

酸化ストレスと動脈障害

坂田 則行

要旨: 酸化ストレスは癌や炎症, 老化をはじめとするさまざまな病態に関わっている。心血管系では, 粥状硬化だけでなく, 再狭窄や心不全なども酸化ストレスの亢進によるとされている¹⁾。粥状硬化, 高血圧性動脈病変, 動脈の石灰化には, 高脂血症, 高血圧, 糖尿病, 加齢などの複数の危険因子が関わっている。一方, これら危険因子はいずれも酸化ストレスの亢進を引き起こす。すなわち, 酸化ストレスは, 危険因子と動脈病変とを結ぶ共通のメカニズムである。(J. Jpn. Coll. Angiol., 2003, 43: 685-689)

Key words: Oxidative stress, Atherosclerosis, Hypertensive arterial lesion, Calcification, Aging

1. 酸化ストレスと活性酸素

酸化ストレスとは, 活性酸素種の異常発生と, それに対抗する抗酸化機構との力関係が破綻した状態である。活性酸素種は, フリーラジカルまたはフリーラジカルではないがフリーラジカルになりやすいか, あるいはフリーラジカルを発生しやすい分子の総称である。フリーラジカルは, その最外層の軌道に不対電子をもっているため, 非常に強い酸化力を発揮する。と同時に, フリーラジカルが一度発生すると, 連鎖反応的にフリーラジカル類の生成が加速されるため, 強い組織障害を引き起こす。活性酸素種は, 炎症や再灌流時に好中球やマクロファージなどの血液細胞のburstによって発生するだけでなく, 血管内皮細胞や平滑筋細胞などからも産生される²⁾。これらの細胞で産生されたスーパーオキシドは, 反応性が弱く寿命も短い, より反応性の強い水酸化ラジカル($\text{HO}\cdot$)の前駆体として重要である。また, NOと反応してパーオキシ亜硝酸(ONOO^-)に変換され, パーオキシ亜硝酸は脂質の過酸化や蛋白質のニトロソ化を引き起こし, 強力な組織障害作用を発揮する。

2. 酸化ストレスと粥状硬化

粥状硬化は, 内膜における脂質沈着と膠原線維の形成, 内膜平滑筋細胞の増殖からなる病変で, 多くの原因が複雑に絡み合っている。その主要な危険因子

は, 高脂血症, 高血圧, 糖尿病および肥満であるが, このいずれもが酸化ストレスの亢進と深く関わっている。

高脂血症は, 最も重要な危険因子である。高脂血症で問題となるのが酸化LDLである。粥状硬化の初期病変である脂肪線条や粥状硬化部には, 泡沫化したマクロファージに酸化LDLが蓄積している(Fig. 1)。また, 粥状硬化部の脂質画分には, lipid hydroperoxides, lysophospholipid, carbonyl compoundなどの過酸化物が存在する。これらの変性脂質や変性アポ蛋白は, マクロファージや血管壁細胞からの接着分子, サイトカイン, 炎症性物質の産生を誘導する^{3,4)}。また, 異種抗原としてT細胞に認識され, 補体の活性化や免疫反応を引き起こす⁵⁾。その結果, 内膜における持続的な「いわゆる炎症反応」が起こり, 血管壁細胞の障害と増殖, 細胞外マトリックスの分解と合成および脂質を中心とする壊死物質の蓄積により, 粥状硬化が完成する。しかし, 生体内で酸化LDLが形成される正確なメカニズムはまだ不明である。これまでの酸化LDLに関する研究は, 金属触媒で得られた酸化LDLを用いて得られたものが多い。しかし最近, 粥状硬化巣には次亜塩素酸による変性脂質が確認されている⁶⁾。ミエロペルオキシダーゼ(MPO)は, 過酸化水素とハロゲンイオンを反応させて次亜塩素酸を作るが, 粥状硬化性大動脈瘤壁に出現するマクロファージには, ミエロペルオキシダーゼが発現している(Fig. 2)。したがって, 生体内ではマ

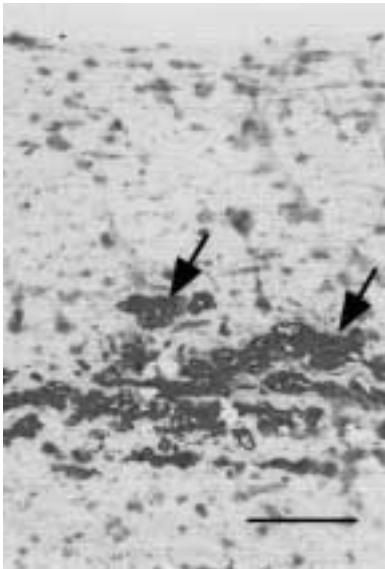


Figure 1 A typical initial lesion (fatty streak) of human aortic atherosclerosis.

