

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07364

研究課題名（和文）自己免疫に基づく脂質代謝異常症の診断法の開発

研究課題名（英文）Development of diagnostic method for autoimmune dyslipidemia

研究代表者

山本 浩靖（Yamamoto, Hiroyasu）

大阪大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：00631201

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）： 診断に難渋している高中性脂肪血症症例として全国の医療機関から当研究室に紹介された症例について、抗GPIHBP1、抗LPL自己抗体の存在を検討し、自己免疫性脂質異常症の可能性について診断を行った。

抗apoB-100自己抗体価は大血管合併症を有する糖尿病患者では低値であること、安定狭心症男性症例では責任冠動脈病変のプラークの安定性と有意な正相関をとることを報告した。さらに、安定狭心症男性症例での抗LPL自己抗体価がプラークの安定性と有意な負の相関をとり、抗apoB-100、抗LPL自己抗体価を組み合わせること、より脆弱なプラークを有するハイリスク症例を抽出できる可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂質異常症はありふれた疾患と考えられているがその機序は様々であり、自己免疫的機序に伴うものは診断法が確立されていないために診断に難渋し、治療法の決定も難しくなる。今回、全国から依頼された症例を解析し、診断に貢献した。

さらに、脂質代謝関連分子に対する自己抗体の測定系を開発し、いくつかの自己抗体が狭心症の原因病変におけるプラークの安定性・不安定性と関連することを見出した。このマーカーを複合的に用いることで、よりリスクの高い症例を抽出することができ、個々の患者の治療方針の検討に役立つことが示唆された。

研究成果の概要（英文）： We investigated the possibility of autoimmune hypertriglyceridemia in the undiagnosed cases of hypertriglyceridemia nationwide, by showing the presence of anti-GPIHBP1 or anti-LPL autoantibodies.

We have reported that the anti-apoB100 autoantibody levels were significantly lower in diabetic patients with macrovascular complications compared with those without. Furthermore, we found that they were significantly positive correlation with the stability markers of the plaques in the culprit coronary artery lesion among the male patients with stable angina, and that the LPL autoantibody levels had a significant negative correlation with plaque stability. Finally, we showed that the combination of anti-apoB100 and anti-LPL autoantibody titers can help identify higher-risk cases or coronary artery diseases.

研究分野：内分泌・代謝内科学，臨床検査医学

キーワード：自己免疫性脂質異常症 自己抗体 心血管疾患 アポリポ蛋白 リポ蛋白リパーゼ GPIHBP1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

動脈硬化リスクを正しく評価し、継続したリスク管理を行うことは健康寿命の延長に重要である。脂質異常症は、高血圧や糖尿病と並ぶ動脈硬化の重要なリスク因子の1つであり、高LDL-C血症に対するスタチンやPCSK9阻害剤などの薬物による治療介入は、その後の心血管疾患イベント発症を有意に抑制し、患者の予後改善に有用であるだけでなく、社会経済的にも多大な貢献を認める。しかし、血清LDL-C降下療法でも心血管疾患の発症は完全には抑制できず、残余リスクの存在が想定され、その検出に寄与する新たなバイオマーカーの開発が望まれている。

一方、脂質異常症の成因には、食事・運動などの生活習慣の乱れ、遺伝の素因等がよく知られるが、重症脂質異常症の一部には病因が同定できないもの、従前の治療に抵抗性を示すものも散見され、未知の脂質代謝制御因子の存在や自己免疫的機序の関与が想定される。1970年代にBeaumontらは、続発性脂質異常症を来たす自己免疫性脂質異常症の疾患概念を提唱し、我々はこれまでにlipoprotein lipase (LPL) や apolipoprotein C-II (apo C-II) に関連する自己免疫性脂質異常症を発見した。これらの研究をもとに、2015年には本邦の指定難病「原発性高カイロミクロン血症」の原因に追記された。しかし、確立した診断法がないために臨床現場での実態は十分に解明されず、自己免疫性脂質異常症の報告は少なく、臨床現場での実情とは乖離している。

