総 説

コレステロール生合成阻害剤
の基礎と開発

遠 藤 章

東京農工大学農学部農芸化学科 (府中市幸町 3-5-8)

Basic and Developmental Studies of Inhibitors of Cholesterol Biosynthesis

Akira ENDO

Department of Agricultural and Biological Chemistry, Tokyo Noko University
(3-5-8, Saiwaicho, Fuchu-shi, Tokyo)

はじめに

筆者らが青かびからコレステロール合成阻害剤 ML-236 B を発見し、1976 年に発表してから丁度 9 年¹⁾、研究に着手してからでは 14 年経過した。この物質が幸運にもコレステロール合成の律速酵素 HMG (hydroxymethylglutaryl)-CoA reductase の特異的な阻害剤であり、しかも重症の高コレステロール血症患者に対して著しいコレステロール低下作用を有することが明らかになり、基礎研究及び臨床医学の双方から注目されるようになった。

基礎研究の領域では研究試薬 (research tool) として 1980 年ごろから動、植物、昆虫、微生物及び培養細胞系のイソプレノイド代謝の研究に広く利用されている。過去数年間に ML-236 B (及びその誘導体) を利用した研究論文は 200 編近くになる。また、ML-236 B 関連物質は優れたコレステロール低下薬と期待され、現在開発が進められている。

ML-236 B についてはこれまで数回にわたりいくつかの雑誌等で紹介されているので^{2)~9)}、本稿ではこれまでのものとは少し趣向を変えたものにしたいと思う。コレステロール合成阻害剤のスクリーニング、ML-236 B の発見、作用機序の解明さらには医薬として開発するための各種の動物実験を通して、筆者らは何回となく幸運に恵まれ、又時には予期せぬ障害にも出会った。そうした筆者らのささやかな体験を思いつくままに紹介させていただきたい。

生物活性をもった新しい物質を微生物に探し求める研究は相当な重労働であり、その上危険性も大きい地味な仕事である。しかし、他の領域では味わうことのできない大きな夢 (ロマン) があると筆者は考える。この領域の研究者と今後このような研究に携わる若い人々にこの

拙文が少しでも励ましになれば筆者にとり望外のよろこびである。

ML-236 B の発見まで

筆者は 1966~68 年の 2 年間 postdoctoral fellow として米国留学し、当時全盛だった分子生物学を勉強することができた。民間企業へ帰ってきて 1 年余り経った 1969 年の年末に機構改革があり発酵関係の研究所が新しく発足した。その当時、企業の研究所にしては珍しく、研究テーマに関する制約をほとんど受けず、筆者らは自由にテーマを選ぶことができた。研究者として非常に恵まれていたわけで、現在でも当時立派な上司にめぐり会えた幸運を感謝している。このような研究環境のおかげで、海のものとも山のものともまったく見当のつかないコレステロール合成阻害剤の研究を進めることができた。

コレステロール合成阻害剤のスクリーニングは入社間もない黒田正夫君と一緒に 1971 年 4 月にスタートさせた。ラット肝の粗酵素を用い、¹⁴C-酢酸から生成する不けん化物を測定する検定方法が軌道に乗るまで 2, 3 か月を要したが、その後は毎日 50 検体は処理できるようになった。約 2,600 株の微生物を調べ終わった 1 年後の 1972 年 4 月に黄色結晶が活性物質としてかびの 1 株から単離されたが、残念ながら毒性の強い既知物質 citrinin と判明した⁹⁾。約 6,000 株を検定した同年 11 月には *Penicillium citrinum* の 1 株がおもしろそうな活性物質をつくることがわかったが、生産量が少なく活性成分の単離には随分苦労した。翌 1973 年 7 月までかかってやっと 600 l の培養液から約 20 mg の活性物質が結晶として単離された (Fig.-1)。培養液の通し番号に因んで、筆者はこの物質を ML-236 B と呼ぶことにした。0.01 µg/ml の低濃度で不けん化物の合成を 50%

