

研究種目：基盤研究 (C)
研究期間：2007～2009
課題番号：19590558
研究課題名 (和文) メタボリックシンドロームのレムナントリポ蛋白代謝と小中学生の肥満・高脂血症の実態
研究課題名 (英文) Remnant Lipoprotein Metabolism in Metabolic Syndrome, and the State of Obesity and Hyperlipidemia in Schoolchildren
研究代表者 山村 卓 (YAMAMURA TAKU) 大阪大学・大学院医学系研究科・教授 研究者番号：20132938

研究成果の概要 (和文)：健診を受診した健常者を対象に、頸動脈硬化度を頸部超音波検査で評価し、メタボリックシンドロームにおけるレムナントリポ蛋白測定の意味を検討した。これにより、頸動脈硬化症ハイリスク群を早期に検出できる可能性が示された。また、430名の小中学生について血清脂質・レムナントリポ蛋白を測定した。高LDLコレステロール血症が6名認められたが、高トリグリセライド血症は2例、高レムナント血症は1例と少数であった。

研究成果の概要 (英文)： We studied the clinical significance of remnant lipoprotein cholesterol (RemL-C) determination in metabolic syndrome. The subjects investigated were healthy individuals who underwent medical examinations. Intima-media thickness of the carotid artery determined by B-mode ultrasonography was evaluated as an atherosclerosis marker. Measurement of RemL-C is efficient for the prediction of carotid atherosclerosis. Furthermore, we measured serum lipids and RemL-C in 430 schoolchildren. While 6 children had a high LDL cholesterol level, we found only 2 children with hypertriglyceridemia and one with a high level of RemL-C.

#### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 境界医学・病態検査学

キーワード： 脂質異常症、高脂血症、動脈硬化症、リポ蛋白、レムナントリポ蛋白、メタボリックシンドローム、コレステロール、トリグリセライド

#### 1. 研究開始当初の背景

近年、わが国における動脈硬化の発症基盤として、メタボリック・シンドロームの重要性が強調されている。メタボリックシンドロームにおける脂質代謝異常は、内臓脂肪の蓄

積による肝臓での内因性脂肪(VLDL)の合成亢進と、インスリン抵抗性によるリポ蛋白リパーゼ(LPL)活性の低下によるトリグリセライド(TG)に富む(TG-rich)リポ蛋白の異化障害といえる。VLDLの合成亢進は、内臓脂肪の

蓄積により門脈経由で大量の遊離脂肪酸 (FFA) が肝臓に流入し、アシル CoA シンテターゼとマイクロソームトリグリセリド転送蛋白の亢進によるものであり、高 TG 血症を引き起こす。一方、LPL の低下は血清 TG 値の上昇をきたすだけでなく、リポ蛋白レベルではレムナントリポ蛋白の増加の原因となる。最近、食後高脂血症と動脈硬化の関連が指摘されているが、この病態では主としてカイロミクロンレムナントがその動脈硬化促進因子として働いているものと考えられる。このレムナントリポ蛋白は、従来から動脈硬化惹起性リポ蛋白の代表的なものとして、低 HDL コレステロール (HDL-C) 血症とともにメタボリックシンドロームを動脈硬化のハイリスク群と位置づけるものと考えられる。

近年、わが国の血清コレステロールの平均値が上昇し、若年者においては欧米のそれと同様、あるいはそれ以上のレベルになったことが指摘されている。しかし、実際に虚血性心疾患を発症する中高年層では、その若年期における血清コレステロールは欧米に比べかなり低値を示し、最近増加傾向にあるわが国の動脈硬化性疾患の発症には、ここに示すようなレムナントリポ蛋白の増加をきたすメタボリックシンドロームの病態が臨床的に重要と考えられる。

さらに、レムナントの測定を基に、小中学生におけるレムナントリポ蛋白の実態について検討を加える。われわれは、これまで四半世紀にわたり奈良県 S 町 (現在は K 市に合併改組) で小児生活習慣病予防対策として実施している小児高脂血症・肥満検診においてレムナントリポ蛋白を分析し、体質素因・肥満・高インスリン血症、等との関連性を検討してきた。生活環境の欧米化に伴い、小児の高脂血症は重要な社会問題となっている。

