血管内皮細胞研究の進歩

—動脈硬化における酸化 LDL による機能障害の役割を中心に—

久米 典昭

Key words: 酸化 LDL, 動脈硬化, スカベンジャー受容体, 接着分子

(日老医誌 2000; 37: 360—362)

血管内皮細胞は血管の内腔を覆う一層の細胞であるが、その機能障害が粥状動脈硬化の発症の最初の引き金となるものと考えられている。このような血管内皮細胞の機能障害を惹起する因子として様々な液性および血行力学性の因子があげられるが、特に高脂血症を基盤として発症する粥状動脈硬化においては、酸化変性を受けた低比重リポ蛋白 (LDL) その因子の一つとして重要な役割を担うことが示唆されている。

血管内皮細胞の機能

血管内皮細胞は血管の内腔を一層に覆う、内腔側と基底膜側との極性をもった細胞である。この細胞はトロンボモデュリン (TM), 組織因子活性阻害因子 (TFPI) を発現し、プロスタグランジン₂を産生するなどにより、血管の抗凝固能、抗血栓能を保っている。一方、病的な刺激を受けた状態では、組織因子 (TF) が発現誘導され、TM の発現が低下することなどにより血栓形成、凝固能が亢進すると考えられる。また、血管内皮細胞の産生する一酸化窒素 (NO), エンドセリン (ET), C 型ナトリウム利尿ホルモン (CNP) などは、血管のトーン調節に関与すると考えられる。一方、粥状動脈硬化の発生過程における血管内皮細胞の役割に関しては、以下のような機能障害が直接的な作用とも考えられる。

粥状動脈硬化の病変

粥状動脈硬化発生の初期には、細胞内に大量のエステル化コレステロールを蓄積した泡沫細胞 (foam cells) の血管内皮下での局在的な集簇がみられるのが特徴である。このような泡沫細胞の起源は、血中の単球 (monocytes) 由来のマクロファージ (macrophages) および血管平滑筋細胞であるといわれるが、特にその極めて初期の病変ではその大部分がマクロファージ由来であるとされる。血管壁内に侵入したマクロファージはリポ蛋白

由来のコレステロールを蓄積し (泡沫細胞化), 脂肪線条 (fatty streak) と呼ばれる初期病変を形成する。このような初期の泡沫細胞病変は、さらに血管平滑筋細胞の内膜への遊走, 増殖を伴った複雑な病変に進行する。この過程においては血管平滑筋細胞の形質の転換のみならず、血管内膜に存在する細胞が産生、放出する平滑筋に対する増殖因子 (growth factors) が重要な役割を担っているものと考えられる。また、粥状動脈硬化の病変部位にはマクロファージのみならず T リンパ球の存在することが知られる。血管内に集簇したマクロファージは、泡沫細胞化により大きな脂質コアを形成するのみならず、T リンパ球の産生する γ インターフェロンなどと相まってサイトカイン、プロテアーゼなどを産生、放出することにより粥腫の破綻、血栓形成などを招来することにより、臨床的な明らかな急性冠動脈症候群などの病像を呈することとなる¹⁾²⁾。

血管内皮細胞への単球・リンパ球の 多段階の接着機構

これらマクロファージ, T リンパ球の集簇機構として、血管内皮細胞上に発現される複数の接着分子を介した多段階の接着機構の関与が考えられている。すなわち、流速のある血管内を流れる白血球は、まず最初にはセレクトインとそのリガンドとの緩やかな結合に支えられ、血管内皮表面を転走する (ローリング)。この緩やかな接着の間に白血球は血管内皮細胞表面のヘパラン硫酸などに固定された MCP-1, IL-8 などのケモカインによりインテグリン VLA-4 あるいは Mac-1 が活性化されそのコンフォメーションの変化による結合性の変化によりそれらの血管内皮細胞表面のカウンター・レセプターである VCAM-1 あるいは ICAM-1 との間の強固な接着が起こると考えられている。この事実は、培養細胞を用いての実験のみならず、少なくとも細静脈のレベルではこれを支持する *in vivo* での証拠が呈示されている³⁾。さらに、白血球の血管内皮への接着に引き続く、内皮下への遊走

図1 単球、リンパ球を含んだ白血球の血管内皮への接着内皮下への遊走における多段階モデル。

(transmigration)の段階においては、接着分子PECAM-1 (CD31) に対する抗体が単球の培養血管内皮細胞下への遊走を阻止したとの実験結果から、その関与が示唆された⁴⁾。PECAM-1 (CD31) は血管内皮細胞間接合部および白血球に恒常的に発現され、それらの同種および異種の細胞間の接着、および細胞内情報伝達に関わるとされるが、その遊走の分子機構は必ずしも明らかではない。また、最近、血管内皮細胞間接合部に発現される膜蛋白 Junctional Adhesion molecule (JAM) の抗体が、同様に単球の培養血管内皮細胞下への遊走を阻止すること⁵⁾、またその発現分布がサイトカイン刺激により変化すること⁶⁾などが報告されているが、血球細胞の内皮への接着から至る一連の分子機構については未だ解明されるべき多くの点が残されている (図1)。