図-1 ML-236 B の結晶

阻害する強い活性物質であった。

ML-236 B の単離から数か月後には同僚の田村千尋博士が最新技術を駆使したX線解析法によりその構造を決定し、新規物質であることが確認された (Fig.-2)。

筆者らが ML-236 B を発見した 1973 年はコレステロール代謝の研究史上画期的なできごとであった年である。すなわち、テキサス大学の Brown と Goldstein の両氏はヒト培養細胞に LDL (low density lipoprotein) receptor のあることを同年発表した¹⁰⁾。

R=H, ML-236 B
R=CH₃, Monacolin K

図-2 ML-236 B とモノコリン K

酢酸から 20 数段階の酵素反応を経てコレステロールが合成される。ML-236 B がどの段階を阻害するかを調べたところ、律速酵素 HMG-CoA reductase のみを特異的に抑えることが明らかとなった。これは誠に幸運であった。筆者らはコレステロール合成を抑える方法としては律速酵素である HMG-CoA reductase を阻害することが最も好ましいだろうと考えていたからである。しかも、ML-236 B の阻害機序が基質 HMG-CoA に対するきつ抗阻害 ($K_i=10$ nM) であることがさらに筆者らを勇気づけた。

開発前奏曲

ML-236 B を酵素阻害剤として生化学の研究に利用するのであればここまでの仕事でほぼ充分であろう。あとは mg 単位で研究者に提供できればよい。これだけで済むのであれば大変気楽であるが、企業の研究はこれからが大変である。

ところで、「医薬の開発は 10 年 10 億円を要す」とよ

く言われるが、これはある物質が発見 (合成) され、動物実験である程度の効果が認められ、しかも毒性も低そうだと分かってからのことである。ここまで来ればその物質は「候補化合物」として初めて認定されるわけである。「10 年 10 億円」はここから数えてのことである。これだけの時間と費用を投入しても候補化合物はすべて医薬として企業化できるわけではない。その確率は 5% ぐらいであろう。つまり、候補化合物 100 個のうち 95 個は 10 年間の開発の途中で効果、安全性、経済性あるいは物性 (安定性等) のどれかで問題が生じ、それが解決できないために脱落していく。

ML-236 B の発見まで 2 年余を費やしたが構造上もおもしろく、作用機序からみても興味のある新規化合物ということで、ここまでは運にも恵まれ比較的順調に進んできた。基礎研究としては一つのまとまりのある業績である。ところが、ML-236 B はこの段階ではまだ候補化合物にもなっていない。まず、動物実験でコレステロール低下作用のあることを示し、簡単な毒性試験で毒性の低いことが確かめられなければならない。生産原価についてもある程度念頭におく必要がある。高過ぎたのでは経済性がなくなる。利益にはならないものを企業が取り上げることはないからである。

さて、動物実験と簡単な毒性試験を行うためには少なくとも 10 g のサンプルが必要である。当初 600 l の培養液から 20~100 mg しか取れなかった収量も、生産方法の改良で 1974 年のはじめには培養液 3,000 l から 10 数 g の結晶が単離できるまでになった。一般的に言って発酵生産物を医薬品とするためには 3,000 l から 10 kg 前後とれなければならない。

ラットで苦しむ

サンプルが 10 g 調製できた 1974 年の早春に動物実験に入った。まず、急性毒性では 1 g/kg の経口投与でラットが 1 頭も死なず極めて毒性が低いことがわかった。因みに 1 g/kg は体重 60 kg のヒトが一度に 60 g 飲んだことになる。

コレステロール低下作用は脂質関係の動物実験を専門とする筆者らとは別のグループで調べることにになった。飼料に 0.05~0.2% の検体を混ぜてラットに 1 週間経口投与した後にと殺して血清コレステロール値を測定するという極めて一般的な方法である。ところが、筆者らがかたずをのんで待っていたのに結果は思わしくなかった。まったく効果がないのである。投与量は充分であるはずなのにラットの血清コレステロール値は誤差範囲内の変化も受けていないのに我々は強い衝撃を受け文字通り冷汗を流した。動物実験を担当した人々の好意によりもう一度評価試験を繰り返していただいたが結果は同じであった。

