

日本財団補助金による

1997年度日中医学協力事業助成報告書

-在留中国人研究者研究助成-

平成10年 3月 31日

財団法人 日中医学協会  
理事長 中島章 殿

I. 研究者氏名 王 璞  
研究機関 東海大学医学部内科 研究指導者 半田俊之介 職名 教授  
所在地 〒259-1100 伊勢原市望星台 電話 0463-93-1124 内線 2200

研究テーマ 循環器内科学とくに心臓核医学の臨床応用

II. 過去の研究歴  
心電図の巨大陰性T波の臨床的意義について核医学的手法を用いた解析を続けた。

III. 過去の研究実績  
日本内科学会講演会(第92回)1995.4, 心臓核医学研究会(第9回)1996.7などで報告した。

IV. 本年度の研究業績

(1) 学会、研究会等における口頭発表(学会名・内容)

日中核医学会(第2回)1997年5月(上海) 1. 心尖部肥大型心筋症に下がる心電図陰性T波の秩序, 2. 肥大型心筋症に下がる心筋の局所肥大と交感神経の活性分布-TL201/Thallium I123 MIBG心筋SPECTによる検討。

(2) 学会誌等に発表した論文 無・(有) (雑誌名・論文名)

核医学: 心尖部肥大型心筋症における心電図陰性T波の秩序-TL201/Thallium I123 MIBG心筋SPECTによる検討 33(9):999-1004, 1996.9

内科: 器血管心臓病の現状 79(1):64-68, 1997.1

Curr Topics in Cardiology: 器血管心臓病の現状の管理(II) 17:10-23, 1997.8

V. 今後の研究計画及び希望

上海に帰国 病態動態と臨床研究を継続する。

日本財団補助金による

1997年度日中医学協力事業助成報告書

- 在留中国人研究者研究助成 -

1998年2月27日

財団法人 日中医学協会

理事長 中島章殿

I. 研究者氏名 梁一強

研究機関 帝京大学 内科 研究指導者 寺本民生 職名 教授

所在地 〒173-8605 板橋区加賀 2-11-1 電話 03-3964-1211 内線 1969

II. 過去の研究歴

1993年7月～1998年現在 帝京大学内科で「動脈硬化」について研究

III. 過去の研究実績

Clinica Chimica Acta. 247:159-166, 1996

Characterization of low-density-lipoprotein in apolipoprotein E deficiency in a patient without coronary atherosclerosis.

IV. 本年度の研究業績

(1) 学会、研究会等における口頭発表 (学会名・内容)

DDW-Japan 1997 脂質肝疾患における肝MTP活性の意義 ポスター (4/8)

第29回 日本動脈硬化学会総会 肝臓におけるMTP活性の調整因子 (6/8)

XI<sup>th</sup> International symposium on Atherosclerosis PARIS

Regulatory factor of MTP activity in liver (10/6)

(2) 学会誌等に発表した論文 無・(有) (雑誌名・論文名)

J. B. Vol. 123 No.1

Defect in an intrahepatic degradation of apolipoprotein B in humans  
— an animal model of hypobetalipoproteinemia —

V. 今後の研究計画及び希望

今後とも動脈硬化疾患メカニズムについて研究のつもりであり、  
特に血管平滑筋細胞の増殖に関する因子を重点を絞って研究したいと  
考えている。

## 研究報告

### 脂肪肝の発症とMTPの役割

帝京大学内科 梁一強

スunksはトガリネズミ科に属し、体重は約70gの小動物で、24時間の絶食により容易に脂肪肝が誘発され、再摂食により速やかに脂肪肝が改善することがわかった。この脂肪肝発症メカニズムを検討していく過程で報告してきたことをまとめると1) 血清脂質は極めて低く、血清アポ蛋白Bがほとんど検出されない。2) 絶食により遊離脂肪酸は有意に上昇した。3) 肝臓におけるコレステロールのエステル化酵素であるACATは著明な低活性を示した。

一般的に脂肪肝の原因として、1) 肝臓におけるトリグリセリド (TG) の合成過剰、2) 肝臓からのTG分泌の低下が考えられるが、スunksにおける脂肪肝について以上の結果を考慮すると肝臓からのTG分泌低下すなわち超低比重リポ蛋白 (VLDL) の形成不全により肝臓からTGを放出できないことが主な原因と考えられる。肝臓で合成されたアポ蛋白BはVLDLの形成に利用されないと一部が細胞内異化を受けていることが報告されている。従って、アポ蛋白Bの細胞内異化が亢進していると血清アポ蛋白Bは低くなり、脂肪肝が発症することが予測される。この点について検討したところスunksにおいてアポ蛋白Bの細胞内異化は亢進していないことが確認された。一方、VLDLの分泌にコレステロールエステル (CE) の合成が関与していることも報告されており、スunksでもACAT活性が低いいためCEの合成が低く、VLDLの分泌が低下している可能性も考えられる。また、VLDLの形成にはMicrosomal triglyceride transfer protein(MTP)が重要な役割を演じていることも報告されている。

そこで、本研究ではスunksを飢餓状態にした際発症する脂肪肝のメカニズムを解明するため、VLDLの統合にキー蛋白と考えられるMTP活性、そしてACAT活性との関連について検討した。

【方法】 雄性スunksと雄性Wistar系ラットを用いて、対照群、絶食群、再摂食群の3群について検討した。従来の方法で肝臓並びに小腸粘膜よりMicrosome分画を分離し、MTP活性はWetterauらの方法にてliposome間の<sup>14</sup>C-TGと<sup>3</sup>H-PCの転送率から計算した。また、肝細胞実験では体重160~180gの雄性Wistar系ラットから肝細胞を分離し、3日間培養した後、実験に供した。HMG-CoA還元酵素阻害薬 (CS514) は1ng/ml、10ng/mlの濃度で添加して1時間培養し、MTP活性に及ぼす影響について検討した。また、CEの合成阻害薬としてACAT阻害薬58-035 (Sandoz) を0.5μg/ml、5μg/mlの濃度で添加して20時間培養した。また、細胞内CEを増加させる目的でLDLの添加効果も検討した。ヒトLDLは50μg/ml、100μg/mlの濃度で添加して14時間培養した。

【結果】 図1に示したようにラットでは添加microsome蛋白を25、50、75μgとするとMTP活性は直線的に上昇したが、スunksでは75μgまでは転送活性が観察できず、MTP活性が極めて低い可能性が考えられた。そこで、図2に示したようにスunksで

microsome蛋白を200 $\mu$ gまで増やして測定したところ初めて直線的な増加を示した。その活性はmicrosome蛋白あたりで計算すると、ラットの約30%と計算された。unksでは24時間の絶食で脂肪肝が起こることから次に、絶食のMTP活性に及ぼす影響についてラットと比較して観察した。図3に示すようにラットでは対照、絶食、再摂食の3群間でMTP活性の変動が認められなかった。一方、unksでは、絶食による影響は認められなかったが再摂食によりMTPの活性が有意に上昇しラットの約80%となっていることが判明した。

unks肝におけるMTP活性の著明な低下が肝臓に特異的であるのか検討する目的で小腸粘膜についても検討してみた。表1に示したようにunks小腸のMTP活性はラットとほぼ同等であり、肝臓において特異的に低活性を示すものと考えられた。

unksにおけるMTP活性の低下がコレステロールエステルの合成酵素であるACAT活性と関係がないか検討する目的で、ラットの初代培養肝細胞を用いてMTP活性の調節因子について検討した。

