

高脂血症および正脂血症患者における高レムナント様リポ蛋白の末梢血管内皮依存性弛緩能に及ぼす影響：ドップラー血流解析からの検討

Impact of High Remnant-Like Lipoproteins on the Function of Peripheral Arterial Endothelium in Patients With Hyperlipidemia and Normolipidemia: Estimation Using Doppler Flow Analysis

船田 淳一
関谷 達人
大谷 敬之
渡邊 浩毅*
阿久津 弘

Jun-ichi FUNADA, MD
Michihito SEKIYA, MD, FJCC
Takashi OTANI, MD
Kouki WATANABE, MD*
Hiroshi AKUTSU

Abstract

Objectives. Cholesterol levels of remnant-like lipoprotein (RLP-cholesterol: RLP-C), which reflect remnant lipoproteins, are associated with coronary arterial endothelial functions and cardiovascular events. The influence of RLP-C on peripheral vascular endothelial functions in patients with hyperlipidemia and normolipidemia was evaluated based on the reactivity of the antecubital artery to acetylcholine (Ach) and isosorbide dinitrate (ISDN) using a Doppler guidewire.

Methods. Protocol 1: Five patients were selected, and the dose-response of the antecubital artery was evaluated by administering Ach (0.5, 5, and 50 μ g/30 sec) or ISDN (0.025, 0.25, and 2.5 mg/30 sec). An index of vascular reactivity (brachial artery response: BR) was determined by dividing the maximal blood flow velocity after the administration of Ach or ISDN by resting blood flow velocity. Protocol 2: BR was evaluated in 48 patients after administering Ach 50 μ g or ISDN 2.5 mg. Subsequently, these patients were divided into the following three groups based on early morning RLP-C levels: Group L ($n = 11$), RLP-C < 2.0 mg/dl (minimal detectable level); Group M ($n = 21$), 2.0 mg/dl \leq RLP-C < 5.0 mg/dl; and Group H ($n = 16$), 5.0 mg/dl \leq RLP-C. The factors that regulate BR-Ach 50 μ g were also evaluated in 34 normolipidemic patients.

Results. Protocol 1: BR dose-dependently increased after the administration of Ach and ISDN. Protocol 2: BR-Ach 50 μ g was significantly less in Group H (3.1 ± 0.8) than in Groups M (3.8 ± 0.9 , $p < 0.03$) and L (4.2 ± 0.9 , $p < 0.01$). However, there were no significant differences in BR-ISDN 2.5 mg between the three groups. Univariate analysis in normolipidemic patients revealed that BR-Ach 50 μ g was correlated with age ($r = -0.355$, $p < 0.05$), RLP-C ($r = -0.488$, $p < 0.01$), low-density lipoprotein cholesterol ($r = -0.382$, $p < 0.03$), systolic blood pressure ($r = -0.354$, $p < 0.05$), and diastolic blood pressure ($r = -0.406$, $p < 0.02$). Multivariate analysis using these five factors as independent variables revealed that age, RLP-C, and low-density lipoprotein cholesterol regulated BR-Ach 50 μ g.

Conclusions. Peripheral vascular endothelial dysfunction may occur in patients with high levels of RLP-C. RLP-C is an independent lipid factor that regulates peripheral vascular endothelial functions even in normolipidemic patients.

J Cardiol 2001; 37(5): 267-276

Key Words

Acetylcholine Doppler ultrasound Endothelium Lipoproteins
Peripheral vasculature Risk factors

国立療養所愛媛病院 循環器科: 〒791-0281 愛媛県温泉郡重信町横河原366; * 済生会西条病院 循環器科, 愛媛
Division of Cardiology, Ehime National Hospital, Ehime; * Division of Cardiology, Saiseikai Saijo Hospital, Ehime

Address for correspondence: FUNADA J, MD, Division of Cardiology, Ehime National Hospital, Yokogawara 366, Shigenobu-cho,
Onsen-gun, Ehime 791-0281

Manuscript received January 22, 2001; revised March 5, 2001; accepted March 6, 2001

はじめに

血漿リポ蛋白濃度と冠動脈疾患との関連は、これまでいくつかの疫学的研究により明らかにされており、とくに低比重リポ蛋白コレステロールの上昇、高比重リポ蛋白コレステロールの低下は、いずれも冠動脈疾患の独立した危険因子として確立されている¹⁻⁴⁾。一方、中性脂肪に関しては従来、冠動脈疾患との関連が疑問視されていたが^{2,5)}、空腹時中性脂肪レベルではなく食後の高中性脂肪血症が冠動脈疾患の独立した危険因子であるとの報告⁶⁾や、脂肪食負荷後のカイロミクロンレムナントや超低比重リポ蛋白レムナントと冠動脈硬化の進展に関する報告^{4,7)}により、食後一過性の高中性脂肪血症や随伴して生じるレムナントリポ蛋白の動脈硬化の進展における役割が注目されている。このように臨床的に中性脂肪と冠動脈疾患を評価するには、高中性脂肪血症を呈するさまざまな病態における各リポ蛋白分画の相対的異常、とくにレムナントを代表とした動脈硬化惹起性中性脂肪リッチリポ蛋白の評価が重要事項である^{4,7-9)}。

レムナントリポ蛋白はカイロミクロン、超低比重リポ蛋白と異なった代謝経路における一過性の代謝産物であり、臨床的に簡易測定は困難である。Nakajimaら¹⁰⁾によりレムナントリポ蛋白を反映するレムナント様リポ蛋白(remnant-like particles: RLP)の分離が確立され、RLP中のコレステロール濃度(RLP-cholesterol: RLP-C)と冠動脈疾患の関係を示唆する報告¹¹⁻¹⁴⁾が相づいでいる。さらに血中RLP-C濃度と冠動脈内皮機能^{15,16)}、心血管事故^{11,12,17)}の関連が報告され、RLP-Cは冠動脈疾患の独立した危険因子として認識されつつある。