医薬の開発ではまずラットかマウスのような小動物で試験し、そこでの評価（効果と安全性）にパスしたものを順次イヌ、サル等の中、大動物に進めていくのが常道である。世界中どここの企業でもこの方法を採用している。始めからイヌやサルを用いることはばく大な費用を要するだけでなく物理的にも不可能に近いからである。このような情況からみて ML-236 B は候補化合物になり得ない代物ということになってしまった。数名（一時は 10 名以上）の研究者を 3 年間つぎ込んでこの始末であるから、企業によっては責任問題になることもあるが、筆者の職場は幸いにそのようなことにはならなかった。

このような経緯ではあったが、筆者らにとっては ML-236 B を簡単に捨てることができなかった。研究者ならばだれでもそうであるように、筆者らも自分達が苦勞して発見したものに対する強い愛着があった。また、「生体内のコレステロールの大半は肝で合成される」と書いてある教科書が間違っていないのであればラットの血清コレステロールが下がらないのが“おかしい”という疑問も頭のどこかにあった。

ここで筆者は多少あった周囲の反対を押し切って自分達で動物実験をやってみることに決心した。黒田正夫、辻田代史雄の両君が動物実験にはまったくの素人であったにもかかわらず短時間で技術を習得してくれた。1974 年 4～5 月ごろには実験条件を色々変えたり、ラットの系統、週齢を変えたりすると時々少し効果がみられるようになった。時には 5～20 mg/kg の経口投与で血清コレステロールが 20～30% 低下することもあった。しかし、筆者らの方法は一風変わった一般に認められていない簡単なもので、しかも再現性が極めて悪く 3 回に 1 回位の割合でしか有意差のある成績が得られなかった。このため、周囲が認めるまでには至らなかった。それでも同年 6 月に特許を出願した。ただし、雑誌への投稿はさらに 2 年間（1976 年）、学会発表は 3 年間（1977 年 4 月）延期した。1974 年の秋には Triton X-100（界面活性剤）投与を受けたラットに発症する高コレステロール血症に弱いけれども効果が認められるようになった。ML-236 B はほとんど水に不溶であるため吸収が悪い可能性があった。そこで数 10 μ 以下の微粉末にして投与したのが幸いしたようである。しかしながら Triton 法もコレステロール低下剤の評価法として専門家の間で認知されたものではないとの理由で、筆者らのデータはなかなか周囲から支持が得られなかった。

それでも同年暮れには ML-236 B の δ -ラクトン部分を開環するとその構造が HMG-CoA の HMG 部分にそっくりであることに気付いたことは大きな励ましになった（Fig.-3）。HMG-CoA reductase のきつ抗阻害剤であるから当たり前のことであるが、こんな簡単なことが 1 年以上も分からなかったのが不思議なくらいである

図-3 ML-236 B（酸型）(A) と HMG-CoA の構造(B)

のだが……。これで ML-236 B が水溶性になり、生化学的な実験がやりやすくなった。

ML-236 B がラットで効果が出にくい（弱い）原因として 2 つのことが考えられた。一つは吸収が悪く、すぐ体外に排せつされる可能性、もう一つは吸収されても分解されすぐ不活化されてコレステロール合成を抑えていない可能性である。この点を明らかにするために ^{14}C -ML-236 B を調製して調べたところ、吸収され、しかもコレステロール合成の行われる肝によく集まることがわかった。また、 ^{14}C -酢酸を腹腔投与して *in vivo* のステロール合成をみたところ、ML-236 B 投与後数時間は肝のステロール合成を実によく抑えることも 1975 年 11 月ころには明らかになった。

また、同年 10 月ころ筆者は Texas 大学の Goldstein 教授に事情を手紙で認め、彼の厚意で家族性高コレステロール血症患者の皮膚細胞を入手できた。間もなく、ML-236 B がこの細胞のコレステロール合成を低濃度で抑えることもグループの島田（間）葉子女史の努力で示された。

