

厚生労働省科学研究費補助金
循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策政策研究事業

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

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 寺本 民生

平成 27 (2015) 年 3 月

・ **構成員名簿**

・ **総括研究報告書**

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

寺本 民生・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1

・ **分担研究報告書**

1 . non-HDL コレステロールの臨床的意義に関するメタアナリシス

岡村 智教・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1 1

2 . non-HDL コレステロールの臨床的意義に関する文献レビュー

岡村 智教・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 3 7

3 . non-HDL コレステロールの循環器疾患発症に対する予測

LDL コレステロールと総コレステロールとの比較 吹田研究

宮本 恵宏・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 6 3

4 . non-HDL 等血中脂質評価指針及び脂質標準化システムの

構築と基盤整備に関する研究

木山 昌彦・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 8 1

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

藤吉 朗・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 8 9

6 . non-HDL 等血中脂質評価指針及び脂質標準化システムの

構築と基盤整備に関する研究

三井田 孝・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9 7

7 . non-HDL 等血中脂質評価指針及び脂質標準化システムの

構築と基盤整備に関する研究

西村 邦宏・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1 0 7

8 . 糖尿病患者に合併するレムナント蓄積に対する

シタグリプチン投与の有効性～アポ蛋白 B-48 濃度の改善効果

山下 静也・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1 1 3

9 . HDL コレステロールの基準分析法 (Ultracentrifugation 法) の

測定精度について

中村 雅一・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1 1 9

・ **研究成果の刊行に関する一覧表**・・・・・・・・・・・・・・・・ 1 2 5

・ **研究成果の刊行物・別刷**・・・・・・・・・・・・・・・・ 1 3 1

総括研究報告書

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

研究代表者 寺本民生 帝京大学医学部臨床研究医学講座 特任教授

研究要旨

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

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

A . 研究目的

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

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

B . 研究方法

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

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

また、国内の4つのコホート研究 (NIPPON DATA90、吹田コホート、CIRCS、岩手県北コホート) の協力を得て、non HDL の CAD 発症予測能親日その LDL-C との比較を実際のデータを用いて具体的に行う。本研究のエンドポイントは心筋梗塞、冠動脈疾患 (少なくとも心筋梗塞を含む) 脳卒中 (= 脳梗塞 + 脳出血 + くも膜下出血 + 分類不能) 脳梗塞、全循環器疾患 (少なくとも脳卒中と心筋梗塞を含む) の死亡 (NIPPON DATA90) または発症 (その他の3コホート) とした。LDL-C、Non HDL については、39mg/dl (1mmol/L) 増加に対するエンドポイント増加の相対リスク 日本動脈硬化学会 (JAS) のカットオフ基準 (スクリーニング基準) に基づくエンドポイント増加の相対リスク (LDL-C : 140mg/dl 未満に対する140mg/dl 以上の相対リスク / Non HDL : 170mg/dl 未満に対する170mg/dl 以上のエンドポイント増加の相対リスク) ATP-III のカットオフ基準に基づくエンドポイント増加の相対リスク (LDL-C : 160mg/dl 未満に対する160mg/dl 以上の相対リスク / Non HDL : 190mg/dl 未満に対する190mg/dl 以上のエンドポイント増加の相対リスク) の3パターンについて検討した。また、参考として総コレステロール (TC) についても、JAS 基準 (カットオフ値 220mg/dl)、ATP-III 基準 (カットオフ値 240mg/dl) に基づく相対リスクを推定した。個々のコホート研究での相対リスク (ハザード比) は男女計及び男女別に Cox 比例ハザ

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

上記の手法を用いて個々のコホートから得られた多変量調整ハザード比は、Random effect modelであるDerSimonian-Liard法を用いて結果の統合を行い、異質性の検討はCochrane Q検定及びI²値にて行い、Cochrane Q検定の結果がp<0.05もしくはI²値が40%を超える場合、異質性を無視できないと考えた。

2. 臨床検査学的検討

a) LDL-C 直接法の正確性とその使用適正条件の検討:

国立循環器病研究センターと大阪大学医学部附属病院において、成人被験者から、食後の絶食時間に関わらず静脈血を採取した。血清を分離後、2本に分けた。これらの検体は、4以下に保って24時間以内に直接法またはRMP法でLDL-CとHDL-Cを測定した。2本に分けた検体のうちの1本は、国立循環器病研究センター予防健診部の脂質基準分析室(国内で唯一CDCの認証を受けている)に送った。超遠心法で1.006より軽い分画をチューブスライサーで除去した上層(分画)と、その下層にヘパリン・マンガンを添加してアポB含有リポ蛋白も除去した上清を得た(分画)。分画とのコレステロール

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

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

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

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

(倫理面への配慮)

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

C. 結果

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

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

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

2、国内地域コホートのメタ解析

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

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

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

一方、脳卒中および脳梗塞については、男女共に有意な関連は見られなかった。

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

3. 臨床検査学的検討

a)LDL-C 直接法の正確性とその使用適正条件の検討:

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

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

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

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

b) TG の標準化に関する検討：

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

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

D . 考察

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

E . 結論

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

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

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

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

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

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

F . 健康危険情報

該当なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Hirayama A, Honarpour N, Yoshida M, Yamashita S, Huang F, Scott M W, asserman, Teramoto T. Effects of Evolocumab (AMG145), a Monoclonal Antibody to PCSK9, in Hypercholesterolemic, Statin-Treated Japanese Patients at High Cardiovascular Risk - Primary Results From the Phase 2 YUKAWA Study- Circulation Journal 178(5):1073-1082, 2014
2. The STABILITY Investigators, White HD, Held C, Stewart R, Tarka E, Brown R, Davies RY, Budaj A, Harrington RA, Steg PG, Ardissino D, Armstrong PW, Avezum A, Aylward

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

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

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

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

2. 学会発表

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

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

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

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

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

H . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

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

Non-HDL コレステロールの臨床的意義に関するメタアナリシス

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

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

研究要旨: LDL コレステロール(LDLC)と Non-HDL コレステロール(Non-HDLC)の脳・心血管疾患に対する発症・死亡イベントに対する予測能について、国内4か所の地域住民のコホート研究の結果から、メタアナリシスの手法を用いて比較検討した。対象としたのは、NIPPON DATA90、吹田コホート、CIRCS(Circulatory Risk in the Communities)、岩手県北コホートの4コホートであり、エンドポイントは心筋梗塞、冠動脈疾患、脳卒中、脳梗塞、全循環器疾患の発症または死亡とした。解析対象者数は41,662名(男性15,372名/女性26,290名)、追跡期間は6年(岩手)~18年(NIPPON DATA90)である。除外基準は、40歳未満もしくは75歳以上、脳・心血管疾患の既往、脂質低下薬の服用、欠損値のある者、トリグリセライド400mg/dl以上、である。相対リスクの推計はCoxの比例ハザードモデルで行い、性別(男女計のみ)、年齢、HDLコレステロール、高血圧、糖尿病、喫煙、飲酒、BMIを調整変数として用いた。個々のコホートから得られた多変量調整ハザード比をDerSimonian-Liard法で統合した。異質性の検討はCochrane Q検定及びI²値にて行い、Cochrane Q検定の結果がp<0.05もしくはI²値が40%を超える場合、異質性を無視できないとした。男性においては39mg/dl増加に対するリスク、JAS基準に基づくリスク、ATP III基準に基づくリスク、いずれの場合もLDL、Non-HDLともにエンドポイントと有意な関連を示し、異質性も確認されなかった。女性においてはエンドポイントとの有意な関連が明瞭ではなかった。男女計では、イベント数の多い男性と同様となったが、39mg/dl増加に対するリスクでは男女差による顕著な異質性が見られた。LDLCとNon-HDLCの心筋梗塞に対する相対リスクは、39mg/dl増加に対して約1.5、各学会基準のカットオフ値以上で約2.0であり、両者で差を認めなかった。

A. 研究目的

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

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

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

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

B. 研究方法

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

DATA90)または発症(その他の3コホート)とした。

LDLC、Non-HDLCについては、39mg/dl(1mmol/L)増加に対するエンドポイント増加の相対リスク 日本動脈硬化学会(JAS)のカットオフ基準(スクリーニング基準)に基づくエンドポイント増加の相対リスク(LDLC:140mg/dl未満に対する140mg/dl以上の相対リスク/Non-HDLC:170mg/dl未満に対する170mg/dl以上のエンドポイント増加の相対リスク) ATP-IIIのカットオフ基準に基づくエンドポイント増加の相対リスク(LDLC:160mg/dl未満に対する160mg/dl以上の相対リスク/Non-HDLC:190mg/dl未満に対する190mg/dl以上のエンドポイント増加の相対リスク)の3パターンについて検討した。また、参考として総コレステロール(TC)についても、JAS基準(カットオフ値220mg/dl)、ATP-III基準(カットオフ値240mg/dl)に基づく相対リスクを推定した。

各コホートにおける除外基準として、以下の条件を設定した。

ベースライン時点で40歳未満もしくは75歳以上の参加者(対象者を特定健診の年齢範囲に合わせるため)。

ベースライン時点で心血管疾患の既往のある参加者(一次予防のセッティングにするため)。

ベースライン時点で脂質降下薬を服用している参加者。

使用すべき変数に欠損値のある参加者。

トリグリセライド400mg/dl以上の参加者。

また、～の条件に空腹条件を加えた対象者に対する解析も同時に実施した。

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

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

上記の手法を用いて個々のコホートから得られた多変量調整ハザード比は、Random effect model である DerSimonian-Liand 法を用いて結果の統合を行い、異質性の検討は Cochrane Q 検定及び I² 値にて行い、Cochrane Q 検定の結果が p<0.05 もしくは I² 値が 40% を超える場合、異質性を無視できないと考えた。

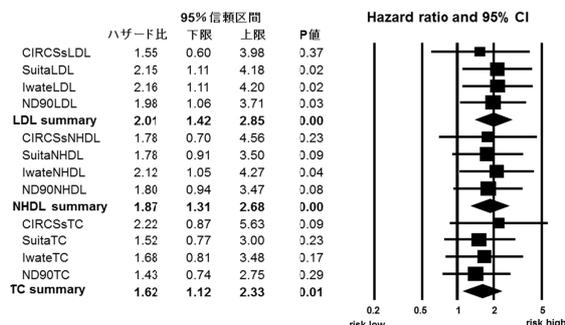
C. 研究結果

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

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

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

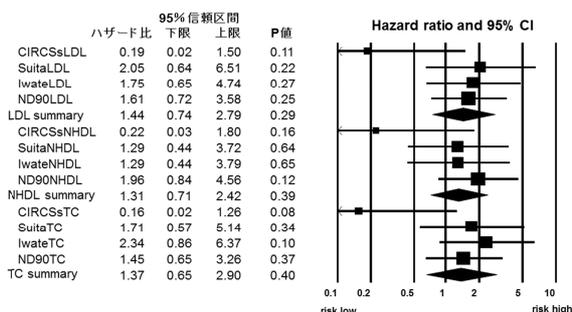
図 1. 心筋梗塞: JAS 基準 (男性・非空腹)



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

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

図 2. 心筋梗塞: JAS 基準 (女性・非空腹)



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

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

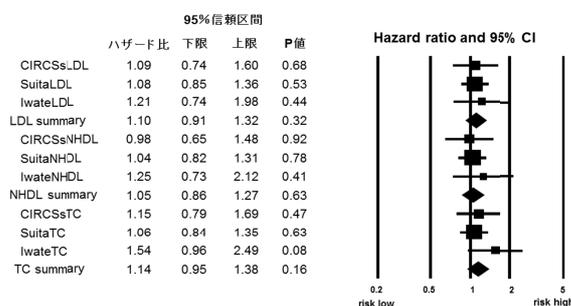
また、65 歳未満及び 65 歳以上に対する年齢階層別の検討では、個々の年齢層におけるイベント発生数が十分ではないために、安定した結果を得ることができなかった (表 2 (1) ~ 2 (5))。

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

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

一例として、全循環器疾患に対するJAS基準を基にした結果を示す(図3)。

図3. 全循環器疾患:JAS基準(男女計・空腹)



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

D. 考察

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

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

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

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

海外において「LDL-C+30mg/dl」と設定している事が一般的であること

わが国でも臨床現場をベースにした検討においても「LDL-C+30mg/dl」が妥当であること^[3]

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

E. 結論

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

は死亡と有意な関連を示し、異質性も確認されなかった。女性においてはそもそもエンドポイントとの有意な関連が明瞭ではなく、異質性も高かった。

男女計では、イベント数の多い男性と同様となったが、39mg/dl 増加に対するリスクでは男女差による顕著な異質性が見られた。

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

<参考文献>

[1] 動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012 年版. 日本動脈硬化学会, 2012.

該当せず

* 岩手県北地域コホート研究グループ

田中文隆 (岩手医科大学医学部内科学講座 心血管・腎・内分泌内科分野)

丹野高三 (岩手医科大学衛生学公衆衛生学講座)

小笠原邦昭 (岩手医科大学医学部脳神経外科学講座)

中村元行 (岩手医科大学医学部内科学講座 心血管・腎・内分泌 j 内科分野)

岡山 明 (生活習慣病予防研究センター)

[2] Miida T, et al. Atherosclerosis. 225:208-15. 2012.

[3] Shimano H, et al. J Atheroscler Thromb. 15:116-21, 2008.

G. 研究発表

1. 岡村智教. 動脈硬化性疾患予防のための脂質異常症の管理: 最新の疫学知見と日米のガイドラインから. 東京都医師会雑誌 67(10): 1283-1290, 2014.

H. 知的所有権の取得状況

なし

厚生労働科学研究補助金(循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業) 分担研究報告書

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

Non-HDL コレステロールの臨床的意義に関する文献レビュー

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

研究協力者 杉山大典 慶應義塾大学医学部 衛生学公衆衛生学
桑原和代 慶應義塾大学医学部 衛生学公衆衛生学
深井航太 慶應義塾大学医学部 衛生学公衆衛生学
加藤寿寿華 慶應義塾大学医学部 衛生学公衆衛生学
飯田美穂 慶應義塾大学医学部 衛生学公衆衛生学
石川 碧 慶應義塾大学医学部 衛生学公衆衛生学
村木 功 大阪がん循環器病予防センター
羽山実奈 大阪がん循環器病予防センター
梶浦 貢 大阪がん循環器病予防センター
陣内裕成 大阪大学大学院 医学系研究科 公衆衛生学
丸山広達 愛媛大学大学院 医学系研究科 医学専攻 統合医科学
竹上未紗 国立循環器病研究センター 予防医学疫学情報部
伊藤隆洋 滋賀医科大学 社会医学講座 公衆衛生学
Maryam Zaid 滋賀医科大学 社会医学講座 公衆衛生学部門
Nguyen Nhu Ho 滋賀医科大学 社会医学講座 公衆衛生学部門
久松隆史 滋賀医科大学 アジア疫学研究センター

研究要旨：2008年より特定健診が開始されたことによって、健診項目としてLDLコレステロール(LDLC)が一般的に普及したものの、直接法による測定はその正確性に、Friedewald式を用いた間接法は空腹要件などその運用面に課題を抱えている。本研究は、現状ではLDLCの管理目標達成後の二次目標とされているNon-HDLコレステロール(Non-HDLC)を健診などプライマリアケア時のスクリーニング指標にした時の妥当性について、LDLCとの比較を念頭におきながら文献レビューで検証することとした。昨年度は、1990年1月から2013年8月末までにPubMedで検索可能な文献を対象としたが、今年度は検索期間の終期を2014年7月末まで延長した。その結果、最終的に119件の前向き研究の文献が選定された。このうち 特定健診対象者と属性が近い集団(地域、職域、健診受診者など) エンドポイントが脳・心血管疾患、冠動脈疾患(心筋梗塞)、心不全、冠動脈石灰化、頸動脈IMT、糖尿病のいずれか、Non-HDLC

またはLDLCのいずれかがこれらのエンドポイントと関連を示しているもの、を選定すると35件が該当した。このうち Non-HDLC の予測能がLDLC を凌駕するという文献が21件(日本人集団の論文は1件)、両者の予測能に差はないという文献が14件(日本人集団の論文は3件)となった。LDL の予測能が Non-HDL を凌駕するという論文はなかった。出版バイアスの影響等を考慮すると、プライマリケアのセッティングでは、Non-HDLC の循環器系・代謝系疾患の発症予測能はLDLC と同等と考えられた。

A. 研究目的

2008年4月より特定健診でLDL コレステロール(LDLC)の測定が行われるようになり、健診項目として広く普及するようになった。ほぼ時を同じくしてわが国ではホモジニアス法を用いて血清LDLCを直接測定する試薬が複数メーカーから販売されているが、測定キット間でLDLC値に含まれるレムナント分画が異なるため、レムナントが増加する高トリグリセリド(TG)血症の場合、試薬によってはLDLC値を正確に評価できないことがあることがわが国の検証試験でも報告されている^[1]。そのため、脂質異常症のスクリーニング検査として『動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012』(日本動脈硬化学会)^[2]が推奨しているのは、空腹時採血での総コレステロール、HDL コレステロール(HDLC) TG および、これらの値から Friedewald 式^[3]を用いて推定する間接法によるLDLCである。

ところが、Friedewald 式を用いた場合でも、血清TGが400mg/dL以上ではLDL コレステロール値が推定不可能であることはもちろん、TGが400mg/dL未満であってもTGが200mg/dLを超えるとLDLCを過小評価してしまう事が知られている。健診現場、特に市町村国保においては、対象者全員に空腹時採血を遵守させるのは事実上不可能であることから、直接法同様にFriedewald 式を用いた間接法によるLDL コレステロール値も、現実的には運用性に欠ける検査項目と言える。

そこで、『動脈硬化性疾患ガイドライン 2012』^[4]では食後採血の場合やTG高値の場合には、LDLC値ではなく、総コレステロール値からHDLC値を引いたNon-HDLC値による評価を推奨している。

血清総コレステロール、HDLCについては、食事の影響を比較的受けにくく、また、日本の臨床検査室における測定精度もCDC/CRIMIN プロトコールに基づいた国際的基準の下でも問題ないレベルに標準化されており^[4]、LDLCに比べて運用性・妥当性の高い検査項目と考えられる。

さらにNon-HDLCは単純に総コレステロールからHDLCを減じた指標なので、計算が容易であるだけでなく、レムナントリポ蛋白に代表される動脈硬化惹起性リポ蛋白を全て含む指標となるため、一般集団においてもLDL コレステロールよりも動脈硬化性疾患の発症予測能が優れているという報告もある^{[5][6]}。

そこで、本研究では昨年度に引き続きNon-HDLCの動脈硬化性疾患危険因子としての意義について、特にLDLCとの比較を念頭におきながら文献をレビューし、健診等においてNon-HDLCをLDLCの代わりとして利用可能かどうかを検討した。

