

博士（栄養学）学位論文

直線回帰式法による識別検索を用いた  
アポEおよびTGリッチリポ蛋白に潜む病態の解明

－ 高レムナント血症を捉える －

**Pathologic Background in ApoE- and TG-rich Lipoproteins Revealed  
by Discrimination via Linear Regression  
for understandig of hyper-remnant-lipoproteinemia**

2 0 1 2 年

指導教員 田中 明 教授

氏 名 井越 尚子

IKOSHI, Naoko

女子栄養大学

|    |   |
|----|---|
| 要旨 | I |
|----|---|

|    |    |
|----|----|
| 略号 | IV |
|----|----|

## 目次

### 緒言

|                        |    |
|------------------------|----|
| 1 節 研究の発端と経緯           | 1  |
| 2 節 リポ蛋白の生化学           |    |
| 2－1 リポ蛋白の構成成分          | 3  |
| 2－2 アポ E の特徴           | 4  |
| 2－3 リポ蛋白代謝             | 6  |
| 3 節 レムナントの定義           | 8  |
| 4 節 メタボリックシンドロームの背景と成因 | 10 |

### 目的

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| 1 節 人間ドック母集団の 75gOGTT 施行受診例を用いた解析の背景 | 11 |
|--------------------------------------|----|

### 方法

|                    |    |
|--------------------|----|
| 1 節 対象             | 11 |
| 2 節 検討項目の測定意義と検査方法 | 12 |
| 3 節 病態解析の特性と解析法    | 14 |

|                                         |    |
|-----------------------------------------|----|
| 結果                                      |    |
| 1 節 回帰式による病態識別法                         | 16 |
| 2 節 回帰式上下層の検討                           | 17 |
| 3 節 識別値の設定と区分化                          | 17 |
| 4 節 区分けの解釈                              | 18 |
| 5 節 アポ E rich リポ蛋白群(上層群)と<br>各群の検査項目の比較 | 18 |
| 考察                                      | 19 |
| まとめ                                     | 21 |
| Summary                                 | 22 |
| 図表一覧                                    | 23 |
| 参考文献                                    | 39 |
| 謝辞                                      | 44 |

## 要旨

### 【背景】

人口増加は高度経済成長を生み、地球上に活性酸素汚染を蔓延させた。しかも、我が国の戦後の高度成長は生活に豊かさをもたらし、食の半欧米化を容易に受け入れた。結果的に蔓延化した食のストレスはメタボリックシンドローム (MetS) に代表される生活習慣病の元凶となった。この病態は内臓肥満と糖尿病が絡む合併症であり、動脈硬化の独立した危険因子として対応の必要性は深刻さを増している。動脈硬化は3大死因 (悪性新生物・心疾患・脳血管疾患) の約 50 % を占め、早期発見並びに早期治療を必要とするものである。

### 【目的】

MetS は高中性脂肪 (TG) 血症を伴う病態である。特に、TG rich リポ蛋白の中間代謝産物のレムナントリポ蛋白の血中停滞は、動脈硬化性病変の発症と進展に関わることから注目度は大きい。そこで、レムナントリポ蛋白の基本成分であり、HDL もしくは VLDL として分泌されるアポ蛋白質 E (アポ E) に注目し、動脈硬化リスクファクター項目との関連性を検討した。そして、アポ E 測定の意味とそこに潜む病態を解明し、動脈硬化のスクリーニングとして臨床的に有用である知見を確認した。

### 【方法】

①対象：人間ドック受診者 75gOGTT 施行者 141 名を対象とした。男性 105、女性 36 例。年齢は平均  $49 \pm 8$  歳 (平均  $\pm$  SD)、最高は 76 歳。WHO 診断基準により、判定は正常型 120 名、境界型 (IGT) 18 名、糖尿病 (DM) 型 3 名であった。

②測定項目：一般的な肝機能、脂質検査など生化学、血液検査データに加え、血清アミロイド A 蛋白 (SAA)、アディポネクチン (Adipo)、アポ

E、インスリン(IRI)を測定した。他に血圧、ウエスト周囲長、BMIなどを計算した。

③病態指数：インスリン抵抗性指数は Mathews らの HOMA-R の式に従い、MetS 診断はメタボリックシンドローム診断基準委員会に従った。

④病態識別法：解析の手段に用いた回帰式による病態識別法は折れ線回帰分析に準拠した。まず、アポEを目的変数(y変数)とし、説明変数(x変数)に複数項目(総コレステロール(TCHO)、HDL-C、LDL-C、TG、SAA、Adipo、HOMA-R)を挙げ、重回帰分析の結果、TGが有意( $p<0.0001$ )な項目として選択された。次にアポEとTG2者間において線形型回帰か非線形型回帰かを確認した。そして、中村の折れ線回帰法に基づき、適合度を確認し分析し、折曲点が設定される。それらの点と回帰直線で区分される上層群(アポE rich リポ蛋白群)と下層群(アポE poor リポ蛋白群)、さらに折曲点によって分けられる領域に含まれる対象の病態の特徴を解析した。

## 【結果】

①線形の直線回帰：アポE(y軸)とTG(x軸)間で、回帰式は $\text{アポE} = 0.0108 \text{ TG} + 3.2032$ 、相関係数  $r = 0.612$  と有意( $p<0.001$ )な線形関係が認められたが、折曲点は存在しなかった。

②直線回帰上層群に潜む病態：アポEは動脈硬化リスクファクターであるHOMA-R、SAAと有意正相関(各々  $r=0.333$ ,  $p<0.01$  と  $r=0.271$ ,  $p<0.05$ )、抗動脈硬化作用のあるHDL-C、Adipoと負の相関(各々  $r=-0.393$ ,  $p<0.001$  と  $r=-0.366$ ,  $p<0.001$ )を認めた。

③識別値の設定と区分化：アポEとTGの関係は折曲点を認めない線形となったので、識別値としてあてはまり度の良いTG(150mg/dL)とアポE(4.8 mg/dL)をcut offに設定し、x軸、y軸点と回帰直線と交叉させ、

延長線を引いて区分した。そして、回帰直線の上下層をアポE rich リポ蛋白群とアポE poor リポ蛋白群とし、さらにアポE、TG 共に正常範囲をA、アポE 正常範囲で TG は高値域をB、アポE が高値域で TG が正常範囲をC、両者共に高値域をDとした。また、回帰直線で分けられるAの領域を線分上方に位置する方をA1、下方をA2とした。その結果、アポE rich リポ蛋白群である上層群はアポE 及びTG の低い方から順にA1、C、Dとなり、C群のBMI と血圧はA1 より有意に高値、D群のHOMA-R、SAA、BMI、拡張期血圧はA1 より有意に高値、HDL とAdipoは有意に低値となった。

④D群スクリーニングテストの有用性：MetS と診断された症例 16 例中 12 例(75 %)がD群域に集中していた。

#### 【考察】

アポE とTG の2者間における回帰直線において回帰式上層群、アポE rich リポ蛋白群ではアポE と動脈硬化リスクは正相関を認めた。また、アポE およびTG rich リポ蛋白域は高レムナント血症と考えられ、アポE およびTG が高値になるほど動脈硬化リスクが増加することが示された。

## 略語

ACAT : Cholesterol O-acyltransferase

Adipo : Adiponectin

Apo : Apolipoprotein

BMI : Body Mass Index

Chol : Cholesterol

CE : Cholesterol Ester、Esterified Cholesterol

CETP : Cholesterol Ester Transfer Protein

CM : Chylomicron

DM : Diabetes Mellitus

EBM : Evidence Based Medicine

FC : Free Cholesterol

FFA : Free Fatty Acid

Gluc : Glucose

HDL (-C) : High Density Lipoprotein (Cholesterol)

HOMA-R : Homeostasis Model Assessment Ratio

HTGL : Hepatic Triacylglycerol Lipase

IGT : Impaired Glucose Tolerance

IRI : Immunoreactive Insulin

LCAT : Lecithin Cholesterol Acyltransferase

LDL (-C) : Low Density Lipoprotein (Cholesterol)

LPL : Lipoprotein Lipase

MetS : Metabolic Syndrome

OGTT : Oral Glucose Tolerance Test

PL : Phospholipid

SAA : Serum Amyloid A protein

TCHO : Total Cholesterol

TG : Triglyceride

VLDL : Very Low Density Lipoprotein

注釈：本論文の中では生化学で用いられる『リポ蛋白質』を『リポ蛋白』、  
『アポリポ蛋白質』を『アポ蛋白』、さらに『アポ蛋白質E』を『ア  
ポE』とする。同様に、『血清アミロイド蛋白質A』を『血清アミロ  
イドA』とし、『SAA』と略す。これらは臨床的な場では広く一般的  
に使用され、通用するものである。

## 緒言

### 1 節 研究の発端と経緯

戦後の経済復興から高度成長を遂げた我が国の医学および医療は著しく発展した。国民の生活は豊かになり、半欧米化食の常食化が老若男女問わず定着した。バブル時代から肥満が増加し、代償として高血圧、脂質異常症、糖尿病(DM: Diabetes Mellitus)などの動脈硬化症のリスクとなる疾患やガンが増加していった。昭和 32 年、特に 40 歳以上に多い病気として、加齢と共に発生する「成人病」が取り上げられたが、改善には限界があり、その後、個人の生活習慣が影響することが強調され、「生活習慣病」という名称を利用することが提唱された。しかし、国民健康作り運動の「健康日本 21」計画の中間評価報告書案にある「高血圧や糖尿病などの生活習慣病が中高年男性で改善されていないなど」を踏まえ、世界的な動向にも合わせ、かつ個人レベルで理解しやすく、そして啓蒙しやすい「メタボリックシンドローム(MetS: Metabolic Syndrome)」と言う呼び方にすることで健康政策を転換することになった。これは国民の多くに「メタボ」というネーミングが流行するほどの旋風が起こった。

これまで、私が、臨床検査技師として関わってきた『成人病』の時代から『生活習慣病』、そして『メタボリックシンドローム』へと医療の対象が推移する中、糖尿病患者を中心に、病態解明につながる有効な検査の測定法や研究を積極的に行ってきた。私は、現在も減ることのない予備軍を早期に発見するマーカーを見い出し、母集団を適切に解析することを通して、臨床に貢献することを使命と考えている。

今回、動脈硬化の発症や病態を把握する目的で、人間ドック健診受診者を対象に動脈硬化のリスクファクターを解析し、また新たな識別法を利用した解析が適切であるかを試みた。