ニワトリからイヌ、サルまで

これまでの 2 年間ラットで色々な実験を繰り返してきたが、ML-236 B が吸収されて肝のコレステロール合成を短時間にしろ抑えることなどから考えて、「ラット以外の動物では効果が出るかも知れない」という疑問を次第に強く抱くようになった。しかし、マウス、ハムスター、モルモットでは残念ながら期待した成績が得られなかった。

1976 年の早春、筆者とは所属の異なる（別の研究所に所属）北野訓敏博士の協力で廃鶏直前のニワトリに ML-236 B（開環した Na 塩）を投与してみることにになった。コレステロール低下剤の評価にニワトリを用いたという前例がないだけに、これも邪道実験であったが、見事に適中した。えさに 0.1% 加えて 30 日間投与すると血清コレステロールが 50% 前後も低下したのである。同年 4 月のことであった。

ニワトリの実験は邪道であるとはいえ、効果が劇的であるだけに関係者を大いに勇気づけた。ニワトリの実験以後は周囲の協力が次第に得られるようになり、同年夏にはイヌでも同じような成績が得られた。また、同年末

には藤井節郎教授（当時徳島大学医学部）の協力でサルにも極めて有効なことが示された。

筆者らがコレステロール合成阻害剤のスクリーニングに着手してから5年余、ML-236 Bが発見されてからでも3年間を費やしてやっと候補化合物の一つとして認知されたことになる。これから「10年10億円」の開発が始まるわけである。最初のML-236 B関係の報文が投稿されたのが1976年9月である。これ以後1978年までの約2年間に17編の報文にまとめて投稿した^{1), 9), 11) ~25)}。1971~1975年の丸5年間筆者をはじめ共同研究者に研究論文が一つもないのはこのためでもある。

臨床試験へ

これまで述べた紆余曲折を経て曲りなりにも正式に開発プロジェクトとして公式に認められ開発がスタートした。筆者らがこれまでやってきた基礎研究に加えて薬理、病理、安全性、生産、製剤等の領域の研究がこれから正式に始まる。筆者らがここまでくる間にもかなりの費用を費やしたと思うが、ここからがもっと金のかかる本当の開発になる。中でも安全性関係は最も経費を必要とし、数億円を費やすこともあると言われている。

以上の企業で行う開発研究がある程度に達したところで臨床試験がスタートするのが普通の医薬開発のパターンである。ここで医薬としての本当の意味での評価が決定される。

ML-236 Bの臨床試験は最初山本章博士（国立循環器病センター研究所部長）が担当され、イヌ、サル、の成績を凌ぐ成績が1979年から1980年にかけて得られた²⁶⁾。その後、馬淵宏博士（金沢大学）のグループの詳細な臨床研究で家族性高コレステロール血症に対して極めて有効であることが示された²⁷⁾。このころ（1979年）からML-236 Bに対する関心が内外で次第に高まってきた。

ML-236 B とコンパクチン

筆者らは1973年夏にML-236 Bをコレステロール合成阻害剤として発見し、10月には構造を決定し、翌1974年6月特許出願したことは既に述べた。現在の特許制度では1年半後にその内容が公表（公開と呼ばれる）される。ML-236 Bの特許は1975年12月にまずベルギーで公開された。

ところで、英国の大製薬企業ビーチャム社の研究陣は*Penicillium brevicompactum*という青かびから弱い抗菌物質を単離し、コンパクチン（compactin）と命名して1975年7月29日付けで*J. Chem. Soc. Perkin Trans I*誌に投稿し、これが翌1976年6月に同誌に掲載された²⁸⁾。コンパクチンがML-236 Bと同一物質であることを同誌で知り、筆者らはあわててML-236 Bの第一報を投稿し、幸いにも同年中に掲載された。

ビーチャム社の研究陣は特許出願しておらず（抗菌作用が弱いためであろう）、しかも彼らはコレステロール合成阻害作用には一言も触れていないのだから、彼らが我々のライバルということにはならない。ところが筆者らの意に反して、最近は大半のコレステロール関係の研究者がML-236 Bをコンパクチンと呼ぶようになった。これは甚だ遺憾ではあるが呼びやすい命名をしなかった筆者の責任であると深く反省している。

命名のこともさる事ながら、その後（1980年）彼らは筆者らのラットの実験を追試して次のように報告している²⁹⁾。

The use of a competitive inhibitor of cholesterol synthesis is not a practical approach to the reduction of serum lipids, …….

