1. 酸化 LDL と粥状動脈硬化

久米 典昭

Key words：酸化 LDL, LOX-1, 粥状動脈硬化, 不安定化プラーク

(日老医誌 2000; 37: 592—595)

高コレステロール血症，特に低比重リポ蛋白（LDL）の血中での増加が粥状動脈硬化の主要な危険因子であることは周知の事実である．血中に増加した LDL が粥状動脈硬化を惹起する分子機構の一つとして酸化変性を受けた LDL の重要性を示唆する多くの証拠が呈示されている．本稿では粥状動脈硬化の発生機構における酸化 LDL の役割について述べる．

粥状動脈硬化の初期病変

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所的な集簇がみられるのが特徴とされる．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し，血管の内腔を狭めることになる．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．血管内に侵入したマクロファージは，泡沫細胞病変を形成するばかりでなく，T リンパ球などとともにサイトカインあるいは種々の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，血栓形成などに関与するものと考えられる¹⁾²⁾．

マクロファージの泡沫細胞化と酸化 LDL

初期の泡沫細胞病変を形成するマクロファージのエステル化コレステロール蓄積機構に関しては，マクロファージでの LDL 受容体の発現が極めて少ないこと，さらに遺伝的に LDL 受容体を欠損した家族性高コレステロール血症ホモ接合体の患者およびそのモデル動物において極めて早期より粥状動脈硬化が進展することなどから，マクロファージの泡沫化に LDL 受容体が関与するとは考えられず，その分子機構には謎が多かった．1970 年代後半に Goldstein, Brown らにより *in vitro* にてアセチル化という化学的修飾を受けた LDL（アセチル LDL）がマクロファージに LDL 受容体とは異なる特異的な受容体機構で際限なく取り込まれ，細胞内に大量のエステル化したコレステロールを蓄積した泡沫細胞化することが *in vitro* で示された．しかしながら，LDL のアセチル化という変化は生体内で起こりうるとは考え難いものであったので，実際に生体内で起こりうる LDL の修飾（あるいは変性）が何であるかとの疑問が残されていた．1980 年代になり，酸化変性をうけた LDL がマクロファージに特異的に取り込まれ，これを泡沫細胞化することが明らかとなった³⁾．さらに，抗酸化作用をもつ薬剤が高 LDL 血症のモデル動物の粥状動脈硬化の発生を阻止すること³⁾，単クローン抗体を用いた免疫組織化学的手法によりヒトおよびモデル動物の粥状動脈硬化病変部位にて酸化 LDL が検出されることなどにより²⁾，LDL の酸化変性が実際に生体内で，特に血管壁内にて起こりうるものであり，粥状動脈硬化の発生に重要な役割を担う可能性が強く示唆されるに至った．

LDL の酸化変性

酸化 LDL の性質として，脂質過氧化物（lipid peroxide）の増加，アポ蛋白 B の崩壊（fragmentation），そして粒子全体の陰性荷電の増加がみられるのが特徴的で

図1 不安定なプラークと安定なプラークの比較病理像

破綻を来しやすい不安定なプラークは、典型的には多量の脂質とマクロファージを有し、それらを薄い線維性被膜が覆っている。マクロファージが産生する MMP や組織因子は、プラークの破綻や血栓形成に関与すると推定される。線維性被膜には活性化された平滑筋が認められる。このような不安定プラークは、内腔がよく保持されていることが多い。一方、安定なプラークは比較的厚い線維性被膜を有し、しばしば内腔の狭窄を認める。実際には、これら2つのタイプの特徴をさまざまな割合で有する病変が多く存在する。(文献19より引用)

ある。リン脂質分画においてはフォスファチジルコリン (PC) のリゾフォスファチジルコリン (lyso-PC) への分解が認められる²⁾。酸化変性に伴う PC の分解、lyso-PC の増加の機構については、PC の2位の不飽和脂肪酸鎖が過酸化を受けることにより、血小板活性化因子 (PAF) を加水分解する酵素である PAF acetylhydrolase の基質として認識され加水分解を受けてリゾ体となるとの考え方が現在のところ有力であり⁴⁾、実際に PAF acetylhydrolase はその多くがリポ蛋白粒子と結合して存在することが示されている。しかしながら、このような酸化された PC に作用するホスホリパーゼ A2 様の活性をもつ酵素は単一ではない可能性も考えられる。

