; 9(5): 555-562.

10. Karasawa T, Takahashi A, Saito R, Sekiya M, Igarashi M, Iwasaki H, Miyahara S, Koyasu S, Nakagawa Y, Ishii K, Matsuzaka T, Kobayashi K, Yahagi N, Takekoshi K, Sone H, Yatoh S, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. Sterol regulatory element-binding protein-1 determines plasma remnant lipoproteins and accelerates atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31(8): 1788-1795.

11. Kodama S, Tanaka S, Heianza Y, Fujihara K, Horikawa C, Shimano H, Saito K, Yamada N, Ohashi Y, Sone H. Association Between Physical Activity and Risk of All-Cause Mortality and Cardiovascular Disease in Patients With Diabetes: A meta-analysis. *Diabetes Care.* 2013 Feb;36(2):471-9.

12. Ikeda T, Ishii KA, Saito Y, Miura M, Otagiri A, Kawakami Y, Shimano H, Hara H, Takekoshi K. Inhibition of Autophagy Enhances Sunitinib-Induced Cytotoxicity in Rat Pheochromocytoma PC12 cells. *J Pharmacol Sci.* 2013 Jan 19;121(1):67-73.

13. Naka A, Iida KT, Nakagawa Y, Iwasaki H, Takeuchi Y, Satoh A, Matsuzaka T, Ishii KA,

- Kobayashi K, Yatoh S, Shimada M, Yahagi N, Suzuki H, Sone H, Yamada N, Shimano H. TFE3 inhibits myoblast differentiation in C2C12 cells via down-regulating gene expression of myogenin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Jan 11;430(2):664-9.
14. Horikawa C, Kodama S, Tanaka S, Fujihara K, Hirasawa R, Yachi Y, Shimano H, Yamada N, Saito K, Sone H. Diabetes and risk of hearing impairment in adults: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Jan;98(1):51-8.
15. Kodama S, Horikawa C, Fujihara K, Heianza Y, Hirasawa R, Yachi Y, Sugawara A, Tanaka S, Shimano H, Iida KT, Saito K, Sone H. Comparisons of the strength of associations with future type 2 diabetes risk among anthropometric obesity indicators, including waist-to-height ratio: a meta-analysis. *Am J Epidemiol*. 2012 Dec 1;176(11):959-69.
16. Heianza Y, Arase Y, Tsuji H, Saito K, Amakawa K, Hsieh SD, Kodama S, Shimano H, Yamada N, Hara S, Sone H. Low lung function and risk of type 2 diabetes in Japanese men: the Toranomon Hospital Health Management Center Study 9 (TOPICS 9). *Mayo Clin Proc*. 2012 Sep;87(9):853-61.
17. Heianza Y, Arase Y, Hsieh SD, Saito K, Tsuji H, Kodama S, Tanaka S, Ohashi Y, Shimano H, Yamada N, Hara S, Sone H. Development of a new scoring system for predicting the 5 year incidence of type 2 diabetes in Japan: the Toranomon Hospital Health Management Center Study 6 (TOPICS 6). *Diabetologia*. 2012 Dec;55(12):3213-23.
18. Aita Y, Ishii KA, Saito Y, Ikeda T, Kawakami Y, Shimano H, Hara H, Takekoshi K. Sunitinib inhibits catecholamine synthesis and secretion in pheochromocytoma tumor cells by blocking VEGF receptor 2 via PLC- $\gamma$ -related pathways. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012 Oct 15;303(8):E1006-14.
19. Fujihara K, Saito A, Heianza Y, Gibo H, Suzuki H, Shimano H, Saito K, Kodama S, Yamada N, Sone H. Impact of psychological stress caused by the great east japan earthquake on glycemic control in patients with diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2012 Oct;120(9):560-3.
20. Matsuzaka T, Atsumi A, Matsumori R, Nie T, Shinozaki H, Suzuki-Kemuriyama N, Kuba M, Nakagawa Y, Ishii K, Shimada M, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Takekoshi K, Sone H, Yahagi N, Suzuki H, Murata S, Nakamuta M, Yamada N, Shimano H. Elovl6 promotes nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2012 Dec;56(6):2199-208.
21. Yoshino T, Kawai K, Miyazaki J, Kimura T, Ikeda A, Takaoka E, Suetomi T, Oikawa T, Kojima T, Iwasaki H, Shimano H, Nishiyama H. A case of acute adrenal insufficiency unmasked during sunitinib treatment for metastatic renal cell carcinoma. *Jpn J Clin Oncol*. 2012 Aug;42(8):764-6.
22. Sugawara A, Kawai K, Motohashi S, Saito K, Kodama S, Yachi Y, Hirasawa R, Shimano H, Yamazaki K, Sone H. HbA(1c) variability and the development of microalbuminuria in type 2 diabetes: Tsukuba Kawai Diabetes Registry 2. *Diabetologia*. 2012 Aug;55(8):2128-31.
23. Takeichi N, Midorikawa S, Watanabe A, Naing BT, Tamura H, Wakakuri-Kano T, Ishizaki A, Sugihara H, Nissato S, Saito Y,

- Aita Y, Ishii KA, Igarashi T, Kawakami Y, Hara H, Ikeda T, Shimizu K, Suzuki S, Shimano H, Kawamoto M, Shimada T, Watanabe T, Oikawa S, Takekoshi K. Identical germline mutations in the TMEM127 gene in two unrelated Japanese patients with bilateral pheochromocytoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012 Nov;77(5):707-14.
24. Heianza Y, Arase Y, Fujihara K, Tsuji H, Saito K, Hsieh SD, Kodama S, Shimano H, Yamada N, Hara S, Sone H. Screening for pre-diabetes to predict future diabetes using various cut-off points for HbA(1c) and impaired fasting glucose: the Toranomon Hospital Health Management Center Study 4 (TOPICS 4). *Diabet Med*. 2012 Sep;29(9):e279-85.
25. Heianza Y, Arase Y, Fujihara K, Tsuji H, Saito K, Hsieh SD, Kodama S, Shimano H, Yamada N, Hara S, Sone H. High normal HbA(1c) levels were associated with impaired insulin secretion without escalating insulin resistance in Japanese individuals: the Toranomon Hospital Health Management Center Study 8 (TOPICS 8). *Diabet Med*. 2012 Oct;29(10):1285-90.
26. Fujimoto Y, Nakagawa Y, Shingyouchi A, Tokushige N, Nakanishi N, Satoh A, Matsuzaka T, Ishii KA, Iwasaki H, Kobayashi K, Yatoh S, Suzuki H, Yahagi N, Urayama O, Yamada N, Shimano H. Dicer has a crucial role in the early stage of adipocyte differentiation, but not in lipid synthesis, in 3T3-L1 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Apr 20;420(4):931-6.
27. Heianza Y, Arase Y, Fujihara K, Hsieh SD, Saito K, Tsuji H, Kodama S, Yahagi N, Shimano H, Yamada N, Hara S, Sone H. Longitudinal trajectories of HbA1c and fasting plasma glucose levels during the development of type 2 diabetes: the Toranomon Hospital Health Management Center Study 7 (TOPICS 7). *Diabetes Care*. 2012 May;35(5):1050-2.
28. Sone H, Tanaka S, Tanaka S, Iimuro S, Ishibashi S, Oikawa S, Shimano H, Katayama S, Ohashi Y, Akanuma Y, Yamada N; Japan Diabetes Complications Study Group. Comparison of various lipid variables as predictors of coronary heart disease in Japanese men and women with type 2 diabetes: subanalysis of the Japan Diabetes Complications Study. *Diabetes Care*. 2012 May;35(5):1150-7.
29. Iwasaki H, Naka A, Iida KT, Nakagawa Y, Matsuzaka T, Ishii KA, Kobayashi K, Takahashi A, Yatoh S, Yahagi N, Sone H, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. TFE3 regulates muscle metabolic gene expression, increases glycogen stores, and enhances insulin sensitivity in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012 Apr 1;302(7):E896-902.
30. Shimano H. Novel qualitative aspects of tissue fatty acids related to metabolic regulation: lessons from Elovl6 knockout. *Prog Lipid Res*. 2012 Jul;51(3):267-71.
31. Kodama S, Saito K, Tanaka S, Horikawa C, Fujiwara K, Hirasawa R, Yachi Y, Sone Y, Tada Iida K, Shimano H, Ohashi Y, Yamada N, Sone H. Fasting and post-challenge glucose as quantitative cardiovascular risk factors: a meta-analysis. *J Atheroscler Thromb*. 2012;19(4):385-96.
32. Horikawa C, Kodama S, Yachi Y, Heianza Y, Hirasawa R, Ibe Y, Saito K, Shimano H, Yamada N, Sone H. Skipping breakfast and

prevalence of overweight and obesity in Asian and Pacific regions: a meta-analysis. *Prev Med.* 2011 Oct;53(4-5):260-7.

33. Hirasawa R, Saito K, Yachi Y, Ibe Y, Kodama S, Asumi M, Horikawa C, Saito A, Heianza Y, Kondo K, Shimano H, Sone H. Quality of Internet information related to the Mediterranean diet. *Public Health Nutr.* 2012 May;15(5):885-93.

34. 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]

35. 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]

36. 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.

37. 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.

38. 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, Niijima 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.

39. 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.

40. 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.

41. 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.

42. 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.

43. 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. 藤原和哉, 鈴木浩明, 佐藤明, 大崎芳典, 尾本美代子, 豊崎晶子, 平安座依子, 児玉暁, 斎藤和美, 小林和人, 矢藤繁, 高橋昭光, 山田信博, 曾根博仁, 島野仁. CT coronary angiography (CTA) による冠動脈不安定プラーク(VP)と関連する臨床指標に関する検討. 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2011 年 .
2. 島野仁, 藤原和哉, 岩崎仁, 小林和人, 矢藤繁, 高橋昭光, 鈴木浩明, 山田信博. 糖尿病患者の血中脂質管理における nonHDL コレステロールの有用性. 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会 .
3. Fujihara K, Suzuki H, Sato A, Ishizu T, Heianza Y, Kodama S, Saito K, Kobayashi K, Yatou S, Takahashi A, Yamada N, Sone H, Shimano H. Impact of serum lipid level on number of vulnerable coronary plaque (VP) detected by CT angiography (CTA) in asymptomatic patients with type 2 diabetes (T2DM)). 第 43 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 2011 .
4. Fujihara K, Suzuki H, Sato A, Heianza Y, Kodama S, Saito K, Kobayashi K, Takahashi A, Yatou S, Yamada N, Sone H, Shimano H. Evaluation of clinical predictors of vulnerable coronary plaque

detected by CT angiography in asymptomatic patients with type 2 diabetes(T2DM). 71th American Diabetes Association Scientific Sessions, San Diego, USA, 2011.

5. Kazuya Fujihara, Hiroaki Suzuki, Akira Sato, Satoru Kodama, Yoriko Heianza, Tomoko Ishizu, Kazumi Saito, Hitoshi Iwasaki, Kazuto Kobayashi, Sigeru Yatoh, Akimitsu Takahashi, Nobuhiro Yamada, Hirohito Sone, Hitoshi Shimano. Comparison of Framingham risk score, UKPDS risk engine, maximum-IMT, and LDL-C/HDL-C ratio for predicting coronary plaque in asymptomatic patients with type 2 diabetes. 48th EASD annual meeting, Berlin, Germany, 2012
6. Tomotaka Yokoo, Kazutoshi Watanabe, Kaoruko Tada-Iida, Hiroaki Suzuki, Hitoshi Shimano, Masanobu Kawakami, Nobuhiro Yamada, Yasushi Okazaki, Hideo Toyoshima. Expression of IBCAP (intestine-derived beta cell augmenting promoter), an intestine specific secretory factor, induces insulin positive cells in the liver. 48th EASD annual meeting, Berlin, Germany, 2012
7. 藤田 晶子, 高橋 昭光, 岩淵 敦, 渋谷 正俊, 志鎌 明人, 岩崎 仁, 小林 和人, 矢藤 繁, 矢作直哉, 鴨田 知博, 鈴木 浩明, 島野 仁. GLP-1 分泌動態を検討した反応性低血糖の 2 症例 . 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2012
8. 篠崎 悠奈, 矢作 直也, 武内 謙憲, 西 真貴子, 中川 嘉, 石井 清朗, 松坂 賢, 岩崎 仁, 小林 和人, 矢藤 繁, 高橋 昭光, 曾根 博仁, 鈴木 浩明, 山田 信博, 島野 仁. 脂肪酸伸長酵素 ELOVL5 のエンハンサー領域の同定と SREBP による発現制御機構の解析 . 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2012
9. 岩崎 仁, 矢作 直也, 岩部 博子, 戸塚 久美子, 大畑 瞳, 須藤 玲子, 吉田 光歩, 伊藤 由実子, 鈴木 康裕, 松田 ひとみ, 高木 聡, 渋谷 正俊, 小林 和人, 矢藤 繁, 高橋 昭光, 鈴木 浩明,



山田 信博, 島野 仁 . 当院での世界糖尿病デー  
イベントにおける指先採血で測定可能な HbA1c 測  
定機器を用いた、糖尿病早期発見の取り組み .  
第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 , 2012

10. 松坂 賢, 齋藤 亮, 唐澤 直義, 松森 理恵,  
煙山 紀子, 中川 嘉, 石井 清朗, 岩崎 仁, 小林  
和人, 矢藤 繁, 高橋 昭光, 曾根 博仁, 鈴木 浩  
明, 矢作 直也, 山田 信博, 島野 仁 . マクロファ  
ージ泡沫化および動脈硬化における脂肪酸伸長  
酵素 Elovl6 の役割 . 第 55 回日本糖尿病学会年次  
学術集会 , 2012

11. 藤原 和哉, 鈴木 浩明, 佐藤 明, 大崎 芳典,  
尾本 美代子, 豊島 晶子, 平安座 依子, 児玉 暁,  
齋藤 和美, 小林 和人, 矢藤 繁, 高橋 昭光, 山  
田 信博, 曾根 博仁, 島野 仁 . フラミンガムリ  
スクスコア、UKPDS リスクエンジン、max-IMT、  
LDL/HDL 比による冠動脈病変予測能に関する検  
討 . 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 , 2012

12. 矢藤 繁, 松坂 賢, 高木 聡, 志鎌 明人, 豊  
崎 晶子, 尾本 美代子, 渋谷 正俊, 岩崎 仁, 小  
林 和人, 高橋 昭光, 鈴木 浩明, 島野 仁 . 2 型  
糖尿病患者における血中脂肪酸組成と内臓脂肪  
面積の関係についての検討 . 第 55 回日本糖尿病  
学会年次学術集会 , 2012

13. 志鎌明人、渋谷正俊、豊崎晶子、岩崎仁、小  
林和人、矢藤繁、高橋昭光、矢作直也、鈴木浩  
明、島野仁 . 中枢性塩類喪失症候群を合併した  
下垂体卒中の 1 例 . 第 21 回臨床内分泌代謝  
Update , 2012

14. 宜保英彦、藤原和哉、小林和人、高橋昭光、  
矢藤繁、鈴木浩明、島野仁、山田信博、曾根博  
仁 . 横紋筋融解症、急性心筋炎から救命しえた  
劇症 1 型糖尿病の 1 例 . 第 21 回臨床内分泌代謝  
Update、2012

15. Sakiko Yoshizawa, Yuriko Heianza, Yasuji  
Arase, Kazumi Saito, Shiun Dong Hsieh, Hiroshi  
Tsuji, Osamu Hanyu, Akiko Suzuki, Shiro  
Tanaka, Satoru Kodama, Hitoshi Shimano,

Shigeko 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)

16. Yuriko Heianza, Yasuji Arase, Satoru Kodama,  
Akiko Suzuki, Kazumi Saito, Shiun Dong Hsieh,  
Hitoshi Shimano, Shigeko 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)

17. Yuriko Heianza, Yasuji Arase, Satoru Kodama,  
Osamu Hanyu, Kazumi Saito, Shiun Dong Hsieh,  
Hitoshi Shimano, Shigeko 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)

18. 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)

19. 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)

20. 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)

21. 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)

22. 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))

23. 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))

24. 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)

25. 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)

26. 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))

27. 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))

28. 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))

29. 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))

30. 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))

31. 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))

32. 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))

33. 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（熊本市民会館）  
2013.5.16(木)～18(土)

34. 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（熊本市民会館）2013.5.16(木)～18(土)

35. 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（熊本市民会館）  
2013.5.16(木)～18(土)

36. 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（熊本市民会館）  
2013.5.16(木)～18(土)

37. 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  
市民会館）2013.5.16(木)～18(土)

38. 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  
本市民会館）2013.5.16(木)～18(土)

39. 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（熊本市民会館）  
2013.5.16(木)～18(土)

40. 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  
市民会館）2013.5.16(木)～18(土)

41. 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（熊本市民会館）2013.5.16(木)～18(土)

42. 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（熊本市民会館）2013.5.16(木)～  
18(土)

43. 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-PPARα 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（熊本市民会館）  
2013.5.16(木)～18(土)

44. 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)

45. 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)

46. 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)

47. 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）

48. 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）

49. 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）

50. 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）

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

52. 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)

53. 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)

54. 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)

55. 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)

56. 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)