## 2. 研究の目的

わが国における動脈硬化の発症基盤として、メタボリック・シンドロームの重要性が強調されている。メタボリックシンドロームにおける脂質代謝異常は、内臓脂肪の蓄積による肝臓での内因性脂肪 (VLDL) の合成亢進と、インスリン抵抗性による LPL 活性の低下による TG-rich リポ蛋白の異化障害といえる。最近増加傾向にあるわが国の動脈硬化性疾患の発症には、レムナントリポ蛋白の増加をきたすメタボリックシンドロームの病態が臨床的に重要と考えられる。これまで、簡便なレムナントの測定法はほとんどなかったが、われわれは協和メデックス株式会社と協力体制を

確立し、簡便で正確なレムナントの測定法 (メタボリド RemL-C) の開発に成功した。これを基に、メタボリックシンドロームにおけるレムナントのうっ滞機構を明らかにし、高レムナント血症の病態と動脈硬化の発症機序を解明する。さらに、レムナントの測定を基に、小中学生におけるレムナントリポ蛋白の実態について検討を加える。小児期における新たな危険因子としてのレムナントリポ蛋白の意義を明らかにすることによって、将来の動脈硬化の防止をめざすものである。

## 3. 研究の方法

(1) メタボリックシンドロームにおけるレムナントリポ蛋白測定の意義: メタボリックシンドローム (MetS) におけるレムナントリポ蛋白測定の意義を、新規ホモジニアスアッセイ法を用いて検討した。一地域の保健センターにおいて定期健診を受診し、同意を得た 849 名 (男性 528 名、年齢:  $49.1 \pm 8.3$  歳、女性 321 名、年齢:  $47.2 \pm 7.5$  歳) を対象とした。頸動脈硬化度は、頸部超音波検査で測定した総頸動脈、内頸動脈、外頸動脈での内中膜複合体肥厚度 (max IMT および mean IMT) にて評価した。レムナント測定には新規レムナント様リポ蛋白コレステロール測定試薬であるメタボリド RemL-C (協和メデックス) を用い、その測定値を RemL-C とした。各パラメーターの頸動脈硬化症 (max IMT > 1.00 mm) に対するオッズ比 (OR) をロジスティック回帰分析により求めた。さらに対象を MetS の診断基準 (日本内科学会、2005 年) によりリスクを全く持たないコントロール群、腹囲は基準を超えるが他のリスクを持たない内臓肥満群、内臓肥満に加え、リスクを一つだけ持つ Pre-MetS 群、基準を満たす MetS 群の 4 群に分け、群間の統計的有意差を Tukey-Kramer テストにより検討した。

(2) 食後高脂血症診断におけるレムナントリポ蛋白: 同意の得られた人間ドック受診者 (男性 33 名、平均年齢  $56.1 \pm 11.1$  歳) およびボランティア (男性 12 名、女性 15 名、平均年齢  $24.1 \pm 5.5$  歳) を対象とした。人間ドック受診者には 75gOGTT による糖負荷試験を、ボランティアにはテストミール負荷 (エネルギー 460 kcal、蛋白質 18.0 g、脂質 18.0 g、キューピー社 E460F18) を行った。レムナントリポ蛋白コレステロール値はメタボリド RemL-C (協和メデックス) を用いて測定し、テストミール負荷では血清アポ B-48 値を特異的抗体を用いた化学発光法 (富

士レビオ)にて測定した。

(3) 小中学生の肥満と高脂血症：一地域の小中学生において、生活習慣病予防を目的とした検診を毎年実施している。小学4年生と中学1年生の希望者を対象として、身体計測ならびに空腹時採血を行い、血清脂質・HDLコレステロール(HDL-C)を測定する。LDLコレステロール(LDL-C)を計算式により算出し、また、少量の検体でも自動分析機で測定できる直接法によるレムナントリポ蛋白(協和メデックス)についても測定した。