本研究では、動脈硬化の発症に関連すると言われる中性脂肪（TG：Triglyceride）の多い、つまり、TG rich リポ蛋白の中間代謝産物であるレムナントの成分としてアポEに注目した。そして、アポEと最も相関関係のある TG との間に折れ線回帰分析を適用し、母集団を解析し、アポEと TG、さらに動脈硬化リスクファクターとの関係を明らかにした。

## 2 節 リポ蛋白の生化学

### 2-1 リポ蛋白の構成成分

動脈硬化性疾患は様々なリスクファクターが複雑に絡み合いながら進展していく。特にリスクとして高いのは血清脂質であり、中でもコレステロール (Chol : Cholesterol) や TG の上昇が挙げられる。

一般に、血清脂質は Chol、TG、リン脂質 (PL : Phospholipid)、遊離脂肪酸 (FFA : Free Fatty Acid) の 4 種を指し、FFA 以外の 3 種がリポ蛋白を構成している。血中でのリポ蛋白の球体構造を図 1 に示す<sup>(1)</sup>。外郭の主成分である PL がいわゆる脂質二重層と呼ばれる二層になり、ミセルを形成している。PL の性質である両親媒性物質を利用して、PL 二層は互いに疎水性部分を内側に、また親水性部分を外側に向けている構造である。ミセルの外郭には親水性の遊離型コレステロール (FC : Free Cholesterol) やアポ蛋白が、中心には疎水性のエステル型のコレステロール (CE : Cholesterol Ester、Esterified Cholesterol) や TG などが存在する。このような構造なためリポ蛋白が血中を移動することができ、疎水性の CE や TG が血中に存在できるのである<sup>(1)(2)</sup>。

リポ蛋白は表 1 に示すように 5 つに分類される。それぞれ比重、直径、脂質の種類、荷電状態、電気泳動の移動度などが異なる。特に TG 含有の多い上位 3 つ、カイロマイクロン、VLDL (Very Low Density Lipoprotein)、レムナントは TG rich リポ蛋白と呼ばれる。アポ蛋白の分布の中で、アポ E が LDL に含まれないことは特徴的である<sup>(1)(2)</sup>。

これらのリポ蛋白を構成するアポ蛋白の中で主な種類である A から E を表 2 に示す<sup>(2)</sup>。アポ A-I はほとんどが HDL に含まれ、HDL の構築維持や末梢細胞からの Chol の引抜きに重要であり、アポ B は脂質との結合力が強く、アポ C や E は物理的な力や水解やストレスなどにより容

易にリポ蛋白からはずれやすいなど、各々に特徴を持つ<sup>(1)(2)</sup>。

## 2-2 アポEの特徴

注目するアポEは、1980年代以降、WHO分類における脂質異常症のうちレムナントの増加を示すⅢ型において、その増加が注目された<sup>(3)</sup>。それ以降、アポEの多様性と遺伝について次々と解明されていった。また、アポEの同定後、表2に示したようにLDL受容体との親和性が発見され、リポ蛋白代謝におけるその役割が明らかになり、臨床的に重要なものとなった<sup>(3)~(8)</sup>。

アポEの生成場所は主には肝臓であるが、マクロファージでも合成されている。また、分布はVLDLやVLDLレムナントのアポ蛋白中約15%を占め、この他にはカイロマイクロン(CM: Chylomicron)やCMレムナントに10%程度、HDLにも少量は含まれているとの報告もある<sup>(3)</sup>。山村<sup>(4)</sup>によれば、アポEは正常人の血清ではVLDLとHDLにほぼ等量ずつ分布しているとも言われている。さらに、HDL亜分画ではHDL<sub>3</sub>よりHDL<sub>2</sub>分画に多い<sup>(3)</sup>。

アポEの分子特性は分子量は33,000ないし39,000で構成アミノ酸のうちアルギニンが10~12 mol%と多量に含む糖蛋白である。アポEのN末端はリジンで、C末端のアミノ酸配列はロイシン-セリン-アラニンである。SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動では幅広いバンドか2本のバンド帯として出現されることからアポE分子は多様性が推定されている。アポEは3分子S-S結合でアポA-IIと複合体を形成し、分子量46,000のところに出現することも見出されていた<sup>(3)~(7)</sup>。

表3にアポ蛋白Eの分子多様性を示す<sup>(4)</sup>。アミノ酸配列の異なった

同位体、アイソフォームE1からE5の5つが分離されている。主なものはE2、E3、E4で、299個のアミノ酸からなるポリペプチドを合成している。構成アミノ酸の中でシステインとアルギニンの違いによることが明らかにされている。E2だけを有するE2ホモ接合体 ( $\epsilon 2/\epsilon 2$  遺伝子型、E2/2 表現形) は受容体を介するレムナントの処理ができない。つまり、レムナントレセプターに対して結合活性がほとんどない。しかし、E2ホモ接合体に限らず、E2ヘテロ接合体およびE4素因の症例など、各々のリポ蛋白代謝が異なる<sup>(3)(4)</sup>。

アポE蛋白はE2、E3、E4の順に ChoL(LDL)を増加させ、逆にE4、E3、E2の順に TG(VLDL)を増加させることも知られている。E3( $\epsilon 3$ )は野生型または自然体で最も高頻度である<sup>(2)~(4)</sup>。これらE2、E3、E4の含有程度により脂質の動態が異なるのである<sup>(8)~(13)</sup>。

アポE 遺伝子は第 19 染色体に 3.6kb の長さで存在し、4つのエクソンと3つのイントロンからなる。その5 kb 下流には 4.7kb 長のアポC-I 遺伝子があり、これらの遺伝子制御には共通する部分の存在が示唆される。また、第 19 染色体にはアポC-II 遺伝子や LDL レセプター遺伝子も含まれている<sup>(2)~(4)</sup>。

アポEの生理的役割は TG rich リポ蛋白であるレムナントにおいてアポEが肝臓などに存在するレムナントレセプターのリガンドとなることである。また、LDL レセプターにも結合しやすく、アポB-100 に比べてその親和性は数倍高いことが知られている<sup>(2)</sup>。LDL レセプターの N 末端側断片にその結合領域が含まれている。一方、C 末端側断片は脂質に対する親和性を有する配列があり、この部分でリポ蛋白に結合していると考えられている<sup>(1)(3)~(8)</sup>。

アポEと疾病との関わりを見る。アポEの多様性はアミノ酸組成差に

あると述べたが、脂質異常症のⅢ型とⅤ型ではアポEアイソフォームの分布に各々特徴がある<sup>(3)</sup>。Ⅲ型は75%がE2、25%がE2/3のヘテロ接合体を示し、Ⅴ型は約31%がE4、約43%がE4のヘテロ接合体を示している。アポE2ホモ接合体はLDL受容体と結合しないためにリポ蛋白代謝異常を来し、 $\beta$ -VLDLが出現すると考えられている。また、先天性の脂質代謝異常症ではTangier病においてアポEが減少しているが、無 $\beta$ -リポ蛋白血症やLCAT欠損症ではアポEが増加している。ほかに、肝障害においてもアポEは上昇の傾向がある。DMにおいては脂質代謝の異常を来しやすいことから、アポEが増加していることが容易に考えられる。さらに、過剰のコレステロール摂取後ではアポEを多く有するリポ蛋白、特に $\beta$ -VLDLまたはHDL-Cが増加することが知られている<sup>(4)(11)~(13)</sup>。

以上より、アポEはコレステロールのホメオスターシスに多様に関与していることが示唆され、リポ蛋白代謝の調節に大きく関わっていると考えられる。

## 2-3 リポ蛋白代謝

リポ蛋白の代謝経路を図2に示す<sup>(4)</sup>。

食事由来の外因系経路(カイロマイクロン:CMおよびCMレムナント)、および肝臓から生合成される内因系経路(VLDLおよびその代謝産物のVLDLレムナント(IDL)、LDL)の代謝経路である<sup>(2)</sup>。

小腸からはCMが、一方、肝臓からはVLDLが合成および分泌される。TG rich リポ蛋白は各組織にTGを供給している。アポBは小腸ではB-48が、肝臓ではB-100が合成される。CMは肝外組織の毛細血管壁に存在

するリポ蛋白リパーゼ(LPL)により TG が水解され、相対的に Chol rich な CM レムナントになる。そして、それは肝細胞表面にあるアポEをリガンドとするレムナントレセプターに結合し肝臓に取り込まれる。また、VLDL も CM と同様に TG が水解され、VLDL レムナントになる。IDL は VLDL レムナントの一部である。VLDL レムナントの 50 %はアポEがリガンドとなり、肝臓のレムナントレセプターに結合し、50 %はさらに TG が水解され、Chol rich な LDL に変換される (1) ~ (4)。

### 3 節 レムナントの定義

レムナントリポ蛋白(レムナント)を定義する。

これは食事由来の CM や肝臓で合成される VLDL が LPL 作用で TG が水解され、粒子サイズが小さくなり、生成されるリポ蛋白を言う。内容的には CM レムナントと VLDL レムナントの両者を含み、アポ E および CE に富む TG rich リポ蛋白である。成分としては Chol と TG をほぼ同量 (30 ~ 40 %) に含んでいる (2) (4) (5) (14)。

高レムナント血症における動脈硬化惹起メカニズムを図 3 に示す (8)。レムナントは酸化変性を受けなくてもマクロファージに取り込まれやすいという特徴がある。

高レムナント血症では、血管内皮細胞への単球の接着が亢進し、血管壁に侵入しやすくなり、そこで単球はマクロファージになる。一方、高レムナント血症では血小板凝集能が亢進、また、PAI- I 活性も亢進し、血栓が溶解されにくい状態となる。そして、血管内皮機能も障害が亢進する。また、高レムナント血症では中膜の平滑筋細胞の増殖も亢進し、内膜へ移動し、そこでマクロファージになる。マクロファージには Chol 取り込みの調整機構がないため、容易に細胞内に蓄積されやすい。マクロファージは LDL 受容体だけでなく、変性 LDL を認識するスカベンジャー受容体とレムナント受容体も発現している。Chol 取り込みでマクロファージの泡沫化が促進される。結果的に、高レムナント血症ではレムナントのマクロファージへの取り込みが亢進し、マクロファージの泡沫化が進むので、動脈硬化の初期病変が生じる (1) (8) (15)。

レムナントは代謝が速く、健常者の早朝空腹時の血中に通常は認められない。しかし、食後には増加が見られることから、高脂血症の食後の重要なマーカーと言える (1) (4) (8) (15)。

図 4 <sup>(16)</sup> に見られるようにインスリン抵抗性が生じると TG rich リポ蛋白の異化障害が起き、レムナントが上昇する <sup>(17) ~ (23)</sup>。

