

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591334

研究課題名(和文)高比重リポ蛋白組成異常による冠動脈疾患進展の機序解明と制御

研究課題名(英文)High-density lipoprotein composition and development of coronary artery disease

研究代表者

野原 淳(Nohara, Atsushi)

金沢大学・医薬保健学総合研究科・特任准教授

研究者番号：50313648

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：高比重リポ蛋白(HDL)コレステロールよりもHDLの組成変化が冠動脈疾患発症に係わる可能性がある。本研究はHDL組成異常としてHDLトリグリセライド(TG)/HDLリン脂質(PL)比の上昇が種々の動脈硬化リスクと有意の相関が見られることを明らかにした。同比率は特に糖尿病や慢性腎疾患との相関が強くHDL機能低下と関連する可能性がある。本邦ではコレステリルエステル転送蛋白(CETP)欠損症が高頻度であるが、血中CETP蛋白量はHDL-TG/PLと正相関を示し、CETP欠損症ではHDL-TG/PL比は有意に低値であった。

研究成果の概要(英文)：Many studies suggest that high-density lipoprotein (HDL) composition may contribute to coronary atherosclerosis development rather than HDL-cholesterol. In this study, we demonstrated that increased HDL-TG/HDL-PL ratio was significantly associated with many cardiovascular risk factors. This index was strongly correlated with diabetes and chronic kidney disease, and may represent functional abnormalities of HDL. Plasma cholesteryl-ester transfer protein (CETP) mass showed positive correlation with HDL-TG/HDL-PL ratio. HDL-TG/HDL-PL ratio was significantly lower in CETP deficiency, common genetic background in Japan.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：高比重リポ蛋白 リポ蛋白代謝 コレステリルエステル転送蛋白 家族性高コレステロール血症 残余リスク

#### 1. 研究開始当初の背景

高比重リポ蛋白(HDL)は冠動脈硬化症の重要な治療標的となっているが、近年の研究から単純な HDL コレステロール(HDL-C)だけでは、HDL の抗動脈的な質を定義することは出来ないことが認識されていた。

我々は多数の家族性高コレステロール血症(FH)をはじめとする脂質異常症と冠動脈硬化症を研究してきているが、LDL コレステロール(LDL-C)が同等であっても冠疾患硬化症の進展は症例ごとに大きく異なり、HDL をはじめとする因子が重要な役割を果たしていると考えられる。しかしこの様な冠動脈疾患が悪化しやすい患者における HDL 機能について、その機能異常の臨床的に簡便かつ有用な指標は未だ十分に確立されていない。まず HDL 機能にどのような因子がいかなる影響を与えているのかを明らかにする必要がある。

#### 2. 研究の目的

本研究は HDL の質的異常の一つとして組成異常に着目し動脈硬化症の進展にどのように関与しているのかを明らかとすることで治療に役立てることを目的とする。種々の動脈硬化惹起性の病態と HDL の組成異常の関連を解明し、さらに HDL 組成異常の改善を通じて冠動脈硬化症抑制に役立てることを目的とする。

#### 3. 研究の方法

冠動脈危険因子と知られる病態では HDL 組成に異常を来す可能性がある。各種冠動脈危険因子と HDL 組成の関連を明らかとする。

また冠動脈疾患に影響を与える可能性のある脂質代謝関連の遺伝素因においても、HDL 組成に影響が見られる可能性がある。我々は家族性高コレステロール血症や家族性複合型高脂血症をはじめとする種々の脂質代謝異常症の診断と治療を行ってきているが、これらの病態における HDL 組成の研究を行う。またリポ蛋白代謝に影響を与える薬剤による介入において HDL 組成の変化を検討し薬剤による介入の可能性を検討する。

#### 4. 研究成果

高比重リポ蛋白(HDL)組成異常として HDL-TG/HDL-PL 比が重要である可能性が示唆される結果である。その背景因子として、耐糖能障害および糖尿病、さらに近年注目されている慢性腎疾患の関連が見出された。糖尿病においても高トリグリセライド(TG)血症は高頻度であるが、TG そのものより血糖コントロールとの相関が高い結果であった。