#### 4. 研究成果

(1) メタボリックシンドロームにおけるレムナントリポ蛋白測定の意義：Receiver operating characteristic curve解析により本研究における頸動脈硬化症を予測する高 RemL-C血症のカットオフポイントとして RemL-C $\geq$ 8.2 mg/dL が最も有効であることが明らかとなった。ロジスティック回帰分析の結果、全体を対象にした場合、頸動脈硬化症に対して男性では年齢(OR: 4.45, 95% CI: 2.97-6.73)が、女性では年齢(OR: 4.75, 95% CI: 2.38-9.96)と LDLコレステロール値(OR: 2.31, 95% CI: 1.11-4.72)のオッズ比が有意に上昇していた。リスクファクター(高血圧、耐糖能障害、脂質異常症)を持たない例を対象にした場合は女性において年齢(OR: 6.16, 95% CI: 2.14-19.2)と高 RemL-C血症(OR: 3.30, 95% CI: 1.04-9.94)の OR が有意に高値であった。MetS に関しては、因子を全くもたないコントロール群に比べ、腹囲が基準を超えるだけの内臓肥満群で RemL-C 値、max IMT が有意に上昇し異常高値を示した。さらに、Pre-MetS 群、MetS 群の順に RemL-C、max IMT、mean IMT が増加した。内臓肥満群における頸動脈硬化症に対する高 RemL-C血症のオッズ比は 2.33 (95% CI: 1.31-4.13)、MetS 群では 3.74 (95% CI: 2.00-7.03) と有意な上昇を認めた。ホモジニアス法を用いたレムナントリポ蛋白コレステロール測定により、従来のリスクを有さない女性やメタボリックシンドロームにおいて頸動脈硬化症ハイリスク群を早期に検出できる可能性が示された。

(2) 食後高脂血症診断におけるレムナントリポ蛋白：糖ならびにテストミールの両負荷試験において RemL-C 値が負荷後1時間で空腹時より上昇・停滞する群(上昇群)と低下する群(低下群)が存在した。糖負荷試験では低下群の空腹時 RemL-C 値は上昇群に比べ有意に高く、中性脂肪値、空腹時血糖値も

低下群の方が上昇群よりも有意に高値、逆に HDL-C 値は低下群が上昇群よりも低値であった。テストミール負荷でも同様の傾向であった。一方、アポ B-48 値は上昇群、低下群ともに parabolic curve を示し、負荷後1時間において減少するのは VLDL レムナントであると推測された。空腹時高レムナント血症で蓄積しているのは主に VLDL レムナントであること、さらにこのような症例では動脈硬化促進的な血清プロファイルを呈することが明らかとなった。RemL-C とアポ B-48 測定が、食後高脂血症の病態解析に有用であることが示唆された。

(3) 小中学生の肥満と高脂血症：肥満度が 20% を越える肥満児が、10% 以上に認められ、また、30% を越える肥満も、5% 以上に存在した。成人の基準でも、小中学生の 5% 以上に高 LDL-C 血症が認められた。一方、高コレステロール血症に対し、高トリグリセライド(TG)血症はごく少数であった。TG は肥満度と正相関を認めるが、高 LDL 血症は非肥満児にも多く認められ体質素因の関与が視われた。さらに、430 名の小中学生について血清脂質・レムナントリポ蛋白を測定した。LDL コレステロール(LDL-C)、HDL-C、トリグリセライド(TG)の平均値 $\pm$ 標準偏差(mg/dl)はそれぞれ、81.7 $\pm$ 23.3、62.8 $\pm$ 15.9、47.7 $\pm$ 22.8 であった。LDL-C は 140 mg/dl 以上は 6 名認められたが、TG が 150 mg/dl 以上は 2 例に認められただけであった。一方、レムナントリポ蛋白(RemL-C)の平均値 $\pm$ 標準偏差(mg/dl)は 2.81 $\pm$ 1.04 で、異常高値を示したのは 1 名だけで、その TG 値は 177 mg/dl と高値を示していた。小児では TG の処理能力には余裕があり、このためレムナントリポ蛋白も成人に比べ異常高値を示すことは少ないものと判断された。