MTP活性に及ぼすコレステロールの影響を観察するためにHMG - CoA還元酵素阻害薬を用いて検討した。HMG - CoA還元酵素阻害薬の添加により、ラット初代培養肝細胞のMTP活性はコントロールの約50%と有意に低下した。<sup>(図6)</sup>次にACAT阻害薬の影響を検討した。図4に示すようにACAT阻害薬の添加により、細胞内のCEは著明に低下しており、それと同時にMTP活性はコントロールの約70%と有意な低下が認められた。この二つのデータは、肝内CEの含量がMTP活性を制御している可能性を示唆するものと考えられる。そこでCEの濃度上昇を目的としてLDL添加の影響を観察した。図5に示すようにラット初代培養肝細胞にLDLを添加するとMTP活性は濃度依存的に有意に上昇した。

#### 【考察】

以上の結果をまとめるとunksでは絶食により著明に血清遊離脂肪酸が上昇し、脂肪酸プールの増大があり、相対的に肝臓でのTGの生成量は増加する可能性が考えられる。一方、unksではMTP活性が著明に低下していることから、VLDLの統合障害が常に存在するものと考えられる。従って、合成されたトリグリセリドを速やかに分泌する能力が十分でない可能性が考えられる。また、unksにおいて再摂食により脂肪肝が急速に改善することは、MTP活性の上昇により急速にVLDLとして分泌されるためと考えられた。つまりMTP活性が40%未満では肝内脂質輸送に障害を生ずるが、70%以上であれば十分な輸送効果があると考えられた。

また、ラットの肝細胞実験から、細胞内コレステロールエステルの合成がMTP活性に重要な役割を演じている可能性が示唆された。unksの肝臓では特異的にACAT,MTP両活性が低下していることを考慮すると、肝臓における特異的なMTP活性の低下はコレステロールエステルの低下に起因する可能性が考えられる。また、MTP活性の制御にはACAT活性の制御が重要である可能性が示唆された。

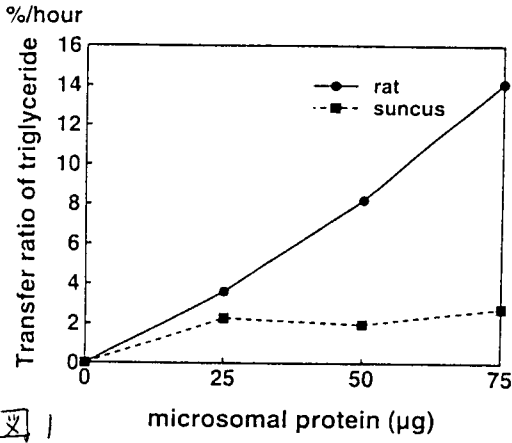


图 1

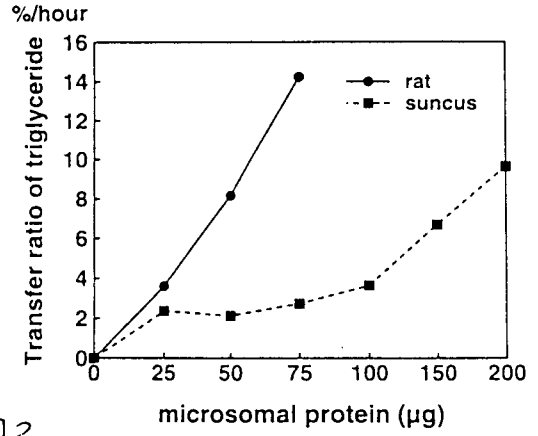


图 2

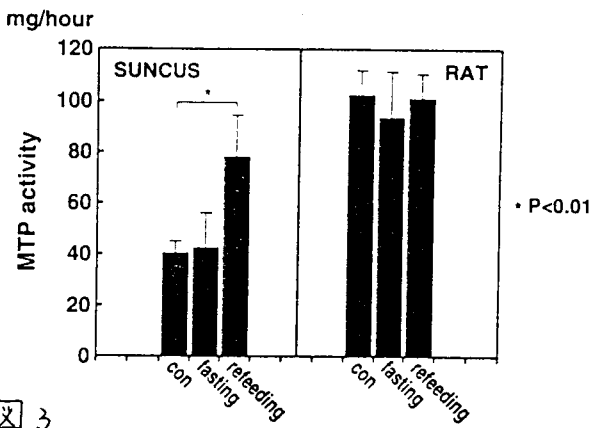


图 3

### MTP activity of liver and intestine

liver	rat	$0.923 \pm 0.25$
	suncus	$0.370 \pm 0.10^{***}$
intestine	rat	$1.143 \pm 0.36$
	suncus	$1.422 \pm 0.79$

(nmole/mg/hour)  
\*\*\* P < 0.005

表 1

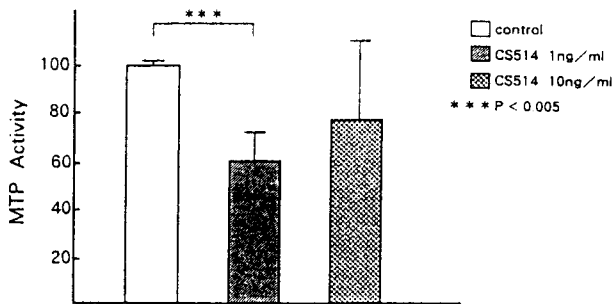


图 6

### Effect of LDL on MTP activity in rat hepatocytes

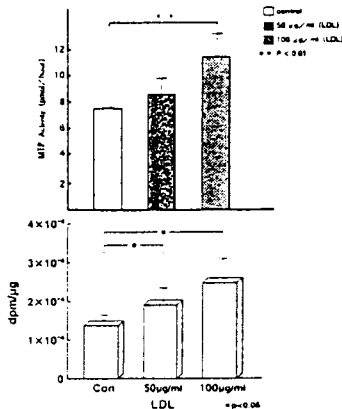


图 5

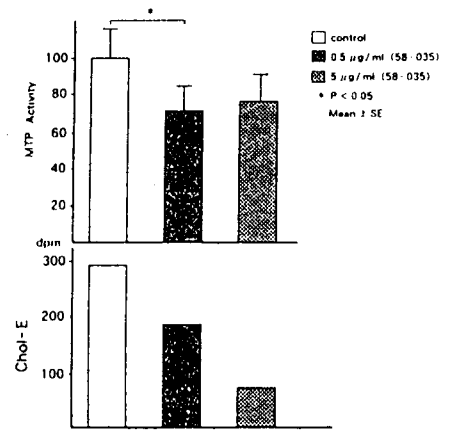


图 4

## 105 肝臓におけるMicrosomal Triglyceride Transfer Protein (MTP)の調節因子

帝京大学第一内科 齋一強<sup>1</sup> 武藤朝美、藤田美峰子、金子和子  
嶋津伸子、木下誠、山中正己、寺本民生

【目的】脂肪肝易発動物であるスックスにおける肝内脂質輸送機構の検討よりVLDLの合成に関するものとしてトリグリセリド(TG)、コレステロールエステル(CE)の合成とMTP活性が重要であることを報告してきた。特に、MTP活性が脂質分泌のキーポイントと考えられたので、本研究ではラットの肝細胞を用いてMTP活性の調節因子としてTGとCEの合成に焦点をあてて検討したので報告する。