また高血圧¹⁸⁾、高脂血症^{19,20)}、喫煙²¹⁾、糖尿病²²⁾などの冠危険因子を有する患者においては冠動脈だけではなく、末梢血管においても内皮依存性の拡張反応の低下を認めることが多数報告されている。末梢血管と冠動脈の内皮機能は良好に相関することが示されており²³⁾、末梢血管内皮機能の評価は将来の動脈硬化の進行、心血管事故の発症を予測するうえで重要と考えられる。近年、主に冠循環に対してドップラーガイドワイヤーを用いた血流動態(速度)の変化による内皮機能の評価が報告されている²⁴⁻²⁷⁾。我々は、RLP-Cの末梢血管内皮機能に及ぼす影響を評価するために、内皮依

存性拡張物質であるアセチルコリン(acetylcholine: Ach)と内皮非依存性拡張物質である硝酸イソソルビド(isosorbide dinitrate: ISDN)に対する血管反応性をドップラーガイドワイヤーによる前腕動脈の血流動態から検討した。

対象と方法

1. プロトコル1: 用量反応試験

末梢血管内皮機能を評価するうえで、冠危険因子(高血圧、高脂血症、糖尿病、喫煙歴)のない正常冠動脈患者を選択し、Ach、ISDNに対する用量反応試験を施行した。虚血性心疾患精査のため心臓カテーテル検査を施行した5例を対象とした。男性3例、女性2例、平均年齢50歳(年齢範囲40-61歳)であった。全例左右冠動脈に有意狭窄所見は認められず、臨床的に冠攣縮性狭心症を疑った3例ではAch負荷冠動脈造影における心外膜側冠動脈の攣縮は認められなかった。すべての心血管作動薬を48時間以上中止した後、右大腿動脈穿刺により心臓カテーテル検査を左室造影、左右冠動脈造影の順に施行した。検査終了15分後に右冠動脈造影用カテーテルを用いて左鎖骨下動脈を経由し、カテーテル先端を左上腕動脈遠位部に留置した。つぎに右冠動脈造影用のカテーテルを通して先端に15 MHzのドップラー端子を有するFlowire(Cardiometrics製)を肘関節近位部約1-4 cmに留置して、左上腕動脈の1心拍中の安静時血流速度(rest average peak velocity: restAPV)を接続したコンピューターFlomap(Cardiometrics製)を用いて測定した。restAPVを測定後、造影剤5 mlを上腕動脈に注入し、Flowire留置部位の上腕動脈血管径をシネアンジオ自動解析装置DAR-240(島津製)を用いて辺縁検出法により計測した。安静時上腕動脈血流量は以下の換算式により算出した。

$$\text{安静時上腕動脈血流量(ml/min)} = \text{上腕動脈断面積} \\ (\text{cm}^2) \times \text{restAPV}(\text{cm/sec}) \times 60 \dots\dots\dots (A)$$

上腕動脈血流速度がrestAPVに回復した後、0.9%生理食塩水20 mlに溶解したAch 0.5 μgを30秒間で左上腕動脈に留置した造影用カテーテルを通じて上腕動脈内に注入した。Ach投与後の上腕動脈血流速度の変化をFlomapにより経時的に観察し、最大反応時の血流速度[maximal average peak velocity-Ach(APV_{max-Ach})] 0.5 μg]を記録した。APV_{max-Ach} 0.5 μg/restAPVをAch

0.5 μg 投与時における上腕動脈の血管反応性の指標 [brachial artery response-Ach (BR-Ach) 0.5 μg] として算出した。つぎに上腕動脈血流速度が restAPV に回復した後、Ach 5, 50 μg を同様な方法でカテーテルを通じて動脈内に注入し、APV_{max}-Ach 5, 50 μg を記録し、BR-Ach 5, 50 μg を算出した。また APV_{max}-Ach 50 μg を記録直後に造影剤 5 ml を用いて Flowire 留置部位の上腕動脈血管径を計測し、最大反応時の上腕動脈血流量を上記の式 (A) に準じて算出した。

つぎに ISDN に対する用量反応試験を追加した。上腕動脈血流速度が restAPV に回復の後 ISDN 0.025, 0.25, 2.5 mg を 0.9% 生理食塩水で計 20 ml に希釈し、順に造影力カテーテルを通じて 30 秒間で上腕動脈内に注入した。Flomap により APV_{max}-ISDN 0.025, 0.25, 2.5 mg を求め、それぞれ restAPV との比により BR-ISDN 0.025, 0.25, 2.5 mg を算出した。ISDN に関しても APV_{max}-ISDN 2.5 mg を記録直後の上腕動脈血流量を式 (A) に準じて算出した。プロトコル 1 を施行するにあたり、全患者に書面による同意を確認した。

2. プロトコル 2: レムナント様リポ蛋白コレステロールと血管内皮細胞

虚血性心疾患精査のため、診断的心臓カテーテル検査を施行した 48 例を対象とした。男性 32 例、女性 16 例、平均年齢 59 歳 (年齢範囲 37 - 74 歳) であった。冠動脈造影所見の内訳は 39 例に冠動脈の有意狭窄が認められず、9 例が 1 枝病変であった。左室造影上、左室駆出率が 50% 以下、コントロール不良 (HbA_{1c} \geq 8.0%) の糖尿病、心肥大を有する高血圧症、冠動脈の 2 枝以上に 50% 以上の狭窄が認められる症例は検討から除外した。頓用の硝酸舌下薬を除いたすべての心血管作動薬を 48 時間以上中止した後、右大腿動脈穿刺により心臓カテーテル検査を施行し、プロトコル 1 に準じて心臓カテーテル検査終了 15 分後に右冠動脈造影用カテーテルを左上腕動脈に留置した。Flowire, Flomap を用いて各症例の上腕動脈の restAPV を記録し、Ach 50 μg , ISDN 2.5 mg を上腕動脈内投与後の BR-Ach 50 μg , BR-ISDN 2.5 mg を算出した。全患者を早朝空腹時の RLP-C 値により以下の 3 群に分けた。L 群: RLP-C 値が 2.0 mg/dl (測定感度) 未満の 11 例。M 群: RLP-C 値が 2.0 mg/dl 以上 5.0 mg/dl 未満の 21 例。H 群: RLP-C 値が 5.0 mg/dl 以上の 16 例。3 群間で BR-

