

メタボリック・シンドロームの診断指標としての レムナント様リポ蛋白 (RLP) コレステロール

Remnant-like Particle Cholesterol as a Marker of Metabolic Syndrome.

さくら ばやし いくのすけ なか じま かつ ゆき
櫻 林 郁之介¹⁾：中 嶋 克 行²⁾

Ikunosuke SAKURABAYASHI Katsuyuki NAKAJIMA

<キーワード>

レムナント様リポ蛋白 (remnant-like lipoprotein particles)、カイロミクロン・レムナント (chylomicron remnant)、VLDL レムナント (VLDL remnant)、IDL、メタボリック・シンドローム (metabolic syndrome)。

はじめに

レムナント・リポ蛋白は血中 Triglyceride (TG)-rich リポ蛋白が代謝の過程で何らかの障害を受け速やかに代謝されず、血中に長時間うっ滞されるリポ蛋白の総称と考えられている。したがってその形状は単一でなく、ヘテロの TG-rich リポ蛋白の総称と考えられている。血中でレムナント・リポ蛋白として検出されるリポ蛋白は、 β -VLDL、カイロミクロン・レムナント (CM・R)、VLDL レムナント、IDL と高脂血症の種類により、その主なる分画が異なる事が知られている。レムナント・リポ蛋白の概念が最初に提唱されたのは1970年、Redgraveによるカイロミクロン・レムナントの発見に端を発している¹⁾。その際、レムナントの定義としては血中で比較的長時間、代謝されずに残るコレステロール・エステル-rich な TG-rich リポ蛋白であった。しかしその後開発された分離分析法の違いにより、レムナント・リポ蛋白の定義が少しずつ異なっており、統一したレムナント・リポ蛋白測定法は現在まだ確立されていない。

レムナント様リポ蛋白 (RLP) コレステロール測

定法 (RLP-C) はコレステロール-rich、アポ E-rich というレムナントの定義に当てはまる TG-rich リポ蛋白を特異抗体を用いて分離し、そのコレステロール濃度を測定する方法である²⁾。本法は用いたアポ B-100 モノクローナル抗体の特異性により、上記の異なる種類のレムナントを幅広く検出³⁾しており、かつ現状ではレムナント・リポ蛋白を反映する唯一の定量法と考えられている。最近、酵素法による自動化 RLP-C 測定法が開発され、HDL-C、LDL-Cと同様に簡便に測定することが可能となり、広く一般検査として普及する可能性がでてきた。臨床的には LDL-C が正常、異常にかかわらず、メタボリック・シンドロームにおいて特にその診断的有用性が認められている。

I. 検査の目的

高コレステロール血症は冠動脈疾患の危険因子としてその生理的意義は確立されているが、その本体は LDL-コレステロールであり、さらにそれが酸化された酸化 LDL が原因と考えられている。一方、高 TG 血症は Framingham Heart Study において高 TG が女性において冠動脈疾患の危険因子であることが示されたが、その後数多くのメガ・トライアルのサブグループ・アナリシスから同様な結果が報告されている。レムナントは高 TG 血症の病因本体として冠動脈疾患惹起作用を担うと考えられているが、最近中嶋ら⁴⁾により血中における主なる酸化リポ蛋白 (酸化ストレス) は、酸化 LDL ではなくレムナント・リポであることが提唱された。

