

Title	コレステロールエステル転送蛋白遺伝子多型と日本人2型糖尿病患者における大血管合併症有病率との関連
Sub Title	
Author	目黒, 周(Meguro, Shu) 猿田, 享男(Saruta, Takao)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.4 (2003. 12) ,p.T279- T286
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	学位論文
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20031201-0279

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

学位論文

コレステロールエステル転送蛋白遺伝子多型と
日本人2型糖尿病患者における大血管合併症有病率との関連

慶應義塾大学医学部内科学教室

(指導: 猿田享男教授)

目 黒 周

(平成15年1月22日受付)

Key Word: diabetes mellitus, arteriosclerosis, cholesterol esters, polymorphism (genetics)

2型糖尿病は冠動脈疾患、脳梗塞、閉塞性動脈硬化症といった動脈硬化性疾患の重要な危険因子であり¹⁻⁴⁾、また、動脈硬化性疾患は2型糖尿病の予後を規定する重要な因子でもある。現在日本では生活習慣の変化により2型糖尿病が激増しており、動脈硬化性疾患の予防、治療は公衆衛生上ますます重要になると思われる。動脈硬化性疾患のハイリスク集団である糖尿病患者において、更にハイリスクなサブグループを特定し、早期に重点的な予防を行うことは治療の有効性を高める意味でも意義があると思われる。糖尿病患者における動脈硬化性疾患の発症には糖尿病の罹病期間や血糖コントロール状態だけでなく、高中性脂肪・低HDLコレステロールといった脂質異常⁵⁾、インスリン抵抗性⁶⁾、糖化蛋白⁷⁾などや、さらにそれらに関連した様々な遺伝因子などが関与していると考えられている。現在までに多くの候補遺伝子が糖尿病と大血管合併症の関連で研究され、より効果的な治療が模索されている。

糖尿病と大血管合併症との関連で研究されている候補遺伝子のひとつにコレステロールエステル転送蛋白(cholesteryl ester transfer protein; 以下 CETP と略す)が挙げられる。CETP は476個のアミノ酸からなる親水性の糖タンパクであり、動脈硬化性疾患発症に関連していると考えられている^{8,9)}。CETP は中性脂肪と交換に HDL コレステロールから VLDL や LDL へコレステロールエステルを転送し、コレステロール逆転送系で重要な役割を果たしている^{10,11)}。血清 CETP の高値は

HDL コレステロールの減少¹²⁻¹⁵⁾、あるいは LDL コレステロールの増加と関連している¹⁶⁾。いくつかの研究は血清 CETP の高値が動脈硬化促進と関連していると報告しているが^{8,9)}、逆に CETP が抗動脈硬化作用を示すという報告もある¹²⁾。このように CETP に動脈硬化促進作用があるか否かまだ結論が出ていないが、コレステロールエステルを「抗動脈硬化的」な HDL コレステロールから「動脈硬化促進的」なアポ B 含有リポ蛋白である LDL や VLDL コレステロールに転送する事が何らかの役割を果たしていると思われる。

この CETP をコードする遺伝子の多型が現在までにいくつか報告されており、その多くは血清 HDL コレステロール濃度に影響し^{14,15,17-19)}、その結果動脈硬化のリスクと関連する²⁰⁾と報告されている。これらの変異のひとつであるイントロン1の TaqIB 遺伝子多型は脂質転送活性^{14,15,17)}や血清 HDL コレステロール濃度²¹⁾と関連すると報告されている。Ukkola らはこの遺伝子多型の B1/B1 遺伝子型がフィンランド人2型糖尿病患者の脳梗塞発症リスクと関連していると報告している²²⁾。彼らはまた B2/B2 遺伝子型のもものは大血管障害の有病率が低いことを示した。Kuivenhoven らは CETPTaqIB 遺伝子型と冠動脈硬化の進行に有意な関連があることを示し、B1 遺伝子型が動脈硬化の危険因子である可能性を示唆している²³⁾。最近 Durlach らはフランス人2型糖尿病患者の B2/B2 遺伝子型のもものは冠動脈疾患の有病率が低い、この遺伝子の影響は男性でのみ認められた

本論文は Meguro S, Takei I, Murata M, Hirose H, Takei N, Mitsuyoshi Y, Ishii K, Oguchi S, Shinohara J, Takeshita E, Watanabe K, Saruta T: Cholesteryl ester transfer protein polymorphism associated with macroangiopathy in Japanese patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 156: 151-156, 2001 の一部を含む