B. 研究方法

昨年と同様、本研究における文献選定基準は下記の通り設定した。

Non-HDC のリスクまたは治療効果を臨床イベント(動脈硬化性疾患の発症や内皮

機能の改善等)で判定しているもの。なお無作為化比較試験においては、エンドポイントが単に Non-HDL-C 値の改善のみにとどまっている文献は除外する。

スタチンの普及を念頭に置いて現状に近い状況で検証するため、1990年以降の文献に限定する。

対象とする原著またはメタ・アナリシス(公表データベースの解析、pooled analysisの両方を含む)とし、総説は除外する。

研究デザインは前向きのものだけとし、以下の3種に絞った。前向きコホート研究、コホート内症例・対照研究(Nested case-control研究)、無作為化比較対照試験。横断研究及び単純なcase-control研究は除外した。

人間対象の研究とし、対象集団は地域住民、職域、患者集団(脂質異常症、糖尿病など)を問わない。

研究が実施された国・地域は問わない。

また、文献検索および選定については以下の手順で行った。

研究デザイン等での検証は見落とし等の問題もあり、困難であるため以下の条件でまず検索をかけた(昨年度は後ろの日付が2013/08/31となっていた)。

<検索式>

```
((non-hdl cholesterol OR non-hdlc) AND("1990/01/01"[PDat] : "2014/07/31"[PDat]) AND Humans[Mesh] AND English[lang])
```

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

この文献リストを各研究分担者に送付し、各グループで研究協力者等と分担して一

次選定を行い、タイトルと抄録から論文本文を読む必要があるものを選定した。

一次選定したもののリストを慶應大学まで送付してもらい、最終的に読む必要があると思われる論文を選定し、再度文献リストを研究分担者に配布。

各担当者が担当論文を一読し、不適切な文献を除外して二次選定論文を確定。

レビューシートに二次選定論文の概要を記載して慶應大学グループまで送付。集積したレビューシートを慶應大学に集積し、再度確認の上、最終選定論文を固定する。

C. 研究結果

今年度は、検索式の条件で121件、検索式から"Human"を外した条件で191件の論文が新たに選定された(重複あり)。これを各研究分担者等に送付し、からのステップを通じた結果、昨年度選定済みのものを除くと計19件がエビデンステーブル作成の対象となった(表1、エビデンステーブルを添付)。昨年度(2013年度)は1085件の論文が選定され、100件の論文についてエビデンステーブルが作成されており、今年度と合わせると計118件のエビデンステーブルが作成された。

この119件の文献から、特定健診対象者のセッティングが近い(地域、職域、健診受診者の集団など)エンドポイントが脳・心血管疾患、冠動脈疾患(心筋梗塞)、心不全、冠動脈石灰化、頸動脈IMT、糖尿病のいずれか、Non-HDLまたはLDLのいずれかがこれらのエンドポイントと関連を示しているものを選定すると35件が該当した。結果を表2に示した。研究の行われた地域の内訳は、日本4件、東アジア1件、非アジア(欧米)30件であった。そしてNon-HDL-C

の予測能がLDLCより優れるという論文が21件(日本人集団の論文は1件)、両者の予測能に差はないという論文が14件(日本人集団の論文は3件)であり、LDLCの予測能がNon-HDLCを凌駕するという論文はなかった。

D. 考察

本研究によって、1990年以降、non-HDLコレステロールの臨床的意義に関するエビデンスは着実に蓄積されていた。そして健診集団と近い非患者の一般集団の研究に限っても35件あり、日本におけるエビデンスも4件あった。論文の数としては、Non-HDLCの予測能がLDLCより優れるという論文が多いが、これらにはPublication Biasが考えられ、Non-HDLCの予測能が高いという結論の論文のほうが公表されやすい傾向にあると考えられる。また日本のエビデンスに限ると4つのうち3つまでもが両者の予測能に差はないという結果であった。以上のことから文献レビューの結論としては、「プライマリケアのセッティングで、Non-HDLCの脳・心血管疾患等のイベント予測能はLDLCと同等(もしくは優れるかもしれない)と考えられた

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

いずれにせよ、Non-HDLCのプライマリケアでの検査項目としての有用性に関するエビデンスについては今後さらに集積が必要である。また現状のエビデンスはほとんどが観察研究(コホート研究)に基づいており、

無作為化比較試験においてNon-HDLCの治療効果を検証した文献はない。ただし既存の多くの臨床試験で、総コレステロールとHDLCの測定はなされているため、既存データの再解析等を行えば容易に検証は可能と考えられた。

なお現在の日本動脈硬化学会等の内外のガイドラインでは、Non-HDLCの基準値は、LDLCプラス30mg/dlとされている。これはNon-HDLCがLDLCの管理目標値達成後の二次目標とされているためであり、対象者のTGが150mg/dl以上あることが前提となっている。しかしながら、今後、Non-HDLCをLDLCの代わりに一次予防の指標として用いるとすると、全員が高TG血症を有するわけではないため、Non-HDLCについて健診用の基準値が必要とされる。吹田研究においてはNon-HDLコレステロールとLDLコレステロールの心筋梗塞の発症予測能は同等であることが示されているが^[7]、Non-HDLCとLDLC値のカットオフポイントの対応については検証されていない。今後、この分野でも再検討が必要となるであろう。

E. 結論

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

<参考文献>

- [1] Miida T, et al. Atherosclerosis. 225:208-15.2012.
- [2] 動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012年版. 日本動脈硬化学会,2012.
- [3] Friedewald W, et al. Clin Chem. 18:499-502.1972.
- [4] Nakamura M, et al. J Atheroscler Thromb. 10:145-53.2003.
- [5] Cui Y, et al, Arch Intern Med. 161:1413-1419,2001
- [6] Pischon T, et al. Circulation. 112:3375-3383,2005
- [7] Okamura T, et al. Atherosclerosis. 203: 587-92, 2009.

G . 研究発表

- 1. 岡村智教 . 動脈硬化性疾患予防のための脂質異常症の管理 : 最新の疫学知見と日米のガイドラインから . 東京都医師会雑誌 67(10): 1283-1290, 2014.

H . 知的所有権の取得状況

特になし

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

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

（H25-循環器等（生習）-一般-015）研究班 分担研究報告書

Non-HDL コレステロールの循環器疾患発症に対する予測 LDL コレステロールと総コレステロールとの比較 -吹田研究-

分担研究者 宮本 恵宏 国立循環器病研究センター予防医学・疫学情報部

研究協力者 竹上 未紗 国立循環器病研究センター予防医学・疫学情報部

研究要旨：吹田研究は都市部住民を対象としたコホート研究であり、都市部における日本人の循環器病疾患のリスクについての研究をおこなっている。吹田研究は、平成元年に吹田市の住民台帳より 12,200 名を無作為抽出し、その中で同意が得られた 30～79 歳の 6,485 名を第一次コホートとして追跡をしている。今回の解析ではこの集団を用いた。

都市部住民コホート研究のベースラインデータを用いて、LDL-C、non-HDL-C、TC それぞれについて、アウトカムを心筋梗塞、冠動脈疾患、脳卒中、脳梗塞、全循環器疾患の発症とした Cox 回帰分析を行った。その際、性別、年齢、HDL-C、高血圧、糖尿病、喫煙、飲酒、BMI を調整変数として用いた。同様の解析を男女別に実施した。冠動脈疾患については、男性では 39mg/dl 増加に対するリスク、JAS 基準に基づくリスク、ATP III 基準に基づくリスク、いずれの場合も LDL-C、Non-HDL-C ともに有意な関連を示した。女性では、関連がある傾向がみられたが、統計的な差はみられなかった。脳卒中は、男女とも LDL-C、Non-HDL-C と関連は見られなかった。

A. 研究目的

1) 吹田研究

吹田研究は都市部住民を対象としたコホート研究であり、都市部における日本人の循環器病リスクの研究をおこなっている。吹田研究は、平成元年に吹田市の住民台帳より 12,200 名を無作為抽出し、その中で同意が得られた 30～79 歳の 6,485 名を第一次コホートとして追跡をしている。

対象者は隔年に国立循環器病研究センターで循環器健診を受診することになっており、対象者の同意のもと、さまざまな追加検査が実施されている。たとえば、糖負荷検査や頸部超音波検査、心臓超音波検査に加えて、運

動や栄養などの生活習慣についての質問紙調査も実施されている。

吹田研究のエンドポイントは、脳卒中および心筋梗塞の発症である。吹田研究では従来の循環器疾患（脳血管障害・心筋梗塞）の発症をエンドポイントとした追跡にくわえ、冠動脈バイパス術や血管形成術（バルーンやステント留置）も含めて虚血性心疾患としてエンドポイントの拡大を行っている。

発症調査は以下の方法で行っている。

毎年、脳血管障害・心筋梗塞発症状況調査票を送付して、脳血管障害・心筋梗塞の発症を把握する。調査票が未返送の場合、電話等で確認する。隔年の健診受診時に

発症の既往を聞き取る。人口動態統計(死因統計)から循環器疾患死亡を確認する。

～の内容を医師研究者が確認し、同意が得られた者を対象に入院時のカルテ調査を行って確定診断を得る。なおカルテ調査が不能または人口動態統計では循環器疾患死亡が確認できるが発症歴が確認できなかったものは「疑い」扱いとして分類している。

吹田研究での冠動脈疾患と脳卒中の割合は日本の他地域でのコホート研究と比べて高く、日本においても都市部では冠動脈疾患の比率が高くなっている可能性が考えられる。吹田市は大阪市に隣接した都市であり、商工業地域とベットタウンで構成され、人口密度は平方キロメートルあたり1万弱である。市区町村の区域内で人口密度が4,000人/km²以上の基本単位区が互いに隣接して人口が5,000人以上となる地区を人口密集地区とされるが、日本の人口の3分の2は人口密集地区に居住しており、都市部でのコホート研究としての吹田研究の意義は大きい。これまでに、吹田研究から血圧¹⁾、血糖²⁾、脂質³⁾などの古典的リスク要因についての報告がある。

2) 研究の背景

『動脈硬化性疾患ガイドライン 2012年版』では⁴⁾、LDL (Low-density lipoprotein) コレステロール (LDL-C) の管理目標達成後の二次目標として、総コレステロール (TC) から HDL (high-density lipoprotein) コレステロール (HDL-C) を減じた non-HDL コレステロール (Non-HDL-C) を LDL (Low-density lipoprotein) コレステロール (LDL-C) の管理目標達成後の二次目標

としている。また空腹時採血でない場合や中性脂肪 (TG) の値が高い場合は、Non-HDL-C によるリスク評価を推奨している。TC と HDL-C は、食事の影響を比較的受けにくく、一般住民や職域での健診では、LDL-C に比べて運用性の高い。しかしながら、Non-HDL-C と LDL-C の発症リスクの予測能について検討した研究は国内では少ない。

3) 目的

本研究の目的は、non-HDL-C が動脈硬化性疾患危険因子として健診等で、LDL-C の代わりとして活用可能かどうかを検討するために、LDL-C、non-HDL-C、TC と循環器イベントとの関連を比較検討することとした。

B. 研究方法

1) 対象者

吹田研究は、平成元年に吹田市の住民台帳より 12,200 名を無作為抽出し、その中で同意が得られた 30～79 歳の 6,485 名を第一次コホートとして設定しており、今回の解析ではこの集団を用いた。本研究では、ベースライン調査 (1989 年 4 月から 1994 年 3 月) 参加者を対象とし、除外基準を下記とした。

ベースライン時点で 40 歳未満もしくは 75 歳以上の参加者

ベースライン時点で心血管疾患の既往のある参加者

ベースライン時点で脂質降下薬を服用している参加者

使用すべき変数に欠損値のある参加者

トリグリセライド 400mg/dl 以上の参加者

また、～の条件に空腹条件を加えた

対象者に対する解析も同時に実施した。

2) LDL-C と Non-HDL-C

LDL-C の測定は homogeneous method による測定キット (デンカ生研、東京) を用いて日立 7180 自動分析器でおこなった。LDL-C はフリードワルド式により計算した。

LDL-C、Non-HDL-C については、39mg/dl (1mmol/L) 増加に対するエンドポイント増加の相対リスク 日本動脈硬化学会 (JAS) のカットオフ基準 (スクリーニング基準) に基づくエンドポイント増加の相対リスク (LDL-C : 140mg/dl 未満に対する 140mg/dl 以上の相対リスク / Non-HDL-C : 170mg/dl 未満に対する 170mg/dl 以上のエンドポイント増加の相対リスク) National Cholesterol Education Program (NCEP) の Adult Treatment Panel (ATP)-III のカットオフ基準に基づくエンドポイント増加の相対リスク (LDL-C : 160mg/dl 未満に対する 160mg/dl 以上の相対リスク / Non-HDL-C : 190mg/dl 未満に対する 190mg/dl 以上のエンドポイント増加の相対リスク) の 3 パターンについて検討した。また、参考として TC についても、JAS 基準 (カットオフ値 220mg/dl) ATP-III 基準 (カットオフ値 240mg/dl) に基づく相対リスクを推定した。

3) エンドポイント

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

を含む) とした。

4) 統計解析

Non-HDL-C、および LDL-C とエンドポイントとの関連は Cox 比例ハザードモデルを用いて検討した。その際、性別、年齢、HDL-C、高血圧の有無 (収縮期血圧 140mmHg or 拡張期血圧 90mmHg または降圧薬服用) 糖尿病の有無 (随時血糖 200mg/dl または空腹時血糖 126mg/dl または HbA1c 6.1% [JDS 値] または血糖降下薬等の使用) 現在喫煙の有無、現在飲酒の有無、BMI で調整した。

男女別、年齢別 (65 歳未満、65 歳以上) に同様の解析を行った。

4) 倫理的事項

本研究は疫学研究に関する倫理指針に従い、国立循環器病センター倫理委員会の承認を得ておこなった。

C. 研究結果

空腹条件 (食後 8 時間) を満たした対象者は、4,144 名 (男性 1,965 名) であった。空腹条件を満たさない参加者を含めた場合の解析対象者数は 4,424 名 (男性 2,089 名) であった。それぞれの解析対象者の特性を表 1-1 (空腹条件あり) 表 1-2 (空腹条件なし) に示す。

空腹条件を満たした対象における全循環器疾患、冠動脈疾患、心筋梗塞、脳卒中、脳梗塞のそれぞれをエンドポイントとした Cox 比例ハザードモデルで推定したハザード比 (HR) と 95% 信頼区間 (95%CI) を表 2-1 ~ 2-5 に示す。

男性において LDL-C、Non-HDL-C、TC とも 39mg/dl (1mmol/L) 増加と冠動脈疾患、

統計的に有意な関連があった (LDL-C: HR=1.33, 95%CI: 1.05-1.68, Non-HDL-C: HR=1.27, 95%CI: 1.01-1.59, TC: HR=1.27, 95%CI: 1.01-1.59)。 Non-HDL-C は、ATP- 基準において冠動脈疾患と有意な関連があった (HR=1.71, 95%CI: 1.05-2.78) が、JAS 基準では有意な関連はみられなかった。一方、心筋梗塞においては、39mg/dl (1mmol/L) 増加と統計的に有意な関連があったのは LDL-C のみであったが、JAS 基準で LDL-C (HR=2.13, 95%CI: 1.10-4.714) と ATP 基準で Non-HDL-C と有意な関連があった (HR=2.14, 95%CI: 1.04-4.42)。特に、40-64 歳の男性において、強い関連がみられた。

女性については、すべての疾患において、LDL-C、Non-HDL-C との有意な関連は見られなかったが、LDL-C、Non-HDL-C とともに ATP-

基準において冠動脈疾患と関連がある傾向があった (LDL-C: HR=1.76, 95%CI: 0.95-3.24, Non-HDL-C: HR=1.75, 95%CI: 0.93-3.29)。一方、TC は冠動脈疾患と有意な関連があった (HR=1.96, 95%CI: 1.07-3.60)。心筋梗塞をエンドポイントとした解析においても、同様の傾向がみられた (LDL-C: HR=2.59, 95%CI: 0.88-7.58, Non-HDL-C: HR=2.67, 95%CI: 0.88-8.11, TC: HR=3.82, 95%CI: 1.25-11.68)。

空腹条件を満たさない対象者を含めた同様の解析結果を表 3-1 ~ 3-5 に示す。空腹条件を満たした対象者のみの結果とほぼ同様の結果であった。

D. 考察

都市部住民において、性別、年齢階級別に LDL-C、non-HDL-C、TC と循環器疾患、冠動脈疾患、心筋梗塞、脳卒中、脳梗塞と

の関連を検討した。

本解析の結果より、冠動脈疾患と心筋梗塞の発症において、LDL-C と Non-HDL-C の予測能は、特に男性においてほぼ同等であることが示された。その一方、女性においては、LDL-C、non-HDL-C と冠動脈疾患、心筋梗塞とも関連がある傾向はみられたが、統計的な差はみられなかった。一方、TC とは冠動脈疾患、心筋梗塞とも統計的な有意な関連がみられた。日本の都市部在住の女性については、冠動脈疾患、心疾患の予測において、TC が有用である可能性があるが、LDL-C、Non-HDL-C においては JAS 基準や NCEP 基準よりも高いカットオフ値を用いてこれらの疾患との関連を検討する必要がある。

脳卒中、脳梗塞については、LDL-C、non-HDL-C、TC とともに関連は見られなかった。吹田コホートの対象において、脳梗塞の発症した対象者が少ないことが原因とも考えられるが、脳梗塞以外の出血性のイベントは、脂質が低いほうがリスクが高いことが報告されており、関連がみられなくなった可能性もある。しかしながら、いずれも症例数の問題から検証することは難しく、より大きな集団での検討が望まれる。

LDL-C、non-HDL-C は吹田研究において、ともに日本都市住民の冠動脈疾患、心筋梗塞のリスクであることが示された。同じように心筋梗塞を予測できるのであれば、空腹時採血を必要としない TC と HDL-C の組み合わせで算出できる NHDL-C のほうがより簡便な指標である。加えて、現行の内外の LDL-C のエビデンスはそのほとんどがフリードワルド式に基づいており、近年行われている LDL-C の直接測定値の工

ビデンスは少ない。このような状況において、non-HDL-Cは動脈硬化性疾患のリスク指標として有用である可能性が高い。

E. 結論

都市部住民コホート研究のベースラインデータからLDL-Cとnon-HDL-Cを比較した。冠動脈疾患については、男性では39mg/dl増加に対するリスク、JAS基準に基づくリスク、ATP III基準に基づくリスク、いずれの場合もLDL-C、Non-HDL-Cともに有意な関連を示した。女性では、関連がある傾向が見られた。脳卒中は、男女ともLDL-C、Non-HDL-Cと関連は見られなかった。Non-HDL-Cは、冠動脈疾患の予測指標としてLDL-Cと遜色なく臨床上有用な指標であることが示された。

参考文献

- 1) Kokubo Y, et al. Impact of High-Normal Blood Pressure on the Risk of Cardiovascular Disease in a Japanese Urban Cohort The Suita Study. *Hypertension* 2008; 52: 652-9.
- 2) Kokubo Y, et al. The combined impact of blood pressure category and glucose abnormality on the incidence of cardiovascular diseases in a Japanese urban cohort: the Suita Study. *Hypertens Res.* 2010; 33, 1238–1243.
- 3) Okamura T, et al. Triglycerides and non-high-density lipoprotein cholesterol and the incidence of cardiovascular disease in an urban Japanese cohort: The Suita study. *Atherosclerosis.* 2010; 209: 290-4.
- 4) 動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012年版. 日本動脈硬化学会,2012.