1) 自治医科大学大宮医療センター 臨床検査部
〒330-8503 埼玉県さいたま市大宮区天沼町 1-847

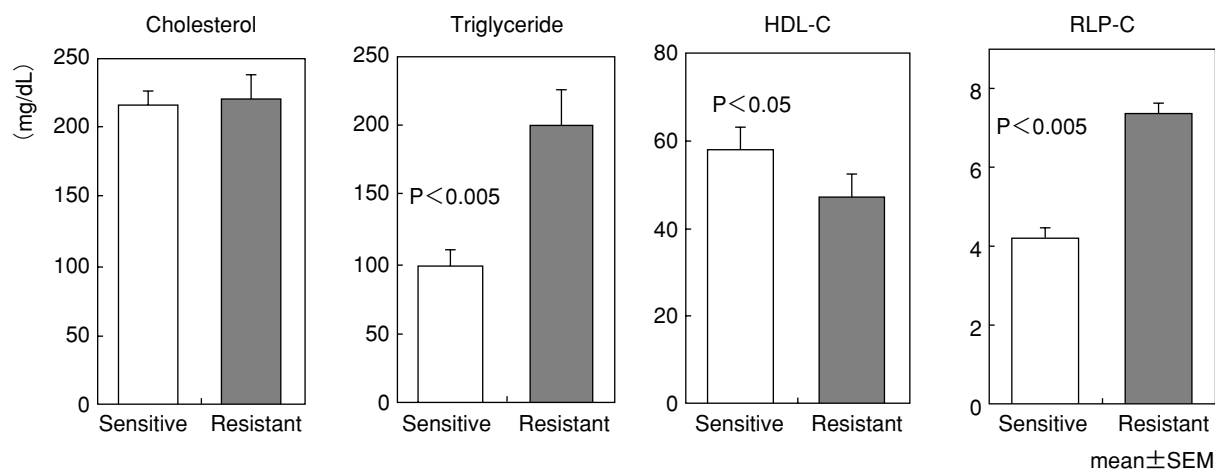
2) 大塚製薬株式会社 診断事業部
〒101-8535 東京都千代田区神田司町 2-6 平沼ビル 3 階

1) Department of Laboratory Medicine, Omiya Medical Center, Jichi Medical School
(1-847 Amanuma, Omiya, Saitama-City, Saitama)
2) Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd
(3F, Hiranuma Bldg., 2-6, Kanda, Tsukasa-cho, Chiyoda-ku, Tokyo)

現在まで標準法となるレムナント・リポ蛋白定量法がなかったため、Prospective Studyに基づく十分な臨床データが得られていない⁵⁾。現在わが国で久木山らにより、RLP-C法を用いて大規模な臨床試験、“DISCOVER Study”が進行中である。この薬剤介入臨床試験の結果から、薬剤を用いてRLP-Cを低下させる事により、冠動脈疾患がどこまで改善されるかが明らかにされるものと思われる。

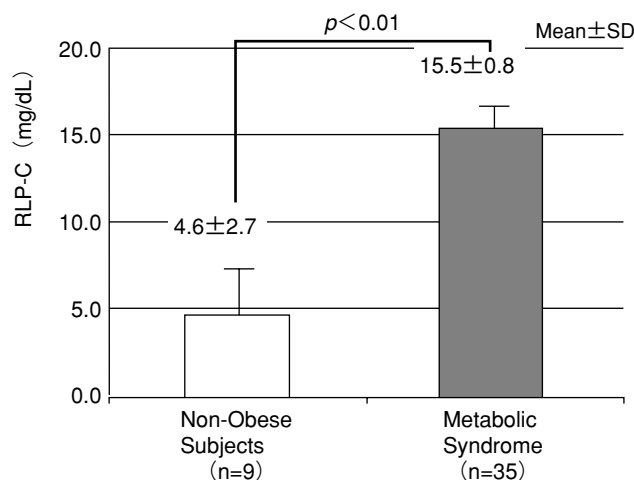
一方、2001年にNational Cholesterol Education Program (NCEP)の成人治療パネル(ATP III)により発表されたメタボリック・シンドロームの診断項目として、腹部肥満、血圧、空腹時血糖に加え、高TG血症(150mg/dL以上)、低HDL-C(40mg/dL

以下)が示された。メタボリック・シンドロームとはLDL-Cが正常、異常に関係なく、心筋梗塞や脳卒中のリスクが高い生活習慣病と分類されている。これらはスタチンによるLDL-C低下治療のほかに追加治療が行われる必要があるとされている。高TG、低HDL-Cはそのまま高レムナント血症を反映するものであり、RLP-Cはレムナントの定量検査法として位置づけられている。RLP-Cはすでにインスリン抵抗性を反映する指標^{6, 13)}(図1)として知られ、メタボリック・シンドロームで高値を示す⁷⁾(図2)ことにより、Beyond LDL-Cとしての有用なリスク評価指標になり得ることが期待される。



Abbasi F, McLaughlin T, et al. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84 : 3903, 1999.

図1 糖尿病ではないが、インスリン抵抗性を有する女性における空腹時血中 RLP-C 値およびトリグリセリド値¹³⁾



Chan DC, et al. *Clin Sci* 104 : 383-388, 2003.