57. 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

(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

Figure 1. リスクスコアの3分位と冠動脈病変(50%狭窄以上)の割合

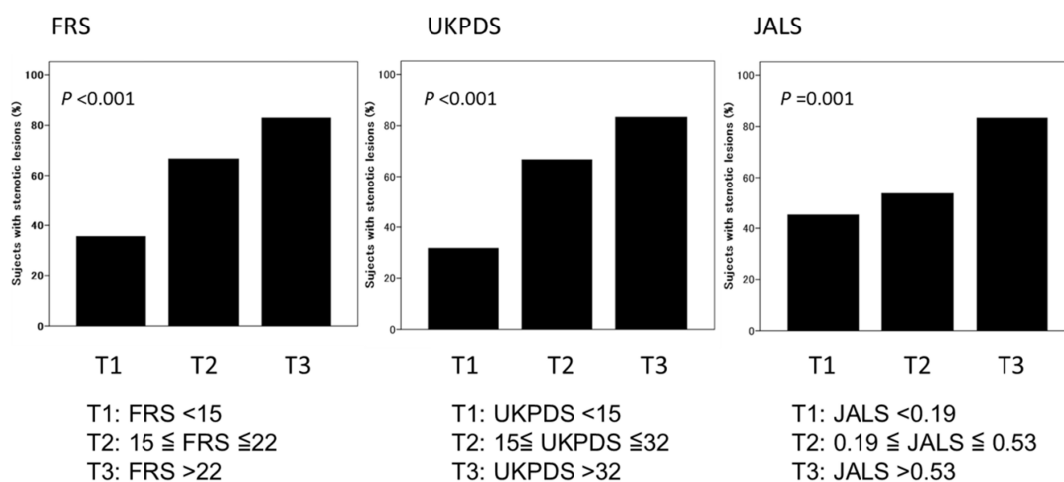


Figure 2. Max-IMT(三分位)とリスクスコアの組み合わせと冠動脈病変

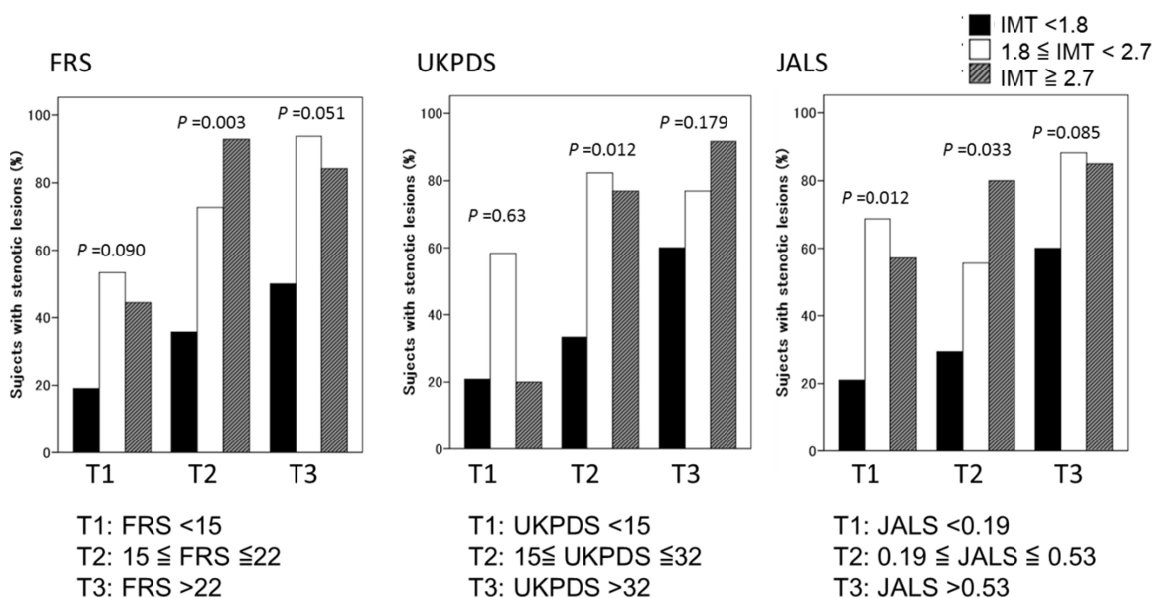
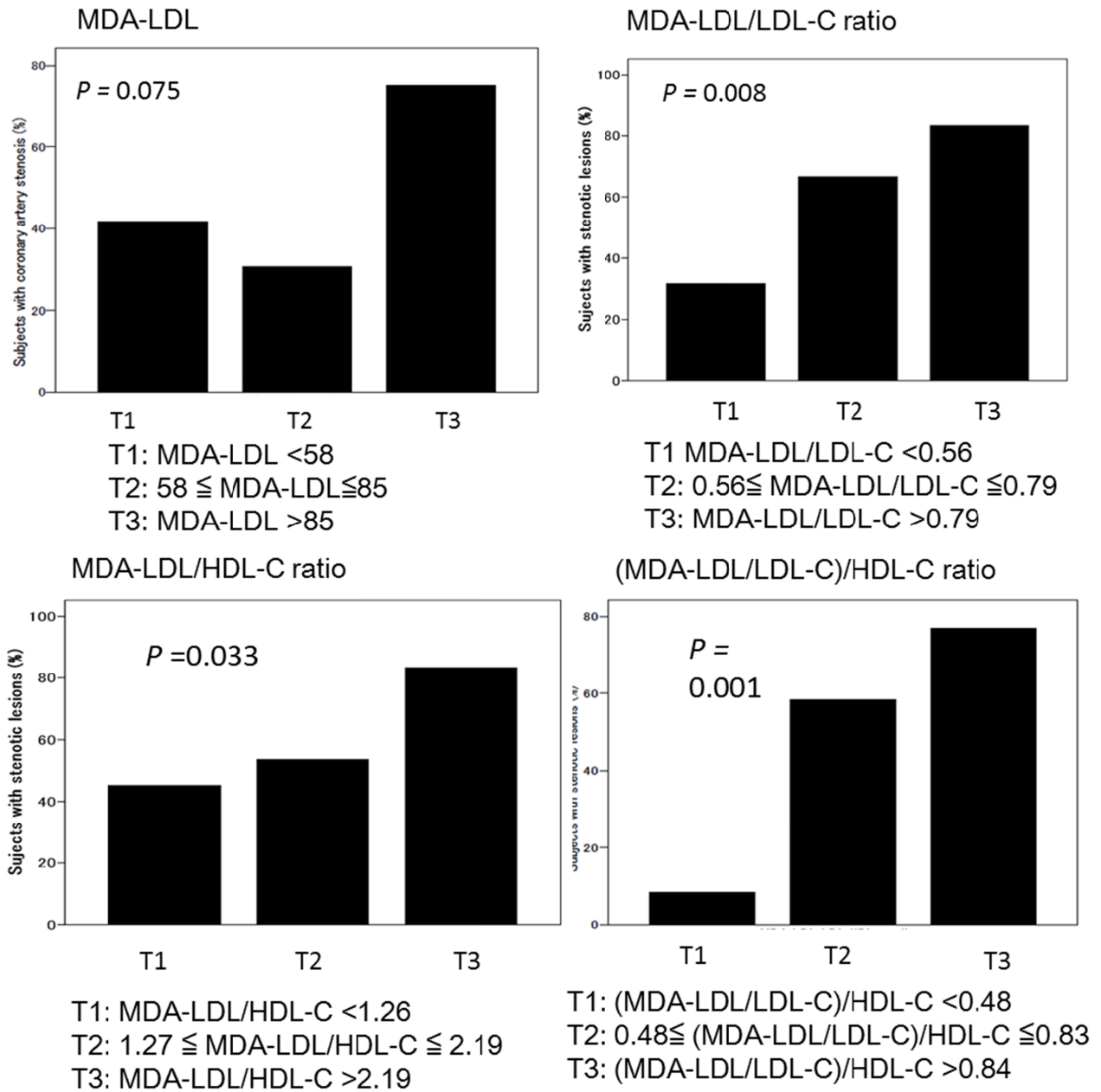


Figure 3. 各脂質パラメーターの3分位と冠動脈狭窄 (50% $\geq$ ) の割合



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

原発性高脂血症に関する調査研究

分担研究者 林 登志雄 名古屋大学医学部附属病院老年内科

**研究要旨** 1 当科及び関連施設での家族性高コレステロール血症(FH)患者の動脈硬化性疾患合併と遺伝子変異の関連を検討した。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について調査した。3. 全国規模の糖尿病コホート研究にて動脈硬化性疾患合併要因を年代別に検討し、高脂血症薬の作用及び作用機序を検討した。

方法)1.当科及び関連施設の FH 通院患者 80 名を高齢者、非高齢者に分類し、動脈硬化性疾患合併、遺伝子変異の関連及び検査値等を比較した。頸動脈エコー及び血流依存性血管拡張反応(FMD)、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の病診連携状況を当科対象に解析した。3. 全国 40 病院で2型糖尿病患者 4014 名(平均 67 歳)の前向きコホート研究を施行し、5.5 年及び 8.8 年経過時の虚血性心疾患、脳血管障害(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 患者:非高齢者 39 名,高齢者 41 名, IHD/CVA の合併は各々 37, 27%, LDL 受容体変異を 50%に,PCSK9 ヘテロダイマー,フリーフラグメント高値を 10%に認めたが例数も少なく IHG 自体との関連等は有意ではなかった。FMD は 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。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示された。FHhomo(疑)、FH 重症ヘテロ等様々な疾患が示唆された。3. 5.5 年経過時 3378 例:追跡率 84%で、登録時糖尿病罹病期間 9.6±8.0 年。IHD 152 例,発症率 0.78%,CVA 104 例,0.56%を認めた。IHD:非高齢者で HbA1C 値、前期高齢者に LDL/HDL 比、後期高齢者は HDL-C が、CVA:高齢者に HDL-C が負の risk だった。8.8 年で IHD,CVA,死亡は各々 218,138,144 例認め、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、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 ではスタチン新規,継続群の発症率が高く、スタチン効果は不十分であったが CVA では非服薬者の発症率が高く、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 当科及び関連施設でも家族性高コレステロール血症(FH)患者の高齢化がすすむ。近年、LDL 受容体異常とされる FH の遺伝子異常は 6 割程度は詳細に探索可能になり見も増えている。高齢者の比較的多い報告者所属施設及び関連施設にて動脈硬化性疾患合併と遺伝子変異の関連を検討した。2.当該研究班の班員名簿が難病情報センターの HP に掲載され、動脈硬化学会による診断基準等の改訂が周知されるに連れ、近隣病院から当該地区の原発性高脂血症患者に対する問い合わせが増えている。当該施設を対象に、原発性高脂血症の病診連携状況について調査した。3. 全国規模の糖尿病コホートにて動脈硬化性疾患合併要因を脂質を中心に年代別に検討した。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。

**B. 研究方法**

1.当科及び関連施設の FH 通院外来患者 80 名を高年齢者、非高齢者に分類し、動脈硬化性疾患合併(IHD,CVA)と遺伝子変異の関連を検討した。頸動脈エコー及び血流依存性血管拡張反応(FMD)、関連血液成績等と遺伝子変異(主要 6 因子)、PCSK9 蛋白質定量を行い、比較検討した。FH ヘテロ罹患者の高齢化と動脈硬化性疾患罹患度を検討した。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過去 3 年間当科対象に解析した。3. 全国 40 病院にて 2004 年より前向きコホート研究として施行している 2 型糖尿病患者 4014 名(平均 67 歳)の 5.5 年及び 8.8 年経過時の虚血性心疾患、脳血管障害(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上記 4014 名より、研究開始時に選定した 405 名のサブコホートと、今回は 5.5 年時点での IHD/CVA 罹患者 256 名に対し、登録時からイベント発症直前又は 5.5 年経過時まで毎年

採血結果及び治療薬を調査し、治療薬変更時はその直前値を調べる事で、薬剤効果と動脈硬化性疾患への高脂血症治療薬-主としてスタチンの効果を検討した。

(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。

### C. 研究結果

1. FH患者: 65歳で区分すると非高齢者は39名, 高齢者は41名, 調査時までのIHD/CVAの合併は各々37, 27%, LDL受容体変異を50%に, PCSK9ヘテロダイマー, フリーフラグメント高値を10%に認めた。例数も少なくIHD, CVAとの関連には有意差を認めなかった。FMDは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。

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を感じた。FH homo疑, FH重症ヘテロ, リポプロテインリパーゼ変異体等様々な疾患が示唆された。

3. 5.5年経過時3,378例: 追跡率84%で、登録時糖尿病罹病期間 $9.6 \pm 8.0$ 年。IHD 152例, 発症率0.78%, CVA 104例, 0.56%を認めた。IHD: 非高齢者でHbA1C値、前期高齢者にLDL/HDL比、後期高齢者はHDLが、CVA: 後期高齢者にHDL-Cが負のriskだった。8.8年ではIHD, CVA, 死亡は各々218, 138, 144例認め、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、年代により危険因子が異なった。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はスタチン新規, 継続群の発症率が高く、スタチン効果は不十分であったがCVAでは非服薬者の発症率が高く、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。

### D. 考察

1. 家族性高コレステロール血症(FH)の遺伝子変異がLDL受容体に限らず、PCSK9等にも及ぶ事が報告され、一般にも受け入れられつつ有る。一方、スタチン製剤の普及等でFHが少なからず見落とされ、通常の高脂血症患者として治療されてい

る危険性が指摘されている。生下時から脂質異常症を認めるため、成人検診時等では同程度の脂質異常症でも冠動脈疾患罹患率は高い。常染色体優性遺伝であるがために家族調査は必須である。FHの原因遺伝子検索が研究段階から普及段階へひろがる一步と考えたい。高齢のFH患者も度々経験する。これまでの当科の検討では、遺伝子変異の特性はまだ不明だが、後期高齢者を中心に今後も検討を進めていく意義が有ると考える。FH患者に冠動脈疾患が早発する事は周知されるが、種々応用される各種動脈硬化症のバイオマーカー(血液検査やFMDやIMT等の画像診断)で、何れが有用かの検討は意外に少ない。当研究班が先頭に立ち調査検討する時期に来ているように思われる。

2. 報告者所属地域の影響もあるのか。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い事が明らかになった。従来は関連の班員の先生方に随時遺伝子検索を依頼し、病態や家族歴により市販6項目でのスクリーニングにとどめたり、必ずしも系統的解析は出来ていなかった。当研究班でも各班員施設で経験した症例の遺伝子スクリーニングを一体的に可能にすべく努力がなされている。一層の進展を期待したい。

3. 後期高齢者1000名余りを含む2型糖尿病患者コホート研究も9年度調査を迎えた。追跡率がやや低下したが、今後、介護要因等までのsurrogate markerを探索していきたい。HDL-CとCVAの関連はlegend効果も含め大変興味深く、本邦ならではの研究と自負する。更に我々はコホート研究での薬効評価と言う興味深い研究を進めている。脂質異常症治療薬の約9割を占めるスタチン製剤がIHDとCVAに対照的な効果を示した事は興味深い。所謂 healthy effectを含め今後更に、その直接作用につき、検討解析を進めていく予定である。

### E. 結論

1) FH患者は、65歳で区分すると高齢者が5割以上を占めたが、IHD/CVAの合併率は同世代者に比し有意に高値であった。LDL受容体変異を50%に、PCSK9ヘテロダイマー, フリーフラグメント高値を10%に認めたが例数も少なくIHD等との関連はまだ認められなかった。FMDはIMTをIHDの

surrogate marker にと検討したが、まだ有意な成績はでていない。東海三県の大学、公立病院小児科、産婦人科より小児脂質異常症を中心に想像以上の相談を受けている。報告者が老年内科所属で、通常の医師会講演等でも、家族性高コレステロール血症の一般的な話になりがちである事を考慮すると、実数はかなり多いはずで、班としての対応も求められると思われた。2型糖尿病コホート研究の結果はFHの重症性、特殊性を考慮する上でも貴重な成績と考える。また薬剤効果についての検討も課題が多く今後更に進めていくべきものと考えられた。

## F . 研究発表

### 1. 論文発表

- 1: Hayashi T, Nomura H, Ina K, Kato T, Hirose T, Nonogaki Z, Suzuki Y. Place of death for the elderly in need of end-of-life home care: A study in Japan Arch Gerontol Geriatr 2011;53:242-244
- 2: Claudio Napoli, Francesco Cacciatore, Hayashi T, Amelia Casamassimi, Costanza Casini, Mohammed Al-Omran, Louis J. Ignarro Endothelial Progenitor Cells as Therapeutic Agents in the Microcirculation. Atherosclerosis 2011; 215:9-22
- 3: Matsui-Hirai H, Hayashi T, Yamamoto S, Ina K, Maeda M, Kotani H, Iguchi A, Ignarro L.J., Hattori Y. Dose-Dependent Modulatory Effects of Insulin on Glucose-induced Endothelial Senescence in vitro and in vivo: A Relationship between Telomeres and Nitric Oxide. J Pharmacol Exp Ther 2011;337:591-599
- 4: Hayashi T, Kawashima S, Nomura H, Itoh H, Watanabe H, Ohru T, Yokote K, Sone H, Hattori Y, Yoshizumi M, Ina K, Kubota K; Japan Cholesterol and Diabetes Mellitus Investigation Group. Age, gender, insulin and blood glucose control status alter the risk of ischemic heart disease and stroke among elderly diabetic patients. Cardiovasc Diabetol. 2011;10:86-91.
- 5: Hayashi T, Ina K, Maeda M, Nomura H. The effects of selective estrogen receptor modulator treatment following hormone replacement therapy on elderly postmenopausal women with osteoporosis. Nitric Oxide. 2011;24:199-203.
- 6: Hirai H, Kanaya R, Maeda M, Qunfang D, Ina K, Hayashi T. The role of insulin growth factor on atherosclerosis and endothelial function: the effect on hyperlipidemia and aging. Life Sci. 2011;88:425-431.
- 7: Ina K, Hayashi T, Nomura H, Ishitsuka A, Hirai H, Iguchi A. Depression, quality of life (QoL) and will to live of community-dwelling postmenopausal women in three Asian countries: Korea, China and Japan. Arch Gerontol Geriatr. 2011;53:8-12.
- 8: 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. Diagnosis and management of type I and type v hyperlipoproteinemia. J Atheroscler Thromb. 2012;19:1-12
- 9: Ochiai M, Hayashi T, Morita M, Ina K, Maeda M, Watanabe F, Morishita K Short-term effects of L-citrulline supplementation on arterial stiffness in middle-aged men Int. J. Cardiology 2012 ; 155: 257-261
- 10: 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;19:207-212
- 11: 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. Management of Type IIb Dyslipidemia. J Atheroscler Thromb. 2012;19:105-114
- 12: Hayashi T, Kawashima S, Nomura H, Itoh H, Watanabe H, Ohru T, Yokote K, Sone H, Hattori Y, Yoshizumi M, Ina K, Kubota K; Japan Cholesterol and Diabetes Mellitus Investigation Group. Metabolic predictors of ischemic heart disease and cerebrovascular attack in elderly diabetic individuals: difference in risk by age. Cardiovascular Diabetology 2013 12:10. doi: 10.1186/1475-2840-12-10.
- 13: 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.



14: 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.

15: 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. *Proc Nat Acad Sci USA* 2014.111.1168-1173

16: Hayashi T, Yamaguchi T, Taguchi K, Ina K, Maeda M, Sakakibara Y, Kuzuya M, Hattori Y. eNOS-Dependent Anti-senescence Effect of the Calcium Channel Blocker Nifedipine in Human Endothelial Cells. *PLOS ONE* 2014 (in press)

#### 【書籍】

1. 林 登志雄 疾患からみた薬理学 改訂3版 骨粗鬆症 2011 pp.132-141

2. Hayashi T. Interdisciplinary Concepts in Cardiovascular Health Volume 1 Primary Risk Factors: 2 Aging, 3, Gender 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 >

#1 第54回日本糖尿病学会年次学術集会 2011年5月19-21日札幌

1. 脂質異常症合併糖尿病患者の薬物療法における医療経済解析用アセスメントモデル 伊奈孝一郎, 林 登志雄

#2 第53回日本老年医学会学術集会 2011年6月15-17日 東京

2. 糖尿病合併心血管病への動脈硬化危険因子の影響-5年度調査-林 登志雄, 伊奈孝一郎, 大類孝, 井藤英喜, 荒木厚, 横手幸太郎, 吉栖正生, 梅垣宏行, 野村秀樹

3. 高血圧モデル・アンジオテンシンIIによる血管内

皮細胞老化はHMG-CoA還元酵素阻害剤により回復する。林 登志雄, 伊奈孝一郎

4. 細胞老化抑制物質の検討-高グルコースモデルを用いて- 林 登志雄, 伊奈孝一郎

5. 在宅医療において在宅死を規定する因子について 伊奈孝一郎, 林 登志雄, 野村秀樹, 広瀬貴久, 野々垣禅, 鈴木祐介

6. 糖尿病合併脂質異常症患者薬物療法における医療経済解析のためのアセスメントモデル 伊奈孝一郎, 林 登志雄

#3. 日本アミノ酸学会第4回夏のシンポジウム

アミノ酸は生活習慣病に役立つか?-アミノ酸とエネルギー代謝制御の視点から-2011年9月9日新潟  
7. 動脈硬化症とアミノ酸 -アルギニン, シトルリンを中心に- 林 登志雄

#4. 第5回日本アミノ酸学会年次集会:アミノ酸と臨床栄養に関するワークショップ 同11月10日 名古屋

8. 生活習慣病, 老化とアミノ酸 林 登志雄

#5. 第55回日本糖尿病学会年次学術集会 2012年5月17-19日 横浜

9. 糖尿病性患者における心血管病発症リスクの年代別, 性別検討成績:HDL-C と LDL-C/HDL-C 比の意義について 林 登志雄, 川嶋成乃亮, 井藤英喜, 荒木厚, 曾根博仁, 渡邊裕司, 大類孝, 横手幸太郎, 竹本稔, 服部良之, 伊奈孝一郎, 野村秀樹

#6. 第52回日本老年医学会学術集会 2012年6月28-30日 東京

一般演題優秀演題賞候補セッション

10. 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  
一般演題

11. 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

12. 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

13. 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

14. 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

#7. 第12回 日本NO学会学術集会 2012年6月  
29-30日神戸

15. 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

16. 食後高血糖モデル: グルコース間歇刺激による血管内皮細胞老化機序の検討 前田守彦, 林登志雄, 山口知恵, 飯田麻由

#8. 日本基礎老化学会 第35回大会 2012年7月  
26-27日 船橋

17. ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗薬の血管内皮細胞老化抑制作用について 山口知恵, 飯田麻由, 林登志雄

#9. 第44回日本動脈硬化学会総会・学術集会 2012年  
7月19-20日 福岡

18. シンポジウム2. 生活習慣病の疫学研究から動脈硬化を予防する Metabolic predictors of ischemic heart disease and cerebrovascular attack in elderly diabetic individuals: The roles of HDL-cholesterol and the LDL-C/HDL-C ratio Hayashi T.

