

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 13 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23790853

研究課題名（和文） 高比重リポ蛋白の質を規定するバイオマーカーの検索

研究課題名（英文） To explore the biomarkers which determine the quality of high density lipoprotein

研究代表者

安田 知行 (Yasuda Tomoyuki)

神戸大学・医学部附属病院・特定助教

研究者番号：20457047

研究成果の概要(和文):動脈硬化モデルラビットと正脂血症ラビットJの血清を用いて検証を行った。HDL 質的評価は、コレステロール引き抜き能と、抗酸化能として、Paraoxonase (PON1) 活性測定を行った。両ラビット間で、HDL 質的变化は認めず、動脈硬化モデルで HDL 量の低下は認めたが、質の悪化も認めなかった。臨床研究では、スタチン投与前後血清を用いて、HDL 質的評価を行った。スタチン投与にて、HDL-C 値は増加傾向を示し、増加した HDL の引き抜き能や抗酸化能は保たれていた。以上より、HDL 質的管理も重要であるが、HDL-C 値、量でまずリスク評価することも重要であることが再認識された。

研究成果の概要(英文): In the present study, we used rabbit's and human's samples for evaluating HDL quality. In basic study, we used the myocardial infarction-prone Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL-MI) rabbits which develop atherosclerotic lesion by month and control Japanese white (JW) rabbits which are healthy control. We evaluated the quantitative or qualitative alteration of HDL in the same individual rabbit. Paraoxonase activity assay, as an antioxidant property of HDL, and cholesterol efflux capacity assay were performed for evaluating HDL quality. There were no differences in HDL quality between 2 rabbit models. HDL qualitative evaluation was performed using the dyslipidemia patients' serum before and after statin treatment. Statin increased HDL-C levels, and the cholesterol efflux capacity and antioxidant potential of increased HDL were maintained. As mentioned above, both HDL quantities and qualities analysis would be important for evaluating the risk of atherosclerosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、循環器内科学

キーワード：分子血管病態学

## 1. 研究開始当初の背景

動脈硬化疾患の予防、治療にリ

ポ蛋白の管理が重要であることは周知されている。低比重リポ蛋白 (LDL) は、“悪玉” コレステ

ロールとして知られ、動脈硬化進展に直接的な役割を果たし、LDL低下療法が、動脈疾患の予防、治療に役立つことも、多くの臨床研究が証明してきた。しかし、LDL低下療法において、約30%程度しか動脈硬化リスクを低下させることができず、残存リスクが問題となっている (Lancet, 2002)。一方、高比重リポ蛋白 (HDL) は、“善玉” コレステロール、負の動脈硬化危険因子として確立されてきた。多くの疫学研究において、高 HDL 血症は、動脈硬化リスクと逆相関することが立証されている。しかし、HDL 代謝を遅らせるコレステリルエステル転送蛋白 (CETP) 阻害剤を用いた薬物介入による HDL 増加療法は、心血管イベントを増加させるという残念な結果であった (Barter PJ, et al. N Engl J Med 2007)。冠動脈疾患患者において HDL が“悪玉”化し、動脈硬化惹起性に働くという報告も存在する (Ansell BJ, et al. Circulation 2003)。現状では、HDL を増加させるのみでは、抗動脈硬化作用を呈さず、質の改善も重要であるという意見も発表されている (Rothblat GH, et al. Curr Opin Lipidol 2010)。

HDL の質とは、HDL がどの程度抗動脈硬化作用を持っているのかと言い換えることができる。HDL の最も重要な抗動脈硬化作用は、末梢に蓄積した余分なコレステロールを引き抜くコレステロール逆転送系の活性化である

と考えられている (Rader DJ. J Clin Invest, 2006)。引き抜き能が高い HDL が、質の良いコレステロール、“善玉” と言える。糖尿病患者由来の血清は、引き抜き能が低下していたと報告されている (Brites FD, et al. Clin Chim acta 1999)。しかし、この引き抜き能の評価は、ラジオアイソトープ (RI) を利用した細胞実験が必須であり、臨床現場において、手頃に行える検査ではない。そこで、今回の研究の目的は、HDL 悪玉化に関連するといわれている蛋白と、HDL 引き抜き能の相関を検討し、どの指標が、もつとも HDL 引き抜き能、ひいては、HDL の質と相関するのかを調べる。

