

日本財団補助金による


1997年度財団法人日中医学協会助成報告書

—調査並びに研究に対する助成—

1998年3月7日

財団法人 日中医学協会

理事長 中島章 殿

研究代表者氏名 千葉仁志   
所属機関名 北海道大学医学部 附属病院  
職名 講師 年齢 44 才  
所在地 〒060-8648 札幌市北区北14条西5丁目  
電話 011-716-1161 内線 5705

1. 研究課題

中国におけるコレステリルエステル転送蛋白欠損症の疫学調査

2. 研究期間 自 199 年 4 月 1 日 ~ 至 1998 年 3 月 15 日

3. 研究組織

日本側研究者氏名 小林邦彦 (57才)  
所属機関 北海道大学医学部 職名 教授(小児科学)

中国側研究者氏名 李美琳 (65才)  
所属機関 北京医科大学 職名 教授(神経内科学)

## 研究報告書

# 中国におけるコレステリルエステル転送蛋白欠損症の疫学調査

北海道大学医学部附属病院 千葉 仁志

### 研究目的

コレステリルエステル転送蛋白 (cholesteryl ester transfer protein; CETP) は疎水性糖蛋白で、血漿中では大部分が高密度リポ蛋白 (HDL) に存在している。その機能は、HDL中のコレステリルエステルを超低密度リポ蛋白や低密度リポ蛋白 (LDL) へと転送し、同時に逆方向にトリグリセリドを転送することであり、血管壁から肝へのコレステロール逆輸送に貢献すると考えられる。CETP遺伝子は第16染色体上にあり、全長25 kbpの中に16個のエクソンを含む。

CETP欠損症は日本人の家族性高HDL血症の家系で初めて見いだされた。この家系の遺伝子異常は、イントロン14第1塩基のGからAへの置換 (Int14A) によるスプライシング異常であった。Int14A変異はHDLコレステロール濃度上昇作用が強く、ホモ接合体の血清HDLコレステロール濃度は120~200 mg/dl (正常; 40~80 mg/dl) に及ぶ。我々は、Int14A変異の日本人一般人口における頻度が1.6%であると報告した。我々は、同時に、CETPの442番目のアスパラギン酸がグリシンに置換される変異型 (D442G) が日本人に高頻度 (9.2%) に出現し、HDLコレステロールを穏やかに上昇させる (50~100 mg/dl) ことを報告した。以上の研究から、CETP欠損は日本人のリポ蛋白代謝を特徴づける最大の遺伝形質であることが明らかとなった。

CETP欠損症の報告は日本人に限られていたが、我々は北京地区の小規模の調査でD442G変異例 (日本人以外で初のCETP欠損例) を見いだした (*Am J Med Genet*, 1995年)。本研究における我々の目的は、CETP欠損が中国でどのように分布するか、それが中国人のリポ蛋白代謝にどのような意義を持つか、また、CETP欠損の表現型に影響する因子は何か、などについて明らかにすることである。

## 方法

### 1. 対象

北京, 成都, ハルピンの3カ所を調査地点として, 健康診断受診者から採血した. 比較の目的で札幌でも同様の検討を行った.

### 2. 血清脂質分析

検診での血漿総コレステロール (TC), トリグリセリド (TG), HDLコレステロール (HDL-C) 濃度測定値を採用した. D442G変異例については, 凍結保存血漿を用いて一元免疫拡散法によるアポリポ蛋白測定を行った.

### 3. 遺伝子解析

DNA解析にはEDTA血球を用いた. 既報のPCR反応によりCETP遺伝子を増幅後, 制限酵素による切断パターンからD442G変異とInt14A変異の有無を判定した. D442G変異が中国人の寿命に与える影響を検討する目的で,  $\geq 70$ 歳以上の高齢者の病院受診者からも採血して同様の検索を行った (札幌, 北京のみ). また, 遺伝子変異が共通祖先遺伝子に由来するかどうかを明らかにする目的で, CETP遺伝子のイントロン9についてhaplotypingを行った.

### 4. CETP活性測定

北京の正常者とD442G変異例について, 既報の方法によるCETP活性測定を行った. 比較の目的で札幌でも同様の測定をおこなった.

### 5. ライフスタイルに関する情報

肥満度の指標としてBody Mass Indexを算出した.

## 結果

各調査地点の対象者の年齢, BMI, D442GとInt14Aの頻度を表1示す. 北京とハルピンでは, 日本と同等の頻度でD442Gが検出されたが, 成都ではやや低い傾向がみられた (統計学的に有意ではない). Int14Aは中国では検出されず, 北京と札幌との頻度の差は統計学的にも有意であった. BMIは調査地点間で有意な差を認めなかった.