#### 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 11 件)

- ① Miyake Y, Yamamura T, Sakai N, Miyata T, Kokubo Y, Yamamoto A: Update of Japanese common *LDLR* gene mutations and their phenotypes: Mild type mutation L547V might predominate in the Japanese population. *Atherosclerosis* 査読有, 203:153-160, 2009.
- ② Masuda D, Hirano KI, Oku H, Sandoval JC, Kawase R, Yuasa-Kawase M, Yamashita Y, Takada M, Tsubakio-Yamamoto K,

- Tochino Y, Koseki M, Matsuura F, Nishida M, Kawamoto T, Ishigami M, Hori M, Shimomura I, Yamashita S: Chylomicron remnants are increased in the postprandial state in CD36 deficiency. *J Lipid Res* 査読有, 50:999-1011, 2009
- ③ 山村 卓: LDL コレステロールの測定と臨床的意義. *医学と薬学* 査読有, 62:53-60, 2009.
- ④ 石神真人, 山下静也, 山村 卓: RemL-C (レムナントリポ蛋白コレステロール) のホモジニアスアッセイ法. 査読無, *Medical Technology* 37:132-137, 2009
- ⑤ 石神真人, 山下静也, 山村 卓: 身体活動・運動と生活習慣病 -運動生理学と最新の予防・治療- V. 運動療法 慢性疾患と運動療法 脂質異常症. 査読無, *日本臨牀増刊号* 67:387-391, 2009
- ⑥ Miyake Y, Kimura R, Kokubo Y, Okayama A, Tomoike H, Yamamura T, Miyata T: Genetic variants in PCSK9 in the Japanese population: Rare genetic variants in PCSK9 might collectively contribute to plasma LDL cholesterol levels in the general population. *Atherosclerosis* 査読有, 196:29-36, 2008
- ⑦ Yamashita S, Nakamura M, Koizumi H, Oku H, C Sandoval J, Tsubakio-Yamamoto K, Kawase M, Masuda D, Koseki M, Matsuura F, Shimomura I, Nishida M, Ishigami M: Evaluation of a homogeneous assay for measuring LDL-cholesterol in hyperlipidemic serum specimens. *J Atheroscler Thromb* 査読有, 15:82-86, 2008
- ⑧ 山下静也, 石神真人: メタボリード RemL-C試薬によるレムナント/TG比、レムナント/non-HDL-C比測定の有用性. *医学と薬学* 査読有, 59:429-437, 2008
- ⑨ 山村 卓: 特定健診の意義と臨床検査. *医療と検査機器・試薬* 査読無, 31:505-510, 2008.
- ⑩ Miyauchi K, Kayahara N, Ishigami M, Kuwata H, Mori H, Sugiuchi H, Irie T, Tanaka A, Yamashita S, Yamamura T: Development of a homogeneous assay to measure remnant lipoprotein cholesterol. *Clin Chem* 査読有, 53:2128-2135, 2007
- ⑪ 山村 卓, 石神真人: 脂質代謝異常 -高脂血症・低脂血症- IV. 脂質代謝異常の臨床 高脂血症の管理と治療 高脂血症の薬物療法 HMG-CoA還元酵素阻害薬 (スタチン). *日本臨牀* 査読無, 65:458-464, 2007
- [学会発表] (計 10 件)
- ① 石神真人, 田口幹泰, 西田 誠, 守山敏樹, 山下静也, 山村 卓: メタボリックシンドロームにおけるホモジニアスアッセイ法を用いたレムナントリポ蛋白測定意義に関する研究. 第 49 回日本臨床化学学会年次学術集会、長崎、9 月 20 日、2009
- ② 山村 卓, 石神真人: レムナント代謝研究の最前線. シンポジウム「リポ蛋白・脂質研究の最前線」第 56 回日本臨床検査医学会学術集会、札幌、8 月 28 日、2009
- ③ Ishigami M, Taguchi M, Nishida M, Moriyama T, Yamashita S, Yamamura T: Clinical significance of remnant lipoprotein cholesterol determination in an apparently healthy population -Studies with a newly developed homogeneous assay-. 第 41 回日本動脈硬化学会総会・学術集会、山口、7 月 18 日、2009
- ④ Ishigami M, Taguchi M, Nishida M, Moriyama T, Yamashita S, Yamamura T: Clinical significance of remnant lipoprotein cholesterol determination in metabolic syndrome -Studies with a newly developed homogeneous assay-. XV International Symposium on Atherosclerosis 2009, Boston, USA, June 16, 2009
- ⑤ 山村 卓: メタボ健診と高脂血症、糖尿病. 第 48 回日本臨床化学学会年次学術集会主催 市民フォーラム「メタボ健診と健康管理」、浜松、8 月 31 日、2008
- ⑥ 石神真人, 田口幹泰, 西田 誠, 守山敏樹, 山下静也, 山村 卓: 新規ホモジニアスアッセイ法を用いたメタボリックシンドロームにおけるレムナント測定意義に関する研究. 第 48 回日本臨床化学学会年次学術集会、浜松、8 月 29 日、2008
- ⑦ 石神真人, 岸 清彦, 覚野綾子, 田口幹泰, 山下静也, 山村 卓: 食後高脂血症の病態解析—糖負荷およびテストミール負荷試験における新規検査試薬を用いた外因性および内因性リポタンパク代謝の検討—. 第 40 回日本動脈硬化学会総会・学術集会、つくば、7 月 11 日、2008
- ⑧ 田口幹泰, 石神真人, 西田 誠, 守山敏樹, 山下静也, 山村 卓: メタボリックシンドロームにおけるレムナントリポ蛋白測定意義に関する研究—新規ホモジニアスアッセイ法を用いた検討—. 第 40 回日本動脈硬化学会総会・学術集会、つくば、7 月 11 日、2008
- ⑨ 山村 卓: パネルディスカッション「特