と報告している²⁴⁾。

日本人では動脈硬化性疾患の有病率が低く、個々の動脈硬化性疾患と CETP 遺伝子多型との関連を明らかにするのは容易ではない。しかし、CETPTaqIB 遺伝子多型により生じる代謝異常は恐らく個人の全身の動脈硬化症の進展に影響を及ぼしていると考えるのが自然であろう。そこで我々は日本人の中でも動脈硬化性疾患のリスクが高い2型糖尿病患者においてこの遺伝子多型が血清 CETP、血清リポ蛋白濃度、また、動脈硬化性疾患全体に及ぼす影響を検討するため本研究を行った。

方法と対象

1. 対象

対象は慶應義塾大学病院に通院する2型糖尿病患者182名である(平均年齢 59.6 ± 8.6 歳)。糖尿病の診断は1985年のWHOの診断基準に従った²⁵⁾。すなわち空腹時血糖 140 mg/dL 以上、随時血糖 200 mg/dL 以上あるいは経口 75 g ブドウ糖負荷試験にて2時間後血糖 200 mg/dL 以上を以前に満たしている者を糖尿病と診断した。血清クレアチニン値が 1.5 mg/dL 以上の進行した腎障害のある患者は、腎障害による動脈硬化への影響を考慮し、本研究の対象には含めなかった。対象の構成は男性104名、女性78名であった。大血管障害の有無の判定は心筋梗塞の既往、冠動脈造影で75%以上の有意狭窄が認められているもの、MRIにて脳梗塞が確認されたもの、下肢切断の既往のあるものを大血管障害ありとした。無自覚性心筋虚血を見逃さないため禁忌のない限り負荷心電図を行い、異常が認められたものは負荷心筋シンチ、更に必要なものには冠動脈造影を行った。大血管障害を有する者のうち、虚血性心疾患を有する者が12名、脳梗塞の既往のある者が12名、閉塞性動脈硬化症による下肢切断の既往のある者が2名であった。このうち、2名が虚血性心疾患と脳梗塞を合併しており、この結果最終的に24名が大血管障害を有すると診断された。残りの158名は大血管障害の徴候は認められなかった。尚、それぞれの患者から文書にてinformed consentを得た。

また、健常人との遺伝子型頻度を比較するため、年齢をマッチさせた333名の健常人男性の遺伝子解析も行った。

2. 臨床所見

糖尿病の罹病期間は患者からの病歴聴取か、可能であればカルテ上の血糖値の記録から前述の糖尿病診断基準により決定した。高血圧は収縮期血圧 140 mmHg 以上

あるいは拡張期血圧 90 mmHg 以上、または降圧薬を内服しているものとした。高脂血症は空腹時総コレステロール濃度 220 mg/dL 以上、あるいは中性脂肪 150 mg/dL 以上、または抗高脂血症薬を内服しているものとした。また、対象には喫煙歴を聴取し、現在の状態により喫煙と非喫煙の2群に分けた。

3. 遺伝子解析

CETP 遺伝子のイントロン1の遺伝子型はdirect polymerase chain reaction (以下PCRと略す) amplification 法にてdirect amplification buffer キット(シマズ)を用いて行った。0.5 $\mu\text{mol/L}$ のプライマー(5' CAC TAG CCC AGA GAG AGG AGT GCC 3' と 5' CTG AGC CCA GCC GCA CAC ACT AAC 3')、200 $\mu\text{mol/L}$ のdNTP、0.5 μL の全血、0.5 Uのthermostable DNA polymerase、バッファーを総量50 μL になるように混和した。最初のdenaturation (80°C 15分、その後94°C 5分)の後94°C (5分)、60°C (1分)、72°C (1分)を40サイクル行い、最後に伸長反応(72°C、10分)を行った。このPCR産物の8 μL と9Uの制限酵素TaqIを用い、総量10 μL とし、65°C3時間でdigestionを行った。Ethidium bromideを含む2%アガロースゲルでPCR産物の電気泳動を行い、transilluminatorにて分析した。TaqI制限酵素部位のあるアリルをB1、TaqI制限酵素部位のないアリルをB2とした。

4. 生化学分析

一般的な臨床化学検査は自動分析機にて行った。血清LDLコレステロール値はhomogeneous assayにて測定した。血清CETP濃度はモノクローナル抗体を用いたELISA法にて測定した。尿中アルブミン排泄率(以下UAEと略す)は早朝第一尿でnephelometry法にて測定した。血清advanced glycation end-product (以下AGEと略す)値はcarboxymethyl lysineに対するモノクローナル抗体を用いたELISA法にて測定した²⁶⁾。血清ホモシステイン値はHPLC法にて、赤血球アルドース還元酵素値はモノクローナル抗体を用いたELISA法にて測定した。