まず、①小腸壁の ACAT (アシル CoA コレステロールトランスフェラーゼ : Cholesterol O-acyltransferase) 活性亢進が見られる。つまり、腸管での Chol 取り込みが増加し、CM および CM レムナントが増加する。②血管内皮表面の LPL (リポ蛋白リパーゼ : Lipoprotein Lipase) 活性が低下する。つまり、TG の加水分解が不十分となり、レムナント代謝が停滞する。③肝臓のレムナント受容体の活性が低下する。つまり、肝臓へのレムナント取り込みが低下する。④肝臓の HTGL (肝性 TG リパーゼ : Hepatic Triacylglycerol Lipase) 活性が低下する。つまり、TG の加水分解が不十分で、VLDL レムナント (IDL) の代謝が低下する。⑤ホルモン感受性リパーゼが亢進する。つまり、脂肪組織での TG 異化が亢進し、FFA (Free Fatty Acid) が増加し、肝臓へ動員される。よって、TG 合成が亢進し、VLDL が増加、結果的にレムナントが増加となる。これらの流れから、インスリン抵抗性が高レムナント血症を引き起こす原因であることがわかる <sup>(16)</sup>。

以上より、レムナントはアポ E と CE が豊富な TG rich リポ蛋白であり、重要な動脈硬化のリスクファクターとして注目されることがわかる。言い換えれば、TG rich リポ蛋白の多い場合は、レムナント濃度に応じ、動脈硬化リスクが高まると言える。

#### 4 節 メタボリックシンドローム（MetS）の背景と成因

高レムナント血症の原因であるインスリン抵抗性に起因して MetS は生じやすいと考えられる<sup>(16)～(23)</sup>。

表 4 に示されるように、1990 年前後から各研究者たちは MetS についてさまざまな観点から研究をしている<sup>(24)</sup>。いずれにもインスリン抵抗性もしくは高インスリン血症が含まれていることと、ほかに耐糖能異常、高血圧、脂質異常症、さらには内臓脂肪、動脈硬化など多数の因子が含まれていることが各特徴として挙げられる。これらを総括した病態概念が MetS ということになる<sup>(8)(16)～(23)</sup>。

MetS の成因を図 5 に示す<sup>(25)</sup>。過剰栄養および運動不足による内臓脂肪の蓄積が元凶であることがわかる。その結果、リポ蛋白質合成亢進と様々なアディポサイトカインの合成分泌異常が起こり、インスリン抵抗性を来す。さらに、これを基盤として、脂質異常症、耐糖能異常、高血圧など、様々な病態を合併させながら動脈硬化に陥る流れである<sup>(8)(16)～(30)</sup>。

MetS 診断基準（日本内科学会 関連 8 学会による内臓脂肪蓄積の指標）を図 6 に示す<sup>(31)</sup>。腹部肥満の計測には臍部位でウエスト周囲長を測り、この結果が必須条件となる。さらに①から③の脂質、血圧、血糖の 3 項目中、2 つがあてはまった場合、MetS と診断される<sup>(32)(33)</sup>。

## 目的

### 1 節 人間ドック母集団の 75gOGTT 施行受診例を用いた解析の背景

動脈硬化発症をより早期に予測するスクリーニングテストが必要と考え、人間ドック母集団の 75gOGTT (Oral Glucose Tolerance : 経口負荷試験) 施行受診層を対象に検討した。動脈硬化の発症にはレムナントリポ蛋白が大きく関わっていることから、レムナントの基本成分となるアポ E と TG との関わりに注目し、解析を試みた。

## 方法

### 1 節 対象

対象者の臨床的背景を表 5 に紹介する。

今回の対象者は、人間ドック健診において、75gOGTT を施行した被験者から無作為に抽出した受診者 141 例である。WHO 診断基準に従い、正常型 120 例、境界型 18 例、糖尿病型 3 例と分類された。性別は男性 105 例、女性 36 例で、年齢は最低 30 歳、最高 76 歳の平均年齢 49 歳 ± 8 (平均 ± 標準偏差) である。年齢構成は 70 歳代 1 例、60 歳代 12 例、50 歳代 55 例、40 歳代 58 例、30 歳代 15 例、性別は男性 105 例、女性 36 例の構成であった。

本健診における MetS 診断項目と生化学検査の主なデータは平均値 ± SD で示す。尚、検査は全て血清を用いている。表の右欄は生化学データについて脂質項目を中心に糖尿病関連や肝機能などを示したが、いずれの項目も平均値は正常範囲内であった。この結果、全対象 141 例中、MetS と診断されたのは 16 例 (11 %) 存在した。本研究対象は佐世保中央病院の倫理委員会により承認された。

## 2 節 検討項目の測定意義と検査方法

今回の検討には表 6 に示すように動脈硬化リスクファクター 8 項目を選択した。

### ① 測定項目並びに測定方法

酵素法、TIA 法及びラテックス凝集比濁法は全て日本電子 BM1650、自動分析機東芝 TBA-200FR、その他項目は専用装置を用いて測定した。

1) 総コレステロール：脂肪酸と結合した疎水性のエステル型と、結合していない親水性の遊離型、両者を合わせたものを指す。細胞膜の材料、血管の強化や維持などの重要な役割、ステロイドホルモン、胆汁酸の主成分などの材料にもなる。

(TCHO：酵素 UV 法、イアトロ Q T-CHO (A) II、三菱化学)

2) LDL コレステロール：肝臓から生合成される内因系のリポ蛋白で Chol の供給源であり、末梢組織の Chol を全身の細胞に運ぶ役をなす。

(LDL-C：酵素免疫測定法、デタミナ-LDL-C、協和メデックス)

3) HDL-コレステロール：末梢組織の FC を取り込む。FC は、HDL 粒子表面上のレシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ (LCAT) 作用でエステル化され、HDL 粒子内に貯えられる。LCAT とはレシチンの  $\beta$  位の脂肪酸を Chol に転移させ、Chol のエステル化を行う酵素である。コレステロールエステル転送蛋白 (CETP：Cholesterol Ester Transfer Protein) は HDL 内の CE を VLDL、IDL、LDL に転送し、Chol は最終的に肝臓に取り込まれる。

(HDL-C：酵素免疫測定法、デタミナ-HDL-C、協和メデックス)

4) 中性脂肪：食事から摂取した TG はグリセロールを母体に 3 つの FFA がエステル結合した形で、膵リパーゼにより分解された FFA は胆汁酸とミセルを形成し、十二指腸、空腸から吸収され、小腸粘膜細胞内で再度 TG に合成される。TG

は CM を構成し、リンパ管から血中へ入る。遊離脂肪酸はエネルギー産生に利用されると共に肝で TG を合成し、VLDL に含まれて血中に放出される。

(TG : 酵素法、イアトロ Q T G II、三菱化学)

5) アポ E : 測定の意義は緒言 2 節－ 2 参照

(アポ E : 免疫比濁(TIA)法、アポ E オート・N「第一」キット、第一化学)

6) 血清アミロイド蛋白 A : 慢性炎症刺激によりサイトカイン作用を受けて組織に沈着するアミロイド A の前駆体蛋白である。近年、血管炎症の場合において、活性酸素の作用で LDL と結合した SAA が血中に存在し、動脈硬化のリスクとなる炎症マーカーとして知られている。

(SAA : ラテックス凝集免疫比濁法(LIA 法)、LZ テスト「栄研」 SAA キット、栄研化学)

7) アディポネクチン : 脂肪細胞から産生される善玉アディポサイトカインの代表。内臓脂肪の蓄積により血中レベルが減少し、インスリン抵抗性、高血糖、脂質異常、動脈硬化などの予防に関与する。

(Adipo : enzyme-linked immune sorbent assay (ELISA 法)、高分子量アディポネクチンキット、富士レビオ)

8) HOMA-R : インスリン抵抗性指数(insulin resistance index)は、Matthews ら<sup>(33)</sup>の HOMA-R (Homeostasis model assessment ratio)の式<sup>(34)</sup>より、早朝空腹時血中 IRI (Immunoreactive Insulin) 値と空腹時 Gluc (Glucose)を用いて求めた。

### 3 節 病態解析の特性と解析法

多くの検査項目は健常人が母集団の場合、正規分布型または対数正規分布型を示し、回帰直線の線上に近似分布することが知られている。しかし、対象の分布のばらつきにより、たとえば逸脱するような異常値が存在する場合は、線形として扱うと解釈や判断に危険を含むことになる。つまり、解析法に線形あるいは非線形方法を適切に選択することが必要で、その結果、分布から得られる情報をより正確に捉えなければ、臨床的に用いることはできないのである。

対象の分布状況を確認する方法では、多因子間の場合、まず相関関係を調べ、最も有効な関係を見つけることが重要である。選択された関係の組合せの確認のためにノンパラメトリック法の **Spearman** の順位相関を行う。さらに、関連の予測にステップワイズ法による重回帰分析を行うことも良い。この時、単回帰分析と同じく  $x$  を説明変数、 $y$  を目的(被説明)変数とする。算出された重回帰式の有意性は回帰式で説明されるものと説明しきれないもののバラツキ(残差)をもとに検定される。重相関係数  $R$  とその説明率  $R^2$  が重要で、 $R$  は重回帰式で予測される値と実際の観測値との相関係数を表し、絶対値が 1 に近いほど当てはまりが良いことを示す。

次に、有効な変数を選択し、折れ線回帰分析を行う。中村の折れ線回帰法<sup>(35)</sup>では適合度の高い非線形モデルが自動的に設定される。非線形の場合は、検出力の高く、かつ危険率の低い、あてはまりのよい折曲点が導かれる。全ての折れ線関数を共変数としてステップワイズ法で解析する。ここで、線形の場合で折曲点が存在しない場合は、識別値として **cut off** に相当する候補を設定することを試み、その適合度を求め、選択することである。いずれの場合も回帰直線の  $x$  軸と  $y$  軸にプロットし、

各々両軸に平行に延長線を引き伸ばす。回帰式で区分される上下層と延長線で区分された領域において、そこに分布する対象を解析する。この解析手法は各領域毎に潜む対象の病態を捉えるに効能を発揮するものと期待できる。