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

(論文公表)

- 1) Iwashima Y, Kokubo Y, Ono T, Yoshimuta Y, Kida M, Kosaka T, Maeda Y, Kawano Y, Miyamoto Y. Additive interaction of oral health disorders on risk of hypertension in a Japanese urban population: the Suita Study. *American journal of hypertension.* 2014;27(5):710-9.
- 2) Kosaka T, Kokubo Y, Ono T, Sekine S, Kida M, Kikui M, Yamamoto M, Watanabe M, Amano A, Maeda Y, Miyamoto Y. Salivary inflammatory cytokines may be novel markers of carotid atherosclerosis in a Japanese general population: the Suita study. *Atherosclerosis.* 2014;237(1):123-8.
- 3) Kosaka T, Ono T, Yoshimuta Y, Kida M, Kikui M, Nokubi T, Maeda Y, Kokubo Y, Watanabe M, Miyamoto Y. The effect of periodontal status and occlusal support on masticatory performance: the Suita study. *Journal of clinical periodontology.* 2014;41(5):497-503.
- 4) Nishimura K, Okamura T, Watanabe M, Nakai M, Takegami M, Higashiyama A, Kokubo Y, Okayama A, Miyamoto Y. Predicting coronary heart disease using risk factor categories for a Japanese urban population, and comparison with the framingham risk score: the suita study. *J Atheroscler Thromb.* 2014;21(8):784-98.
- 5) Sakamoto Y, Kokubo Y, Toyoda K,

- Watanabe M, Tanigawa T, Miyamoto Y. Sleep-disordered breathing is associated with elevated human atrial natriuretic peptide levels in a Japanese urban population: the Suita study. International journal of cardiology. 2014;173(2):334-5.
- 6) Tsukinoki R, Okamura T, Watanabe M, Kokubo Y, Higashiyama A, Nishimura K, Takegami M, Murakami Y, Okayama A, Miyamoto Y. Blood pressure, low-density lipoprotein cholesterol, and incidences of coronary artery disease and ischemic stroke in Japanese: the Suita study. American journal of hypertension. 2014;27(11):1362-9.
- 7) Maruyama K, Kokubo Y, Yamanaka T, Watanabe M, Iso H, Okamura T, Miyamoto Y. The reasonable reliability of a self-administered food frequency questionnaire for an urban, Japanese, middle-aged population: the Suita study. Nutrition research. 2015;35(1):14-22.

H. 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（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）

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

分担研究者 木山昌彦

大阪がん循環器病予防センター副所長兼循環器病予防健診部長

研究要旨

CIRCS (Circulatory Risk in Communities Study) は、1963 年に開始された地域住民を対象とした循環器疾患の疫学研究であり、現在も、大阪、秋田、茨城のフィールドにおいて、地域の予防対策の一環として疫学研究が続けられている。血清脂質の測定は、1975 年から現在まで、米国 CDC-NHLBI の標準化プログラムの認証を継続して得ている。

1990 年代の CIRCS における LDL コレステロール (LDLC) と non-HDL コレステロール (nonHDLc) の心筋梗塞発症ハザード比 (HR) を比較した結果、全集団の男性では LDLC140mg/dL 未満に比べ、140mg/dL で心筋梗塞発症 HR が 1.55 (95%信頼区間: 0.60-3.98) であった。また、nonHDLc170mg/dL 未満に対する nonHDLc170mg/dL 以上の心筋梗塞発症 HR は 1.78 (0.70-4.56) であった。また、空腹時採血の男性では、それぞれ 2.97 (0.76-11.59)、1.21 (0.29-5.11) であった。これらの結果から、比較的最近の年代においても男性では LDLC、nonHDLc の心筋梗塞発症リスクとの関連は同程度であった。採血条件の違いによる関連の差については更なる検討が必要である。

A. 研究目的

CIRCS (Circulatory Risk in Communities Study) は、1960 年代初頭に大阪府立成人病センター集団検診第一部 (2001 年度より大阪府立健康科学センター、2012 年度より大阪がん循環器病予防センター循環器病予防部門) が開始した循環器疾患の疫学研究の総称である。1963 年から大阪府八尾市の一部 (曙川・恩智・南高安地区)、秋田県井川町と本荘市 (現・由利本荘市) の石沢・北内越地区での研究が開始され、さらに 1969 年からは高知県野市町 (現・香南市野市町)、1981 年から茨城県協和町 (現・筑西市協

和地区) が加わり、現在は、大阪府八尾市南高安地区、秋田県井川町、および茨城県筑西市協和地区において、地域の予防対策の一環として疫学研究を続けている。

研究内容としては、精度管理された各種検査、生活習慣に関する調査、脳卒中・虚血性心疾患などの発症調査を継続して行い、質の高いデータに基づく脳卒中・虚血性心疾患等の発症動向や危険因子を検討中である。血清脂質は、1975 年から現在までセンターの検査室で測定しており、米国 CDC-NHLBI の標準化プログラムの認証 (現在、国立循環器病センター脂

質基準分析室にて認証)を継続して得ている。

昨年度にCIRCSにおける1970~80年代のベースライン調査に対するその後の虚血性心疾患発症リスクについて non-HDL コレステロール(nonHDLc)と LDL コレステロール(LDLc)との関連を検討したことを踏まえ、今年度は1990年代のベースライン調査結果を用いて、nonHDLcと LDLcの心筋梗塞発症ハザード比の比較検討、および全集団および空腹時採血のみに限定した集団について結果の比較検討を行った。

B. 研究方法

1. 対象

秋田、大阪、高知、茨城の4地域住民の健診受診者のうち循環器疾患の既往の無い40~74歳男女を対象とした。空腹時採血者が多い時期を考慮し、ベースライン調査は、秋田、大阪、高知では1992~1997年、茨城では1998~2003年とした。脂質降下薬内服中の者、中性脂肪(TG)値400mg/dL以上の者、解析項目に欠損値を有する者は解析対象から除外した。追跡調査は秋田、大阪、茨城では2012年末まで、高知では2005年末までとした。

2. LDLcおよびnonHDLcの定義

LDLc値は総コレステロール(TC)値とHDLコレステロール(HDLc)値、TG値からFriedewald式($LDLc=TC-HDLc-0.2*TG$)を用いて算出し、nonHDLc値はTC値からHDLc値を差し引いて算出した。

Friedewald式は空腹時採血(食後採血時間8時間以上)、非空腹時採血(食後採血

時間8時間未満)を問わず、LDLc値の算出に用いた。

3. 心筋梗塞の定義

心筋梗塞はWHOの診断基準に基づき、典型的な症状(胸痛、胸部拘扼感など)に加え、急性期の心電図検査における冠性T波、ST上昇など心筋梗塞を示唆する所見、または血液検査における心筋酵素の逸脱の少なくとも一方を認めた場合を確実例、典型的な症状はあるものの、明らかな検査所見を認められなかった場合を疑い例と定義し、本研究では確実例および疑い例を併せて心筋梗塞発症とした。

4. 統計解析

LDLc値は140mg/dl未満、140mg/dl以上、160mg/dl未満、160mg/dl以上に区分し、nonHDLc値は170mg/dl未満、170mg/dl以上、190mg/dl未満、190mg/dl以上に区分し、それぞれ低値群に対する高値群の心筋梗塞発症ハザード比(HR)をCOX比例ハザードモデルにより算出した。同様に、LDLcおよびnonHDLcの連続量を用いて、39mg/dlの差毎に対する心筋梗塞発症HRも併せて算出した。交絡因子として、年齢、性別(男女計のみ)、BMI(連続量)、現在飲酒(あり、なし)、現在喫煙(あり、なし)、HDLc値(連続量)、高血圧(収縮期血圧140mmHg以上、拡張期血圧90mmHg以上、降圧薬服用のいずれかを満たす:あり、なし)、糖尿病(非空腹時血糖200mg/dl以上、空腹時血糖126mg/dl以上、血糖降下薬等の使用のいずれかを満たす:あり、なし)を調整した。

5. 倫理面への配慮

本研究は、大阪がん循環器病予防センター倫理審査委員会の承認を得ており、「疫学研究に関する倫理指針」ならびに個人情報保護に関する国のガイドラインや指針等に則ってデータ解析を行なった。

C . 研究結果

1 . 解析対象者の特性 (表 1)

本研究における全集団の解析対象者数は 12,432 人(男性 : 4,510 人、女性 7,922 人)であり、平均 13.9 年の追跡期間中に心筋梗塞を 28 例(男性 19 例、女性 9 例)で認めた。また、空腹時採血のみに限定した集団の解析対象者数は 5,298 人(男性 : 2,119 人、女性 : 3,279 人)であり、平均 14.4 年の追跡期間中に心筋梗塞を 13 例(男性 9 例、女性 4 例)で認めた。

空腹時採血のみに限定した集団では、全集団よりも TG 値、血糖値が低く、糖尿病合併者の割合がやや高かった。その他の特性に大きな違いは認められなかった。

2 . 全集団における LDLC、nonHDLc の心筋梗塞発症ハザード比 (表 2)

男性では LDLC140mg/dL 未満に対する 140mg/dL 以上の HR は 1.55 (95%信頼区間 : 0.60-3.98)であり、160mg/dL 未満に対する 160mg/dL 以上の HR は 1.45 (0.42-5.05)であった(表 3)。同様に、nonHDLc170mg/dL 未満に対する 170mg/dL 以上の HR は 1.78 (0.70-4.56)であり、190mg/dL 未満に対する 190mg/dL 以上の HR は 0.90 (0.21-3.97)であった。女性では高値群からの発症者数が 0 例または 1 例と極めて少ないため、検討困難であった。

3 . 空腹時採血のみの集団における LDLC、nonHDLc の心筋梗塞発症ハザード比 (表 3)

男性では LDLC140mg/dL 未満に対する 140mg/dL 以上の HR は 2.97 (0.76-11.59)であった。同様に、nonHDLc170mg/dL 未満に対する 170mg/dL 以上の HR は 1.21 (0.29-5.11)であった。LDLC 160mg/dL 以上、nonHDLc190mg/dL 以上での発症数 0 例または 1 例と極めて少ないための LDLC160mg/dL 未満、160mg/dL 以上および nonHDLc190mg/dL 未満、190mg/dL 以上の 2 区分での検討は困難であった。同様に、女性では高値群からの発症者数が 0 例であったため、検討困難であった。

D . 考察

本検討から全集団では男性において、LDLC、nonHDLc による心筋梗塞発症リスクが同等であった。この結果は CIRCIS 公表論文における LDLC、nonHDLc による虚血性心疾患リスクが同等であったことと一致した結果であった。

空腹時採血のみに限定した集団においても点推定値が 1 を超えていることから、全集団における結果とリスク上昇という関連の方向としては一致していた。しかし、解析対象を空腹時採血のみに限定すると、対象者が約半分となり、心筋梗塞発症者数も半分となるため、結果がさらに不安定となることから、全集団で得られた心筋梗塞発症リスクが同程度である結果が採血条件による影響かを受けているか否かについては明らかにはできなかった。

CIRCS 公表論文では、対象者の多くが非空腹であることから、本検討では全集団と空腹時採血に限定した集団での比較を行うため、空腹時採血が多い時期をベースラインとした（本検討：ベースライン 1992～2003 年、追跡期間約 14 年；公表論文：ベースライン 1975～1987 年、追跡期間）。その結果、十分な追跡期間を得られず、心筋梗塞の発症者が少なかった。また、公表論文の結果から、LDLC は 120mg/dL 程度、nonHDLC は 140mg/dL 程度から虚血性心疾患リスクが上昇し始めることが報告されており、本検討で用いた LDLC140mg/dL、nonHDLC170mg/dL のそれぞれ 2 区分の検討では発症リスクが不明瞭になり易かった可能性が考えられる。今後の課題として、女性における LDLC、nonHDLC の心筋梗塞発症リスクへの関連、および採血条件が LDLC、nonHDLC の心筋梗塞発症リスクに影響を与えるか否かについては追跡期間をさらに延長し、心筋梗塞発症者数が増加した上で再度検討する必要がある。

E . 結論

比較的最近の集団においても、少なくとも男性では LDLC と nonHDLC による心筋梗塞発症リスクは同程度であることが示唆

された。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1) 論文発表

なし

2) 学会発表

なし

H . 知的財産権の出願・登録状況

なし

〔研究協力者〕

村木功(大阪がん循環器病予防センター)

表1 . 解析対象者の特性 (全集団および空腹時採血のみに限定した集団)

	全集団		空腹時採血のみ	
	男性	女性	男性	女性
年齢 (歳)	59.2 ± 9.2	57.9 ± 9.1	58.1 ± 9.0	56.9 ± 9.0
LDL- コレステロール値 (mg/dL)	117.4 ± 31.5	130.6 ± 31.8	121.9 ± 31.9	135.5 ± 31.5
non HDL コレステロール値 (mg/dL)	142.8 ± 34.5	152.8 ± 34.8	144.4 ± 34.7	154.7 ± 35.1
総コレステロール (mg/dL)	198.8 ± 33.8	213.7 ± 34.8	202.2 ± 34.2	216.9 ± 34.7
HDL コレステロール値 (mg/dL)	56.1 ± 14.8	60.9 ± 14.1	57.8 ± 15.2	62.3 ± 14.1
中性脂肪値 (mg/dL)	107[77-160]	97[70-136]	95.0 [69-137]	85 [63-115]
収縮期血圧値 (mmHg)	132.7 ± 19.1	128.8 ± 19.0	132.9 ± 18.8	130.1 ± 18.5
拡張期血圧値 (mmHg)	81.4 ± 11.5	78.0 ± 11.0	82.8 ± 11.2	79.3 ± 10.8
降圧薬服用 (%)	17.3	15.9	17.2	15.5
高血圧合併 (%)	43.1	34.3	43.7	35.9
血糖値 (mg/dL)	109.1 ± 32.8	101.6 ± 26.0	104.1 ± 21.4	97.5 ± 18.6
血糖降下薬等使用 (%)	2.7	1.7	2.6	1.3
糖尿病合併 (%)	7.1	3.3	9.1	4.1
現在喫煙 (%)	47.5	5.3	46.8	5.2
現在飲酒 (%)	72.4	14.5	74.5	13.7
BMI (kg/m ²)	23.3 ± 2.9	23.2 ± 3.2	23.4 ± 2.9	23.3 ± 3.2
フォローアップ期間 (年)	13.3 ± 4.7	14.3 ± 4.3	13.5 ± 4.8	14.9 ± 4.3
8 時間以上の空腹採血率 (%)	47.0	41.4	100	100

値は平均 ± 標準偏差、中央値[25%点-75%点]または割合である。

表2 . 全集団における LDL コレステロール値、Non-HDL コレステロール値に対する心筋梗塞発症ハザード比

性別	脂質検査種類	解析区分	対象者数	イベント発生数	ハザード比 (95%信頼区間)
男性	LDL コレステロール	39mg/dl 増加あたり	4510	19	1.56 (0.90-2.70)
		<140mg/dl	3452	12	1
		140mg	1058	7	1.55 (0.60-3.98)
		<160mg/dl	4111	16	1
	160mg	399	3	1.45 (0.42-5.05)	
	Non-HDL コレステロール	39mg/dl 増加あたり	4510	19	1.41 (0.83-2.39)
<170mg/dl		3496	11	1	
170mg/dl		1014	8	1.78 (0.70-4.56)	
<190mg/dl		4103	17	1	
190mg	407	2	0.90 (0.21-3.97)		
女性	LDL コレステロール	39mg/dl 増加あたり	7922	9	0.31 (0.12-0.76)
		<140mg/dl	5076	8	1
		140mg	2846	1	0.19 (0.02-1.50)
		<160mg/dl	6561	9	1
	160mg	1361	0	-	
	Non-HDL コレステロール	39mg/dl 増加あたり	7922	9	0.28 (0.12-0.66)
		<170mg/dl	5580	8	1
		170mg/dl	2342	1	0.22 (0.03-1.81)
<190mg/dl		6762	9	1	
190mg	1160	0	-		

表3 . 空腹時採血のみに限定した集団における LDL コレステロール値、Non-HDL コレステロール値に対する心筋梗塞発症ハザード比

性別	脂質検査種類	解析区分	対象者数	イベント発生数	ハザード比 (95%信頼区間)
男性	LDL コレステロール	39mg/dl 増加あたり	2119	9	1.24 (0.55-2.79)
		<140mg/dl	1518	4	1
		140mg	601	5	2.97 (0.76-11.59)
	Non-HDL コレステロール	39mg/dl 増加あたり	2119	9	1.04 (0.48-2.26)
		<170mg/dl	1603	6	1
		170mg/dl	516	3	1.21 (0.29-5.11)
女性	LDL コレステロール	39mg/dl 増加あたり	3279	4	0.12 (0.02-0.66)
		<140mg/dl	1922	4	1
		140mg	1357	0	-
	Non-HDL コレステロール	39mg/dl 増加あたり	3279	4	0.15 (0.03-0.82)
		<170mg/dl	2250	4	1
		170mg/dl	1029	0	-

分担研究報告書

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

研究分担者 藤吉 朗 滋賀医科大学社会医学講座公衆衛生学部門・准教授

研究協力者 久松隆史 滋賀医科大学アジア疫学研究センター・特任助教

研究協力者 伊藤隆洋 滋賀医科大学社会医学講座公衆衛生学部門・大学院

研究要旨

日本の一般住民を対象とした二つのコホート・データを用いて、Non-HDL-コレステロール (Non-HDL-C) の一次予防における有用性を次の2点より検討した。(1) 非空腹時採血によるベースライン時のNon-HDL-Cが冠動脈疾患の長期予後を予測するか?(2) Non-HDL-Cはその他の脂質指標と比べて潜在性冠動脈硬化レベル(疾患発症前段階)でも関連を認めるか?