また HDL 組成異常の遺伝的背景の検討において近年 miRNA を介した HDL 代謝への制御機構が明らかとなった胆汁酸受容体の高頻度遺伝子多型のホモ型で HDL が TG-rich となることを見出した。耐糖能障害の進展に HDL 組成が係わることが近年注目されており、同変異の存在は HDL-C そのものも低下させるが、HDL-C 低値は将来の糖尿病発症の予知因子でもあるため、耐糖能障害進展への影響も示唆

される。

薬物療法による改善効果を検討ではアトルバスタチンを用いた高脂血症患者での評価では LDL-C および VLDL-C は著明に低下し、同時に LDL-PL、VLDL-PL も低下。その一方 LDL-TG および VLDL-TG の変化は小さく結果として VLDL および LDL の TG/PL 比はむしろやや上昇。CETP を介して相互作用する HDL においても TG/PL は軽度上昇傾向であった。HDL 組成異常はスタチンで改善できない Residual risk の一つである可能性が示唆される結果である。

われわれは LDL-C 高値でスタチンが投与されている対象者における冠動脈造影施行患者では LDL-C は既に動脈硬化への寄与は低下していること、軽度の糖尿病や慢性腎疾患が大きく寄与している(すなわちスタチン普及後の Residual risk である)ことを確認した。この群において、HDL 組成異常、とくにトリグリセライドを多く含む(TG-rich)HDL がこの LDL 低下療法後の Residual risk を良く反映しており、バイオマーカーとして有用であることを見いだした。

我々は小胞体ストレスを制御する XBP1 遺伝子多型が慢性腎疾患発症に影響を与えていることを見いだした。XBP1 は小胞体ストレスの制御だけでは無く、肝細胞においては脂肪合成を適切に行うために必要で、また膵臓においては亜インスリン分泌やグルカゴン分泌を制御しているが、われわれは XBP1 がインスリン分泌能に有意の影響を与えており、また LDL-TG に影響を与え、さらに冠疾患進展にも有意の影響があることを見いだしたが HDL 組成への影響は限定的であった。

HDL-TG/PL の変動には CETP を介した LDL および VLDL との相互作用が重要であることが明らかとなった。興味深いことに CETP との相互作用は VLDL と LDL が競合しており、VLDL 過剰の状態では CETP と HDL-TG/PL に有意の正相関が認められるが、VLDL が少なく LDL と HDL が CETP を介して相互作用する状態においては CETP と HDL-TG/PL には相関が見られない。これは CETP と LDL の相関にも同様の影響が見出されており、CETP の機能が VLDL 代謝によって大幅に変動することが示唆される結果である。

本邦では HDL-C 上昇と LDL-C 低下をもたらす CETP 欠損症が高頻度であるが、動脈硬化に及ぼす影響は未だに議論がある。冠疾患高リスク群の検討では、血中 CETP 蛋白量は HDL-TG/PL と有意の正相関を示し、また LDL-C とも強い正相関を示した。脂質異常症を伴う冠疾患高リスク群において冠動脈造影による検討を行い、HDL-TG/PL 比は冠動脈硬化症の重症度と正の相関が見られており、さらに本邦に高頻度の CETP 遺伝子変異保持者では冠動脈硬化所見は有意に軽症であることを報告した。遺伝子解析による CETP 欠損変異保持者では HDL-TG/PL 比は有意に低値であった。同様の検討を家族性高コレステロール血

症(FH)患者で行ったが, FH 群においては HDL-C 高値 LDL-C 低値であったが HDL-TG/TG 比は全く差が見られず, 冠動脈造影所見では有意の差は確認されなかった. HDL 組成の変化の有無が FH および非 FH の CETP 遺伝子変異と冠動脈硬化症の関連の相違に影響している可能性がある.

また FH の遺伝子診断を行い PCSK9 機能亢進型遺伝子変異は LDLR 遺伝子変異より有意に TG 高値であったが, HDL 組成を検討したところ LDLR 遺伝子変異による FH と比較し有意の HDL 組成変化は認められなかった.

