

## 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 5 月 27 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：23790852

研究課題名（和文） Dysfunctional HDL が冠動脈疾患の進展退縮に及ぼす影響の解明

研究課題名（英文） Effects of dysfunctional HDL on coronary artery disease

研究代表者

杜 隆嗣 (Toh Ryuji)

神戸大学大学院医学研究科・准教授

研究者番号：50379418

研究成果の概要（和文）：高比重リポ蛋白(HDL)は、コレステロール逆転送、抗炎症、抗酸化など多彩な抗動脈硬化作用を有するが、炎症や糖尿病などの病態では質的变化をきたす (dysfunctional HDL)。血清ミエロペルオキシダーゼ(MPO)/パラオキシナーゼ 1(PON1)比が高い患者では HDL の抗炎症作用が減弱しており、同比が dysfunctional HDL の臨床マーカーとなることを示した。さらに MPO/PON1 比が冠動脈形成術後の病変再発と関連することより、HDL の質的变化が冠動脈疾患の発症・進展に関連することが示唆された。一方、スタチン治療により HDL-C 値が増加するが、コレステロール引抜き能や抗酸化能も増強することを証明した。

研究成果の概要（英文）：High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) is a negative risk factor for CAD. HDL exhibits a variety of anti-atherogenic functions including anti-inflammatory and anti-oxidative as well as promoting reverse cholesterol transport. However, it has been reported that HDL may lose its anti-atherogenic properties and become pro-atherogenic (dysfunctional) under conditions such as inflammation, diabetes, and oxidative stress. In this study, we evaluated HDL function in Japanese patients, and investigated effects of dysfunctional HDL on coronary artery disease (CAD). 1) Granular leukocyte-derived myeloperoxidase (MPO) promotes oxidation of lipoproteins, while paraoxonase 1 (PON1) has antioxidant properties for high-density lipoprotein (HDL). We found that serum MPO/PON1 ratio reflect anti-inflammatory properties of HDL. Furthermore, MPO/PON1 ratio was significantly associated with the prevalence of coronary lesions in Japanese patients. 2) Pitavastatin has a function of increasing plasma HDL-C levels as well as decreasing low-density lipoprotein cholesterol levels. We demonstrated that pitavastatin also enhances cholesterol efflux capacity and antioxidative properties of HDL.

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：高比重リポ蛋白, HDL 機能不全, 冠動脈疾患, 動脈硬化, パラオキシナーゼ, ミエロペルオキシダーゼ, 炎症, 再狭窄

1. 研究開始当初の背景

高比重リポ蛋白コレステロール (HDL-C) は、

心血管疾患における負の危険因子であり、「beyond LDL-cholesterol」時代の新たな治

療標的である。HDL はマクロファージなどの末梢細胞からコレステロールを引き抜き肝臓へと戻す「コレステロール逆転送」のみならず、その粒子自体が抗炎症・酸化作用、血管内皮機能改善作用、抗血小板作用などを有している。しかし、近年、炎症や糖尿病などの病的状態では、HDL 中の構成蛋白や脂質が化学的修飾を受けたり組成が変化することが報告されるようになった。HDL の構成成分の変化により、「善玉」としての機能が消失する可能性が示唆されている。このような機能不全に陥った HDL は dysfunctional HDL と呼ばれている。

しかし、日常臨床では dysfunctional HDL の同定は極めて困難で、その臨床的意義は明らかではない。また、dysfunctional HDL が実際に冠動脈粥腫の進展・退縮にどのような影響を及ぼすかは不明である。

## 2. 研究の目的

日本人患者で Dysfunctional HDL を同定および定量化し、その機能評価を行うこと、さらに光干渉断層法(OCT)等の冠動脈画像診断法を駆使して、生体内での冠動脈粥腫病変の進展・退縮ならびに脆弱性と HDL の質的变化との関連について検討することを目指した。