(1) 日本全国の一般住民を対象にしたコホート研究NIPPON DATA90の参加者のうち心血管病の既往なくかつ高脂血症治療中でない男女(40-74歳)5181人を対象とした。ベースライン時のNon-HDL-Cレベルは冠動脈疾患の長期予後(20年追跡期間中の冠動脈疾患死亡)と有意な正の関連を示し、その強さは総コレステロール(TC)に勝るとも劣らぬ値であった。(2) 滋賀県草津市の一般住民男性(40-79歳)で心血管病の既往なくかつ高脂血症治療中でない1851人を対象に、潜在性動脈硬化指標である冠動脈石灰化との横断的関連を検討した。TC, LDL-コレステロールのみならず各種リポ蛋白と比較してもNon-HDL-Cは冠動脈石灰化とより強い関連を示した。

今回の検討にて、(1) Non-HDL-Cは非空腹時採血でも冠動脈疾患死亡の長期予後予測能を有すること、(2) 疾患発症前の段階においてもNon-HDL-Cは冠動脈硬化と強く関連していること、が明らかとなった。これらは一般住民を対象とした結果であり、一次スクリーニングにおけるNon-HDL-Cの有用性を支持する所見である。

A. 研究目的

健診などの一次予防目的のスクリーニング指標として従来の LDL-コレステロール (LDL-C) に代わり Non-HDL-コレステロール (Non-HDL-C) を用いることを考慮し、一般住民における

Non-HDL-C の循環器イベント予測能をメタアナリシスの手法を用いて検討することが本研究班の疫学グループの骨子の一つである。

本分担研究では、われわれ滋賀医科大学公衆衛生学部門が中心的役割を果たしている一般

住民対象の二つのコホートをを用いて、以下の2点を検討した。

(1) 非空腹時採血によるベースライン時の Non-HDLc が冠動脈疾患の長期予後を予測するか？(研究 : Non-HDLc と循環器疾患長期リスクの検討 : 日本人一般集団コホートの 20 年追跡研究 NIPPON DATA90 より)(2) Non-HDLc はその他の脂質指標と比べて潜在性冠動脈硬化の段階でも関連があるか？(研究 : 一般住民男性における Non-HDLc, LDLc と潜在性冠動脈硬化との関連の検討)

「研究」では、日本全国からの抽出集団である NIPPON DATA90 コホートをを用いて Non-HDLc の長期予後(冠動脈疾患死亡)予測能を総コレステロールとの比較も交えて検討した。「研究」では、滋賀県草津市の地域住民男性における潜在性動脈硬化と Non-HDLc を含む脂質指標との関連を検討した。以下、研究方法・結果・考察は研究、ごとに記述する。

B . 研究方法 (研究)

研究 : Non-HDLc と循環器疾患長期リスクの検討 : 日本人一般集団コホートの 20 年追跡研究 NIPPON DATA90 より

NIPPON DATA (National Integrated Project for Prospective Observation of Non-communicable Disease and Its Trends in the Aged) は、昭和 55 年(1980 年)および平成 2 年(1990 年)に行われた循環器疾患基礎調査参加者を長期に追跡したコホート研究である。そのうち 1990 年をベースラインとした後者を NIPPON DATA 90 と呼ぶ。今回の検討では、その参加者のうち、40 歳以上 75 歳未満、心血管疾患既往のない者、高脂血症の治療を受けていない者を対象とした。

高脂血症の治療は、「高脂血症又は高コレス

テロール血症について、医師の治療を受けたことがありますか」という質問に「あり」と回答した者への追加質問である「現在の治療はどうしていますか 1: 通院していない、2: 通院(月 1 回未満)している、3: 通院(月 1 回以上)している、4: 入院している、5: その他」において 2~4 のいずれかを選択した者を治療中とした。エンドポイントは虚血性心疾患死亡(International Classification of Diseases, 9th (ICD9): 410 - 414, ICD10: I20-25)とした。

国内外のこれまでの研究ではコレステロールまたは Non-HDLc と脳卒中のリスクとに明らかに関係を認めていないものが多いため^{1,2}、今回の解析では脳卒中はエンドポイントには含めなかった。説明変数としては Non-HDLc 連続変数 1 標準偏差(SD)あたり、及び 170mg/dL 以上・未満を用いた。また総コレステロール(TC)を説明変数として同様の解析(TC 1 SD あたりおよび 220mg/dL 以上・未満)を行った。Non-HDLc および TC のカットオフ値 170mg/dL、220mg/dL は動脈硬化学会のガイドランに準拠した。

調整変数には、年齢(連続変数)、高血圧(収縮期/拡張期血圧 \geq 140/90mmHg または降圧薬服用)の有無、糖尿病(随時血糖 200mg/dl 以上、空腹時血糖 126 以上、HbA1c6.1%(JDS)以上、血糖降下剤使用)の有無、喫煙の有無、飲酒の有無、body mass index (BMI, kg/m²)、性を用いた。総コレステロールを説明変数とした場合と比較するため、HDL-コレステロールは説明変数に加えなかった(この点は、総括研究と異なる)。男女別で解析した結果、傾向が同じであったため両者を併合したものを提示した。

(倫理面への配慮)

本コホート研究は1994年から追跡調査として継続されており、関係省庁の承認と滋賀医科大

学倫理委員会の承認を経て、継続した疫学コホート研究として実施されている。

C . 結果 (研究)

解析対象者は 5181 人 (うち男性 2217 人) である。20 年追跡期間中に虚血性心疾患死亡を 69 名に認めた。ベースライン時の対象者特性を男・女別に述べると、平均年齢 : 男 55.2 歳・女 54.5 歳、NON-HDLc : 男 147 mg/dL・女 154mg/dL、総コレステロール : 男 198mg/dL・女 211mg/dL、収縮期血圧 : 男 139mmHg・女 136mmHg、BMI : 男 23.0kg/m²・女 23.1kg/m²、高血圧 : 男 53%・女 47%、糖尿病 : 男 7%・女 5%、現在飲酒 : 男 55%・女 9%、現在喫煙 : 男 61%・女 6%であった。

Non-HDLc および総コレステロールと虚血性心疾患のハザード比を表 1、表 2 に示す。なお、男女別の解析結果が同様であったため併合した結果のみを示す。Non-HDLc \geq 170mg/dL の場合 170mg/dL 未満に比べてハザード比は 1.96 (95%信頼区間 : 1.18, 3.25) と有意な上昇を示した。総コレステロール \geq 220mg/dL の場合 220mg/dL 未満に比べてハザード比は上昇傾向を示したが有意ではなかった。1 標準偏差上昇あたりで見た場合、Non-HDLc も総コレステロールもほぼ同様の有意な死亡ハザードの上昇を認めた。すなわち、Non-HDLc で 1.34 (1.07, 1.69)、総コレステロールで 1.30 (1.03, 1.64) であった。

D . 考察 (研究)

日本全国から抽出された一般住民コホートの 20 年追跡において、非空腹時採血による Non-HDLc 上昇が虚血性心疾患のリスク上昇と有意な関連を有することが明らかになった。この関連の強さは総コレステロールと比較して

も勝るとも劣らないことも同時に示された。またカットオフを Non-HDLc \geq 170mg/dL にした場合は TC \geq 220 mg/dL よりもハザード比が大きかった。

本コホートの特徴として層化無作為抽出された全国 300 地域の住民を対象にしている点、20 年の長期追跡である点、CDC 標準化プログラムによる脂質測定が行われている点、死亡がエンドポイントである点、などがあげられる。また、多くの参加者が非空腹時で採血されているため、より“現実的”な健診状況で行われた研究である。このような条件下にてベースライン時の Non-HDLc レベルが冠動脈疾患死亡の長期リスクと有意に関連していたことは非常に重要である。なお、本研究では、調整変数が総括研究と異なるため、ハザード比などが総括研究報告と若干異なっている点も付け加えておく。

B . 研究方法 (研究)

研究 : 一般住民男性における Non-HDLc, LDLc と潜在性冠動脈硬化との関連の検討

欧米で冠動脈の潜在性動脈硬化指標として臨床にも用いられている冠動脈石灰化を利用し、Non-HDLc、LDLc を含む各種脂質 (指標) との横断的関連を検討した。

1 . 調査対象

滋賀動脈硬化研究 (Shiga Epidemiological Study of Subclinical Atherosclerosis : SESSA) 参加者が本研究の対象である。SESSA は潜在性動脈硬化進展要因の検討が主目的のコホート研究であり、滋賀医科大学公衆衛生学部門に事務局を置いている。滋賀県草津市の住民台帳からの無作為抽出した 40 - 79 歳 (当時) を対象にベースライン調査

を 2006 - 2008 年にかけて行った。

本解析では上記研究参加者のうち、脂質治療薬服用中の者、ベースライン調査時の中性脂肪 400mg/dL 以上の者を除外した循環器疾患既往のない男性を対象とし、ベースライン調査のデータを用いて横断解析を行った。

2. 血中脂質測定・評価

12時間の空腹後に採血を行い採血後90分以内に4,3000回転にて15分間遠心分離した検体を用いた。測定は米国臨床病理医協会の認定施設でありかつ、米国疾病予防管理センター (Center for Disease Control and Prevention) /Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CDC/CRMLN)による脂質測定の標準化基準を満たした単一のラボで行った。

総コレステロール (TC)、中性脂肪 (TG) は酵素法により、HDL-C は直接法にて測定した。LDL-C は Friedewald の式を用いた (上述のように血清 TG 400mg/dL の者は最初に解析から除外している)。血中の各種リポ蛋白は核磁気共鳴分光分析 (NMR spectroscopy) 法にて測定した (LipoScience 社、米国)³。VLDL、LDL、IDL、HDL および各サブクラスを定量した。

3. 冠動脈石灰化

ピッツバーグ大学 Cardiovascular Institute におけるプロトコールに従って以下のように測定した。大動脈起始部より心尖部までを 3mm 厚で連続単純 CT 注 1,2 画像を撮影した。撮像に用いたのはエレクトロンビーム CT (EBCT) あるいは多検知器列 CT (MDCT) を用いた。Acculmage (Acculmage Diagnostic, San Francisco, California) のソフトウェアを用い、Agatston 法⁴を用いて、右冠動脈、左冠動脈前下行枝、左冠動脈回旋枝それぞれの Agatston Score として定量化した。測定・評

価はピッツバーグ大学の上記施設にてトレーニングを受けた日本の担当医師 1 名が被験者の特性を知らされていない状況にて行った。Agatston Score>0 を石灰化ありと定義した。

各脂質指標 1 標準偏差 (1SD) 上昇 (または低下) あたりの「石灰化あり」多変量調整オッズ比をロジステック回帰にて算出した。調整変数は、年齢、喫煙、アルコール摂取 (g/日)、body mass index (kg/m²)、血糖、収縮期血圧、服薬状況 (高血圧、糖尿病)、撮像した CT タイプ (EBCT・MDCT) である。

(倫理面への配慮)

本研究の参加者には口頭による事前説明を行った後、書面での同意を得ている。また、本コホート研究は滋賀医大の倫理委員会の査定後、承認を得ている。

C. 結果 (研究)

対象者数は4079歳男性851人。石灰化ありの者523人、なしの者328人。石灰化なしの者に比べてありの者は高齢、飲酒量が多い、BMIが高い、血圧が高かった。脂質では、石灰化ありの者はHDL-Cが低く、TGが高く、Non-HDL-Cが有意に高かった。

1標準偏差 (1SD) 上昇 (あるいは低下) 当たりの冠動脈石灰化を有するオッズ比を図に示した。Non-HDL-C、LDL-C、TC の各 1SD 上昇あたりのオッズ比はそれぞれ 1.30、1.21、1.22 であった。

D. 考察 (研究)

Non-HDL-Cの検診における有用性を検討するエビデンスの一つとして、潜在性動脈硬化と Non-HDL-Cを含む各種脂質指標との関連を一般住民対象男性データを使用して検証した。その結果LDL-Cと比較して冠動脈石灰化とNon-HDL-C

とにより強い関連が認められた。すなわち潜在性動脈硬化レベル(疾患発症前段階)においても、Non-HDLは冠動脈硬化と有意な関連を有しており、関連の強さはLDLCと同様かそれ以上であった。

本研究のように一般住民を対象に潜在性動脈硬化との関連を示したものは、我々の知る限り本邦初である。Agatstonスコアなどを用いた定量的な冠動脈石灰化は冠動脈硬化と密接に関連しており、冠動脈疾患の予後予測能にも優れていることが欧米の疫学研究などで示されている。⁵ 血中のNon-HDLがLDLCを含む動脈硬化惹起性の全リポ蛋白中のコレステロールであることを考えると、我々の結果は既存の研究結果と矛盾しない。実際、各種リポ蛋白を含む各種指標と比べてもNon-HDLは冠動脈石灰化と強く関連しており⁶、冠動脈疾患予後におけるNon-HDLの他の脂質・リポ蛋白指標に比べて)優位性も海外より報告されている。⁷

冠動脈疾患発症前段階でも Non-HDL が冠動脈硬化と強く関連していることは、本研究班のこれまでの検討内容と合致し、支持する知見である。

E . 結論

今回の検討にて、以下のことが示された。(1) 日本全国の一般住民を対象にした 20 年追跡コホート NIPPON DATA90 にて、ベースライン時の Non-HDLC レベルが冠動脈疾患の長期予後(死亡)と有意な正の関連を示した。このコホートでは多くの参加者が非空腹採血による脂質測定がなされており、現実的な健診・スクリーニングにおいても Non-HDLC の有用性が示された。(2) 地域の一般住民男性を対象にした検討で、潜在性冠動脈硬化指標である冠動脈石灰化と

の関連において Non-HDL は TC や LDLC よりも強い関連を示した。

以上の結果は、一般住民を対象とした一次スクリーニングにおける Non-HDLC の有用性を支持する所見である。

F . 健康危険情報

該当なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Hisamatsu T, Fujiyoshi A et al. Lipoprotein particle profiles compared with standard lipids in association with coronary artery calcification in the general Japanese population. *Atherosclerosis*. 2014;236:237-243.
2. Zaid M, Fujiyoshi A et al. High-density Lipoprotein Particle Concentration and Subclinical Atherosclerosis of the Carotid Arteries in Japanese Men. *Atherosclerosis*. 2015;239:444-450.

2. 学会発表

該当なし

H . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

1. Okamura T, Kokubo Y, Watanabe M, et al. Low-density lipoprotein cholesterol and non-high-density lipoprotein cholesterol and the incidence of cardiovascular disease in an urban

- Japanese cohort study: The Suita study. *Atherosclerosis*. Apr 2009;203(2):587-592.
2. Lewington S, Whitlock G, Clarke R, et al. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55,000 vascular deaths. *Lancet*. Dec 1 2007;370(9602):1829-1839.
 3. Jeyarajah EJ, Cromwell WC, Otvos JD. Lipoprotein particle analysis by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Lab Med*. Dec 2006;26(4):847-870.
 4. Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M, Jr., Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol*. Mar 15 1990;15(4):827-832.
 5. Budoff MJ, Achenbach S, Blumenthal RS, et al. Assessment of coronary artery disease by cardiac computed tomography: a scientific statement from the American Heart Association Committee on Cardiovascular Imaging and Intervention, Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, and Committee on Cardiac Imaging, Council on Clinical Cardiology. *Circulation*. Oct 17 2006;114(16):1761-1791.
 6. Orakzai SH, Nasir K, Blaha M, Blumenthal RS, Raggi P. Non-HDL cholesterol is strongly associated with coronary artery calcification in asymptomatic individuals. *Atherosclerosis*. 2009;202(1):289-295.
 7. Mora S, Otvos JD, Rifai N, Rosenson RS, Buring JE, Ridker PM. Lipoprotein particle profiles by nuclear magnetic resonance compared with standard lipids and apolipoproteins in predicting incident cardiovascular disease in women. *Circulation*. Feb 24 2009;119(7):931-939.

表1 . Non-HDLC (NHDLC) 値と冠動脈疾患死亡ハザード比 (95%信頼区間)

	NHDLC (mg/dL)		<i>P</i>	NHDLC 1標準偏差 (37mg/dL) 上昇あ たり	<i>P</i>
	<170mg/dl	170mg/dl			
対象者数	3600人	1581人			
イベント数	38	31			
ハザード比	基準群	1.96 (1.18-3.25)	0.01	1.34 (1.07-1.69)	0.01

調整因子: 年齢、高血圧、糖尿病、喫煙、現在飲酒、BMI、性別

対象人数 5181人 (男性2217人)。男女の傾向は同様のため併合した。

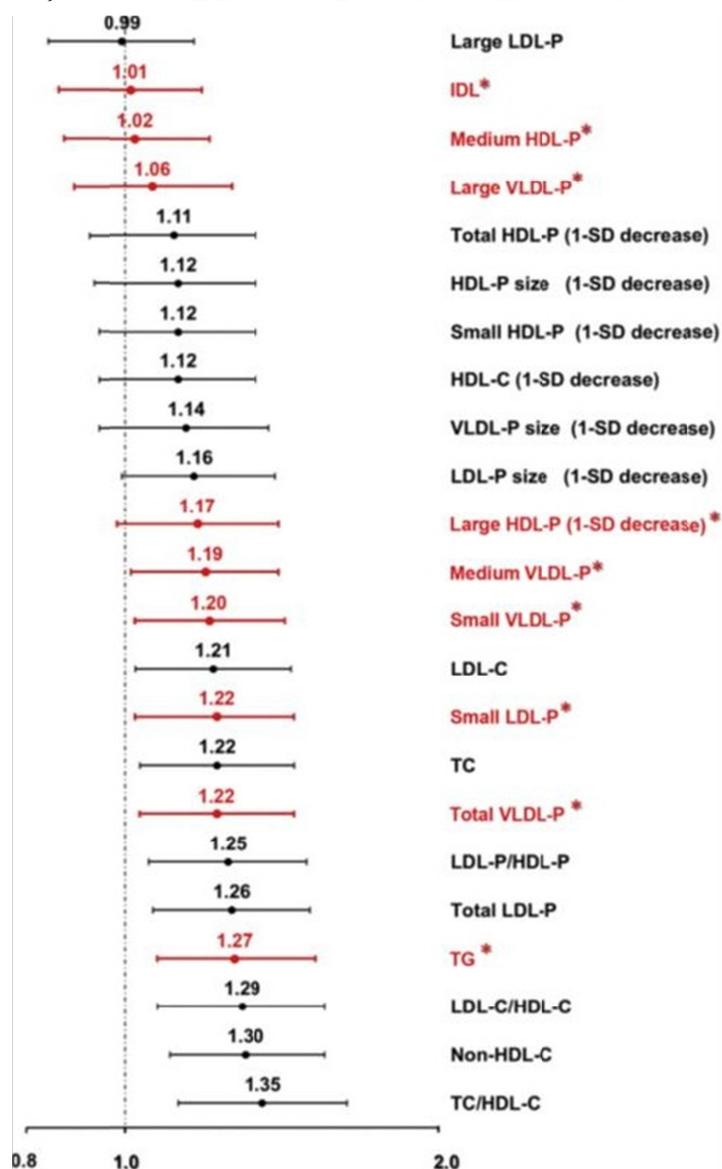
表2 . 総コレステロール値と冠動脈疾患死亡ハザード比

	総コレステロール (mg/dL)		<i>P</i>	総コレステロール 1標 準偏差 (36mg/dL) 上昇 あたり	<i>P</i>
	<220mg/dl	220mg/dl			
対象者数	3420人	1761人			
イベント数	41	28			
ハザード比	基準群	1.41 (0.86-2.33)	0.18	1.30 (1.03-1.64)	0.03

調整因子: 年齢、高血圧、糖尿病、喫煙、現在飲酒、BMI、性別

対象人数 5181人 (男性2217人)。男女の傾向は同様のため併合した。

図. 滋賀県一般地域住民男性（40 - 79 歳、851 人）における各種脂質指標の 1 標準偏差上昇（低下）あたり「冠動脈石灰化あり」の調整オッズ比



注 1) *印を付した指標はログ変換後の 1 標準偏差にて算出した。

注 2) 総コレステロール (TC)、中性脂肪 (TG) は酵素法により、HDL-C は直接法にて測定した。

LDL-C は Friedewald の式を用いた。それ以外のリポ蛋白は核磁気共鳴分光分析法にて測定した。

注 3) “-P”(粒子数: particle の意)。

注 4) 調整変数は年齢、喫煙、アルコール摂取、body mass index、血糖、収縮期血圧、服薬状況 (高血圧、糖尿病)、撮像に用いた CT タイプ (EBCT・MDCT)。

厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）
分担研究報告書

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

研究分担者 三井田 孝 順天堂大学大学院 臨床病態検査医学 教授

研究要旨

今年度は、健常群と患者群から空腹時および食後に 183 検体を採取した。検体は、大阪大学と国立循環器病研究センターの 2 施設において、インフォームドコンセントを取得した者から採取した。血清を分離後に 2 本に分け、1 本は CDC の基準法により、もう 1 本は直接法により LDL-C と HDL-C を測定した。直接法は、国内で最もよく使用されている上位 4 試薬を用いた。現在、対象者の背景を調査中で、前回の検討で測定した 173 検体のデータと合わせて詳細に解析を行う予定である。

一方、欧米と我が国の TG 値の差の原因である遊離グリセロールを、グリセロール未消去法とグリセロール消去法の TG 値の差として測定した。遊離グリセロールには大きな個人差を認めた。次年度に、臨床的な背景と遊離グリセロールの関係を検討する計画である。

A. 研究目的

LDL-C と HDL-C の直接法は、日常診療や健診などで広く用いられている。我々は、新鮮な検体を用いて、LDL-C と HDL-C 直接法の正確性について検討し、2012 年と 2014 年にその結果を報告した。その結果、性能が不良だった試薬の製造販売の中止や、試薬の改良、キャリブレーションの値付けの変更などの改善につながった。しかし、特に LDL-C 直接法の正確性については、十分に検証されたとは言えない。また、直接法の利点の一つに食後の検体でも測定できることがあげられるが、前回の検討では検体数が不足であったため、食後検体のみで正確性を確かめることができなかった。

前回の我々の検討では、先行研究である Miller らの検討で用いられた Error

Component Analysis を用いて統計解析を行った。この方法は、採取する検体の分布に著しい偏りがあると結果に大きく影響することが知られている。そのため、信頼性のある結果を得るためには、トリグリセライド (TG)、LDL-C、HDL-C の分布に偏りのない集団から検体を得る必要がある。そこで、今年度は、検体の脂質値の分布を確認しながらサンプルを採取し、LDL-C と HDL-C を直接法と米国疾病管理予防センター (CDC) の基準法 (RMP 法) で測定した。

一方、「動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012 年版」では、LDL-C 直接法の正確性について十分な検証が行われていないことから、原則として LDL-C は計算式で求めることを推奨している。計算では、総コレステロール、HDL-C とともに TG を使用する。

しかし、欧米では遊離グリセロールも含めて TG として測定するのに対し、我が国では遊離グリセロールをあらかじめ消去してから TG を測定している。世界的には、遊離グリセロールを含めた TG の測定法(グリセロール未消去法)が主流を占めている。遊離グリセロール値がどれほどであるのか、病態によって差があるのかなど、詳細はよくわかっていない。そこで、生化学検査を行った残余検体を用いて、遊離グリセロールの濃度を調べた。

B. 研究方法

a) 検討 1 : LDL-C 直接法および HDL-C 直接法 (4 社) の正確性の検討

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

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

HDL-C とした。

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

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

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

(倫理面への配慮)

検討 1 では、被験者に説明文書を用いて本検討の趣旨を説明し、文書によるインフォームドコンセントを得た。データは、検体採取施設で匿名化し、サンプルの測定は匿名化番号を用いて行った。なお、本検討のプロトコルは、順天堂大学、大阪大学、国立循環器病研究センターの倫理委員会で承認を得ている。

検討 2 では、生化学検査が終了した残余検体を用い、匿名化後に日本臨床検査医学会の勧告に従って測定を行った。なお、本検討のプロトコルは、順天堂大学、東邦大学佐倉病院、東京女子医科大学、信州大学、の倫理委員会で承認を得ている。

表 1：検討 1 で使用した 4 社の LDL-C および HDL-C 直接法の試薬

会 社	LDL-C の試薬名	HDL-C の試薬名
デンカ生研	LDL-EX	HDL-EX
和光	L タイプワコー LDL-C・M	L タイプワコー HDL-C・M
協和メデックス	メタボリード LDL-C	メタボリード HDL-C
積水メディカル	コレテスト LDL	コレテスト N HDL

C . 研究結果

a) 検討 1

2 施設において、合計で 183 人からサンプルを採取した。TG 値は、最大値が 1,518 mg/dL、最小値は 31 mg/dL であった。解析対象となる TG が 1,000 mg/dL 未満の検体は

180 例で、前回の検体数と合わせると 353 例となった。また、LDL-C 直接法の正確性に試薬間の性能の差が大きかった 400 mg/dL 以上の高 TG 血症の検体は 10 例(5.6%) を占めた (表 2)

表 2：対象者の TG 値の分布の比較

	Miller らの検討 (n=175) ^{1, 2)}	前回の検討 (n=173) ³⁾	今回の検討 (n=180)	合 計 (n=353)
健常群/疾患群	37/138	49/124	未確定	未確定
TG 値 (mg/dL)				
>1,000	3	(5) 除外	(3) 除外予定	(8) 除外予定
999 ~ 600	1	9	3	12
559 ~ 400	3	8	7	15
399 ~ 200	21	29	39	68
199 ~ 0	146+1? ⁴⁾	127	131	258

1) Miller WG. et al. Clin Chem 56: 977-86. 2010

2) van Deventer HE. et al. Clin Chem 56: 977-86. 2011

3) Miida T. et al. Atherosclerosis 225: 208-15. 2012

4) どこに分類されるか不明な検体数

次に、採取した検体の LDL-C 値の分布を同様に調べた (表 3)。LDL-C が 300 mg/dL 以上の高度な高 LDL-C 血症の検体は認めなかった。しかし、家族性高コレステロール血症のヘテロ型の典型例に認められる 200 ~ 299 mg/dL の高 LDL-C 血症検体は、6 例 (3.3%) であった。前回の検討と合わせると、この範囲の検体数は 10 例となった。

Miller らの検討では、200 mg/dL 以上の高 LDL-C 血症の検体が 5 例しかなく、日常臨床で遭遇する LDL-C の範囲を十分にカバーしていないと思われた。一方、50 mg/dL 未満の低 LDL-C 血症の検体は 3 例 (1.7%) しかなく、Miller らの検討では 13 例もあり、低 LDL-C 血症の頻度 (7.4%) 高すぎると思われた。

表 3：対象者の LDL-C 値の分布の比較

	Miller らの検討 (n=175)	前回の検討 (n=173)	今回の検討 (n=180)	合 計 (n=353)
健常群/疾患群	37/138	49/124	未確定	未確定
LDL-C (mg/dL)				
~ 300	1	1	0	1
299 ~ 200	4	4	6	10
199 ~ 100	?	119	120	239
99 ~ 50	?	46	51	97
49 ~ 0	13	3	3	6

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

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

表 4：対象者の HDL-C 値の分布の比較

	Miller らの検討 (n=175)	前回の検討 (n=173)	今回の検討 (n=172)	合 計 (n=345)
健常群/疾患群	37/138	49/124	未確定	未確定
HDL-C (mg/dL)				
~ 100	1	(6) 除外	(7) 除外予定	(13) 除外予定
99 ~ 80	6	18	8	26
79 ~ 60	?	41	60	101
59 ~ 40	?	87	88	175
39 ~ 20	?	21	16	37
19 ~ 0	4	0	(1) 除外予定	(1) 除外予定

b) 検討 2

外来および入院患者の生化学検体の残余検体 94 例について、グリセロール未消去法と消去法による TG 値の差として、遊離グリセロール濃度の分布を測定した。平均は 6.0 ± 5.4 mg/dL であった。10 mg/dL 以上の値を示す検体が 18 例 (19.1%) 認められ、なかには 20 mg/dL 以上の高い値を示す検体

もあった (図 1)。一部の症例では、遊離グリセロールがマイナスとなり、検体中の干渉物質の影響が疑われた。

94 例中 52 例については、遊離グリセロール濃度と遊離脂肪酸濃度を同時に測定した。両者の間には、有意な正の相関を認めた (図 2) ($Y = 0.0435X + 0.368$, $R = 0.701$, $p < 0.0001$)。

図1：遊離グリセロール濃度分布

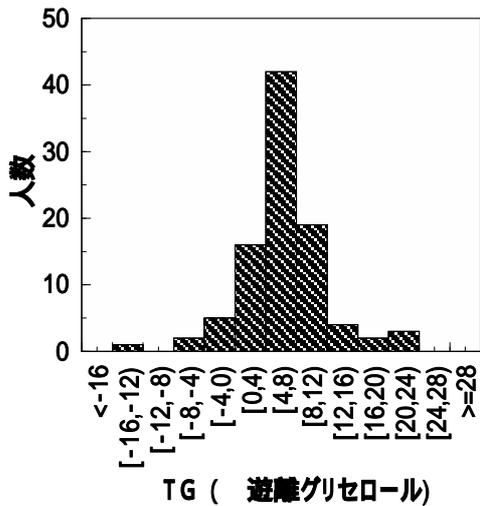
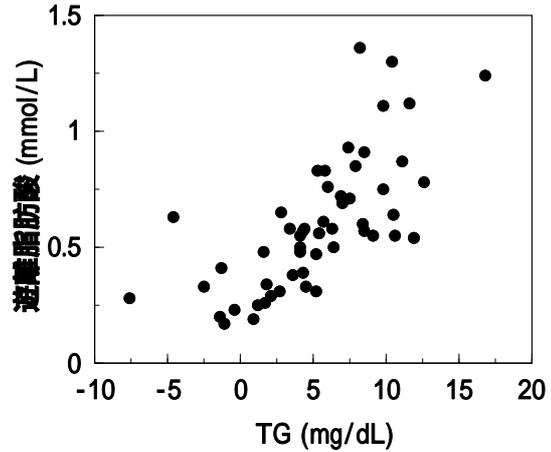


図2：遊離グリセロール濃度と遊離脂肪酸濃度の関係



D. 考察

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

しかし、化学的な純物質が存在するコレステロールとは異なり、LDL-C や HDL-C 直接法は、標準物質を用いて精度管理することができない。さらに、直接法では、凍結検体や長期保存検体を用いると、マトリックス効果のために新鮮検体とは異なった測定値となることが知られている。そこで、本検討では、これまでの検討と同様に、新鮮な検体を新たに採取して正確性を検討することにした。検体の輸送・保存方法、測

定手技（大型自動分析機のメーカーと型番号なども含め）を前回と同様に行い、我が国で行われた検討結果を合わせて解析できるように計画した。

前回の検討では、TG が 1,000mg/dL 以上、HDL-C が 100 mg/dL 以上、LDL-C または HDL-C が 20 mg/dL 未満の場合に、直接法の正確性を検討する対象から除外した。しかし、この範囲内であっても、型 (n=1) および型高脂血症 (n=2) では、CDC の RMP 法と直接法の LDL-C の間に乖離が認められた。直接法は、LDL や HDL の組成が正常の粒子と著しく異なる場合に、異なる試薬間での測定値にばらつきが生じる。現在、今回の検討で集めた解析対象者の背景因子を調査中である。従来、胆汁うっ滞性肝疾患では直接法でうまく LDL-C や HDL-C を測定できないことが知られている。今回の検討で、直接法を使用すべきでないその他の疾患群を明確にすることが期待される。また、前回と今回のデータを一緒に解析することにより、食後検体でも LDL-C と HDL-C 直接法が正確

であるか、結論を出すことができると考えられる。

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

E . 結論

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

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

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

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miida T, Nishimura K, Okamura T, Hirayama S, Ohmura H, Yoshida H, Miyashita Y, Ai M, Tanaka A, Sumino H, Murakami M, Inoue I, Kayamori Y, Nakamura M, Nobori T, Miyazawa Y, Teramoto T, Yokoyama S. Validation of homogeneous assays for HDL-cholesterol using fresh samples from healthy and diseased subjects. *Atherosclerosis*, 233(1), 253-259, 2014.
- 2) Yamaguchi S, Zhang B, Tomonaga T, Seino U, Kanagawa A, Nagasaka H,

- Suzuki A, Miida T, Yamada S, Sasaguri Y, Doi T, Saku K, Okazaki M, Tochino Y, Hirano K. Selective evaluation of high density lipoprotein from mouse small intestines by an in situ perfusion technique. *J Lipid Res*, 55(5), 905–918, 2014.
- 3) Yokoyama S, Ueshima H, Miida T, Nakamura M, Takata K, Fukukawa T, Goto T, Harada-Shiba M, Sano M, Kato K, Matsuda K. High-density lipoprotein levels have markedly increased over the past twenty years in Japan. *J Atheroscler Thromb*, 21(2), 151-160, 2014.
- 4) Idei M, Hirayama S, Miyake N, Kon M, Horiuchi Y, Ueno T, Miyake K, Sato N, Yoshii H, Yamashiro K, Onuma T, Miida T. The mean postprandial triglyceride concentration is an independent risk factor of carotid atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *Clin Chim Acta*, 430, 134-139, 2014.
- 5) Tabe Y, Jin L, Konopleva M, Shikami M, Kimura S, Andreeff M, Raffeld M, Miida T. Class IA PI3K inhibition inhibits cell growth and proliferation in mantle cell lymphoma. *Acta Haematol*, 131(1), 59-69, 2014.
- 6) Shoji H, Murano Y, Mori M, Matsunaga N, Ohkawa N, Suganuma H, Ikeno M, Hisata K, Hirayama S, Ueno T, Miida T, Shimizu T. Lipid profile and atherogenic indices soon after birth in Japanese preterm infants. *Acta Paediatr*, 103(1), 22-26, 2014.
- 7) Nagasaka H, Tsukahara H, Okano Y, Hirano K, Sakurai T, Hui S-P, Ohura T, Usui H, Yorifuji T, Hirayama S, Ohtake A, Miida T. Changes of lipoproteins in phenylalanine hydroxylase-deficient children for the first early of life. *Clin Chim Acta*, 433, 1-4, 2014.
- 8) Nishioka E, Yokoyama K, Matsukawa T, Vige M, Hirayama S, Ueno T, Miida T, Makino S, Takeda S. Evidence that birth weight is decreased by lead at its maternal levels below 5µg/dl in male but not in female newborns. *Reprod Toxicol*, 47, 21-26, 2014.
- 9) Ikeda N, Shoji H, Murano Y, Mori M, Matsunaga N, Suganuma H, Ikeno M, Hisata K, Hirayama S, Ueno T, Miida T, Shimizu T. Effects of breastfeeding on the risk factors for metabolic syndrome in preterm infants. *J Dev Orig Health Dis*, 5(6), 459-464, 2014.
- 10) 三井田孝. 急性冠症候群では入院後すぐに脂質検査を. *Medical Practice*, 31(4), 670, 2014.
- 11) 平山 哲、三井田孝. 動脈硬化の新たなバイオマーカーを探る. *Vascular Medicine*, 10(1), 10-15, 2014.
- 12) 三井田孝, 平山 哲. 亜分画からみたHDL機能. *The Lipids*, 25(3), 929, 2014.
- 13) 三井田孝. non HDL-C. *Current Therapy*, 32(9), 225-231, 2014.
- 14) 三井田孝. バイオマーカーとしての脂質・リポ蛋白関連検査, *Lab Clin Pract*, 32(2), 43-47, 2014.

- 15) 三井田孝. 採血管を二度遠心してはいけないのはなぜですか? Medical Technology, 42(12), 1256-1257, 2014.
 - 16) 三井田孝. 脂質検査の読み方. (『パターンで把握する脂質異常症治療帽 - 押さえておきたい処方方のバリエーション (Jmedmook 31)』, 寺本民生編, 東京, 日本医事新報社) 1-6, 2014.
2. 学会発表
- 1) 三井田孝. バイオマーカーとしての脂質・リポ蛋白関連検査(シンポジウム: バイオマーカーの進歩). 第24回日本臨床検査専門医会春季大会, 2014, 札幌市
 - 2) 三井田孝. 血清脂質・リポ蛋白検査の正確性について(明日へのシンポジウム2: 脂質検査の現状及び将来展望). 第46回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 2014, 東京
 - 3) 三井田孝. 動脈硬化性疾患予防ガイドラインと脂質検査の読み方(公開講座). 第4回 国際カイロミクロンシンポジウム, 2014, 東京
 - 4) 三井田孝. CDC リファレンス法によるHDL-Cホモジニアス法の正確性の検討結果(リポ蛋白検査専門委員会報告). 第54回日本臨床化学年次学術集会, 2014, 東京
 - 5) 上野 剛、平山 哲、小野塚麻里、昆美香、杉原匡美、糟谷 優、安部勝美、三井田孝. 妊娠時の血中微量元素濃度の経時的変化と胎児発育の関連. 第54回日本臨床化学年次学術集会, 2014, 東京
 - 6) 杉原匡美、三井田孝、平山 哲、上野 剛. non-HDL を使った脂質異常症のスクリーニングにおけるカットオフ値の有用性. 第54回日本臨床化学年次学術集会, 2014, 東京
 - 7) 平山 哲、宗田 聡、上野 剛、糟谷 優、杉原匡美、三井田孝. 2型糖尿病患者のLPL濃度に及ぼす肥満および関連因子の影響. 第61回日本臨床検査医学会学術総会, 2014, 福岡市
 - 8) 上野 剛、平山 哲、小野塚麻里、杉原匡美、糟谷 優、安部勝美、三井田孝. 妊娠時の血中および尿中カルニチン濃度の変動. 第61回日本臨床検査医学会学術総会, 2014, 福岡市
 - 9) 杉原匡美、小田切史徳、鈴木 剛、村山 尚、櫻井 隆、代田浩之、森本幸生、呉林なごみ、三井田孝. 自発的運動測定は拡張型心筋症モデルマウスのうっ血性心不全の判定に有用である. 第61回日本臨床検査医学会学術総会, 2014, 福岡市
 - 10) 近藤成美、中村文子、三澤成毅、笹野央、大坂 顯通、三井田 孝. 当院における抗緑膿菌薬の使用量の変化と薬剤感受性の推移. 第61回日本臨床検査医学会学術総会, 2014, 福岡市
 - 11) 出居真由美、田部陽子、三宅一徳、濱田千江子、三井田孝. 腹膜透析排液検査法の開発と腹膜劣化指標としての有用性の検討. 第61回日本臨床検査医学会学術総会, 2014, 福岡市
 - 12) 田部陽子、山田宏美、堀井 隆、木村晋也、三井田孝、大坂顯通. WHO 国際標準準拠 BCR-ABL 補正パネル

を用いた施設固有 RQ-PCR 法の変換
係数算出と検出感度評価. 第 61 回日
本臨床検査医学会学術総会, 2014, 福
岡市

- 13) 脇田 満、山本美由紀、伊藤聡史、三
澤成毅、久野 豊、堀井 隆、田部陽
子、三宅一徳、三井田孝、大坂顯通.
直接ビリルビン測定における分析装
置の比較検討. 日本臨床検査自動化
学会第 46 回大会, 2014, 神戸市