Ach 50 μg , BR-ISDN 2.5 mg に関する比較検討を行った。

また空腹時血清脂質値が正常範囲内 (総コレステロール < 220 mg/dl, 中性脂肪 < 150 mg/dl) の 34 例を空腹時正脂血症として 3 群間での BR-Ach 50 μg , BR-ISDN 2.5 mg に関する追加検討を行った。さらに、空腹時正脂血症例における BR-Ach 50 μg の規定因子を単変量・多変量解析を用いて検討した。総コレステロール, 中性脂肪, 高比重リポ蛋白コレステロール, 血糖は院内の臨床検査で、RLP-C は免疫吸着法¹⁰⁾で測定した。低比重リポ蛋白コレステロールは Friedewald の換算式²⁸⁾で算出した。全患者に心臓カテーテル検査施行前に書面による同意を確認した。

3. 統計解析

プロトコル 1 における同一症例間の血管反応性の検討は二元配置分散分析法を用いて解析した。プロトコル 2 における臨床検査データの比較は、中性脂肪を除いて対応のない Student の *t* 検定、ヒストグラムから正規分布を示さない中性脂肪の比較は Mann-Whitney の *U* 検定を用いた。比率の差の比較は χ^2 検定を用いた。血管反応性の 3 群間比較は Fisher の PLSD 法を使用した。2 変数間の単相関は Pearson の相関係数を用いて検討し、多変量解析は StatView-J4.02 (ABACUS concepts 製) の重回帰分析により行った。 $p < 0.05$ を有意差の判定として、すべてのデータは平均 \pm 標準偏差で表記した。

結 果

Fig. 1 に用量反応試験を施行した 58 歳男性の血流速度波形の変化を提示する。安静時血流速度波形は主に収縮期に血流シグナルを認め restAPV は 12 cm/sec であった。Ach 0.5, 5, 50 μg 投与により APV_{max} は用量依存的に増加した。Table 1 に Ach, ISDN に対する用量反応試験 (プロトコル 1) の結果を示す。Ach, ISDN いずれも投与量の増加により血管反応性は有意に増加した。また、同時に施行した上腕動脈造影による血管径より求めた平均上腕動脈血流量は、安静時 (112 \pm 39 ml/min) に比べて最大反応時では Ach 50 μg で約 5 倍 (552 \pm 132 ml/min), ISDN 2.5 mg で約 5.5 倍 (620 \pm 170 ml/min) の増加が認められた。

Table 2 にプロトコル 2 を施行した全 48 例の臨床背

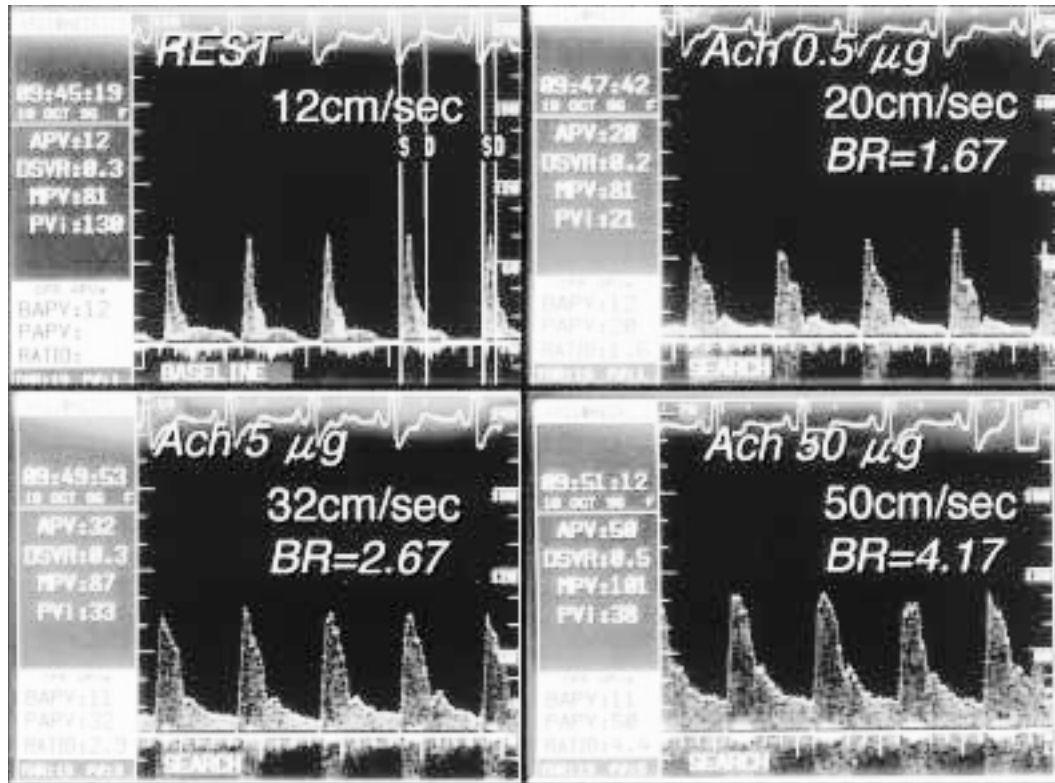


Fig. 1 Doppler flow measurements showing that both brachial artery flow velocity and brachial artery response increase dose-dependently after the administration of acetylcholine
 Upper left: RestAPV = 12 cm/sec. Upper right: APV_{max}-Ach 0.5 μg = 20 cm/sec. BR-Ach 0.5 μg = 1.67. Lower left: APV_{max}-Ach 5 μg = 32 cm/sec. BR-Ach 5 μg = 2.67. Lower right: APV_{max}-Ach 50 μg = 50 cm/sec. BR-Ach 50 μg = 4.17.
 Ach = acetylcholine; BR = brachial artery response (calculated by dividing the maximal blood flow velocity after the administration of Ach or isosorbide dinitrate by resting blood flow velocity); APV = average peak velocity.

Table 1 Dose-responses of brachial artery flow velocity after acetylcholine and isosorbide dinitrate administration in control patients (n = 5)

Rest APV (cm/sec)	BR-Ach				BR-ISDN			
	0.5 μg	5 μg	50 μg	p value	0.025mg	0.25mg	0.5mg	p value
11.6 ± 3.2	2.58 ± 0.68	3.56 ± 0.94	5.06 ± 1.87	0.0067	2.64 ± 0.92	3.52 ± 1.10	4.72 ± 1.68	0.0134

Continuous values are mean ± SD.
 ISDN = isosorbide dinitrate. Other abbreviations as in Fig. 1.