#10. 日本循環薬理学会 2012年11月30日 富山

19. シンポジウム: 糖尿病病態における血管内皮細胞機能研究の新しい展開: 糖尿病性心血管病における血管内皮細胞の役割-細胞老化への寄与を中心に- 林登志雄

#11. 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

20. 最優秀演題候補優秀演題 高脂血症薬の2型糖尿病罹患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 林登志雄 他,

21. 一般演題 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, 野村秀樹

22. 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

23. 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

24. 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

25. 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

#12. 第36回日本基礎老化学会一般演題

26. 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

27. Liver 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

28. 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

29. 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

30. 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 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 林登志雄

<海外>

#13 9<sup>th</sup> Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology and Geriatrics Gerontology and Geriatrics 2011 23-27 Oct. 2011 Melbourne Australia

1. Low HDL-Cholesterol is Associated With Risk of Ischemic heart disease and Stroke in Elderly Diabetic Individuals. Hayashi T, Ina K, Nomura H and on behalf of JCDM investigators

2. Dose-Dependent Modulatory Effects of Insulin on Glucose-induced Endothelial Senescence in vitro and in vivo: A Relationship between Telomeres and Nitric Oxide. Hayashi T, Hirai H, Maeda M, Ina K.

#14. 2012 Annual Scientific Meeting of the American Geriatrics Society. May 3-5, 2012. at the Washington State Convention and Trade Center in Seattle, Washington. USA

3. A calcium channel blocker characteristically prevents endothelial senescence: Possible implication for atherosclerosis Hayashi T.

4. Association of ERα PvuII and eNOS G894T polymorphisms with obesity and related diseases in elderly postmenopausal women: A 7-years prospective study in a community in China. Q. Ding, X. Zhang, N. Ge, T. Hayashi, F. Luo, J. Zhang, Z. Wan, L. Cao.

#15. 2012 48<sup>th</sup> Annual meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD).Oct.1-5, Berlin, German

5.Predictors of ischemic heart disease and cerebrovascular attack in late elderly diabetic individuals: the roles of HDL-cholesterol and the LDL-C/HDL-C ratio. Hayashi T, Itoh H, Araki H, Sone H, Watanabe H, Ohru T, Yokote K, Takemoto M, Noda K, Ina H, Nomura H, Japan.CDM Investigator group.

#16. The Gerontological Society of America's 65th Annual Scientific Meeting, taking place in San Diego, CA from November 14-18, 2012. Oral presentation

6. Metabolic predictors of ischemic heart disease and cerebrovascular attack in elderly diabetic individuals: The roles of HDL-cholesterol and the LDL-C/HDL-C ratio. Hayashi T.

7.Endothelial cellular senescence is inhibited by Liver X receptor agonist. Hayashi T, Ina K.

8.The effects of selective estrogen receptor modulator treatment following hormone replacement therapy on elderly postmenopausal women with osteoporosis. Hayashi T, Ina K.

9. Importance of HDL Cholesterol Levels in Diabetic Individuals With Type IIb Dyslipidemia —5-Year Survey of

Cardiovascular Events—Ina K, Hayashi T

# 17. 20th International Association of Gerontology and Geriatrics:World Congress June 23-27 Seoul Korea

Symposium Necessity of specific treatment of life style related disease for elderly.

10. Japan Cholesterol and Diabetes Mellitus Study-New findings in late elderly . Hayashi T.

11. 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.

12. East Asian Research for Health and Longevity supported by JSPS. Hayashi T.

Symposium: HEALTH AND LONGEVITY OF EAST ASIAN ELDERLY FEMALE”.

13. Medical economic analysis of elderly diabetic individuals. Hayashi T.

14. Panel symposium: Elder Healthcare burden; Is there best way for medical cost saving? Hayashi T.

# 18. 2013 49th Annual meeting of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) Sep.20-25 Balcerona.Spain

15. 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 S5)

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

## 別紙 4

## 研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

## 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
<u>Hayashi T.</u>	Aging	Wakabayashi I . and Groschner K	Interdisciplinary Concepts in Cardio- vascular Health Vol P/primary Risk Factors	Springer	ドイツ	2013	PP22-34
<u>Hayashi T.</u>	Gender	Wakabayashi I . and Groschner K	Interdisciplinary Concepts in Cardio- vascular Health Vol_1 Primary Risk Factors	Springer	ドイツ	2013	PP35-46

## 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
<u>Hayashi T.</u> , Nomura H, Ina K, Kato T, Hirose T, Nonogaki Z, Suzuki Y.	Place of death for the elderly in need of end-of-life home care: A study in Japan	Arch Gerontol Geriatr	53	242-244	2011
Claudio Napoli, Francesco Cacciatore, <u>Hayashi T.</u> , Amelia Casamassimi, Costanza Casini, Mohammed Al-Omran, Louis J. Ignarro	Endothelial Progenitor Cells as Therapeutic Agents in the Microcirculation.	Atherosclerosis	215	9-22	2011
Matsui-Hirai H, <u>Hayashi T.</u> , Yamamoto S, Ina K, Maeda M, Kotani H, Iguchi A, Ignarro L.J., Hattori Y	Dose-Dependent Modulatory Effects of Insulin on Glucose-induced Endothelial Senescence in vitro and in vivo: A Relationship between Telomeres and Nitric Oxide.	J Pharmacol Exp Ther	337	591-599	2011
<u>Hayashi T.</u> , Kawashima S, Nomura H, Itoh H, Watanabe H, Ohru T, Yokote K, Sone H, Hattori Y, Yoshizumi M, Ina K, Kubota K	Japan Cholesterol and Diabetes Mellitus Investigation Group. Age, gender, insulin and blood glucose control status alter the risk of ischemic heart disease and stroke among elderly diabetic patients.	Cardiovasc Diabetol.	10	86-91	2011
<u>Hayashi T.</u> , Ina K, Maeda M, Nomura H.	The effects of selective estrogen receptor modulator treatment following hormone replacement therapy on elderly postmenopausal women with osteoporosis.	Nitric Oxide.	24	199-293	2011
Hirai H, Kanaya R, Maeda M, Qunfang D, Ina K, <u>Hayashi T.</u>	The effects of selective estrogen receptor modulator treatment following hormone replacement therapy on elderly postmenopausal women with osteoporosis.	Life Sci.	88	425-431	2011

Ina K, <u>Hayashi T</u> , Nomura H, Ishitsuka A, Hirai H, Iguchi A.	Depression, quality of life (QoL) and will to live of community-dwelling postmenopausal women in three Asian countries: Korea, China and Japan.	Arch Gerontol Geriatr.	53	8-12	2011
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, <u>Hayashi T</u> , Sone H, Suzuki H, Yamada N.	Diagnosis and management of type I and type v hyperlipoproteinemia.	J Atheroscler Thromb	19	1-12	2012
Ochiai M, <u>Hayashi T</u> , Morita M, Ina K, Maeda M, Watanabe F, Morishita K	Short-term effects of L-citrulline supplementation on arterial stiffness in middle-aged men	Int. J. Cardiology	155	257-261	2012
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, <u>Hayashi T</u> , Gotoda T, Suzuki H, Yamada N	Background to Discuss Guidelines for Control of Plasma HDL-Cholesterol in Japan.	J Atheroscler Thromb.	19	207-212	2012
Arai H, Ishibashi S, Bujo H, <u>Hayashi T</u> , 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.	Management of Type IIb Dyslipidemia.	J Atheroscler Thromb	19	105-110	2012
<u>Hayashi T</u> , Kawashima S, Nomura H, Itoh H, Watanabe H, Ohruai T, Yokote K, Sone H, Hattori Y, Yoshizumi M, Ina K, Kubota K	Japan Cholesterol and Diabetes Mellitus Investigation Group. Metabolic predictors of ischemic heart disease and cerebrovascular attack in elderly diabetic individuals: difference in risk by age	Cardiovascular Diabetology	12	10-16	2013
Umegaki H, <u>Hayashi T</u> , 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	13	18-23	2013
Ina K, Hayashi T, Araki A, Kawashima S, Sone H, Watanabe H, Ohruai 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	13	in press	2013
<u>Hayashi T</u> , Araki A, Kawashima S, Sone H, Watanabe H, Ohruai 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 Diabetology	12	11-18	2013
<u>Hayashi T</u> , Kotani 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 USA	111	1168-1173	2014
Hayashi T, Yamaguchi T, Taguchi K, Ina K, Maeda M, Sakakibara Y, Kuzuya M, Hattori Y.	eNOS-Dependent Anti-senescence Effect of the Calcium Channel Blocker Nifedipine in Human Endothelial Cells.	PLOS ONE		in press	2014

**厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担総合研究報告書**

**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**

多くの疫学研究や観察研究により、高比重リポ蛋白(High density lipoprotein cholesterol, HDL-C)が動脈硬化性疾患の発症と進展に対して防衛的に作用することが証明されており、HDL 増加療法が動脈硬化性疾患の新規の予防治療法になりうると期待されてきた。血管内皮リパーゼ(endothelial lipase, EL)は、血管内皮細胞や肝細胞などから産生・分泌されるホスホリパーゼで、HDL 粒子に対して高い結合親和性を示し、その表面のリン脂質を分解することにより HDL の分解代謝を促進している。その結果、EL は血清 HDL-C 濃度の制御因子である。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することにより、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するとともに、EL の血清 HDL-C 濃度と動脈硬化性疾患における役割を明らかにすることを旨とした。まず、ヒト EL に対する新規のモノクロナル抗体(クローン 26A1 および 48A1)を作成し、これらを用いて EL 蛋白濃度測定用の ELISA を作製・改良した。つぎに、血清中 EL 蛋白の免疫沈降物のホスホリパーゼ活性を、蛍光リン脂質を基質として測定することにより血清 EL 特異的活性測定法を開発した。これらの測定系を用いて、循環器疾患患者における EL の役割を検討したところ、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示唆された。以上より、血清 EL 蛋白濃度測定法および EL 特異的活性測定法は原発性低あるいは高 HDL 血症の診断に有用であるとともに、さらなる EL の血清 HDL-C 濃度や冠動脈疾患への作用を明らかにするのに寄与することが期待される。

**研究目的**

血清中の高比重リポ蛋白コレステロール(High-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)は冠動脈疾患の負の危険因子であり、HDL 増加療法が開発されれば動脈硬化性疾患の新規予防・治療法になりうるものと期待されている。しかし、HDL 産生・代謝は複雑で非常に多くの分子が関与しているため、HDL 増加療法の適切な分子標的は未だに確立しておらず、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、血管内皮細胞や肝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[1-4]。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 の分解代謝を促進して

いる。したがって、EL は血清 HDL-C 濃度の制御因子のひとつである[5,6]。

本研究では、ヒトにおける EL の蛋白濃度と活性の測定系を開発し、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ものである。

**研究方法**

本研究は、神戸大学大学院医学研究科に

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。

神戸大学医学部附属病院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) 新規の抗ELモノクロナル抗体の作成

EL-c-myc/pHBAP-3-neo plasmid をCHO細胞に発現させ、定常発現株(hEL-myc/CHO 53A5)を確立した。hEL-myc/CHO 53A5の培養上清よりELモノクロナル抗体(2-12E)を用いたイムノアフィニティーカラムによりEL蛋白を精製した。これをBALB/cマウスに免疫し、ヒトELに対するモノクロナル抗体を作製した[7]。

#### 2) 血清EL蛋白濃度の測定系の開発

抗EL抗体(26A1および48A1)を用いたSandwich ELISA(免疫生物研究所, 藤沢, 群馬)を用いて血清EL蛋白濃度を測定した[7]。定量化に必要なEL標準蛋白は、hEL-myc/CHO 53A5の培養上清を、抗EL抗体(5-3Bおよび2-12E)を用いたアフィニティーカラムにより精製して用いた[7]。

#### 3) 血清EL活性の測定系の開発

血清中にはEL以外にもリン脂質分解活性を持った多くのリパーゼ分子が存在するため、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48A1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, Carlsbad, CA, USA)を用いて、リン脂質分解活性として測定した[8]。

#### 4) 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75gOGTT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。

#### 5) 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) 新規の抗ELモノクロナル抗体の確立

ヒトELに対する新規のモノクロナル抗体(アミノ末端を認識するクローン26A1およびカルボキシ末端を認識するクローン48A1)を確立した。

### 2) 血清EL蛋白濃度の測定

抗EL抗体26A1および48A1を用いてSandwich ELISA(免疫生物研究所, 藤沢, 群馬)を確立した。

### 3) 血清EL蛋白濃度の測定

抗EL抗体(26A1および48A1)を用いたSandwich ELISA(免疫生物研究所, 藤沢, 群馬)を確立し、血清EL蛋白濃度を測定した[7]。定量化に必要なEL標準蛋白は、hEL-myc/CHO 53A5の培養上清を、抗EL抗体(5-3Bおよび2-12E)を用いたアフィニティーカラムにより精製した。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 $320 \pm 9.0$  ( $32.3 \sim 1193.7$ ) pg/mLで、正規分布せず分布曲線は左方へ変位していた。また、ヘパリン投与前後でELの蛋白量に変化はなかった。ELは血管内皮細胞から分泌された後、血管内腔側にヘパラン硫酸プロテオグリカンを通じて係留していると推察されてきたが、ELとプロテオグリカンの相互作用やヘパリンによる遊離の有無については、再検討が必要であると考えられた。

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。また、ヘパリン投与前後でEL活性に変化はなかった。

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 1 週間を過ぎても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 値も増加し HDL-C 値は低下した。一方、75gOGTT による検討では、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

本研究の結果、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[7]、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[8]、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。

一卵性双生児における臨床研究から、血清 HDL-C 濃度を制御する因子として、遺伝的要因が 50%、環境的要因が 50%程度と報告されている。本研究において、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-1 等の HDL 関連蛋白の影響が大きいものと考えられる。しかし、EL は様々な炎症性刺激でその発現が誘導される特徴を持つ[9]。実際に、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、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。

近年、HDL の抗炎症作用が減弱あるいは欠落した dysfunctional HDL の存在が注目されている。それでは、EL を阻害・抑制して上昇する HDL は、いわゆる「善玉」しての機能を有しているのであろうか。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[6,10]。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が増加させ、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、機能的 HDL を増加させることを示唆するものである。したがって、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であり[11]、今後の発展が期待されることである。



## 結論

冠動脈疾患患者で血中 EL 濃度・活性は、HDL-C 濃度の規定因子であった。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。今後、EL 蛋白濃度や活性が心血管イベントの予測因子であるか前向き臨床研究によって評価することが望まれる。

## 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.
- 4) Sun L, Ishida T, Okada T, Yasuda T, Hara T, Toh R, Shinohara M, Yamashita T, Rikitake Y, Hirata K. Expression of endothelial lipase correlates with the size of neointima in a murine model of vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb*. 2012; 19: 1110-27.
- 5) Ishida T, Miyashita K, Shimizu M, Kinoshita N, Mori K, Sun L, Yasuda T, Imamura S, Nakajima K, Stanhope KL, Havel PJ, Hirata K. ELISA system for human Endothelial lipase. *Clin Chem*. 2012; 58: 1656-64.
- 6) 石田達郎. 血管内皮リパーゼの血中濃度

と活性が血清HDL-Cと冠動脈硬化に及ぼす影響の検討. 循環医学研究年報 第4集. 2012;4:4-5.

- 7) 石田達郎、平田健一. 血管内皮リパーゼの炎症と血清 HDL 代謝における役割. *The Lipid*.2013;10:41-50.

### 2. 学会発表

- 1) Ishida T, Hirata K. Role of endothelial lipase in high-density lipoprotein 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 (WINPTTECH) 2013.
- 4) Ishida T, Mori K, Yasuda T, Hirata K, Miyashita K, Kinoshita N, Nakajima K, Stanhope K, Havel PJ. Postprandial Increases of Circulating Mass of Endothelial Lipase Impact Plasma High-Density Lipoprotein-Cholesterol Concentrations. American Heart Association Scientific Sessions 2012, Los Angeles, USA.
- 5) Ishida T, Miyashita K, Kinoshita N, Seito S, Hirata K, Nakajima K. Establishment of a novel, high-sensitive ELISA system for human endothelial lipase. International Symposium on Atherosclerosis HDL Satellite symposium 2012.
- 6) Ishida T, Toh R, Sun L, Yasuda T, Hirata K. Role of endothelial lipase in HDL metabolism and atherosclerosis in humans. 79th European Atherosclerosis Society Congress (Gothenburg, Sweden, 2011)
- 7) Ishida T, Mori K, Sun L, Yasuda T, Hirata K. Plasma mass and activity of endothelial lipase are associated

- with coronary risk factors in humans. The XVI International Symposium on Atherosclerosis (ISA2012) 2012.3.27 Sydney, Australia.
- 8) Ishida T, Miyashita K, Kinoshita N, Seito S, Hirata K, Nakajima K. Establishment of a novel, high-sensitive elisa system for human endothelial lipase. HDL Satellite symposium 2012. Cairns, Australia.
- 9) 宮下かずや、石田達郎、安田知行、孫麗、木下憲明、中嶋克行、平田健一 Generation of a high-sensitive and reliable ELISA system that can quantitatively measure human serum mass of endothelial lipase. 第44回日本動脈硬化学会総会 (2012.7) 福岡
- 10) 佐々木真希、安田知行、石田達郎、門口倫子、近藤健介、森健太、破磯川実、中島英人、原口英子、平田健一。 Pitavastatin increases "functional" high-density lipoprotein cholesterol in dyslipidemic patients. 第44回日本動脈硬化学会総会 (2012.7) 福岡
- 11) 孫麗、石田達郎、森健太、安田知行、中島英人、破磯川実、原口英子、佐々木真希、近藤健介、平田健一。 血管内皮リパーゼ特異的酵素活性と血清HDLコレステロールおよび冠動脈疾患との関連性の検討。 第12回日本NO学会総会 (2012,6) 福岡

**知的財産権の出願・登録状況**  
無し。

**参考文献**

- [1] Hirata K, Dichek HL, Cioffi JA, et al: Cloning of a unique lipase from endothelial cells extends the lipase gene family. *J Biol Chem.* 1999;274:14170-5.
- [2] Jaye M, Lynch KJ, Krawiec J, et al: A novel endothelial-derived lipase that modulates HDL metabolism. *Nat Genet.* 1999;21:424-8.
- [3] Yasuda T, Ishida T, Rader DJ. Update on the role of endothelial lipase in HDL metabolism, reverse cholesterol transport, and atherosclerosis. *Circ J.* 2010;74:2263-70.
- [4] Choi SY, Hirata K, Ishida T, et al. Endothelial lipase: a new lipase on the block. *J Lipid Res.* 2002;43:1763-9
- [5] Ishida T, Choi S, Kundu RK, et al. Endothelial lipase is a major determinant of HDL level. *J Clin Invest.* 2003;111:347-55.
- [6] Kojima Y, Ishida T, Sun L, et al. Pitavastatin decreases the expression of endothelial lipase both in vitro and in vivo. *Cardiovasc Res.* 2010;15:87:385-93
- [7] Ishida T, Miyashita K, Shimizu M, et al: Enzyme-linked immunosorbent assay system for human endothelial lipase. *Clin Chem.* 2012 ;58:1656-64.
- [8] Sun L, Ishida T, Miyashita K, et al: Plasma activity of endothelial lipase impacts high-density lipoprotein metabolism and coronary risk factors in humans. *J Atheroscler Thromb.* In press.
- [9] Hirata K, Ishida T, Matsushita H, et al: Regulated expression of endothelial cell-derived lipase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;272:90-3.
- [10] Sasaki-Miyamoto M, Yasuda T, Monguchi T, et al. Pitavastatin increases HDL particles functionally-preserved with cholesterol efflux capacity and anti-oxidative action in dyslipidemia patients. *J Atheroscler Thromb.* 2013;20:708-16.
- [11] Hara T, Ishida T, Kojima Y, et al: Targeted deletion of endothelial lipase increases HDL particles with anti-inflammatory properties both in vitro and in vivo. *J Lipid Res.* 2011;52:57-67.

