

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461359

研究課題名(和文) ANGPTL8機能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) ANGPTL8 function and development of coronary artery disease

研究代表者

野原 淳(Nohara, Atsushi)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：50313648

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)：ANGPTL8はマウスにおける膵細胞増殖作用の報告から糖代謝への影響が注目されたが、元々はリポ蛋白リパーゼ(LPL)の活性を阻害する脂質代謝の重要分子である。ANGPTL8機能低下型変異であるR59Wは白人に比較して日本人に多いが、LPL活性正常群において機能低下型R59WはLPL活性亢進を介するHDL-C上昇だけではなく、血糖およびHbA1c低値に関連し、冠動脈造影において動脈硬化症進展がより軽症であった。さらに平均11年経過観察したコホートでは、変異保持者かつ観察開始時のLPL活性値が低い群はHbA1cの上昇が有意に高かった。

研究成果の概要(英文)：Betatrophin (ANGPTL8), also known as “Lipasin” (lipoprotein lipase inhibitor), has been reported as a dual-regulator of glucose and lipid metabolism, even if it may not proliferate pancreatic beta cell in human. Functional variant R59W in betatrophin gene is common in Japanese, but little is known about long-term impact of this gene variant, and also about the effect of lipid-lowering drugs on this hormone. Betatrophin R59W variant may be beneficial for healthy group, but was worsening genetic contributor of metabolic disorder in presence of metabolic burden especially low LPL activity. On the impact of R59W variant in 10 years follow up on glucose metabolism, betatrophin R59W variant was a susceptibility factor of future diabetes mellitus with low LPL activity. Strong statin treatments slightly decreased betatrophin levels, but effect sizes were minimal.

研究分野：脂質代謝

キーワード：ANGPTL8 LPL 冠動脈硬化症

1. 研究開始当初の背景

ANGPTL はマウスにおける膵細胞増殖作用の報告から糖代謝への影響が注目されたが、元々はリポ蛋白リパーゼ (LPL) の活性を阻害する別名 Lipasin (Lipase inhibitor) であり、同じファミリーの ANGPTL3/4 とともに脂質代謝の重要分子である。膵細胞増殖作用自体は 2016 年に否定されたが、脂質・糖質代謝研究をつなぐ分子として依然重要な分子であることは否定されるものではない。LPL は TG 水解し脂肪酸を細胞に提供する鍵であり、LPL 完全欠損マウスは栄養利用障害で致死、欠損ヘテロマウスは糖代謝障害をきたす。生命維持に関わる脂質代謝と糖代謝を制御する重要分子である。

2. 研究の目的

ヒトにおいて ANGPTL8 が抗糖尿病的であるのかについては、脂肪酸代謝が作用する細胞種や糖尿病あるいはインスリン抵抗性の状態などによって異なる可能性がある。さらに LPL の活性制御がベータトロフィンの作用として脂質代謝のみに影響するのか、あるいは糖代謝にも影響するのかわからない。我々は LPL を含む脂質代謝異常の病態を長期にわたり研究しており、ANGPTL8 が心血管リスク制御にどのように関わっているのかを明らかにすることを目的として本研究を実施した。

3. 研究の方法

まず遺伝素因として ANGPTL8 の機能低下型変異の同定を行った。ANGPTL8 変異とさらに LPL 活性の関係性についての解析を行った。また ANGPTL8 変異保持者の臨床像、さらに心血管イベント発症についてその役割を検討した。また心血管イベントが高率に発症する遺伝性高脂血症である家族性高コレステロール血症は、動脈硬化性疾患発症促進モデルケースと考えられ、同疾患における ANGPTL8 遺伝子変異の影響を検討した。さらに ANGPTL8 濃度測定法の確立、その血中濃度変動をきたす因子や薬物療法が及ぼす影響についての検討を行った。

4. 研究成果

脂質異常症患者および健康人を対象として機能低下型変異である R59W が、脂質代謝および糖代謝、さらに冠動脈硬化症に及ぼす影響について、ヘパリン負荷 LPL 活性との関連を検討した。その結果 LPL 活性正常群において機能低下型 R59W は LPL 活性亢進を介する HDL-C 上昇だけでなく、血糖および HbA1c 低値に関連していた。さらに機能低下型変異は冠動脈造影において冠動脈硬化症進展がより軽症であった。すなわち LPL 活性が十分ある場合、ANGPTL8 機能が軽度低下することは LPL 活性を促進することで脂質代謝プロ