【方法】雄性Wistar系ラットの初代培養遊離肝細胞を実験に供した。脂肪酸添加実験ではmediumにoleic acidを0.5mMと1mMの濃度で添加し、2時間培養した。CEの合成阻害薬としてACAT阻害薬(S8-035)を0.5mg/mlと5mg/mlの濃度で添加して20時間培養した。HMG-CoA還元酵素阻害薬(CS514)は1ng/mlと10ng/mlの濃度で添加して1時間培養した。MTP活性はWetterauらの方法にてliposome間の<sup>14</sup>C-TGと<sup>3</sup>H-PCの転送率におよぼすmicrosomal分画の添加量から計算した。

【成績】ラット培養肝細胞のMTP活性は $8.98 \pm 0.81$  pmoles/hと同時に測定した肝組織の $6.99$  pmoles/hより高値を示した。oleic acidの添加によりMTP活性は $6.79 \pm 0.57$  (0.5mM)と $6.62 \pm 0.70$  (1mM)と有意な低下が認められた( $p < 0.01$ )。このとき細胞内のTGは有意に増加していたがmedium中のTGには有意な変化は認められなかった。ACAT阻害薬やHMG-CoA還元酵素阻害薬の添加でもMTP活性はそれぞれコントロールの83%、85%と有意な低下を示したか濃度依存性はなかった。

【結論】ラット培養肝細胞のMTP活性はその組織より高値を示した。これは脂肪酸無添加mediumを用いたためと考えられる。oleic acidの添加により肝組織と同等の活性を示したのはこのためと考えられる。一方、S8-035やCS514の添加によりCEの合成を抑制することはMTP活性の抑制効果をもたらすものと考えられた。

## 106 肝臓でのコレステロール蓄積による中性脂肪合成抑制の機序

国立健康・栄養研究所臨床栄養部、東北大遺伝子実験施設\*  
池本真二、角田伸代、山本徳男<sup>\*</sup>、江崎 治

【目的】コレステロール代謝に関係するLDLレセプター、HMG-CoA還元酵素、HMG-CoA合成酵素の遺伝子発現はsterol regulatory element 1 (SRE1)を介してコレステロールにより抑制されることが知られている。また、SRE1に結合するSRE binding proteins 1 (SREBP1)とADD1が同一であることから、細胞内コレステロール量が脂肪酸合成や脂肪細胞の分化に関与することが推定されている。本研究では、中性脂肪の合成にコレステロール代謝が関与するかどうかを検討した。【方法及び結果】C57BL/6Jマウスを高炭水化物食(対照群)、高炭水化物食+0.5%コレラト食、高脂肪食及び高脂肪+0.5%コレラト食で15週間飼育した。摂餌量及び脂肪の吸収量に著明な差が認められないにもかかわらず、高脂肪食で内臓性肥満と高血糖を生じた。しかし、高脂肪食にコレラトを加えておくと、これらの発症が完全に防止された。肝臓のTC量は、コレラト添加で、それぞれ対照群の2.6倍、高脂肪食群の3.3倍に増加した。また、肝臓のTG量は、高脂肪食によって対照群の1.7倍に増加したが、コレラト添加によって対照群の83%にまで減少した。肝臓のAcyl-CoA synthetase (ACS) mRNA量は、高脂肪食によって対照群の1.4倍に増加し、コレラト添加によって対照群の46%にまで減少した。ACS mRNAは5'-非翻訳領域の違いから3種類(Form-A、-B、-C)存在することが知られているが、その中でも、Form Aは、主として肝臓に存在してTG合成に関与すると考えられており、そのプロモーター部分にSRE1領域を持つことが知られている。【結論】肝臓での中性脂肪合成に関与する酵素もコレステロールによる発現抑制が認められ、糖尿病や肥満の発症にコレステロール代謝が関与する可能性が推定された。

## 107 非インスリン依存性糖尿病患者における血中cholesteryl ester transfer protein濃度と血清脂質との関連性について

獨協医科大学越谷病院 一般内科  
田山一己、小林秀城、藤原幸雄、麻生好正、犬飼敏彦、竹村喜弘

【目的】血漿脂質転送蛋白質のひとつであるcholesteryl ester transfer protein (CETP)は主としてCEやTGの交換・転送反応を特異的に促進し、LCAT、HTGLなどの酵素と共に、HDLを介した動脈硬化の防御機構における重要な因子であることが知られている。今回われわれは、非インスリン依存性糖尿病(NIDDM)患者に焦点を当て、血中CETP濃度と血清脂質レベルとの関連性につき検討した。

【方法】NIDDM患者193名(男性99名、女性94名、年齢 $59.0 \pm 10.6$ 才)、健常者73名を対象とした。血中CETP濃度は抗ヒトトリコンビナントCETPモノクローナル抗体とHRP標識抗ラットCETPポリクローナル抗体を用いたサンドイッチELISA法により測定した(株)三菱化学ビーシーエル)。血清脂質はTC、TG、HDL-C、Apo A 1、Apo B、Apo E、LDL、VLDL、chylomicron等の測定を行った。

【結果】①NIDDM患者では健常者に比し、有意なCETP濃度の低下が認められた( $P < 0.01$ )。CETP濃度の下限のcut off値を $14.4$  µg/mlと規定すると、NIDDM患者の10.4%に明らかなCETP濃度の低下が認められた。②女性は男性に比しCETP濃度は約13%高く、有意に上昇していた( $P < 0.01$ )。③NIDDM患者においてCETP濃度はTCと有意な正相関を認めた( $P < 0.05$ )。HDL-C高値群(80mg/dl)では、CETP濃度は低下傾向を示し、逆にLDL高値群(500mg/dl)はCETP濃度は有意に上昇していた( $P < 0.05$ )。CETP濃度は、Apo B、Apo Eとそれぞれ有意な正の相関関係を示した(いずれも $P < 0.05$ )。

【結論】NIDDM患者において、血漿脂質転送蛋白質であるCETPは、その血中濃度と血清TC、HDL-C、LDL-C、Apo B、Apo E値との間にそれぞれ密接な関連性を有しており、それらの脂質代謝pathwayに影響を及ぼす重要な因子のひとつであることが示唆された。