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患等克服研究事業)

(総合)研究報告書

型および 型高脂血症に関する遺伝学的および疫学的検討

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

研究要旨 まず、ヒトの血清脂質値および脂質異常症を対象としたゲノムワイド関連解析(GWAS)に関する情報を収集・整理し、日本人を含む東アジア人に特有な遺伝子座・SNPが未同定であることを確認した。次いで、本邦における 型と 型高脂血症の調査研究を目的とした基礎検討を行い、それらの診断には便宜的に空腹時血清トリグリセライド(TG) 1000mg/dlを用いることが実用的であるが、定義によりとくに 型の対象者数が大きく変動するため調査目的に合った診断基準の設定が重要となることを示した。最後に、アポ蛋白 C- 低下症を伴う日本人 型高脂血症患者の遺伝子解析を行い、アポ蛋白 C- レベルに trans に働く別個の遺伝子の存在を示唆した。

#### A. 研究目的

高カイロミクロン血症を主徴とする 型と 型高脂血症を中心として、遺伝学的および疫学的アプローチを用いてその病態・成因を探ることを目的とする。具体的には、まず、血清脂質値・脂質異常症を対象としたゲノムワイド関連解析(GWAS)に関する情報を収集・整理し、また本邦における実態調査を行う前段階として日本人患者データの整理・検討を行う。さらに、 型高脂血症を呈するアポ蛋白 C- 低下症例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- 低下症患者の遺伝子解析を行う。

#### B. 研究方法

ヒト血清脂質値および脂質異常症を対象とする GWAS に関する情報を、内外の文献お

よび学会抄録データベースを検索することにより収集し考察を加えた。次いで自験例を含む日本人の 型と 型高脂血症患者に関する報告文献を整理し、それらの特徴や頻度に関する考察を加えた。アポ蛋白 C- 低下症の発端者は 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- 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

2007年以來、主に欧米人を対象とした血清脂質値に関する GWAS の結果が次々と報告され、2010年には2つの大きなメタ解析の結果が報告されている。とくに、Global Lipids Genetics Consortium (GLGC)による報告(Nature 2010;466:707-713)は全ゲノムに及ぶ約260万個の SNP を解析し合計46の GWAS の結果をまとめた過去最大規模のメタ解析であり、10万名以上の対象者にはアジア系人種も含まれている。この報告では、血清脂質濃度とゲノムワイドレベルで有意な相関を示す95の遺伝子座のリストが示され、その後幾つか新規な遺伝子座が追加報告されたが replication study で確認されたものはなく、この GLGC による報告をベースとして研究が進められている。日本人や東アジア人を対象とし脂質値を1次的あるいは副次的エンドポイントとして行われた GWAS の報告は極めて限られており、これらの人種に特異的な脂質関連遺伝子座の存在は確認されていない。

原発性Ⅰ型高脂血症の多くはリポ蛋白リパーゼ(LPL)-アポ蛋白 C 系に関わる各遺伝子(LPL、APOC2、GPIHBP1、LMF1、APOA5等)の劣性変異に起因する極めて稀な病態であり、本邦でも40家系あまりの報告があるに過ぎない。一方、LPL はインスリン依存性の酵素であるため未治療の1型糖尿病患者などでみられる diabetic lipemia は二次性に生ずるⅡ型高脂血症の代表的な病態である。診断は空腹時の血中カイロミクロン単独の増加を基本とし、通常ヘパリン静

注後血漿中の LPL 活性の著しい低下を認める。多くの場合、空腹時血清 TG 2000mg/dl であり、自験例ではいずれも TC/TG 比 $<0.15$  であり、これが一つの目安となるものと考えられた。カイロミクロンに加え VLDL も増加を示すⅢ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。Ⅲ型はこれらと糖尿病や飲酒を中心とした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ものと考えられるが、Ⅲ型に高頻度にみられる遺伝子変異・多型は APOA5 を除きほとんど知られていない。空腹時血清 TG 1000mg/dl にて血中にカイロミクロンが存在する可能性が高まるため、便宜上、この閾値をもって診断される場合が多いが、Ⅲ型などの他の高 TG 血症とのオーバーラップも大きく、また TC/TG 比を用いてもⅢ型と判別できない場合が多いことは注意を要する。

最後に、アポ蛋白 C-Ⅱ低下症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

GWASにより血清脂質値に関連する100あまりの遺伝子座が報告されているが、日本人を含む東アジア人に特有な遺伝子座は報告されていない。一方で、集団中の upper extreme を対象とした in depth resequencingにより rare variant を探る試みも多く行われており、原発性高脂血症を対象とした同様な試みにより今後新たな原因遺伝子変異の同定が期待される。

Ⅰ型とⅤ型高脂血症を「空腹時のカイロミクロン血症を主徴とする病態」と定義すれば、超遠心法や電気泳動法によるリポ蛋白分画の分別や、24時間4℃による血清静置試験を通じたカイロミクロンの存在証明が診断の基本であるが、上記のような背景から血清TG 1000mg/dlにてスクリーニングされる場合が多い。1986年の原発性高脂血症調査研究班による全国調査では、TG 1000mg/dlの原発性高カイロミクロン血症の推計有病者数は10万人当たり317人と推計されている。診断には血清TG値のみでなく、急性膵炎、発疹性黄色腫、網膜脂血症などの高カイロミクロン血症に随伴する臨床症状も用いる考え方もあり、基準によりとくにⅠ型の対象者数が大きく変動するため、調査目的に合った診断基準の設定が重要となるものと思われる。

アポ蛋白C-Ⅲ低下症の原因として、既報にあるようなアポ蛋白C-Ⅲ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-Ⅲ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

GWASの結果から示唆される遺伝子座の広範な resequencingにより、Ⅰ型とⅤ型高脂血症を含む原発性高脂血症の成因解明が進むことが期待される一方、日本人におけるこれらの高脂血症に関する疫学調査研究を行う上で、スクリーニング基準の検討が重要であると思われた。アポ蛋白C-Ⅲ低下症例の遺伝子解析を通じて、アポ蛋白C-Ⅲ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

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. Diagnosis and management of type I and type V hyperlipoproteinemia. *J Atheroscler Thromb* 19:1-12, 2012.

後藤田貴也 GWAS とリポ蛋白受容体. *The Lipid* 23:424-432, 2012.

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

山本隆史, 代田翠, 喬荊, 飯塚陽子, 藤田敏郎, 後藤田貴也: SHR の遺伝解析により同定された内臓脂肪蓄積関連遺伝子 SLC22A 18 と脂肪蓄積メカニズム. 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会(2011 年)

後藤田貴也 遺伝子変異の網羅的解析と TG 代謝異常. 第 41 回日本動脈硬化学会総会・学術集会(2012 年)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

(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)

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

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

分担研究者 斯波真理子（国立循環器病センター研究所・部長）

研究要旨

家族性高コレステロール血症(FH)ヘテロ接合体は、高LDL-C血症、黄色腫、若年性動脈硬化症による冠動脈疾患が特徴的である。我々は、研究1年目にはFHヘテロ接合体のリスクを評価するために、LDL-C値、アキレス腱厚さの因子のリスクへの寄与を検討した。研究2年目には、FHホモ接合体特定疾患認定患者の実態調査を行い、研究3年目にはFHホモ接合体のLDLアフェレシス治療中に除去されるタンパク質についての研究を行った。3年間の研究により、FHヘテロ接合体の新しいリスク評価法ができたこと、FHホモ接合体の全国調査ができ、その病態を明らかにすることができたこと、LDLアフェレシス治療の効果と副作用について分子レベルで検討することができ、大きな成果をあげることができた。

**A. 研究目的**

家族性高コレステロール血症(Familial hypercholesterolemia; FH)は、LDL受容体経路に関わる遺伝子による遺伝病であり、常染色体性優性遺伝形式をとる。高LDL血症、皮膚および腱黄色腫、若年性動脈硬化症による冠動脈疾患(CAD)を主徴とする。我々は、FHヘテロ接合体およびホモ接合体の病態を明らかにするために、研究1年目にはFHヘテロ接合体における冠動脈疾患発症のリスクを、未治療時のLDL-C値、アキレス腱厚さを3分位にてロジスティック解析を行い、オッズ比を求めることにより、高LDL-C値、アキレス腱厚さのリスクを計算した。研究2年目には、FHホモ接合体

の実態を調査するため、特定疾患に認定されている130例についての解析を行った。研究3年目には、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、興味ある知見を得た。

**B. 研究方法**

**1. FHヘテロ接合体のリスク評価**

国立循環器病研究センター糖尿病・代謝内科外来にてフォローされ、臨床的にFHヘテロ接合体と診断された症例329例（男性139例、女性190例）を対象とした。初診時にCADスクリーニングをとしてトレッドミルを行い、陽性例に対してはCAGを行い、冠動脈に75%以上の狭窄

を有する例およびCAD既往を有する例は除外した。さらに、未治療時のTC値、HDL-C値、TG値、ATT値のいずれかのデータが存在市内例およびTG値が300 mg/dL以上の例は除外し、最終的に109例の解析を行った。初診時より、食事療法や薬物療法は、当センターのFH診療プロトコールに従って行った。

LDL-C値について、3分位に分け、(1)LDL-C<206、(2)206<LDL-C<260、(3)260mg/dL LDL-Cとした。ATT値についても3分位に分け、(1)ATT<9.0、(2)9.0<ATT<14.5、(3)14.5<ATTとした。

初診時からCAD発症時あるいは2010年12月までの間に、冠動脈疾患を引き起こした例は21例であり、その群をCAD(+)、引き起こさなかった群をCAD(-)とし、ロジスティック解析によりオッズ比を求めた。連続変数についてはANOVAを用いて解析し、カテゴリーデータについては<sup>2</sup>検定を行った。解析は、SPSSバージョン17.0を用いた。

## 2. FH ホモ接合体特定疾患認定患者の実態調査

対象患者：家族性高コレステロール血症ホモ接合体で、特定疾患に認定されている患者約120名

方法：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、連結不可能匿名化した状態で受け取り、以下の項目について解析してFHホモ接合体の病態と治療の実態を把握する。

観察項目：性別、満年齢、初診年月日、生活状況（社会活動）、家族歴、最近6ヶ月の受診状況（入院、通院）、黄色腫（皮膚黄色腫の有無、発症年齢、腱黄色腫の

有無、発症年齢、アキレス腱厚さ）、弁疾患（有無、弁の種類、手術の有無）、冠動脈疾患（有無、罹患枝数、PCI・CABGの有無）、大動脈瘤（有無、部位、手術の有無）、閉塞性動脈硬化症（有無、Fontaine分類）、頸動脈硬化症（有無、平均IMT）、未治療時脂質データ（総コレステロール、LDLコレステロール、HDLコレステロール、トリグリセリド、LDL受容体活性）、薬物治療時脂質データ（総コレステロール、LDLコレステロール、HDLコレステロール、トリグリセリド、LDL受容体活性）、LDLアフェレシス治療前後の脂質データ（総コレステロール、LDLコレステロール、HDLコレステロール、トリグリセリド、LDL受容体活性）、遺伝子検査（LDL受容体、ARH、PCSK9、その他）、鑑別診断、服用薬剤の種類と用量、治療効果の有無

## 3. LDL 吸着法により除去されるタンパクの網羅的解析

国立循環器病研究センター透析室にて定期的にLDLアフェレシス治療を行っているFHホモ接合体1例、FHヘテロ接合体3例。患者背景は、表1に示す。LDLアフェレシスは、MA-03(Kaneka, Osaka)を用い、血漿分離後、LDL吸着カラム(Kaneka, Osaka)を用いた

臨床検査データ

血液はLDLアフェレシス治療の前後に脱血ラインから採取し、脂質、リポ蛋白分画等を測定した。VitronectinはELISAにて測定した。

プロテオーム解析

サンプリングとサンプルの前処置

LDLアフェレシスの排液を3種類採取した。すなわち、LDL吸着カラムを0.86M NaCl



にて溶出した液を Sample 1、Sample 1 を超遠心にてリポ蛋白分画を除去したものを Sample 2、LDL 吸着カラムを 2M NaCl にて溶出した液を Sample 3 とした。

Sample 1-3 を 0.3 mM EDTA, 0.15M NaCl 液に対して透析した。Albumin and IgG removal kit(GE Healthcare, UK)を用いてアルブミンとイムノグロブリンを除去した。

#### 等電点電気泳動

前処置されたサンプルを 1 mg/450  $\mu$ L に調整して、Immobiline Dry Strip (pH 3-10, 24 cm)を用いて 20、12 時間の passive hydration を行った後、500 V を 1 時間、1000 V を 1 時間、8000 V を 8.2 時間、500 V を 1 時間かけて等電点電気泳動を行った。

#### SDS-PAGE

等電点電気泳動の後、Strip を 6 M urea、30% glycerol、2% SDS、50 mM Tris-HCl (pH 8.8)、0.1% (w/v) DTT 中で 15 分間平衡させ、さらに DTT を 0.25%(W/V) iodoacetamide に変更した上記液に 15 分間平衡させた。12.5% SDS-PAGE を 4-6 W、18 時間行った。

#### 染色と脱色

電気泳動後、ゲルを 40% methanol、10% acetate 溶液に 30 分間浸して固定させ、さらに 0.2% Coomassie Brilliant Blue を加えた上記溶液に 30 分間浸して染色を行った。ゲルは 20% methanol、5% acetate 溶液に浸して脱色して、タンパク質のスポットを得た。

#### トリプシンによるゲル内消化

それぞれのスポットをゲルから切り出し、50% acetonitrile、25 mM ammonium hydrogen carbonate に浸した。ゲルの切

片を乾燥させた後、100 g/mL のトリプシン、7% ACN、1% octyl-beta-glucoside 含有 100 mM ammonium bicarbonate 15  $\mu$ L を加え、氷上で 45 分間静置した後、37 で一晩震盪させた。ゲルに 50% ACN、1% TFA の抽出液を加え、30 分静置した。遠心後、抽出液を SpeenVac を用いて 5-10  $\mu$ L に濃縮した。

#### C-tip による脱塩と濃縮

濃縮された抽出液を C-tip にのせ、0.1% TFA、10% ACN にて洗浄した後、0.1% TFA、60% ACN により溶出させた。

#### Mass spectrometry (MS)による解析

C-tip より溶出された溶液をサンプルプレート

ートにスポットし、マトリックス(0.175% alpha-cyano-4-hydroxycinnamic acid, 50% ACN, 0.1% TFA)と混ぜて風乾した。

それぞれのスポットを MS、tandem mass spectrometric (MS/MS)により解析した。

リポタンパク分画と bottom 分画との分離

ApoC の除去メカニズムを解析するため、リポタンパクと bottom 分画とを超遠心法にて分離した ( $d < 1.006$ : very low-density lipoprotein (VLDL),  $1.006 < d < 1.019$ : intermediate-density lipoprotein (IDL),  $1.019 < d < 1.063$ : LDL,  $1.063 < d < 1.210$ : high-density lipoprotein (HDL),  $1.210 < d$ : bottom)。

## C. 研究結果

### 1. FH ヘテロ接合体のリスク評価

CAD を有する群 (CAD+) と有さない群 (CAD-) の特徴を表 1 に示す。CAD(+) 群は CAD(-) 群に比べて高齢で、ATT 値が高値、角膜輪を有する例が多く、未治療時の TC

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った。

LDL-C 値により 3 分位に分け、それぞれの群の特徴を表 2 に示す。総コレステロール値、CAD の頻度のみに、有意差を生じた。

さらに、それぞれの群の CAD リスクのオッズ比を表 3 に示す。年齢、性別、高血圧、糖尿病、喫煙、CAD の家族歴、低 HDL-C 値(HDL-C < 40 mg/dL)を交絡因子として調整したところ、LDL-C 値が 260 mg/dL 以上の群で、オッズ比が 8.29 となった。

次に、ATT 値により 3 分位を行った。それぞれの群の特徴を表 4 に示す。LDL-C 値、喫煙、CAD 罹患頻度と ATT 値は関連を認めた。年齢、性別、高血圧、糖尿病、喫煙、CAD の家族歴、低 HDL-C 値(HDL-C < 40 mg/dL)を交絡因子として調整したところ ATT が 14.5 mm 以上の群はオッズ比が 7.82 であった。

LDL-C 値が 260 未満、ATT 値が 14.5 未満の群に比し、LDL-C 値が 260 以上あるいは ATT 値が 14.5 以上の群は、24 倍もの CAD リスクを有することが示された。また、LDL-C 値が 260 以上かつ ATT が 14.5 以上である群においても、CAD リスクは対照群の 20 倍以上であることが示された。

## 2. FH ホモ接合体特定疾患認定患者の実態調査

患者背景：総数 130 人（男性 65 人、女性 65 人）年齢 51 ± 15 歳

患者の臨床特性：

皮膚黄色腫：あり 82 人、なし 44 人  
最初に自覚または指摘された年齢

16.3 ± 13.5 歳

腱黄色腫：あり 96 人、なし 27 人

最初に自覚または指摘された年齢

19.0 ± 13.3 歳

初診時アキレス腱厚：21.9 ± 9.1 mm

動脈硬化症関連疾患：

弁疾患：あり 40 人、なし 79 人

冠動脈疾患：あり 79 人、なし 42 人

冠動脈疾患罹患枝数：2.5 ± 0.7 枝

PCI：47 人、CABG：30 人

大動脈瘤：あり 11 人、なし 108 人

腹部、胸部、総腸骨など

頸動脈硬化：

あり 65 人、なし 50 人

未治療時データ：

総コレステロール 504 ± 140 mg/dL

LDL コレステロール 450 ± 262 mg/dL

HDL コレステロール 47 ± 17 mg/dL

トリグリセリド 165 ± 96 mg/dL

薬物治療時データ：

総コレステロール 321 ± 103 mg/dL

LDL コレステロール 222 ± 100 mg/dL

HDL コレステロール 52 ± 45 mg/dL

トリグリセリド 139 ± 81 mg/dL

LDL アフェレシス治療時データ：

総コレステロール

治療前 291 ± 121 mg/dL

治療後 94 ± 34 mg/dL

LDL コレステロール

治療前 212 ± 108 mg/dL

治療後 52 ± 30 mg/dL

HDL コレステロール

治療前 43 ± 16 mg/dL

治療後 34 ± 13 mg/dL  
 トリグリセリド  
 治療前 137 ± 110 mg/dL  
 治療後 47 ± 50 mg/dL

服用薬剤の種類、服用人数、平均容量：

薬剤名	服用人数	平均用量
スタチン	115人	
ロスバスタチン	54人	13.8 ± 5.7 mg
アトルバスタチン	43	27.6 ± 11.3
ピタバスタチン	8	4.0 ± 0
プラバスタチン	6	23.3 ± 18.6
シンバスタチン	2	15.0
フルバスタチン	2	40.0