粥状動脈硬化プラークの破綻と酸化 LDL

LDL 低下療法が臨床的に冠動脈疾患の発症を減少させたという事実が存在する一方、実際に冠動脈造影を行って冠動脈の狭窄度を指標に検討すると、LDL 低下療法は必ずしも冠動脈の狭窄度を著明には改善していな

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

いということが示されている⁵⁾。この事実から、心筋梗塞、狭心症など急性冠動脈症候群の発症にいたる血栓形成を伴った冠動脈のイベントには、単に狭窄度ではなくプラークの性状が重要であることが考えられるようになった。すなわち、図1に示されるように、脂質コアが大きく、それを被覆する線維性皮膜の薄い病変は、プラークの破綻をきたしやすく血栓形成を伴った内腔の閉塞に至りやすいことが提唱され多くの支持を得ている⁶⁾。LDL 低下療法が臨床的に冠動脈疾患の発症を減少させたという事実は、おそらくは LDL 低下療法がプラークの性状を安定化させ、破綻をしにくいものに変化させている可能性を示唆する。プラークの破綻にはコラーゲンなどの細胞外基質の減少、脂質コアを覆う平滑筋細胞の減少などが関与するがこれらの部位にて平滑筋細胞のアポトーシス、細胞外基質を分解するマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の発現などが認められる⁶⁾。またプラークの肩の部位 (辺縁部) には多数のマクロファージ、T リンパ球などの炎症性の細胞浸潤がみられ、これらの細胞が産生する IFN γ などのサイトカインなどが平滑筋細胞の増殖および細胞外基質の産生を抑制し、MMP の発現を促進することなどが考えられる⁶⁾。また、プラークに存在する酸化 LDL とその構成脂質、酸化ストレス⁷⁾などがこれらの因子の産生を促すことが in vitro で示されており、in vivo においても、動物モデルにおいて血中脂質を低下させることが粥状動脈硬化プラークの性状を改善することが示されている⁸⁾。

酸化 LDL に対する受容体

マクロファージにおけるアセチル LDL および酸化 LDL の取り込みを支える受容体の分子構造は1990年に明らかにされたが (クラス A スカベンジャー受容体)⁹⁾、その後、Fc 受容体¹⁰⁾、CD36¹¹⁾、SR-BI¹²⁾、macrosialin (CD68)¹³⁾ など多様な分子が酸化 LDL の受容体として同定されている。クラス A スカベンジャー受容体欠損マ

ウスが開発されたことにより、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ものであることが示されている¹⁴⁾。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 の取り込みに有意に関与するものと考えられている¹⁵⁾。CD36 は脂肪酸の取り込みにも関わるということが明らかにされているが、CD36 欠損マウスと高脂血症マウスとの交配により、少なくともマウスでは CD36 が動脈硬化に関与することが示されている¹⁶⁾。

血管内皮細胞の機能障害と酸化 LDL

酸化 LDL あるいはそのリン脂質画分 lyso-PC 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 あるいはその脂質画分 lyso-PC は内皮依存性血管弛緩反応の抑制¹⁷⁾、白血球接着分子および平滑筋細胞増殖因子の発現誘導¹⁸⁾¹⁹⁾、内皮細胞の遊走の抑制²⁰⁾、アポトーシスの誘導²¹⁾ など粥状動脈硬化に関連した多様な作用が報告されている。

新規酸化 LDL 受容体 LOX-1

マクロファージのみならず血管内皮細胞においても酸化 LDL の取り込みがみられることが示されているが²²⁾、血管内皮細胞における酸化 LDL の受容体はマクロファージとは異なるものと考えられていた²³⁾。血管内皮細胞において初めて酸化 LDL の受容体として同定された LOX-1 (lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1) はレクチン様の構造を細胞外にもつ分子量約 40kDa (ヒト) の II 型の膜蛋白であり²⁴⁾、これまでに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類似の構造をもたない。LOX-1 の発現は TNF- α などの炎症性刺激²⁵⁾ により誘導され、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²⁶⁾。LOX-1 を介した酸化 LDL の取り込みは、血管内皮細胞での酸化ストレスを増加させることが報告されている²⁷⁾。また、細胞表面に発現された LOX-1 はその一部が切断されて可溶性分子となることが培養細胞で示されている²⁸⁾ ため、その血中濃度を測定することなどがプラーク破綻を予知する指標となる可能性などが考えられ、現在研究が進められている。