ファイルを改善するだけでなく、脂肪酸代謝を介して糖代謝に好影響を与える可能性がある。その一方 LPL 活性低下群においてはこのような好ましい効果は得られず、逆に HDL-C 低下、血糖および HbA1c 高値、さらにブドウ糖負荷試験におけるインスリン分泌能の低下に関連が見られた。すなわち LPL 活性が十分でない病態では糖代謝に好ましい作用が得られないことになる。さらに 205 例のブドウ糖負荷試験をおこなった症例を平均 11 年経過観察したコホートでの ANGPTL8 遺伝子変異の影響を検討した。観察開始時点で糖尿病が無かった症例で、ANGPTL8 の機能低下型変異である R54W 変異保持者でかつ観察開始時の LPL 活性値が低い群は HbA1c の上昇が有意に高かった。横断的検討に類似する結果である。さらなる解析から ANGPTL8 遺伝子変異が観察開始時の肥満度や空腹時血糖、HbA1c 値とは独立した予測因子となることを見いだした。また家族性高コレステロール血症 (FH) のコホートにおいて FH の糖尿病新規発症は、非 FH に比べて有意に少ない結果であったが、血中の ANGPTL8 濃度は FH の方が低く、その解釈にはさらなる検討が必要と思われる。なお糖尿病や脂質代謝異常症ではスタチンが高頻度に用いられ、スタチンは糖尿病の発症を軽度上昇することが知られているが、スタチンは ANGPTL8 濃度を軽度低下させたが、その影響としては僅かであった。これらの成果は American Heart Association Scientific Sessions 2014 (米国シカゴ)、American Heart Association Scientific Sessions 2015 (米国・オーランド) において報告した。この成果は論文化の準備中である。

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 11 件)

Tada H, Kawashiri MA, Nohara A, Inazu A, Kobayashi J, Yasuda K, Mabuchi H, Yamagishi M, Hayashi K. Lipid Management in a Japanese Community: Attainment Rate of Target Set by the Japan Atherosclerosis Society Guidelines for the Prevention of Atherosclerotic Cardiovascular Diseases 2012. *J Atheroscler Thromb.* 査読有り 2017;24(3):338-345. doi: 10.5551/jat.36004.

Nohara A. Epicardial Adipose Tissue as a Predictor of Plaque Vulnerability in Patients With Mild Chronic Kidney Disease. *Circ J.* 査読無し 2016;80(1):64-6. doi:10.1253/circj.CJ-15-1265.

Tada H, Kobayashi J, Kawashiri MA, Miyashita K, Nohara A, Inazu A, Nakajima K, Mabuchi H, Yamagishi M. Changes in lipoprotein lipase and endothelial lipase mass in familial hypercholesterolemia during three-drug lipid-lowering combination therapy. *Lipids Health Dis.* 査読有り 2016;15:66.doi:10.1186/s12944-016-0238-z.

Teramoto T, Kobayashi M, Tasaki H, Yagyu H, Higashikata T, Takagi Y, Uno K, Baccara-Dinet MT, Nohara A. Efficacy and Safety of Alirocumab in Japanese Patients With Heterozygous Familial Hypercholesterolemia or at High Cardiovascular Risk With Hypercholesterolemia Not Adequately Controlled With Statins- ODYSSEY JAPAN Randomized Controlled Trial. *Circ J.* 査読有り 2016;80(9):1980-7. doi: 10.1253/circj.CJ-16-0387

Goto Y, Nishimura R, Nohara A, Mase S, Fujiki T, Irabu H, Kuroda R, Araki R, Ikawa Y, Maeba H, Yachie A. Minimal contribution of severe hypertriglyceridemia in L-asparaginase-associated pancreatitis developed in a child with acute lymphocytic leukemia. *Rinsho Ketsueki.* 査読有り 2016;57(8):994-8. doi: 10.11406/rinketsu.57.994.

Stitzel NO, Peloso GM, Abifadel M, Cefalu AB, Fouchier S, Motazacker MM, Tada H, Larach DB, Awan Z, Haller JF, Pullinger CR, Varret M, Rabès JP, Noto D, Tarugi P, Kawashiri MA, Nohara A, Yamagishi M, Risman M, Deo R, Ruel I, Shendure J, Nickerson DA, Wilson JG, Rich SS, Gupta N, Farlow DN, Neale BM, Daly MJ, Kane JP, Freeman MW, Genest J, Rader DJ, Mabuchi H, Kastelein JJ, Hovingh GK, Aversa MR, Gabriel S, Boileau C, Kathiresan S. Exome sequencing in suspected monogenic dyslipidemias. *Circ Cardiovasc Genet.* 査読有り 2015;8(2):343-50. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.114.000776.

Mabuchi H, Nohara A. Therapy: PCSK9 inhibitors for treating familial hypercholesterolaemia. *Nat Rev Endocrinol.* 査読無し 2015;11(1):8-9. doi: 10.1038/nrendo.2014.205.