その他の脂質低下薬

エゼチミブ	70人
プロブコール	37人
レジン	27人
フェノフィブラート	2人
ベザフィブラート	1人
イコサペント酸エチル	12人

抗凝固剤・抗血小板剤など

アスピリン	45人
チクロピジン	11人
ワルファリン	9人
クロピドグレル	8人
シロスタゾール	8人
サルポグレラート	3人
ジラゼプ	1人

### 3. LDL 吸着法により除去されるタンパクの網羅的解析

血清総コレステロールは71.4%、TGは81.8%、LDL-Cは81.9%の低下を認めた。一方、HDL-Cは変化を認めなかった。

FHホモ接合体患者の排液のSample 1-3を二次元電気泳動した写真を図1A-Cに示し、FHヘテロ接合体患者の排液のSample 1-3の二次元電気泳動写真を図1D-Fに示す。排液そのものであるSample 1より得た1Aでは110個、1Dでは127個のスポット、Sample 1より超遠心分画でリポタンパクを除去したSample 2より得た1Bでは120個、1Eでは145個のスポット、使用済みのカラムにより2M NaClにより溶出されたSample 3より得た1Cでは30個、1Fでは25個のスポットが得られた。Sample 1のスポットより48個、Sample 2より34個、Sample 3より10個のタンパク質が同定された。重複を除くと全部で48個のタンパク質が同定された。

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、ハプトグロビンなどの凝固因子、 $\alpha_2$ 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、ApoC、 $\alpha_1$ acid glycoproteinなどの炎症性関連因子、vitronectinなどのadhesion moleculeなど、多くの種類のものが同定された。

### D. 考察

FHヘテロ接合体は生下時より暴露される高LDL-C血症により、若年齢で動脈硬化が進行し、CADを高頻度に有する。FHにおいては、CADリスクが高く、コレステロール低下療法を行う必要がある。しかしながら、FHの中でも20歳台にCADを引き起こす重症例から、70歳台でもCADを有しない例まであり、病態は均一ではない。FHの診療において、CADリスクを正確に把握し、超ハイリスクの症例を選択して、より若年齢より、より積極的に

脂質低下治療を行う必要がある。FH のリスク因子としては、加齢、高 BMI 値、高 LDL-C、低 HDL-C 値、高 TG 値、高血圧、糖尿病、CAD の家族歴、喫煙の習慣、高 ATT 値などの報告がある。本研究の結果でも、これらのリスク因子が CAD 発症のリスクに関わっていることが示された。高 LDL-C 血症は、CAD のリスクであることは古くから知られているが、FH の中でも、極端に高 LDL-C 値を示す群では、極端に高い CAD リスクを有することが明らかとなり、FH の中でも超高リスク群を選び出す criteria を示すことができたことは、非常に有意義である。

アキレス腱肥厚は、FH に特徴的な臨床所見であり、高 LDL-C 値と年数との掛け算に比例すると言われている。アキレス腱の厚さ(ATT)は、組織へのコレステロールの沈着量を非侵襲的に測定できる指標であり、動脈硬化の進行とも相関すると言われている。今回、我々は、日本人の FH における LDL-C 値、ATT 値と CAD 罹患頻度との関係を明らかにすることができ、簡単で確実なハイリスク群の抽出に、LDL-C 値と ATT 値が有用であるということを示すことが出来た。

2 年目の研究では、特定疾患に認定されている FH ホモ接合体 130 例のデータについて、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 21.9mm 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 450mg/dL、薬物治療時は 222 mg/dL であり、薬物のみには、十分な効果が得られていないことも明らかになった。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  $212 \pm 108$ mg/dL、治療後は  $52 \pm 30$  mg/dL であり、LDL-C 値は積分平均すればまだかなり高値であり、動脈硬化予防の観点から見れば、治療が十分ではない可能性が示唆された。現在は、LDL アフェレシスは 1 週間に 1 回まで保険でカバーできるが、1 週間に複数回施行することはできない。この点をさらに検討する必要があると考えられる。服用薬物は、ストロングスタチンの高用量が用いられており、さらにエゼチミブやプロブコールなどが使用されている現状が明らかになった。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る。

LDL 吸着カラムは、フィブリノーゲン、アンチスロンピン、凝固因子、CRP、1-アンチトリプシンなどの多くのタンパク質と、Lp(a)、MDA-LDL、sd-LDL、ox-LDL などのリポタンパクが除去されることは、既に報告されている。一方、二重膜濾過法(DFPP)では、フィブリノーゲン、Lp(a)、C3、C4、 $\alpha_2$  マクログロブリン、イムノグロブリンなどが除去されることが報告されている。ApoB 含有リポタンパクの除去機構は、DFPP では分子量によるものであるが、LDL 吸着法では陰性の荷電への静電的結合である。従って、DFPP においては、タンパク質は VLDL や LDL に結合して除去されると考えられる。一方、LDL 吸着法では次の 3 つのメカニズムによると考えられる。1. VLDL や LDL に結合して

除去されるシステム、2.タンパク質の分子内の陽性荷電が陰性荷電のリガンドに結合する、3.非特異的結合、である。

フィブリノーゲンやアンチスロンビン、フィブロネクチン、1- $\alpha$ - $\beta$ -グリコプロテインなどのヘパリン結合ドメインを持つタンパク質は、陽性荷電を持つために、静電結合にて除去されると考えられる。一方、アポタンパク類は、リポタンパクに結合して除去されると考えられる。

本研究の結果、以前には除去されると報告されていないApoC や vitronectin などのタンパク質も同定された。これらは、動脈硬化症の発症や進展に重要な役割を果たすと考えられている。

vitronectin はヘパリン結合タンパクであり、分子内の陽性荷電により静電結合にて除去されると考えられる。一方、ApoC

はVLDLなどのリポタンパクに結合しており、リポタンパクと共に除去されると考えられる。

## E. 結論

FH ヘテロ接合体の中でも、CAD リスクが極端に高い群の抽出に成功した。本邦におけるFHホモ接合体の実態を初めて調査することができた。

## F. 健康危険情報

本研究では現在のところ健康に危険を及ぼす可能性はない。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

(欧文)

- 1) Tsuji M, Taguchi A, Ohshima M, Kasahara Y, Sato Y, Tsuda H, Otani K, Yamahara K, Ihara M,

Harada-Shiba M, Ikeda T, Matsuyama T: Effects of intravenous administration of umbilical cord blood CD34<sup>+</sup> cells in a mouse model of neonatal stroke, *NeuroScience, in press*

- 2) Yamamoto T, Obika S, Nakatani M, Yasuhara H, Wada F, Shibata E, Shibata MA, Harada-Shiba M: Locked nucleic acid antisense inhibitor targeting apolipoprotein C-III efficiently and preferentially removed triglyceride from large VLDL particles from murine plasma, *European Journal of Pharmacology, in press*
- 3) Teramoto T, Sasaki J, Harada-Shiba M, Arai H, Ishibashi S, Birou S, Bujō H, Daida H, Dohi S, Egusa G, Hiro T, Hirobe K, Iida M, Kihara S, Kinoshita M, Maruyama C, Nohara A, Ohta T, Oikawa S, Okada T, Okamura T, Watatsuki A, Yamashita S, Yokode M, Yokote K: Familial hypercholesterolemia, Executive summary of the Japan Atherosclerosis Society(JAS) Guidelines for diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases in Japan-2012 version, *J Atheroscler Thromb, in press*
- 4) Nagasaki Y, Yamazaki T, Kikuchi A, Harada-Shiba M: Elevated atherogenic index following oral administration of quaternized polyamine nanogels, *Colloids and Surfaces, in press*

- 5) 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 of Japanese has markedly increased over the past twenty years, *J Atheroscler Thromb, in press*
- 6) Yuasa Y, Osaki T, Makino H, Iwamoto N, Kishimoto I, Usami M, Harada-Shiba M: Proteomic analysis of proteins eliminated by LDL-apheresis, *Ther Apher Dial, 18(1): 93-102, 2014.*
- 7) Shibata MA, Shibata E, Morimoto J, Harada-Shiba M: Therapy with siRNA for Vegf-c but Not for Vegf-d Suppresses Wide-spectrum Organ Metastasis in an Immunocompetent Xenograft Model of Metastatic Mammary Cancer, *Anticancer Research, 33: 4237-4248, 2013.*
- 8) Kobayashi K, Nagata E, Sasaki K, Harada-Shiba M, Kojo S, Kikuzaki H: Increase in Secretory Sphingomyelinase Activity and Specific Ceramides in the Aorta of Apolipoprotein E Knockout Mice during Aging, *Biol. Pharm. Bull, 36(7): 1192-1196, 2013.*
- 9) Makino H, Harada-Shiba M: New aspects of statin therapy, *IEMAMC, 13: 97-106, 2013.*
- 10) Terasaki F, Morita H, Harada-Shiba M, Ohta N, Otsuka K, Nogi S, Miyamura M, Suzuki S, Ito T, Shimomura H, Katsumata T, Miyamoto Y, Ishizaka N: Familial Hypercholesterolemia with Multiple Large Tendinous Xanthomas and Advanced coronary Artery Atherosclerosis: *Intern Med, 52: 577-581, 2013.*
- 11) Kang JH, Tachibana Y, Obika S, Harada-Shiba M, Yamaoka T: Efficient reduction of serum cholesterol by combining a liver-targeted gene delivery system with chemically modified apolipoprotein B siRNA: *J Control Release, 163(2): 119-124, 2012.*
- 12) Yamamoto T, Yasuhara H, Wada F, Harada-Shiba M, Imanishi T, Obika S: Superior silencing by 2',4'-BNA<sup>NC</sup>-based short antisense oligonucleotides compared to 2',4'-BNA/LNA-based apolipoprotein B antisense inhibitors: *J Nucleic Acids, 707323, 2012.*
- 13) 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, 19(12): 1043-1060, 2012.*
- 14) Harada-Shiba M, Arai H, Okamura T, Yokote K, Oikawa S, Nohara A, Okada T, Ohta T, Bujo H, Watanabe M, Wakatsuki A, Yamashita S: Multicenter study to determine the diagnosis criteria of heterozygous

- familial hypercholesterolemia in Japan: *J Atheroscler Thromb*, **19(11): 1019-1026, 2012.**
- 15) Wada S, Obika S, Shibata MA, Yamamoto T, Nakatani M, Yamaoka T, Torigoe H, Harada-Shiba M: Development of a 2',4'-BNA/LNA based siRNA for dyslipidemia and assessment of the effects of its chemical modifications *in vivo*: *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, **1, e45: 1-15, 2012.**
  - 16) Yamamoto T, Harada-Shiba M, Nakatani M, Wada S, Yasuhara H, Narukawa K, Sasaki K, Shibata MA, Torigoe H, Yamaoka T, Imanishi T, Obika S: Cholesterol-Lowering Action of BNA-based Antisense Oligonucleotides Targeting PCSK9 in Atherogenic Diet-Induced Hypercholesterolemic Mice: *Molecular Therapy- Nucleic Acid*, **1, e22: 1-11, 2012.**
  - 17) Uchida S, Itaka K, Chen Q, Osada K, Ishii T, Shibata MA, Harada-Shiba M, Kataoka K: PEGylated polyplex with optimized PEG shielding enhances gene introduction in lungs by minimizing inflammatory responses: *Mol Ther*, **20(6): 1196-1203, 2012.**
  - 18) Sugisawa T, Okamura T, Makino H, Watanabe M, Kishimoto I, Miyamoto Y, Iwamoto N, Yamamoto A, Yokoyama S, Harada-Shiba M: Defining patients at extremely high risk for coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. *J Atheroscler Thromb*, **19(4) : 369-375, 2012.**
  - 19) 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*, **19(3): 207-212, 2012.**
  - 20) 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: Diagnosis and management of type and type V hyperlipoproteinemia. *J Atheroscler Thromb*, **19: 1-12, 2012.**
  - 21) 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: Management of type IIb dyslipidemia. *J Atheroscler Thromb*, **19: 105-114, 2012.**
  - 22) Fujikura J, Nakao K, Sone M, Noguchi M, Mori E, Naito M, Taura D, Harada-Shiba M, Kishimoto I, Watanabe A, Asaka I, Hosoda K: Induced pluripotent stem cells generated from diabetic patients with mitochondrial DNA A3243G muta-

tion. *Diabetologia*, **55**: 1689-1698. 2012.

- 23) Uchida S, Itaka K, Chen Q, Osada K, Miyata K, Ishii T, Harada-Shiba M, Kataoka K: Combination of chondroitin sulfate and polyplex micelles from Poly(ethylene glycol)-poly{N'-[N-(2-aminoethyl)-2-aminoethyl]aspartamide} block copolymer for prolonged in vivo gene transfection with reduced toxicity: *J Control Release*, **155**(2): 296-302. 2011.10.

(和文) なし

## 2. 総説

(欧文)

- 1) Shibata M, Morimoto J, Shibata E, Harada-Shiba M, Fujioka S, Inhibition of Tumor Growth and Metastasis by a Combination of Anti-VEGF-C and Enhanced IL-12 Therapy in an Immunocompetent Mouse Mammary Cancer Model, *edited by Esra Gunduz and Mehmet Gunduz, Breast Cancer-Current and Alternative Therapeutic Modalities, In Tech*, 489-502, November 2011
- 2) Iwamoto N, Harada-Shiba M, Intratracheal Gene Transfer Using Polyplex Nanomicelles and Their Application to Cardiology, Nanomedicine and the Cardiovascular System, *editors Ross J. Hunter, Victor R. Preedy, Nanomedicine and the Cardiovascular System, Science Publishers*, 284-302, 2011

(和文)

- 1) 斯波真理子, 日常臨床に潜む家族性高コレステロール血症～ストロングスタチンの位置付け～, **岡崎医報 第332号**, 3, 2013.
- 2) 長谷川夕希子, 斯波真理子, 妊娠・出産・授乳を契機に内頸動脈内膜肥厚の著明な増悪をきたした家族性高コレステロール血症ホモ接合体の一例, **動脈硬化症例 Q&A News and Scope 2013 No.5**, 7-9, 2013.
- 3) 斯波真理子, 山本剛史, 小比賀聡, PCSK9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9)阻害による高 LDL コレステロール血症の治療, **内分泌・糖尿病・代謝内科 Vol.37, No.4**, 441-447, 2013.10
- 4) 斯波真理子, 今、動脈硬化はこう予防する 家族性高コレステロール血症, *Medio Vol.30 No.9*, 108-113, 2013.
- 5) 稲垣暢也, 西村理明, 綿田裕孝, 斯波真理子, 座談会 新規 DPP-4阻害薬アナグリプチンの総合力を探る!, *Medical Tribune Vol.46, No.26*, 16-17, 2013.
- 6) 横山信治, 斯波真理子, 家族性高コレステロール血症の治療, **医学のあゆみ 動脈硬化のすべて Vol.245 No.13**, 1353-1359, 2013.
- 7) 斯波真理子, 家族性高コレステロール血症:PCSK9, **医学のあゆみ 動脈硬化のすべて Vol.245 No.13**, 1343-1346, 2013.
- 8) 山本剛史, 小比賀聡, 斯波真理



- 子, PCSK9 阻害薬, **脂質異常症 - 基礎・臨床研究の最新知見 - 日本臨牀 71 巻 増刊号 3, 603-608, 2013.**
- 9) 斯波真理子: 常染色体劣性遺伝性高コレステロール血症, **脂質異常症 - 基礎・臨床研究の最新知見 - 日本臨牀 71 巻 増刊号 3, 207-210, 2013.**
  - 10) 斯波真理子, 山本剛史, 小比賀聡, PCSK9 遺伝子変異による高コレステロール血症 (ADH), **脂質異常症 - 基礎・臨床研究の最新知見 - 日本臨牀 71 巻 増刊号 3, 203-206, 2013.**
  - 11) 斯波真理子: 動脈硬化を意識した身体所見のとり方, *medicina Vol.50 No.6, 962-966, 2013.*
  - 12) 斯波真理子: 「コレステロールを下げなくても良い」は真か? - FH の知見をふまえて, **大阪府保険医協会研究会テキスト, 1-7, 2013.**
  - 13) 斯波真理子: 家族性高コレステロール血症の診断基準と治療, **動脈硬化予防 Vol.11 No.4, 38-43, 2013.**
  - 14) 斯波真理子: 高コレステロール血症の分子疫学と分子標的治療, *Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2013: 131-136, 2013.*
  - 15) 榎野久士, 斯波真理子: FH における LDL アフェレシス - 最近の知見 -, **日本アフェレシス学会雑誌 第32 巻1 号: 43-48, 2013.**
  - 16) 柴田雅朗, 森本純司, 柴田映子, 藤岡重和, 斯波真理子, 可溶性 VEGFR-3 と SATB1 siRNA のマウス乳癌に対する転移抑制作用の検討: 可溶性 VEGFR-3 デコイは乳癌転移を抑制する, **乳癌基礎研究 Vol.21: 17-22, 2012.**
  - 17) Shibata MA, Ambati J, Shibata E, Yoshidome K, Harada-Shiba M: Mammary cancer gene therapy targeting lymphangiogenesis: VEGF-C siRNA and soluble VEGF receptor-s, a splicing variant, *Med Mol Morphol, 45: 179-184, 2012.*
  - 18) 斯波真理子: 常染色体劣性遺伝性高コレステロール血症, **先天代謝異常症候群(第2 版)下: 42-46, 2012.12**
  - 19) 斯波真理子: 家族性高コレステロール血症, **先天代謝異常症候群(第2 版)下: 37-41, 2012.**
  - 20) 斯波真理子: 家族性高コレステロール血症とその実践的治療法, *Medical Practice 第29 巻12 号: 2131-2134, 2012.*
  - 21) 田中彩子, 岩本紀之, 榎野久士, 田中裕史, 松田均, 湊谷謙司, 斯波真理子: 濃厚な大動脈瘤の家族歴を有する家族性高コレステロール血症の 1 例, *Progress in Medicine Vol.32 No.8: 157-162(1743-1748), 2012.*
  - 22) 斯波真理子: 家族性高コレステロール血症患者の管理, **産科と婦人科 第79 巻 8 号: 1007-1012(69-74), 2012.8**
  - 23) 斯波真理子: 誰もが遭遇するヘテロ接合型 FH アキレス腱の触診を, *Medical Tribune circulation today*

2012 7: 7, 2012.