5. 統計解析

全てのデータは統計解析ソフトStatView 5.0 (SAS)にて解析した。TaqIB 遺伝子多型間の連続変数の差は一元配置分散分析法にて解析した。中性脂肪、尿中アルブミン排泄率は偏った分布を呈するため自然対数変換を

行った後に解析した。PLSD Fisher テストにて posthoc 分析を行った。血清 CETP と血清リポ蛋白の相関は simple linear regression 分析にて行った。ハーディ・ワインバーグ平衡や大血管障害の CETP 遺伝子型でのオッズ比、95%信頼区間の計算は χ^2 検定を行った。ロジスティック回帰分析は動脈硬化危険因子の寄与を調整するために行った。尚、本文中、図表中の数値は特に記載のある場合を除いて平均値±標準偏差で表した。

結 果

1. CETPTaqIB 遺伝子型の頻度

対象とした 2 型糖尿病患者 182 名（男性 104 名、女性 78 名、年齢 59.6 ± 8.6 歳）において遺伝子型頻度は B1/B1 39.6%、B1/B2 44.5%、B2/B2 15.3%であった。この頻度は年齢をマッチさせた健常日本人男性 333 名と有意差はなかった（B1/B1 31.2%、B1/B2 54.1%、B2/B2 14.7%）。B1 アリル頻度は 0.62、B2 アリル頻度は 0.38 でありハーディ・ワインバーグの法則に合致した ($p < 0.05$)。

2. 臨床指標と CETP 遺伝子型

対象とした 2 型糖尿病患者 182 名を CETPTaqIB 遺伝子型により群分けし、臨床的指標や代謝指標との関連を検討したが群間で統計学的有意差が認められる指標はなかった（第 1 表）²⁷⁾。HMG-CoA 還元酵素阻害薬を服用している患者の割合は B1/B1 7 名（9.7%）、B1/B2 6 名（7.4%）、B2/B2 2 名（6.9%）であり、各群間で有意差はなかった。2 名がフィブラート系薬剤を服用し、その他の抗高脂血症薬を服用しているものはいなかった。これまでに知られている動脈硬化危険因子である高血圧、高脂血症、喫煙の有無、血清ホモシステイン濃度も各群間で有意差は認められなかった。糖尿病性網膜症の有病率や尿中アルブミン排泄率、蛋白尿の頻度なども各群間で差は認めなかった。

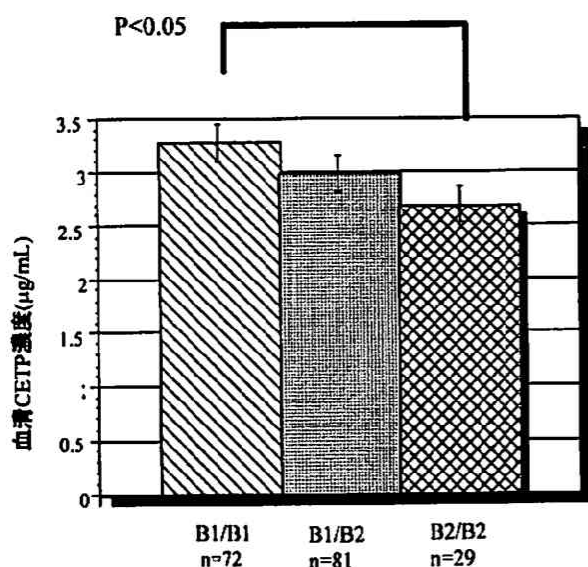
3. CETP 遺伝子型と血清 CETP 濃度の関連

B1 アリルを有するものでは B1 アリルを有しない者に比し有意に血清 CETP 濃度が高値であった (3.1 ± 0.9 $\mu\text{g/mL}$ v.s. 2.7 ± 0.7 $\mu\text{g/mL}$, $p < 0.05$)。遺伝子型各群間の比較では B1/B1 群で B2/B2 群に比し有意に血清