本研究で用いた折れ線回帰分析を説明するために、石田—前畑ら<sup>(36)</sup>、Maehata ら<sup>(37)</sup>の共同研究の解析例を図7に示す。ここでは HOMA-R とアディポネクチンの関係を示しており、対象は健常者 411 例である。統計解析には十分な症例数ではあるのだが、低濃度域の密集した範囲を見るとほとんど一塊である。ここで、折曲点の設定に Adipo 5、10、15、20  $\mu$  g/ml の4点を挙げ、ステップワイズ法で解析した結果、Adipo は 10  $\mu$  g/ml の適合度(F 値)が大きく、有意差が最も高かったことから 10  $\mu$  g/ml で折れ曲がるのが最適であると決定した。よって、Adipo の cut off は 10  $\mu$  g/ml が高感度識別値となり、HOMA-R は 1.0 との交点最適である非線形となった。この点を境に区分けされる群を各々解析すると2変数間に動態が異なる対象を見い出すことに成功している<sup>(36)</sup>。それは折れ線上下で群分け(+) (−) とし、Adipo 亢進に伴い、HDL の上昇かつ TG 低下、逆に Adipo10 以下域では HOMA-R は高くなった。従来の指標としての意義が裏付けられ、特に密集域を(+) (−) 群に分けることで病態の(+) 群に潜む病態を捉えている<sup>(36)</sup>。

## 結果

### 1 節 回帰式による病態識別法

ここで、今回用いる 8 因子の動脈硬化リスクファクターの統計的關係を表 7 に示した。

まず、多因子における相関を見るために偏相関を求めたところ、アポ E に対しての TCHO、LDL、TG の 3 つが有意な確率で選択され、その中でも TG が最も相関係数は高い結果となった。

多数の因子間の関連づけを行うためにノンパラメトリック法で Spearman の順位相関を行ったところ、同じ 3 因子が選択された。さらに重回帰分析(ステップワイズ法)を行い、確認を行った。結果的に TG の 1 因子が選択されたので、y の目的変数はアポ E、x の対応変数は TG とし、病態の特性をつかむため、折れ線回帰分析を行った。その結果、この 2 者間には折れ曲がり点が得られる関係とはならなかったのである。

解析には統計ソフト JMP と EXCEL を用いた。相関係数を求め、その寄与率から有用性を検定し、群毎の比較にはノンパラメトリックの Wilcoxon 順位和解析、Bonferroni の多重比較解析を用いた。

よって、アポ E と TG は図 8 のような  $y = 0.0108 x + 3.2032$ 、相関係数は 0.612、 $p < 0.001$  の線形回帰の関係となった。

そこで、回帰式の上側を上層群、つまりアポ E rich リポ蛋白群、また、下側を下層群、つまりアポ E poor リポ蛋白群とした。対象は上層 64 例と下層 77 例に分けられ、下表に示すように、上層群が下層群に対し、アポ E と TG 両項目ともに  $p < 0.001$  で有意に高値であった。

つまり、回帰式上層群とはアポ E rich かつ TG rich リポ蛋白群であり、高レムナント血症群と考えられる。

## 2 節 回帰式上下層の検討

図 9 に回帰式の上下群別に分け、アポ E と動脈硬化リスクファクターとの関係を比較した。

上層群では、インスリン抵抗性の指数である HOMA-R ( $r = 0.333$ ,  $p < 0.01$ ) と炎症マーカーである SAA ( $r = 0.271$ ,  $p < 0.05$ ) とは有意に正相関となった。一方、抗動脈硬化作用をもつ HDL-C ( $r = -0.393$ ,  $p < 0.001$ ) や Adipo ( $r = -0.366$ ,  $p < 0.001$ ) とは有意な負の相関となった。また、下層群はいずれの項目とも相関関係は認められなかった。

つまり、上層群の高レムナント血症ではアポ E が高いほど動脈硬化リスクが高くなると考えられる。

## 3 節 識別値の設定と区分化

アポ E と TG 間には折曲点が求められなかったことから、その代わりとして識別値に相当する cut off を設定した。x 変数の TG の仮の折曲点として、100、150、200、250、300mg/dl を 5 点を候補とした。TG に対するアポ E の F 値 (p 値) をステップワイズ法で確認した結果、150mg/dl が最もあてはまりが高かった。そこから y 軸アポ E との交点を求めると 4.8mg/dl となった。TG は動脈硬化予防のガイドラインである 150mg/dl に相当し、アポ E は共同研究者(石田、前畑ら)の研究<sup>(36)</sup> で用いた cut off 値 4.8mg/dl に当てはまるものとなった。これらの点を各々延長させ、回帰式と交わる区域を作成した。この区分けを図 10 に示す。

#### 4 節 区分けの解釈

各群を図 10 に緑字で示したが、アポ E、TG 両項目とも正常域を A、アポ E 正常かつ TG 高域を B、ここで A は回帰式の上側を A 1、下側を A 2 と細区分した。回帰式上層群では、アポ E のみ高域を C、両者とも高域を D とした。

各々に分布する症例数は回帰式上層群の A 1 は 19、C は 28、D は 17、下層群 A 2 は 67、B は 10 例であった。

さらに MetS と診断された 16 例の分布を下表に示した。図中に赤色で示した各マーク、アポ E rich TG 群では D 群に 12 例、またアポ E poor TG 群では 4 例 (A 2 に 1 例、B に 3 例) と D 群に集中し分布していた。

#### 5 節 アポ E rich リポ蛋白群(上層群)の各群における検査項目の比較

アポ E rich リポ蛋白群(上層群)においてアポ E も TG も正常域の A 1 群に対する C、D 群の動脈硬化リスクファクターの比較を表 8 に示した。

まず、アポ E は高域、かつ TG 正常域の C 群では TG とアポ E ( $p < 0.0001$ )、BMI と収縮期および拡張期血圧 ( $p < 0.05$ ) が有意に高値となった。また両者共に高域の D 群では TG とアポ E ( $p < 0.0001$ )、HOMA-R ( $p < 0.05$ )、SAA ( $p < 0.05$ )、BMI ( $p < 0.0001$ ) および拡張期血圧 ( $p < 0.05$ ) が有意に高値、一方、HDL-C および Adipo は有意に低値となった。これらの結果より、回帰式の上層群ではアポ E および TG が高値になるほど動脈硬化のリスクが増加することがわかった。

## 考察

今回、動脈硬化の予知および予防のためにレムナントリポ蛋白に注目した。その構成成分であるアポEおよびTGの関連性をドック健診受診者を対象に回帰式識別法を用いて分析し、動脈硬化リスクファクターとの関わりを検討した。

一般的に、検査の現場は、得られたデータを第1手法として容易に回帰分析を行い、結果を求めていることが多い。単相関での回帰式の信頼度は寄与率が影響することが問題となる。経験的に相関係数  $r = 0.6$  以下の母集団では寄与率が低く、 $x$  と  $y$  変数の関わりは十分に強くないと考える。しかし、病態解析対照群の特性は解析法の選択によって病態の捉え方や、その傾向が異なってしまうことを筆者は度々経験してきた。

石田一前畑ら<sup>(36)</sup>の研究はHOMA-Rを中心にMetSの基本病態を健常者411例を用いて検討した。HOMA-RとAdipoの2者間において折曲点が求められ、低濃度の密集域は緩和され、回帰直線の上層群と下層群で病態の差異を把握できた。また、先述したようにMaehataら<sup>(37)</sup>の研究においては炎症性のマーカー同士の相関での解析をしている。糖尿病患者を対象に用いているので、血管内皮細胞障害マーカーなど既に病態進行の陽性度の挙動は捉えられるが、cut off境界域での病態識別は鈍くなる。今回のように健常者を対象に用いる場合においては、病態把握を推し量るに識別値(cut off)を設定することは大変有用性が高いのである。

今回は、動脈硬化リスクファクターの多因子の中から、 $y$  変数には反応性が遅いアポE、 $x$  変数には食事の影響などを受けやすい反応性の早いTGが選択された。折れ線回帰分析の結果、折曲点が認められない関係となったが、回帰式上下層群で関わりを検討した。回帰式上層群ではアポEはインスリン抵抗性指数であるHOMA-Rおよび炎症マーカー

SAA と有意な正相関、一方、抗動脈硬化作用のある HDL-C および Adipo と有意な負相関が認められた。また、回帰式下層群も同様に検討したが、何も有意差は認められなかった。

そこで、折曲点の代わりに識別値として仮設定した cut off の中から適合度の良い値を選択し、対象の分布を線分で区分けした。その区分けされた中でアポ E および TG rich リポ蛋白の意味を持つ D 群には高レムナント血症を含むことが考えられ、その存在を確認することができたと思われる。そして、それはアポ E および TG が正常域から高域へ値が増加するほど動脈硬化リスクが増加することが認められたことが裏付けとなった。

さらには、D 群に MetS が多く分布することからアポ E および TG rich であるほど、MetS の成因が存在する可能性が高いことを示唆するものとする。

以上のことから、このように直線回帰式法による識別検索を用いてスクリーニングすることは臨床的に有効であることを証明する。

## まとめ

私の研究の歩みは、臨床検査の現場での臨床検査法の開発とその意義、さらには検査標準化に向けての母集団解析などであった。今まで、手掛けたテーマは糖尿病関連の検査法の臨床的意義が中心で、糖化 **sampled studies** で物質 (HbA1c、糖化アルブミン、1.5-AG など)、血管損傷マーカー (AEI) <sup>(38)</sup> <sup>(39)</sup>、動脈硬化マーカー (HOMA-R、Lp(a)) などについて日常検査法の実用化に向けて検討し、これまで発表してきた。しかし、測定法の評価の域は越えず、従来からの **sampled studies** の限界を知り、さらに有意な EBM (Evidence Based Medicine) 検査を追求してきた。

今回、動脈硬化の予防および予知するために、動脈硬化リスクファクターを多数の因子で検討した結果、アポEと中性脂肪が選択された。これらは、一般に検査項目として容易に測定でき、スクリーニングに用いることができる。

本研究では、病態の把握に統計的手法 (ステップワイズ法による折れ線回帰分析) を工夫して取り入れることで、対象をより適切に捉えて、解析していくことができ、さらに臨床に貢献できるものと考えている。

## Summary

Aiming to characterise atherosclerotic risk in individuals with ApoE- and TG-rich lipoproteins, the authors analysed the combined clinical data for ApoE and TG using discrimination via linear regression.