2. 研究の目的

(1) 症例解析

診断法が未確立であるために見逃されたり、未診断のまま治療されたりしている自己免疫性脂質異常症症例では、適切な治療法が選択できず、治療抵抗性・難治性と判断されることも多い。そこで、診断に難渋している高中性脂肪血症症例として全国の医療機関から当研究室に紹介された症例の自己免疫性脂質異常症の可能性を診断することを目的とした。

(2) 抗apoB-100自己抗体、LPL自己抗体の臨床的意義の検討

自己免疫性脂質異常症で検出される、脂質代謝関連分子に対する自己抗体は、脂質異常症の原因となり得る。しかし、この自己抗体のその他の臨床的意義については十分に解明されていない。そこで、今回はLDL-コレステロール代謝に関わるapoB-100と中性脂肪代謝に関わるLPLに着目し、男性安定狭心症患者における自己抗体と動脈硬化との関係を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 症例解析

診断に難渋している高中性脂肪血症症例として全国の医療機関から紹介された症例の臨床データをもとに、glycosylphosphatidylinositol-anchored HDL binding protein1 (GPIHBP1)、LPLに対する自己抗体を解析した。患者血清中の抗GPIHBP1自己抗体の各免疫グロブリン分画は、我々が報告した免疫沈降・ウエスタンブロット法を組み合わせた方法で検出し (Yamamoto H, et al (2014) J Clin Endocrinol Metab)、複数の健常人血清との比較から、抗体の存在の有無を判定した。抗LPL自己抗体は、V5タグ付加LPLを発現させたCOS7細胞の培養液と患者血清の混合液を抗V5抗体で免疫沈降し、共沈してくる免疫グロブリンをウエスタンブロット法で検出した。この時、MOCKベクターを導入したCOS7細胞の培養液を用いたものとの比較によりV5-LPLに対する特異性を、健常対照との比較により症例での有意性を評価した。

(2) 抗 apoB-100 自己抗体、LPL 自己抗体の臨床的意義の検討

抗アポ B-100 あるいは抗 LPL 自己抗体を測定する homemade ELISA 系を構築した。apoB-100 抗原として、apoB-100 の 661-680 番アミノ酸に相当する p45、3136-3155 番アミノ酸に相当する p210 を用い、LPL 抗原には、LPL と結合して酵素活性を阻害することの知られている 5D2 抗体のエピトープを用いた。県立西宮病院循環器内科通院中の男性安定狭心症症例 80 症例を解析検体とし、各々の自己抗体価を測定した後、各種臨床データや血管内超音波法で評価された責任冠動脈病変のプラークの各種指標との関連を統計学的に解析した。尚、本研究は大阪大学倫理委員会、県立西宮病院倫理委員会の承認を得て行なった。

4. 研究成果

(1) 症例解析

依頼された多数検体の解析の代表的な結果を以下に提示する。

症例 1: 18 歳男性。9 歳時に TG 4000 mg/dL を指摘。同年に特発性血小板減少症と診断、8 年後に全身性エリテマトーデス (SLE) と診断。GPIHBP1 に結合する IgG, A, M は健常対照者のバンドよりも薄く、明らかな抗 GPIHBP1 自己抗体なし、と診断した (図 1-1)。

症例 2 : 15 歳女性。14 歳時に、熱中症での受診時に TG 6442 mg/dL を指摘。自己免疫性疾患は未発症だが、抗核抗体は 320 倍と増加。治療

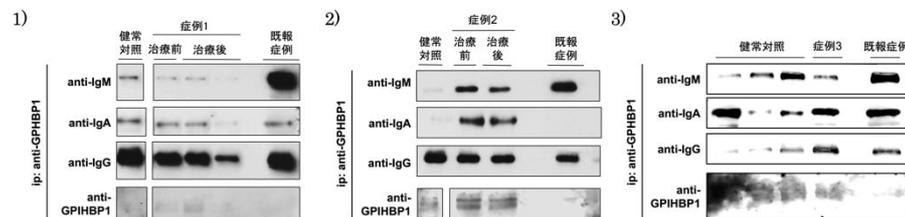


図1：症例1-3における抗GPIHBP1自己抗体の検出

前検体では GPIHBP1 に結合する IgA, M は健常対照に比べて増加し、治療後に減少。IgA, IgM 分画の抗 GPIHBP1 自己抗体あり、と診断した(図 1-2)。

