

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460776

研究課題名(和文) HDLの質的新規指標を用いた高HDL-C血症に関する研究

研究課題名(英文) Significance of a new marker of HDL quality in health and disease in relation to HDL-C

研究代表者

小谷 和彦 (KOTANI, Kazuhiko)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：60335510

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：血中の高密度リポ蛋白(high-density lipoprotein: HDL)コレステロール(cholesterol: HDL-C)値は一般に抗動脈硬化的とされているが、依然として議論を要する状況にある。HDLの質的变化を反映する酸化HDL指標を用いて、HDLに対する理解を深め、併せてHDLの質的管理についての提案を目指した。喫煙や動脈硬化の保有または促進病態にあるような場合には、例えHDL-Cが基準範囲(あるいは高値)にあってもHDLは酸化することが示唆された。このような場合には動脈硬化への配慮が求められる。また、脂質低下にはこれを制御する可能性がある。更なる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：Blood high-density lipoprotein (HDL) cholesterol(HDL-C) is generally thought to be an anti-atherosclerotic marker; however, there is an on-going debate about the effects of high and/or raising HDL-C levels on vascular health. Our study was aimed to study this topic by measuring the oxidized HDL (a marker of HDL quality), thereby leading to a deeper understanding of HDL and a proposal of HDL quality management. Several conditions, such as smoking, metabolic disorder and coronary disease, were associated with high oxidized HDL levels, seemingly requiring attention to atherosclerosis in such cases. Lipid-lowering conditions could regulate the oxidized HDL level, regardless of the HDL-C level. Further studies on the oxidized HDL are warranted for the prevention of atherosclerosis.

研究分野：予防動脈硬化学

キーワード：HDL 酸化ストレス 酸化リポ蛋白 酸化脂質 LDL 脂質異常症 心臓病 予防医学

## 1. 研究開始当初の背景

罹患や死因の上位を占める動脈硬化性疾患への対策は依然として重要である。血中の高密度リポ蛋白 (high-density lipoprotein : HDL) コレステロール (cholesterol : HDL-C) 値が高いと動脈硬化性疾患の発症が少ないとされているが、近年、高 HDL-C 血症の抗動脈硬化性については議論が盛んになっている。HDL-C 上昇薬による最近の臨床試験では心血管死の抑止は観察されず、HDL-C の高値と動脈硬化所見の無相関性や正相関性を示す報告もみられるようになっている。HDL 生物学の研究が進むに連れて、酸化ストレスや炎症に伴う HDL 機能不全といった考えも提出されはじめた。すなわち、HDL-C という‘絶対量’の臨床指標に加え、HDL 自体の‘質的’変化に関する検討が新たな研究テーマとして浮上している。

わが国では高 HDL-C 血症は高頻度にみられ、地域や職域の健診現場、そして診療現場における HDL-C の高値例の対処に関する困惑も見聞される。予防動脈硬化学における HDL 研究はまさしく次のステージに入ってきたと言える。

## 2. 研究の目的

HDL の質的变化を反映する新規指標として、血中の酸化 HDL を測定し、HDL-C を加味しつつ、HDL の質的評価を行う意義や酸化 HDL の規定要因について考察する。そして、研究結果を踏まえ、HDL と動脈硬化の関係に対する理解を深め、HDL quality の management 法を考案し、予防医学に資する。

## 3. 研究の方法

抗酸化 HDL (アポ A-1) 抗体を得て、免疫学的測定法による酸化 HDL の測定系を作成した (図)。いくつかの測定系を試案したが、測定汎用性、精度と妥当性 (変動係数 : 5 %) を考慮して、本酸化 HDL 測定系を検討に用い

た。検討に際しては、喫煙の有無、体格指数 (body mass index : BMI)、血圧、血糖、血中 HDL-C、低密度リポ蛋白 (low-density lipoprotein : LDL) コレステロール (cholesterol : LDL-C)、中性脂肪の測定も同時に行った。