血清脂質の結果を表2に示す. 正常者については, 中国の各地点では, 札幌と比較してTC, HDL-C, LDL-Cのいずれも低い値を示した. D442G変異例と正常者との比較では, 札幌においては変異群でHDL-Cの有意な増加を認めたが, 中国の北京とハルピンでは, HDL-Cレベルには差がなく, TCとLDL-Cが有意に

低かった。成都でも同様の傾向を認めた。

D442G変異例の血清アポ蛋白では、札幌ではHDLの構成蛋白であるapoA-Iの高値が目立つが、中国ではLDLの構成蛋白であるapoBの低値が目立つ所見であった。これは血清脂質の成績と矛盾しない結果であった（表3）。

高齢者のD442G変異の頻度を表1の標本集団と比較すると、札幌ではやや頻度が低く、北京では逆にやや高い傾向ではあったが、これは統計学的に有意ではなかった（表4）。

D442GのCETP活性は、日本では正常者の61%に低下していた。これに対し、北京の正常者は日本の正常者の69%の活性を有しており、D442G変異例はその37%の活性しか有していなかった（表5）。すなわち、中国人（北京）は日本人より低いCETP活性を有しており、その傾向はD442G変異例でいっそう顕著であった。

#### 考察

本研究により、D442G変異が中国に広く分布することが明らかとなった。日本人のD442G変異との関係については、我々は、両者が共通の祖先遺伝子に由来することをhaplotypingによって確認した（結果は示さない）。我々は、韓国におけるD442Gの存在と、そのhaplotypeが日本や中国と共通することも確認している。このことから、D442G変異は北アジアに広く分布する遺伝子であることが示され、D442G変異の起源は北アジアへの人類分布のかなり早期にまで遡れる可能性が示唆された。人類学的に北部中国とは一線を画する揚子江南部の成都で、統計学的には有意でないものの、やや低いD442G遺伝子頻度が確認されたが、このことは、D442G変異の北アジア起源を示唆するのかもしれない。しかし、少数例の検討で結論することはできないので、更に例数を増やすとともに、東南アジア地域の調査も行う必要がある。

本研究では、いずれの地点の中国人D442G変異群においても高HDL-C血症は観察されず、むしろ低LDL-C血症と低コレステロール血症が観察された。アポ蛋白の測定結果も脂質のパターンに合致したので、この現象は脂質測定上の過誤によるものではない。これまでの日本人の成績やハワイの日系人の成績では、HDL-Cの有意な増加が共通の所見として報告されているが、TCやLDL-Cの低下はいずれの報告にも認められない。この中国人の成績の特異性に関連して重要と思われるのは、中国人の血清TC濃度が日本人と比べて低値である点である。

上海の中国人の血清脂質レベルの報告によれば、中国人の血清TCが日本人のそれと比較して明らかに低いが、一方では、シンガポールや台北に在住する中国人の血清脂質レベルは日本人のそれと似ていることが報告されており、本研究で観察された北京在住の中国人の血清脂質レベルが低いという特徴は遺伝的要因ではなく環境因子を反映していると考えられる。しかし、今回のBMIの比較では日本と中国に明らかな差を検出できず、環境要因の何が脂質レベルに差を生じさせたかは現時点では明らかではない。この点については、我々は食事内容まで含めた調査を続行中である。

高脂肪食では血清脂質の増加とともに血中CETP活性の増加が観察される。この事実から、比較的低脂血症にある中国人では血中CETP活性の低下が予想される。実際に、本研究では、中国人非変異者のCETP活性が日本人非変異者のそれより有意に低下していることが示された。CETPの低下がLDLとHDLの間のcholesterolのバランスをHDL側に傾けることは、CETPの生理的機能がHDLからLDLへcholesteryl esterを転送することである点を考慮すれば明白である。中国人では、低コレステロール血症の存在に対して、LDL-Cを低下させることを代償にHDL-Cを高く維持しようとするメカニズムが働いていると考えられる。血清TCレベルがhumanと比べてかなり低いratやguineapigでは、CETP活性が非常に低く、血漿リポ蛋白としてはHDLが主体となりLDLは著しく減少する。中国人の脂質プロファイルの特徴は、これらの小動物での特徴と一致しており、低コレステロール状態への適応現象と考えることができる。

中国人のD442G変異群でCETP活性が著しく低いことは、同群の血清レベルの特徴と関連していると考えられる。すなわち、中国人変異群では、表2に示したように正常群よりも強い低コレステロール状態にあるため、CETP合成が正常群よりも更に低下していると推測される。その結果、遺伝子変異（アミノ酸置換）だけから予想されるよりも大きな血清CETP活性の低下が生じると解釈できる。

では、中国人変異群で中国人正常群よりも低い血清TCレベルの原因は何であるか。両群でコレステロール摂取量に差があるとは考えづらい。可能な説明の一つは、中国人変異群では血漿リポ蛋白（特にLDL）の代謝回転が亢進しており、血漿から早くに消失するという考えである。CETP欠損では、当然ながら、VLDLやLDLのTG含量が大きく、逆にこれらのコレステロール含量は低い。TGはlipoprotein lipaseによって水解を受け、free fatty acidやglycerolとなってリポ蛋白から遊離し、リポ蛋白粒子そのものは小型化する。これに対してcholesteryl

esterは水解を受けないためリポ蛋白粒子に留まる性質があり、リポ蛋白の小型化という面では不利に働く。VLDLから中間比重リポ蛋白（IDL）を経てLDLに至り、ついにLDL受容体に取り込まれるためには、リポ蛋白の小型化は必須のプロセスであることを考慮すると、このような考えは検討に値すると思われる。このようなりポ蛋白代謝面の違いの他に、肝におけるコレステロール合成の差や、腸管におけるコレステロール吸収の差などに説明を求めることも可能であろう。中国人D442G変異群の低コレステロール血症と低LDL-C血症のメカニズムの解明には今後の更なる研究が必要である。