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（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）
分担研究報告書

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

研究分担者 西村 邦宏 国立循環器病研究センター 循環器病統合情報センター室長

研究要旨

【目的】LDL 直接法試薬について、Miller らの論文により、疾患群で BQ 法と大きく乖離する場合があることが報告されている。一方我々は、高 TG 血症などでは乖離する場合があることを報告しているが、家族性高コレステロール血症、高 HDL 血症など特殊な検体について、どの程度の乖離が認められるかは従来詳細な検討は行われていない

【方法】2014 年度、大阪大学、国立循環器病研究センターにおいて健常ボランティア 67 例、および脂質異常症などの患者検体 114 例に関して、LDL 直接法試薬と BQ 法による LDL 測定法の比較検討を行った。両者それぞれの三重測定の平均の差を BQ 法三重測定により除してバイアスを計算した。バイアスが $\pm 10\%$ 、 5% を超える検体について、脂質異常症の分類を行い、バイアスの出現に関してロジスティック回帰により有意な関係を持つ因子に関して探索を行った。

【結果】

健常群、疾患群において男女比、身長、体重に関しては両群間で差を認めなかった。疾患群は平均年齢 54.7 歳であり、健常群と比べて有意に高齢であった。(表 1) ($p < 0.001$) 疾患群中の脂質異常症の内訳に関しては、a, b, ヘテロを含む家族性高コレステロール血症がそれぞれ 14%, 14%, 13.2% であった。(表 2) バイアスが 10% を超える検体の内訳を示す。(表 3) 型、中性脂肪高値 ($TG \geq 600\text{mg/dl}$) は有意に測定異常の出現に関連していた。(表 5) そのほか高 HDL 血症、家族性高コレステロール血症などで測定異常を認めることが多いと考えられた。一方で食後検体での測定は測定異常とは有意に相関していなかった。

【総括】LDL 直接法試薬の測定において測定異常が出現する要因を検討した。脂質異常のうち 型、中性脂肪高値 ($TG \geq 600\text{mg/dl}$) をきたしやすく、その他高 HDL 血症、家族性高コレステロール血症などが要因と考えられた。空腹時測定との関連は薄く、健診、日常診療の範囲内では問題なく使用可能と考えられた。

A . 研究目的

米国の Center for Disease Control and Prevention : CDC は beta-quantification (BQ 法) を LDL 測定 の 国際標準化 の 手法として採用しているが、超遠心など測定には困難が伴う。動脈硬化学会 の ガイドラインなどでは総コレステロール、中性脂肪、HDL より計算する F 式により計算を行うよう求めているが、空腹時に限られ、中性脂肪 400 以上では近似ができないなどの問題があり、比較的簡便に測定できる LDL 直接法試薬は広く普及している。Miller らにより試薬が特に LDL 低値の場合などに測定が不正確になることを報告したこと (Clin Chem 2010;56:977 - 86) を受けて、我々は試薬性能の検討を行い、特に高 TG 血症では測定精度で問題があることを報告した。

(Atherosclerosis 225 (2012) 208 - 215) 。これを受けて一部の業者では試薬の改良を進めている。しかし、Ⅱ型高脂血症、家族性高コレステロール血症など比較的まれかつ LDL の機能異常を合併していると考えられる症例に関する検討はこれまで十分に行われていない。

本研究では、前回の性能評価と同様のデザインで、LDL 直接法の性能評価を脂質異常を専門とする施設の外来患者及び食後検体を中心とした健常ボランティアの検体を用いて行った。

B . 研究方法

LDL に関しては Hitachi 917 により三重測定を行った。BQ 法に関しては国立循環器病研究センター基準分析室で 20 年以上の米国 CDC による the Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN) に参

加している熟練者により行われた。

大阪大学医学部附属病院及び国立循環器病研究センターで参加を呼びかけた健常ボランティア 67 例、および脂質異常症などの患者検体 114 例に関して測定を行った。

BQ 法による測定を真値として、同一患者からの検体に対して、LDL 直接法を 3 重測定し、その平均値と BQ 法 3 重測定した結果の平均の差をとり、真値により除したのから測定時のバイアスを検討した。

バイアスが $\pm 10\%$ 、 5% を超える検体について、脂質異常症の分類を行い、バイアスの出現に関してロジスティック回帰により有意な関係を持つ因子に関して探索を行った。

全ての解析は STATA (ver.11 College Station, TX, USA) により行った。

(倫理面への配慮) 本研究は、匿名化された既存資料を用いた調査であり、介入を伴わず、倫理面の問題はない。

C . 研究結果

両群の臨床背景を表 1 に示す。

健常群、疾患群において男女比はそれぞれ 32.8%, 32.5% であり有意差を認めなかった。身長、体重に関しては両群間で差を認めなかった。(168.3cm vs 165.3cm, 67.7 kg vs 67.6kg) 疾患群は平均年齢 54.7 歳であり、健常群(平均 41.4 歳)と比べて有意に高齢であった。(表 1) ($p < 0.001$) 疾患群中の脂質異常症の内訳に関しては、Ⅰa, Ⅰb, ヘテロを含む家族性高コレステロール血症がそれぞれ 14%, 14%, 13.2% であった。その他に高 HDL 血症、LPL 欠損症などを認めた(表 2) バイアスが 10% を超える検体の内訳を示す。(表 3) Ⅱ型では 4 例中 3 例で測定異常を認めた。他にも高 HDL 血症 3 例、

CETP 欠損などで測定異常が見られた。中性脂肪が 1000mg/dl を超える 3 検体については、前回の検討と同様に解析から除外した。(図 1)

バイアス 10%を目的変数としてロジスティック回帰を行うと、Ⅱ型高脂血症は $OR=18.24$ と有意に測定異常出現と相関した。($p=0.013$) 中性脂肪高値 ($TG > 600\text{mg/dl}$) も高いリスク比を示し、有意に測定異常の出現に関連していた。($p=0.005$) そのほか高 HDL 血症、家族性高コレステロール血症などで測定異常を認めることが多いと考えられたが、他の分類、疾病に関しては有意な相関は見られなかった。食後検体に関しても検討を行ったが測定異常の出現とは関連が見られなかった。($OR=0.53$, $P=0.133$) 今回の検討は検討を行った 4 社の内一社について行ったが、基本的な傾向に関して 4 社で共通であった。

D. 考察

本研究では、家族性高コレステロール血症、高 HDL 血症など特殊な検体について、どの程度の測定値の乖離が認められるかについて検討を行った。

前回の検討でもⅡ型に関しては、測定異常が出現しやすいことが示唆されていたが、今回の検討で同様の傾向が明確に示された。

また中性脂肪 600mg/dl 以上では乖離が起りやすいことが示された。LDL に関する F 式が中性脂肪 400mg/dl 以上では使えないため、前回の報告と合わせて中性脂肪高値の場合の測定限界が明らかになったと思われる。

一方、前回の検討では食後検体が少ないため、食後検体の測定精度に関する検討が不

可能であったが、今回は 91 例が食後採血であり、検討が可能であった。バイアス 10% 及び 5% 以上の測定異常の出現のリスク比は上昇しておらず、食後検体での測定について LDL 直接法で問題なく測定できる可能性が示唆された。

今回の検討では、比較的出現頻度の少ない家族性脂質異常症などにおける検討となったため、前回行ったエラーコンポーネント解析等を行わなかった。また健常ボランティアとして募集した対象者の内脂質異常を認めるものについては、脂質異常の分類が行われていないため、今後、残余検体によりより正確な分類を行った上で検討する必要がある。

前回の対象者と結果をプールした上で、食後検体の測定精度の確認を行うとともに、異常値を示した検体については、アポ蛋白測定などを行い、機能異常と測定値乖離などの要因について、より詳細な検討を行っていく予定である。更に本例の対象となった特殊病態において F 式の測定精度についても検討を加えていく予定である。

E. 結論

LDL 直接法試薬と BQ 法測定を比較し、試薬の性能限界について検討を行った。特にⅡ型高脂血症、中性脂肪 600mg/dl 異常の検体では測定値が真値と乖離する傾向が見られた。食後の測定には特に影響が見られず、特定健診、職域健診など食後に受診する可能性が高い状況でも測定に問題がないと思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

投稿準備中

なし

2. 学会発表

なし

G. 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

表1 臨床背景

	健常者	疾患群
	N=67	N=114
女性	32.8%	32.5%
年齢	41.4	54.7
身長	168.3	165.3
体重	67.7	67.6
食後検体	80.3%	30.7%

表2 疾患群中の脂質異常症の内訳

Type	割合
a型	14.0%
a型	14.0%
型	3.5%
FH	13.2%
型	0.9%
型	0.9%
CTX	1.8%
LPL欠損症	1.8%
高HDL血症	3.6%
シトステロール血症	0.9%

表3 中性脂肪の分布

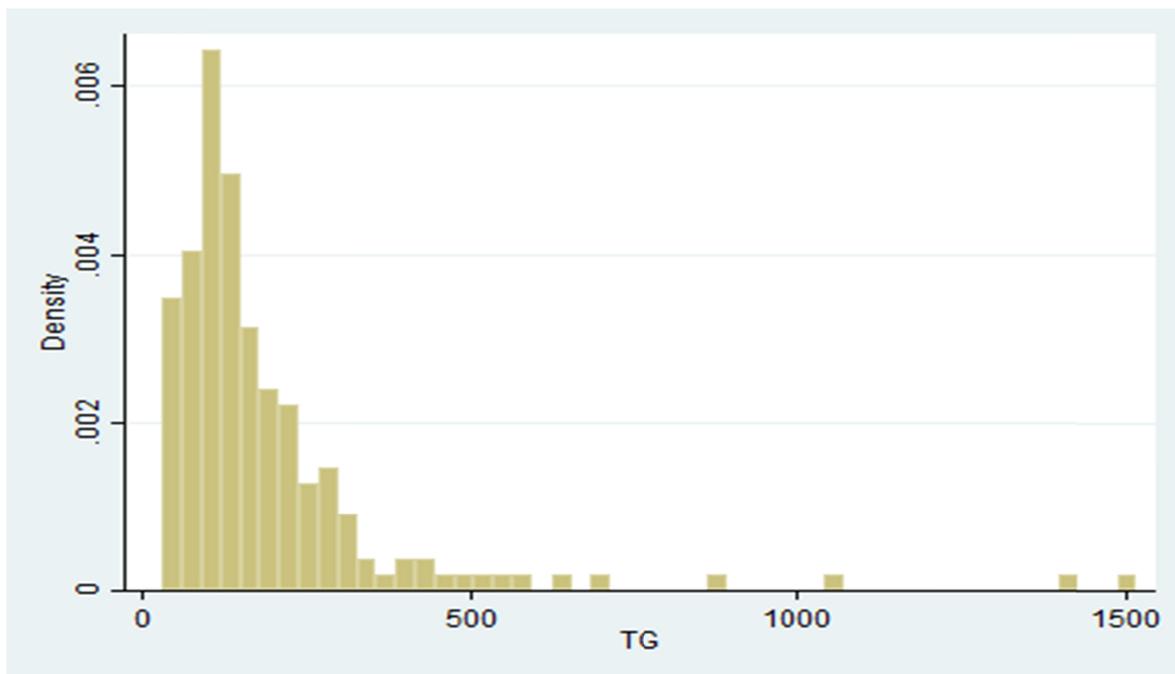


表3 バイアスを超えた疾患群の検体の内訳

診断	採血条件	脂質異常症分類
貧血	空腹時	高HDL
陳旧性心筋梗塞、高TG血症、高尿酸血症、高血圧	空腹	型(E2/ 2)
心房細動、高血圧、糖尿病、高尿酸血症、脂質代謝異常	空腹時	b型
心房細動、高血圧、糖尿病、高尿酸血症、脂質代謝異常	空腹時	a型
脂質代謝異常、アルコール性肝障害、高尿酸血症	空腹時	a型
脂質代謝異常	空腹時	高HDL
脂質代謝異常	空腹時	LPL欠損症
脂質代謝異常	空腹時	b型
脂質代謝異常	空腹時	b型
脂質代謝異常	空腹時	高HDL
高尿酸血症、脂質代謝異常、高血圧	空腹時	CETP欠損水毛
高血圧、糖尿病、脂質異常	食後	不明
高血圧、脂質異常	食後	不明
高血圧、脂質	空腹時	b型
高血圧、高尿酸血症	空腹時	高HDL
III型HL、高血圧	空腹時	型(E2/ 2)
FH、陳旧性心筋梗塞	空腹時	FHヘテロ
FH、狭心症、糖尿病、高血圧	空腹時	不明
FH、AS、DM、HT、高尿酸血症	空腹時	型(E2/ 2)

表4 バイアスが10%を超える場合と相関する要因

	OR	P-value	95% CI	
型	18.24	0.013	1.82	182.36
TG>600	12.58	0.005	2.18	72.50
a型	1.96	0.277	0.58	6.58
b型	0.76	0.732	0.16	3.56
食後測定	0.53	0.133	0.23	1.22

厚生労働科学研究費補助金（non-HDL等血中脂質評価指針及び脂質標準化システムの構築と基盤整備に関する研究）

分担研究報告書

**「糖尿病患者に合併するレムナント蓄積に対するシタグリプチン投与の有効性
～アポ蛋白B-48濃度の改善効果」**

**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

食後にカイロミクロンレムナント(CM-R)の蓄積を食後高脂血症といい、多くの基礎研究からこのCM-Rは動脈硬化プラークの形成・進展に繋がることが示されている。我々はこのCM-Rの定量的マーカーであるアポB-48濃度測定を実用化し、昨年度の検討で空腹時アポB48濃度が冠動脈狭窄罹患率と最も強く相関し他の動脈硬化性疾患リスク因子の重複で増悪する事を突き止めた。これらレムナントの蓄積は糖尿病患者に高率に認められ、カイロミクロンレムナント(CM-R)が蓄積している。近年、糖尿病患者に対しDPP4阻害薬が使用されるようになってきているが、これは小腸でのGLP1の増加を来す小腸に働く薬物である。そこで、シタグリプチン投与がCM-Rを含めたりポ蛋白代謝の改善に有効かについて検討した。II型糖尿病患者38例に現在の治療に追加してシタグリプチンを50mg/日から投与しHbA1c7.4%以下を目標に100mg/日まで増量した。12週間の内服により空腹時血糖・HbA1cのみならずTG・non HDL-Cが有意に低下した。また各アポ蛋白およびapoB-48・RemL-Cが低下し、VLDLおよびLDL分画でのリポ蛋白粒子の低下を認め、シタグリプチンの投与が小腸および肝臓由来のリポ蛋白代謝改善に有用であることが判明した。以上のことから、シタグリプチンは糖尿病患者における動脈硬化リスクを上昇させる脂質代謝異常とくにレムナント代謝異常を改善する治療薬であることが判明した。

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
大阪大学医学部附属病院 臨床検査部 花田浩之、大久保学
大阪中央病院 内科部長 中川智佐 循環器内科部長 柳光司 医長 西田義治 医師 西尾宗高

A . 研究目的

糖尿病患者では脂質代謝異常のうち高中性脂肪(TG)血症の合併が高率であり、その背景には食後のTG-richリポ蛋白(TRL)代謝異常が存在している。TRLは小腸由来のカイロミクロン(CM)および肝臓由来VLDL、さらにそれらがリポ蛋白リパーゼ(LPL)により小粒子化したレムナントにより構成される。レムナントは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。特に近年組織学的な検討から、小腸由来のカイロミクロンレムナント(CM-R)は肝臓由来のVLDLレムナントに比べ血中濃度は1/100程度しかないにもかかわらず、plaque中には同量から倍量存在しており強い動脈硬化惹起性を有していることが示唆されている。糖尿病患者におけるこれらレムナントの蓄積は動脈硬化plaqueを進展させ心血管イベントを高率に発生させることから糖代謝のみならずレムナント代謝の改善の必要がある。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(ELISA法¹・CLEIA法²)、アポB-48濃度は食後高脂血症を反映しIIb型高脂血症³・CD36欠損症⁴・高CM血症¹で高知でありスクリーニングに使用しうる⁵。さらに、アポB-48濃度は頸動脈内膜中膜複合体肥厚⁶や冠動脈有意狭窄罹患率⁸と強く相関し動脈硬化惹起性を評価しうる。以上のように空腹時アポB-48濃度は、動脈硬化惹起性を有するCM-Rの蓄積に強く相関しておりレムナント蓄積を評価しうる事が判明した。

近年、消化管ホルモンであるインクレチンの分解を抑制し血糖依存的にインスリン・グルカゴンの分泌を調節するジペプチジルペプチダーゼ4(DPP-4)阻害薬が上市された。DPP-4阻害薬は血糖改善効果に加え基礎実験ではあるがTGやCM-Rの抑制が報告されている⁸。また少数例ではあるがメトホルミン服用患者にDPP4阻害薬シタグリプチンを併用すると空腹時および食後の脂質が改善されるという効果が報告されている⁹。

以上のことから、我々は、選択的DPP-4阻害薬であるシタグリプチン(グラクティブ錠[®])を日本人2型糖尿病患者に対して使用することで、血糖改善効果はもちろぬ脂質代謝特にレムナントリポ蛋白の蓄積を改善しうるかどうかについて検討を行った。

¹ J Lipid Res. 2003;44:1256-1262. ² Clin

Chim Acta. 2012;413:160-165. ³ Eur J Clin Invest. 2009;39(8):689-98. ⁴ J Lipid Res, 2009;50(5):999-1011. ⁵ J Atheroscler Thromb. 2011;18:1062-70. ⁶ Atherosclerosis. 2011;218:226-32. ⁷ Eur J Clin Invest. 2012;42(9):992-9. ⁸ Diabetologia. 2010;53:552-561. ⁹ Diabetes, Obesity and Metabolism(2011;13(4):366-373.