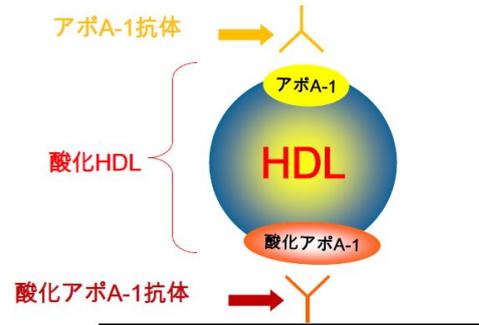


図 酸化 HDL の測定系

群間差については t 検定や <sup>2</sup> 検定、また相関についてはピアソン相関係数の検定によって分析した。重回帰または線形モデル分析で多変量を調整することも行った。p < 0.05 の場合を有意とした。

対象は健診や診療設定に求め、インフォームドコンセントを行った上で、研究を実施した。研究は、自治医科大学または国立病院機構京都医療センターの倫理審査委員会の承認を受けた。

## 4. 研究成果

主たる結果を列挙する。

### (1) 喫煙と酸化 HDL の関係

喫煙は酸化ストレス惹起因子であり、動脈硬化の危険因子でもある。喫煙者では HDL-C がしばしば低値を示す。男性集団 (260 人) において、喫煙と血中酸化 HDL 指標の関係を観察した。非喫煙集団 (191 人、62 歳) に比べて、(現在) 喫煙集団 (69 人、59 歳) の収縮期血圧 (喫煙群対非喫煙群 : 平均 134 対 139 mmHg、p < 0.05) と LDL-C (平均 108 対 117 mmHg、p < 0.05) は有意に低値であった。

BMI、拡張期血圧、血糖の値は両集団間で有意な差は認められなかった。非喫煙集団に比べて、喫煙集団には、HDL-C の低値傾向があり（平均 57 対 60 mg/dL）、HDL-C 当たりの酸化 HDL レベルは有意に高かった（平均 4.1 対 3.9、 $p < 0.05$ ）。この差は BMI、血圧、血糖、他の脂質プロファイルを調整しても大きく影響されず、依然として有意であった。また、喫煙集団においてこの酸化 HDL レベルと Brinkman index とは有意な正相関が認められた（ $r = 0.3$ 、 $p < 0.05$ ）。こうした結果から、喫煙のような生活習慣は、HDL の質的变化と関連することが示唆された。

#### （２）メタボリックシンドロームと酸化 HDL の関係

血中 HDL-C 値が診断基準に含まれるメタボリックシンドロームは、動脈硬化の危険因子を重積し、かつ酸化ストレス病態と言われている。同シンドロームと血中酸化 HDL 指標の関係を観察した。40 歳以上の男性集団（276 人、除喫煙者）を対象に、わが国の診断基準に則ってメタボリックシンドロームを判定したところ 80 人が該当した。メタボリックシンドローム集団（平均 63 歳）では、それに該当しない対照集団（平均 62 歳）と比べて、BMI は有意に高く（メタボリックシンドローム群対対照群：平均 27 対 23 kg/m<sup>2</sup>、 $p < 0.05$ ）、収縮期血圧（平均 149 対 138 mmHg、 $p < 0.05$ ）、中性脂肪（中央値 165 対 87 mg/dL、 $p < 0.05$ ）、血糖（平均 122 対 100 mg/dL、 $p < 0.05$ ）もそれぞれ有意に高かった。一方で、メタボリックシンドローム集団では HDL-C は有意に低く（平均：46 対 59 mg/dL、 $p < 0.05$ ）、HDL-C 当たりの酸化 HDL レベルは有意に高かった（平均：4.3 対 3.7、 $p < 0.05$ ）。また、メタボリックシンドロームの基準項目の重積個数を考慮すると、HDL-C 当たりの酸化 HDL レベルはこの重積個数と正相関した（ $r = 0.2$ 、 $p < 0.05$ ）。メタボリックシンドローム病態

下にある HDL は質的变化を有することが示唆された。

#### （３）心筋梗塞と酸化 HDL の関係

心筋梗塞は代表的な動脈硬化性疾患であり、血中 HDL-C の低値を伴うことがある。心筋梗塞保有と血中酸化 HDL 指標の関係を観察した。心筋梗塞の既往のある男性集団（35 人、68 歳）では、性別・年齢を合わせた対照集団（35 人、64 歳）と比べて、収縮期血圧（心筋梗塞群対対照群：平均 140 対 127 mmHg、 $p < 0.05$ ）は有意に高値であった。喫煙者割合、BMI、拡張期血圧、血糖、LDL-C、中性脂肪の値は両集団間で有意な差は認められなかった。心筋梗塞群では、HDL-C が軽度に低値（平均 54 対 56 mg/dL）であったが、HDL-C 当たりの酸化 HDL レベルは有意に高かった（平均 5.2 対 3.9、 $p < 0.05$ ）。この差は降圧薬や脂質低下薬の使用を調整しても大きく影響されなかった。冠動脈疾患保有下にある HDL は質的变化を有することが示唆された。