## 2. 研究の目的

本研究では、研究期間内に、動脈硬化モデルラビットをもちいた HDL の質に関する基礎的研究とヒトの血液検体を用いた臨床研究を行い、バイオマーカーの検索を同時並行で行う。

自然に動脈硬化、心筋梗塞を発症する Watanabe Heritable Hyperlipidaemic (WHHL) ラビット (Shiomi et al. Atherosclerosis, 2009) と対照群である日本白色家兎から、継時的に採血を行い、HDL 精製と MPO、PON1 の蛋白量と活性の測定を行う。精製 HDL を使用し、HDL 引き抜き能の継時的变化を調べる。日本白色家兎は、動脈硬化を発症しな

いため、HDLの質には加齢のみによる微細な変化しか認められないと予測するが、WHHLラビットは、加齢とともに動脈硬化が進展するため、HDLの質にも何らかの影響が出ることが予想される。

当院循環器内科入院中の患者より、インフォームドコンセントの後、空腹時採血を行い、血清を分離する。心臓カテーテル検査、あるいは心筋シンチ検査にて、冠動脈疾患が指摘された患者群を冠動脈疾患群、不整脈疾患にて入院し、今まで冠動脈疾患の既往のない患者群を対照群とする。冠動脈疾患群にて、HDLの質が悪化していることを確認し、MPO、PON1との相関を調べる。

### 3. 研究の方法

最初にラビットにて実験を行う。家兎の場合は、環境や遺伝子背景が類似していることから、MPO/PON-1比とHDL質の関連を検証することが容易と思われる。動脈硬化、心筋梗塞自然発症ラビットから、HDLを精製し、引き抜き能を代表とする“質”の評価を行い、月単位で進行する動脈硬化病変との関連を検証する。

次いで、ヒト臨床研究を行う。ヒトの場合は、動脈硬化進行に時間がかかることから、半年、一年単位で、採血を行い、HDLを精製し、同じく”質“の解析を行う。質解析と同時に、MPO、PON1蛋白量、活性の測定を行う。MPO/PON1比と、HDL引き抜

き能、動脈硬化の解析を行い、3因子の相互関係を明確にすることが目標である

### 4. 研究成果

ラビットを用いた研究において、経時的に動脈硬化が進展していくWHHLラビットにおいて、全体的なHDLに由来する抗動脈硬化作用は低下していたが、その原因は、HDLコレステロール低下により、HDLコレステロール当りの抗動脈硬化作用はむしろ亢進しており、経時的な変化は認められなかった。

ヒトにおいて、スタチン投与前後にて、増加したHDLの抗動脈硬化作用の評価を行ったが、HDLコレステロール当りでは、変化が無く、HDLコレステロールが増えた分だけ、抗動脈硬化作用も増加した。

以上の結果より、HDL質的評価の重要性を否定はしないが、従来通りHDLコレステロール量が、抗動脈硬化に関して重要であることを再確認できた。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Maki Miyamoto-Sasaki, Tomoyuki Yasuda, et al. Pitavastatin increases HDL particles functionally-preserved with cholesterol efflux capacity and antioxidative action in dyslipidemia

patients. Journal of Atherosclerosis  
and Thrombosis 掲載確定

〔学会発表〕（計 1 件）

Tomoyuki Yasuda et al, Pitavastatin  
increases HDL particles with preserved  
anti-atherosclerotic properties in  
dyslipidemic patients. the American  
College of Cardiology 62nd Annual  
Scientific Session 2013 in San  
Francisco 2013.3.9

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

安田 知行 (Yasuda Tomoyuki)  
神戸大学・医学部附属病院・特定助教  
研究者番号：20457047