

200825031A

厚生労働科学研究費補助金

循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業

動脈硬化性疾患の発症予知・進展予防に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

主任研究者

沢 村 達 也

平成21（2009）年3月

# 目 次

I. 総括研究報告	-----	1
動脈硬化性疾患の発症予知・進展予防に関する研究		
沢村 達也		
II. 分担研究報告		
1. 新規危険因子関連蛋白の同定に関する研究に関する研究	----	9
藤田 佳子		
2. 血中LOX-1リガンド及び可溶型LOX-1濃度の測定法の確立と 臨床的意義に関する研究	-----	13
井上 信孝		
3. 動脈硬化危険因子の臨床的意義の検討に関する研究	----	17
木村 剛		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	21
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	27

# 総括研究報告



動脈硬化性疾患の発症予知・進展予防に関する研究

主任研究者 沢村 達也 国立循環器病センター研究所 部長

研究要旨 (1)酸化LDL受容体LOX-1の病態における意義の解明、(2)LOX-1を利用した血中酸化LDL(LOX-1リガンド)およびLOX-1測定法の確立と有用性の検証、(3)酸化LDL以外の動脈硬化危険因子の作用機構解明、の3つを本研究の中心課題として研究を行った。その結果、①吹田研究により、LOX-1リガンドの脳梗塞発症予知における有用性が示された。sLOX-1とLOX-1リガンドを組み合わせることにより、指標性はさらに高まり、心血管病全体の発症予知指標となりうることが証明された。②虚血性心疾患の危険因子として注目されているCRPもまたLOX-1に作用して機能を発揮することが明らかとなった。③LOX-1リガンドおよびLOX-1のレベルを抑制することが、動脈硬化性疾患の予後改善に働くことが明らかとなった。

分担研究者

藤田佳子	国立循環器病センター研究所	室員
井上信孝	国立循環器病センター研究所	室長
木村 剛	京都大学大学院医学研究科	准教授

(平成20年10月、北徹より交代)

A. 研究目的

動脈硬化およびその結果として起こる虚血性心疾患は多因子病である。現状では、その危険因子のひとつである高脂血症、特に高コレステロール血症に対する治療薬として、スタチンによる治療が重用されている。一方で、やはり危険因子対策として肥満対策が政策的に行われつつある。コレステロールや肥満の動脈硬化危険因子としての重要性は明らかであるが、それだけがすべてではない事も論を待たない。例えば、コレステロール値が正常でも、酸化LDLが高値の場合には虚血性心疾患を発症しやすい。したがって、酸化LDL自体が動脈硬化性疾患の危険因子である。我々も酸化LDL受容体LOX-1の研究を通じて、この分子が動脈硬化、心筋梗塞、バルーン傷害後血管再狭窄、炎症などさまざまな病態に関与する事を見出した。本研究では、まずこれまで小動物で明らかにしてきたLOX-1の研究成果に基づき、LOX-1機能抑制が実際にヒトで、動脈硬化関連疾患の評価や抑制に効果があることを検証する。

一方、LOX-1のさまざまなリガンドが明らかになり、酸化LDLが病態悪化を招くのは、LOX-1のような病的な作用を持つ分子が作用を媒介している事も一因と考えられた。このような成果に鑑み、近年見出された、まだ作用機構が不明な危険因子の作用機序を明らかにする。これは、動脈硬化性疾患の全貌を明らかにし、新しい側面からの診断・治療法を開発するために重要と考えられる。

今年度も①酸化LDL受容体LOX-1の病態における意義の解明、②LOX-1を利用した血中酸化LDL(LOX-1リガンド)およびLOX-1測定法の確立と有用性の検証、③酸化LDL以外の動脈硬化危険因子の作用機構解明、の3

つを本研究の中心課題として研究を行った。

分担研究者の木村(北)および井上が主に②について研究を進め、藤田が主に③について研究を進めた。以下BからDは、主任研究者が主に担当した、①のLOX-1の動脈硬化関連疾患における意義に関する研究について述べ、Eで全体を通じた総括について述べる。

B、C. 研究方法・結果

血管内皮細胞の機能変化が様々な病態の基盤となり、動脈硬化や虚血性心疾患関連の病態生理に重要であることが明らかにされてきた。特に酸化LDLは内皮機能障害を引き起こす因子として、心血管病の発症進展過程の様々な局面においてkey mediatorとして機能し、その受容体であるLOX-1のこれらの病態での役割が注目されてきた。LOX-1は酸化LDLを細胞内へ取り込むだけでなく、炎症反応を惹起し内皮機能障害を引き起こす。前年度我々は、LOX-1が血管壁脂質沈着、動脈硬化進展、血栓形成、虚血心筋傷害など、動脈硬化性心血管病の形成機転全体に関与していることを示してきた。

本年度は特に、(i) 血小板活性化機構におけるLOX-1の意義について、さらに検討を進め、(ii) LOX-1リガンドの意義、および(iii) LOX-1発現レベル抑制による、動脈硬化関連疾患抑制について、動物モデルでの検討を行って、同時に進めているヒトでのLOX-1リガンド、およびLOX-1発現レベルを反映すると考えられるsLOX-1測定から得られた結果が、実際にどのような因果関係に基づくものかを検証することとした。

(i) 血小板活性化機構におけるLOX-1の意義

これまで、LOX-1欠損マウスを用いた検討で、LOX-1が血栓形成過程に重要な役割を果たしていることを示



してきた。また、標識血小板交差投与実験にて、内皮及び血小板に発現するLOX-1の両方が、血栓形成には関与していることを見出した。今年度は、さらにこれらに知見をもとに、LOX-1の血小板活性化機構における分子機構を詳細に検討した。

血小板活性化とともに、phosphatidylserine (PS)及びLOX-1の血小板細胞膜表面への発現が著明に亢進し、PSとLOX-1との結合が、血小板凝集に重要な役割を果たしていることを見いだした。また、ELISAプレートに脂質を固相化した無細胞の系にでも、PSとLOX-1との結合を確認した。

病態との関連においては、心筋虚血時に伴う血小板の活性化にLOX-1が重要な役割を果たしていることを見いだした。すなわち、ウサギ虚血再灌流モデルにおいて、心筋虚血前に比べて、虚血再灌流後では血小板凝集の著明な亢進が認められた。この虚血再灌流に伴う血小板の活性化は、抗LOX-1ブロッキング抗体により著明に抑制された。心筋虚血再灌流により引き起こされた血小板活性化は、no-reflow現象などの微小循環障害に関連すると考えられており、こうした病態にもLOX-1が関与している可能性が示唆された。

#### (ii) LOX-1リガンドの意義

ヒトでの疫学研究で、LOX-1リガンド(酸化LDL)の意義の検証を本研究で進めると同時に、validationのために、動物実験、特にマウスの病態モデルでの検証を可能とするために、LOX-1リガンドの、マウスでの測定系を樹立した。マウスでの酸化LDLに相当するリポ蛋白の測定系はこれまでになく、これにより数多く存在する動脈硬化等疾患モデルマウスでLOX-1リガンドを測定することが可能になった。