ところが、最近ではコンパクチンを独自にコレステロール合成阻害剤として発見した、と受けとれるような表現もみられる³⁰⁾。

モノコリンKとメビノリン

筆者らはML-236 Bよりも若干活性の強い活性物質を*Monascus ruber*（かびの一種）から発見して1979年2月下旬特許出願し、同年8月に雑誌にも掲載された（Fig.-2）。ところがその直後米国の大手製薬企業メルク社の主脳陣から電話があり、2、3日後に同社のAlbertsらが米国から筆者の研究室へ訪ねてきた。彼らも*Aspergillus terreus*という別のかびからモノコリンKと同じ物質（メビノリンと命名）を発見し、開発中であることが、そこでわかった。幸いにも彼らの特許出願が6月だったので、筆者らが4か月の差で勝ったわけである。メビノリンは翌1980年に雑誌に掲載された（図-4）。

ML-236 Bの二の舞にならぬよう早速モノコリンK（KingのK）と命名し、メビノリンよりも1年程前に公表されているのに、最近ではメビノリンと書く人が多くなった。

図-4 モノコリンKの結晶

学会発表雑感

ML-236 B の最初の学会発表は 1977 年 4 月の日本農芸化学大会 (東京) で行われたが、質問が二、三あったのみであり反響がなかった⁸¹⁾。同年 8 月には第 6 回 DALM 国際会議 (International Symposium on Drugs Affecting Lipids Metabolism) が米国 (Philadelphia) で開催され、その一般口演に申し込んだ。発見から作用機序、ニワトリ、イヌ、サルの動物実験について発表した、これもあまり芳しくなかった。筆者の前の演者のとき 100 名位いた聴衆がその口演が終わると半分位に減ってしまった。座席の最前列にいた大御所 Kritchevsky 大会委員長 (Pennsylvania 大学教授) も会場から出ていかれた。

1979 年になると様子が大分好転してきた。まず、2 月には "Deuel Conference on Lipids" に招かれた。これは Closed の会で、海外からは招待者だけが参加し総勢 68 名が California 州のリゾート Carmel のホテルに 3 泊 4 日泊りこみで勉強する楽しい集まりであった。Samuelsson 教授 (Sweden) と筆者の 2 人が海外からの招待者として参加した。この会議では仲々好評で、発表後何回握手をしたか覚えていない。特に、大会会長 Popják 教授 (UCLA) 夫人がわざわざお礼にこられたのには感激した (図-5)。

図-5 Deuel Conference on Lipids で Samuelsson (左), Popják (中央) 両教授と筆者

1979 年 4 月には Dallas で開かれた米国の生化学会大会 (いわゆる Federation Meeting) のシンポジウムに呼ばれて発表することができた。また、同年 11 月同じ Texas 州 Huston で開かれた国際動脈硬化学会議 (5th International Symposium on Atherosclerosis) から招待を受け⁸²⁾、農芸化学畑の筆者には全く場違いの感があったが、予想以上の大きな反響があった。

翌 1980 年には Milano (Italy) で第 7 回 DALM 国際会議が開催されたが、前回と異なり招待者の一人として出席できた。大会冒頭の会頭講演で Kritchevsky 教授が ML-236 B をとり上げ絶賛してくれたのには感激