- 24) 柴田雅朗, Jayakrishna Ambati, 柴田映子, Romulo JC Albuquerque, 森本純司, 斯波真理子, 藤岡重和, 伊藤裕子, 大槻勝紀: スプライシング・バリエーションである可溶性 VEGF 受容体 2 型のマウス乳癌リンパ節転移に対する抑制効果, **リンパ学 第35 巻 第1 号**: 23-28, 2012.
- 25) 斯波真理子: 身近にいる家族性高脂血症, **日経メディカル 4 月号**: 34-35, 2012.4
- 26) 斯波真理子: 高 LDL コレステロール血症, **Current Therapy Vol.30 No.3**: 33-38, 2012.
- 27) 斯波真理子: LDL アフェレシスの適応の是非 - 日本と世界の違い -, **月刊循環器 Circulation 第2 巻 第3 号**: 92-99, 2012.
- 28) 岩本紀之, 斯波真理子: 脂質異常症に対するアフェレシス治療の現況, **臨床透析 第27 巻 第12 号**: 23-28 (1555-1560), 2011.
- 29) 斯波真理子: 脂質異常症の病態と治療 家族性高コレステロール血症, **臨床と研究 第88 巻 第10 号**: 45-49 (1263-1267), 2011.
- 30) 斯波真理子: 家族性高コレステロール血症の診断と治療, **日本医師会雑誌 第140 巻 第6 号**: 1247-1250, 2011.
- 31) 斯波真理子: 動脈硬化症例 Q&A 妊娠を合併した家族性高コレステロール血症ホモ接合体例, **News and Scope No.4**: 9-10, 2011.
- 32) 斯波真理子: 実地医家による診断を視野に家族性高コレステロール血症 G L 作成, **Medical Tribune Vol.44 No.35**: 27, 2011.
- 33) 斯波真理子: 家族性高コレステロール血症の治療指針と実態, **Medical Tribune circulation today 2011 8**: 62, 2011.
- 34) 斯波真理子: 家族性高コレステロール血症をどのように診るか?, **Heart View Vol.15 No.9**: 32-37, 2011.
- 35) 斯波真理子: 家族性高コレステロール血症をどう扱うか, **medicina Vol.48 No.5**: 837-841, 2011.
- 36) 斯波真理子: 原発性高脂血症の治療, **脂質異常症診療 Q & A: 91-98**, 2011.

学会発表  
(国内)

- 1) 小倉正恒, 槇野久士, 玉那覇民子, 肥塚諒, 菱田藍, 長谷川夕希子, 岸本一郎, 斯波真理子, 冠動脈三枝病変を合併した家族性高コレステロール血症 (FH) ヘテロ接合体高齢初産の 1 例, 第 32 回日本アフェレシス学会関西地方会, 一般演題 1, 2014 年 2 月 8 日, 滋賀
- 2) 堀美香, 駒井仁美, 水野敏秀, 斯波真理子, ニューロメジン U の役割と動脈硬化との関連, 第 36 回日本分子生物学会年会, ポスター発表, 2013 年 12 月 3 日~6 日, 神戸
- 3) 安原秀典, 山本剛史, 斯波真理子, 小比賀聡, 架橋型アンチセン

- ス核酸の体内動態に関する定量的評価, 第 23 回アンチセンスシンポジウム, ポスター発表, 2013 年 11 月 28 日~29 日, 徳島
- 4) 三原元気, 姜貞勲, 中沖隆彦, 鳥越秀峰, 鳥越秀峰, 斯波真理子, 小比賀聡, 山岡哲二, アテロコラーゲンをういた分子標的型核酸除放化システム, 第 23 回アンチセンスシンポジウム, セッション, 2013 年 11 月 28 日~29 日, 徳島
  - 5) 和田俊輔, 安原秀典, 小比賀聡, 斯波真理子, コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の薬理薬効評価, 第 23 回アンチセンスシンポジウム, セッション, 2013 年 11 月 28 日~29 日, 徳島
  - 6) 脇玲子, 山本剛史, 矢原愛子, 安原秀典, 斯波真理子, 田原早織, 川上純司, 小比賀聡, さまざまな置換基を施したアミド架橋型人工核酸の *in vitro* 機能評価, 第 23 回アンチセンスシンポジウム, セッション, 2013 年 11 月 28 日~29 日, 徳島
  - 7) 太田直孝, 宮本恵宏, 藤山啓美, 藤原明寛, 佐野道孝, 榎野久士, 岸本一郎, 斯波真理子, LDL 受容体遺伝子異常および PCSK9 遺伝子異常と家族性高コレステロール血症(FH)の病態について, 第 17 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会, ポスター発表, 2013 年 11 月 22 日~23 日, 大阪
  - 8) 堀美香, 水野敏秀, 斯波真理子, ニューロメジン U の脂質代謝及び動脈硬化との関わり, 第 17 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会, 一般演題 6, 2013 年 11 月 22 日~23 日, 大阪
  - 9) 津田秀年, 山原研一, 大谷健太郎, 斯波真理子, 寒川賢治, 高原史郎, 猪阪善隆, 急性腎障害モデルにおける抗炎症性因子を介した同種他家卵膜由来間葉系幹細胞移植の腎保護作用, 第 17 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会, 一般演題 5, 2013 年 11 月 22 日~23 日, 大阪
  - 10) Yasuhara H, Yamamoto T, Wada S, Waki R, Wada F, Harada-Shiba M, Obika S, Chemical Modifications of Antisense Oligonucleotides Enhance Unassisted Uptake in Tissues and Accumulate Over a Long Period of Time, 第 28 回日本薬物動態学会, ポスター発表, 2013 年 10 月 9 日~11 日, 東京
  - 11) 和田郁人, 山本剛史, 安原秀典, 小比賀聡, 斯波真理子, Apolipoprotein C- を標的とした高活性なアンチセンス核酸の探索とその薬理効果及び、毒性の評価, 遺伝子・デリバリー研究会 第 13 回夏期セミナー, 2013 年 7 月 24 日, Honolulu, Hawaii, USA
  - 12) 和田俊輔, 安原秀典, 和田郁人, 山本剛史, 小比賀聡, 斯波真理子, コレステロールコンジュゲート型アンチセンス核酸の薬理薬効評価, 遺伝子・デリバリー研究会 第 13 回夏期セミナー, 2013

- 年 7 月 24 日, Honolulu, Hawaii, USA
- 13) 安原秀典, 山本剛史, 和田郁人, 和田俊輔, 中谷萌夏, 小比賀聡, 斯波真理子, 家族性高コレステロール血症治療を目的とした人工核酸 BNA 搭載型アンチセンス医薬品の開発, 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2013 年 7 月 18 日~19 日, 東京
  - 14) Wada F, Yamamoto T, Yasuhara H, Wada S, Obika S, Harada-Shiba M, Screening and Selection of Highly Effective 2',4'-BNA-Modified Antisenses targeting ApolipoproteinC-III, 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2013 年 7 月 18 日~19 日, 東京
  - 15) Shibata E, Enmi J, Shibata MA, Morimoto M, Fukuda H, Hashikawa Y, Iguchi S, Kawashima H, Michikura M, Fuke C, Hori M, Iida H, Harada-Shiba M, Imaging and histopathological analyses of aortic lesions in atherosclerosis model mice using MRI, 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2013 年 7 月 18 日~19 日, 東京
  - 16) Yuasa Y, Makino H, Minamino N, Kishimoto I, Tamanaha T, Koezuka R, Hori M, Harada-Shiba M, Protein convertase subtilisin-like/kexin type9(PCSK9) is removed by LDL-apheresis in patients with familial hypercholesterolemia(FH) and arteriosclerosis obliterans(ASO), 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2013 年 7 月 18 日~19 日, 東京
  - 17) Ohta N, Miyamoto Y, Makino H, Fujiwara A, Fujiyama H, Nakasone I, Sano M, Kishimoto I, Harada-Shiba M, Gene testing of the LDLR and PCSK9 genes in heterozygous Familial Hypercholesterolemia, 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2013 年 7 月 18 日~19 日, 東京
  - 18) 道倉雅仁, 富家千鶴, 槇野久士, 椽谷真由, 玉那覇民子, 大畑洋子, 吉田晶子, 森本めぐむ, 柴田映子, 堀美香, 岸本一郎, 斯波真理子, 家族性高コレステロール血症患者における超音波によるアキレス腱測定の評価, 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2013 年 7 月 18 日~19 日, 東京
  - 19) 横山信治, 上島弘嗣, 三井田孝, 高田耕基, 福川辰之, 五藤孝秋, 中村雄一, 斯波真理子, 佐野道孝, 日本人の HDL コレステロール測定値の長期上昇傾向について, 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2013 年 7 月 18 日~19 日, 東京
  - 20) Harada-Shiba M, Arai H, Oikawa S, Ohta T, Okada T, Okamura T, Nohara A, Bujo H, Yokote K, Wakatsuki A, Yamashita S, Guideline

- for Management of FH in Japan, 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, APSAVD-JAS Joint Symposium, 2013 年 7 月 18 日~19 日, 東京
- 21) Yamamoto T, Obika S, Harada-Shiba M, Recent Development of Anti-PCSK9 Therapy for Hypercholesterolemia, 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, シンポジウム 5, 2013 年 7 月 18 日~19 日, 東京
- 22) 和田郁人, 山本剛史, 和田俊輔, 安原秀典, 小比賀聡, 斯波真理子, 2',4'-BNA を搭載した高活性な Apolipoprotein C- 標的型アンチセンス核酸の開発, 第 13 回遺伝子・デリバリー研究会シンポジウム, ポスター発表, 2013 年 5 月 11 日, 東京
- 23) 斯波真理子, BNA 修飾アンチセンスを用いた脂質異常症治療, 第 13 回遺伝子・デリバリー研究会シンポジウム, 依頼講演, 2013 年 5 月 11 日, 東京
- 24) Harada-Shiba M, Development of Anti Atherogenic Drug Targeting Apolipoprotein C- Using Bridgend Nucleic Acids(BNAs), 第 77 回日本循環器学会学術集会, Featured Research Session 15(MD), 2013 年 3 月 15 日~17 日, 横浜
- 25) 柴田雅朗, 森本純司, 柴田映子, 藤岡重和, 斯波真理子, 可溶性 VEGFR-3 デコイと SATB1 siRNA のマウス乳癌に対する転移抑制作用の検討: 可溶性 VEGFR-3 デコイは乳癌転移を抑制した, 第 29 回日本毒性病理学会, 2013 年 1 月 31 日~2 月 1 日, 茨城
- 26) Hori M, Harada-Shiba M, The Bioactive Peptide Neuromedin U is Associated with Lipid Metabolism and Inflammation, 第 35 回日本分子生物学会年会, 2012 年 12 月 11 日~14 日, 福岡
- 27) 小川浩司, 西垣孝行, 中崎宏則, 守田佳保里, 池宮裕太, 湯浅由美子, 田中彩子, 榎野久士, 林輝行, 岸本一郎, 斯波真理子, LDL-apheresis 施行方法の違いによる炎症性マーカーの変動, 第 33 回日本アフェレシス学会学術大会, 2012 年 11 月 8 日~10 日, 長崎
- 28) 湯浅由美子, 榎野久士, 肥塚諒, 田中彩子, 原田光一郎, 河原田修身, 野嶋祐兵, 岡島年也, 岸本一郎, 南野直人, 斯波真理子, ASO 患者に対する LDL-apheresis 治療後排液のプロテオーム解析, 第 33 回日本アフェレシス学会学術大会, 2012 年 11 月 8 日~10 日, 長崎
- 29) 田中彩子, 榎野久士, 肥塚諒, 榎谷真由, 大畑洋子, 玉那覇民子, 岡島年也, 野嶋祐兵, 河原田修身, 原田光一郎, 湯浅由美子, 斯波真理子, 岸本一郎, 閉塞性下肢動脈硬化症に対する LDL アフェレシスの有効性についての検討, 第 33 回日本アフェレシス学会学術大会, 2012 年 11 月 8 日~

- 10日, 長崎
- 30) 山岡哲二, 三原元気, 橋洋一, 小宮山萌美, 姜貞勲, 森反俊幸, 中沖隆彦, 鳥越秀峰, 斯波真理子, 小比賀聡, 抗 PCSK9 アンチセンス BNA の低容量長期投与に関する検討, アンチセンス・遺伝子・デリバリーシンポジウム2012, ポスター発表, 2012年9月24日~26日, 仙台
- 31) 柴田映子, 位高啓史, 石井武彦, 西山伸宏, 宮田完二郎, 森本めぐむ, 西川元也, 高倉喜信, 柴田雅朗, 片岡一則, 斯波真理子, B-H poiyplex を用いた嚢胞性線維症モデル動物への遺伝子導入, アンチセンス・遺伝子・デリバリーシンポジウム 2012, ポスター発表, 2012年9月24日~26日, 仙台
- 32) 安原秀典, 山本剛史, 和田俊輔, 中谷萌夏, 和田郁人, 鳥越秀峰, 山岡哲二, 柴田雅朗, 今西武, 斯波真理子, 小比賀聡, PCSK9 阻害による家族性高コレステロール血症治療のための高機能性核酸医薬品の開発, アンチセンス・遺伝子・デリバリーシンポジウム 2012, ポスター発表, 2012年9月24日~26日, 仙台
- 33) 安原秀典, 山本剛史, 中谷萌夏, 柴田雅朗, 小比賀聡, 斯波真理子, 抗 ApoC- アンチセンス核酸による高トリグリセリド血症治療薬の開発, アンチセンス・遺伝子・デリバリーシンポジウム2012, ポスター発表, 2012年9月24日~26日, 仙台
- 34) 安原秀典, 山本剛史, 中谷萌夏, 柴田雅朗, 小比賀聡, 斯波真理子, 抗 ApoC- アンチセンス核酸による高トリグリセリド血症治療薬の開発, アンチセンス・遺伝子・デリバリーシンポジウム2012, 一般講演, 2012年9月24日~26日, 仙台
- 35) 安原秀典, 山本剛史, 和田俊輔, 小比賀聡, 斯波真理子, PCSK9 を標的とした人工核酸 BNA 搭載型 アンチセンス医薬の開発, 第12回遺伝子・デリバリー研究会 夏季セミナー, 2012年7月30日~31日, 北九州
- 36) Yuasa Y, Makino H, Minamino N, Kishimoto I, Osaki T, Hori M, Shibata E, Ishihara M, Iwasaki T, Harada-Shiba M, Proprotein convertase subtilisin-like/kexin type 9(PCSK9) removed by LDL-apheresis, 第44回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2012年7月19日~20日, 福岡
- 37) Yamamoto T, Harada-Shiba M, Yasuhara H, Nakatani M, Wada S, Sasaki K, Torigoe H, Shibata MA, Yamaoka T, Imanishi T, Obika S, Screening and Selection of Efficient BNA-Modified anti-PCSK9 Antisenses, 第44回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2012年7月19日~20日, 福岡
- 38) Tanaka A, Makino H, Nakatani R, Oohata Y, Iwamoto N, Kishimoto I, Harada-Shiba M, Long term effect

- of LDL-apheresis on patients with homozygous familial hypercholesterolemia, 第 44 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2012 年 7 月 19 日~20 日, 福岡
- 39) Ohta N, Miyamoto Y, Makino H, Iwamoto N, Fujino M, Fujiyama H, Nakasone I, Sano M, Harada-Shiba M, Verification of the new diagnostic criteria of FH by patients with mutation in LDLR and/or PCSK9, 第 44 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2012 年 7 月 19 日~20 日, 福岡
- 40) Yamamoto T, Yasuhara H, Nakatani M, Shibata MA, Obika S, Harada-Shiba M, Hypertriglyceridemic mice were responsive to Apolipoprotein C- $\epsilon$ -lowering therapy by BNA-modified antisense oligonucleotides, 第 44 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2012 年 7 月 19 日~20 日, 福岡
- 41) 斯波真理子, 家族性高コレステロール血症の診断と治療, 第 44 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ランチョンセミナー11, 2012 年 7 月 19 日~20 日, 福岡
- 42) 斯波真理子, 太田直孝, 宮本恵宏, 榎野久士, 岸本一郎, FH における遺伝子異変と臨床的意義, 第 44 回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 明日へのシンポジウム 2, 2012 年 7 月 19 日~20 日, 福岡
- 43) 湯浅由美子, 榎野久士, 岩本紀之, 尾崎司, 南野直人, 柳光司, 宇佐美眞, 斯波真理子, FH 患者の LDL-A 治療で除去される動脈硬化危険因子の検討, 第 32 回日本アフェレシス学会学術大会, 2011 年 9 月 30 日~10 月 2 日, 東京
- 44) 小川浩司, 西垣孝行, 四井田英樹, 高橋裕三, 吉田幸太郎, 中崎宏則, 藤井順也, 守田佳保里, 林輝行, 中谷理恵子, 岩本紀之, 榎野久士, 斯波真理子, LDL-Apheresis 施行中の血圧低下に関する当院における対応, 第 32 回日本アフェレシス学会学術大会, 2011 年 9 月 30 日~10 月 2 日, 東京
- 45) 榎野久士, 岩本紀之, 斯波真理子, FH 治療における LDL アフェレシス治療の適応と限界, 第 32 回日本アフェレシス学会学術大会, 2011 年 9 月 30 日~10 月 2 日, 東京
- 46) 柴田映子, Carlos Agudelo, 井上麻衣, 森本めぐむ, 宮田完二郎, 位高啓史, 西山伸宏, 石井武彦, 西川元也, 高倉喜信, 柴田雅朗, 片岡一則, 斯波真理子, 嚢胞性線維症モデル動物への経肺遺伝子導入, アンチセンス・遺伝子・デリバリー シンポジウム 2011, ポスター発表, 2011 年 9 月 1 日~2 日, 大阪
- 47) 和田俊輔, 山本剛史, 中谷萌夏, 山岡哲二, 鳥越秀峰, 小比賀聡, 斯波真理子, 化学修飾型 siRNA が in vivo において及ぼす影響, ア

- ンチセンス・遺伝子・デリバリー シンポジウム2011, ポスター発表, 2011年9月1日~2日, 大阪
- 48) 中谷萌夏, 斯波真理子, 山本剛史, 和田俊輔, 安原秀典, 鳥越秀峰, 佐々木澄美, 山岡哲二, 生川径祐, 小比賀聡, 次世代型 BNA を用いた抗 PCSK9 アンチセンス医薬の開発, アンチセンス・遺伝子・デリバリー シンポジウム 2011, ポスター発表, 2011年9月1日~2日, 大阪
- 49) Harada-Shiba M, Development of Nucleic Acid Durg for Dyslipidemia Using 2',4'-Control HDL in Vivo, 第75回日本循環器学会総会・学術集会, Plenary Session 2(H), 2011年8月3日~4日, 横浜
- 50) Ishihara M, Kujiraoka T, Iwasaki T, Ogawa K, Hattori H, Harada-Shiba M, Development of sandwich ELISA for Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9), 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2011年7月15日~16日, 札幌
- 51) Asada T, Ishihara M, Iwasaki T, Kodama M, Fujiwara A, Murakami M, Yoshida R, Toyomasa T, Ohta N, Sano T, Sano M, Harada-Shiba M, Serum PCSK9 levels in familial hypercholesterolemia (FH) patients, 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2011年7月15日~16日, 札幌
- 52) Iwamoto N, Makino H, Nakatani R, Suzuki Y, Iwamiya T, Kamiya C, Katsuragi S, Ikeda T, Kishimoto I, Harada-Shiba M, Management of pregnancy and delivery in homozygous familial hypercholesterolemia, 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2011年7月15日~16日, 札幌
- 53) Ohta N, Miyamoto Y, Makino H, Iwamoto N, Fujino M, Fujiyama H, Ishihara M, Sano T, Sano M, Harada-Shiba M, Clinical characteristics of familial hypercholesterolemia with mutation in PCSK9 gene, 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2011年7月15日~16日, 札幌
- 54) Yuasa Y, Iwamoto N, Makino H, Osaki T, Minamide N, Usami M, Harada-Shiba M, Change of serum levels in patients of substances removed by LDL-Apheresis(LDL-A)treatment, 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2011年7月15日~16日, 札幌
- 55) Wada S, Yamamoto T, Nakatani M, Yamaoka T, Shibata E, Inoue M, Morimoto M, Obika S, Harada-Shiba M, Therapeutic effects of each modification in siRNA for dyslipidemia, 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, ポスター発表, 2011年7月15日~16日, 札幌
- 56) Yamamoto T, Harada-Shiba M, Nakatani M, Wada S, Narukawa K,



