

令和元年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：2016～2018

課題番号：16K09068

研究課題名(和文)HDLサイズに関連する新規酸化HDL指標の測定意義に関する検討

研究課題名(英文)Clinical significance of a new marker of oxidized HDL relating to HDL size

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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：高密度リポ蛋白コレステロール(high-density lipoprotein cholesterol: HDL-C)は抗動脈硬化的と言われるが反する事象も報告され、HDLの多面的研究が求められる。HDLの不均一性に鑑み、小型HDLの酸化変性を測定し、この指標の意義や制御について検討した。動脈硬化性の病態や疾患で本指標は高値を呈し、これはHDLサイズと酸化ストレスの動脈硬化への関連を反映していると考えられた。喫煙では本指標はHDLのコレステロール引き抜き能と正相関し、非喫煙でその相関は弱かった。この結果は喫煙と動脈硬化との関係に対する理解の一助になり得る。本指標を用いての更なる検討が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般に、HDL(コレステロール)は動脈硬化に対して善玉として、また酸化(ストレス)は動脈硬化に対して回避すべき状態として有名である。しかし、最近、HDLは善玉でない場合のあることが認知され、HDLに関する更なる研究が求められている。この度、喫煙習慣や動脈硬化の保有に対して、HDLの有する不均一さの要因であるサイズに着目し、更にその酸化変性の程度の測定によって、その関係の理解を深められることが示唆された。この測定値はHDLコレステロールとは必ずしも同様の挙動をしないことに留意したい。このような研究成果は、予防医学や臨床医学におけるHDLコレステロールに対する取扱を将来的には刷新する可能性を持つ。

研究成果の概要(英文)：Blood high-density lipoprotein (HDL) cholesterol (HDL-C) is generally an anti-atherosclerotic marker, while we know that the general theory of HDL is not always acceptable. Research on complex aspects of HDL is necessary for resolving the discrepancy. Considering the heterogeneity of HDL, human studies were conducted using the measurement of oxidatively small HDL (Ox-sHDL), a new qualitative marker that we made. There was a higher level of Ox-sHDL in patients with atherosclerotic pathologies than in controls, suggesting Ox-sHDL to reflect the relationship among HDL size, oxidative stress and atherosclerosis. Relative to people with non-smoking habits, people with smoking habits showed a positive correlation between Ox-sHDL and cholesterol efflux levels, which could offer an insight to understand the smoking and atherosclerotic process. Further studies are required to clarify the relevance or regulation of that biomarker.

研究分野：地域臨床検査医学

キーワード：HDL LDL 高コレステロール血症 脂質異常 生活習慣 慢性腎臓病 心筋梗塞 地域疫学

1. 研究開発当初の背景

心血管疾患をはじめとする動脈硬化性疾患は、罹患数の多い common disease であり、また死因の上位を占め、さらに生活の質を下げる要因ともされている。したがって、動脈硬化病態の解明や関連疾患の対策は重要課題になっている。この課題には、様々なアプローチによる研究がなされてきており、リポ蛋白代謝からみたアプローチもその一翼を担っている。血中の高密度リポ蛋白 (high-density lipoprotein : HDL) は、低密度リポ蛋白 (low-density lipoprotein : LDL) やトリグリセリド (triglyceride : TG) と比べて、抗動脈硬化的なりポ蛋白とされ、HDL コレステロール (HDL cholesterol : HDL-C) 値が低いことは動脈硬化性疾患に対して予防的と一般的に言われている。しかし、最近、高 HDL-C 血症の疫学研究において心血管疾患の発症や死亡は必ずしも少なくないという結果、また HDL-C 上昇薬の臨床試験で心血管死を抑制し得なかった結果が報告され、HDL の抗動脈硬化性について再検討が求められる状況にある。酸化ストレスや炎症を伴う病態下での HDL 機能の低下も示されはじめています。このような状況から、HDL-C という臨床的な '絶対量' の指標に加えて、HDL の '質' 的な指標を用いての研究は新たな領域になっている。

申請者らは、その質的指標として血中の HDL の酸化変性について研究し、この指標が、HDL-C とは異なる情報をもたらすことを見出してきた。しかし、HDL 粒子はサイズや構成蛋白の異なる不均一性を有しており、全 HDL の酸化変性の評価では、HDL と動脈硬化性疾患との関係性を十分に捉えられないとも考えられている。例えば、小型の HDL はアポ A-II を含み、易酸化性あるいは逆に抗酸化性の特徴を有するという生物学的研究の結果が報告されている。すなわち、サイズや構成アポ蛋白を考慮した HDL の質的な研究は世界的に待たれている。

2. 研究の目的

申請者らは、サイズ関連酸化 HDL の測定法を新規に開発し、予防医学あるいは臨床医学の設定でその指標を適用し、HDL の酸化変性の研究を前進させることを目指した。特に小型 HDL の酸化に特化して、動脈硬化性の病態や疾患あるいは動脈硬化を来す生活習慣においてその測定を行い、HDL と動脈硬化との関係性に関する理解を深めるとともに、HDL の質的管理について考案することを試みた。

3. 研究の方法

酸化した小型 HDL に対して抗体を用いて検出する免疫学的測定法によるアッセイ系を作成した。測定の汎用性や精度と妥当性 (変動係数 < 5%) を検討し、測定に供した。

予防医学や一般診療の現場で同意を得た対象者から、生活習慣を含む臨床情報と血液を得て、血中のサイズ関連酸化 HDL (oxidatively small HDL : Ox-sHDL) を測定した。このほかに、年齢、性別、既往症、喫煙の有無、体格指数、血圧、血糖、血中 LDL-C、TG、