実際に、動脈硬化を自然発症する高脂血症マウスであるApoEKOマウスにこの系を応用し、LOX-1リガンドの測定を行うと、通常のC57BL/6マウスと比較して、顕著に高い血中LOX-1リガンド濃度を示し、高脂肪食でさらに高値を示すことがわかった。そして、マウスの肝臓にLOX-1を外因性に過剰発現させ血中LOX-1リガンドを除去する実験を試みると、肝臓でのLOX-1過剰発現ApoEKOマウスでは、対照のApoEKOマウスと比べて、LOX-1のリガンド濃度が予想通り低下するとともに、動脈硬化の進行が抑制されることが明らかとなった。このことから、LOX-1リガンドレベルが少なくともマウスでは、動脈硬化の進行と関連があることが明らかとなった。

#### (iii) LOX-1発現レベル抑制による、動脈硬化関連疾患抑制

LOX-1発現を抑制する新規化合物ピロールイミダゾ

ールアミドを開発した。ラットバルーン傷害モデルでは、血管傷害直後の中膜平滑筋にLOX-1の発現が認められ、内膜肥厚に伴い肥厚内膜・再生内皮においてLOX-1発現の亢進が観察される。このLOX-1発現亢進をLOX-1遺伝子特異的ピロールイミダゾールアミドにより抑制することを試みた。その結果、バルーン傷害後のLOX-1発現は、ピロールイミダゾール投与により顕著に抑制され、これと並行して内膜肥厚抑制されることが明らかとなった。このように、LOX-1発現レベルと動脈硬化性疾患進行の関連が、少なくともラットの病態モデルで示された。

#### D. 考察

今回の検討により、LOX-1は、(i)血小板の活性化に伴って、PSを認識しつつ血栓を促進し、心筋虚血と関連した血小板活性化にも関わっていることを明らかにした。(ii) LOX-1リガンドレベルを抑制することは、動脈硬化の進展を抑制した。前年度に明らかにしているLOX-1そのものの抑制によっても動脈硬化が抑制されることと併せて考えると、LOX-1リガンドがLOX-1を介して血管へ作用することが、動脈硬化進展を促進していると考えられ、LOX-1リガンドの診断マーカーとしての有用性が示唆される。また、(iii) LOX-1発現レベル抑制薬により、実際にバルーン傷害後のLOX-1発現抑制が見られ、内膜肥厚を抑制することができた。これによりやはり、LOX-1発現レベルを反映すると考えられる血中sLOX-1レベルが病態予後予知の良いマーカーとなる可能性を示すものである。

#### E. 結論

以上述べた①酸化LDL受容体LOX-1の病態における意義の解明、さらに分担研究者らによる②LOX-1を利用した血中酸化LDL(LOX-1リガンド)およびLOX-1測定法の確立と有用性の検証、③酸化LDL以外の動脈硬化危険因子の作用機構の研究が、今年度は大きく進展した。そして、それぞれの研究が、単に独立に並行して行った研究ではなく、相互に強く結び付き、LOX-1に着目した臨床診断薬の開発可能性を強く示唆するものとなったことは予想以上の成果であった。

すなわち、吹田研究により、LOX-1リガンドの脳梗塞発症予知における有用性が示されるとともに、sLOX-1とLOX-1リガンドを組み合わせることにより、指標性はさらに高まり、心血管病全体の発症予知指標となりうることが証明された。疫学研究による結果は因果関係を示すものではないが、このことはLOX-1リガンドがLOX-1に作用することが、動脈硬化性疾患発症に関係していることを示すものである。そして、この結果に呼応するように、動物実験でも、LOX-1リガ



ンドレベルを抑制すること、およびLOX-1発現を抑制することが、動脈硬化やその関連疾患の進展を抑制することが明らかとなった。しかも、疫学研究の結果は、血栓症とLOX-1の関係を強く示唆するものであったが、動物実験でも、血栓におけるLOX-1の機能が確かなものとなってきた。

その一方で、CRPがLOX-1介して機能し、血管機能に影響を与えること、そして、心筋梗塞の病態悪化と関連していることを明らかにすることができたが、今年度JUPITOR trialの成果が発表され、コレステロール値が正常だがCRPが2mg/L以上の人へのスタチン投与が心血管イベントを顕著に減少させるとの結果が報告されている。

このように、疫学研究と機能解析の両面から、LOX-1のヒトの動脈性疾患における臨床的意義が明らかとなってきており、さらに最終年度での発展が期待される。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Sato, Y., Nishimichi, N., Nakano, A., Takikawa K., Inoue, N., Matsuda, H., Sawamura, T.: Determination of LOX-1-ligand activity in mouse plasma with a chicken monoclonal antibody for ApoB. *Atherosclerosis*, 200:303-9, 2008.
- 2) Honjo, T., Otsui, K., Shiraki, R., Kawashima, S., Sawamura, T., Yokoyama, M. and Inoue, N.: Essential role of NOXA1 in generation of reactive oxygen species induced by oxidized low-density lipoprotein in human vascular endothelial cells. *Endothelium*, 15:137-141, 2008.
- 3) Yao, E.H., Fukuda, N., Ueno, T., Matsuda, H., Matsumoto, K., Nagase, H., Matsumoto, Y., Takasaka, A., Serie, K., Sugiyama, H. and Sawamura, T.: Novel gene silencer pyrrole-imidazole polyamide targeting lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 attenuates restenosis of the artery after injury. *Hypertension*, 52:86-92, 2008.
- 4) Ishigaki, Y., Katagiri, H., Gao, J., Yamada, T., Imai, J., Uno, K., Hasegawa, Y., Kaneko, K., Ogihara, T., Ishihara, H., Sato, Y., Takikawa, K., Nishimichi, N., Matsuda, H., Sawamura, T. and Oka, Y.: Impact of plasma oxidized low-density lipoprotein removal on atherosclerosis. *Circulation*, 118:75-83, 2008.
- 5) Hu, C., Dandapat, A., Sun, L., Chen, J., Marwali, M.R., Romeo, F., Sawamura, T. and Mehta, J.L.: LOX-1 deletion decreases collagen accumulation in atherosclerotic plaque in low-density lipoprotein receptor knockout mice fed a high-cholesterol diet. *Cardiovasc Res*, 79:287-293, 2008.
- 6) Hu, C., Dandapat, A., Sun, L., Marwali, M.R., Inoue, N., Sugawara, F., Inoue, K., Kawase, Y., Jishage, K., Suzuki, H., Hermonat, P.L., Sawamura, T. and Mehta, J.L.: Modulation of angiotensin II-mediated hypertension and cardiac remodeling by lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 deletion. *Hypertension*, 52:556-562, 2008.
- 7) Sato, Y., Baba, T., Zubair, M., Miyabayashi, K., Toyama, Y., Maekawa, M., Owaki, A., Mizusaki, H., Sawamura, T., Toshimori, K., Morohashi, K. and Katoh-Fukui, Y.: Importance of forkhead transcription factor Fkhl18 for development of testicular vasculature. *Mol Reprod Dev*, 75:1361-1371, 2008.
- 8) Satoh, H., Kiyota, E., Terasaki, Y., Sawamura, T., Takagi, K., Mizuta, H. and Takeya, M.: Expression and localization of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) in murine and human placentas. *J Histochem Cytochem*, 56:773-784, 2008.
- 9) Hamilton, R.T., Asatryan, L., Nilsen, J.T., Isas, J.M., Gallaher, T.K., Sawamura, T. and Hsiai, T.K.: LDL protein nitration: implication for LDL protein unfolding. *Arch Biochem Biophys*, 479:1-14, 2008.
- 10) Fujita, Y., Kakino, A., Nishimichi, N., Yamaguchi, S., Sato, Y., Machida, S., Cominacini, L., Delneste, Y., Matsuda, H. and Sawamura, T.: Oxidized LDL receptor LOX-1 binds to C-reactive protein and mediates its vascular effects. *Clin Chem*, 55:285-294, 2009.
- 11) Kang, B.Y., Hu, C., Prayaga, S., Khaidakov, M., Sawamura, T., Seung, K.B. and Mehta, J.L.: LOX-1 dependent overexpression of immunoglobulins in cardiomyocytes in response to angiotensin II. *Biochem Biophys Res Commun*, 379:395-399, 2009.
- 12) Sankaralingam, S., Xu, Y., Sawamura, T. and Davidge, S.T.: Increased lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 expression in the maternal vasculature of women with preeclampsia: Role for peroxynitrite. *Hypertension*, 53:270-277, 2009.
- 13) Eichhorn, B., Muller, G., Leuner, A., Sawamura, T., Ravens, U. and Morawietz, H.: Impaired vascular function in small resistance arteries of LOX-1 overexpressing mice on high-fat diet. *Cardiovasc Res*, in press.
- 14) Inomata, Y., Fukushima, M., Hara, R., Takahashi, E., Honjo, M., Koga, T., Kawaji, T., Satoh, H., Takeya, M.,