図2 メタボリックシンドロームと非肥満者における RLP-C 値の比較⁷⁾

II. 試料の採取方法, 保存条件

血液の採取は通常、朝食前空腹時に行うが、レムナントは食後有意に上昇するため、脂質代謝異常の診断を目的とする場合には、むしろ食後の採血、あるいは脂肪食負荷後の採血が臨床的により有用な場合が多い。従って RLP-C の基準値を設定する際、空腹時のみでなく食後あるいは随時採血の際の基準値の設定も必要である⁸⁾。空腹時、食後採血いずれの血液も、血清分離後冷蔵保存し、速やかに測定することが望ましい。試料は冷蔵保存にて1週間は測定値に影響はないが、それ以後はやや高値に変動する場合がある。長期保存に関しては -80°C にて採血後速やかに保存すれば、1年にわたり保存が可能である。検体は血清ならびに血漿（ヘパリン、EDTA 等）いずれも可能である。

III. 測定法

現在行われている RLP-C 測定法は、Sephrose 4B に固相化した2種類のモノクローナル抗体（抗ヒトアポ B-100, 抗アポ A-I）による Immunoseparation Assay であり、RLP を他のリポ蛋白（HDL, LDL, nascent VLDL 等）から分離し、RLP 中のコレステロール含量を定量する測定方法である。つまり固相化アポ A-I 抗体により CM ならびに HDL、固相化アポ B-100 抗体により nascent VLDL と LDL が結合除去され、RLP が非結合分画に分離されそのコレステロール値が定量される。特に本法に用いている抗ヒト・アポ B-100 モノクローナル抗体は、アポ B-100 蛋白の B51 位を認識するエピトープを持つためアポ B48 をもつリポ蛋白粒子とは結合しない。CM はアポ A-I を持つため、アポ B48 粒子であっても RLP 分画には検出されない。RLP 分画に存在する CM はアポ A-I を持たないことから、Havel らの定義によりすべて CM レムナント（アポ A-I が離れた CM は CM レムナントとする）と考えられている⁹⁾。

また、アポ B-100 を含む VLDL のうち約 1/3 を占めるアポ E-rich VLDL は、この抗アポ B-100 抗体に反応しないため RLP として分離される。したがって本測定法によって検出される RLP はアポ A-I、アポ B-100 を持たない CM レムナントと、アポ

E-rich な VLDL（アポ B-100 を含む）であり、これらのリポ蛋白のコレステロール値の総和が RLP-C 値として示される。RLP はアポ E-rich であるとともに、アポ CIII-rich であることも明らかになっている。

なお、本法は抗体 Immunoseparation Assay のため、LpX のようなリポ蛋白の表面上にほとんどアポ蛋白を持たないリポ蛋白、肝硬変のような場合に出現する異常リポ蛋白、特殊な遺伝的疾患（LCAT 欠損症、CETP 欠損症、その他）においては異常値を示す場合があり、このようなケースにおいては測定値の判定に注意をする必要がある。

最近開発された酵素法については、測定原理、方法等の詳細な内容の報告がなされていないが、抗体を用いた現行法とは高い相関（ $r > 0.95$ ）を示すことが報告されている¹⁰⁾。

IV. 基準値

健常日本人空腹時 649 例（ $\text{TC} < 220\text{mg/dL}$, $\text{TG} < 150\text{mg/dL}$ ）の RLP-C 値より、基準値 $3.8 \pm 1.9\text{mg/dL}$ （ $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ ）が得られた。また、冠動脈疾患や糖尿病を有する疾患群においては、 5.2mg/dL 以上がハイリスク域であることが最近明らかになった¹¹⁾。

血清 RLP-C 値は、男性のほうが女性よりも高値を示すこと、また年齢とともに高値になり 50 歳以降は男女同じレベルを示し、70 歳以降では下降傾向が認められている。また Framingham Study による健常米国人空腹時 2,821 例（ただし血清脂質は正脂血症のみではない）の RLP-C 値が報告されているが、日本人の場合と同様の傾向を示しているものの、絶対値としては有意に高値を示した¹²⁾。これは人種差の違いによると考えるよりも、摂取する動物性脂肪の過多が大きく影響していると考えられる。また地域差も認められており、都市部、農村部に比べて、漁村部は低値を示す傾向が認められている。

V. 生理的変動（測定値に影響を及ぼす因子）

RLP-C は外因性レムナント（CM レムナント）を含むため、空腹時と食後の値に大きな差が認められる。健常者の血中 RLP-C 値は食後 3～4 時間でピークになり、冠動脈疾患群ではピーク時がさらに

遅れかつ継続する。このレムナントの処理能を知るには脂肪負荷テスト (40g/m) を行い、2時間ごとに採血 (摂取後 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 時間) を行いその変動を調べる。1日のうち活動時間はほとんどが食後の状態であり、血糖値と同じ傾向の日内変動が認められている。