## 3. 研究の方法

(1) 主に好中球に存在するミエロペルオキシダーゼ(MPO)によりリポタンパクが酸化修飾をうける可能性が示唆されている。一方、血液中において HDL のアポリタンパク A1 に結合して存在するパラオキシナーゼ 1(PON1)は HDL の抗酸化作用において中心的

役割を果たすと考えられている。

dysfunctional HDL の指標として、患者血清中のミエロペルオキシダーゼ(MPO)とパラオキシナーゼ 1(PON1)を測定し、HDL の抗炎症作用との関係を検討した。さらに冠動脈形成術後のステント再狭窄や非ステント留置部位での新規病変の進展との関連について冠動脈画像診断(冠動脈造影と OCT)を用いて検討した。

(2) HMG-CoA 還元酵素阻害剤であるピタバスタチンは LDL-C を低下させる一方、HDL-C を上昇させる。同剤により増加した患者血清中の HDL の機能について検討した。

## 4. 研究成果

(1) 血清 MPO/PON1 比と冠動脈疾患ならびに HDL 機能との関連について

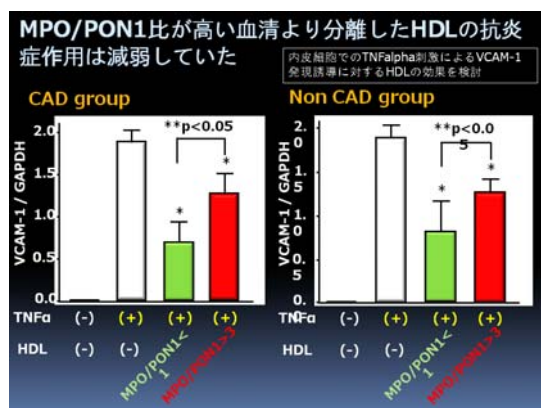
神戸大学医学部附属病院 循環器内科に冠動脈形成術後の冠動脈造影フォローアップ検査を目的に入院した患者 111 人の血清 MPO 濃度ならびに PON1 活性を測定した。うち 55 人の患者においてステント再狭窄または非ステント留置部位での新規病変を認めたと、冠動脈病変の再発を認めなかった患者群に比べ血清 MPO 濃度が高く、一方で PON1 活性は低かったため MPO/PON1 比を算出したところ、有意に前者で高値であった (2.71(0.64-5.09) vs. 0.77(0.58-0.97),  $p < 0.01$ )。MPO/PON1 比のカットオフ値を 1.68 としたところ、年齢・性別・喫煙歴・高血圧・脂質異常症ならびに糖尿病で補正しても MPO/PON1 比は冠動脈病変の再発と独立した相関関係を認めた。

**MPO / PON1比は冠動脈ステント留置後の再狭窄または新規病変発症を予測する独立した危険因子である**

	OR	95% CI	p value
<b>MPO/PON1 ratio &gt; 1.68</b>	<b>10.83</b>	<b>1.68 – 69.5</b>	<b>0.012</b>
Diabetes mellitus	4.90	0.52 – 45.5	0.162
gender	5.61	0.38 – 83.0	0.210
smoking	1.09	0.33 – 3.55	0.335
age	1.05	0.94 – 1.17	0.384
Hypertension	0.60	0.12 – 3.09	0.542
Dyslipidemia	0.41	0.01 – 4.13	0.448

Multiple Logistic Regression Analysis for Independent Determinants of repeat PCI

さらに血清 MPO/PON1 比と HDL の抗炎症作用の関係について検討した。ヒト臍帯静脈内皮細胞を用い TNF- $\alpha$  誘導による VCAM-1 発現に対する HDL の効果について調べたところ、血清 MPO/PON1 比の高い患者より分離した HDL では低い患者より分離した HDL より VCAM-1 発現抑制作用は減弱していた。



以上より血清 MPO/PON1 比が HDL 機能のサロゲート・マーカーとして临床上、有用である可能性とともに、HDL の“質”が冠動脈疾患の予防・治療戦略における新たなターゲットとなりうる事が示唆された。