The lesion is stained with the antibody against oxidized LDL. Note the presence of oxidized LDL within the cytoplasm of macrophages in the lesion (arrow). Bar: 50 μm .

クロファージ由来のミエロペルオキシダーゼが粥状硬化の形成に関与している可能性もある。粥状硬化における生体内での酸化LDLの意義を明らかにするには、さらなる検討が必要である。

糖尿病も粥状硬化の重要な危険因子である。糖尿病による高血糖が粥状硬化を引き起こす生化学的反応に糖化 (glycation) がある。糖化は、蛋白質のアミノ基が糖のアルデヒド基と非酵素的に反応し、後期反応生成物 (advanced glycation end products) を形成するまでの一連の反応である。後期反応生成物は、その受容体を介して内皮細胞やマクロファージに取り込まれ、炎症性サイトカインを産生し、酸化ストレスの亢進を引き起こす^{7, 8)}。また、糖化反応の過程ではスーパーオキシド、パーオキシ亜硝酸、ヒドロキシフリーラジカルなどの活性酸素種が発生する⁹⁾。これらの活性酸素種は、酸化LDLの形成や内皮細胞、平滑筋細胞の障害を引き起こし、粥状硬化を促進する。一方、SODやアルブミンなどの抗酸化物質は、糖化されると抗酸化能が低下する^{10, 11)} (Fig. 3)。その結果、高血糖状態では高度な酸化ストレスにより、粥状硬化の形成が促進される。

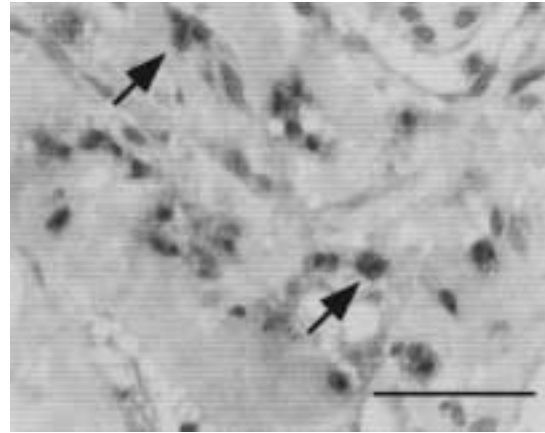


Figure 2 Myeloperoxidase (MPO)-positive macrophages in atherosclerotic abdominal aneurysm (arrow). Bar: 50 μm .

3. 酸化ストレスと高血圧性動脈病変

高血圧により、脳、冠、腎、大動脈などの全身の動脈に動脈硬化症が起こる。高血圧も粥状硬化の主要な危険因子の一つである。アンジオテンシンIIは、血管収縮作用以外に内皮細胞や平滑筋細胞からの活性酸素の産生を促す¹²⁾。また、アンジオテンシンIIIは、血管平滑筋細胞からインターロイキン-6やMCP-1を、内皮細胞からはVCAM-1の産生を促進させる^{13, 14)}。その結果、内膜には「いわゆる炎症反応」が起こり、粥状硬化が形成される。しかし、高血圧による影響は動脈により異なり、発生する動脈病変も違う。高血圧の影響を最も強く受ける動脈は脳動脈と腎動脈である。一方、冠動脈では、高血圧がどのように関与しているかまだよく分かっていない。最も特異的な高血圧性動脈病変は、中膜平滑筋細胞の萎縮、壊死、消失である。これらの変化は脳動脈の穿通枝にもっともよく起こり、虫食い状に発生する。筋細胞が壊死、消失したところにはコラーゲンと細胞の壊死崩壊物が蓄積する。同様の変化は腎の小葉間動脈から輸入動脈にかけても見られる。さらに、輸入動脈ではそこに硝子物質がたまり、いわゆる硝子様変化 (hyaline change) が出現する。最近われわれは¹⁵⁾、高血圧ラット腸間膜動脈の病変部に、好中球浸潤とともに酸化物の存在を確認した (Fig. 4)。好中球はスーパーオキシドなどの活性酸素や、ミエロペルオキシダーゼを放出する。したがって、高血圧病変の形成にも酸化ストレスが深く関与している