粥状動脈硬化の病変部位に発現される接着分子

VCAM-1は高コレステロール血症ウサギの粥状動脈硬化病変を被う内皮細胞に局限して発現されることが見いだされた最初の接着分子であるが⁷⁾、その後、ヒトおよび実験動物の粥状動脈硬化の泡沫細胞に富んだ病変部位を覆う内皮細胞においてVCAM-1のみならずICAM-1、P-セレクチン、E-セレクチンなどの接着分子の発現が認められることが報告されている。さらに、これらの接着分子は内腔側の動脈内皮のみならず動脈壁内の新生血管の内皮細胞にも発現されることが示されており、進行した病変においてはこのような新生血管からの単球、リンパ球の侵入が関与するものと思われる^{8)~10)}。現在のところ、これら接着分子の発現と、単球、リンパ球の侵入との因果関係は必ずしも直接に証明されていないが、ウサギ高コレステロール血症の極めて初期の病変における接着分子の発現と単球・リンパ球の侵入とを経時的に解析した研究では、VCAM-1およびP-セレクチンの発現は単球/マクロファージおよびリンパ球の血管内皮下への侵入に先だってみられることから、これらの接着分子が初期の単球/マクロファージ・リンパ球の

図2 種々の酸化LDL受容体(スカベンジャー受容体ファミリー)の分子構造

集簇を支える分子である可能性が示唆されている¹¹⁾。P-セレクチンの役割に関しては、最近、高コレステロール食を投与されたLDL受容体欠損マウスの粥状動脈硬化が、P-セレクチン欠損マウスとの交配によりP-セレクチンの発現が欠落することにより、その初期の泡沫細胞病変の減少がみられたとの報告がある¹²⁾。一方、マウスにおけるVCAM-1の欠損は致死的であるが、現在VCAM-1の低発現マウスの作製が進められており、これらのマウスを用いた研究により、粥状動脈硬化における接着分子の役割がより明らかとなるものと思われる。

酸化LDLによる血管内皮細胞の機能障害

酸化LDLあるいはその構成脂質により血管内皮細胞の機能が改変され、それらが粥状動脈硬化の発生に関与することが示されている。例えば、酸化LDLあるいはその構成脂質はNO産生の抑制¹³⁾、白血球接着分子および平滑筋細胞増殖因子の発現誘導¹⁴⁾¹⁵⁾、内皮細胞の遊走の抑制、トロンボモデュリンの産生の抑制¹⁶⁾とトロンビン受容体の発現誘導、組織因子の発現誘導、アポトーシスの誘導¹⁷⁾など粥状動脈硬化進展とプラークの破綻、血栓形成に関わる多様な作用が報告されている。

酸化LDLに対する受容体

酸化LDLの取り込みを支える受容体は、マクロファージにおいて、クラスAスカベンジャー受容体(SR-A)¹⁸⁾、Fc受容体、CD36、クラスBタイプIスカベンジャー受容体(SR-BI)、macrosialin (CD68)など多様な分子が同定されている¹⁹⁾。SR-A欠損マウスの解析によりこの分子がマクロファージにおける酸化LDLの取り込みと高脂血症マウスにおける粥状動脈硬化の発生に関与することが示されている²⁰⁾。またヒトCD36欠損患者のマクロファージを用いることによりCD36がマクロファージにおける酸化LDLの取り込みに重要なものと考えられている²¹⁾。血管内皮細胞においても酸化LDLの取り込みがみられるが²⁰⁾、その分子機構はこれらの受容体とは

異なり¹⁹⁾, LOX-1²²⁾およびSR-EC²³⁾を介するものと考えられている。LOX-1およびSR-ECはこれまでマクロファージなどで同定された酸化LDLに対する受容体のいずれともまたお互いに類似の構造をもたない。LOX-1はTNF- α などの炎症性刺激²⁴⁾によりその発現は誘導され、実際に特に初期の動脈硬化病変を覆う血管内皮細胞および進行した病変のマクロファージ、平滑筋細胞にて強い発現が認められている²⁵⁾。また、細胞表面に発現されたLOX-1はその一部が切断され可溶性分子となることが培養細胞にて示されており²⁶⁾, *in vivo*においても例えばその血中濃度が組織におけるLOX-1の発現の程度を反映し、ひいては病態を反映する可能性などが推察される。