景を示す .RLP-C値はH群で10.5 ± 4.8mg/dlであった . RLPが中性脂肪リッチリポ蛋白である反映として , 中性脂肪値を比較してみると3群間では差が認められた . 血糖値はH群でL群に比べて有意に高値であった . また , 冠危険因子として糖尿病の頻度はH群で高い傾向(44%)が認められた . 全48例のAch 50 μg , ISDN 2.5mgに対する血管反応性をFig. 2に示す . restAPVは

3群間(L群 : 12.2 ± 2.7 , M群 : 13.4 ± 3.1 , H群 : 13.2 ± 3.1)で差がなかった . BR-Ach 50 μgはL , M , H群の順に低下し , H群(3.14 ± 0.78)はL群(4.20 ± 0.93 , p < 0.01) , M群(3.84 ± 0.92 , p < 0.03)に比べて低値であった . BR-ISDN 2.5mgは3群間(L群 : 3.76 ± 0.71 , M群 : 3.78 ± 0.87 , H群 : 3.51 ± 0.81)で差は認められなかった .

Table 2 Patient characteristics(all patients)

	Group L (n = 11)	Group M (n = 21)	Group H (n = 16)
Age(yr)	60 ± 11	57 ± 9	59 ± 10
Male/female	8/3	15/6	10/6
RLP-C(mg/dl)	< 2.0	3.3 ± 0.8	10.5 ± 4.8
TC(mg/dl)	180 ± 33	194 ± 29	204 ± 39
Triglyceride(mg/dl)	100 ± 21	127 ± 37*	177 ± 80**s
HDL-C(mg/dl)	50 ± 16	47 ± 16	42 ± 13
LDL-C(mg/dl)	110 ± 31	121 ± 28	127 ± 44
Glucose(mg/dl)	89 ± 16	101 ± 20	108 ± 22*
Systolic BP(mmHg)	131 ± 16	131 ± 19	136 ± 20
Diastolic BP(mmHg)	82 ± 10	83 ± 12	82 ± 14
Diabetes mellitus(%)	9	29	44
Hypertension(%)	18	24	25
Current smoking(%)	18	14	13
Coronary artery disease(%)	9	19	25

Continuous values are mean ± SD. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs Group L, ^s $p < 0.05$ vs Group M.

Group L: RLP-C < 2.0 mg/dl. Group M: 2.0 mg/dl ≤ RLP-C < 5.0 mg/dl. Group H: 5.0 mg/dl ≤ RLP-C.

RLP = remnant-like particle; TC = total cholesterol; HDL = high-density lipoprotein; LDL = low-density lipoprotein; BP = blood pressure.

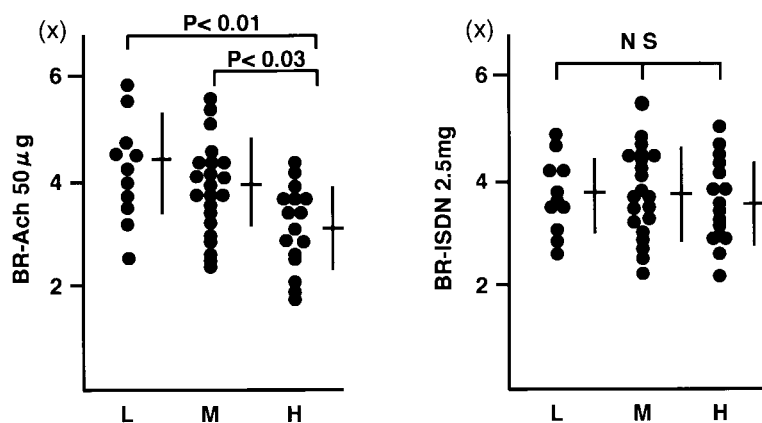


Fig. 2 Comparisons of BR-Ach 50 µg (left) and BR-ISDN 2.5mg (right) between three groups(all patients: n = 48)

Explanation of the groups and abbreviations as in Fig. 1, Tables 1, 2.

つぎに、正脂血症患者のみを対象とした検討では、3群間の臨床背景(Table 3)は同程度であったが、中性脂肪はL群とH群間で差が認められた。血管反応性(Fig. 3)はBR-Ach 50 µgがH群(3.33 ± 0.50)でL群(4.26 ± 0.96)に比べて有意($p < 0.03$)に低値であった。正脂血症患者を対象とした単変量解析(Table 4)でBR-Ach 50 µgと単相関を認めた因子は年齢($r = -0.355$, $p < 0.05$), RLP-C($r = -0.488$, $p < 0.01$; Fig. 4 - 左), 低比重リポ蛋白コレステロール($r = -0.382$, $p < 0.03$;

Fig. 4 - 右), 収縮期血圧($r = -0.354$, $p < 0.05$), 拡張期血圧($r = -0.406$, $p < 0.02$)であった。これらの5因子を独立変数とした重回帰分析(Table 5)では年齢, RLP-C, 低比重リポ蛋白コレステロールがBR-Ach 50 µgの規定因子であった。

考 察

今回の検討により高レムナント(RLP-C)血症の患者群で末梢血管のAchに対する血管反応性が低下してい

Table 3 Patient characteristics(normolipidemic patients)

	Group L (n = 10)	Group M (n = 16)	Group H (n = 8)
Age(yr)	60 ± 11	58 ± 9	61 ± 11
Male/female	7/3	12/4	5/3
RLP-C(mg/dl)	< 2.0	3.2 ± 0.7	8.4 ± 2.2
TC(mg/dl)	173 ± 23	187 ± 25	189 ± 28
Triglyceride(mg/dl)	98 ± 21	114 ± 18	124 ± 22*
HDL-C(mg/dl)	50 ± 17	47 ± 16	45 ± 13
LDL-C(mg/dl)	103 ± 22	117 ± 27	119 ± 33
Glucose(mg/dl)	89 ± 17	97 ± 17	100 ± 15
Systolic BP(mmHg)	131 ± 16	127 ± 17	137 ± 22
Diastolic BP(mmHg)	82 ± 10	82 ± 12	86 ± 11
Diabetes mellitus(%)	10	19	25
Hypertension(%)	20	13	13
Current smoking(%)	10	13	13
Coronary artery disease(%)	10	19	13

Continuous values are mean ± SD. *p < 0.05 vs Group L.
Explanation of the groups and abbreviations as in Table 2.