動脈硬化で上昇する可溶性 LR11 の検討では HbA1c および HDL-TG/PL, FH のアキレス腱黄色腫の重症度と相関が見られた. 可溶性 LR11 は糖尿病や動脈硬化因子と関連が報告されているが, FH の臨床像の重症度に影響している可能性がある.

#### 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 10 件)

Nohara A, Kobayashi J, Kawashiri MA, Tada H, Inazu A, Jiang M, Mabuchi H, Bujo H. Clinical significance of measuring soluble LR11, a circulating marker of atherosclerosis and HbA1c in familial hypercholesterolemia. Clin Biochem. 査読有 2014 May 22. pii: S0009-9120(14)00223-9. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.05.003.

Yamaaki N, Yagi K, Kobayashi J, Nohara A, Ito N, Asano A, Nakano K, Liu J, Okamoto T, Mori Y, Ohbatake A, Okazaki S, Takeda Y, Yamagishi M. Impact of serum retinol-binding protein 4 levels on regulation of remnant-like particles triglyceride in type 2 diabetes mellitus. J Diabetes Res. 査読有 2013;2013:143515 doi: 10.1155/2013/143515.

Mabuchi H, Nohara A. MTP inhibitor for treating severe LDL cholesterolemia. Clinical Lipidology, 査読有 2013.8(4):387-389. <http://www.futuremedicine.com>

Ahmadvand H, Mabuchi H, Nohara A, Kobayashi J, Kawashiri MA. Effects of coenzyme Q(10) on LDL oxidation in vitro. Acta Med Iran. 査読有 2013;51(1):12-8. <http://acta.tums.ac.ir>

Tada H, Kawashiri MA, Tanaka A, Nakano T, Nakajima K, Inoue T, Noguchi T, Nakanishi C, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. Post-prandial remnant lipoprotein metabolism in autosomal

recessive hypercholesterolaemia. Eur J Clin Invest. 査読有 2012 Oct;42(10):1094-9. doi: 10.1111/j.1365-2362.2012.02700.x.

Tada H, Kawashiri MA, Ikewaki K, Terao Y, Noguchi T, Nakanishi C, Tsuchida M, Takata M, Miwa K, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. Altered metabolism of low-density lipoprotein and very-low-density lipoprotein remnant in autosomal recessive hypercholesterolemia: results from stable isotope kinetic study in vivo. Circ Cardiovasc Genet. 査読有 2012 Feb 1;5(1):35-41. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.111.960948.

Ohtani R, Inazu A, Noji Y, Wakasugi T, Miwa K, Tada H, Kawashiri MA, Noguchi T, Nohara A, Kobayashi J, Koizumi J, Yamagishi M, Mabuchi H. Novel mutations of cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene in Japanese hyperalphalipoproteinemic subjects. Clin Chim Acta. 2012 Mar 22;413(5-6):537-43. 査読有 doi: 10.1016/j.cca.2011.11.010.

Kawashiri MA, Nohara A, Noguchi T, Tada H, Nakanishi C, Mori M, Konno T, Hayashi K, Fujino N, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. Efficacy and safety of coadministration of rosuvastatin, ezetimibe, and colestimide in heterozygous familial hypercholesterolemia. Am J Cardiol. 査読有 2012 Feb 1;109(3):364-9. doi: 10.1016/j.amjcard.2011.09.019.

Tada H, Kawashiri MA, Ohtani R, Noguchi T, Nakanishi C, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Mabuchi H, Yamagishi M. A novel type of familial hypercholesterolemia: double heterozygous mutations in LDL receptor and LDL receptor adaptor protein 1 gene. Atherosclerosis. 査読有 2011 Dec;219(2):663-6. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.08.004.

Noguchi T, Kobayashi J, Yagi K, Nohara A, Yamaaki N, Sugihara M, Ito N, Oka R, Kawashiri MA, Tada H, Takata M, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Comparison of effects of bezafibrate and fenofibrate on circulating proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 and adipocytokine levels in dyslipidemic subjects with impaired glucose tolerance or type 2 diabetes mellitus: results from a crossover study. Atherosclerosis. 査読有 2011

Jul;217(1):165-70.doi:  
10.1016/j.atherosclerosis.2011.02.012.