## 108 家兎CETPモノクローナル抗体によるELISA法を用いた血漿CETP濃度の臨床的検討

名古屋市立大学第三内科 第一生化学\*  
笹井冠奈、野路久仁子<sup>\*</sup>、日比野剛、佐久間長彦、藤原隆夫、横山信治<sup>\*</sup>

【目的】我々は、rabbit cholesteryl ester transfer protein (CETP)に対するモノクローナル抗体(mAb)を作成し、ヒトのCETPに反応する2種類の抗体(mAb 3-11D, 14-8F)を用いて、CETP濃度測定ELISA法を確立した。このELISA法を用いて、シンバスタチン投与前後のCETP濃度を測定し、検討した。【方法】IIa型高脂血症22例にシンバスタチン5mg/日を4週間投与し、投与前後の早朝空腹時採血にて血清脂質を測定した。CETP濃度はCETPに対する2つのモノクローナル抗体(mAb 3-11D, 14-8F)を用いたELISAサンドイッチ法を作成し、測定した。mAb 3-11DはCETPのTGとCEの転送を阻害し、mAb 14-8FはTGの転送を阻害する。CETP活性はAlbersらの方法にて測定した。【結果】Albersらの方法にて測定したCETP活性と本法でのCETP濃度は有意な相関性を認めた(前: $r = 0.446$ ,  $P < 0.05$  後: $r = 0.625$ ,  $P < 0.001$ )。シンバスタチン投与にてTC ( $271 \pm 56$  mg/dl vs  $226 \pm 45$  mg/dl,  $P < 0.0001$ )、LDL-C ( $188 \pm 61$  mg/dl vs  $142 \pm 48$  mg/dl,  $P < 0.0001$ )と有意に低下した。HDL-C ( $51.7 \pm 10.9$  mg/dl vs  $58.0 \pm 10.9$  mg/dl,  $P < 0.0001$ )と有意な増加を認めた。TG ( $158 \pm 95$  mg/dl vs  $134 \pm 77$  mg/dl, NS)と低下傾向を示した。CETP活性は( $11.3 \pm 3.7\%$ /10ml/3hr vs  $9.4 \pm 3.9\%$ /10ml/3hr,  $P < 0.05$ )、CETP濃度は( $1.22 \pm 0.38$  µg/dl vs  $1.09 \pm 0.35$  µg/dl,  $P = 0.0997$ )と低下傾向を示した。【結論】シンバスタチン投与によるCETP活性の低下はCETP濃度の低下によることを示唆したが、HDL-Cの増加とCETP活性・濃度には相関性を認めなかった。



Short communication

## Characterization of low-density-lipoprotein in apolipoprotein E deficiency in a patient without coronary atherosclerosis

Tamio Teramoto\*<sup>a</sup>, Makoto Kinoshita<sup>a</sup>, Mitsunobu Kawamura<sup>a</sup>,  
Yi-Qiang Liang<sup>a</sup>, Kazuko Kaneko<sup>a</sup>, Nobuko Shimazu<sup>a</sup>,  
Satoko Suga<sup>a</sup>, Nobuharu Akatuka<sup>b</sup>, Masami Yamanaka<sup>a</sup>

<sup>a</sup>First Department of Internal Medicine, Teikyo University School of Medicine, Tokyo 173, Japan

<sup>b</sup>International Medical Center of Japan, Division of Cardiology, Tokyo, Japan

Received 4 August 1995; revision received 10 November 1995; accepted 14 November 1995

---

**Keywords:** Apolipoprotein E deficiency; Coronary atherosclerosis; Small-dense LDL; Oxidative modified LDL; Type III hyperlipidemia

---

### 1. Introduction

Type III hyperlipoproteinemia (HLP) is an uncommon lipid disorder characterized by elevations in both plasma cholesterol and triglyceride concentrations due to increases in the levels of chylomicron remnants, VLDL and IDL. The patients generally present in adulthood, often manifesting signs of premature coronary artery disease (CAD) and peripheral vascular disease, palmar and tuberoeruptive xanthomas [1]. Inherited type III HLP is usually associated with molecular abnormalities of apolipoprotein (apo) E or with absence of apo E.

Only three patients with inherited apo E deficiency have been previously reported [2–4]. Although individuals deficient in apo E typically have severe

---

\* Corresponding author, Tel: +81-3-39641211; Fax: +81-3-39647637.

type III HLP, there has been only one report regarding coronary atherosclerotic lesions in these individuals. This suggests that coronary atherosclerosis does not occur prematurely in these patients [5].

We performed coronary angiography and exercise treadmill testing in a patient with apo E deficiency and found no evidence of atherosclerotic narrowing. In order to elucidate the absence of CAD in this patient, we characterized his LDL, an atherogenic lipoprotein.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Patient

We studied a 43-year-old man with a history of apo E deficiency, in whom plasma apo E had not been detected by radioimmunoassay as reported previously [4]. He had a history of cigarette smoking (approximately 20 cigarettes/day) and heavy alcohol abuse. His serum cholesterol and triglyceride concentrations were 51.8 mmol/l (2000 mg/dl) and 71.2 mmol/l (6300 mg/dl), respectively, at the time of admission. He had been diagnosed with diabetes mellitus at the age 35 years and his diabetes was controlled with insulin therapy.

Coronary angiography had been performed at 42 years and revealed no significant atherosclerotic narrowing, though abdominal CT scan showed calcifications on the wall of common iliac artery and abdominal aorta as shown in Fig. 1. He had striking xanthomas on his elbows, knees and Achilles tendon.

### 2.2. Preparation of serum lipoproteins

Lipoprotein analysis was performed when the patient's serum cholesterol and triglyceride concentrations had decreased by diet and insulin therapies as described previously [4] to 9.8 mmol/l (378 mg/dl) and 2.92 mmol/l (258 mg/dl), respectively. The lipoproteins were separated into four fractions by sequential ultracentrifugation after removal of chylomicrons: VLDL, 0.96–1.006; IDL, 1.006–1.019; LDL, 1.019–1.063; HDL, 1.063–1.21 g/ml.

An isopycnic density gradient ultracentrifugation of the LDL fraction was performed as follows. The LDL fraction, which was separated as the density between 1.019 and 1.050 g/ml, was adjusted to a density of 1.25 g/ml with NaBr. A total of 1.5 ml of 1.25 g/ml (density) LDL was placed at the bottom of a nitrocellulose tube. This was overlaid with 1.12 ml of 1.21 g/ml, 1.15 ml of 1.063 g/ml, 1.12 ml of 1.019 g/ml and 1 ml of 1.006 g/ml solution in a sequential fashion. Ultracentrifugation was continued at 15°C for 24 h at 38 000 rev./min in an SW 6ST rotor. The gradient was eluted and separated into 12 fractions.