Sasaki K, Torigoe H, Yamaoka T, Imanishi T, Obika S, BNA Therapy for Hypercholesterolemia, 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, Panel Discussion 2, 2011年7月15日~16日, 札幌

57) Makino H, Harada-Shiba M, Long-term effect of LDL-apheresis in patients with familial hypercholesterolemia, 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, Panel Discussion 2, 2011年7月15日~16日, 札幌

58) Harada-Shiba M, Management of familial hypercholesterolemia(FH), 第43回日本動脈硬化学会総会・学術集会, Guideline-Revision of JAS Guidline in2012 (新ガイドライン2012に向けて), 2011年7月15日~16日, 札幌

59) 柴田雅朗, 森本純司, 柴田映子, 藤岡重和, 斯波真理子, 可溶性 VEGFR-3 デコイは高転移性マウス乳癌モデルに対して転移抑制作用を発揮したが、Satb1 はその効果を示さなかった, 第35回日本リンパ学会総会, 2011年6月3日~4日, 東京

(国際)

1) Harada-Shiba M, Long-term Effects of LDL Apheresis in Patients with Homozygous Familial Hypercholesterolemia, Joint International Congress 2013(51<sup>st</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Artifi-

cial Organs(JSAO2013)/5<sup>th</sup> Congress of the International Federation for Artificial Organs(IFA2013)), Symposium Kidney Metabolism 3, 2013年9月27日~29日, 横浜

2) Harada-Shiba M, Shibata E, Shibata MA, Morimoto M, Wada S, Wada F, Uchida S, Itaka K, Nishiyama N, Miyata K, Ishii T, Nishikawa M, Kataoka K, Intratracheal gene delivery into the model mouse of cystic fibrosis using B-H polyplex, 40<sup>th</sup> Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society, ポスター発表, 2013年7月21日~24日, Honolulu, Hawaii, U.S.A

3) Hori M, Mizuno T, Harada-Shiba M, Association of Neuromedin U with Lipid Metabolism, 81th European Atherosclerosis Society Congress, ポスター発表, 2013年6月2日~5日, Lyon, France

4) Harada-Shiba M, Makino H, Okamura T, Kishimoto I, Miyamoto Y, Tomoike H, Yokoyama S, Defining Patients at Extremely High Risk for Coronary Artery Disease in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia, 81th European Atherosclerosis Society Congress, ポスター発表, 2013年6月2日~5日, Lyon, France

5) Harada-Shiba M, Yamamoto T, Yasuhara H, Wada S, Wada F, Shibata MA, Obika S, Bridged Nucleic Acid(BNA)-Based Antisense Therapeutics Targeting PCSK9, 81th Eu-

- ropean Atherosclerosis Society Congress, ポスター発表, 2013年6月2日~5日, Lyon, France
- 6) Yasuhara H, Yamamoto T, Nakatani M, Wada S, Torigoe H, Yamaoka T, Shibata MA, Imanishi T, Harada-Shiba M, Obika S, Design, Screening and Selection of Efficient BNA Antisense Oligonucleotides for PCSK9, 8th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society, ポスター発表, 2012年10月28日~31日, Boston, Massachusetts, USA
  - 7) Yamamoto T, Yasuhara H, Nakatani M, Shibata MA, Obika S, Harada-Shiba M, Correction of Murine Hypertriglyceridemia by BNA Antisense Oligonucleotides Targeting Apolipoprotein C- $\beta$ , 8th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society, ポスター発表, 2012年10月28日~31日, Boston, Massachusetts, USA
  - 8) Wada S, Obika S, Shibata MA, Yamamoto T, Yamaoka T, Harada-Shiba M, In Vivo Assessment of the Chemical Modification of siRNA. 8th Annual Meeting of the Oligonucleotide Therapeutics Society, ポスター発表, 2012年10月28日~31日, Boston, Massachusetts, USA
  - 9) Harada-Shiba M, The role of apheresis treatment in familial hypercholesterolemia (FH) - long-term experiences from the Osaka Cardiovascular Research Institute, The European Society for Artificial Organs (ESAO XXXIX), Apheresis in Cardiovascular Diseases, 2012年9月26日~29日, Rostock, Germany
  - 10) Yuasa Y, Makino H, Iwamoto N, Kishimoto I, Minamino N, Osaki T, Usami M, Ishihara M, Iwasaki T, Harada-Shiba M, Exhaustive Analysis of Substances Removed by LDL-Apheresis(LDL-A) Treatment. International Symposium on Atherosclerosis (ISA2012), ポスター発表, 2012年3月25日~29日, Sydney, Australia
  - 11) Makino H, Iwamoto N, Kishimoto I, Harada-Shiba M, Long-Term Effects of LDL Apheresis in Patients with Homozygous Familial Hypercholesterolemia. International Symposium on Atherosclerosis (ISA2012), ポスター発表, 2012年3月25日~29日, Sydney, Australia
  - 12) Yamamoto T, Harada-Shiba M, Nakatani M, Wada S, Yasuhara H, Shibata MA, Torigoe H, Yamaoka T, Imanishi T, Obika S, Bridged Nucleic Acid-based Antisense Therapeutics Targeting PCSK9 Reduced Serum LDL-Cholesterol Levels of Mice Fed a Diet in High Cholesterol. International Symposium on Atherosclerosis (ISA2012), ポスター発表, 2012年3月25日~29日, Sydney, Australia

- 13) Harada-Shiba M, Makino H, Iwamoto N, Kishimoto I, Tomoike H, Yokoyama S, Has Statin Delayed the Onset Age of Coronary Artery Disease in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia?. International Symposium on Atherosclerosis (ISA2012), Workshop 9, 2012年3月25日~29日, Sydney, Australia
- 14) Harada-Shiba M, Ohta N, Makino H, Miyamoto Y, Iwamoto N, Kishimoto I, Tomoike H, Genetic Analysis of Familial Hypercholesterolemia. International Symposium on Atherosclerosis (ISA2012), Mini Oral Session B, 2012年3月25日~29日, Sydney, Australia
- 15) Yuasa Y, Makino H, Iwamoto N, Kishimoto I, Minamino N, Osaki T, Usami M, Ishihara M, Iwasaki T, Harada-Shiba M, Exhaustive Analysis of Substances Removed by LDL-apheresis(LDL-A) Treatment. Familial Hypercholesterolemia and Genetic Dyslipidemia Satellite Meeting, (ISA2012), ポスター発表 2012年3月23日~25日, Australia
- 16) Harada-Shiba M, Guideline for Management of FH in Japan. Familial Hypercholesterolemia and Genetic Dyslipidemia Satellite Meeting, (ISA2012), Free Communications, 2012年3月23日~25日, Australia
- 17) Wada S, Yamamoto T, Nakatani M, Yamaoka T, Torigoe H, Obika S, Harada-Shiba M, Development of the 2',4'-BNA based siRNA drug and elucidation of the effects on its chemical modifications. The 38<sup>th</sup> International Symposium on Nucleic Acid Chemistry, ポスター発表 2011年11月9日~11日, 札幌
- 18) Yamamoto T, Harada-Shiba M, Nakatani M, Wada S, Sasaki K, Yasuhara H, Torigoe H, Yamaoka T, Imanishi T, Obika S, Evaluation of Efficacies of BNA-modified Anti-PCSK9 Antisenses. The 38<sup>th</sup> International Symposium on Nucleic Acid Chemistry, ポスター発表 2011年11月9日~11日, 札幌
- 19) Harada-Shiba M, Effects of LDL-apheresis on patients with familial hypercholesterolemia-long term experience from Japan. 8 International Society for Apheresis Congress(ISFA Vienna 2011), 2011年9月14日~17日, Vienna, Austria

#### H. 知的所有権の出願・取得状況

##### 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  
出願番号：特願2005-243938

出願日：平成 17 年 8 月 25 日  
登録日：平成23年5月13日

特許出願中

- 1) PCSK9 関連薬剤のスクリーニング、又は、当該薬剤の投与考課の確認を行うための PCSK9 測定方法  
登録番号：特願 2013 - 116508  
出願人：株式会社ビー・エム・エル、独立行政法人国立循環器病研究センター  
発明者：石原光昭、斯波真理子、堀美香他  
出願日：平成 25 年 5 月 31 日
- 2) オリゴヌクレオチド、およびオリゴヌクレオチドを有効成分として含有する脂質異常症治療剤  
登録番号：特願 2012-150292  
出願人：国立大学法人大阪大学、独立行政法人国立循環器病研究センター  
発明者：小比賀聡、斯波真理子他  
出願日：平成 24 年 7 月 4 日
- 3) オリゴヌクレオチド、およびオリゴヌクレオチドを有効成分として含有する高脂血症治療剤  
登録番号：特願 2011-271751  
出願人：国立大学法人大阪大学、独立行政法人国立循環器病研究センター  
発明者：小比賀聡、斯波真理子他  
出願日：平成 23 年 12 月 12 日
- 4) PCSK 9 の吸着体および PCSK 9 の吸着器  
出願番号：特許 2011-153216

出願人：国立循環器病研究センター、株式会社カネカ  
発明者：斯波真理子、湯浅由美子他

出願日：平成 23 年 7 月 11 日

- 5) 高コレステロール血症と動脈硬化の検出方法

出願番号：特願 2011-100682

出願人：株式会社ビー・エム・エル、国立循環器病研究センター

発明者：斯波真理子他

出願日：平成 23 年 4 月 28 日

- 6) オリゴヌクレオチド、およびオリゴヌクレオチドを有効成分として含有する脂質異常症治療剤

出願番号：PCT/JP2011/069818

出願人：国立循環器病研究センター研究所、大阪大学、東京理科大学

出願日：平成 23 年 8 月 31 日

出願番号：特願 2010-195187

出願人：国立循環器病研究センター研究所、大阪大学、東京理科大学

発明者：斯波真理子、小比賀聡、山本剛史他

出願日：平成 22 年 8 月 31 日

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がかりとなっている。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

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服事業

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 石垣 泰（岩手医科大学内科学講座糖尿病代謝内科・教授）

研究要旨

家族性高コレステロール血症(FH)は早期に動脈硬化を来することが特徴であるが、同じく動脈硬化進展がみられる糖尿病(DM)とは、病変の質が異なっていると考えられている。我々は新規超音波測定法・位相差トラッキング法を用いて頸動脈壁の性状を観察したところ、IMT 肥厚やプラークの形成はFHで顕著に進行している一方で、位相差トラッキング法の測定値はDMで高く、動脈硬化形成における血管壁の質が異なると考えられた。

生体肝移植施行後のFHホモ接合体2症例は、HMG-CoA還元酵素阻害薬などの薬物療法下でそれぞれLDL-C 110-160 mg/dLにコントロールされており、血管合併症も認められず正常に発育している。生体肝臓移植は有効な治療と考えられ、本邦における数少ない症例の経過観察が必要である。

A．研究目的

原発性高脂血症の代表的疾患である家族性高コレステロール血症(FH)は、早発性の粥状動脈硬化をきたすことが大きな問題である。代表的な動脈硬化診断法であるBモード超音波で頸動脈の状態を評価すると、FHではプラークの多発が特徴的である。一方、代表的な動脈硬化危険因子である2型糖尿病(DM)では、びまん性の頸動脈内中膜肥厚(IMT)増大が主たる所見であり、疾患によって動脈硬化病変の性質が異なっていると考えられる。

本学では、工学部と共同で新しい超音波測定法・位相差トラッキング法の臨床応用を進めている。本測定法は、血管壁における数千に及ぶ複数の計測点の、心拍毎の動きを数十 $\mu\text{m}$ 単位で追跡することで、組織性状を非侵襲的に評価可能な

ことから、動脈硬化診断への有用性が期待されている。

本研究の目的は、新規測定法によってFHの動脈硬化病変の性質を検討し、質的診断の体系を確立することで、FHのイベント発症予測・予後向上に繋げることである。

また著明な高LDL-C血症を呈するFHホモ接合体患者は、早発性の冠動脈疾患を特徴とする。我々はFHホモ接合体の兄妹に対して、FHヘテロ接合体である父母をそれぞれのドナーとして生体肝移植を行い、13年にわたって診療を行ってきた。世界で最初のFHホモ接合体に対する生体肝移植例であり、予後を観察し報告する。

B．研究方法

FH 40名と年齢をマッチさせたDM 46名、検診受診健常者35名を対象に

位相差トラッ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。尚、位相差トラッキング法は従来の医療用超音波機器を用いることから、被験者への有害事象の危険性は極めて低いと考えられる。また測定に関しては本学医学部倫理委員会の審査・承認を得ている(2011-335)。

また生体肝移植施行後のF Hホモ接合体2名の兄妹の診療を行い、経過を観察した。

### C . 研究結果

両群の検査データを比較すると、平均IMTは健常者:0.54mm, DM0.70mm, FH0.79mmと肥厚度に差を認めた(図1)。また頸動脈プラークスコアはDM1.4, FH3.5とFHで頸動脈プラークの多発を認めた。また脈波伝播速度(PWV)は、DM1603 cm/s, FH1496 cm/sとDMで有意に高値を呈した。一方で、位相差トラッキング法で評価した頸動脈測定値はDM54.6 kPa, FH39.9kPaとFHで有意に低い値であった(図2)。ちなみに健常者では、測定値は28.0kPaとさらに低値を示した。次に位相差トラッキング法は血管の組織性状を評価できると考えられることから、測定値150kPa以上のいわゆる「硬い」と評価される部分の血管壁に存在する割合を定量した。その結果DMの頸動脈では総計測点の1.20%が150kPa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。過去に摘出組織標本と位相差トラッキング法測定値を適合させた報告を鑑みて、DMの頸動脈内中膜は膠原繊維が豊かで、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。さらに各測定点での計測値のばらつきを評価したところ、DMで変動係数(coefficiency of variance)が高く、FHに比較してDMでは頸動脈血管壁を構成する成分が不均一であると考えられた。

次に生体肝移植施行例の経過を示す。

1人目は1歳時に皮膚黄色腫を主訴に受診し、総コレステロール(TC)1128 mg/dL, LDL-C 898 mg/dLにてF Hホモ接合体を疑われた。父はHMG-CoA還元酵素阻害薬内服下でTC 285 mg/dL, 母は陰イオン交換樹脂内服下でTC 253 mg/dLでいずれもF Hヘテロ接合体と考えられた。LDL受容体遺伝子解析では、父と患児においてintron12に変異を認めたが、母には変異が検出されなかった。2歳時に父をドナーとする生体肝移植を施行され、術後よりプラバスタチンを開始された。四肢に認められていた皮膚黄色腫は、移植4年後には消失した。現在15歳で、身長166 cm、体重51 kgと体格は正常範囲である。プラバスタチン20 mgとエゼチミブ5 mg内服にてLDL-C 110-160 mg/dLにコントロールされている。頸動脈IMTは両側0.5mm、心エコーにて大動脈弁に異常を認めない。

2人目はその妹であり、生下時のTC 955 mg/dL, LDL-C 766 mg/dLにて、兄と同じくF Hホモ接合体を疑われ、LDL受容体遺伝子解析では、父、兄と同じ変異を認めた。2歳時に母をドナーとする生体肝移植を施行され、術後薬剤性肝炎や胆道閉塞などを併発したが、最近は安定した状態で経過している。現在11歳で、身長148 cm、体重36 kgと体格は正常範囲である。プラバスタチン20 mgとエゼチミブ2

mg内服にてLDL-C 110-150 mg/dLにコントロールされている。頸動脈IMTは両側0.5mm、心エコーにて大動脈弁に異常を認めない。

#### D. 考察

我々の検討では、IMT肥厚やプラークの形成はFHで顕著に進行している一方で、PWVはDMで高値を示しており、動脈硬化の質において両者で違いがあることが示唆された。新規測定法である位相差トラッキング法の測定値はDMで高く、しかも各測定点でのばらつきが大きいことから、DMの血管壁には「硬い」と評価される成分が多く存在し、しかも構成が不均一であると考えられた。それに対してFHでは、血管壁に脂質が沈着するといったこれまでの病理像を裏付ける測定値、すなわち「柔らかい」成分が比較的均一に存在していることが示唆された。このように位相差トラッキング法では非侵襲的に血管性状を評価できる可能性があるが、今後は新規測定法で得られた結果が、冠動脈疾患や脳血管障害といった臨床像とどのように関連するか検討を進めることが今後の課題である。

FHホモ接合体に対する標準的治療はLDLアフェレシスであるが、肝臓移植は疾患の根治に近い治療法であると考えられる。移植後に生涯にわたっての免疫抑制剤内服が義務付けられるが、脂質値が安定し、LDLアフェレシスにともなう拘束から解放されることは大きな利点である。しかし、米国と異なり我が国では脳死肝移植の施行例は限られていることから、生体移植の比重が高くならざるをえない。生体移植では近親者がドナー

となることが多いが、FHの場合、ドナーとなりうる血縁者にヘテロ接合体が多いことも懸念材料である。こうした状況の中で、この2症例はFHヘテロ接合体のからの生体肝移植によって、HMG-CoA還元酵素阻害薬等の薬物療法の補助下で良好な脂質コントロールが得られている。移植手術は大きな侵襲を伴うが、2症例とも大きな問題なく成長している。またドナーである両親も術後問題なく経過している。以上から、わずか2例ではあるが、日本人のFHホモ接合体においても、生体肝臓移植は非常に有効な治療法であると考えられる。

#### E. 結論

位相差トラッキング法を用いて頸動脈の血管性状を評価することで、FHの動脈硬化形成の特徴が評価可能と期待される。また、難治性高脂血症であるFHホモ接合体に対して、生体肝臓移植は有効な治療と考えられ、本邦における数少ない症例の経過観察が必要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Gao J, **Ishigaki Y**, Yamada T, Kondo K, Yamaguchi S, Imai J, Uno K, Hasegawa Y, Sawada S, Ishihara H, Oyadomari S, Mori M, Oka Y, Katagiri H. Involvement of Endoplasmic Stress Protein C/EBP Homologous Protein in Arteriosclerosis Acceleration With Augmented Biological Stress Responses. *Circulation*. 2011;

- 124(7):830-9.
2. Uno K, Yamada T, **Ishigaki Y**, Imai J, Hasegawa Y, Gao J, Kaneko K, Matsusue K, Yamazaki T, Oka Y, Katagiri H. Hepatic peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ -fat-specific protein 27 pathway contributes to obesity-related hypertension via afferent vagal signals. *Eur Heart J*. 2012; 33(10):1279-89.
  3. Kudo H, Emi M, **Ishigaki Y**, Tsunoda U, Hinokio Y, Ishii M, Sato H, Yamada T, Katagiri H, Oka Y. Frequent loss of genome gap region in 4p16.3 subtelomere in early-onset type 2 diabetes mellitus. *Exp Diabetes Res*. 2011; 2011:498460.
  4. Suzuki T, Imai J, Yamada T, **Ishigaki Y**, Kaneko K, Uno K, Hasegawa Y, Ishihara H, Oka Y, Katagiri H. Interleukin-6 enhances glucose-stimulated insulin secretion from pancreatic beta-cells: potential involvement of the PLC-IP3-dependent pathway. *Diabetes*. 2011;60(2):537-47.
  5. Shoji K, Morita H, **Ishigaki Y**, Rivard CJ, Takayasu M, Nakayama K, Nakayama T, Inoue Y, Ayaki M, Yoshimura A. Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency without mutations in the coding sequence: a case report and literature review. *Clin Nephrol*. 2011; 76(4):323-328.
  6. Hasegawa Y, Saito T, Ogihara T, **Ishigaki Y**, Yamada T, Imai J, Uno K, Gao J, Kaneko K, Shimosawa T, Asano T, Fujita T, Oka Y, Katagiri H. Blockade of the Nuclear Factor- $\kappa$ B Pathway in the Endothelium Prevents Insulin Resistance and Prolongs Life Spans. *Circulation*. 2012; 125(9):1122-33.
  7. Usui M, Yamaguchi S, Tanji Y, Tominaga R, **Ishigaki Y**, Fukumoto M, Katagiri H, Mori K, Oka Y, Ishihara H. Atf6 $\alpha$ -null mice are glucose intolerant due to pancreatic  $\beta$ -cell failure on a high-fat diet but partially resistant to diet-induced insulin resistance. *Metabolism*. 2012; 61(8):1118-28.
  8. Tsukita S, Yamada T, Uno K, Takahashi K, Kaneko K, **Ishigaki Y**, Imai J, Hasegawa Y, Sawada S, Ishihara H, Oka Y, Katagiri H. Hepatic glucokinase modulates obesity predisposition by regulating BAT thermogenesis via neural signals. *Cell Metab*. 2012; 16(6):825-32.
  9. Munakata Y, Yamada T, Takahashi K, Tsukita S, Takahashi K, Sawada S, Imai J, **Ishigaki Y**, Oka Y, Katagiri H. A Case of Slowly Progressive Type 1 Diabetes with Insulin Independence Maintained for 10 Years with  $\alpha$ -glucosidase Inhibitor Monotherapy. *Intern Med*. 2012;51(24):3391-4.