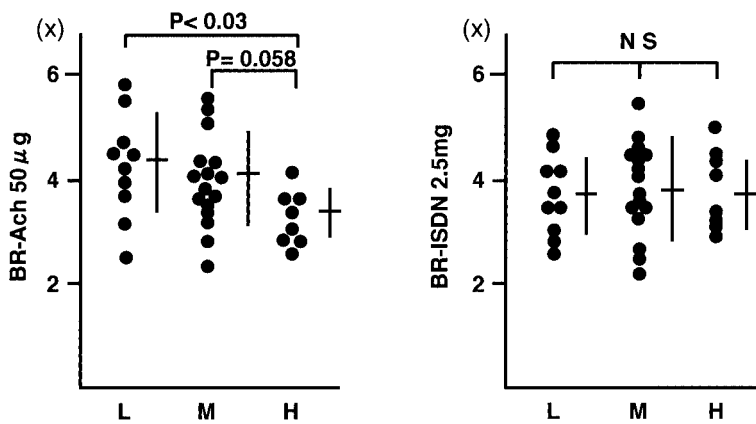


Fig. 3 Comparison of BR-Ach 50 µg (left) and BR-ISDN 2.5mg (right) between the three groups(normolipidemic patients: n = 34)
Explanation of the groups and abbreviations as in Fig. 1, Tables 1, 2.

Table 4 Simple regression analysis of age, glucose, blood pressure, and lipid profiles with BR-Ach 50 µg in normolipidemic patients(n = 34)

Variables	Correlation(r)	p value
Age	- 0.355	0.0391
Glucose	- 0.246	0.1612
Systolic BP	- 0.354	0.0402
Diastolic BP	- 0.406	0.0171
RLP-C	- 0.488	0.0034
TC	- 0.237	0.1775
Triglyceride	- 0.187	0.2886
HDL-C	0.318	0.0664
LDL-C	- 0.382	0.0258

Abbreviations as in Fig. 1, Table 2.

ることが判明した。また，正脂血症患者におけるAchに対する血管反応性を規定する脂質因子はRLP-Cと低比重リポ蛋白コレステロールであった。

1. 冠危険因子としてのレムナント様リポ蛋白コレステロール

これまで多くの疫学的調査から，高コレステロール血症(高低比重リポ蛋白コレステロール血症)や低高比重リポ蛋白コレステロール血症は冠動脈疾患の独立した危険因子として確立されている^{1,4)}。一方，中性脂肪に関してはこれまでの疫学的調査^{2,5)}において食後

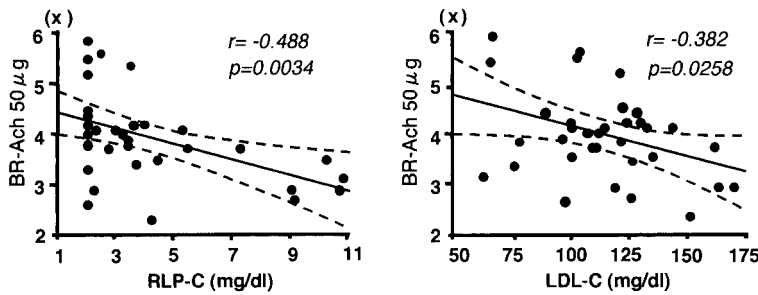


Fig. 4 Plots showing negative correlations between BR-Ach 50 µg and RLP-C (left) or LDL-C (right) Abbreviations as in Fig. 1, Table 2.

Table 5 Multivariate analysis for effects on BR-Ach 50 µg in normolipidemic patients (n = 34)

Independent variables	Partial (r)	p value
Age	- 0.323	0.0166
Systolic BP	- 0.142	0.4105
Diastolic BP	- 0.204	0.2393
RLP-C	- 0.355	0.0108
LDL-C	- 0.396	0.0039

Abbreviations as in Fig. 1, Table 2.

における検討やリポ蛋白分画からの検討が乏しかったことが、中性脂肪の冠危険因子としての役割に混乱を招く一因であったと考えられる。食後の高中性脂肪血症が冠動脈疾患の独立した危険因子であること⁶⁾、正低比重リポ蛋白コレステロール血症の若年発症心筋梗塞患者においては冠動脈狭窄所見の進行は脂肪食負荷後のカイロミクロンレムナントレベルとの相関が認められたとの報告⁷⁾や、超低比重リポ蛋白レムナントに関して冠動脈硬化の進展との関係を明らかにした報告⁴⁾などにより、食後の中性脂肪リッチリポ蛋白、とくにレムナントの重要性が明らかとなった。また脂肪食負荷後のカイロミクロンレムナント濃度が冠動脈硬化および動脈硬化惹起性リポ蛋白の小粒子径低比重リポ蛋白濃度と相関すること⁷⁾や、レムナントリポ蛋白による酸化ストレスの亢進²⁹⁾が指摘されている。近年、Vakkilainenら⁹⁾は健康男性を対象として小粒子径低比重リポ蛋白と内皮機能障害の関連を報告しているが、低比重リポ蛋白サイズの小型化は長期間の高中性脂肪血症の結果であり、実際の動脈硬化の進展にはレムナントを代表とした中性脂肪リッチリポ蛋白の関与を推察している。すなわち、レムナントのうっ滞は直接の

動脈硬化作用以外にも、間接的にも動脈硬化促進性の脂質プロフィールを惹起していると考えられる。

Nakajimaら¹⁰⁾は、アポ蛋白A-IおよびB-100のモノクローナル抗体の組み合わせにより血漿から直接レムナント(RLP)を分離し、レムナント中のコレステロール(RLP-C)を定量する方法を報告した。RLPはレムナントリポ蛋白と生化学的に同一物質と考えられ、マクロファージへのコレステロールエステル取り込み促進作用が報告されている³⁰⁾。近年、臨床的にもRLP-Cと冠動脈硬化の進展^{13,14)}、心血管事故との関連^{11,12,17)}が相ついで指摘されている。