中国人のD442G変異が中国人の寿命に関してどのような影響を持つかは重要な問題である。ごく最近、ハワイ在住の日系人において、D442G変異群は非変異群に比較して1.61倍の冠動脈疾患のリスクを負うという結果が報告された。ハワイ在住日本人のD442G変異群の血清脂質プロファイルは中国人変異群のそれと大きく異なっており、彼らの結果を中国人に直ちに当てはめることはできない。欧米化の進む中国の将来におけるD442G変異の予後を予測するデータとしてはハワイの日系人の成績は貴重であるが、現時点でD442G変異が中国人の動脈硬化の予後にどのように影響しているかを明らかにするには中国での大規模な疫学調査が必要である。今回の我々の成績では、北京の高齢者のD442G変異の頻度は比較的若年のグループと比較して統計学的に有意な差は認められず、この結果からはD442G変異の中国人の長寿に及ぼす影響はないという結論が導かれる。しかし、これは小さい集団での比較であり、性急な結論は控えるべきであろう。我々は更に大集団での検討でこの問題の結論を見いだしたいと考えている。

中国では都市部を中心に急速にライフスタイルの西洋化が進行しており、今後は農村部でも同様の傾向が進むと予想される。中国人と類似の遺伝形質を有する日本人は、過去に同様の道を歩んできて、現在は高脂血症や動脈硬化性疾患の治療に多大な労力と経費を費やしている。世界的に社会資源が枯渇する中で、人類が同じ過ちを繰り返すことは避けなければならない。その意味で、中国人の遺伝形質を理解し、それに適したライフスタイルを模索する努力を今後も継続する必要があると思われる。

## 謝辞

本研究成果は高脂血症関連の国際雑誌に発表される予定である。本研究をご支援頂いた日中医学協会と関係者の皆様に深く感謝致します。

表 1. CETP欠損の頻度の比較

	n	年齢	BMI	D442G	Int14A
札幌	160	34±8.9	21.9±1.6	5.70%	1.30%
北京	379	36±11.3	20.1±2.3	4.20%	0% <sup>a</sup>
ハルビン	121	33±8.0	20.3±1.9	5.80%	0%
成都	136	35±12.6	21.3±2.2	2.20%	0%

<sup>a</sup>P<0.05 vs. Sapporo (Fisher's exact probability test)

表 2. CETP欠損の血清脂質への影響

		n	TC	TG	HDL-C	LDL-C
札幌	正常	149	176±28	103±62	60±12	97±28
	CETP欠損	11	174±26	96±56	71±10 <sup>a</sup>	86±19
北京	正常	366	146±36 <sup>b</sup>	106±71	48±12 <sup>b</sup>	77±30 <sup>b</sup>
	CETP欠損	16	122±28 <sup>a,b</sup>	99±26	46±9 <sup>b</sup>	56±24 <sup>a,b</sup>
ハルビン	正常	114	153±26 <sup>b</sup>	76±29	52±9 <sup>b</sup>	85±22
	CETP欠損	7	134±18 <sup>a,b</sup>	113±35	49±9 <sup>b</sup>	63±19 <sup>a,b</sup>
成都	正常	133	158±33 <sup>b</sup>	99±41	54±9 <sup>b</sup>	84±20
	CETP欠損	3	148±22 <sup>b</sup>	123±31	54±8 <sup>b</sup>	70±28

<sup>a</sup>P<0.05 vs. normal and <sup>b</sup>P<0.05 vs. Sapporo (Mann-Whitney U test).

表3. D442G変異者の血漿アポ蛋白レベル

		apoA-I	apoB	apoE
	n	mg/dl	mg/dl	mg/dl
札幌	11	172±35	74±15	4.6±1.2
中国	26	121±19 <sup>a</sup>	66±13 <sup>a</sup>	4.4±1.3

<sup>a</sup>P<0.05 vs. Sapporo.

表4. 高齢者におけるD442G変異の頻度

	n	年齢	D442G
札幌	82	75±4.3	3.60%
北京	39	73±6.9	7.90%

表5. 正常者とD442G変異者のCETP活性の比較

		n	CETP活性
札幌	正常	10	13.8±1.9
	D442G	10	8.4±1.8 <sup>a</sup>
北京	正常	20	9.5±2.3 <sup>b</sup>
	D442G	15	3.5±2.5 <sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>P<0.05 vs. normal and <sup>b</sup>P<0.05 vs. Sapporo.