その他、生理的変動要因としては、TG の測定に見られる変動の原因と同様の傾向を示す。

VI. 臨床的意義

RLP-C は動脈硬化性疾患として知られる冠動脈疾患、脳梗塞、頸動脈硬化、末梢動脈硬化において有意に高値が報告され、メタボリック・シンドロームの診断指標の1つとして注目されている。Framingham Study では、これらの動脈硬化性疾患において高レムナント血症が女性で HDL-C, LDL-C よりも強い独立した危険因子であることが報告されている¹²⁾。これらアテローム硬化の発症機構として、RLP がマクロファージに取り込まれやすく、マクロファージの泡沫化の促進や血小板の凝集作用亢進、血管攣縮作用、その他動脈硬化惹起作用に関連する生理活性が報告されている。

また糖尿病患者、IGT において、RLP-C は有意に高値を示すことが知られ、冠動脈疾患、腎疾患などの合併症との関連も報告されている。その他、冠動脈硬化をほとんど認めない心臓性突然死例においても高レムナント血症が認められ、RLP と血栓、攣縮との関係が報告されている。

RLP-C は外因性レムナントを含むことから、食事療法、運動療法によく反応する。RLP-C を低下させる薬剤としては、ベザフィブレートなどのフィブレート系薬剤、アトーヴァスタチンに代表されるスタチン類、EPA、ナイアシン、プレタール等が知られているが、プロブコールによる RLP-C の低下作用とそのメカニズムはいまだに不明である。

文 献

- 1) Redgrave TG.: Formation of cholesterol ester-rich lipid particle during metabolism of chylomicrons. I Clin Invest **49** : 455-459, 1970.
- 2) Nakajima K, Saitou T, Tamura A et al.: Cholesterol in remnant-like particles in human serum using monoclonal anti apo B-100 and anti apo A-I immunoaffinity mixed gel. Clin Chim Acta **223** : 53-71, 1993.
- 3) Okazaki M, Usui S, Tada N, et al.: Relation between RLP-triglyceride to RLP-cholesterol ratio and particle size distribution in RLP-cholesterol profiles by HPLC. Clin Chim Acta **296** : 135-149, 2000.
- 4) Nakajima K, Nakano T, Tanaka A.: The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. Clin Chim Acta 2006. in press.
- 5) Kugiyama K, Doi H, Takazoe K, et al.: Remnant lipoprotein levels in fasting serum predict coronary events in patients with coronary artery disease. Circulation **99** : 2858-2860, 1999.
- 6) Ohnishi H, Saitoh S, Takagi S et al.: Relationship between insulin-resistance and remnant-like particle cholesterol. Atherosclerosis **164** : 167-170, 2002.
- 7) Chan DC, Watts GF, Barrett PH, et al.: Relationship between cholesterol homeostasis and triglyceride-rich lipoprotein remnant metabolism in metabolic syndrome. Clin Sci **104** : 383-388, 2003.
- 8) Leary ET, Wang T, Baker DJ, et al.: Evaluation of an immunoseparation method for quantitative measurement of remnant-like particle-cholesterol in serum and plasma. Clin Chem **44** : 2490-2498, 1998.
- 9) Vinge JL, Havel RJ.: Metabolism of apolipoprotein A-I of chylomicrons in rats and humans. Can J Biochem **59** : 613-619, 1981.
- 10) Miyauchi K, et al.: Development of homogeneous assay for measuring remnant-like particle cholesterol in serum. Clin Chem **51** (Supple 6) : A129, 2005.
- 11) 田中明: 冠動脈疾患における RLP 測定の意義. 医学のあゆみ, 別冊 “高脂血症と動脈硬化, 2002 年 7 月 15 日号 : p178-183.
- 12) McNamara JR, Shah PK, Nakajima K, et al.: Remnant-like particle (RLP) cholesterol is an independent cardiovascular disease risk factor in women : results from the Framingham Heart Study. Atherosclerosis **154** : 229-237, 2001.
- 13) Abbasi F, McLaughlin T, Lamendola C, Yeni-Komshian H, Tanaka A, Wang T, Nakajima K, Reaven GM.: Fasting remnant lipoprotein cholesterol and triglyceride concentrations are elevated in nondiabetic, insulin-resistant female volunteers. J Clin Endocrinol Metab **84** : 3903-3906, 1999.