第 1 表 コレステロールエステル転送蛋白 (CETP) 遺伝子型別の対象の背景

	B1/B1 (n=72)	B1/B2 (n=81)	B2/B2 (n=29)
年齢 (歳)	61.1±7.7	58.7±8.1	58.4±1.4
性別 (女/男)	33/39	38/43	7/22
BMI (kg/m ²)	21.8±4.7	23.1±4.9	22.7±2.5
糖尿病罹病期間 (年)	10.6±7.8	9.3±7.2	12.2±8.7
現喫煙 (%)	22	27	17
高脂血症 (%)	29	33	21
高血圧 (%)	39	41	45
冠動脈疾患の家族歴 (%)	18	27	40
スタチンの服用者数	7	6	2
空腹時血糖 (mmol/L)	8.2±1.9	8.9±2.4	9.0±2.5
HbA1c (%)	7.1±1.2	7.4±1.3	7.6±1.6
血清クレアチニン ($\mu\text{mol/L}$)	66±19	63±14	67±14
総コレステロール (mmol/L)	5.28±0.93	5.45±0.91	5.34±0.88
HDL コレステロール I (mmol/L)	1.46±0.51	1.40±0.31	1.44±0.33
LDL コレステロール (mmol/L)	3.13±0.91	3.41±0.88	3.20±0.75
中性脂肪 (mmol/L)	1.43±0.97	1.50±0.95	1.55±1.05
蛋白尿陽性率 (%)	18	18	18
Urinary Albumin Excretion (mg/g creatinin)	34.1±66.7	60.3±161	41.4±74.7
Advanced Glycation End-product (mU/mL)	3.5±1.9	3.6±2.3	3.4±1.2
グリコアルブミン (%)	22.6±5.1	22.4±5.1	23.8±6.0
ホモシステイン (nmol/mL)	9.5±2.8	10.1±4.2	10.2±2.9
アルドースレダクターゼ (ng/mg Hb)	11.5±3.3	10.9±2.2	12.5±2.5

数値は平均値±標準偏差で表示した。各群間で有意差を認めなかった。(Meguro S, et al : Atherosclerosis 156 : 151-6, 2001 の Table 1 を許可を得て転載)



第1図 コレステロールエステル転送蛋白 (CETP) TaqIB 遺伝子型と血清 CETP 濃度. B1/B1 群と B2/B2 群を比較し B1/B1 群で有意に血清 CETP 濃度は高値を示した. (Meguro S, et al : Atherosclerosis 156 : 151-6, 2001 の Fig 1 を許可を得て転載)

第2表 コレステロールエステル転送蛋白 (CETP) 遺伝子多型と大血管障害の有病率

遺伝子型	B1/B1	B1/B2	B2/B2	計
大血管障害	(%)	(%)	(%)	
あり	15 (20.8)	7 (8.6)	2 (6.9)	24
なし	57 (79.2)	74 (91.4)	27 (93.1)	158
計	72	81	29	182

(Meguro S et al : Atherosclerosis 156 : 151-6, 2001 の Table 2 を許可を得て転載)

CETP 濃度が高値であり、遺伝子型により段階的な上昇傾向が認められた ($p<0.05$, 第1図)²⁷⁾.

4. 血清リポ蛋白と血清 CETP 濃度の関連

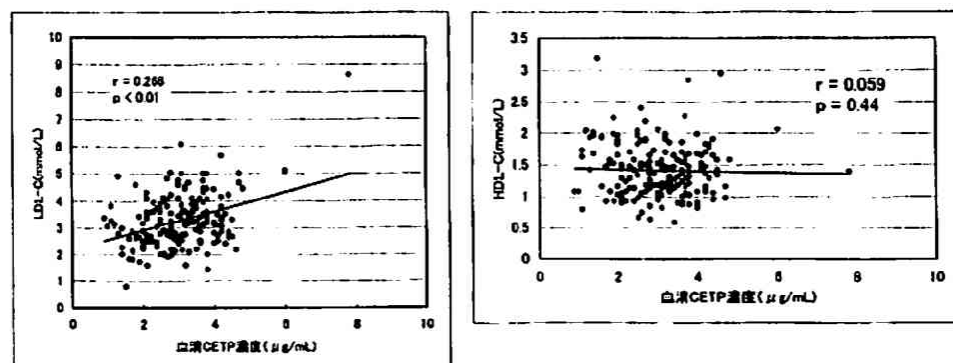
対象とした2型糖尿病患者182名全てにおいて、血清リポ蛋白と血清 CETP 濃度との関連を検討した。その結果血清 LDL コレステロール濃度は血清 CETP 濃度と有意な正相関を認めた (第2図)²⁷⁾。血清 CETP 濃度と血清 HDL コレステロール濃度との間には有意な相関は認めなかった。