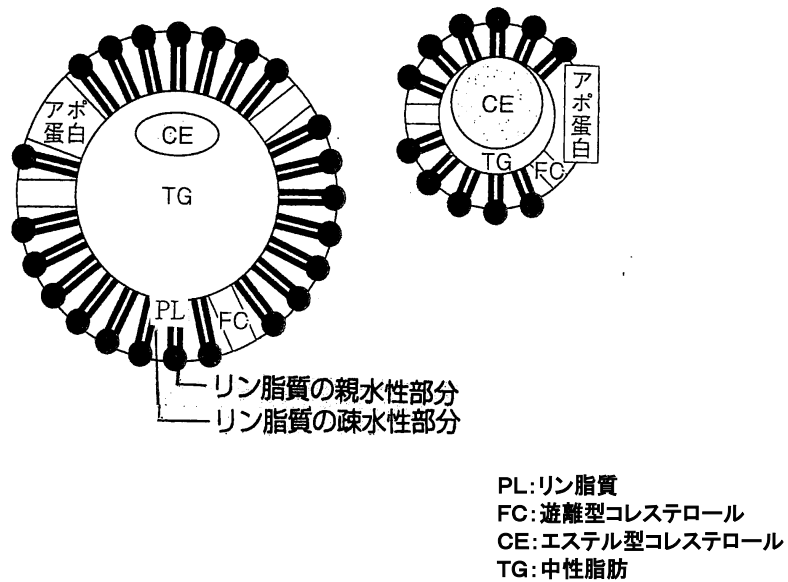
The result of discrimination via linear regression showed that individuals above the regression line (+) had significantly higher ApoE and TG levels than those beneath the regression line (-), forming an ApoE- and TG-rich group. In the above-the-line (+) group, ApoE significantly correlated with increases in insulin resistance (HOMA-R) and SAA and decreases in HDL-C and Adipo, suggesting that a higher level of ApoE might indicate a higher risk of atherosclerosis in ApoE- and TG-rich individuals.

Next, the sub-groups defined by the cut-off values for ApoE and TG were analysed. Among the sub-groups in the above-the-line (+) region, group C (high ApoE, normal TG) had significantly higher BMI, systolic blood pressure, and diastolic blood pressure than group A1 (normal ApoE and TG), while group D (high ApoE and TG) had significantly higher HOMA-R, SAA, BMI, and diastolic blood pressure and significantly lower HDL-C and Adipo than group A1. Group A1 had the lowest levels of ApoE and TG, followed by groups C and D in decreasing order, and group D showed a high frequency of subjects with MS. These results are considered to suggest that the risk of atherosclerosis increases with rises in ApoE and TG levels. They also suggest that an ApoE- and TG-rich status may constitute a risk of atherosclerosis in MS .

## 図表一覧

- 図 1 リポ蛋白の構造
- 図 2 リポ蛋白の代謝経路
- 図 3 動脈硬化惹起のメカニズム
- 図 4 インスリン抵抗性におけるレムナント代謝のメカニズム
- 図 5 メタボリックシンドロームの成因
- 図 6 メタボリックシンドロームの診断基準
- 図 7 HOMA-R とアディポネクチンの関係
- 図 8 アポ E と TG の相関関係と回帰式で分けた上下層群
- 図 9 回帰式上下層群別のアポ E との相関
- 図 10 識別値で分けした各群における分布状況

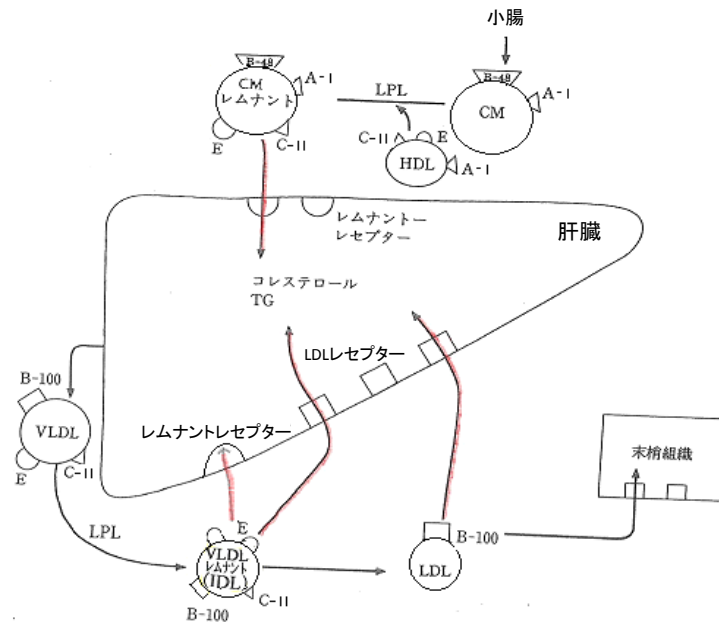
- 表 1 リポ蛋白の構成
- 表 2 アポ蛋白の種類とその特徴
- 表 3 アポ E の分子多様性
- 表 4 各病態の特徴
- 表 5 対象者の臨床的背景
- 表 6 動脈硬化リスクファクターとしての検討項目
- 表 7 動脈硬化リスクファクターの関係
- 表 8 アポ E rich リポ蛋白群（上層群）における各群の比較



## 図1 リポ蛋白の構造

参考文献(1)戸塚 実:講義のアポリポ蛋白—量から質の検査へ, 臨床検査, 54(4), 343-351, 2010. 加筆作図

外郭の主成分であるリン脂質(PL)が脂質二重層となり、ミセルを形成する。PL二層は両親媒性物質で、疎水性部分を内側、親水性部分を外側に構成する。ミセルの外郭には親水性の遊離型コレステロール(FC)やアポ蛋白、中心には疎水性のエステル型コレステロール(CE)や中性脂肪(TG)などが配する。



**図2 リポ蛋白の代謝経路**

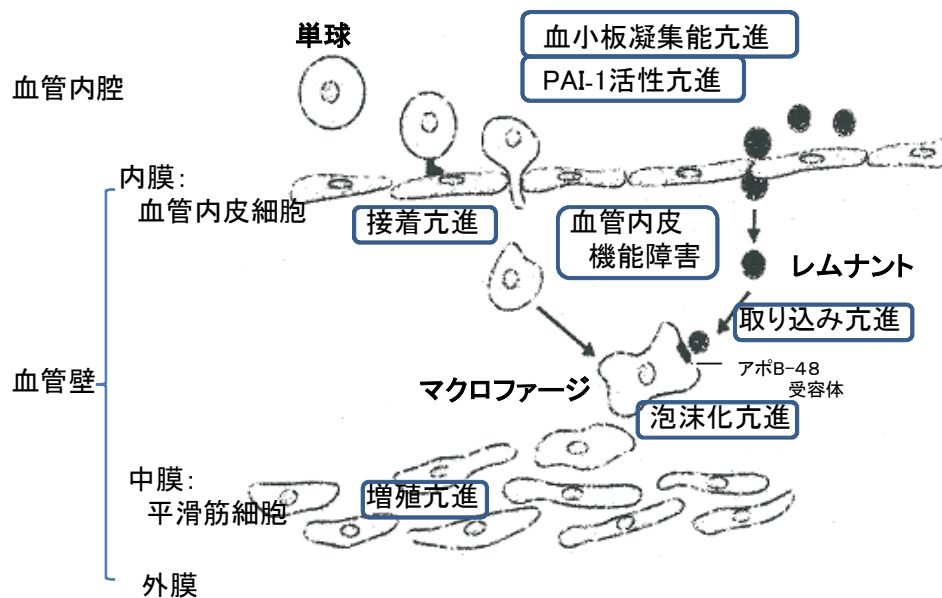
参考文献(4)山村 卓:特集 血漿リポ蛋白異常症 基礎編 アポ蛋白ーアポ蛋白の分子生物学 アポ蛋白E, 日本臨床, 52(12), 58-66, 1994. 加筆作図

CM : Chylomicron、VLDL : Very Low Density Lipoprotein、

LDL (-C) : Low Density Lipoprotein (Cholesterol)、TG : Triglyceride

HDL (-C) : High Density Lipoprotein (Cholesterol)、LPL : Lipoprotein Lipase

食事由来の外因系経路(カイロマイクロン: CM・CM レムナント)、および肝臓から生合成される内因系経路(VLDL・VLDL レムナント(IDL)、LDL) のリポ蛋白代謝経路を示す。小腸から CM が、肝臓から VLDL が合成・分泌、TG rich リポ蛋白は各組織に TG を供給している。肝細胞表面にあるアポ E をリガンドとするレムナントレセプターに結合し肝臓に取り込まれる。VLDL も TG が水解され、VLDL レムナントから Chol rich な LDL に変換される。



**図3 動脈硬化惹起のメカニズム**

参考文献(8)田中 明:レムナントリポ蛋白, medicina, 44(8), 1496-1498, 2007. 加筆作図

高レムナント血症における動脈硬化惹起メカニズムを示す。

血管内皮細胞への単球の接着が亢進し、血管壁に侵入、単球はマクロファージになる。血小板凝集能や PAI- I 活性が亢進し、血栓が溶解されにくい状態となり、血管内皮機能も障害が亢進する。中膜の平滑筋細胞の増殖亢進し、内膜へ移動、マクロファージになる。さらに泡沫化が促進し、動脈硬化の初期病変が生じる。



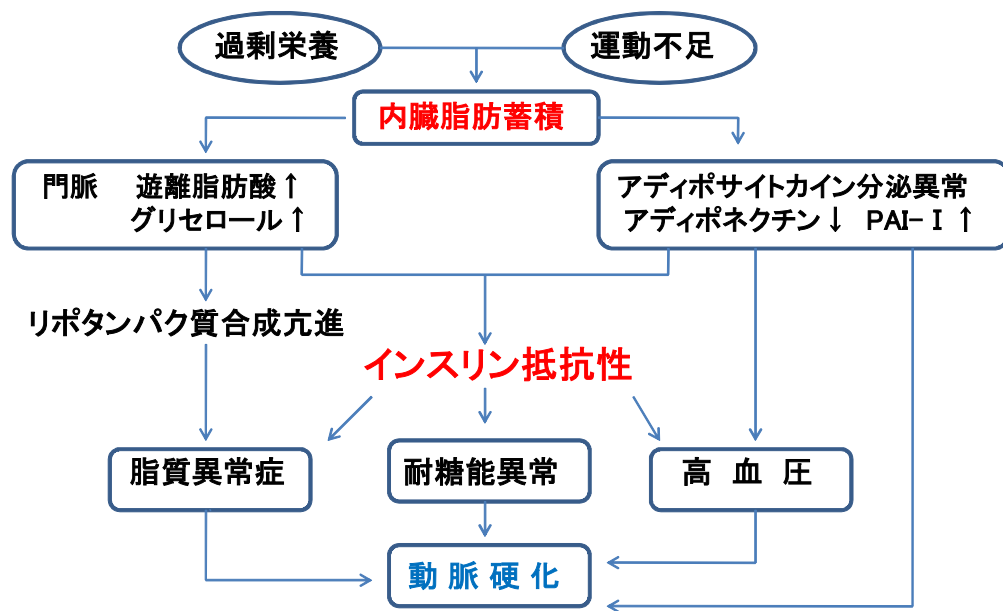


図5 メタボリックシンドロームの成因

参考文献(25)徳永勝人, 松村俊子: メタボリックシンドローム発症基盤としての脂肪細胞機能異常, 体内脂肪分布の異常, 日本臨床, 69巻増刊号1, 211-213, 2011. 加筆作図