酸化LDLによる血管内皮細胞の機能障害が粥状動脈硬化の発生およびそのプラークの破綻に関与するものと考えられる。一方で、血管内皮細胞の機能障害はそれに発現される様々な分子によりもたらされるものであるが、それらの病態における役割に関しさらなる解明が待たれる。

文 献

- Ross R: Atherosclerosis -an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115.
- Lee RT, Libby P: The unstable atheroma. *Circulation* 1997; 17: 1859.
- Butcher EC: Leukocyte-endothelial recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* 1991; 67: 1033.
- Muller WA, et al.: PECAM-1 is required for transendothelial migration of leukocytes. *J Exp Med* 1993; 178: 449.
- Martin-Padura I, Lostaglio S, Schneemann M, et al.: Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *J Cell Biol* 1998; 142: 117.
- Ozaki H, Ishii K, Horiuchi H, et al.: Combined treatment of TNF- α and IFN- γ causes redistribution of junctional adhesion molecule in human endothelial cells. *J Immunol* 1999; 163: 553.
- Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr: Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1991; 251: 788.
- O'Brien KD, Allen MD, McDonald TO, et al.: Vascular cell adhesion molecule-1 is expressed in human coronary atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1993; 92: 945.
- O'Brien KD, McDonald TO, Chait A, et al.: Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation* 1996; 93: 672.
- Johnson-Tidey RR, McGregor JL, Taylor RR, et al.: Increase in the adhesion protein P-selectin in endothelium overlying atherosclerotic plaques. Coexpression with intercellular adhesion molecule-1. *Am J Pathol* 1994; 144: 952.
- Sakai A, Kume N, Ochi H, et al.: P-selectin and VCAM-1 are focally expressed in hypercholesterolemic rabbits prior to intimal accumulation of macrophages and T lymphocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 310.
- Johnson RC, Chapman SM, Dong ZM, et al.: Absence of P-selectin delays fatty streak formation in mice. *J Clin Invest* 1997; 99: 1037-1043.
- Kugiyama K, Kerns SA, Morrisett JD, et al.: Impairment of endothelial-dependent vasorelaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins. *Nature* 1990; 344: 160-162.
- Kume N, Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr: Lysophosphatidylcholine, a component of atherogenic lipoproteins, induces mononuclear leukocyte adhesion molecules in cultured human and rabbit arterial endothelial cells. *J Clin Invest* 1992; 90: 1138-1144.
- Kume N, Gimbrone MA Jr: Lysophosphatidylcholine transcriptionally induces growth factor gene expression in cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1994; 93: 907-911.
- Ishii H, Kizaki K, Horie S, et al.: Oxidized low density lipoprotein reduces thrombomodulin transcription in cultured human endothelial cells through degradation of the lipoprotein in lysosomes. *J Biol Chem* 1996; 271: 8458-65.
- Sata M, Walsh K: Oxidized LDL activates fas-mediated endothelial cell apoptosis. *J Clin Invest* 1998; 102: 1682-1989.
- Kodama T, Freeman M, Rohrer L, et al.: Type I macrophage scavenger receptor contains alpha-helical and collagen-like coiled coils. *Nature* 1990; 343: 531-535.
- Krieger M, Acton S, Ashkenas J, et al.: Molecular flypaper, host defense, and atherosclerosis. *J Biol Chem* 1997; 268: 4569-4572.
- Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, et al.: A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature* 1997; 386: 292-296.
- Nozaki S, Kashiwagi H, Yamashita S, et al.: Reduced uptake of oxidized low density lipoproteins in monocyte-derived macrophages from CD36-deficient subjects. *J Clin Invest* 1995; 96: 1859-1865.
- Sawamura T, Kume N, Aoyama T, et al.: A novel endothelial receptor for oxidized low density lipoprotein. *Nature* 1997; 386: 73-77.
Inducible expression of lectin-like oxidized LDL receptor-1 in vascular endothelial cells.
- Adachi H, Tsujimoto M, Arai H, et al.: Expression cloning of a novel scavenger receptor from human endothelial cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 31217-31220.
- Kume N, Murase T, Moriwaki H, et al.: Inducible expression of lectin-like oxidized LDL receptor-1 in vascular endothelial cells. *Circ Res* 1998; 83: 322-327.
- Kataoka H, Kume N, Miyamoto S, et al.: Expression of lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 in human atherosclerotic lesions. *Circulation* 1999; 99: 3110-3117.
- Murase T, Kume N, Kataoka H, et al.: Identification of soluble forms of lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 715-720.