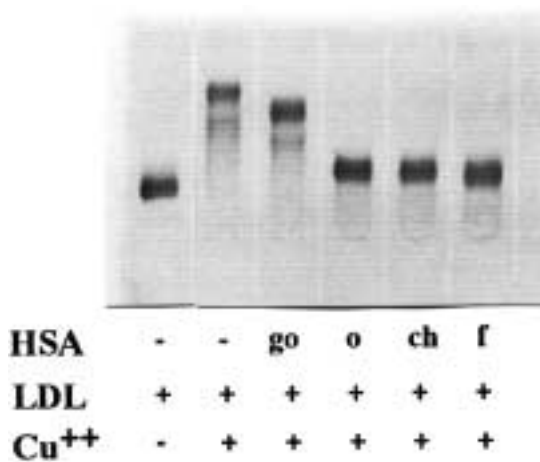


Figure 3 Agarose gel electrophoresis of low density lipoproteins (Reference 11).

Freshly-prepared human serum albumin (f-HSA) inhibits copper-induced oxidation of LDL. In contrast, glycoxidative albumin (go-HSA) shows marked decrease of antioxidant activity. o-HSA: oxidized HSA, ch-HSA: non-oxidized HSA.

可能性がある。

4. 酸化ストレスと動脈石灰化

動脈壁には石灰化がよく起こる。進行した粥状硬化巣では、粥腫とともに壊死に陥った内膜にはカルシウムが沈着する。一方、Fig. 5に見られる動脈中膜石灰化は異所性石灰化といわれ、糖尿病や長期の透析療法を受けた患者によく見られる。血管合併症として四肢や臓器の循環障害を引き起こす。透析患者の場合、この異所性石灰化の原因は血清カルシウムとリンの高値で、その積が60~70 mg/dl 以上になると起こるとされている¹⁶⁾。しかし、糖尿病患者では必ずしもこれは当てはまらない。われわれは、糖尿病や長期透析患者の大動脈中膜の石灰化部に糖酸化産物であるペントシジンが局在し、透析患者ではその透析期間に相関して増えることを明らかにした¹⁷⁾。最近、酸化ストレスがmatrix gla proteinのγカルボキシル化を阻害し、異所性石灰化を引き起こす可能性が示唆されている¹⁸⁾。糖尿病や透析患者では全身の酸化ストレスが亢進していることから、酸化ストレスによるマトリックス蛋白の変化が異所性石灰化の原因として機能している可能性がある。

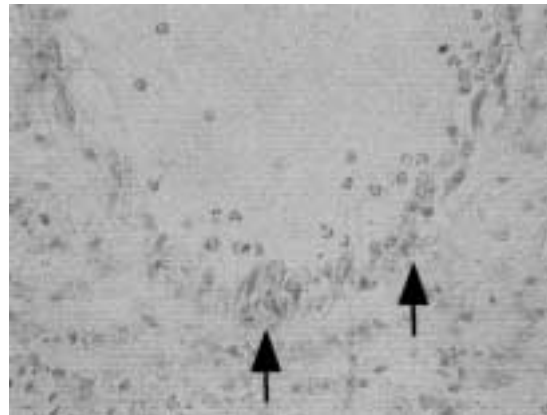


Figure 4 Mesenteric artery of hypertensive rat (Reference 15). Immunohistochemically, 4-hydroxy-2-noneal (HNE), a oxidation product, is observed in the lesion of mesenteric artery (arrow).

5. 酸化ストレスと動脈老化

動脈は加齢によりその構造が変化する。新生児期では分岐部に内膜細胞に富む限局性の内膜肥厚が形成され、びまん性の細胞線維性内膜肥厚に発達する。壮年期(40歳代)以降になると内膜は肥厚するとともに、膠原線維が蓄積し硬化する。一方、中膜も加齢変化を示す。大動脈では10歳代からすでに中膜筋細胞の虫食い様変化が出現し始め、40歳を過ぎると筋細胞の萎縮、消失が目立ち、膠原線維が増加する。一方、弾性線維は減少し、その周囲には電子密度の高い微細顆粒状物質が蓄積してくる。生化学的には、コラーゲンやエラスチンは極めてライフスパンの長い蛋白質の一つであり、グリケーションによる修飾を最も強く受ける。そのため、コラーゲンやエラスチンには加齢に伴い、グリケーションの最終産物である後期反応生成物が蓄積する¹⁹⁾(Fig. 6A)。さらに、グリケーションの過程では多くの活性酸素種が発生する。その結果、コラーゲンやエラスチンの物理的、化学的性状は著しく変化する(Fig. 6B)。このようなグリケーションやオキシデーションによる細胞外マトリックス蛋白の変化が、動脈老化の原因として機能していると考えられる。