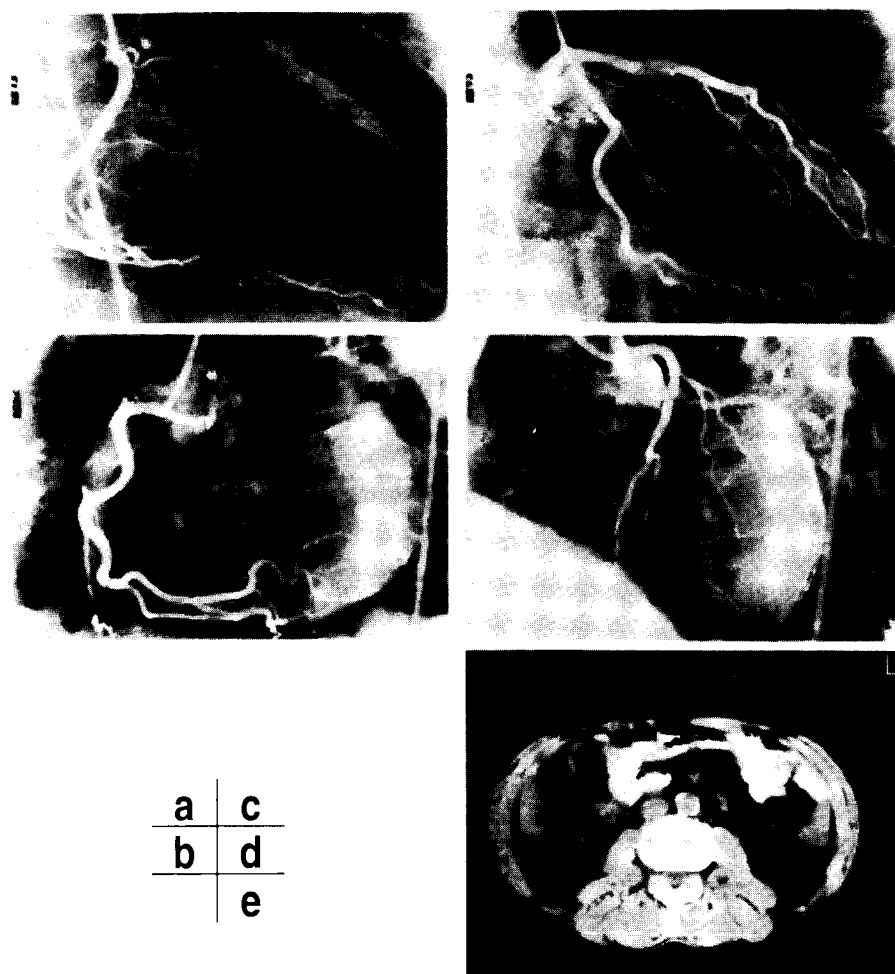


Fig. 1. Coronary angiography and abdominal CT scan of the patient with apo E deficiency. (a) Right coronary artery (RAO); (b) right coronary artery (LAO); (c) left coronary artery (RAO); (d) left coronary artery (LAO); (e) abdominal CT scan showing calcification of abdominal aorta.

Fractionated LDLs were analyzed on a 2–16% polyacrylamide gradient gel electrophoresis (GGE) without sodium dodecyl sulfate (SDS) according to the method described by Anderson et al. [6]. After staining of the gels with Coomassie brilliant blue, the peak distribution of LDL was determined by densitometer.

### 2.3. Susceptibility of LDL to oxidative modification

Studies of conjugated diene formation were performed to investigate the

susceptibility of LDL to oxidative modification according to previously reported techniques [7]. The conjugated dienes were assessed by monitoring increases in absorbance at 234 nm as described by Esterbauer et al. [8].

### 3. Results

Data regarding the plasma lipoprotein constituents of the patient and of normal Japanese control subjects ( $n = 4$ ) are given in Table 1, demonstrating a significant increase in the patient's VLDL. Seventy-four percent of his total cholesterol concentration and 92% of his triglyceride concentration were recovered in the VLDL. The IDL concentration was not significantly increased. The ratios of cholesterol to triglyceride of VLDL and IDL were increased on compositional analysis. On the other hand, a significant decrease in LDL ( $d$ : 1.019–1.063 g/ml) constituents were noted in our patient, despite the finding that the composition of the patient's LDL did not significantly differ from that of normal controls. The composition of HDL constituents was within the normal range, although the concentration in our patient was significantly reduced.

The particle size distribution of plasma LDL obtained from the patient was analyzed by GGE after separation into 12 subfractions using isopycnic density gradient ultracentrifugation (Fig. 2). The patient's LDL was distributed over a wide buoyancy range of the gradient. The normal LDL bands which appeared are rather uniform and smaller than those of our patient. With increases in density, the size of the normal LDL decreased. However, in the case of our patient's LDL, the large-sized LDL were distributed throughout the range of densities, while smaller particles were not observed in the denser fraction.

In order to examine the susceptibility of LDL to oxidative modification, we measured the production of conjugated dienes of the oxidized LDL in a cell-free system using copper ions. The time-course curves for LDL oxidation did not differ between the control subjects and the patient with apo E deficiency.

### 4. Discussion

Morganroth et al. have reported that 43% of type III patients have vascular disease and about one-third have definite CAD [9]. They reported also that the average age of male subjects with ischemic heart diseases was 38.1 years old. Peripheral vascular disease involving the lower extremities is nearly as prevalent as coronary artery disease [1]. Individuals with apo E deficiency also have been reported to have severe type III HLP [2–4]. Schaefer et al. performed coronary angiography in a 60-year-old patient with apo E

Table 1  
Serum lipoprotein constituents in patients and control subjects

Protein	TG	TC	TPL	TC/TG
<i>VLDL</i>				
Patient (mg/dl) (%)	49.7 7.7	233.8 36.4	216.6 33.6	143.0 22.2
Control (mg/dl) (%)	5.86 ± 3.90 15.4 ± 4.1	21.9 ± 16.9 49.9 ± 4.2	6.75 ± 4.99 15.8 ± 2.7	8.50 ± 6.70 18.9 ± 2.8
<i>IDL</i>				
Patient (mg/dl) (%)	7.4 13.1	8.48 15.0	23.4 41.5	17.1 30.3
Control (mg/dl) (%)	3.21 ± 1.40 22.4 ± 3.6	4.4 ± 2.83 27.8 ± 7.7	3.68 ± 1.85 25.1 ± 3.1	3.64 ± 1.78 24.7 ± 1.2
<i>LDL</i>				
Patient (mg/dl) (%)	10.1 22.0	3.16 6.9	17.6 38.6	14.8 32.6
Control (mg/dl) (%)	58.3 ± 12.2 28.8 ± 5.42	13.5 ± 4.7 5.64 ± 1.61	93.6 ± 25.2 39.1 ± 2.6	63.0 ± 16.4 26.4 ± 1.8
<i>HDL</i>				
Patient (mg/dl) (%)	112.3 49.1	7.4 3.2	34.6 15.1	74.4 32.5
Control (mg/dl) (%)	138.0 ± 23.3 53.9 ± 3.0	10.2 ± 3.3 4.0 ± 1.26	42.7 ± 10.6 16.5 ± 0.97	67.0 ± 17.9 25.7 ± 2.2
Patient serum (mg/dl)	258	378	253	4.68
				4.43 ± 1.6