メタボリックシンドロームの成因を示す。

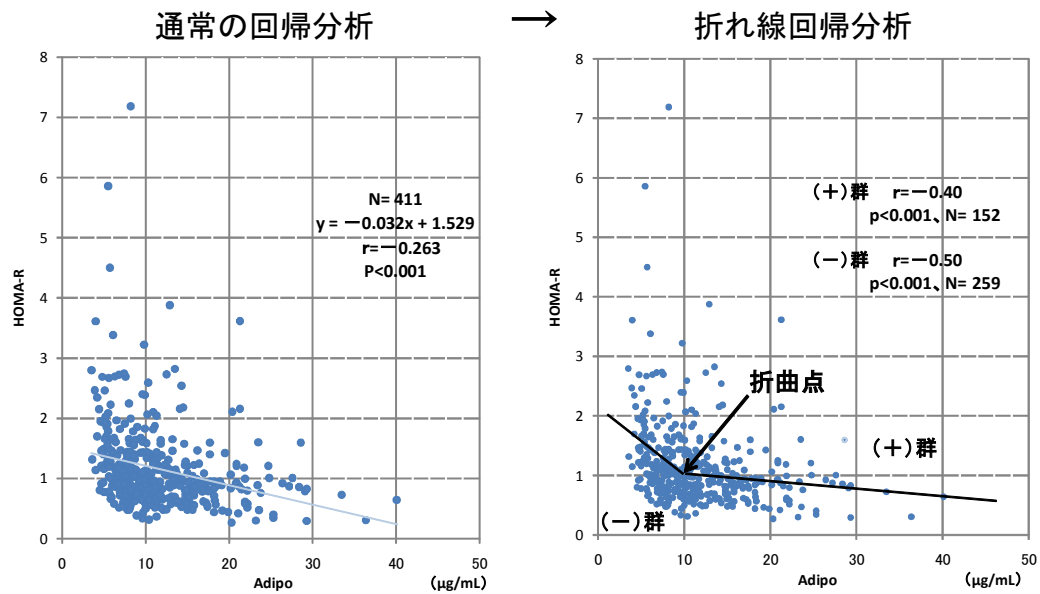
過剰栄養および運動不足による内臓脂肪の蓄積が元凶で、リポ蛋白質合成亢進と様々なアディポサイトカインの異常からインスリン抵抗性を来たす。これを基盤に脂質異常症、耐糖能異常、高血圧などを合併し、動脈硬化に陥いる。

◎ 臍部ウエスト周囲長      男性 85cm 以上  
                                         女性 90cm 以上

|   |   |            |               |    |
|---|---|------------|---------------|----|
| 【 | ① | 中性脂肪       | 150 mg/dl     | 以上 |
|   |   | and/or     |               |    |
|   |   | HDLコレステロール | 40 mg/dl      | 未満 |
|   | ② | 血圧         | 130 / 85 mmHg | 以上 |
| 】 | ③ | 空腹時血糖      | 110 mg/dl     | 以上 |

参考文献(31)メタボリックシンドローム診断基準委員会:日内会誌, 94, 794-809, 2005. 加筆作図

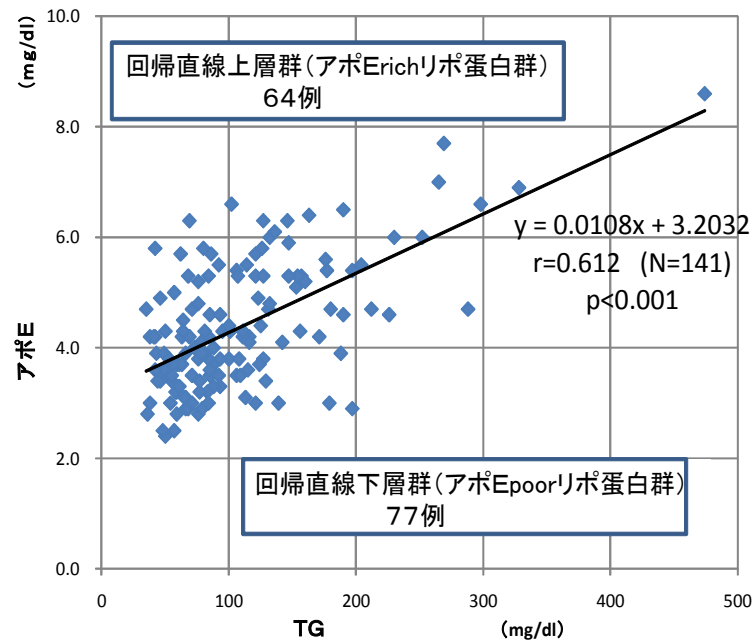
- 29 -



参考文献(36)石田紀子, 野嶋廣巳, 桃木野鉄義, 前畑英介, 矢野正生, 下村弘治, 山門 実, 井上 穰, 中村 剛:健診群のHOMA-Rとアディポネクチンとの関係を折れ線ハザードで、識別した際の知見, 総合健診(第34回大会予稿号), 33:258, 2006.

折れ線回帰分析の例を紹介する。

健診施行者 411 例において、折曲点は HOMA-R 1.0 とアディポネクチン 10mg/dl が得られ、低濃度も密集域に潜む病態の解析が有効となる。



| (mg/dl) | TG          | ApoE         |
|---------|-------------|--------------|
| 上層群     | 127 ± 80*** | 5.4 ± 0.9*** |
| 下層群     | 94 ± 47     | 3.5 ± 0.5    |

図8 アポEとTGの相関関係と回帰式で分けた上下層群

\*\*\* p < 0.001

アポEとTGに回帰分析を行った結果、相関関係は  $y = 0.0108x + 3.2032$ 、相関係数は 0.612、 $p < 0.001$  の線形回帰の関係となった。回帰直線の上下層群に分け、下表に示すようにTGとアポEは有意に上層群が高値であった。

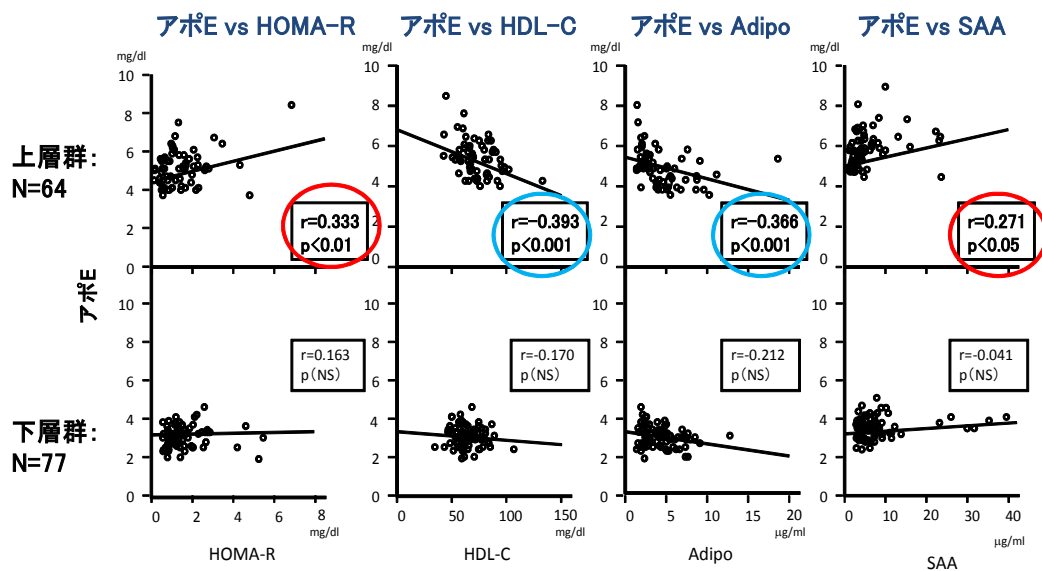


図9 回帰式上下層群別のアポEと動脈硬化リスクファクターの相関

HOMA-R : Homeostasis model assessment ratio、Adipo : Adiponectin

HDL-C : High Density Lipoprotein (Cholesterol)、SAA : Serum Amyloid A protein

上層群でアポEと正相関を示したのは、赤丸内のHOMA-R( $r=0.333$ )、SAA( $r=0.271$ )、  
負相関を示したのは、青丸内のHDL-C( $r=-0.393$ )、Adipo( $r=-0.366$ )であった。  
一方、下層群は全て無相関であった。

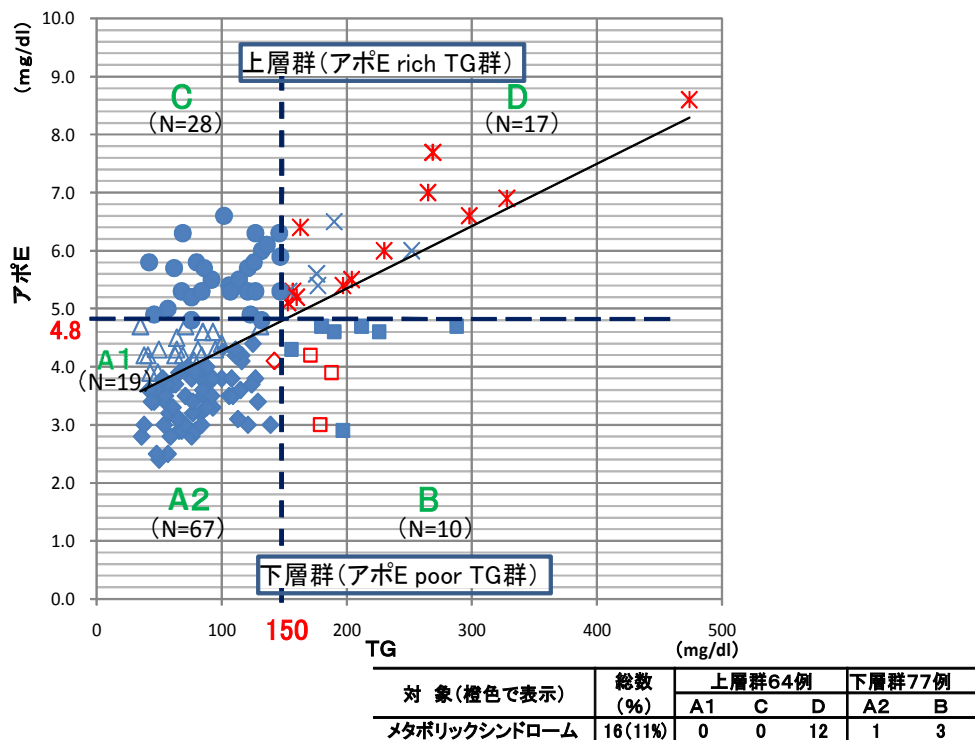


図10 識別値で分けした各群における分布状況

上層群 △ : A1、● : C、× : D 下層群 ◆ : A2、■ : B  
 (Mets 例 × : D ◇ : A2、□ : B )