(倫理面への配慮)

本研究の内容は大阪大学医学部附属病院、蒼生病院、大阪中央病院の各IRBにて承認され、すべての参加者に説明を行いから文書にて同意を得た。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た。

B . 研究方法

大阪大学医学部附属病院、大阪中央病院、蒼生病院において作成した研究計画をIRBにおいて倫理審査を受け病院長より承認を受けた。通院中あるいは入院中の患者を対象とし、以下の選択基準を全て満たし、除外基準のいずれにも該当しない患者を対象とした(性別は問わない)。選択基準としては、20歳以上の2型糖尿病患者で、HbA1cが8.4%以下(NGSP値)、食事療法、運動療法のみで治療中あるいは食事療法、運動療法に加えてスルホニルウレア(アマリール、オイグルコン、グリミクロン、ダオニール)、チアゾリジン(アクトス)、ピグアナイド(メルピン、グリコラン、ジベトスB、メトグルコ)、 α -グルコシダゼ阻害剤(ベイスン、セイブル、グルコバイ)あるいはインスリン製剤を使用している患者、十分な説明を受けた後、理解の上、患者本人の自由意思による同意が書面により取得できた患者、を対象とした。除外基準としては、1型糖尿病、血清クレアチニン値男性Cr>2.5 mg/dL・女性Cr>2.0 mg/dLあるいは血液透析中、アマリール2mg、オイグルコン1.25mg、グリミクロン40mgを越え投与中、DPP4阻害薬投与中、1ヶ月以内の脂質異常症治療薬の変更、妊娠中・妊娠の可能性・授乳中、甲状腺機能障害、重症肝障害(AST・ALT 100 IU/L)、担当医が不適当と判断、の患者とした。通常の外來採血のデータから適応を判断した上で登録を行い、現在の糖尿病治療に加えてシタグリプチンを50 mg/日で投与開始しHbA1c7.4%以下を目標に100mg/日まで増量可能とした。投与前、投与開始4、12週間後に空腹時採血を

実施し、糖代謝マーカーとして血糖、HbA1c、インスリン、グルカゴン濃度を、脂質マーカーとしてLDL-C、HDL-C、TG濃度を、さらにリポ蛋白代謝マーカーとしてアポ蛋白(AI、AII、B、CII、CIII、EおよびB-48)およびRemL-C濃度を測定した。さらに、治療前後におけるリポ蛋白プロファイルの検討のため、High Performance Liquid Chromatography(HPLC)による連続的にリポ蛋白分画ごとのTC濃度、TG濃度を測定した。さらに代謝マーカーとしてアディポネクチン・オメンチンを測定した。以上それぞれの投与前・投与後の数値をpaired t-testを用いて検討しどのように変化したかを観察した。

C . 研究結果

12週間の内服により空腹時血糖(投与前値 vs 投与12週間後値、150±47 vs 129±27 mg/dl, $p<0.01$)およびHbA1c(7.1±0.6 vs 6.6±0.7 mg/dl, $p<0.001$)は有意に低下したが、インスリン・グルカゴン値は変化を認めなかった(図1)。また脂質マーカーはLDL-C・HDL-C濃度に変化を認めなかったが、TG(161±90 vs 130±66 mg/dl, $p<0.01$)およびnon HDL-C(129±29 vs 116±20 mg/dl, $p<0.01$)濃度はいずれも有意に低下した(図2)。さらにapoB-48(7.8±6.7 vs 5.6±4.0 µg/ml, $p<0.01$)およびRemL-C(15.3±9.5 vs 12.0±7.9 mg/dl, $p<0.05$)は有意に低下し(図3)、さらに、アポ蛋白の検討では有意に低下した(図4)。リポ蛋白分画もVLDLおよびLDL分画で有意な低下を示していた(図5)。これらの変化はシタグリプチンの投与が糖代謝のみならず、リポ蛋白代謝(小腸および肝臓由来レムナント)の代謝のいずれも改善させていることを示唆した。

D . 考察

今回の検討は近年動脈硬化性疾患の独立したリスクである糖尿病患者におけるレムナント蓄積がDPP4阻害薬sitagliptinの投与により改善することを示した初めての結果である。従来より示されていたように、DPP4の阻害によりインクレチン濃度上昇からインスリン分泌促進作用が起こり血糖が低下する。今回の検討でも従来示されているように12週間の投与による血糖の低下(-21mg/dl)・HbA1cの低下(-0.4%)を確認した。インスリン促進作用・グルカゴン抑制作用が予想されるが空腹時血中濃度には大きな変化を認めなかった(図1)。脂質代謝に関しては従来指摘されているように空腹時高TG血症の抑制が見ら

れTG値が低下していた(-21mg/dl)。それだけではなく、TC、LDL-Cについても低下を認めた(図2)。DPP4阻害薬投与に伴うコレステロールの低下作用については従来報告がなく、今回の報告からDPP4阻害薬投与によるコレステロール抑制の可能性も示唆された。今回の検討でもっとも変化が見られたのはレムナントの抑制であり、nonHDL-C、RemL-Cといったレムナント総量を表すバイオマーカーおよび特に動脈硬化惹起性が強いアポB-48濃度のいずれも有意に低下を認めた(図3)。このことは糖尿病患者に認められるレムナントの蓄積に伴う動脈硬化惹起性を改善する可能性が考えられ、DPP4阻害薬の糖質・脂質代謝の双方に対するdual effectの可能性が示唆された。この変化のリポ蛋白プロファイルを検討するためアポ蛋白の測定とHPLCを行った。この結果、アポB、C2、C3、およびEのいずれも投与により低下し、HPLCではVLDL、LDLおよびHDL分画でのコレステロール・TG濃度がいずれも抑制されていた(図4、5)。これは内因系経路であるVLDL、IDL、LDLといったアポB-100含有リポ蛋白の抑制とCM、CM-RといったアポB-48含有リポ蛋白のいずれも抑制していることを示唆するものである。すなわち、DPP4阻害薬によるリポ蛋白プロファイルは小腸及び肝臓のいずれにおいてもリポ蛋白数が抑制されることが示され、これはリポ蛋白代謝異常に伴う動脈硬化惹起性を抑制することが示唆された。今後、これらのメカニズムについてマウスなど動物モデルを用いて検討する予定である。

E . 結論

シタグリプチンの投与は糖代謝のみならず動脈硬化惹起的なレムナント代謝も改善し得ることが判明した。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

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

図1 糖代謝に関するバイオマーカーの変化

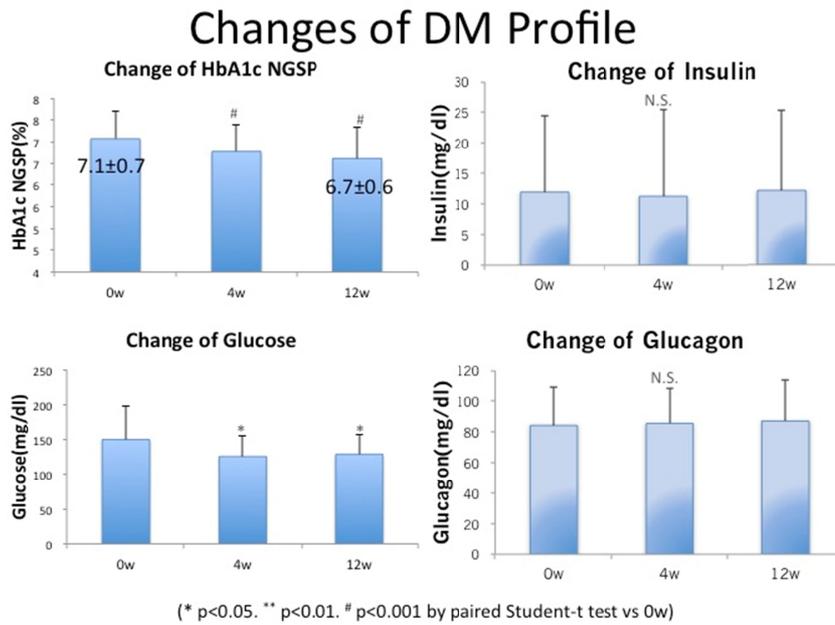


図2 脂質代謝に関するバイオマーカーの変化

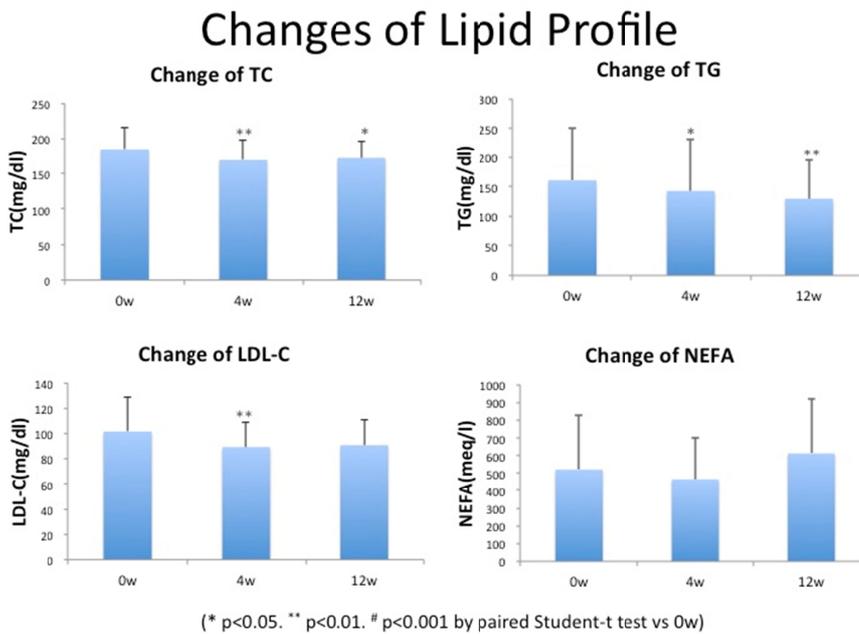


図3 レムナントに関するバイオマーカーの変化

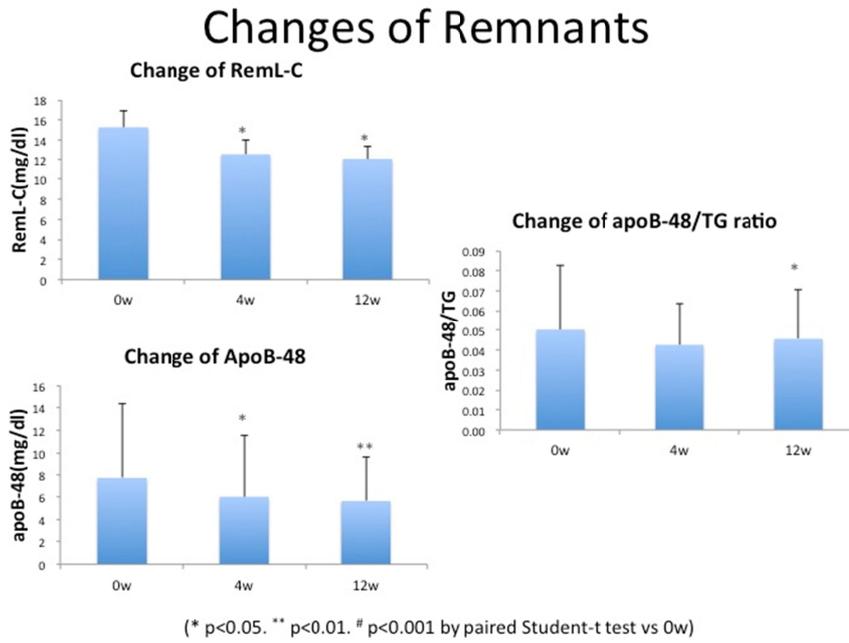


図4 アポ蛋白の変化

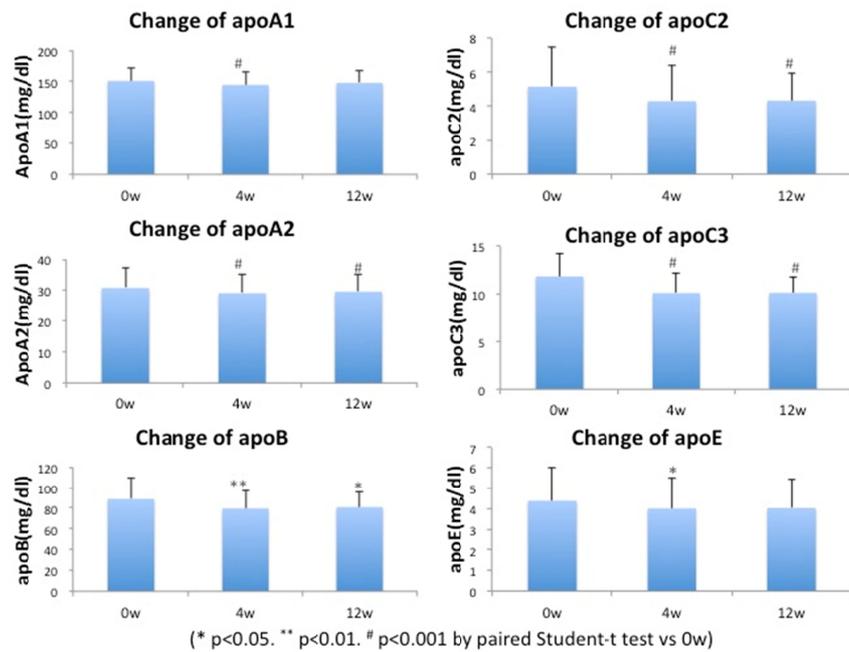
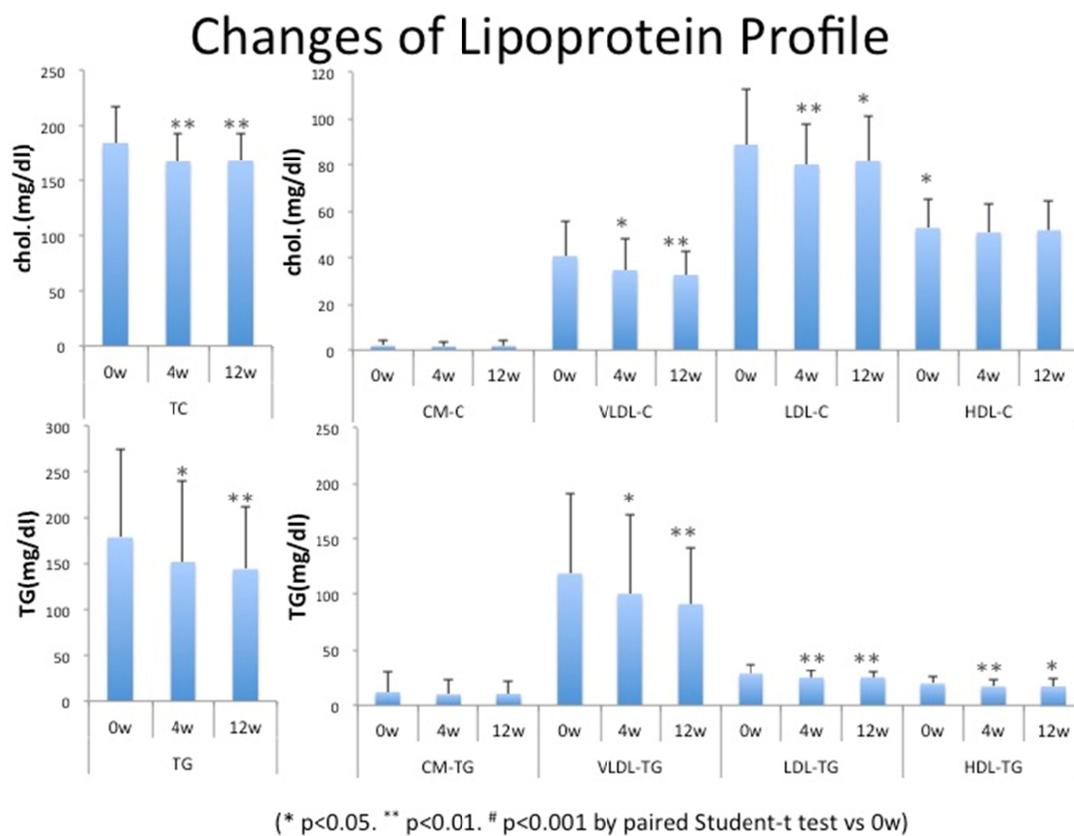


図5 リポ蛋白の変化



分担研究報告書

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

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

研究分担者 中村 雅一 国立循環器病研究センター予防健診部 脂質基準分析室 室長
研究分担者 西村 邦宏 国立循環器病研究センター循環器病統合情報センター統計解析室 室長
研究分担者 宮本 恵宏 国立循環器病研究センター予防健診部・研究開発基盤センター
予防医学・疫学情報部・循環器病統合情報センター 部長

研究要旨

脂質異常症の診断基準の適用に際しては、先ず第一に、LDL コレステロール(LDL-C)、あるいは、non-HDL-C が中心であることは疫学調査研究のみならず、治療エビデンスのメタ解析等からも明らかにされつつある。HDL コレステロール(HDL-C)の低値は冠動脈疾患の発症リスクとなり、逆に高いほどリスクが減少するとされることから、HDL-C 値を正確に測定することは診断基準の運用に際して重要である。HDL-C の基準分析法は、CDC を始め、多くの疫学・臨床分野の研究機関が採用してきた超遠心法(Ultracentrifugation 法)とされる。超遠心法は超遠心機や超遠心用のチューブの操作技術を含め高度な技術が要求されることから、日常分析には馴染まない上に、どこの分析室でも容易に正確な測定結果が得られないなど、測定上の課題は少なくない。この課題を克服するための実用的な臨床検査法として、1997 年頃から、わが国の試薬メーカーは血清と試薬を混合して反応させるという単純な操作で、自動分析装置を使い、8 分程度の短時間で HDL-C を測定する簡便な直接法を次々と開発し、その後、世界中の臨床検査室で使われるようになった。特に心疾患の克服を国家的課題とする米国は、LDL-C と共に、HDL-C にも関心の高い国である。このような背景の元に、米国の Miller らは、わが国で開発された 8 社の HDL-C 直接法の試薬とキャリブレーターを使用して精密性と正確性を検討したが(1)、検体の中には稀なり蛋白異常症が少なからず含まれており、米国の評価成績をわが国の日常臨床の場にそのまま適用することは、必ずしも適切ではなかった。その後、三井田らは、わが国の患者を代表するような検体を選択して HDL-C の直接法の再評価を行っているが(2)、この研究では検体数の不足、トリグリセライドの濃度による直接法への影響、食後採血の問題など幾つかの課題を残した。本研究においては、これらの課題を克服する為の追加研究が実施され、あらためて直接法の再評価がされる。

HDL-C の正確な目標値を確定する基準分析法は、Ultracentrifugation(UC)法とされる。分担研究者らの所属する国立循環器病研究センターの脂質基準分析室は、米国の Centers for Disease Control and Prevention(CDC)が主催している Cholesterol Reference Method Laboratory Network(CRMLN)に 1992 年から正式加盟しており、1997 年 5 月から今日まで 17 年間にわたり、継続して UC 法の標準化を行ってきた。UC 法は、これまでに大規模疫学共同研究や国際的な臨床試験等において、HDL-C の目標値を提供する役割を担ってきた。しかしながら、本法の測定精度の実態についての研究報告は極めて少ない。そこで、われわれはこの空白を埋める目的で、最近 17 年間の CDC による標準化成績を集計し、論文化して Clinica Chimica Acta に投稿し、2014 年 10 月 28 日に受理された(3)。本分担研究報告書では、HDL-C の基準分析法である UC 法の測定精度について記述する。

A. 研究目的

HDL コレステロール(HDL-C)の基準分析法は、超遠心法(Ultracentrifugation 法、UC 法と略)とされる。国立循環器病研究センターの脂質基準分析室は、米国の Centers for Disease Control and Prevention (CDC) が主催する Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN) に参加している正式のメンバーである。このネットワークを通じて、1997年5月から2014年1月までの17年間にわたり、継続してUC法の標準化を行ってきた。UC法は、これまでに大規模疫学共同研究や臨床試験等の場でHDL-Cの目標値を提供する役割を果たしてきた。UC法は、本研究においても適用される。しかしながら、本法の測定精度の実態についての論文や学会報告は極めて少ない。そこで、われわれは、UC法の測定精度を明らかにすることを目的として、これまでの標準化成績を集計し、論文化した。分担研究報告書では、HDL-Cの基準分析法であるUC法の測定精度を中心に述べる。