HDL-C、肝腎機能、炎症反応の情報を得た。一部の研究では、HDL 機能の評価の一方法である HDL のコレステロール引き抜き能を、細胞培養系を用いて測定した（米国 NIH 方式）。

群間差については t 検定やカイ二乗検定、また相関についてはピアソン相関係数の検定によって解析した。有意水準を 5%未満と設定した。

対象者にはインフォームドコンセントを行って、研究を実施した。研究は、自治医科大学の倫理審査委員会の承認を受けた。

4 . 研究成果

いくつかの検討を行ったが、そのうちの主たる成果を列記する。

(1) 慢性腎臓病と Ox-sHDL の関係

一般内科の受診者（男性、126 人、49 歳〔平均〕）において以下の結果を得た。LDL-C = 206 mg/dL（平均）、HDL-C = 55 mg/dL（平均）、TG = 131 mg/dL（平均）、推算糸球体濾過量（estimated glomerular filtration rate : eGFR）= 75 mL/分/1.73 m²（平均）、Ox-sHDL = 1.9（中央値）であった。相関分析において、eGFR は HDL-C と正相関（相関係数 = 0.15）する傾向を示し、Ox-sHDL とは負の相関（係数 = -0.20）を示した。一般に、腎疾患では HDL-C が低下すると報告されている。今回も HDL-C についてはこれに類する様子であったが、腎機能低下と小型 HDL の酸化との関連性が示されたのは新たな所見である。

(2) 心臓病と Ox-sHDL の関係

心臓病保有集団（32 人、男性 59%、72 歳〔平均〕）において以下の結果を得た。対照集団（31 人、男性 45%、平均 72 歳）を設けて、一般脂質検査とサイズ関連酸化 HDL を測定したところ、心臓病保有集団と対照集団との間に一般脂質検査レベルの差はみられなかった（ $p > 0.05$ ）：心臓病対対照；LDL-C（平均値）= 121 対 122 mg/dL、HDL-C（平均値）= 65 対 69 mg/dL、TG（中央値）= 94 対 112 mg/dL。しかし、心臓病保有集団は対照集団よりも Ox-sHDL（中央値）が有意に高値を示した：0.6 対 0.4（ $p < 0.01$ ）。心臓病保有下では、小型 HDL が酸化変性する可能性のあることは、同疾患における HDL の機能不全の存在を彷彿とさせ、興味深い。

(3) 喫煙と Ox-sHDL の関係

一般内科の受診者（133 人、男性 65%、49 歳〔平均〕、喫煙 29%）において以下の結果を得た：全体では LDL-C = 115 mg/dL（平均）、HDL-C = 58 mg/dL（平均）、TG = 118 mg/dL（平均）、Ox-sHDL = 3.3（中央値）、HDL のコレステロール引き抜き能（NIH 方式）= 9.9%であった。非喫煙群に比べて喫煙群で HDL-C 値は低く、また Ox-sHDL と引き抜き能の値は高い傾向にあった。引き抜き能に対する相関分析では、非喫煙群において HDL-C との相関係数 = -0.17（ $p > 0.05$ ）、Ox-sHDL との係数 = 0.32（ $p < 0.01$ ）で、喫煙群においては HDL-C との係数 = 0.19（ $p > 0.05$ ）、Ox-sHDL との係数 = 0.48（ $p < 0.01$ ）を示した。

引き抜き能に対する喫煙の影響に一致した見解はないが、HDL 引き抜き能と小型 HDL の酸化との正の関連性が、非喫煙習慣に比べて喫煙習慣下で強いことが新たに示され、これは HDL の形成や成熟における喫煙の影響を反映する新知見と思われた。

総括

慢性腎臓病や心臓病のような動脈硬化性の病態や疾患での検討で、HDL の新規質的指標であるサイズ関連酸化 HDL は高値を呈し、これは HDL サイズと酸化ストレスとの動脈硬化への関係性を反映していると考えられた。また、非喫煙と喫煙とを対比してサイズ関連酸化 HDL を検討すると、喫煙下では HDL の形成が促進されるほどその成熟（小型から成熟する）過程で酸化変性を生じやすい状況にあると推測され、これは喫煙のような生活習慣の催動脈硬化性の説明（一部）になるかもしれないと思われた。また、非喫煙によるサイズ関連酸化 HDL の制御の必要性も示唆された。すなわち、喫煙関連疾患の病態解明や禁煙のバイオマーカーとして新たな HDL の質的管理の道が拓ける可能性もある。

とまれ、一連の結果は、HDL-C と同じ挙動を必ずしも示していない。特にサイズを考慮した HDL の質的指標の測定意義について、またその制御策の創出について検討を蓄積することが肝要である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文（査読付き）〕（計 3 件）

1. Miki T, Miyoshi T, Kotani K, et al. Decrease in oxidized high-density lipoprotein is associated with slowed progression of coronary artery calcification: Subanalysis of a prospective multicenter study. *Atherosclerosis* 283, 1-6, 2019.
2. Sorokin AV, Kotani K, Elnabawi Y, Remaley AT, Mehta, NN, et al. Association between oxidation-modified lipoproteins and coronary plaque in psoriasis: An observational cohort study. *Circ Res* 123, 1244-1254, 2018.
3. Ohtani R, Nirengi S, Kotani K, et al. High-density lipoprotein subclasses and mild cognitive impairment: Study of Outcome and aPolipoproteins in Dementia (STOP-Dementia). *J Alzheimers Dis* 66, 289-296, 2018.

〔学会発表（国際）〕（計 1 件）

1. Ohtani R, Kotani K, et al. Difference for high-density lipoprotein subfractions by non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis in patients with Alzheimer 's disease and mild cognitive impairment. 第 32 回国際アルツハイマー病協会国際会議, Kyoto, Apr, 2017.

〔図書〕なし

〔その他〕なし