Hopkins PN, Defesche J, Fouchier SW, Bruckert E, Luc G, Cariou B, Sjouke B, Leren TP, Harada-Shiba M, Mabuchi H, Rabès JP, Carrié A, van Heyningen C, Carreau V, Farnier M, Teoh YP, Bourbon M, Kawashiri MA, Nohara A, Soran H, Marais AD, Tada H, Abifadel M, Boileau

C, Chanu B, Katsuda S, Kishimoto I, Lambert G, Makino H, Miyamoto Y, Pichelin M, Yagi K, Yamagishi M, Zair Y, Mellis S, Yancopoulos GD, Stahl N, Mendoza J, Du Y, Hamon S, Krempf M, Swergold GD. Characterization of Autosomal Dominant Hypercholesterolemia Caused by PCSK9 Gain of Function Mutations and Its Specific Treatment With Alirocumab, a PCSK9 Monoclonal Antibody. *Circ Cardiovasc Genet.* 査読有り 2015;8(6):823-31.doi:10.1161/CIRCGENETICS.115.001129.

Kawashiri MA, Tada H, Hashimoto M, Taniyama M, Nakano T, Nakajima K, Inoue T, Mori M, Nakanishi C, Konno T, Hayashi K, Nohara A, Inazu A, Koizumi J, Ishihara H, Kobayashi J, Hirano T, Mabuchi H, Yamagishi M. Extreme Contrast of Postprandial Remnant-Like Particles Formed in Abetalipoproteinemia and Homozygous Familial Hypobetalipoproteinemia. *JIMD Rep.* 査読有り 2015;22:85-94. doi: 10.1007/8904_2015_415.

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.* 査読有り 2014;47(13-14):1326-8.doi:10.1016/j.clinbiochem.2014.05.003.

Mabuchi H, Nohara A, Noguchi T, Kobayashi J, Kawashiri MA, Inoue T, Mori M, Tada H, Nakanishi C, Yagi K, Yamagishi M, Ueda K, Takegoshi T, Miyamoto S, Inazu A, Koizumi J; Hokuriku FH Study Group. Genotypic and phenotypic features in homozygous familial hypercholesterolemia caused by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) gain-of-function mutation. *Atherosclerosis.* 査読有り 2014;236(1):54-61.doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.06.005.

[学会発表](計 5件)

Nohara A, Kawashiri M-A, Tada H, Yoshida M, Mori M, Nakanishi C, Yagi K, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Clinical Characteristics of Double Heterozygotes With PCSK9 Gain-of-Function Mutations and LDLR Mutations. *American Heart Association Scientific Sessions 2016*, Nov. 12-16, 2016 New Orleans, (USA)

Nohara A, Kawashiri M-A, Tada H,

Yoshida M, Mori M, Nakanishi C, Yagi K, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Clinical Characteristics of Common PCSK9 Gain-of-Function E32K Variant with Higher TG Elevation, and Double Heterozygotes with Common PCSK9 Variants and LDLR mutations. 84th European Atherosclerosis Society Congress 2016, May.29-Jun.1, 2016 Innsbruck, (Austria)

Nohara A, Kawashiri M-A, Jianhui L, Tada H, Yoshida M, Mori M, Nakanishi C, Yagi K, Inazu A, Kobayashi T, Yamagishi M, Mabuchi H. Impact of Betatrophin (ANGPTL8) R59W Mutation For Future Diabetes, and Minimal Modification of Circulating Betatrophin With Strong Statins American Heart Association Scientific Sessions 2015, Nov. 7-11, 2015 Orlando, (USA)

Nohara A, Yagi K, Liu J, Ohbatake A, Okazaki S, Yoshida M, Mori M, Nakanishi C, Tada H, Kawashiri M-A, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Metabolic Burden Switches Impact of Betatrophin (ANGPTL8) R59W Mutation From Atheroprotective to Atherogenic Lipid Profiles. American Heart Association Scientific Sessions 2014, Nov. 15-19, 2014 Chicago, (USA)

Nohara A, Yagi K, Liu J, Ohbatake A, Okazaki S, Yoshida M, Mori M, Nakanishi C, Tada H, Kawashiri M-A, Inazu A, Yamagishi M, Mabuchi H. Impact of Loss of Function Variant of Betatrophin on Advanced Coronary Artery Disease Among Diabetic Patients in Japan 82nd European Atherosclerosis Society Congress, May 31- Jun.3, 2014 (Madrid, Spain)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野原 淳 (NOHARA, Atsushi)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：50313648

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

稲津 明広 (INAZU, Akihiro)

金沢大学・保健学系・教授

研究者番号：80293348

八木 邦公 (YAGI, Kunimasa)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：30293343

岡崎 智子 (OKAZAKI, Satoko)

金沢大学・医薬保健学総合研究科・特任助

教

研究者番号：80613744

(4) 研究協力者