5. 大血管障害有病率と CETP 遺伝子型

大血管障害の有病率は B1/B1 20.8%, B1/B2 8.6%, B2/B2 6.9%であった (第2表)²⁷⁾。B2/B2 遺伝子型での大血管障害を有する対象が少なく3群間での統計解析が不可能であったため、B1/B2 群と B2/B2 群のデータをプールし、B1/B1 群と比較したところ B1/B1 群は B1/B2+B2/B2 群に比べ有意に大血管障害の有病率が高かった (オッズ比 2.953, 95%信頼区間 1.250-6.977, $p=0.0136$)。

6. ロジスティック回帰分析

B1/B1 遺伝子型と大血管障害の有病率との間には有意な関連がみられた (オッズ比 5.38, $p=0.009$)。また、糖尿病の罹病期間と大血管障害の有病率の間にも有意な関連を示した (オッズ比 1.109, $p=0.005$) (第3表)²⁷⁾。血清 HDL コレステロール濃度を独立変数に採用した場合も B1/B1 遺伝子型は大血管障害の有病率と有意な関連を示した (オッズ比 5.38, $p=0.01$)。また、



第2図 血清コレステロールエステル転送蛋白 (CETP) 濃度とリポ蛋白濃度の相関. 血清 CETP 濃度は血清 LDL コレステロール濃度と有意な相関を示した。血清 CETP 濃度は血清 HDL コレステロール濃度と有意な相関を示さなかった. (Meguro S, et al : Atherosclerosis 156 : 151-6, 2001 の Fig 2 を許可を得て転載)

第3表 大血管障害に対する危険因子によるロジスティック回帰分析

	オッズ比	p 値
年齢	1.07	0.131
男性	0.67	0.552
BMI	1.00	0.993
高血圧	1.73	0.388
高脂血症	1.22	0.751
喫煙	2.69	0.201
糖尿病罹病期間	1.1	0.005
HbA1c	1.12	0.609
CETP TaqI B1/B1 遺伝子型	5.38	0.009

B1/B1 遺伝子型、糖尿病の罹病期間と大血管障害の有病率との間に有意な関連がみられた。(Meguro S, et al: Atherosclerosis 156: 151-6, 2001 の Table 3 を許可を得て転載)

HMG-CoA 還元酵素阻害薬の内服を独立変数に採用した場合も B1/B1 遺伝子型と大血管障害の有病率との関連は依然有意であった(オッズ比 3.65, $p=0.01$).

考 察

本研究の結果は CETP 遺伝子の TaqIB 遺伝子多型が日本人 2 型糖尿病患者の大血管障害に関連していることを示唆した。

我々の結果はこれまでの諸家の報告に比し遺伝子型の頻度が異なった²²⁻²⁴⁾。すなわち欧米白人での報告との比較では同様のアリル頻度の報告が 1 報、我々の対象と比べ B1 アリル頻度が低い報告が 2 報あった。これらの報告は対象の男女構成が異なったり、糖尿病患者を対象としたもの、冠動脈疾患の患者を対象としたものなど様々であり、アリル頻度の違いが何によるものか特定するのは困難である。対象の年齢はどの報告でも 55 歳から 60 歳に分布しており、大きな差はみられないため、対象の年齢の違いが遺伝子頻度に影響した可能性は低い。Ukkola らのフィンランド人の報告では糖尿病患者と一般集団でアリル頻度に差を認めておらず²²⁾、我々の検討と同様の結果であった。このことから、TaqIB 遺伝子多型のアリル頻度は少なくとも糖尿病の有無により影響を受けず、むしろ人種差に影響を受ける可能性が高いと考えられた。一方、我々の日本人での検討に比し、動脈硬化性疾患の有病率が高いフィンランド人で動脈硬化性疾患のリスクの高い B1/B1 遺伝子型の頻度が日本人よりも低く報告されていることは²²⁾、この遺伝子型の頻度の差が人種間の動脈硬化性疾患の頻度差を説明し得るも

のではないことを示唆する。しかし、異なる集団でこの遺伝子多型が動脈硬化性疾患に関わっていることが示されたことは、この遺伝子多型が動脈硬化性疾患の本質的な病因に関与している可能性を示唆している。