アポEとTG間の識別値としてTG150mg/dl、アポE 4.8mg/dlをcut offと設定し、これらの点を延長させ、区域を作成した図を示す。下表はMetSの分布を示し、各々のマークで赤色で示す。アポE、TG両項目が正常域をA、アポE正常かつTG高域をB、さらにAを回帰式の上側をA1、下側をA2、回帰式上層群で、アポEのみ高域をC、両者とも高域をDとする。

表1 リポ蛋白の組成

| 分画      | 比重<br>(density) | 直径<br>(nm)    | 脂質<br>含量 | 脂質の内訳 |     |     | アガロース<br>電気泳動の<br>移動度 | アポ蛋白                          |
|---------|-----------------|---------------|----------|-------|-----|-----|-----------------------|-------------------------------|
|         |                 |               |          | CHOL  | TG  | PL  |                       |                               |
| カイロミクロン | <0.950          | 100～<br>1.000 | 98%      | 7%    | 84% | 7%  | 原点                    | A-I、A-II、B-48<br>C-II、C-III、E |
| VLDL    | 0.950～<br>1.006 | 30～80         | 90%      | 19%   | 50% | 21% | pre $\beta$           | B-100、C-II<br>C-III、E         |
| レムナント   | 1.006～<br>1.019 | 25～30         | 82%      | 45%   | 28% | 9%  | broad $\beta$         | B-48、B-100<br>C-II、C-III、E    |
| LDL     | 1.019～<br>1.063 | 20～25         | 75%      | 45%   | 10% | 20% | $\beta$ 位             | B-100                         |
| HDL     | 1.063～<br>1.210 | 7.0～10        | 50%      | 22%   | 4%  | 24% | $\alpha$              | A-I、A-II<br>C-II、C-III、D、E    |

参考文献(1)戸塚 実:講義のアポリポ蛋白一量から質の検査へ, 臨床検査, 54(4), 343-351, 2010. 加筆作表

表2 アポ蛋白の種類とその特徴

| アポ蛋白  | 産生臓器                                     | 存在するリポ蛋白                                                 | 機 能                               |
|-------|------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| A-I   | 小腸・肝臓                                    | HDL ・ カイロミクロン                                            | LCAT活性化、<br>HDL受容体との結合            |
| A-II  | 肝臓                                       | HDL                                                      | LCAT活性阻害、<br>HTGLの活性阻害            |
| B-100 | 肝臓                                       | VLDL ・ IDL ・ LDL                                         | LDL受容体への結合                        |
| B-48  | 小腸                                       | カイロミクロン ・<br>カイロミクロンレムナント                                | 外因性リポ蛋白の構成蛋白                      |
| C-II  | 肝臓(小腸)                                   | HDL ・ カイロミクロン<br>VLDL ・ レムナント                            | LPLの活性化                           |
| C-III |                                          |                                                          | LPLやHTGLの活性阻害、<br>レムナント受容体との結合を阻害 |
| E     | 肝臓・脳・脾臓・肺<br>副腎・卵巣・腎臓<br>マクロファージ<br>末梢組織 | カイロミクロン<br>カイロミクロンレムナント<br>VLDL ・ VLDLレムナント<br>LDL ・ HDL | レムナント受容体、<br>LDL受容体との結合           |

参考文献(2)荒井秀典:リポ蛋白の代謝経路, medicina, 48(5), 720-724, 2011-5. 加筆作表

表3 アポEの分子多様性

| アポE遺伝子       | アポE同位体 | 遺伝子頻度 | レセプター結合活性(%) |
|--------------|--------|-------|--------------|
| $\epsilon 2$ | E2     | 0.05  | <2           |
| $\epsilon 3$ | E3     | 0.852 | 100          |
| $\epsilon 4$ | E4     | 0.093 | 100          |

参考文献(4)山村 卓:特集 血漿リポ蛋白異常症 基礎編 アポ蛋白-アポ蛋白の分子生物学 アポ蛋白E, 日本臨床, 52(12), 58-66, 1994. 加筆作表

表4 各病態の特徴

| シンドロームX<br>(Reaven) 1988 | 死の四重奏<br>(Kaplan) 1989 | インスリン抵抗性症候群<br>(DeFronzo) 1991 | 内臓脂肪症候群<br>(Matsuzawa) 1987 |
|--------------------------|------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| インスリン抵抗性                 | 耐糖能異常                  | 高インスリン血症                       | 内臓脂肪蓄積                      |
| 高インスリン血症                 | (高インスリン血症)             | NIDDM                          | インスリン抵抗性                    |
| 耐糖能異常                    | 高TG血症                  | 高TG血症                          | 耐糖能異常                       |
| 高VLDL-TG血症               | 上半身肥満                  | 高コレステロール血症                     | 高脂血症                        |
| 高HDL-C血症                 | 高血圧症                   | 低HDL-C血症                       | 高血圧症                        |
| 高血圧症                     |                        | 高血圧症                           |                             |
|                          |                        | 冠動脈硬化                          |                             |
|                          |                        | 肥満                             |                             |

参考文献(25):伊藤 裕, 中尾一和:PPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ )の動脈硬化における意義, 日本臨床, 59(増刊号2), 602-613, 2001. 加筆作表

## 表5 対象者の臨床的背景

2007年から2008年 人間ドック受診 75gOGTT施行者

| 対象者 141名<br>(男性 105・女性 36) | 平均 ± SD             | 生化学データ             | 平均 ± SD   |
|----------------------------|---------------------|--------------------|-----------|
|                            |                     | 総コレステロール (mg/dl)   | 197 ± 32  |
| 年齢 (歳)                     | 49 ± 8              | 中性脂肪 (mg/dl)       | 109 ± 67  |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )   | 24 ± 6              | HDLコレステロール (mg/dl) | 62 ± 14   |
| 男 性                        | 最高37、最低17           | LDLコレステロール (mg/dl) | 127 ± 28  |
| 女 性                        | 最高35、最低14           | アポE (mg/dl)        | 4.4 ± 1.2 |
| ウエスト周囲長・臍位 (cm)            | 85 ± 9              | 空腹時血糖 (mg/dl)      | 95 ± 9    |
| 男 性                        | 85 ± 9 (最高112、最低69) | HbA1c(JDS) (%)     | 5.0 ± 0.4 |
| 女 性                        | 84 ± 9 (最高106、最低66) | IRI (μU/ml)        | 6.4 ± 4.3 |
| 収縮期血圧 (mmHg)               | 120 ± 15            | ALT (IU/l)         | 25 ± 17   |
| 拡張期血圧 (mmHg)               | 76 ± 9              | AST (IU/l)         | 24 ± 13   |

## 表6 動脈硬化リスクファクターとしての検討項目

| 対 象                |
|--------------------|
| 総コレステロール (TCHO)    |
| LDLコレステロール (LDL-C) |
| HDLコレステロール (HDL-C) |
| 中性脂肪 (TG)          |
| アポE (APOE)         |
| 血清アミロイド蛋白A (SAA)   |
| アディポネクチン (Adipo)   |
| HOMA-R             |

## 表7 動脈硬化リスクファクターの関係

偏相関

|      | TCHO   | HDL   | LDL    | TG     | SAA   | Adipo | HOMA-R |
|------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|--------|
| アポ E | 0.306  | -0.05 | 0.329  | 0.632  | -0.11 | -0.04 | 0.154  |
| p値   | p<0.01 | n.p.  | p<0.05 | p<0.01 | n.p.  | n.p.  | n.p.   |

ノンパラメトリック:Spearmanの順位相関

組合せの確認→3項目選択

|      | TCHO     | HDL   | LDL      | TG       | SAA   | Adipo | HOMA-R |
|------|----------|-------|----------|----------|-------|-------|--------|
| アポ E | 0.58     | 0.003 | 0.466    | 0.509    | 0.173 | -0.25 | 0.216  |
| p値   | p<0.0001 | 0.974 | p<0.0001 | p<0.0001 | 0.041 | 0.003 | 0.01   |

重回帰分析(ステップワイズ法)

アポEに対し、7独立変数を調べる

|        | 推定値     | 標準誤差     | t値    | p値      |
|--------|---------|----------|-------|---------|
| TG     | 0.01083 | 0.001108 | 7.61  | <0.0001 |
| TCHO   | 0.01540 | 0.002015 | 3.68  | 0.0003  |
| HDL    | 0.01524 | 0.005113 | 1.27  | 0.2053  |
| LDL    | 0.01439 | 0.002320 | -1.13 | 0.2607  |
| HOMA-R | 0.058   | 0.072    | 0.56  | 0.5785  |
| Adipo  | 0.009   | 0.03     | 0.35  | 0.7243  |
| SAA    | 0.009   | 0.011    | 0.65  | 0.5155  |

順位和の再確認

1項目選択

表8 アポE rich リポ蛋白群(上層群)における  
各群の比較

| Item                     | 全対象群    | 上層群 アポE rich リポ蛋白群 (N=64) |             |             |         |
|--------------------------|---------|---------------------------|-------------|-------------|---------|
|                          |         | A1                        | C           | D           | Total   |
|                          | (N=141) | (N=19)                    | (N=28)      | (N=17)      | (N=64)  |
| TG (mg/dl)               | 109±66  | 68±25                     | 88±37 ***   | 226±103 *** | 125±79  |
| アポE (mg/dl)              | 4.4±1.2 | 4.3±0.2                   | 5.1±0.9 *** | 6.1±1.6 *** | 5.4±0.9 |
| Gluc (mg/dl)             | 95±9    | 95±8                      | 97±21       | 98±31       | 97±9    |
| HOMA-R                   | 1.5±1.1 | 1.4±1.0                   | 1.3±0.8     | 2.4±1.5 *   | 1.6±1.2 |
| HDL-C (mg/dl)            | 62±14   | 71±16                     | 69±20       | 50±17 ***   | 64±16   |
| Adipo (μg/ml)            | 3.4±2.6 | 4.8±2.2                   | 4.3±3.1     | 1.1±0.6 *** | 3.5±3.0 |
| SAA (μg/ml)              | 6.2±6.5 | 4±4.8                     | 5.4±5.4     | 7.6±5.2 *   | 6±5.5   |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> ) | 24±4    | 23±4                      | 23±6 *      | 27±8 ***    | 24±4    |
| 収縮期血圧(mmHg)              | 120±9   | 114±15                    | 126±14 *    | 121±11      | 121±14  |
| 拡張期血圧(mmHg)              | 75±15   | 72±10                     | 79±10 *     | 78±7 *      | 77±10   |