- Sawamura, T. and Tanihara, H.: Suppression of choroidal neovascularization in lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor type 1-deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009.
- 15) Lu, J., Yang, J.H., Burns, A.R., Chen, H.H., Tang, D., Walterscheid, J.P., Suzuki, S., Yang, C.Y., Sawamura, T. and Chen, C.H.: Mediation of electronegative low-density lipoprotein signaling by LOX-1: a possible mechanism of endothelial apoptosis. *Circ Res*, 104:619-627, 2009.
- 16) Akagi, M., Ueda, A., Teramura, T., Kanata, S., Sawamura, T. and Hamanishi, C.: Oxidized LDL binding to LOX-1 enhances MCP-1 expression in cultured human articular chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage*, 17:271-275, 2009.

## 2. 学会発表

- 1) Sawamura T.  
Oxidized LDL receptor LOX-1 is involved in high fat diet-induced lipid-deposition in SHR-SP. 13th International SHR Symposium, Prague, June, 2008
- 2) Sawamura T.  
Pathophysiological significance of the oxidized LDL receptor LOX-1 in cardiovascular function. EITC2008, Taiwan, June,
- 3) 坂本信雄、石橋敏幸、大河原浩、杉本浩一、上北洋徳、沢村達也、寺本民生、竹石恭知; 内皮細胞への単球接着系でのレドックス系およびカルシウムシグナル伝達における酸化LDL受容体LOX-1の役割とその重要性 第40回日本動脈硬化学会総会、2008年7月10日、つくば
- 4) Takaya T, Morimoto T, Sunagawa Y, Wada H, Shimatsu A, Fujita M, Yoshiko F, Sawamura T., Hasegawa K.  
Left Ventricular Expression of Lectin-like Oxidized Low-density Lipoprotein Receptor-1 during the Development of Heart Failure.  
第73回日本循環器学会年会、2008年3月20日、大阪
- 5) Takanabe R, Ono K, Abe Y, Wada H, Takaya T, Satoh N, Shimatsu A, Fujita M, Sawamura T., Hasegawa K.  
Lox-1 is Expressed in the Adipose Tissue of High-Fat Diet-Induced Obese Mice in Close Association with MCP-1.  
第73回日本循環器学会年会、2008年3月21日、大阪
- 6) Shiraki T, Aoyama T, Yokoyama C, Nishigaki K, Takemura G, Sawamura T., Minatoguchi S.  
Potentiated Angiogenic Effects of LOX-1 via Induction of Vascular Endothelial Growth Factor in Ischemic Leg.  
第73回日本循環器学会年会、2008年3月21日、大阪

- 7) 藤田佳子、垣野明美、山口三郎、沢村達也: C-reactive protein (CRP)は酸化LDL受容体LOX-1と協調して補体活性化を引き起こす 第18回日本循環薬理学会、2008年11月21日、千葉
- 8) 藤田佳子、垣野明美、西道教尚、山口三郎、佐藤優子、松田治男、沢村達也: LOX-1はC反応蛋白を結合し、その血管に対する反応を媒介する 第82回日本薬理学会年会、2009年3月16-18日、横浜

## H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## 分担研究報告



酸化LDL以外の危険因子作用機構に関する研究

分担研究者 藤田 佳子 国立循環器病センター研究所 室員

**研究要旨** C-reactive protein(CRP)は、炎症マーカーとして使われている急性期応答タンパクであるが、近年虚血性心疾患の予測因子、急性冠症候群のマーカーとしても注目されている。さらに、CRPは生理活性をもつことが示唆されており、その作用機序について議論が高まっている。本研究では、酸化LDL受容体LOX-1が、循環器疾患におけるCRPの生理活性発現にどのように関わっているかを検討した。その結果、LOX-1にCRPが結合することを、ヒトLOX-1発現細胞を用いた系、及びELISAプレートにLOX-1蛋白を固相化した無細胞の系で確認した。さらに、生体内でのヒトCRPの反応をみるため、LOX-1発現が顕著に亢進しているSHR-SPにヒトCRPを皮内注射し、静注したエバンスブルーの漏出により血管透過性の亢進を確認した。CRP注射部位を解析すると、CRPによる白血球の浸潤、補体活性化がみられた。そして、CRPによる炎症様反応は抗LOX-1抗体によって抑制された。虚血性心疾患危険因子である酸化LDLの受容体として見出されたLOX-1が、やはり独立した危険因子であるCRPの生理活性発現に関わることが明らかとなった。

A. 研究目的

超高齢化社会へと加速する日本社会の3大疾患のうち、心筋梗塞と脳卒中の原因となる基礎病態である動脈硬化抑制の意義はますます高まっている。そのような中で、臨床で最も一般的な炎症マーカーとして古くから使用されている急性期応答タンパクCRPが、虚血性心疾患の予測因子として注目されている。昨年の大規模臨床試験で、LDL-コレステロール値が正常で、CRPが2mg/L以上の人にスタチンを処方すると、心血管イベントが44%抑制されることが報告された。これは、CRP値が高いことが心血管イベントを引き起こすことを示している。CRPはマーカー、予測因子としてだけでなく、機能分子として内皮細胞に作用してendothelial dysfunctionの誘導や心血管機能の悪化を引き起こすなど、生理活性をもつことが報告されている。しかし、その作用については不明な点も多い。