本研究では血清 CETP 濃度と LDL コレステロール濃度に有意な相関を認めたが、CETP と HDL コレステロールの有意な逆相関は認めなかった。これまでの多くの研究は、血清 CETP 濃度が HDL コレステロール濃度と逆相関していると報告している^{14,15)}。一方、日本の健常人で血清 CETP と LDL コレステロールの正相関を報告している研究もある¹⁶⁾。どのような要因によってこのような違いが生じるのかは依然不明である。これまでの報告は、健常人、糖尿病患者、高脂血症患者を対象としたものなど雑多であるが、その血清リポ蛋白濃度と血清 CETP との相関には一定の傾向はみられていない。ハワイ在住日系アメリカ人の CETP 欠損症を対象とした研究では、血清 CETP 濃度と血清 HDL コレステロール濃度の逆相関が示されており、人種的因子よりも環境因子が CETP とリポ蛋白濃度の関係に影響を与えているものと思われる²⁸⁾。喫煙や肥満により TaqIB 遺伝子多型の血清リポ蛋白に与える影響は変化すると健常人での報告があり¹⁷⁾、これも環境因子の重要性を示唆する結果である。一方、糖尿病では LDL コレステロールの変性を生じやすいことが知られているが、LDL コレステロールが変性し、肝臓の受容体への結合能低下により LDL コレステロールのクリアランスが低下すれば、血中リポ蛋白組成が変化することも考えられ、酸化あるいは糖化 LDL の生成とそのクリアランスの低下が血清 CETP 濃度と血清リポ蛋白濃度の相関に影響を与えている可能性が考慮される。先述の肥満や喫煙といった因子もこういったリポ蛋白の質に影響を与える因子である。最近 Talmud らは、CETP 遺伝子 TaqIB 多型と強いアリルの相関を持つ CETP promoter 領域の tetranucleotide repeat が LDL 粒子サイズと関連していると報告した²⁹⁾。小粒状高密度 LDL コレステロールは動脈硬化惹起作用が強く、酸化変性を受けやすいことが報告されており、変性コレステロールやコレステロールの粒子サイズといったものが CETP と血清リポ蛋白濃度、更には動脈硬化性疾患との関連を有する可能性を示した。

本研究では LDL コレステロールも HDL コレステロールも各遺伝子型間で有意差を認めなかった。これは B1/B1 遺伝子型で大血管障害の有病率が高かった事が CETP のリポ蛋白濃度に与える影響だけでは説明がつかないことを意味している。CETP 遺伝子多型間の血

清 CETP 濃度差は、大血管合併症への遺伝子による影響を血清 CETP 濃度の違いが説明する可能性を示唆する。しかし、その具体的なメカニズムは不明である。最近では動脈硬化の発症・進展は酸化リポ蛋白の血管内皮下への蓄積^{30,31)}やそれらに対する炎症様反応^{32,33)}により生じると考えられている。CETP は HDL コレステロールの減少により血管内皮下からのコレステロールエステルの逆転送を減少させたり、VLDL や LDL コレステロールといった atherogenic なリポ蛋白を増加させ、血管内皮下へのコレステロールエステルの蓄積を促進しているのかもしれない。また、リポ蛋白濃度ではなくサイズに影響を与えている可能性も否定できない。しかし、この遺伝子多型は機能の変化を伴うものではなく、CETP 遺伝子の他の多型や、lecithin cholesterol acyltransferase など近接する遺伝子と linkage disequilibrium にあるだけであるという可能性も否定はできない。

最近 Durlach らは、CETP 遺伝子多型の冠動脈疾患に対する影響は性により異なることを報告した。日本人では動脈硬化性疾患が少ないこともあり、我々の研究では大血管障害を有する対象が少なく、残念ながら男女に分けた解析は行えず、この問題を確認することはできなかった。

総 括

コレステロールエステル転送蛋白 (CETP) 遺伝子の TaqIB 遺伝子多型が日本人 2 型糖尿病患者の血清 CETP、リポ蛋白濃度、動脈硬化性疾患に及ぼす影響を 182 名の 2 型糖尿病患者 (男性 104 名、女性 78 名、年齢 59.6 ± 8.6 歳 (平均 $\pm$ 標準偏差)) を対象に検討し、以下の結論を得た。

1. 日本人 2 型糖尿病患者の CETP 遺伝子 TaqIB 遺伝子多型の遺伝子型の分布は、年齢をマッチさせた健常日本人男性と有意差はなかった。これまでの欧米白人の報告と比較すると、B1 アリルの頻度が日本人で高い可能性が示唆された。