症例 3 : 14 歳女性。発熱、膝関節痛を主訴として受診した際に、TG 280-1374 mg/dL を指摘。その後、ルー

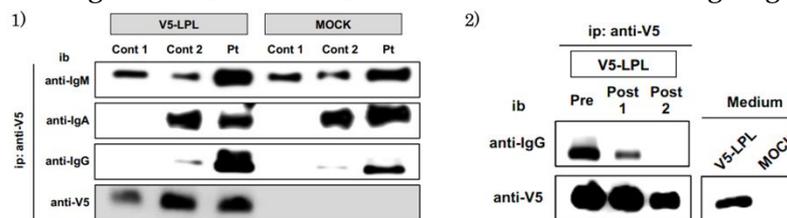


図2：症例3の抗LPL自己抗体の証明と治療前後での変化

ープス腎炎 Class IIIA/C と診断。治療前検体では GPIHBP1 に結合する IgA, M が健常対照に比べて増加していたが、治療早期で治療前後での差異は明らかではなかった(図 1-3))。さらに、V5-LPL に特異的に結合する IgG 分画の自己抗体が増加し、治療後には減少していた(図 2)。従って、抗 GPIHBP1、抗 LPL 自己抗体の両方を有すると診断した。

診断に難渋している続発性高中性脂肪血症として、全国から依頼された検体の解析を行ったが、自己免疫性脂質異常症の診断は様々であり、単一因子に対する抗体を有したものの、複数因子に対する抗体を有したものなどがあつた。今回の検討では、自己免疫性疾患合併症例が多く、ステロイドや免疫抑制剤による治療による抗体価の低下が示唆された。

(2) 抗 apoB-100 自己抗体、LPL 自己抗体の臨床的意義の検討

男性安定狭心症患者 80 名において、責任冠動脈病変のプラークの 50% 以上の plaque burden を有する血管内超音波画像を解析に用いた。対象のプラーク性状は表 1 の通り。IgG 分画の抗 LPL 自己抗体価は血清脂質パラメータや plaque burden と有意な相関を示さなかったが、プラークの線維成分(%Fibrotic)と有意な負の相関、壊死成分(%Necrotic)および石灰化成分(%Calcified)と有意な正相関を示した(図 3)。

	mean ± SD
Plaque burden (%)	66.4 ± 5.2
%Fibrotic (%)	53.8 ± 12.4
%Lipidic (%)	11.6 ± 2.9
%Necrotic (%)	32.0 ± 10.3
%Calcified (%)	3.2 ± 2.5

抗 apoB-100 自己抗体価のカットオフ 0.55 で 2 群に分けると、高抗体価群では低抗体価群に比べ、LDL-C が高値傾向、%Fibrotic が有意に高値、%Necrotic が有意に低値であった。

一方、抗 LPL 自己抗体価のカットオフ 0.55 で 2 群に分けると、高抗体価群では低抗体価群に比べ、RLP-C、RLP-C/TG が有意に高値、%Fibrotic が有意に低値、%Necrotic が有意に高値であった。抗 apoB-100 自己抗体価<0.55 の群について、抗 LPL 自己抗体価<0.10 を Group I, >0.10 を Group II として 2 群に分けたところ、Group II では Group I に比べ、TG、RLP-C、RLP-C/TG が有意に高値であり、%Fibrotic が有意に低値、%Necrotic が有意に高値であった(図 4)。