これまでの報告により、RLP-Cは血糖値¹⁴⁾、インスリン値³¹⁾、中性脂肪値¹⁰⁾により影響されることが指摘されている。我々は、インスリン抵抗性の検討は施行していないが、全患者における検討ではRLP-Cと血糖値($r = 0.462, p < 0.01$)、中性脂肪($r = 0.740, p < 0.0001$)の間に単相関を認めた。RLP-Cを独立した冠動脈の危険因子として評価する際に、これら代謝異常の関与は注意すべき点である。しかしながら、正脂血症に限った検討では血糖値、糖尿病合併頻度に差は認められず、RLP-Cと血糖値の相関も消失した。中性脂肪正常例におけるRLP-Cの冠動脈疾患に対する臨床的有用性を示唆する報告¹⁴⁾もあり、今後さらに検討すべき課題と考える。

2. レムナント様リポ蛋白コレステロールと血管内皮傷害

今回、末梢血管内皮機能の指標としてAch投与後の血管反応性から検討した。これまで末梢循環の評価は主にプレチスモグラフを用いた血管拡張物質投与後の血流量や血管抵抗の変化^{18,19,21)}、高周波超音波を用いた血流増大刺激に伴う上腕動脈の血管径の変化²³⁾から検討されている。末梢血管の血流動態(血流速度およ

び波型)からの検討は、いずれも体表面高周波超音波を用いた Testaら³²⁾や、Katzら³³⁾の報告が散見されるのみであった。本研究では心臓カテーテル検査施行例を対象として、観血的であるが血流動態の変化が直接的に評価可能な血管内超音波ドップラーガイドワイヤを用いて末梢循環の評価を行った。プロトコル1ではAch, ISDNの各投与量に対する血管反応性を確認した。その結果Ach, ISDNともに既報^{18, 20, 32, 33)}のように用量依存性に血流量速度の増加が認められた。冠循環においては薬剤投与に伴う血流速度の増大は、冠微小血管レベルの弛緩反応により規定されると報告されている^{25, 26)}。また、末梢血管にAchを投与しても全身の血行動態(心拍数, 血圧)は変化しないことが指摘されている^{33, 34)}。したがって、今回の検討における上腕動脈の最大反応(血流速度)は主に前腕微小血管レベルの最大弛緩反応を反映していると考えられる。末梢血管における血流速度とプレチスモグラフを用いた血流量との間には強い相関($r = 0.89, p < 0.01$)があることがすでに報告³³⁾されており、プロトコル2では3群間で血流速度の変化から末梢血管内皮機能について検討した。

血管内皮機能の障害は動脈硬化の早期現象と指摘されている^{23, 32)}。したがって、血管内皮機能の評価は将来の心血管事故の発症を予測するうえで重要である。Kugiyamaら¹⁶⁾はRLP-Cが冠動脈内皮機能傷害の独立した規定因子であり、高レムナント血症に伴う冠動脈一酸化窒素活性の低下が一因であると報告した。また、心血管事故¹²⁾、心臓突然死¹⁷⁾に関してもRLP-Cは強力な脂質因子であることが指摘されている。今回、内皮非依存性拡張物質であるISDN投与では3群間で差は認められなかったが、Ach負荷においてRLP-C高値群で有意に血管反応性の低下が認められ、末梢血管の内皮依存性弛緩能の低下が示唆された。さらに、正脂血症患者における単変量、多変量解析ではAchに対する血管反応性の低下を規定する脂質因子はRLP-C、低比重リポ蛋白コレステロール(Friedewaldの換算式)のみであった。これらの結果はRLP-Cが総コレステロール、中性脂肪、高比重リポ蛋白コレステロールとは独立した末梢血管内皮傷害因子であることが示唆され、正中性脂肪血症患者におけるRLP-C測定の臨床的意

義¹⁴⁾を支持する知見と考えられる。近年、脂質低下療法により冠動脈³⁵⁾や上腕動脈²²⁾の内皮機能障害が改善するとの報告が相ついでいる。今後、食事療法、薬物療法によるRLP-Cの低下による血管反応性、さらには心血管事故を含めた動脈硬化性疾患の抑制効果についての検討が必要と考えられる。

3. 本研究の限界

今回の検討に高血圧、糖尿病など、冠危険因子を合併した症例を含んでいる点は注意が必要である。しかしながら、血管内皮機能に影響を及ぼす年齢^{18, 27)}、高血圧^{18, 24)}、喫煙²⁰⁾および虚血性心疾患合併の頻度³²⁾は3群間で差はなく、今回の結果を左右する可能性は極めて少ないと思われる。糖尿病に関しては全患者の検討では高RLP-C群で合併頻度は高い傾向が認められたが、正脂血症例に限った検討では3群間で差は認められず、全患者で認められたRLP-Cと血糖値の単相関も正脂血症例では消失した。近年、耐糖能障害例においてもRLP-Cの上昇が指摘³¹⁾されており、インスリン抵抗性を含めた耐糖能障害例におけるRLP-Cと血管内皮機能の関連は今後の検討課題と考えられる。

また、プロトコル2では高濃度Ach(50 µg/30 sec: 約 5×10^{-6} M)でのみ血管反応性を比較した。末梢血管内皮機能を比較した既報^{9, 18, 20, 33)}ではAchの投与量に比例して血管反応性の差は拡大する傾向が認められ、我々もプロトコル1でAch 50 µgまでの用量依存性血流シグナルの増加を確認した。Katzら³³⁾も末梢血管内皮機能の評価にはAch 10^{-6} - 10^{-5} Mの投与を推奨しており、今回指標として用いたBR-Ach 50 µgは末梢血管内皮機能(主に前腕微小血管の最大弛緩能)を反映していると考えられる。

結 論

高レムナント(RLP-C)血症患者では末梢血管内皮機能障害が認められた。さらに、正脂血症患者を対象とした検討では、RLP-Cは末梢血管内皮機能の独立した規定因子であることが示唆された。したがって、正脂血症例においても高レムナント血症が認められる患者では臨床的に注意深い経過観察が必要である。

要 約

目的: レムナントリポ蛋白を反映するレムナント様リポ蛋白(RLP-C)と冠動脈内皮機能, 心血管事故の関連が相ついて報告され, RLP-Cは独立した冠危険因子として認識されつつある. 今回, 高脂血症および正脂血症患者におけるRLP-Cの末梢血管内皮機能に及ぼす影響を, ドップラーガイドワイヤーによる前腕動脈のアセチルコリン(Ach), 硝酸イソソルビド(ISDN)に対する血管反応性より検討した.