一方、虚血性心疾患の危険因子の一つである酸化LDL受容体LOX-1は、血管内皮細胞の病的な機能変化を媒介する分子として考えられている。我々は、虚血性心血管病の危険因子から、分子間相互作用を解明することにより疾患発症の本質的分子機構の解明と、それに基づく治療法の開発を目指している。本年度は、虚血性心疾患の危険因子かつ作用因子であるCRPと、LOX-1の結合、血管反応についての研究を行った。

B. 研究方法

1) CRPとLOX-1の結合

テトラサイクリン誘導型LOX-1発現CHO細胞を作製して実験を行った。Alexa546で蛍光標識したCRP(Alexa546-CRP)を4°Cで細胞に結合させた。LOX-1発現を抗LOX-1抗体(TS92)とAlexa488蛍光二次抗体を用いて確認し、CRPとLOX-1のco-localizationを共焦点顕微鏡を用いて観察した。タンパク同士の結合は、リコンビナントLOX-1をELISAプレートに固相化し、CRPを結合させ、HRP標識抗CRP抗体で検出した。

2) 内皮細胞のLOX-1を介したCRPの結合

大動脈内皮細胞(BAEC)にAlexa546-CRPを4°Cで結合させて実験を行った。ウシLOX-1発現CHO細胞(bLOX-1-CHO)とBAECのLOX-1発現はbovine LOX-1 siRNAを用いて抑制した。

3) CRPによるLOX-1を介した血管透過性亢進

脳卒中易発症性高血圧自然発症ラットSHR-SP、対照の正常血圧ラットWKYを用いて実験を行った。皮内にCRPを注射し、それにより惹起される、静注したエバンスブルーの漏出を半定量的に解析した。抗LOX-1抗体と対象のIgGをCRPと同時に投与し、比較検討を行った。



#### 4) CRPによる白血球の浸潤、補体活性化

CRPの皮内注射により惹起される局所への白血球の浸潤、補体活性化の観察を、白血球のマーカーであるミエロペルオキシダーゼ、補体活性化を示すC3dに対する免疫組織化学により行った。

#### 5) CRPとLOX-1による補体古典経路活性化

組換えLOX-1をELISAプレートに固相化し、ヒト血清またはヒトC1q欠損血清とCRPを混合して37°Cで1時間インキュベートし、抗ヒトC3d抗体、HRP標識二次抗体を用いたELISAシステムで補体活性化を評価した。

### C. 研究結果

#### 1) CRPとLOX-1の結合

Alexa546-CRPは、テトラサイクリン誘導型LOX-1発現CHO細胞に、LOX-1発現依存的かつCRP濃度依存的(0.3 µg/ml-30 µg/ml)に結合した。対照のCHO細胞にCRPは結合しなかった。LOX-1を固相化したプレートに、CRPは濃度依存的に結合した。

#### 2) 内皮細胞のLOX-1を介したCRPの結合

bLOX-1-CHOにAlexa546-CRPは結合し、LOX-1RNAiによってLOX-1発現を抑制すると、CRPの結合は抑制された。同じRNAiを用いてBAECのLOX-1発現を抑制するとAlexa546-CRPの結合は半分以上抑制された。

#### 3) CRPによるLOX-1を介した血管透過性亢進

CRPの皮内注射はWKYと比較し、LOX-1発現の強いSHR-SPで血管透過性亢進を強く引き起こした。血管透過性亢進は、CRP濃度依存的で、抗LOX-1抗体の投与によって顕著に抑制された。

#### 4) CRPによる白血球の浸潤、補体活性化

CRPを皮内注射したラットの皮膚では、白血球の浸潤、補体活性化を示すC3dが観察された。それらは、抗LOX-1抗体の投与で抑制された。

#### 5) CRPとLOX-1による補体古典経路活性化

CRPによる補体活性化がLOX-1を介して起こることが示唆されたため、CRPとLOX-1による補体活性化をin vitroで解析した。LOX-1を固相化したプレートでは、CRPとヒト血清によって補体活性化が検出された。C1q欠損血清を用いた場合で

は、LOX-1にCRP、C1qを単独に加えても補体活性化はみられず、CRPとC1qが同時にある時のみ補体活性化が見られた。このことから、LOX-1があると、CRPはそこを足場として結合し、C1qをリクルートし、C1qから始まる古典経路を通じて、補体活性化を引き起こすことが示唆された。

### D. 考察

新しい側面からの診断・治療法を開発するために、動脈硬化、虚血性心疾患の危険因子であるCRPの新しい受容体として、LOX-1を同定した。CRPの受容体としては、これまでにFcγ受容体であるCD64やCD32が知られている。本研究でも、確かにCRPはLOX-1に結合する一方で、Fcγ受容体にも結合した。LOX-1とFcγ受容体は、(i)異なる発現制御を受け、(ii)異なる組織分布を示し、(iii)異なる本来の機能を持っている。

LOX-1はimmediate early geneとして、刺激によって急速に発現誘導される。内皮細胞では、酸化LDLや種々の炎症性サイトカイン刺激、高血圧、高脂血症、糖尿病などの動脈硬化リスクの高まっている状況によりLOX-1の発現が亢進する。一方、Fcγ受容体は比較的恒常的に発現し、白血球に強く発現する。また、血管内皮細胞や血管平滑筋でも機能すると報告されている。このような発現様式の違いを考えると、LOX-1は特に病態の急性期でより主要な役割を果たしていると考えられる。

LOX-1はもともと酸化LDLの受容体として、我々が同定した分子であるが、FcγRIIも酸化LDLを結合すると、かつて報告されていた。このことは、LOX-1とFcγ受容体がともにCRPを結合することを考えるとreasonableであり、両者のリガンド認識部位の構造に共通点がある可能性を示唆する。さらに、CRPも酸化LDLと結合することが知られている。CRPとLOX-1は、どちらも酸性リン脂質、死細胞、細菌を結合する。さらに、LOX-1は樹状細胞に発現し、抗原提示のプロセスに関わることも報告されている。したがって、CRPとともに、LOX-1も自然免疫の中で機能を発揮している可能性がある。

本研究では、in vivoにおいても、CRPが血管の変化を引き起こし、その現象にLOX-1が関与していることを見出した。これまでトランスジェニックマウスでの検討を別として、in vivoでのCRPの作用は、ラット心筋梗塞モデルに対してCRPを投与するという形でしか、はっきりした反応は報告



されていなかった。本研究では、高血圧ラットを用いることにより、LOX-1の発現が亢進した状態であれば、CRPへの反応が明らかに観察可能であることを示した。

#### E. 結論

酸化LDLとCRPという、2つの危険因子が共通の分子LOX-1を受容体とし作用することで心血管病を促進する可能性がある。動脈硬化や、それを基盤として発症する虚血性心疾患の危険因子であるCRPとLOX-1の相互作用が、血管病変において重要な役割をもつことが示唆された。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Fujita, Y., Kakino, A., Nishimichi, N., Yamaguchi, S., Sato, Y., Machida, S., Cominacini, L., Delneste, Y., Matsuda, H., Sawamura, T.: Oxidized LDL receptor LOX-1 binds to C-reactive protein and mediates its vascular effects. Clin. Chem., 55:285-294, 2009.