おわりに

酸化 LDL は、コレステロールエステルの細胞内での

蓄積をもたらすのみならず、さまざまな炎症性変化をひきおこし粥状動脈硬化の進展およびプラークの破綻に関わるものと思われる。一方、これまでに複数の酸化 LDL の受容体が同定されているが、それらの病態における役割に関しさらなる期待が待たれる。

文 献

- 1) Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801—809.
- 2) Witztum JL, Steinberg D: Roles of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88: 1785—1792.
- 3) Kita T, Nagano Y, Yokode M, et al.: Probucol prevents atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 5928—5931.
- 4) Steinbrecher UP, Pritchard PH: Hydrolysis of phosphatidylcholine during LDL oxidation is mediated by platelet-activating factor acetylhydrolase. *J Lipid Res* 1989; 30: 305—315.
- 5) Levine GN, Kearney JF, Vita JA: Cholesterol reduction in cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1995; 332: 512—521.
- 6) Libby P: Molecular bases of acute coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 2844—2850.
- 7) Rajavashisth TB, Liao JK, Galis ZS, et al.: Inflammatory cytokines and oxidized low density lipoproteins increase endothelial cell expression of membrane type 1-matrix metalloproteinase. *J Biol Chem* 1999; 274: 11924—11929.
- 8) Aikawa M, Rabkin E, Okada Y, et al.: Lipid lowering by diet reduces matrix metalloproteinase activity and induces collagen content of rabbit atheroma: a potential mechanism of lesion stabilization. *Circulation* 1998; 97: 2433—2444.
- 9) Kodama T, Freeman M, Rohrer L, et al.: Type I macrophage scavenger receptor contains alpha-helical collagen-like coiled coils. *Nature* 1990; 343: 531—535.
- 10) Stanton LW, White RT, Bryant CM, et al.: A macrophage Fc receptor for IgG is also a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1992; 267: 22446—22451.
- 11) Endemann G, Stanton LW, Madden KS, et al.: CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem* 1993; 268: 11811—11816.
- 12) Acton SL, Scherer PE, Lodish HE, et al.: Expression cloning of SR-BI, a CD36-related class B scavenger receptor. *J Biol Chem* 1994; 269: 21003—21009.
- 13) Ramprasad MP, Fischer W, Witztum JL: The 94- and 97-kDa mouse membrane protein that recognize oxidized low density lipoprotein and phosphatidylserine-rich liposome is identical to macrosialin, the mouse homologue of human CD68. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:

- 9580—9584.
- 14) 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.
 - 15) 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.
 - 16) Febbraio M, Podrez E, Smith J, Hajjar DP, Hazen SL, Hoff HF, et al.: Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J Clin Invest* 2000; 105: 1049—1056.
 - 17) Kugiyama K, Kerns SA, Morrisett JD, et al.: Impairment of endothelial-dependent vasorelaxation by lysophosphatidylcholine in modified low density lipoproteins. *Nature* 1990; 344: 160—162.
 - 18) 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.
 - 19) Kume N, Gimbrone MA Jr: Lysophosphatidylcholine transcriptionally induces growth factor gene expression in cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1994; 93: 907—911.
 - 20) Murugesan G, Fox PL: Role of lysophosphatidylcholine in the inhibition of endothelial cell motility by oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1996; 97: 2736—2744.
 - 21) Sata M, Walsh K: Oxidized LDL activates fas-mediated endothelial cell apoptosis. *J Clin Invest* 1998; 102: 1682—1689.
 - 22) Kume N, Arai H, Kawai C, et al.: Receptors for modified low-density lipoproteins on human endothelial cells. Different recognition for acetylated low-density lipoprotein and oxidized low-density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1091: 63—67.
 - 23) Krieger M, Acton S, Ashkenas J, et al.: Molecular flypaper, host defense, and atherosclerosis. *J Biol Chem* 1997; 268: 4569—4572.
 - 24) Sawamura T, Kume N, Aoyama T, et al. A novel endothelial receptor for oxidized low density lipoprotein. *Nature* 1997; 386: 73—77.
 - 25) 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.
 - 26) 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.
 - 27) Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, et al.: Oxidized low-density lipoprotein binding to LOX-1 in endothelial cells induces the activation of NF- κ B through an increased production of intracellular reactive oxygen species. *J Biol Chem* 2000; 275: 12633—12638.
 - 28) 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.
-