方法: プロトコル1: 冠動脈に有意狭窄のない5症例に, Ach(0.5, 5, 50 μ g/30sec), ISDN(0.025, 0.25, 2.5 mg/30sec)に対する前腕動脈の用量反応試験を施行した. Ach, ISDN投与後の最大血流速度を安静時血流速度で除した値を各症例の上腕動脈の血管反応性の指標(BR)とした. プロトコル2: Ach 50 μ g, ISDN 2.5 mgに対する血管反応性(BR-Ach 50 μ g, BR-ISDN 2.5 mg)を検討した48例を早朝RLP-C値により以下の3群に分けた. L群(11例): RLP-C < 2.0 mg/dl(測定感度). M群(21例): 2.0 mg/dl \leq RLP-C < 5.0 mg/dl. H群(16例): 5.0 mg/dl \leq RLP-C. 3群間で血管反応性の比較検討を行った. また, 総コレステロール < 220 mg/dl, 中性脂肪 < 150 mg/dlの34例を正脂血症として, BR-Ach 50 μ gの規定因子を単変量・多変量解析を用いて検討した.

結果: プロトコル1: Ach, ISDNいずれも用量依存的に血管反応性は有意に増加した. プロトコル2: 全症例の検討ではBR-Ach 50 μ gはL, M, H群の順に低下し, H群(3.1 \pm 0.8)はL群(4.2 \pm 0.9, $p < 0.01$), M群(3.8 \pm 0.9, $p < 0.03$)に比べて低値であった. BR-ISDN 2.5 mgは3群間で差が認められなかった. 正脂血症患者における検討では, BR-Ach 50 μ gと単相関を認めた因子は年齢($r = -0.355$, $p < 0.05$), RLP-C($r = -0.488$, $p < 0.01$), LDL-C($r = -0.382$, $p < 0.03$), 収縮期血圧($r = -0.354$, $p < 0.05$), 拡張期血圧($r = -0.406$, $p < 0.02$)であった. これらの5因子を独立変数とした多変量解析では年齢, RLP-C, 低比重リポ蛋白コレステロールがBR-Ach 50 μ gを規定する因子であった.

結論: 高レムナント(RLP-C)血症患者では末梢血管内皮機能障害が認められた. さらに, 正脂血症例においてもRLP-Cは末梢血管内皮機能の独立した規定因子であることが明らかとなった.

J Cardiol 2001; 37(5): 267 - 276

文 献

- 1) Lewis B, Assmann G, Tikkanen M, Mancini M, Pometta D: Prevention of coronary heart disease: Scientific background and new clinical guidelines: Recommendations of the European Atherosclerosis Society, prepared by the International Task Force for Prevention of Coronary Heart Disease. *Nutr Metab Cardiovasc* 1992; **2**: 113 - 156
- 2) NIH Consensus Development Panel on Triglyceride, High-density Lipoprotein and Coronary Heart Disease: NIH Consensus conference: Triglyceride, high-density lipoprotein, and coronary heart disease. *JAMA* 1993; **269**: 505 - 510
- 3) Gordon DJ, Rifkind BM: High-density lipoprotein: The clinical implications of recent studies. *N Engl J Med* 1989; **321**: 1311 - 1316
- 4) Phillips NR, Waters D, Havel RJ: Plasma lipoproteins and progression of coronary artery disease evaluated by angiography and clinical events. *Circulation* 1993; **88**: 2762 - 2770
- 5) Criqui MH, Heiss G, Cohn R, Cowan LD, Suchindran CM, Bangdiwala S, Kritchevsky S, Jacobs DR, O Grady HK, Davis CE: Plasma triglyceride level and mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med* 1993; **328**: 1220 - 1225
- 6) Patsch JR, Miesenböck G, Hopferwieser T, Mühlberger V, Knapp E, Dunn JK, Gotto AM Jr, Patsch W: Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease: Studies in the postprandial state. *Arterioscler Throm* 1992; **12**: 1336 - 1345
- 7) Karpe F, Steiner G, Uffelman K, Olivecrona T, Hamsten A: Postprandial lipoproteins and progression of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1994; **106**: 83 - 97
- 8) Havel RJ: Postprandial hyperlipidemia and remnant lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1994; **5**: 102 - 109
- 9) Vakkilainen J, Mäkimattila S, Seppälä-Lindroos A, Vehkavaara S, Lahdenperä S, Groop PH, Taskinen MR, Yki-Järvinen H: Endothelial dysfunction in men with small LDL particles. *Circulation* 2000; **102**: 716 - 721
- 10) Nakajima K, Saito T, Tamura A, Suzuki M, Nakano T, Adachi M, Tanaka A, Tada N, Nakamura H, Campos E, Havel RJ: Cholesterol in remnant-like lipoproteins in human serum using monoclonal anti apo B-100 and anti apo A-1 immunoaffinity mixed gels. *Clin Chim Acta* 1993; **223**: 53 - 71
- 11) Sakata K, Miho N, Shirotani M, Yoshida H, Takada Y, Takada A: Remnant-like particle cholesterol is a major risk factor for myocardial infarction in vasospastic angina with