##### 2. 学会発表

- 1) 藤田佳子、垣野明美、山口三郎、沢村達也: C-reactive protein (CRP)は酸化LDL受容体LOX-1と協調して補体活性化を引き起こす 第18回日本循環薬理学会、2008年11月21日、千葉
- 2) 藤田佳子、垣野明美、西道教尚、山口三郎、佐藤優子、松田治男、沢村達也: LOX-1はC反応蛋白を結合し、その血管に対する反応を媒介する 第82回日本薬理学会年会、2009年3月16-18日、横浜

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

LOX-1分子を応用した新しい診断法の確立と臨床的意義に関する研究

分担研究者 井上信孝 国立循環器病センター研究所 脈管生理部 室長

研究要旨 心血管病の病態を的確に判断し得る新たなバイオマーカーの確立が求められている。本研究では、LOX-1分子を応用した心血管病の診断・予知マーカーの確立を目的として、測定系の確立、診断能の検証を行っている。本年度は、血中LOX-1リガンド及び可溶性LOX-1測定系を確立し、実際に吹田市のコホートで、前向き研究を行った。2436名を対象とした、11年間の発症解析で、LOX-1リガンドは脳梗塞の危険予知因子であること、LOX-1リガンドと可溶性LOX-1の積であるLOX indexは心血管病全体、脳卒中全体、脳梗塞の危険予知因子であり、特に脳梗塞での相対危険度は年齢、性、BMI、飲酒、喫煙、現病歴による補正後の値で3.4倍に達し、高血圧に匹敵する危険因子であることが初めて明らかになった。

A. 研究目的

高度高齢化社会を迎え、また生活習慣が多様化する中、生活習慣病に起因する動脈硬化性心血管病の発症リスクを的確な評価法の確立は、医療上の重要な課題である。しかし、狭心症や心筋梗塞、脳血管障害などの動脈硬化性心血管病の発症や再発を的確に予知する臨床的評価法は未だ確立されておらず、新たなバイオマーカーの確立が求められている。細胞表面に発現したLOX-1の一部は、細胞外ドメインの近位部で何らかのプロテアーゼにより切断され、可溶性LOX-1として細胞表面から遊離・放出され、血中に存在する。可溶性LOX-1の血中レベルは、その個体でのLOX-1の発現量や切断の程度と相関すると考えられる。本研究では、血中可溶性LOX-1、LOX-1リガンドの測定系の確立を行い、LOX-1を介する系を包括的に評価するものとして、LOX-1リガンドと可溶性LOX-1との積をLOX indexとして、これらのバイオマーカーとしての有用性を検証した。

B. 研究方法

1) 血中LOX-1リガンド(酸化LDL)の測定

血清中LOX-1リガンドの測定は、組換LOX-1蛋白を固相化し、血清添加後、抗ApoB抗体で検出するサンドイッチELISA法によった。

2) 血中可溶性LOX-1の測定

血清中の可溶性LOX-1の測定は、LOX-1のC末端リガンド結合部位を認識する抗体を固相化し、血清添加後、LOX-1のネック領域を認識する抗LOX-1抗体により検出するサンドイッチELISA

法によった。

C. 研究結果

1) 血中LOX-1リガンド及び可溶性LOX-1測定系の確立

血清中の可溶性LOX-1の測定のための、2種類の抗LOX-1モノクローナル抗体、すなわち、LOX-1のC末端リガンド結合部位に対する抗体とLOX-1のネック領域に対する抗体を用いたサンドイッチELISA法を確立した。血中LOX-1リガンド(酸化LDL)の測定には、抗ApoBモノクローナル抗体と組換LOX-1蛋白を用いたサンドイッチELISA法を確立した。

上記方法によるヒト血清のLOX-1リガンド、可溶性LOX-1の定量範囲及び、同時再現性、日差再現性を検討し、以下の結果を得た。

LOX-1リガンド：

定量範囲：156-10000 ng/ml

同時再現性CV：7.5%

日差再現性CV：12.4%

可溶性LOX-1：

定量範囲：62.5-10000 pg/ml

同時再現性CV：6.5%

日差再現性CV：10.3%

2) 心血管病のバイオマーカーとしてのLOX-1リガンド、可溶性LOX-1、及びLOX indexの意義の解明（吹田研究）



上記の測定系を用いて、可溶性LOX-1、LOX-1リガンド、さらに、これらの値の積をLOX indexとして、これらの臨床指標としての有用性を吹田研究にて得られた血清検体を用いて検証した。

吹田研究（吹田市住民検診）は、都市部一般市民と対象とした心血管病の発症および死亡をエンドポイントとしたコホート研究であり、国民の健康維持・増進に有用な基礎資料を作成する目的にて行われている。今回、倫理委員会の承認のもと、平成6年に吹田住民検診を受診した男性1173名、女性1263名、計2436名の凍結保存血清の可溶性LOX-1及びLOX-1リガンドの濃度を測定した。全症例の脳卒中、心筋梗塞の発症を追跡調査し、可溶性LOX-1、LOX-1リガンド及びLOX indexと、疾患の発症との関連を検討した。

対象症例2436名のうち、平成17年までの観察の間に、脳卒中75名（うち脳梗塞53名）、心筋梗塞28名の発症が確認された。

可溶性LOX-1、LOX-1リガンド及び、その積LOX indexを四分位に分け解析を行うと、LOX-1リガンドはtotal cholesterol、LDLと、可溶性LOX-1は現在喫煙歴と強い相関がみられた。一方、高血圧、糖尿病とはいずれも相関がみられなかった。

さらに、年齢、性、BMI、飲酒、喫煙、現病歴を補正した上で、第1四分位を基準にした相対危険度を求めた。

脳卒中の、第4四分位の可溶性LOX-1、LOX-1リガンド及び、LOX indexの相対危険度は、それぞれ1.4、1.9、2.07であった。トレンドp値は、LOX indexでは $p < 0.05$ と有意であった。

特に脳梗塞に注目すると診断能はさらに高く、第4四分位の可溶性LOX-1、LOX-1リガンド及び、LOX indexの相対危険度は、それぞれ1.6、2.4、3.36であり、トレンドp値もLOX-1リガンド、LOX indexでは $p < 0.05$ と有意であった。

心筋梗塞に関しては、発症例数が少ないため判断ができないが、心血管病全体で見ても、第4四分位の可溶性LOX-1、LOX-1リガンド及び、LOX indexの相対危険度は、それぞれ1.5、1.8、2.08で、トレンドp値もLOX indexでは $p < 0.05$ と有意であった。

#### D. 考察

このように今回のコホート研究によりLOX-1リガンド及び、LOX indexの高値が心血管病、特に脳血管障害発症のリスクであることを明らか

にした。さらにLOX-1を介した系の活動性を包括的に評価するLOX indexは、より強く心血管病発症リスクと相関しており、LOX-1のリガンドとLOX-1が相互作用することが、動脈硬化性疾患の病態進展に関わっていることを示唆するものである。