した。彼は筆者の滞在していたホテルの部屋にわざわざあいさつにこられた。これ以来同氏との親交が続いている。

その後も数回海外から招待され今日に至っている。筆者らが ML-236 B の第一報を発表したのが 1976 年であるから、それから 3、4 年で一応周囲から認められ、一まず安心できる状況になったようである。短いようでもあるが、この研究を 1971 年から続けている当事者にとってはかなり長い時間に感じられた、というのが実感である。

ML-236 B のコレステロール低下剤としての特長

ML-236 B は初めて発見された HMG-CoA reductase の特異的なきつ抗阻害剤であり、作用機序がはっきりしている点が大きな特長である。従来この種のものが開発されたこともないし、話題となったこともない。

また、ML-236 B が血中の LDL (low density lipoprotein) を特異的に下げる点が薬剤としての長所であり特徴でもあろう²⁷⁾。「LDL-コレステロールが動脈硬化を誘発する元凶であり、HDL-コレステロールは逆に抗動脈硬化の働きをする」という現在の通説にピッタリの特性をもっていたわけである。ML-236 B のように LDL のみを下げる薬剤 (HDL は不変か若干上昇) は従来のものにはない。コレステロール低下作用が従来の薬剤の 10 倍以上強いのも特長の一つといえよう。

筆者らは ML-236 B が LDL を下げただろうと前から予想したことはなかった。「HMG-CoA reductase を阻害すればコレステロールの供給が減少し、血中コレステロールが下がるだろう」という程度のことである。肝のコレステロール合成阻害が血中リポタンパクの代謝にどんな影響を及ぼすかを生化学の知識をもとに見ることは不可能である。両者の関係に生化学のメスを入れるにはその当時はまだ複雑過ぎたからである。

ML-236 B が LDL を下げたのは思わぬ幸運と言わなければならない。そこで、それならばどんな機構で LDL が下がるのか、という興味が沸いてくる。この問題は相手が大動物か患者であるため簡単ではないがほぼ解決されようとしている。それを模式にして 図-6 に示した⁴⁾。つまり、HMG-CoA reductase が阻害されると肝のコレステロール合成が低下し、肝細胞のコレステロール含量が低下する。これを補うために細胞の LDL receptor 活性がこう進んで血中 LDL が肝にどんどん取り込まれることなのである。わかってしまえば大したことではないが、考えて簡単に予想のつくことではなかった。

いずれにしても、ML-236 B の出現により、「HMG-CoA reductase を抑えれば血中の LDL が低下する」

図-6 ML-236 B (compactin) の血中 LDL 低下機序

という新概念が確立できたことは大きな収穫といえよう。

筆者はこれまで 100 名以上の研究者（主として海外の）に ML-236 B を無償で提供してきた。ML-236 B を利用した基礎研究の報文も 200 編近くに及ぶ。今後も相当増えそうな気配であり、大変うれしく思う。紙数の都合もあり、それらの内容をここで紹介できないので、他の総説を御覧いただければ幸いである^{3), 4), 5)}。

おわりに

ML-236 B, モナコリン K 及びその後発見された関連化合物は医薬としての開発研究がまだ完成されていない。今後 3, 4 年は要するだろうと思われる。米国では心臓病で死亡する人ががんて死亡する人の 2 倍以上の 80 万人（年間）、我が国ではがんが 17 万人、心臓病が 12 万 6 千人（昭和 57 年度）となっている。血中コレステロールの高い人は動脈硬化になり、心臓病を発症する危険性の高いことは周知の事実である。この意味で、良いコレステロール低下薬を発見、開発することは医学的にもまた社会的に極めて重要な課題であるといえよう。ML-236 B とその関連物質に対する期待が大きいのはこのためで、一日も早く実用化されることを祈るものである。

一つの生物活性をもった新物質を探す仕事には危険もあるが、それだけに大きな夢（ロマン）があると筆者は考えている。若い人達がこの領域に進出して積極的に活躍されることを期待する。

（昭和 60 年 1 月 14 日受理）

文 献

- 1) A. Endo, M. Kuroda, Y. Tsujita, *J. Antibiotics*, **29**, 1346 (1976)
- 2) A. Endo, *Trend Biochem. Sci.*, **6**, 10 (1981)
- 3) B. Preiss, "Regulation of HMG-CoA Reductase", Academic Press, San Francisco (1985), 印刷中