10. Saito T, Hasegawa Y, **Ishigaki Y**, Yamada T, Gao J, Imai J, Uno K, Kaneko K, Ogihara T, Shimosawa T, Asano T, Fujita T, Oka Y, Katagiri H. Importance of endothelial NF- $\kappa$ B signalling in vascular remodelling and aortic aneurysm formation. *Cardiovasc Res.* 2013; 97(1):106-14.
  11. Takahashi K, Yamada T, Tsukita S, Kaneko K, Shirai Y, Munakata Y, **Ishigaki Y**, Imai J, Uno K, Hasegawa Y, Sawada S, Oka Y, Katagiri H. Chronic mild stress alters circadian expressions of molecular clock genes in the liver. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013 ;304(3):E301-9.
  12. Takagi M, **Ishigaki Y**, Uno K, Sawada S, Imai J, Kaneko K, Hasegawa Y, Yamada T, Tokita A, Iseki K, Kanno S, Nishio Y, Katagiri H, Mori E. Cognitive dysfunction associated with anti-glutamic acid decarboxylase autoimmunity: a case-control study. *BMC Neurol.* 2013;13:76.
  13. Kondo K, **Ishigaki Y**, Gao J, Yamada T, Imai J, Sawada S, Muto A, Oka Y, Igarashi K, Katagiri H. Bach1 deficiency protects pancreatic  $\beta$ -cells from oxidative stress injury. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013; 305(5):E641-8.
  14. Sakata N, Goto M, Motoi F, Hayashi H, Nakagawa K, Mizuma M, Yamaya H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Sawada S, Ottomo S, Okada T, Fukase K, Yoshida H, Ito T, Hirota M, **Ishigaki Y**, Sekiguchi S, Rikiyama T, Katayose Y, Fujimori K, Egawa S, Shimosegawa T, Katagiri H, Satomi S, Unno M. Clinical Experiences in the Treatment of Pancreatic Arteriovenous Malformation by Total Pancreatectomy With Islet Autotransplantation. *Transplantation.* 2013; 96(5):e38-e40.
2. 学会発表
1. 高 俊弘、石垣 泰、澤田 正二郎、近藤 敬一、井泉 知仁、宇野 健司、長谷川 豊、山口 賢、金子 慶三、突田 壮平、高橋 圭、今井 淳太、山田 哲也、石原 寿光、岡 芳知、片桐 秀樹 . 動脈硬化発症・進展における WSF1 の役割の検討 .第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会 ; 2011 ; 札幌
  2. 鶴田藍、石垣泰、沖本久志、長谷川英之、小岩喜郎、加藤真、本蔵理恵子、澤田正二郎、今井淳太、山田哲也、金井浩、岡芳知、片桐秀樹 2 型糖尿病患者と家族性高コレステロール血症患者における頸動脈血管弾性特性の検討、第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会 ; 2012 ; 横浜
  3. 石垣泰 (特別講演) Integrated Stress Response と代謝異常、日本過酸化脂質・抗酸化物質学会 第 20 年会 ; 2012 ; 仙台
  4. 東海林 渉、**石垣 泰**、黒澤 聡子、山田 哲也、今井 淳太、澤

- 田正二郎、鴫田 藍、宇野 健司、長谷川 豊、金子 慶三、片桐 秀樹、安保 英勇．糖尿病の食事療法への夫婦の取り組みタイプに関する検討：血糖コントロールおよびメンタルヘルスの比較．第56回日本糖尿病学会年次学術集会；2013；熊本
5. 児玉慎二郎、山田 哲也、江見 充、工藤 宏仁、石井 美穂、佐藤 秀則、澤田正二郎、今井 淳太、**石垣 泰**、岡 芳知、片桐 秀樹．全ゲノム CNV 解析による若年発症2型糖尿病患者における複数領域の高頻度ゲノム欠失．第56回日本糖尿病学会年次学術集会；2013；熊本
6. 澤田正二郎、**石垣 泰**、今井 淳太、山田 哲也、内藤 剛、柴田 近、佐々木 巖、岡 芳知、片桐 秀樹．糖尿病合併高度肥満に対する肥満手術1年後の持続血糖モニター (continuous glucose monitoring; CGM) で捉えた血糖プロフィール．第31回日本肥満症治療学会学術集会；2013；東京
7. 澤田正二郎、**石垣 泰**、鴫田 藍、長谷川英之、本蔵理恵子、金子 礼、今井 淳太、山田 哲也、宮地 幸哉、金井 浩、岡 芳知、片桐 秀樹．1型と2型糖尿病患者の頸動脈血管弾性特性の比較検討．第45回日本動脈硬化学会学術集会；2013；東京
8. 村椿 智彦、**石垣 泰**、森下 城、鹿野 理子、金澤 素、片桐 秀樹、福土 審．肥満患者と健常者における食物刺激に対する渴望反応の差異．第34回日本肥満学会；2013；東京
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 なし
  2. 実用新案登録 なし
  3. その他 なし

図1. 頸動脈内中膜肥厚と比較

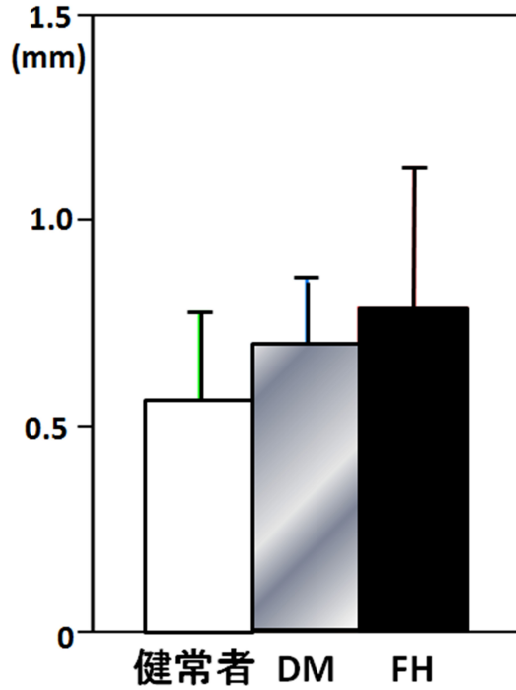
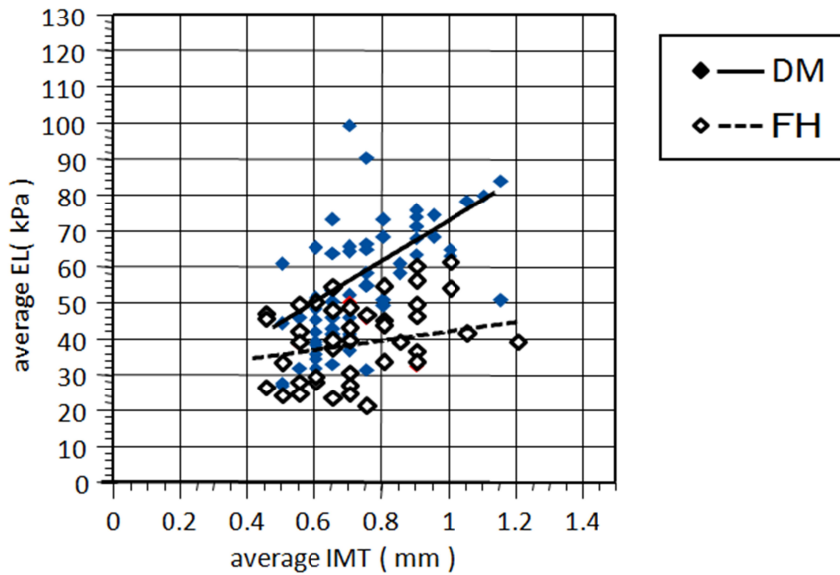


図2. 家族性高コレステロール血症と2型糖尿病における血管弾性特性とIMT





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
該当なし							

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
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,	Relationships between Plasma Fatty Acid Composition and Coronary Artery Disease.	J Atheroscler Thromb.	18(2)	99-107	2011
Sone H, Tanaka S, Tanaka S, Iimuro 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:	J Clin Endocrinol Metab.	96	3448-3456	2011 Aug 24. [Epub ahead of print]
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.	19(7)	673-9	2012
Sasaki J, Yokoyama M, Matsuzaki M, et al	Relationship between coronary artery disease and non-HDL-C, and effect of highly purified EPA on the risk of coronary artery disease in	J Atheroscler Thromb.	19(2)	194-204	2012
Dohi T, Miyauchi K, Ohkawa R, Nakamura K, Kishimoto T, Miyazaki T, Nishino A, Nakajima N, Yaginuma K, Tamura H, Kojima T, Yokoyama K, Kurata T, Shimada K, Yatomi Y, Daida H.	Increased circulating plasma lysophosphatidic acid in patients with acute coronary syndrome. Clin Chim Acta.	Chim Acta	413	207-212	2011

Inoue K, Kodama T, Daida H.	Pentraxin 3: a novel biomarker for inflammatory cardiovascular disease.	Int J Vasc Med	657025, doi:10.1155/2012/657025	2012
Fukushima Y, Ohmura H, Mokuno H, et al.	Non-high-density lipoprotein cholesterol is a practical predictor of long-term cardiac death after coronary artery bypass grafting.	Atherosclerosis	221 206-211	2012
Kasai T, Miyauchi K, Kubota N, et al.	Probucol therapy improves long-term (>10-year) survival after complete revascularization: a propensity analysis.	Atherosclerosis	220 463-469	2012
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; Japan Atherosclerosis Society.	Executive summary of the Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines for the diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases in Japan -2012 version.	J Atheroscler Thromb	20 517-523	2013
Sai E, Shimada K, Yokoyama T, Sato S, Miyazaki T, Hiki M, Tamura Y, Aoki S, Watada H, Kawamori R, Daida H.	Association between myocardial triglyceride content and cardiac function in healthy subjects and endurance athletes.	PLoS One	8(4) 1-6	2013
Matsumori R, Miyazaki T, Shimada K, Kume A, Kitamura Y, Oshida K, Yanagisawa N, Kiyonagi T, Hiki M, Fukao K, Hirose K, Ohsaka H, Mokuno H, Daida H.	High levels of very long-chain saturated fatty acid in erythrocytes correlates with atherogenic lipoprotein profiles in subjects with metabolic syndrome.	Diabetes Res ClinPract	99 12-18	2013

Kasai T, Miyauchi K, Yanagisawa N, Kajimoto K, Kubota N, Ogita M, Tsuboi S, Amano A, Daida H.	Mortality risk of triglyceride levels in patients with coronary artery disease.	Heart	99	22-29	2013
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, 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, Hiedaka 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.	<i>J Atheroscler Thromb.</i>	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 anti-hyperlipidemic intervention.	<i>J Atheroscler Thromb.</i>	19(9)	862-71	2012

Katsuren K, Nakamura K, Ohta T.	Effect of body mass index Z-score on adverse levels of cardiovascular disease risk factors.	Pediatrics International	54	200-204	2012
Asada S, Kuroda M, Aoyagi Y, Fukaya Y, Tanaka S, Konno S, Tanio M, Aiso M, Satoh K, Okamoto Y, Nakayama T, Saito Y, Bujo H.	Ceiling culture-derived proliferative adipocytes retain high adipogenic potential suitable for use as a vehicle for gene transduction therapy.	<i>Am J Physiol Cell Physiol.</i>	301	C181-C185	2011
Naito S, Kamata M, Furuya M, Hayashi M, Kuroda M, Bujo H, Kamata K.	Amelioration of circulating lipoprotein profile and proteinuria in a patient with LCAT deficiency due to a novel mutation (Cys74Tyr) in the lid region of LCAT under a fat-restricted diet and ARB treatment.	Atherosclerosis	228	193-197	2013
Arai H, Kokubo Y, Watanabe M, Sawamura T, Ito Y, Minagawa A, Okamura T, Miyamoto Y,	Small Dense Low-Density Lipoproteins Cholesterol can Predict Incident Cardiovascular Disease in an Urban Japanese Cohort	The Suita Study, <i>J Aththeroscler Thromb,</i>	20	195-203	2013
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	Management of type IIb dyslipidemia,	<i>J Atheroscler Thromb,</i>	19	105-114	2012

Harada-Shiba M, Arai H, Okamura T, Yokote K, Oikawa S, Nohara A, Okada T, Ohta T, Bujo H, Watanabe M, Wakatsuki A, and Yamashita S,	Multicenter Study to Determine the Diagnostic Criteria of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia in Japan,	J Atheroscler Thromb,	19	1019-26	2012
Harada-Shiba M, Arai H, Oikawa S, Ohta T, Okada T, Okamura T, Nohara A, Bujo H, Yokote K, Wakatsuki A, Ishibashi S, and Yamashita S,	Guidelines for the Management of Familial Hypercholesterolemia,	J Atheroscler Thromb,	19	1043-60	2012
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,	19	207-212	2012
Mabuchi H, Nohara A, Noguchi T, Kobayashi J, Kawashiri MA, Tada H, Nakanishi C, Mori M, Yamagishi M, Inazu A, Koizumi J; Hokuriku FH Study Group	Molecular genetic epidemiology of homozygous familial hypercholesterolemia in the okuriku district of Japan.	Atherosclerosis	214	404-407	2011
Tada H, Kawashiri MA, Ohtani R, Noguchi T, Nakanishi C, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M	A novel type of familial hypercholesterolemia: Double heterozygous mutations in LDL receptor and LDL receptor adaptor protein 1 gene	Atherosclerosis	219	663-666	2011
Tada H, Kawashiri MA, Ikegami K, Terao Y, Noguchi T, Nakanishi C, Tsuchida M, Takata M, Miwa K, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M	Altered metabolism of low-density lipoprotein and very-low-density lipoprotein remnant in autosomal recessive hypercholesterolemia	results from stable isotope kinetic study in vivo. Circ Cardiovasc Genet	5(1)	35-41	2012 Feb 1

Harada-Shiba M, Arai H, Okamura T, Yokote K, Oikawa S, Nohara A, Okada T, Ohta T, Bujo H, Watanabe M, Wakatsuki A, Yamashita S	Multicenter study to determine the diagnosis criteria of heterozygous familial hypercholesterolemia in Japan	J Atheroscler Thromb	19(11)	1019-26	2012 Nov 26
Harada-Shiba M, Arai H, Okamura T, Yokote K, Oikawa S, Nohara A, Okada T, Ohta T, Bujo H, Watanabe M, Wakatsuki A, Yamashita S	Multicenter study to determine the diagnosis criteria of heterozygous familial hypercholesterolemia in Japan	J Atheroscler Thromb	19(11)	1019-26	2012 Nov 26
Sone H, Tanaka S, Tanaka S, Iimuro S, Ishibashi S, Oikawa S, Shimano H, Katayama S, Ohashi Y, Akanuma Y, Yamada N; Japan Diabetes Complications Study Group.	Comparison of various lipid variables as predictors of coronary heart disease in Japanese men and women with type 2 diabetes: subanalysis	Diabetes Care.	35(5)	1150-7	2012
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	J Atheroscler Thromb.	20(5)	452-464	2013
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, Goto da T, Suzuki H, Yamada	Background to Discussion Guidelines for Control of Plasma HDL-Cholesterol in Japan. J	Atheroscler Thromb	19	207-212	2012
Ina K, Hayashi T, Araki A, Kawashima S, Sone H, Watanabe H, Ohru T, Yokote K, Takemoto M, Kubota K, Noda M, Notomi H, Ding QF, Zhang J, Yu ZY, Yoon BK, Nomura H, Kuzuya M; Japan CD M 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		1-5	2013
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.	20	1-9	2013

Ishida T, Miyashita K, Shimizu M, Kinoshita N, Mori K, Sun L, Yasuda T, Imamura S, Nakajima K, Stanhope KL, Havel PJ, Hirata K.	ELISA system for human Endothelial lipase.	Clin Chem	58	1656-64	2012
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.	Diagnosis and management of type I and type V hyperlipoproteinemia	J. Atheroscler. Thromb.	19(1)	1-12	2012
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(5)	481-493	2013
Yamamoto T, Obika S, Nakatani M, Yasuhara H, Wada F, Shibata E, Shibata MA, Harada-Shiba M	Locked nucleic acid antisense inhibitor targeting apolipoprotein C-III efficiently and preferentially removed triglyceride from large VLDL particles from murine plasma	European Journal of Pharmacology	723	353-359	2014
Teramoto T, Sasaki J, Harada-Shiba M, Arai H, Ishibashi S, Birou S, Bujo H, Daida H, Dohi S, Egusa G, Hiro T, Hirobe K, Iida M, Kihara S, Kinoshita M, Maruyama C, Nomura A, Ohta T, Oikawa S, Okada T, Okamura T, Watatsuki A, Yamashita S, Yokode M, Yokote	Familial hypercholesterolemia, Executive summary of the Japanese Atherosclerosis Society(JAS) Guidelines for diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases in Japan-2012 version.	J Atheroscler Thromb	21(1)	6-10	2013

Terasaki F, Morita H, Harada-Shiba M, Ohta N, Ohtsuka K, Nogi S, Miyamura M, Suzuki S, Ito T, Shimomura H, Katsumata T, Miyamoto Y, Ishizaka N.	Familial Hypercholesterolemia with Multiple Large Tendinous Xanthomas and Advanced coronary Artery Atherosclerosis	Intern Med	52	577-581	2013
Sugisawa T, Okamura T, Makino H, Watanabe M, Kishimoto I, Miyamoto Y, Iwamoto N, Yamamoto A, Yokoyama S, Harada-Shiba M	Defining patients at extremely high risk for coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia	J Atheroscler Thromb	19(4)	369-375	2012