定健診への臨床検査関係職種としての  
関わりー特に保健指導についてー」, 第  
7回未病臨床検査セミナー、大阪、6月  
28日、2008

- ⑩ 山村 卓: 高脂血症. 第54回日本臨床検査医学会学術集会主催 市民公開講座「メタボリックシンドロームとはどんな病気ですか?」、大阪、11月25日、2007

[図書] (計6件)

- ① 山村 卓: 高脂血症 (脂質異常症) 「内科学症例図説」 (杉本恒明、小俣政男、編), 朝倉書店, pp.440-450, 2009
- ② 山村 卓: 脂質異常症の診断. 「内分泌代謝疾患・糖尿病診療マニュアル」 (松澤佑次、下村伊一郎、監修) (船橋徹、中村正、日高洋、松久宗英、岩橋博見、大月道夫、編), 医薬ジャーナル社, pp.144-149, 2009
- ③ 山村 卓: 脂質異常症の治療. 「内分泌代謝疾患・糖尿病診療マニュアル」 (松澤佑次、下村伊一郎、監修) (船橋徹、中村正、日高洋、松久宗英、岩橋博見、大月道夫、編), 医薬ジャーナル社, pp.150-155, 2009
- ④ 山村 卓、石神真人: HMG-CoA還元酵素阻害薬. 新しい診断と治療のABC 13「脂質異常症 (高脂血症) 改訂第2版」, 最新医学社, pp.234-244, 2008
- ⑤ 石神真人、山村 卓、山下静也: 低脂血症の病因、診断と管理. 新しい診断と治療のABC 13「脂質異常症 (高脂血症) 改訂第2版」, 最新医学社, pp.463-473, 2008
- ⑥ 山村 卓: 高脂血症. 永村洋一編: 新版 健康食品学 第3版、健康食品管理士認定協会, pp.488-498, 2007

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

山村 卓 (YAMAMURA TAKU)  
大阪大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号: 20132938

### (2) 研究分担者

石神 真人 (ISHIGAMI MASATO)  
大阪大学・大学院医学系研究科・准教授  
研究者番号: 10379266