#### （４）酸化 HDL への介入効果

脂質低下薬は動脈硬化を予防し、その機序として脂質の低下のみならず、リポ蛋白の酸化保護の作用が言われている。酸化 HDL の制御について経口薬剤介入の前後比較で観察した。脂質低下薬で治療した脂質異常症保有集団（35 人、64 歳、除喫煙者）において治療前後で比べると、収縮期血圧（前対後：平均 131 対 125 mg/dL、 $p < 0.05$ ）、LDL-C（平均 146 対 86 mg/dL、 $p < 0.05$ ）、中性脂肪（中央値 119 対 100 mg/dL、 $p < 0.05$ ）は有意に低下した。HDL-C については前後で有意な変化は認められなかった（平均 59 対 60 mg/dL）が、HDL-C 当たりの酸化 HDL レベルは有意に低下した（平均 6.4 対 5.1、 $p < 0.05$ ）。脂質低下薬の使用は HDL の質的变化を緩和することが示唆された。

## 総括

本検討では、HDL の質的变化を反映する新規指標である酸化 HDL を用いて、HDL に対する理解を促進し、併せて HDL の質的管理について提案することを目指した。一連の結果は、例えば HDL-C が基準範囲、あるいは高値にあっても HDL が質的变化を示し得るという具体像を示した。喫煙や動脈硬化の保有または促進病態にあるような場合には動脈硬化への配慮が求められる。また、脂質低下はその制御法の候補となる可能性がある。動脈硬化の発症や進展に対する HDL 酸化の予測能、あるいは (HDL 酸化の是非がより明確になれば) 非薬物療法も含めた HDL 酸化の制御策について、更なる検討が必要である。

### 5 . 主な発表論文等 (研究代表者には下線) 〔雑誌論文〕(計 4 件)

1. Kotani K, Yamada T, Gugliucci A. Paired measurements of paraoxonase 1 and serum amyloid A as useful disease markers. *Biomed Res Int.* (査読あり) 2013; 2013: 481437. doi:10.1155/2013/481437.
2. Tsuzaki K, Kotani K, Fujiwara S, Sano Y, Sakane N; Mima Study Group. High-density lipoprotein size distribution can differ between subjects with alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Lab.* (査読あり) 2014; 60(2): 319-322.
3. Yamamoto S, Narita I, Kotani K. The macrophage and its related cholesterol efflux as a HDL function index in atherosclerosis. *Clin Chim Acta.* (査読あり) 2016; 457: 117-122. doi: 10.1016/j.cca.2016.04.012.
4. 小谷 和彦. HDL の抗酸化能. *日本臨床検査医学会誌 (Rinshi Byori)*. 2016; 64(1): 44-48.

### 〔学会発表〕(計 3 件)

1. Kotani K, Yamada S, Yamada T, Taniguchi N, Sakurabayashi I. The association between the ratio of oxidized lipoprotein(a) to native lipoprotein(a) and endothelial function in patients with diabetes mellitus. *American Association for Clinical Chemistry (AACC)*, 2013, Jul, Huston, USA.
2. Kotani K, Mashiba S, Ueda M, Taniguchi N, Yamada T. A serum oxidized high-density lipoprotein marker and its association with the smoking status in males. *American Association for Clinical Chemistry (AACC)*, 2014, Jul, Chicago, USA.
3. Kotani K, Mashiba S, Ueda M, Taniguchi N, Yamada T. A serum oxidized high-density lipoprotein marker and its association with metabolic syndrome in males. *American Association for Clinical Chemistry (AACC)*, 2015, Jul, Atlanta, USA.

### 〔図書〕(計 1 件)

1. Kotani K. Exercise and the HDL quality. *Blood Lipids and Lipoproteins*. NOVA Sci., NY, USA, 2015; 1-11.

### 〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

### 6 . 研究組織

#### (1) 研究代表者

小谷 和彦 (KOTANI, Kazuhiko)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号 : 60335510