\*\*\* p<0.0001  
\*\* p<0.01  
\* p<0.05  
} vs A1

## 参考文献

- (1) 戸塚 実：講義のアポリポ蛋白－量から質の検査へ．臨床検査 54 (4) : 343-351, 2010.
- (2) 荒井秀典：リポ蛋白の代謝経路．*medicina*48(5) : 720-724, 2011.
- (3) 板倉弘重：アポ蛋白の基礎と臨床 アポ E．クリニカルニュース 4(4) : 12-27, 1983.
- (4) 山村 卓：特集 血漿リポ蛋白異常症 基礎編 アポ蛋白－アポ蛋白の分子生物学 アポ蛋白 E．日本臨床 52(12) : 58-66, 1994.
- (5) U Beisiegel, W Weber, G Inrke, et al. : The LDL-receptor-related protein, LRP is an apolipoprotein E-binding protein. *Nature* 341 : 162-164, 1989.
- (6) RC Kowal, J Herz, KH Weisgraber, et al. : Opposing effects of apolipoprotein E and C on lipoprotein binding to low density lipoprotein receptor-related protein. *J. Biol. Chem.* 265 : 10771-10779, 1990.
- (7) RW Mahley : Apolipoprotein E : Cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 240 : 632-630, 1988.
- (8) 田中 明：レムナントリポ蛋白, *medicina*44(8) : 1496-1498, 2007.
- (9) K Nakajima, M Okazaki, A Tanaka, et al. : Separation and determination of remnant-like particles in human serum using monoclonal antibodies to apo B-100 and apo A-1. *J. Clin. Ligand Assay*19(3) : 177-183, 1996.
- (10) M Eto, K Watanabe, I Makino : Increased frequencies of apolipoprotein  $\epsilon$  2 and  $\epsilon$  4 alleles in patients with ischemic heart disease. *Clin Genet* 36(3) : 183-188, 1989.
- (11) E Campos, K Nakajima, A Tanaka, RJ Havel : Properties of an apolipoprotein E-enriched fraction of triglyceride-rich lipoproteins isolated from human blood plasma with a monoclonal antibody to apoprotein B-100. *J. Lipid Res* 33 :

- 369-380, 1992.
- (12) K Nakajima, T Saito, A Tamura, et al. : A new approach for the detection of type III hyperlipoproteinemia by RLP-cholesterol assay. *J. Atheroscler Thromb* 1(1) : 30-36, 1994.
- (13) K Horiuchi, T Aso, K Kawano, et al. : Apo E phenotypes in normolipidemic subjects and hyperlipidemic patients. *Jpn J Clin Pathol* 41 : 364, 1993.
- (14) 田中 明, 中嶋克行 : 血中トリグリセリド測定とレムナント・リポ蛋白測定の臨床的意義の違い, *医学のあゆみ* 231(11) : 1137-1141, 2009.
- (15) A Tanaka : Postprandial Hyperlipidemia and Atherosclerosis. *J. Atheroscler Thromb* 11(6) : 322-329, 2004.
- (16) 田中 明 : レムナントとメタボリックシンドローム, *The Lipid18* (4) : 35-40, 2007.
- (17) GS Hotamisligil, P Arner, JF Caro, et al. RL Atkinson, BM Spiegelman : Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J. Clin Invest* 95(5) : 2409-2415, 1995.
- (18) GM Reaven : Banting lecture 1998. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37(12) : 1595-1607, 1988.
- (19) F Abbasi, T McLaughlin, C Lamendola, et al. : Fasting remnant lipoprotein cholesterol and triglyceride concentrations are elevated in nondiabetic, insulin-resistant, female volunteers. *J. Clin Endocrinol Metab* 84(11) : 3903-3906, 1999.
- (20) HS Kim, F Abbasi, C Lamendola, T McLaughlin, GM Reaven : Effect of insulin resistance on postprandial elevations of remnant lipoprotein concentrations in postmenopausal women. *Am J. Clin Nutr* 74(5) :

592-595, 2001.

- (21) M Ai, A Tanaka, K Ogita, et al. : Relationship between hyperinsulinemia and remnant lipoprotein concentrations in patients with impaired glucose tolerance. *J. Clin Endocrinol Metab* 85 (10) : 3557-3560, 2000.
- (22) M Ai, A Tanaka, K Shoji, et al. : Suppressive effects of diacylglycerol oil on postprandial hyperlipidemia in insulin resistance and glucose intolerance. *Atherosclerosis* 195 (2) : 398-403, 2007.
- (23) M Ai, A Tanaka, K Ogita, et al. : Relationship between plasma insulin concentration and plasma remnant lipoprotein response to an oral fat load in patients with type 2 diabetes. *J. Am Coll Cardiol* 38 (6) : 1628-1632, 2001.
- (24) 伊藤 裕, 中尾一和 : PPAR  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ) の動脈硬化症における意義, *Nippon Rinsho* 59 (Suppl2) : 603-616, 2001.
- (25) 徳永勝人, 松村俊子 : メタボリックシンドローム発症基盤としての脂肪細胞機能異常, 体内脂肪分布の異常, 日本臨床 69 (増刊号 1) : 211-213, 2011.
- (26) 高橋雅彦 : 内分泌器官としての脂肪組織－アディポサイトカインと脂肪代謝調節, 日本臨床 59 (増刊号 2) : 504-508, 2001.
- (27) 本島寛之, 堤 厚之, 川崎修二, 花谷聡子, 荒木栄一 : メタボリックシンドローム発症基質としての脂肪細胞機能異常 アディポサイトカインとその役割. レシチン、TNF- $\alpha$ 、PAI- I , 日本臨床 69 (増刊号 1) : 225-230, 2011.
- (28) 井上 穰, 前畑英介, 谷山松雄, 鈴木晟時 : 2 型糖尿病患者におけるアディポネクチンの意義, 生物試料分析 26 (2) : 145-152, 2003.

- (29) 今里孝宏, 松本一成, 藤田成裕, 前畑英介, 井上 穰: 非糖尿病患者のウエスト周囲径と関連する因子の検討, 糖尿病(第 49 回日本糖尿病学会)vol49, Supple1: s-287, 2006.
- (30) 前畑英介, 野嶋廣巳, 今里孝宏ほか: 健診 OGTT 群の IGT 期に潜む病態: 血管障害マーカーのレベルとその関わりから, 糖尿病(第 49 回日本糖尿病学会)vol49, Supple1: s-296, 2006.
- (31) メタボリックシンドローム診断基準委員会: 日内会誌 94: 794-809, 2005.
- (32) 中神朋子, 岩本安彦: ーメタボリックシンドロームに起因もしくは関連する病態とその管理ー糖尿病・耐糖能異常, 日本臨床 (増刊号 1): 388-393, 2011.
- (33) DR Matthews, JP Hosker, AS Rudenski: Homeostasis model assessment: Insulin resistance and Beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28(7): 412-419, 1985.
- (34) 前畑英介, 矢野正生, 柴 輝男ほか: インスリン抵抗性指数 (HOMA-R), 日本臨床(増刊号 2)60: 341-350, 2002.
- (35) 中村 剛: Cox 比例ハザードモデル, 医学統計学シリーズ(丹後俊郎編集 3): 66-71, 朝倉書店, 東京, 2008.
- (36) 石田紀子, 野嶋廣巳, 桃木野鉄義ほか: 健診群の HOMA-R とアディポネクチンとの関係を折れ線ハザードで、識別した際の知見, 総合健診(第 34 回大会予稿号)33: 258, 2006.
- (37) Y Maehata, M-C-il Lee, E Maehara, et al.: Pathologic Background of Abnormal Serum Amyloid A (SAA) and IL-6 Levels Revealed by a Piecewise Linear Regression Model in a Population of Diabetic Patients. *Jpn Soc Ningen Dock* 22: 35-41 (2008).

- (38) P Bennett, S Haffner, B Kasiske, et al. : Screening and mannagement of microalbuminuria in patients with diabetes mellitus : recomendations to the scientific advisory board of the national kidney foundation friom an ADHoc Committee of the coucil on diabetes mellitus of the national kidney foundation. *Am J. Kidney Disease* 25 (1) : 107-112, 1995.
- (39) 井越尚子、川合厚生：インスリン非依存性糖尿病患者における尿中微量アルブミン測定の検討，ホルモンと臨床 36：197 ～ 201, 1988.

## 謝辞

この論文を作成するにあたり、昭和大学藤が丘病院内分泌代謝内科兼任講師 前畑英介先生の手厚い御指導を仰ぎました。先生が三井記念病院中央検査部臨床検査技師長時代から 20 数年間に渡り、scientist としての理念を教授してくださいました。改めて深謝し、心より御礼を申し上げます。また、研究対象となるデータは佐世保中央病院の倫理委員会を経て御許可をいただきました。統計の解析には長崎大学 生産科学研究科の石井紀子様のお協力をいただきました。その他、生物・試料分析に基になる論文を投稿するにも多くの方々の御協力と御支援あつてのことでした。2011 年 34(2) 151-158 に掲載されましたことを御報告するとともに、関わってくださった皆様に献辞致します。

本論文は、女子栄養大学 香川靖雄 副学長（医化学研究室）、山田和彦 教授（生化学研究室）、堀江修一 教授（臨床生化学研究室）、そして大変残念ながらご逝去された故 高橋信二 教授（微生物研究室）に審査から完成に至るまでご指導をいただいたことに対して、謝辞の念を申し上げます。また、武藤志真子 教授（健康情報科学研究室）並びに株式会社アイスタット 菅 民郎様にも大変お世話になりました。

最終的には田中 明 教授（臨床栄養医学研究室）の御指導と御鞭撻の賜であるところに深く感謝の辞を申し上げます。

これまで、終始励ましてくださった奥脇義行 名誉教授のお声、さらに大学入学当時の香川芳子 学長のお優しきお導きが私にはかけがえのない太い支えとなりましたことも、衷心より感謝の念を述べさせていただきたいと存じます。

最後に、最愛なる母、娘、夫、そして見守ってくれた大切な人へその無償の愛に対し、一生報うよう努めます。