- 4) A. Endo, *J. Medicinal Chem.*, 印刷中
- 5) 遠藤 章, 生化学, **52**, 1033 (1980)
- 6) 村川茂雄, 遠藤 章, 油化学, **30**, 707 (1981)
- 7) 遠藤 章, *Pharma Media*, **2** (8), 99 (1984)
- 8) 遠藤 章, 生化学, 印刷中
- 9) A. Endo, M. Kuroda, *J. Antibiotics*, **29**, 841 (1976)
- 10) M.S. Brown, J.L. Goldstein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**, 2162 (1983)
- 11) A. Endo, M. Kuroda, K. Tanzawa, *FEBS Letters*, **72**, 323 (1976)
- 12) M. Kuroda, A. Endo, *Biochim. Biophys. Acta*, **486**, 70 (1977)
- 13) M. Kuroda, Y. Hazama-Shimada, A. Endo, *Biochim. Biophys. Acta*, **486**, 254 (1977)
- 14) A. Endo, T. Tsujita, M. Kuroda, K. Tanzawa, *Eur. J. Biochem.*, **77**, 31 (1977)
- 15) K. Tanzawa, M. Kuroda, A. Endo, *Biochim. Biophys. Acta*, **488**, 97 (1977)
- 16) M. Kuroda, K. Tanzawa, Y. Tsujita, A. Endo, *Biochim. Biophys. Acta*, **489**, 119 (1977)
- 17) I. Kaneko, Y. Hazama, A. Endo, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **76**, 1207 (1977)
- 18) I. Kaneko, Y. Hazama-Shimada, A. Endo, *Eur. J. Biochem.*, **87**, 313 (1978)
- 19) K. Tanzawa, A. Endo, *Eur. J. Biochem.*, **98**, 195 (1979)
- 20) M.S. Brown, J.R. Faust, J.L. Goldstein, I. Kaneko, A. Endo, *J. Biol. Chem.*, **255**, 1121 (1978)
- 21) A. Yamamoto, A. Endo, Y. Kitano, A. Okada, K. Ishikawa, T. Kuroshima, I. Kaneko, *Japanese J. Med.*, **17**, 230 (1978)
- 22) O. Doi, A. Endo, *J. Med. Sci. Biol.*, **31**, 225 (1978)
- 23) Y. Tsujita, M. Kuroda, K. Tanzawa, N. Kitano, A. Endo, *Atherosclerosis*, **32**, 307 (1979)
- 24) M. Kuroda, Y. Tsujita, K. Tanzawa, A. Endo, *Lipids*, **14**, 585 (1979)
- 25) A. Endo, Y. Tsujita, M. Kuroda, K. Tanzawa, *Biochim. Biophys. Acta*, **575**, 266 (1979)
- 26) A. Yamamoto, H. Sudo, A. Endo, *Atherosclerosis*, **35**, 259 (1980)
- 27) H. Mabuchi, T. Haba, R. Tatami, S. Miyamoto, Y. Sakai, T. Wakasugi, A. Watanabe, J. Koizumi, R. Takeda, *New Eng. J. Med.*, **305**, 478 (1981)
- 28) A.G. Brown, T.C. Smale, T.J. King, R. Hasenkamp, R.H. Thompson, *J. Chem. Soc., Perkin I.*, **1976**, 1165
- 29) R. Fears, D.H. Richards, H. Ferres, *Atherosclerosis*, **35**, 439 (1980)
- 30) R. Fears, *Biochem. Soc. Trans.*, **11**, 642 (1983)
- 31) A. Endo, S. Fujii, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Vol. 9, D. Kritchevsky, R. Paoletti, W. Holmes eds., Plenum Press, New York, (1978) p. 376
- 32) A.M. Gotto, Jr., L.C. Smith, B. Allen, "Atherosclerosis", Springer-Verlag, New York (1980), p. 152