B. 研究方法

本研究班の2年目に当たる平成26年度内に行った研究課題とその主な内容は以下の通りである。

【脂質標準化システムの構築】

脂質標準化システムは、CDCが実施しているシステムとネットワークを構成する脂質基準分析室(例:国立循環器病研究センター)が実施しているシステムに大別することができ、いずれも試薬メーカーと臨床検査室を対象に標準化が行われる。

【UC法の操作方法】

UC法は、バックグラウンド1.006の比重下で超遠心後に上清に浮上するカイロミクロンとVLDLをチューブ・スライサーで除去し、下層部分をBottom fraction(BF)と称する。BF中のコレステ

ールをBFC、BF中のHDLをヘパリン・マンガン分離法で分離・測定したコレステロールを超遠心法によるHDL-Cと見なす。本研究班では、この測定法によりHDL-Cの目標値を確定した。

C. 研究結果、及び、D. 考察

【脂質標準化システムの構築と内容】

CDCが実施しているシステム: 試薬メーカーを対象とする脂質標準化システムは、CDCのweb site(<http://www.cdc.gov/labstandards/crmln.html>)に掲載されている。その内容は、総コレステロールではTotal cholesterol certification protocol for manufacturers-revised-(October 2004)、HDLコレステロールではHDL cholesterol certification protocol for manufacturers (November 2002)、LDLコレステロールではLDL cholesterol certification protocol for manufacturers (June 2006)として世界中に公開されている。国立循環器病研究センターを通じて、試薬メーカーを対象とする標準化プログラムにより標準化を実施し、判定基準を満たした試薬メーカーの名称等は、CDCのweb siteにおいて総コレステロールではAnalytical systems certified for total cholesterol、HDLコレステロールではAnalytical systems certified for HDL cholesterol、LDLコレステロールではAnalytical systems certified for LDL cholesterolとして公示されている。次に、臨床検査室を対象とする脂質標準化システムは、総コレステロールのみが対象であり、その内容はCertification protocol for clinical laboratories (May 2004)で公開されている(4)。国立循環器病研究センターを通じて、臨床検査室を対象とする標準化プログラムにより標準化を実施し、判定基準を満たしたわが国の臨床検査室の名称等は、List of international clinical laboratories certified for total cholesterolとしてCDCで公示されている。

国立循環器病研究センターが実施しているシス

テム：試薬メーカーを対象とする脂質の標準化は、CDC のプログラムと同じ内容が適用されている。次に、臨床検査室を対象とする脂質標準化システムは、総コレステロールでは CDC と同じプログラムが適用されているが、HDL コレステロール、LDL コレステロール、及び、トリグリセライドは、国立循環器病研究センターで独自に開発されたプログラムが運用されており、それらは同センターの web site で公表されている。HDL コレステロールでは臨床検査室を対象とした HDL コレステロールの標準化プログラム(2012年06月)として、LDL コレステロールでは臨床検査室を対象とした LDL コレステロールの標準化プログラム(2012年06月)として、トリグリセライドでは臨床検査室を対象としたトリグリセライド(中性脂肪)の標準化プログラム(2012年06月)として公開されている。中でも、トリグリセライドの標準化は、わが国では最初のプログラムであり、その目標値は CDC に標準化されたガスクロマトグラフ・アイソトープ希釈・質量分析計で確定されている点に特徴がある。

【UC 法の 17 年間の測定精度のまとめ】

UC 法に対する最新の評価成績：本研究班では約 200 人を対象に採血を実施して、HDL-C の正確な測定値を UC 法で求める。この測定に備えて、国立循環器病研究センターの脂質基準分析室では UC 法の測定体制が常時整っている。2014 年 7 月に実施された CDC による UC 法に対する最新の評価成績を、表 1 に示した。

CDC のネットワーク(CRMLN)を構成する脂質基準分析室に適用される判定基準を、表 2 に示した。

1997 年 5 月から 2014 年 1 月までの 17 年間における UC 法の測定精度を正確度(Accuracy)と精密度(Precision)に 2 分して、表 3 に示した。それによれば、対象例数が 626 例の正確度の回帰式 ($y=Osaka, x=CDC$) で 見 る と 、

Slope=-0.008(95%CI: -0.013, -0.003; $p=0.001$)、Intercept=0.540(95%CI: 0.296, 0.784; $p<0.001$)で、 r -square=0.017 であった。正確度の分布図を図 1 に示した。一方、精密度の回帰式 ($y=Osaka, x=CDC$)で見ると、Slope=0.002(95%CI: -0.00005, 0.0036; $p=0.056$)、Intercept=0.270(95%CI: 0.179, 0.360; $p<0.001$)で、 r -square=0.006 であった。精密度の分布図を図 2 に示した。

臨床検査室と試薬メーカーに適用される HDL-C の判定基準を、表 4 に示した。この判定基準が、認証試験に適用される。

1997 年 5 月から 2014 年 1 月までの 17 年間における UC 法の分析経過を、図 3 に示した。

E. 結論

CDC における 17 年間の標準化成績を解析することにより、HDL-C の基準分析法である超遠心法(Ultracentrifugation 法)の測定精度を明らかにした。この研究成果を活用して本研究班における検体の HDL-C の目標値を確定した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Miller WG, Myers GL, Sakurabayashi I, et al. Seven direct methods for measuring HDL and LDL cholesterol compared with ultracentrifugation reference measurement procedures. Clin Chem 2010;56:977-986.

(2) Miida T, Nishimura K, Okamura T, et al. Validation of homogeneous assays for

HDL-cholesterol using fresh samples from healthy and diseased subjects. *Atherosclerosis* 2014;233:253-259.

(3) Nakamura M, Yokoyama S, Kayamori Y, et al. HDL cholesterol performance using an ultracentrifugation reference measurement procedure and the designated comparison method. *Clin Chim Acta* 2015;439:185-190.

(4) Nakamura M, Iso H, Kitamura A, et al. Total cholesterol performance of Abell-Levy-Brodie-Kendall reference measurement procedure: Certification of Japanese in-vitro diagnostic assay manufacturers through CDC's Cholesterol Reference Method Laboratory Network. *Clin Chim Acta*に投稿中

2. 学会発表

なし

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

表1 Network survey PS0714 - HDL-C

Pool ID	CDC目標値	大阪測定値	S.D.	Bias (mg/dL)
172	50.6	50.8	0.3	0.2
152	32.6	33.0	0.9	0.4
371	50.9	50.6	0.1	-0.3

単位: mg/dL

表2 Performance criteria applied to CRMLN lipid reference laboratory using ultracentrifugation method

Lipid	Imprecision criterion	Accuracy criterion
HDL-C	Standard deviation \leq 1 mg/dL	bias \leq 1 mg/dL

CRMLN: Cholesterol Reference Method Laboratory Network.

HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol.

表3 Regression analysis of the bias between Osaka (y) and CDC (x) and imprecision for HDL-C over time (unit: mg/dL)

Parameter	HDL-C Method	Number of samples	Slope (95% CI)	Intercept (95% CI)	R ²	Time period
Accuracy	UC	626	-0.008 (-0.013, -0.003) p=0.001	0.540 (0.296, 0.784) p<0.001	0.017	May 1997 to January 2014 (17 years)
Precision	UC	626	0.002 (-0.00005, 0.0036) p=0.056	0.270 (0.179, 0.360) p<0.001	0.006	May 1997 to January 2014 (17 years)

UC: Ultracentrifugation.

HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol.

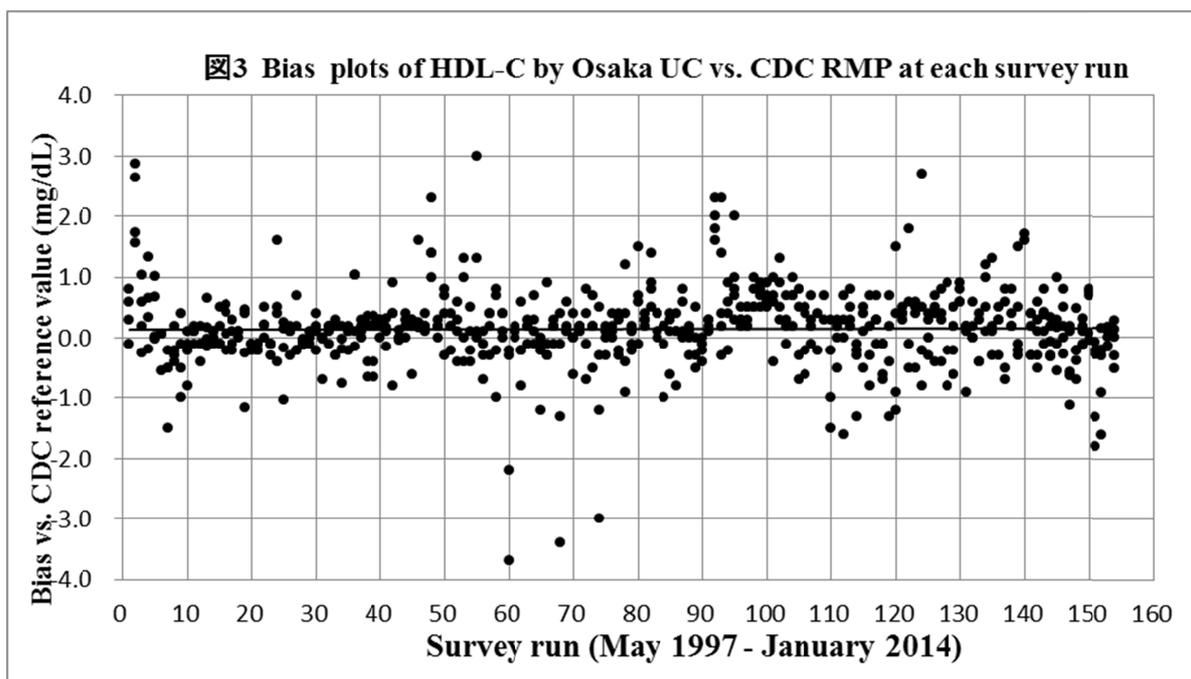
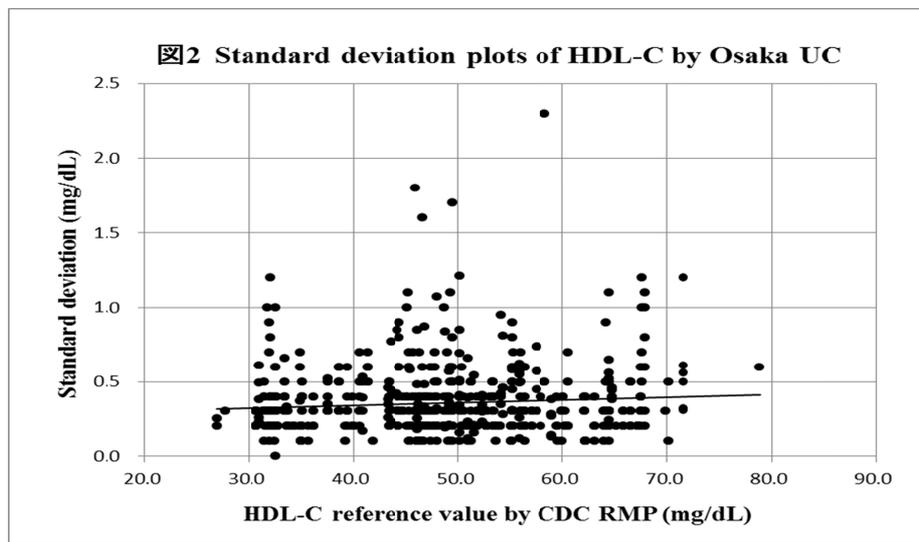
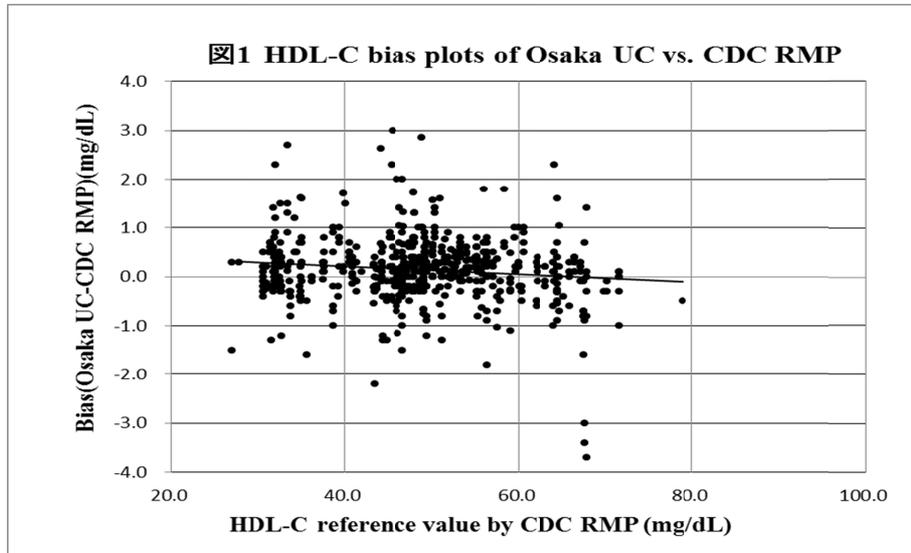
CV: Coefficient of variation. CI: Confidence interval.

表4 Performance criteria applied to clinical laboratory and manufacturer for HDL-C

Parameter	Criterion
R ²	> 0.975
Bias at 40 mg/dL	\leq 5 %
Bias at 60 mg/dL	\leq 5 %
Average % Bias	\leq 5 %
Average absolute % Bias	\leq 5 %
Among-run CV	\leq 4 %
t-test of bias	Not significant at $\alpha=5\%$
Within-method outliers	1 allowed
Between-method outliers	None allowed, but may eliminate one sample

HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol. CV: Coefficient of variation.

CV: Coefficient of variation.



研究成果の刊行に関する一覧表

【寺本 民生】

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
Hirayama A, et al.	Effects of Evolocumab (AMG145), a Monoclonal Antibody to PCSK9, in Hypercholesterolemic, Statin-Treated Japanese Patients at High Cardiovascular Risk - Primary Results From the Phase 2 YUKAWA Study-	Circ J	78(5)	1073-1082	2014
The STABILITY Investigators,	Darapladib for Preventing Ischemic Events in Stable Coronary Heart Disease.	NEJM	370(18)	1702-1711	2014
Teramoto T, et al.	Efficacy, safety, tolerability, and pharmacokinetic profile of evacetrapib administered as monotherapy or in combination with atorvastatin in Japanese patients with dyslipidemia.	Am J Cardiol.	113(12)	2021-2029	2014
Teramoto T, et al.	Lipid and Blood Pressure Control for the Prevention of Cardiovascular Disease in Hypertensive Patients: A Subanalysis of the OMEGA Study.	J Atheroscler Thromb.	21		2014
Ikeda Y, et al.	Low-Dose Aspirin for Primary Prevention of Cardiovascular Events in Japanese Patients 60 Years or Older With Atherosclerotic Risk Factors. A Randomized Clinical Trial.	JAMA	312(23)	2510-2520	2014

【岡村 智教】

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
岡村智教	動脈硬化性疾患のための脂質異常症の管理：最新の疫学知見と日米のガイドラインから	東京都医師会雑誌	67 (10)	1283-1290	201

【宮本 恵宏】

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
Sugiyama D, et al.	Risk of Hypercholesterolemia in Patients with Cardiovascular Disease and the Population Attributable Fraction in a 24-year Japanese Cohort Study.	J Atherosclerosis Thromb.			Epub 2014/09/05.
Sugiyama D, et al.	The Relationship between Lectin-Like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor-1 Ligands Containing Apolipoprotein B and the Cardio-Ankle Vascular Index in Healthy Community Inhabitants: The KOBE Study.	J Atherosclerosis Thromb. 2014.			Epub 2014/11/07.

【藤吉 朗】

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Thisamatsu T, et al.	Lipoprotein particle profiles compared with standard lipids in association with coronary artery calcification in the general Japanese population	Atherosclerosis	236	237-243	2014
Maryam Zaid, et al.	High-density lipoprotein particle concentration and subclinical atherosclerosis of the carotid arteries in Japanese men	Atherosclerosis	239	444-450	2014

【三井田 孝】

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
Miida T, et al.	Validation of homogeneous assays for HDL-cholesterol using fresh samples from healthy and diseased subjects.	Atherosclerosis	233(1)	253-259	2014
Yamaguchi S, et al.	Selective evaluation of high-density lipoprotein from mouse small intestines by an in situ perfusion technique.	J Lipid Res	55(5)	905-918	2014
Idei M, et al.	The mean postprandial triglyceride concentration is an independent risk factor of carotid atherosclerosis in patients with type 2 diabetes.	Clin Chim Acta	430	134-139	2014
Shoji H, et al.	Lipid profile and atherogenic indices soon after birth in Japanese preterm infants.	Acta Paediatr	103(1)	22-26	2014
Nagasaka H, et al.	Changes of lipoproteins in phenylalanine hydroxylase-deficient children for the first early of life.	Clin Chim Acta	433	1-4	2014

【西村 邦宏】

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
Haraguchi Y, et al.	Serum myeloperoxidase/paraoxonase 1 ratio as potential indicator of dysfunctional high-density lipoprotein and risk stratification in coronary artery disease.	Atherosclerosis	234(2)	288-94.	2014

Nishimura K, et al.	Predicting coronary heart disease using risk factor categories for a Japanese urban population, and comparison with the Framingham risk score: the Suita study.	J Atheroscler Thromb.	21(8)	784-98	2014
Tsukinoki R, et al.	Blood pressure, low-density lipoprotein cholesterol, and incidences of coronary artery disease and ischemic stroke in Japanese: the Suita study.	American journal of hypertension.	27(11)	1362-9.	2014

【山下 静也】

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
Okubo M, et al.	Serum apolipoprotein B-48 concentrations are associated with reduced estimated glomerular filtration rate and increased proteinuria	J Atheroscler Thromb	21(9)	974-982	2014
Masuda D, et al.	Reference interval of apolipoprotein B-48 concentration in healthy Japanese individuals	J Atheroscler Thromb	21(6)	618-627	2014
Kuroda M, et al.	Lipoprotein subfractions highly associated with renal damage in familial LCAT deficiency	Arterioscler Thromb Vasc Biol	34(8)	1756-1762	2014
Edahiro R, et al.	Association of lifestyle-related factors with circadian onset patterns of acute myocardial infarction: a prospective observational study in Japan	BMJ Open	4(6)	e005067	2014

【中村 雅一】

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
中村 雅一	LDL cholesterol performance of beta quantification reference measurement procedure	Clinica Chimica Acta	431	288-293	2014
中村 雅一	HDL cholesterol performance using an ultracentrifugation reference measurement procedure and the designated comparison method	Clinica Chimica Acta	439	185-190	2015