また、LOX-1リガンド、LOX indexが発症危険因子であることが明らかとなった脳梗塞では、この吹田コホートを含む日本の多くのコホートで、コレステロールは危険因子としては現れてこない。このことは、日本人に多く見られる血栓性の要因が強いラクナー梗塞の病態に、コレステロールよりもLOX-1リガンド(酸化LDL)がより特異的に関与している可能性を示すとともに、LOX-1が粥状動脈硬化以上に血栓症の病態に関与している可能性も示す。脳梗塞の予知因子である高血圧に匹敵する相対危険度がLOX indexで観察されたことから、かなり強力な危険因子と判断してよいと思われる。

このように、前向き研究により、LOX-1と関連した2つのパラメーターが発症予知に有益であることが示され新しい診断指標ができたと考えられる。このことは、LOX-1を標的分子とした治療がヒトで有効である可能性も示している。治療に向けて、抗酸化薬といった漠然とした範疇の薬剤でなく、特異的作用機構を持った薬剤の開発も期待される。

今後さらに様々な病態における、LOX-1関連パラメーターの意義を探っていきたい。

#### D. 結論

心血管病、特に脳梗塞の強力な予知因子として、LOX-1リガンドおよび可溶性LOX-1の測定が有用であることを明らかにした。

#### E. 健康危険情報

該当なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Hu, C., Dandapat, A., Sun, L., Marwali, M.R., Inoue, N., Sugawara, F., Inoue, K., Kawase, Y., Jishage, K., Suzuki, H., Hermonat, P.L., Sawamura, T. and Mehta, J.L.: Modulation of angiotensin II-mediated hypertension and cardiac remodeling by lectin-like oxidized low-density lipoprotein

- receptor-1 deletion. Hypertension, 52:556-562, 2008.
- 2) Honjo, T., Otsui, K., Shiraki, R., Kawashima, S., Sawamura, T., Yokoyama, M. and Inoue, N.: Essential role of NOXA1 in generation of reactive oxygen species induced by oxidized low-density lipoprotein in human vascular endothelial cells. Endothelium, 15:137-141, 2008.
- 3) Sato, Y., Nishimichi, N., Nakano, A., Takikawa K., Inoue, N., Matsuda, H., Sawamura, T.: Determination of LOX-1-ligand activity in mouse plasma with a chicken monoclonal antibody for ApoB. Atherosclerosis, 200:303-309, 2008.
- 4) Takeda, M, Yamashita, T, Shinohara, M, Sasaki, N, Takaya, T, Nakajima, K, Inoue, N., Masano, T, Tawa, H, Satomi-Kobayashi, S, Toh, R, Sugiyama, D, Nishimura, K, Yokoyama, M, Hirata, KI, Kawashima, S. Plasma tetrahydrobiopterin / dihydrobiopterin ratio. Circ J. in press.

## 2. 学会発表

- 1) Ohkawara, H, Ishibashi, T, Sugimoto, K, Kamioka, M, Uekita, H, Saitoh, S, Kaneshiro, T, Inoue, N., Takeishi, Y. Rapid Improvement of Impaired Endothelium-Dependent Vasodilation and Rac1/NADPH Oxidase-Derived ROS generation in Vivo by Pravastatin. 第73回日本循環器学会総会 2009年3月20-22日、大阪

G. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし



動脈硬化危険因子の臨床的意義の検討に関する研究

分担研究者 木村 剛 京都大学大学院医学研究科 准教授

研究要旨 虚血性心疾患、とりわけ急性冠症候群による死亡は、我が国でも増加の一途をたどっており、その危険因子を明らかにし、発症予知の精度を高めることは極めて重要である。我々は、動脈硬化性疾患の危険因子として、脂質、特に酸化脂質が重要であることを、1) 抗酸化剤プロブコールが動脈硬化進展を抑制すること、2) 酸化LDL、その構成脂質であるリゾフォスファチジルコリンが催動脈硬化性接着分子、増殖因子などの発現を誘導すること、などを明らかにすることで提唱してきた。その流れは、本研究主任研究者との共同研究による3) 新規酸化LDL受容体LOX-1の同定、更に4) 可溶性LOX-1が急性冠症候群超急性期のマーカーになる可能性の提唱、につながっている。2008年度には、1) LOX-1の不安定プラーク画像診断における有用性の検討、2) 急性冠症候群のマーカーである可溶性LOX-1産生の分子機構解明、を2本柱として研究を進めた。

A. 研究目的

1) 動脈硬化巣、中でも急性冠症候群につながる不安定プラークの画像診断（核医学イメージング）における、LOX-1の有用性を明らかにする。

2) 我々は、sLOX-1が膜結合型LOX-1の細胞外ドメインシェディングにより産生され、同プロセスが炎症性サイトカインによって誘導されることを明らかにした。本研究では、LOX-1シェディングの分子機構を明らかにし、さらなる急性冠症候群発症予知因子の特定を目指す

B. 研究方法

1) <sup>99m</sup>Tc標識抗LOX-1抗体を設計、合成し、動脈硬化ウサギを用いて、放射性抗体の動脈硬化巣への集積を検討した。

2) 急性冠症候群発症時に上昇する炎症制サイトカインIL-18の、LOX-1シェディングにおける作用を、培養細胞、あるいはLOX-1強発現マウスを用いて検討した。

C. 研究結果

1) <sup>99m</sup>Tc標識抗LOX-1抗体投与24時間後の大動脈への集積は、正常ウサギに比べて約10倍高く、SPECTを用いた明瞭な大動脈の描出に成功した。さらに、動脈硬化ウサギ大動脈について組織学的検討を加えたところ、<sup>99m</sup>Tc標識抗LOX-1抗体はLOX-1の発現に応じた分布を示すとともに、不安定性を示すアテローム性病変において最も高い放射能集積を示した。

2) IL18は培養細胞において、容量、時間依存性にLOX-1シェディング（sLOX-1産生）を増加し

た。さらにLOX-1強発現マウスの血清LOX-1は、IL18投与で有意に増加した。LOX-1シェディングがADAM10の強発現で増加し、逆にADAM10のノックダウンで減少したことから、ADAM10がLOX-1の主要切断酵素であることが示唆された。

D. 考察

これまでの研究から、sLOX-1がプラークの不安定性のマーカーであることが示唆され、今回LOX-1が核医学イメージングの標的分子として有効である可能性も示唆された。プラークの質的診断は、急性冠症候群発症の予知を可能とするものであり、大いに期待される。今後sLOX-1が急性冠症候群発症のリスクを予見できるかを、大規模な前向き試験により明らかにしたい。また、近年肥満（内臓脂肪の蓄積）とインシュリン抵抗性を基盤とし、複数の動脈硬化の危険因子（高脂血症、耐糖能障害、高血圧）が個人に集積する病態が、メタボリックシンドロームとして提唱され、急性冠症候群のハイリスクグループとして注目されている。同シンドローム症例でのsLOX-1値も検討する予定である。さらに、sLOX-1産生に重要である可能性が示唆されたADAM10の動脈硬化性疾患、メタボリックシンドロームにおける意義も解明したい。