2. CETPTaqIB 遺伝子多型の B1 アリルを有するものは B1 アリルを有しない者に比し血清 CETP 濃度が高値であった。その傾向は B1 ホモ遺伝子型の者でさらに顕著であった。

3. B1/B1 遺伝子型の者は他の遺伝子型に比して動脈硬化疾患の有病率が有意に高値であった。

4. 血清 CETP 濃度は血清 LDL コレステロール値と有意な正の相関を示したが、遺伝子型による動脈硬化性疾患の有病率の違いは血清リポ蛋白濃度のみでは説明で

きなかった。

以上の結果から CETPTaqIB 遺伝子多型 B1/B1 遺伝子型は 2 型糖尿病患者の動脈硬化における遺伝的危険因子であることが示唆された。この遺伝子多型が動脈硬化と関連する機序として、血清リポ蛋白濃度の変化のみではない別の要因が関与している可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました慶應義塾大学医学部内科学教室、猿田享男教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究に際し直接御指導いただきました慶應義塾大学病院中央検査部、武井泉講師、村田満講師に深く感謝致します。さらに御協力、御助言を頂きました慶應義塾大学医学部内科腎内内分泌代謝研究室、慶應義塾大学病院中央検査部の諸先生方に感謝致します。

本論文の内容の一部は第 42 回日本糖尿病学会 (1999 年横浜)、第 59 回アメリカ糖尿病学会 (1999 年サンディエゴ) にて発表した。

文 献

- 1) Pyorala K, Laakso M, Uusitupa M : Diabetes and atherosclerosis : an epidemiologic view. *Diabetes Metab Rev* 3 : 463-524, 1987
- 2) Laakso M, Lehto S : Epidemiology of macrovascular disease in diabetes. *Diabetes Reviews* 5 : 294-315, 1997
- 3) Haffner SM, Lehto S, Ronnemaa T, Pyorala K, Laakso M : Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction [see comments]. *N Engl J Med* 339 : 229-234, 1998
- 4) Laakso M : Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetes* 48 : 937-942, 1999
- 5) Lehto S, Ronnemaa T, Haffner SM, Pyorala K, Kallio V, Laakso M : Dyslipidemia and hyperglycemia predict coronary heart disease events in middle-aged patients with NIDDM. *Diabetes* 46 : 1354-1359, 1997
- 6) Reaven GM : Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev* 75 : 473-486, 1995
- 7) Vlassara H : Recent progress in advanced glycation end products and diabetic complications. *Diabetes* 46 Suppl 2 : S19-S25, 1997
- 8) Bhatnagar D, Durrington PN, Channon KM, Prais H : Mackness MI. Increased transfer of cholesteryl esters from high density lipoproteins to low density and very low density lipoproteins in patients with angiographic evidence of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 98 : 25-32, 1993
- 9) Fogar B, Luef G, Ritsch A, Schmidauer C, Doblinger A, Lechleitner M, Aichner F, Patsch JR : Relationship of high-density lipoprotein subfractions and cholesteryl ester transfer protein in plasma to carotid