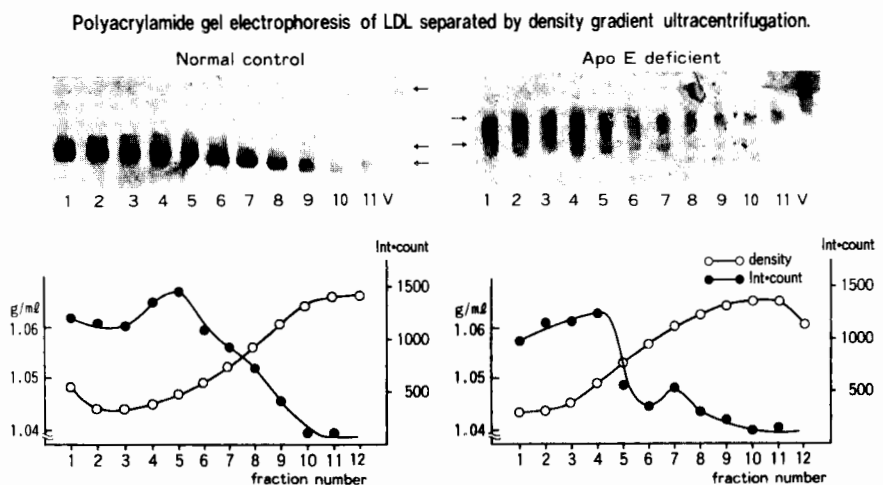


Fig. 2. LDL density gradient fraction displayed by non-denatured gradient gel electrophoresis. After fractionation of the gradient, 20  $\mu$ l of each fraction were subjected to non-denatured GGE. On each gel, the far right track represents normal VLDL, while the remaining 11 tracks are the LDL fractions. The far left track represents the top (most buoyant) end of the gradient. Lower panels represent the density of each LDL fraction. Int-count represents the counts of LDL displayed on GGE which were determined by densitometer.

deficiency and revealed an 80% narrowing of the first diagonal branch of the left anterior descending coronary artery but no other detectable narrowings [5]. Based upon this evidence, they speculated that coronary arteriosclerotic disease does not occur prematurely in patients with apo E deficiency. In our 43-year-old case, the patient demonstrated no detectable coronary narrowing, despite manifesting peripheral atherosclerosis, numerous tuberoeruptive and tendon xanthomas and possessing multiple-risk factors (smoking, diabetes, male gender and severe type III HLP). Furthermore, he demonstrated no evidence of ischemic heart disease in the exercise treadmill testing at 46 years, when his serum cholesterol and triglyceride concentrations were 11.0 mmol/l (426 mg/dl) and 3.3 mmol/l (295 mg/dl), respectively, under the treatment of HMG CoA reductase inhibitor and clinofibrate. This evidence suggests that hyperlipoproteinemia caused by apo E deficiency may be a risk factor for peripheral atherosclerosis but not for coronary atherosclerosis.

A complete lipoprotein analysis indicated that greater than 70% of the lipoprotein constituents are within the VLDL density but only 8% in the IDL density with respect to cholesterol. On the other hand, the composition of LDL was nearly normal, though the concentration was extremely low. The abnormalities of the patient's lipoprotein profile are similar to but more prominent than that of conventional type III HLP, which may be induced by

associated diabetes mellitus and/or alcohol abuse. Studies of size and density of the patient's LDL revealed a definite shift to larger, less dense components than normal LDL. Thus, the patient has a paucity of small-dense LDL particles.

Swinkels et al. have reported a connection between mass concentrations of small-dense LDL and increased coronary disease risk [10]. De Graaf et al. have reported that small-dense LDL from healthy subjects have progressively greater susceptibility to *in vitro* oxidation than the more buoyant LDL [11]. In our study we examined the susceptibility to oxidative modification of LDL, as large, less dense LDL may be resistant to oxidative modification. However, the production rate of conjugated dienes from the patient's LDL did not differ from those observed in subjects with normal LDL.

These observations suggest that lower levels of LDL and small-dense LDL are largely responsible for the absence of CAD in patients with apo E deficiency.

Zhang et al. have demonstrated that transgenic mice lacking apo E have five times normal levels of plasma cholesterol and develop foam cell-rich deposition in the proximal aorta [12]. However, no pathologic changes were noted in the coronary arterial bed or the distal aorta. Reddick et al. [13] and Nakashima et al. [14] also found that the coronary arteries were not involved with atherosclerosis, though atherosclerotic lesions were present in the aorta of the young apo E deficient mice. They, therefore, suggested that the lesions of atherosclerosis appeared somewhat different in the coronary arteries than in the other parts of the arterial system in apo E deficient mice. On the other hand, Plump et al. found narrowed lumen of small branches of the coronary arteries in apo E deficient mice of 10 months of age fed chow diet [15]. The authors reported that LDL-cholesterol levels of the aged apo E deficient mice fed a chow diet were not so low, which is clearly different from our human case, suggesting that LDL plays an important role in coronary arteriosclerosis in elder apo E deficient mice.

### Acknowledgements

This study was supported in part by Grant-in-Aid No. 07671155 for Scientific Research from the Ministry of Education, Science and Culture of Japan, by a Metabolism of HDL Research Fund and by the National Milk Promotion Association of Japan.

### References

- [1] Brewer HB, Gregg RE, Zech LA, Schwarz D, Schaefer EJ. Recent advances in the diagnosis, molecular defect, pathology, and treatment of type III hyperlipoproteinemia. *Ann Intern Med* 1983;98:623–640.

- [2] Ghiselli G, Schaefer EJ, Gascon P, Brewer HB. Type III hyperlipoproteinemia associated with apolipoprotein E deficiency. *Science* 1981;214:1239–1241.
- [3] Mabuchi H, Itoh H, Takeda M et al. A young type III hyperlipoproteinemic patient associated with apolipoprotein E deficiency. *Metabolism* 1989;38:115–119.
- [4] Kurosaka D, Teramoto T, Matsushima T et al. Apolipoprotein E deficiency with a depressed mRNA of normal size. *Atherosclerosis* 1991;88:15–20.
- [5] Schaefer EJ, Gregg RE, Ghiselli G et al. Familial apolipoprotein E deficiency. *J Clin Invest* 1986;78:1206–1219.
- [6] Anderson DW, Nichols AV, Forte TM et al. Particle distribution of human high density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1977;493:55–68.
- [7] Heinecke JW, Kawamura M, Suzuki L, Chait A. Oxidation of low density lipoprotein by thiols: superoxide-dependent and independent mechanism. *J Lipid Res* 1993;34:2051–2061.
- [8] Esterbauer H, Striegl G, Duhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radical Res Commun* 1989;6:67–75.
- [9] Morganroth J, Levy RI, Fredrickson DS. The biochemical, clinical, and genetic features of type III hyperlipoproteinemia. *Ann Intern Med* 1975;82:158–174.
- [10] Swinkels DW, Demacker P, Hendriks J, Van't Laara A. Low density lipoprotein subfractions and relationship to other risk factors for coronary artery disease in healthy individuals. *Arteriosclerosis* 1989;9:604–613.
- [11] De Graaf J, Hak-Lamners HLM, Heeters MPC et al. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arteriosclerosis* 1991;11:298–306.
- [12] Zhang SH, Reddick RL, Piedrahita JA, Maeda N. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E. *Science* 1992;258:468–471.
- [13] Reddick RL, Zhang SH, Maeda N. Atherosclerosis in mice lacking apo E. Evaluation of lesional development and progression. *Arterioscler Thromb* 1994;14:141–147.
- [14] Nakashima Y, Plump AS, Rames EW, Breslow JL, Ross R. Apo E-deficient mice develop lesions of all phases of atherosclerosis throughout the arterial tree. *Arterioscler Thromb* 1994;14:133–140.
- [15] Plump AS, Smith JD, Hayek T et al. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells. *Cell* 1992;71:343–353.