E. 結論

<sup>99m</sup>Tc標識抗LOX-1抗体は不安定性動脈硬化プラークの核医学質的診断に有効である可能性が示された。LOX-1シェディング（sLOX-1産生）は



炎症性サイトカインIL18で誘導され、ADAM10が主要な切断酵素であることが示唆された。

F. 健康危険情報  
該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yo Aramaki, Hirokazu Mitsuoka, Masako Toyohara, Toshikazu Jinnai, Kazushi Kanatani, Katsuyuki Nakajima, Eri Mukai, Yuichiro Yamada, Toru Kita, Nobuya Inagaki, Noriaki Kume. Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) acts as a receptor for remnant-like lipoprotein particles (RLPs) and mediates RLP-induced migration of vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 198: 272-279, 2008
- 2) Yuji Kuge, Noriaki Kume, Seigo Ishino, Nozomi Takai, Yuki Ogawa, Takahiro Mukai, Manabu Minami, Masashi Shiomi, Hideo Saji. Prominent lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) expression in atherosclerotic lesions is associated with tissue factor expression and apoptosis in hypercholesterolemic rabbits. *Biol. Pharm. Bull.* 31: 1475-1482, 2008
- 3) Seigo Ishino, Takahiro Mukai, Yuji Kuge, Noriaki Kume, Mikako Ogawa, Nozomi Takai, Junko Kamihashi, Masashi Shiomi, Manabu Minami, Toru Kita, Hideo Saji. Targeting of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) with <sup>99m</sup>Tc-labeled anti-LOX-1 antibody: Potential target for imaging of vulnerable plaque. *J. Nuc. Med.* 49: 1677-1685, 2008
- 4) Hirokazu Mitsuoka, Noriaki Kume, Kazutaka Hayashida, Atsuko Inui-Hayashiada, Yo Aramaki, Masako Toyohara, Toshikazu Jinnai, Eiichiro Nishi, Toru Kita. Interleukin 18 stimulates release of soluble lectin-like oxidized LDL receptor-1 (sLOX-1). *Atherosclerosis* 202: 176-182, 2009
- 5) Imai M, Kimura T, Toma M, Saito N, Nakanoue T, Tadamura E, Kita T, Inoue K. Stent-Graft Implantation for Thoracoabdominal Aortic Aneurysm Involving the Visceral Arteries. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2008;35(4):462-5.
- 6) Kimura T, Morimoto T, Furukawa Y, Nakagawa Y, Shizuta S, Ehara N, Taniguchi R, Doi T, Nishiyama K, Ozasa N, Saito N, Hoshino K, Mitsuoka H, Abe M, Toma M, Tamura T, Haruna Y, Imai Y, Teramukai S, Fukushima M, Kita T. Long-term outcomes of coronary-artery bypass graft surgery versus percutaneous coronary intervention for multivessel coronary artery disease in the bare-metal stent era. *Circulation.* 2008;118(14 Suppl):S199-209.
- 7) Makiyama T, Akao M, Shizuta S, Doi T, Nishiyama K, Oka Y, Ohno S, Nishio Y, Tsuji K, Itoh H, Kimura T, Kita T, Horie M. A novel SCN5A gain-of-function mutation M1875T associated with familial atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52(16):1326-34.
- 8) Furukawa Y, Taniguchi R, Ehara N, Ozasa N, Haruna Y, Saito N, Doi T, Hoshino K, Shizuta S, Morimoto T, Imai Y, Teramukai S, Fukushima M, Kita T, Kimura T. Better survival with statin administration after revascularization therapy in Japanese patients with coronary artery disease. *Circ J.* 2008;72(12):1937-45. Epub 2008 Oct 24.
- 9) Nakagawa Y, Nobuyoshi M, Yamaguchi T, Meguro T, Yokoi H, Kimura T, Hosoda S, Kanmatsuse K, Matsumori A, Sasayama S. Efficacy of Abciximab for Patients Undergoing Balloon Angioplasty. *Circ J.* 2008. Epub ahead of print
- 10) Kimura T, Morimoto T, Nakagawa Y, Tamura T, Kadota K, Yasumoto H, Nishikawa H, Hiasa Y, Muramatsu T, Meguro T, Inoue N, Honda H, Hayashi Y, Miyazaki S, Oshima S, Honda T, Shiode N, Namura M, Sone T, Nobuyoshi M, Kita T, Mitsudo K. Antiplatelet Therapy and Stent Thrombosis After Sirolimus-eluting Stent Implantation. *Circulation* 2009;119:987-995
- 11) Hoshino k, Horiuchi H, Tada T, Tazaki J, Nishi N, Kawato M, Ikeda T, Yamamoto H, Akao M, Furukawa Y, Shizuta S, Toma M, Tamura T, Saito N, Doi T, Ozasa N, Jinnai T, Takahashi K, Watanabe H, Yoshikawa Y, Nishimoto N, Ouchi C, Morimoto T, Kita T, Kimura T. Clopidogrel Resistance in Japanese Patients Scheduled for Percutaneous Coronary Intervention. *Circ J.* 2009
- 12) Nishiyama k, Shizuta S, Doi T, Morimoto T, Kimura T. Sudden cardiac death after PCI and CABG in the bare-metal stent era: Incidence,



prevalence, and predictors. IJCA2009 in press

## 2. 学会発表

- 1) Mitsuoka H, Kume N, Jinnai T, Aramaki Y, Toyohara M, Nishi E, Kita T. IL-18 stimulates release of soluble LOX-1 - a possible mechanism in vulnerable plaques. 第77回欧州動脈硬化化学会 (EAS) 平成20年4月26-29日、イスタンブール、トルコ
- 2) Noriaki Kume, Hirokazu Mitsuoka, Kazutaka Hayashida, Masaru Tanaka, Toru Kita. Soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (sLOX-1) is a prognostic biomarker for acute coronary syndrome (ACS) to predict ACS recurrence or death -comparison with troponin T and C-reactive protein. American Heart Association 49th Cardiovascular Disease Epidemiology and Prevention Annual Conference 2009 平成21年3月11-14日、タンパ、アメリカ
- 3) Takeshi Kimura, Takeshi Morimoto, Kazuo Haze, Osamu Doi, Takaaki Isshiki, Kazuya Kawai, Tomohiro Kawasaki, Yukio Kazatani, Masunori Matsuzaki, Akira Miura, Seiichi Haruta, Hitoshi Nakashima, Yoichi Nozaki, Shigeru Saito, Shunsuke Take, Masaru Tanaka, Ryoza Tatami, Shinichiro Toyoshima, Yoshiaki Yokoi, Masakiyo Nobuyoshi, Toru Kita, Kazuaki Mitsudo, on behalf of the j-CYPHER Registry investigators Incidences and Outcome of Surgical Procedures After Sirolimus-eluting Stent Implantation. American Heart Association. 平成20年11月8-12日、ニューオリンズ、アメリカ
- 4) Takeshi Kimura, Takeshi Morimoto, Izumi Miki, Saeko Minematsu, Takafumi Hiro, Katsumi Miyauchi, Yoshihisa Nakagawa, Yukio Ozaki, Masakazu Yamagishi, Tetsu Yamaguchi, Takashi Saito, Kazuo Kimura, Hiroyuki Daida, Masunori Matsuzaki, for the Japan-ACS Investigators Japan Assessment of Pitavastatin and Atorvastatin in Acute Coronary Syndrome (Japan-ACS). 平成20年3月28-30、第72回日本循環器学会、大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## 研究成果の刊行に関する一覧表



## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sato, Y., Nishimichi, N., Nakano, A., Takikawa, K., Inoue, N., Matsuda, H., Sawamura, T.	Determination of LOX-1-ligand activity in mouse plasma with a chicken monoclonal antibody for ApoB.	Atherosclerosis	200	303-9	2008
Honjo, T., Otsui, K., Shiraki, R., Kawashima, S., Sawamura, T., Yokoyama, M. and Inoue, N.	Essential role of NOXA1 in generation of reactive oxygen species induced by oxidized low-density lipoprotein in human vascular endothelial cells.	Endothelium	15	137-141	2008
Yao, E.H., Fukuda, N., Ueno, T., Matsuda, H., Matsumoto, K., Nagase, H., Matsumoto, Y., Takasaka, A., Serie, K., Sugiyama, H. and Sawamura, T.	Novel gene silencer pyrrole-imidazole polyamide targeting lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 attenuates restenosis of the artery after injury.	Hypertension	52	86-92	2008
Ishigaki, Y., Katagiri, H., Gao, J., Yamada, T., Imai, J., Uno, K., Hasegawa, Y., Kaneko, K., Ogihara, T., Ishihara, H., Sato, Y., Takikawa, K., Nishimichi, N., Matsuda, H., Sawamura, T. and Oka, Y.	Impact of plasma oxidized low-density lipoprotein removal on atherosclerosis.	Circulation	118	75-83	2008
Hu, C., Dandapat, A., Sun, L., Chen, J., Marwali, M.R., Romeo, F., Sawamura, T. and Mehta, J.L.	LOX-1 deletion decreases collagen accumulation in atherosclerotic plaque in low-density lipoprotein receptor knockout mice fed a high-cholesterol diet.	Cardiovasc Res	79	257-293	2008
Hu, C., Dandapat, A., Sun, L., Marwali, M.R., Inoue, N., Sugawara, F., Inoue, K., Kawase, Y., Jishage, K., Suzuki, H., Hermonat, P.L., Sawamura, T. and Mehta, J.L.	Modulation of angiotensin II-mediated hypertension and cardiac remodeling by lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 deletion.	Hypertension	52	556-562	2008
Sato, Y., Baba, T., Zubair, M., Miyabayashi, K., Toyama, Y., Maekawa, M., Owaki, A., Mizusaki, H., Sawamura, T., Toshimori, K., Morohashi, K. and Katoh-Fukui, Y.	Importance of forkhead transcription factor Fkhl18 for development of testicular vasculature.	Mol Reprod Dev	75	1361-1371	2008
Satoh, H., Kiyota, E., Terasaki, Y., Sawamura, T., Takagi, K., Mizuta, H. and Takeya, M.	Expression and localization of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) in murine and human placentas.	J Histochem Cytochem	56	773-784	2008
Hamilton, R. T., Asatryan, L., Nilsen, J. T., Isas, J. M., Gallaher, T. K., Sawamura, T. and Hsiai, T. K.	LDL protein nitration: implication for LDL protein unfolding.	Arch Biochem Biophys	479	1-14	2008

Fujita, Y., Kakino, A., Nishimichi, N., Yamaguchi, S., Sato, Y., Machida, S., Cominacini, L., Delneste, Y., Matsuda, H. and Sawamura, T.	Oxidized LDL receptor LOX-1 binds to C-reactive protein and mediates its vascular effects.	Clin Chem	55	285-294	2009
Kang, B. Y., Hu, C., Prayaga, S., Khaidakov, M., Sawamura, T., Seung, K. B. and Mehta, J. L.	LOX-1 dependent overexpression of immunoglobulins in cardiomyocytes in response to angiotensin II.	Biochem Biophys Res Commun	379	395-399	2009
Sankaralingam, S., Xu, Y., Sawamura, T. and Davidge, S. T.	Increased Lectin-Like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor-1 Expression in the Maternal Vasculature of Women With Preeclampsia: Role for Peroxynitrite.	Hypertension	53	270-277	2009
Eichhorn, B., Muller, G., Leuner, A., Sawamura, T., Ravens, U. and Morawietz, H.	Impaired Vascular Function in Small Resistance Arteries of LOX-1 Overexpressing Mice on High-Fat Diet.	Cardiovasc Res		In press	2009
Lu, J., Yang, J. H., Burns, A. R., Chen, H. H., Tang, D., Walterscheid, J. P., Suzuki, S., Yang, C. Y., Sawamura, T. and Chen, C. H.	Mediation of electronegative low-density lipoprotein signaling by LOX-1: a possible mechanism of endothelial apoptosis.	Circ Res,	104	619-627	2009
Akagi, M., Ueda, A., Teramura, T., Kanata, S., Sawamura, T. and Hamanishi, C.	Oxidized LDL binding to LOX-1 enhances MCP-1 expression in cultured human articular chondrocytes.	Osteoarthritis Cartilage	17	271-275	2009
Takeda, M., Yamashita, T., Shinohara, M., Sasaki, N., Takaya, T., Nakajima, K., Inoue, N., Masano, T., Tawa, H., Satomi-Kobayashi, S., Toh, R., Sugiyama, D., Nishimura, K., Yokoyama, M., Hirata, K. I., Kawashima, S.	Plasma tetrahydrobiopterin/dihydrobiopterin ratio.	Circ J		In press	2009
Yo Aramaki, Hirokazu Mitsuoka, Masako Toyohara, Toshikazu Jinnai, Kazushi Kanatani, Katsuyuki Nakajima, Eri Mukai, Yuichiro Yamada, Toru Kita, Nobuya Inagaki, Noriaki Kume	Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) acts as a receptor for remnant-like lipoprotein particles (RLPs) and mediates RLP-induced migration of vascular smooth muscle cells.	Atherosclerosis	198	272-279	2008
Yuji Kuge, Noriaki Kume, Seigo Ishino, Nozomi Takai, Yuki Ogawa, Takahiro Mukai, Manabu Minami, Masashi Shiomi, Hideo Saji.	Prominent lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) expression in atherosclerotic lesions is associated with tissue factor expression and apoptosis in hypercholesterolemic rabbits.	Biol. Pharm. Bull	31	1475-1482	2008
Seigo Ishino, Takahiro Mukai, Yuji Kuge, Noriaki Kume, Mikako Ogawa, Nozomi Takai, Junko Kamihashi, Masashi Shiomi, Manabu Minami, Toru Kita, Hideo Saji.	Targeting of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) with <sup>99m</sup> Tc-labeled anti-LOX-1 antibody: Potential target for imaging of vulnerable plaque.	J. Nuc. Med.	49	1677-1685	2008