〔学会発表〕(計 10 件)

野原 淳. シンポジウム 3 : 日本における原発性高脂血症の現状 家族性高コレステロール血症の診断および治療の課題. 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 July 18-19, 2013 (東京)

Nohara A, Ohtani R, Noguchi T, Inoue T, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Usefulness of FH Gene Test in Patients with Dyslipidemia. 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 July 18-19, 2013 (東京)

Nohara A, Noguchi T, Inoue T, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Common PCSK9 E32K Variant as Genetic Background of Familial Combined Hyperlipidemia. The 81st European Atherosclerosis Society Congress, 2-5, June, 2013, (Lyon, France)

Nohara A, Noguchi T, Inoue T, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Common PCSK9 E32K Variant as Genetic Background of Familial Combined Hyperlipidemia. 第 77 回日本循環器学会学術総会, March 15-17, 2013 (横浜)

Nohara A, Noguchi T, Tada H, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Inazu A, Kobayashi J, Yamagishi M, Mabuchi H. Impact of ER-Stress Affecting Variant of XBP-1 Gene on Lipids, Diabetes, Chronic Kidney Disease, and Coronary Artery Disease. American Heart Association's Scientific Sessions, 2012, Nov 13-15, 2012 Los Angeles (USA)

Nohara A, Inazu A, Noguchi T, Tada H, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Kobayashi J, Yamagishi M, Mabuchi H. Triglyceride-Rich High-Density Lipoprotein Composition as Residual Risk Biomarker of Coronary Artery Disease Including Reduced eGFR and Pre-diabetes. American Heart Association's Scientific Sessions, 2012, Nov 13-15, 2012 Los Angeles (USA)

Nohara A, Noguchi T, Tada H, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Inazu A, Kobayashi J, Yamagishi M, Mabuchi H. HDL-C Was Negatively Associated with Achilles' Tendon Thickening among Genetically Confirmed Familial

Hypercholesterolemia HDL Satellite Symposium 2012, Mar 30-Apr 1, 2012 (Cairns, AUS)

Nohara A, Noguchi T, Tada H, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri MA, Yagi K, Inazu A, Kobayashi J, Yamagishi M, Mabuchi H. Hypertriglyceridemia eliminates positive correlations of plasma CETP with LDL-C and with Lp(a). XVI International Symposium on Atherosclerosis 2012, Mar. 25-29, 2012 (Sydney, AUS)

Nohara A, Inazu A, Noguchi T, Tada H, Mori M, Nakanishi C, Kawashiri M, Yagi K, Kobayashi J, Yamagishi M, Mabuchi H. シンポジウム・心血管疾患予防のための新しいバイオマーカー Impact of Triglyceride-Rich High-Density Lipoprotein Composition as a New Marker for Development of Angiographic Coronary Artery Disease 第 75 回日本循環器学会総会・学術集会 Aug. 3-4, 2011(横浜)

野原淳, 野口徹, 小林淳二, 多田隼人, 森三佳, 中西千明, 川尻剛照, 八木邦公, 稲津明広, 山岸正和, 馬淵宏 シンポジウム・我が国に於ける家族性高コレステロール血症 我が国に於ける FH の疫学と CHD へのリスク 第 43 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 Jul.15-16.2011 (札幌)

〔図書〕(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://fh-gene-labo.w3.kanazawa-u.ac.jp>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

野原 淳 (NOHARA, Atsushi)

金沢大学・医薬保健学総合研究科・特任准教授

研究者番号 : 50313648

### (2) 連携研究者

小林 淳二 (KOBAYASHI, Junji)

金沢医科大学・総合内科学・教授

研究者番号 : 60302577

稲津 明広 (INAZU, Akihiro)

金沢大学・医薬保健学総合研究科・教授

研究者番号 : 80293348

八木 邦公 (YAGI, Kunimasa)

金沢大学・医薬保健学総合研究科・准教授

研究者番号 : 30293343

野口 徹 (NOGUCHI, Tohru)

金沢大学・医薬保健学総合研究科・特任助教

研究者番号： 40456421