# 日本財団補助金による 1997年度日中医学協力事業助成報告書

— 在留中国人研究者研究助成 —

財団 法人 日中 医学 協会  
理 事 長 中 島 章 殿

## I. 研究者氏名 趙 莉欣

研究機関 日本大学医学部第二内科心臓研究班 研究指導者：小沢 友紀雄教授

所在地 〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1号 電話 03-3972-8111 内線 2411

研究テーマ：不整脈と突然死

## II. 過去の研究歴：中国医科大学循環器内科：不整脈、高血圧、冠心病

日本医科大学第一内科：不整脈、臨床薬理学

慶応大学医学部呼吸循環器内科：心臓電生理学

## III. 過去の研究実績：

\*犬の脱分極冠動脈における三種言のケマリンのカルシウム拮抗作用：Diltiazemとの比較  
第65回日本薬理学総会1992年3月25日 JPN. J. of pharmacology Vol.1.58 Suppl.I.P.2281992

\* Calcium antagonistic action of Qian-Hu on canine coronary artery第5回世界臨床薬理学会1992年7月28日 J. of the Vth conference on clinical pharmacology and therapeutics P.225 1992

\* Nitrovasodilator nocoerandil augments regional ischemia-induced monophasic action potential shortening without proarrhythmic action 第21回世界心電学会1994年7月4日 .....等9論文

## IV. 本年度の研究業績：

(1) 学会、研究会等における口頭発表（学会名、内容）

a. The Fifth Annual Scientific Congress of Hong Kong Collegy of Cardiology. April 25, 1997 in HK. Title : Effects of ATP-sensitive potassium channels opener on epicardium myocardial ischemia zone in anesthtized dogs.

b. The xxIVth International Cogress on Electrocardiology. June 24-28, 1997 in Bratislava Slovak R  
Title : Compared study to Holter-SA-ECG with left ventricular function using multiple gated acquisition cardiac blood pool imaging in ppatients with arrhythmia.

c. 第45回日本心臓病学会 1997年9月24-28 会場：ロイトン札幌 演題：心筋梗塞合併心室性不整脈のHolter-SAE陽性と左室機能との関連性について心プールシンチグラフィによる検討

(2) 学会誌等に発表した論文、有：

a. 雑誌名：Journal of Hong Kong Collegy of Cardiology Vol.5, No.1, P.51 April 1997  
論文名：Effects of ATP-sensitive potassium channels opener on epicardium myocardial ischemia zone in anesthtized dogs.

b. 雑誌名：The Jornal of the xxIVth International Cogress on Electrocardiology  
論文名：Compared study to Holter-SA-ECG with left ventricular function using multiple gated acquisition cardiac blood pool imaging in patients with arrhythmia.

c. 雑誌名：第45回日本心臓病学会会誌 J. of Cardiology, Vol.30. Suppl.I.P.406  
論文名：心筋梗塞合併心室性不整脈のHolter-SAE陽性と左室機能との関連性について心 プールシンチグラフィによる検討

d. 予定投稿の雑誌名：

日本循環器雑誌および英語雑誌

論文名：

I. "心筋梗塞患者のホルター加算平均心電図と左室収縮機能および拡張機能との関連性について心プールシンチグラフィによる検討"

II. "QT dispersionによる心臓突然死の予測"

## V. 今後の研究計画及び希望：

私をご指導くださる教授小沢先生に従って、高分解能心電図を中心とした不整脈による突然死の予知予防に関する研究を継続して、当大学医学部にて医学博士の学位を修得するために客員研究員として研究活動を一生懸命頑張っていきたいと思っております。皆先生方にご指導ご鞭撻のほどよろしくお願いいたします。

## VI. 研究報告

私は1994年10月21日より日本大学医学部第二内科にて小沢教授のご指導のもとで客員研究員として研究中です。

私の研究は主に循環器学、電気生理学および心臓核医学の分野における、最新の知識、技術を駆使した研究です。当大学医学部にて医学博士の学位を修得するために客員研究員として研究活動に従事しております。

お陰様で1997年度在留中国人研究者研究助成金をいただき、本年度の研究成果を報告いたします。

その研究の一部は：“The Effects of ATP-sensitive potassium channels opener on epicardium myocardial ischemia zone in anesthetized dogs”を1997年4月25-27日に香港にて開催された第五回香港心臓病学会にて発表いたしました。そして、“Compared study to Holter-SA-ECG with left ventricular function using multiple gated acquisition cardiac blood pool imaging in patients with arrhythmias”を1997年6月24-28日欧州で開催された第24回世界心電学にて発表いたしました。さらに、“心筋梗塞合併心室性不整脈のHolter-SAE陽性と左室機能との関連性について心プールシンチグラフィによる検討”を1997年9月25-27日札幌にて開催された第四十五回日本心臓病学会にて発表いたしました。上記発表した研究論文はそれぞれの学会雑誌に投稿して採用され出版されました。


更に、(1) “心筋梗塞患者のホルター加算平均心電図と左室収縮機能および拡張機能との関連性について心プールシンチグラフィによる検討”と(2) “QT dispersionによる心臓突然死の予測”を当大学の医学博士学位の副論文及び主論文として書きます。この二つ論文を日本循環器雑誌及び英語の雑誌に投稿する予定です。

ここで、私の研究にあたり直接ご指導をいただいた小沢友紀雄教授、日中医学会理事長中島章先生、理事安達勇先生と諸理事先生方および事務局川口様と諸関係者皆様によるいろいろとお世話になりました、更に、経済的な支えとなった1997年度在留中国人研究者研究助成金のご援助に厚くお礼を申し上げます。

以上、誠にありがとうございました。



## VII. 指導教授のご意見

趙莉欣先生は、学内に於ける真摯な態度で、活動的な研究発表を行い、日常生活面でも極めて真面目であり、今後ますます研究成績が期待出来る人物であると評価した。 



原著

新開発ペン型携帯用電話伝送心電  
計の診断精度と臨床的有用性  
に関する検討

趙 莉 欣、 小 沢 友 紀 雄、 飯 田 潔  
谷 川 直、 渡 辺 一 郎、 堀 内 孝 一  
笠 卷 祐 二、 森 内 正 人、 小 牧 宏 一  
齋 藤 穎、 上 松 瀬 勝 男