従って、抗 apoB-100 自己抗体、抗 LPL 自己抗体を組み合わせることにより、より脆弱なプラークを有するハイリスク症例を抽出できる可能性が示唆された。

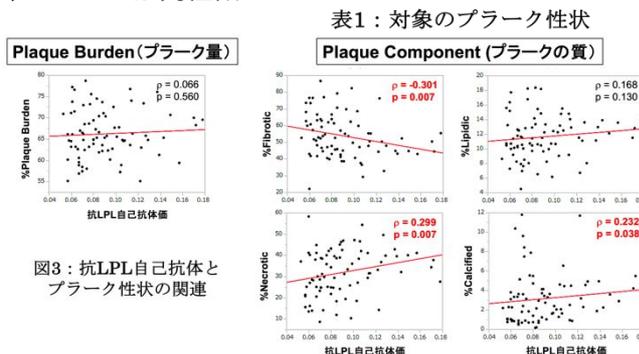


図3：抗LPL自己抗体とプラーク性状の関連

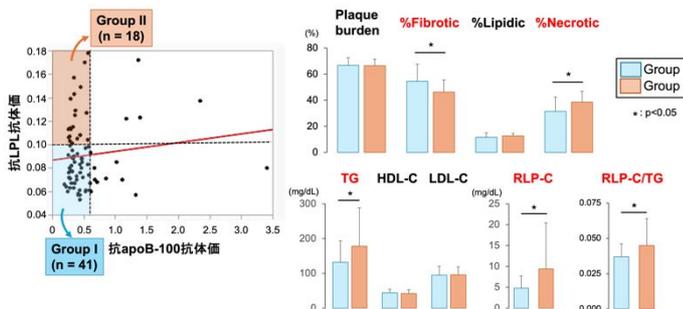


図4：抗LPL、抗apoB-100自己抗体とプラーク性状の関連

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Imai M, Kawamura M, Kochi I, Matsuoka T, Kihara S, Yamamoto H.	4. 巻 28
2. 論文標題 Anti-Apo B-100 Autoantibody is a Marker of Unstable Coronary Plaque.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 1025-1034
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5551/jat.58784	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshinaga M, Yuasa E, Matsuoka T, Kihara S, Yamamoto H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Anti-Lipoprotein Lipase Antibody as a Useful Marker for Plaque Vulnerability in Patients with Stable Angina	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5551/jat.64528	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 吉永望結 安岡竜平 木原進士 山本浩靖
2. 発表標題 新たな検出法で診断できた抗LPL自己抗体に伴う自己免疫性高中性脂肪血症の1例
3. 学会等名 第54回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉永望結 安岡竜平 木原進士 山本浩靖
2. 発表標題 新たな検出法で診断できた抗LPL自己抗体、および抗GPIIb/IIIa自己抗体に伴う自己免疫性高中性脂肪血症の1例
3. 学会等名 第23回日本内分泌学会近畿支部学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉永望結 湯浅詠花 松岡哲郎 木原進士 山本浩靖
2. 発表標題 男性安定狭心症患者における 抗LPL自己抗体の臨床的意義の検討
3. 学会等名 第96回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryota Ono, Tetsuro Matsuoka, Hiroyasu Yamamoto, Yuki Kokubu, Shimpei Nakatani, Yasunaka Makino, Shinji Kihara
2. 発表標題 LOW LEVELS OF AUTOANTIBODIES AGAINST OXIDIZED APOLIPOPROTEIN B100 ARE ASSOCIATED WITH THE INCREASED RISK OF CARDIAC EVENTS AFTER PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION
3. 学会等名 American College of Cardiology 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 湯浅詠花 吉永望結 松岡哲郎 木原進士 山本浩靖
2. 発表標題 抗リポ蛋白リパーゼ(LPL)自己抗体価は不安定冠動脈プラークの有用な指標である
3. 学会等名 第67回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	木原 進士 (Kihara Shinji) (20332736)	大阪大学・大学院医学系研究科・教授 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------