- artery wall thickness. *J Mol Med* 73 : 369-372, 1995
- 10) Hesler CB, Tall AR, Swenson TL, Weech PK, Marcel YL, Milne RW : Monoclonal antibodies to the Mr 74,000 cholesteryl ester transfer protein neutralize all of the cholesteryl ester and triglyceride transfer activities in human plasma. *J Biol Chem* 263 : 5020-5023, 1988
- 11) Yen FT, Deckelbaum RJ, Mann CJ, Marcel YL, Milne RW, Tall AR : Inhibition of cholesteryl ester transfer protein activity by monoclonal antibody. Effects on cholesteryl ester formation and neutral lipid mass transfer in human plasma. *J Clin Invest* 83 : 2018-2024, 1989
- 12) Tall AR : Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Lipid Res* 34 : 1255-1274, 1993
- 13) Tall AR : Plasma high density lipoproteins. Metabolism and relationship to atherogenesis. *J Clin Invest* 86 : 379-384, 1990
- 14) Hannuksela ML, Liinamaa MJ, Kesaniemi YA, Savolainen MJ : Relation of polymorphisms in the cholesteryl ester transfer protein gene to transfer protein activity and plasma lipoprotein levels in alcohol drinkers. *Atherosclerosis* 110 : 35-44, 1994
- 15) Kuivenhoven JA, de KP, Boer JM, Smalheer HA, Botma GJ, Seidell JC, Kastelein JJ, Pritchard PH : Heterogeneity at the CETP gene locus. Influence on plasma CETP concentrations and HDL cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17 : 560-568, 1997
- 16) Kinoshita M, Teramoto T, Shimazu N, Kaneko K, Ohta M, Koike T, Hosogaya S, Ozaki Y, Kume S, Yamanaka M : CETP is a determinant of serum LDL-cholesterol but not HDL-cholesterol in healthy Japanese. *Atherosclerosis* 120 : 75-82, 1996
- 17) Freeman DJ, Griffin BA, Holmes AP, Lindsay GM, Gaffney D, Packard CJ, Shepherd J : Regulation of plasma HDL cholesterol and subfraction distribution by genetic and environmental factors. Associations between the TaqI B RFLP in the CETP gene and smoking and obesity. *Arterioscler Thromb* 14 : 336-344, 1994
- 18) Tamminen M, Kakko S, Kesaniemi YA, Savolainen MJ : A polymorphic site in the 3' untranslated region of the cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene is associated with low CETP activity. *Atherosclerosis* 124 : 237-247, 1996
- 19) Bu X, Warden CH, Xia YR, De MC, Puppione DL, Teruya S, Lokensgard B, Daneshmand S, Brown J, Gray RJ, Rotter JJ, Lusis AJ : Linkage analysis of the genetic determinants of high density lipoprotein concentrations and composition : evidence for involvement of the apolipoprotein A-II and cholesteryl ester transfer protein loci. *Hum Genet* 93 : 639-648, 1994
- 20) Hill SA, McQueen MJ : Reverse cholesterol transport-a review of the process and its clinical implications. *Clin Biochem* 30 : 517-525, 1997
- 21) Bernard S, Moulin P, Lagrost L, Picard S, Elchebly M, Ponsin G, Chapuis F, Berthezene F : Association between plasma HDL-cholesterol concentration and TaqIB CETP gene polymorphism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Lipid Res* 39 : 59-65, 1998
- 22) Ukkola O, Savolainen MJ, Salmela PI, von DK, Kesaniemi YA : DNA polymorphisms at the locus for human cholesteryl ester transfer protein (CETP) are associated with macro- and microangiopathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Genet* 46 : 217-227, 1994.
- 23) Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH, de KP, McPherson R, Bruschke AV, Lie KI, Kastelein JJ : The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. The Regression Growth Evaluation Statin Study Group [see comments]. *N Engl J Med* 338 : 86-93, 1998
- 24) Durlach A, Clavel C, Girard-Globa A, Durlach V : Sex-dependent association of a genetic polymorphism of cholesteryl ester transfer protein with high-density lipoprotein cholesterol and macrovascular pathology in type II diabetic patients. *J. Endocrinol. Metab.* 84 : 3656-3659, 1999
- 25) World Health Organization : Diabetes Mellitus : Report of a WHO Study Group. Geneva, World Health Org, 1985 (Tech. Rep. Ser, no 727)
- 26) Ono Y, Aoki S, Ohnishi K, Yasuda T, Kawano K, Tsukada Y : Increased serum levels of advanced glycation end-products and diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract* 41 : 131-137, 1998
- 27) Meguro S, Takei I, Murata M, Hirose H, Takei N, Mitsuyoshi Y, Ishii K, Oguchi S, Shinohara J, Takeshita E, Watanabe K, Saruta T : Cholesteryl ester transfer protein polymorphism associated with macroangiopathy in Japanese patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis* 156 : 151-156, 2001
- 28) Zhong S, Sharp DS, Grove JS, Bruce C, Yano K, Curb JD, Tall AR : Increased coronary heart disease in Japanese-American men with mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene despite increased HDL levels [see comments]. *J Clin Invest* 97 : 2917-2923, 1996
- 29) Talmud PJ, Edwards KL, Turner CM, Newman B, Palmen JM, Humphries SE, Austin MA : Linkage of the cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene to LDL particle size : use of a novel tetranucleotide repeat within the CETP promoter [In Process Citation]. *Circulation* 101 : 2461-2466, 2000
- 30) Burchfiel CM, Curb JD, Rodriguez BL, Yano K, Hwang LJ, Fong KO, Marcus EB : Incidence and predictors of diabetes in Japanese-American men. The Honolulu Heart Program. *Ann Epidemiol* 5 : 33-43, 1995
- 31) Davies MJ : Stability and instability : two faces of

- coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture 1995. *Circulation* 94 : 2013-2020, 1996
- 32) Falk E, Shah PK, Fuster V : Coronary plaque disruption. *Circulation* 92 : 657-671, 1995.
- 33) Watanabe T, Haraoka S, Shimokama T : Inflammatory and immunological nature of atherosclerosis. *Int J Cardiol* 54 Suppl : S51-60, 1996
-