日本大学医学部第二内科学教室

茂木智宏

共同開発：カシオ計算機（株）会社

## 目次

### 1 . 背景

### 2 . 目的

### 3 . ペン型心電計

( 1 ) 本機システムの構成

( 2 ) データ転送 I / F . 心電波形再生ユニ

ット : データ処理ソフト

( 3 ) 心電図サービス医療機関システム概要

( 4 ) 心 電 図 サ ー ビ ス セ ン タ ー シ ス テ ム 概 要

4 . 使 用 方 法

( 1 ) 記 録 方 法

( 2 ) 送 信 方 法

5 . 1 2 誘 導 心 電 図 と の 比 較 に つ い て

( 1 ) 1 2 誘 導 心 電 図 と の 比 較 実 例

( 2 ) V 5 相 当 誘 導 各 波 振 幅 の 相 関

( 3 ) V 5 相 当 誘 導 各 波 振 幅 の 平 均 値 の 比 較

( 4 ) 各 誘 導 に お け る R 波 高 の 相 関

( 5 ) 本 機 心 電 図 に よ る S T - T 変 化 の 評 価

( 6 ) 各 種 不 整 脈 の 判 定 合 致 率

( 7 ) 心 筋 虚 血 の 診 断 精 度 と 比 較

6 . 本機用いた心電図評価法の特長

7 . 臨床応用範囲と有用性

8 . 結論

9 . 考察

10 . 参考文献

合計 50頁でした

そのなかに部分だけ copy (たものびす)。

検討も可能なペン型携帯用電話伝送心電計が開発されました(図1.2と表1)。

目的：常に携帯して任意の時間、あるいは空間場所にて、症状のあるときの心臓のチェック、日常生活の種々の状態での心臓のチェック、在宅療法への応用などを可能にすることです。最近のように電話が発達してきますと、携帯電話やポケットベルを利用して指示などのシステムの日常的に任意の状態の心電図の記録できますし、更に電話伝送により心電図の結果が直ちに解析され、被験者がその結果を短時間で知ることのできるシステム作りも可能です(図3.表2.図4.5.6と図7)。本機は病院の診療における利用はもとより、各家庭、学校の保健室、職場、スポーツ、ラブ、ホテル、レジャー施設、旅行など、種々な場合の利用により、発病の早期発見、早期対応が可能になります。即ち、そ

## 本機を用いた心電図評価法の特長

### ( 1 ) 小型、軽量

本機は携帯が容易で、検査時に計測しやすい形状になっています。

### ( 2 ) 電極装着が不必要

長時間記録心電図と異なり、ただ携帯するだけでよいので予め電極を装着しておく必要がなく、日常生活上の不快感が全くありません。

### ( 3 ) 服を着たままで心電図の計測も可能

襟元から電極部を差し込んで胸部の当てることが出来るので、脱衣の必要がなく、いつでも、どこでも計測できます。

( 4 ) 発作前後の計測も可能

デイスポーザブル電極をあらかじめ装着し、本機を”イベントモード”に設定しておけば、スイッチを押す直前の心電図を計測することもできます。

( 5 ) 電話で心電図データを伝送可能

計測した心電図を、自宅や公衆電話など、一般の電話から受信センターに送信できます。

( 6 ) 無人データ受信が可能

受信センターでは、システムを”自動受信”に設定しておけば、登録された会員からの心電図データを24時間体制で受け付け、自動的に保存されます。

( 7 ) 送られた心電図を転送可能

パソコン通信を利用して、受信センターから医療機関へ心電図を転送し、さらに医療機関から解析結果を受信センターへ

転送できます。これにより利用者への診断結果の返がスピーディーに行えます。

( 8 ) 記録装置から直接データを入力することも可能

電話を介さずに直接本機から受信システムにデータ入力もできます。

( 9 ) 1 2 誘導心電計の代用  
計測部位を選択することにより、1 2 誘導心電計の代用として使用することも可能です。

#### 臨床応用範囲：

心電図による心臓の異常のチェックを目的とし、常時携帯し、記録伝送可能であるために、その利用分野は極めて広いと言えます。



は 1 2 誘導心電図の V 1 - 2 の S T - T 変化がみられたが V 5 誘導では S T - T 変化がみとめなかつた症例でした。

以上より、ペン型携帯用電話伝送心電計による心筋虚血の判定は、V 5 誘導相当の I 誘導に限った検討でも、1 2 誘導心電図による判定とほぼ同程度の診断が可能である結果が得られた。ペン型携帯用電話伝送心電計は、不整脈の診断のみならず、心筋虚血の判定にも有用である。

## 結 論

新しく開発されたペン型小型携帯用電話伝送心電計は、従来の機器に比し小型化と精度の向上がみられ、携帯用電話あるいはポケットベルの利用で、結果が直ちに被検

考 察 :

心筋シンチグラフィの成績ちの比較では、  
12誘導心電図で一致率68%、ペン型携帯  
用電話心電計では70%とほぼ同様の一致率  
を示したが、必ずしも満足のいくものではな  
かった。しかし、12誘導心電図とペン型携  
帯用電話伝送心電計との比較では、一致率  
90%と極めて良好であった。

12誘導心電図にたいしてペン型携帯用電  
話伝送心電図の陰性例では、7例中5例が  
12誘導心電図のaVFで有意なST低下が  
みられたがV5誘導ではjunctionalなS  
T低下であり、ペン型携帯用電話伝送心電計  
でもjunctionalなST低下が認められた。  
また1例では12誘導心電図のaVFで有意  
なST低下がみられたがV5誘導ではST  
低下をみちめず、ペン型携帯用電話伝送心電  
図でもST低下をみとめなかった。残り1例



## XXIV<sup>th</sup> INTERNATIONAL CONGRESS ON ELECTROCARDIOLOGY

38<sup>th</sup> International Symposium on Vectorcardiography  
June 24 - 28, 1997, Bratislava, Slovak Republic

ECG

1

### COMPARED STUDY TO HOLTER-SA-ECG WITH LEFT VENTRICULAR FUNCTION USING MULTIPLE GATED ACQUISITION CARDIAC BLOOD POOL IMAGING IN PATIENTS WITH ARRHYTHMIA

**Zhao LX**, Horiuchi K., Ozawa Y., Tanigawa N, Saito S, Watanabe I., Kanmatsusei K.

The 2nd Dept. of Medicine, School of Medicine, Nihon University, Tokyo, Japan.

The purpose of this study was to evaluate left ventricular function from multiple gated acquisition (MUGA) cardiac blood pool imaging in patients with arrhythmia; And also evaluation of relationship between it and Holter -signal averaged ECG(Holter-SA-ECG).

**Subjects and Methods:** 30 patients were followed intravenous administration of 20 mCi of Technetium-99m labeled human serum albumin-DTPA for study MUGA cardiac blood pool imaging; And every patients performed 24h Holter monitor, the data were recorded by Del Mar Avionics Model 459 3-channel Cardio-Corder and Model 563 strata scan-Holter ECG analysis system. The criteria of Holter-SA-ECG: QRSd>114ms, RMS40<12uV, LAS40>38ms. An abnormal Holter-SA-ECG[ Late Potential (LP) positive] was defined as the presence of at least 2 of 3 parameters. At our this study, we using peak filling rate(PFR) to evaluate early diastolic filling function, and using ejection fraction(EF) to evaluate systolic function of left ventricular in these 30 patients.

**Results:** 1). PFR in Group of normal Holter-SA-ECG was higher than that group which have abnormal Holter-SA-ECG.

2). Difference of EF was no significantly in both groups.

**Conclusion:** 1. EF was no significantly difference both in patients with normal and abnormal Holter-SA-ECG

2. PFR in group of abnormal Holter-SA-ECG was lower than that group which have normal Holter-SA-ECG. It was sensitively and stronger evidence for that left ventricular early diastolic dysfunction was due to myocardial injury in patients with abnormal Holter-SA-ECG. This results suggestion that PFR as earliest manifestation of cardiac diastolic dysfunction and have possibility after that frequently develop systolic dysfunction,

3. MUGA cardiac blood pool imaging as a noninvasive, reliable and reproducible means to quantify left ventricular function.