(2) ピタバスタチンによる HDL 機能への影響について

脂質異常症患者 23 人に対しピタバスタチン 2mg を 4 週間投与したところ、LDL-C は 40% 減少するとともに HDL-C は 9.5% の上昇を認めた (P<0.05)。また HDL 中のリン脂質含有量も

8%増加した (P<0.05)。HDL のコレステロール引き抜き能は投与前に比べ 9.5%上昇していた (p<0.05)。さらに PON1 活性も投与前に比べ 10%の増加を認め、HDL の抗酸化作用を高める可能性が示唆された (p<0.05)。以上よりピタバスタチンは LDL-C を減少させるのみならず、“質”が保持された HDL を増加させる可能性が示唆された。HDL が新たな治療標的として注目されている一方、HDL を増加させる有効な手段が乏しい現状において本研究成果は臨床的価値の高いものである。

## 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 3 件)

1. Miyamoto-Sasaki M, Yasuda T, Monguchi T, Toh R, Ishida T, Hirata K. Pitavastatin increases HDL particles functionally-preserved with cholesterol efflux capacity and anti-oxidative action in dyslipidemia patients. *J Atheroscler Thromb*. 2013 In press. 掲載確定
2. Nakajima H, Ishida T, Satomi-Kobayashi S, Mori K, Hara T, Sasaki N, Yasuda T, Toh R, Tanaka H, Kawai H, Hirata K. Endothelial lipase modulates pressure overload-induced heart failure through alternative pathway for fatty acid uptake. *Hypertension*. 2013;61(5): 1002-7.
3. Sun L, Ishida T, Okada T, Yasuda T, Hara T, Toh R, Shinohara M, Yamashita T, Rikitake Y, Hirata K. Expression of endothelial lipase correlates with the

size of neointima in a murine model of vascular remodeling. *J Atheroscler Thromb.* 2012;19: 1110-1127.

[学会発表] (計5件)

1. 破磯川 実、篠原 正和、門口 倫子、佐々木 真希、近藤 健介、森 健太、中島 英人、原口 英子、安田 知行、杜 隆嗣、石田 達郎、平田 健一. Trans fatty acid is a modulator of serum lipoprotein metabolism and coronary artery disease in Japanese subjects. 第44回日本動脈硬化学会総会 (2012. 7. 19) 福岡
2. 森 健太、石田 達郎、門口 倫子、佐々木 真希、近藤 健介、破磯川 実、中島 英人、原口 英子、杜隆嗣、安田 知行、篠原正和、西村 邦弘、平田 健一. Fasting serum concentration of apolipoprotein B48 is a putative predictor of coronary risk in patients with coronary artery disease. 第44回日本動脈硬化学会総会 (2012. 7. 19) 福岡
3. Hasokawa M, Shinohara M, Yasuda T, Toh R, Ishida T, Hirata K. Trans fatty acids increase inflammatory cytokines in plasma and aorta and decrease fatty acid elongation in LDL receptor knockout mice. 第77回日本循環器学会総会 (2013. 3. 17) 横浜
4. Haraguchi Y, Toh R, Ishida T, Monguchi T, Sasaki M, Mori K, Kondo K, Hasokawa M, Nakajima H, Hirata K. Myeloperoxidase and paraoxonase 1 modulate functional quality of HDL and progression of coronary artery lesions.

American Heart Association Scientific Sessions 2012 (2012. 11. 7) Los Angeles, CA, USA

5. Ishida T, Toh R, Sun L, Yasuda T, Hirata K. Role of endothelial lipase in HDL metabolism and atherosclerosis in humans. 79th European Atherosclerosis Society Congress (2011. 6. 28) Gothenburg, Sweden.

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

杜 隆嗣 ( Toh Ryuji )

神戸大学大学院医学研究科・准教授

研究者番号 : 50379418

##### (2) 研究分担者

該当なし

##### (3) 連携研究者

該当なし