- nearly normal coronary artery. *Atherosclerosis* 1998; **136**: 225 - 231
- 12) Kugiyama K, Doi H, Takazoe K, Kawano H, Soejima H, Mizuno Y, Tsunoda R, Sakamoto T, Nakano T, Nakajima K, Ogawa H, Sugiyama S, Yoshimura M, Yasue H: Remnant lipoprotein levels in fasting serum predict coronary events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1999; **99**: 2858 - 2860
 - 13) McNamara JR, Shah PK, Nakajima K, Cupples LA, Wilson PWF, Ordovas JM, Schaefer EJ: Remnant lipoprotein cholesterol and triglyceride reference ranges from the Framingham Heart Study. *Clin Chem* 1998; **44**: 1224 - 1232
 - 14) Masuoka H, Kamei S, Ozaki M, Kawasaki A, Shintani U, Ito M, Nakano T: Predictive value of remnant-like particle cholesterol as an indicator of coronary artery stenosis in patients with normal serum triglyceride levels. *Intern Med* 2000; **39**: 540 - 546
 - 15) Inoue T, Saniabadi AR, Matsunaga R, Hoshi K, Yaguchi I, Morooka S: Impaired endothelium-dependent acetylcholine-induced coronary artery relaxation in patients with high serum remnant lipoprotein particles. *Atherosclerosis* 1998; **139**: 363 - 367
 - 16) Kugiyama K, Doi H, Motoyama T, Soejima H, Misumi K, Kawano H, Nakagawa O, Yoshimura M, Ogawa H, Matsumura T, Sugiyama S, Nakano T, Nakajima K, Yasue H: Association of remnant lipoprotein levels with impairment of endothelium-dependent vasomotor function in human coronary arteries. *Circulation* 1998; **97**: 2519 - 2526
 - 17) Takeichi S, Nakajima Y, Osawa M, Yukawa N, Saito T, Seto Y, Nakano T, Adachi M, Jitsukata K, Horiuchi K, Wang T, Nakajima K: The possible role of remnant-like particles as a risk factor for sudden cardiac death. *Int J Legal Med* 1997; **110**: 213 - 219
 - 18) Taddei S, Viridis A, Mattei P, Ghiadoni L, Gennari A, Fasolo CB, Sudano I, Salvetti A: Aging and endothelial function in normotensive subjects and patients with essential hypertension. *Circulation* 1995; **91**: 1981 - 1987
 - 19) Gilligan DM, Guetta V, Panza JA, García CE, Quyyumi AA, Cannon RO, Badar DA, Kilcoyne CM: Selective loss of microvascular endothelial function in human hypercholesterolemia. *Circulation* 1994; **90**: 35 - 41
 - 20) Lewis TV, Dart AM, Chin-Dusting JPF: Endothelium-dependent relaxation by acetylcholine is impaired in hypertriglyceridemic humans with normal levels of plasma LDL cholesterol. *J Am Coll Cardiol* 1999; **33**: 805 - 812
 - 21) Kiowski W, Linder L, Stoschitzky K, Pfisterer M, Burckhardt D, Burkart F, Bühler FR: Diminished vascular response to inhibition of endothelium-derived nitric oxide and enhanced vasoconstriction to exogenously administered endothelin-1 in clinically healthy smokers. *Circulation* 1994; **90**: 27 - 34
 - 22) Evans M, Anderson RA, Graham J, Ellis GR, Morris K, Davies S, Jackson SK, Lewis MJ, Frenneaux MP, Rees A: Ciprofibrate therapy improves endothelial function and reduces postprandial lipemia and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2000; **101**: 1773 - 1779
 - 23) Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrangé D, Lieberman EH, Ganz P, Creager MA, Yeung AC, Selwyn AP: Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995; **26**: 1235 - 1241
 - 24) Antony I, Nitenberg A, Foults JM, Aptekar E: Coronary vasodilator reserve in untreated and treated hypertensive patients with and without left ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 1993; **22**: 514 - 520
 - 25) Campisi R, Czernin J, Schoder H, Sayre JW, Marengo FD, Phelps ME, Schelbert HR: Effects of long-term smoking on myocardial blood flow, coronary vasomotion, and vasodilator capacity. *Circulation* 1998; **98**: 119 - 125
 - 26) Nahser PJ, Brown RE, Oskarsson H, Winniford MD, Rossen JD: Maximal coronary flow reserve and metabolic coronary vasodilation in patients with diabetes mellitus. *Circulation* 1995; **91**: 635 - 640
 - 27) Wieneke H, Haude M, Ge J, Altmann C, Kaiser S, Baumgart D, von Birgelen C, Welge D, Erbel R: Corrected coronary flow velocity reserve: A new concept for assessing coronary perfusion. *J Am Coll Cardiol* 2000; **35**: 1713 - 1720
 - 28) Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS: Estimation of the concentration of low-density-lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; **18**: 499 - 502
 - 29) Doi H, Kugiyama K, Oka H, Sugiyama S, Ogata N, Koide S, Nakamura S, Yasue H: Remnant lipoproteins induce proatherothrombogenic molecules in endothelial cells through a redox-sensitive mechanism. *Circulation* 2000; **102**: 670 - 676
 - 30) Campos E, Nakajima K, Tanaka A, Havel RJ: Properties of an apolipoprotein E-enriched fraction of triglyceride-rich lipoproteins isolated from human blood plasma with a monoclonal antibody to apolipoprotein B-100. *J Lipid Res* 1992; **33**: 369 - 380
 - 31) Nagai T, Tomizawa T, Minamide S, Nakajima K, Mori M: Serum lipid and lipoprotein metabolism after glucose ingestion in NIDDM and IGT patients: Apolipoprotein-containing particles. *Diabetes Care* 1996; **19**: 365 - 368
 - 32) Testa M, Biasucci LM, Cacciola M, Lombardo A, Pennestrì F, Lejemtel TH, Loperfido F: Variable response of the peripheral circulation to acetylcholine in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1996; **77**: 149 - 153
 - 33) Katz SD, Biasucci L, Sabba C, Strom JA, Jondeau G, Galvao M, Solomon S, Nikolic SD, Forman R, Lejemtel TH: Impaired endothelium-mediated vasodilation in the peripheral vasculature of patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1992; **19**: 918 - 925
 - 34) Imaizumi T, Hirooka Y, Masaki H, Harada S, Momohara M, Tagawa T, Takeshita A: Effects of L-arginine on forearm vessels and responses to acetylcholine. *Hypertension* 1992; **20**: 511 - 517
 - 35) Egashira K, Hirooka Y, Kai H, Sugimachi M, Suzuki S, Inou T, Takeshita A: Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent coronary vasomotion in patients with hypercholesterolemia. *Circulation* 1994; **89**: 2519 - 2524