6. まとめ

粥状硬化をはじめとする多くの動脈病変は、高脂血症、高血圧、糖尿病、加齢などの複合因子の積み重ね

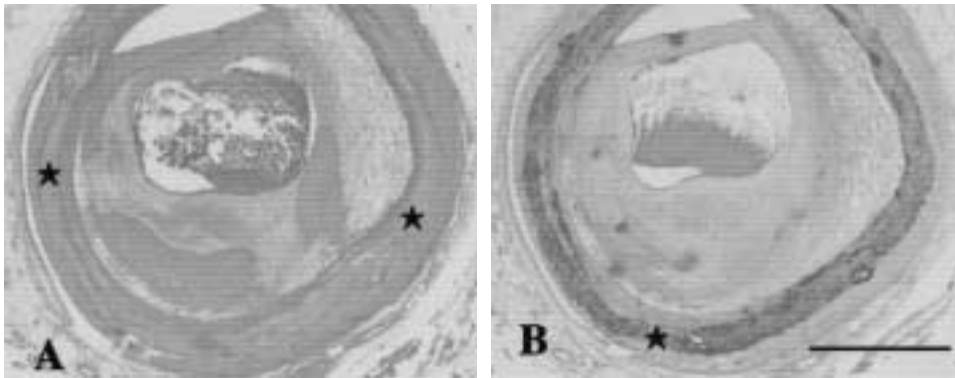


Figure 5 Medial calcification and advanced glycation end product in gastroepiploic artery of hemodialysis patient (66-year-old female).
 A: Note the medial calcification in the arterial wall (star). B: Note the localization of pentosidine, an advanced glycation end product, in medial wall calcification (star). Bar: 1 mm.

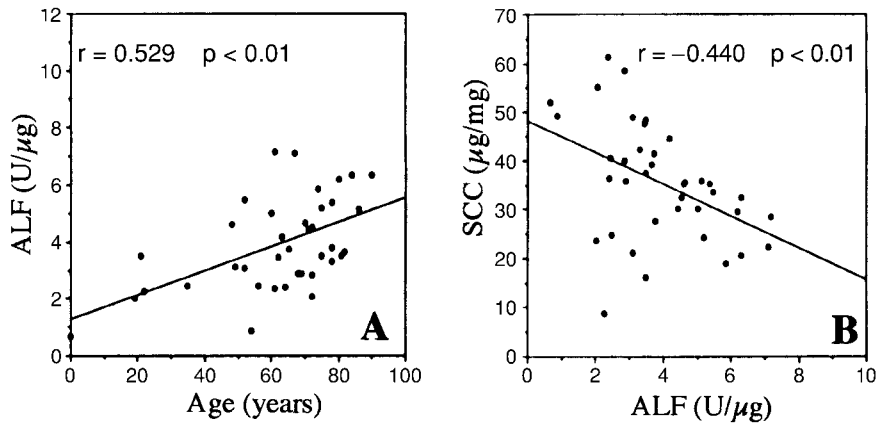


Figure 6 Age-related change of collagen in the aortic media (A) and relationship between ALF and SCC levels in collagen of aortic media (B).
 Advanced glycation end product-related fluorescence of collagen (ALF) increases with age in the aortic media (A). Soluble collagen contents (SCC) of aortic media inversely correlates with the level of ALF (B).

によって生ずる。これらはいずれも酸化ストレス亢進状態を引き起こす。すなわち酸化ストレスは、これら危険因子と動脈病変とを結びつける共通のメカニズムである。動脈病変の形成機序としての酸化ストレスの重要性は、今後さらに増すと思われる。

文 献

1) Mak S, Newton GE: The oxidative stress hypothesis of congestive heart failure: radical thoughts. *Chest*, 2001, **120**: 2035-2046.

2) Abe J, Berk BC: Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med*, 1998, **8**: 59-64.
 3) Kume N, Cybulsky MI et al: 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.
 4) McMurray HF, Parthasarathy S et al: Oxidatively modified low density lipoprotein is a chemoattractant for human T lymphocyte. *J Clin Invest*, 1993, **92**: 1004-1008.

- 5 Stemme S, Faber B et al: T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **90**: 3893-3897.
- 6 Sugiyama S, Okada Y et al: Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndrome. *Am J Pathol*, 2001, **158**: 879-891.
- 7 Vlassara H, Li YM et al: Identification of Galectin-3 as a high-affinity binding for advanced glycation end products (AGE): A new member of the AGE-receptor complex. *Molecular Med*, 1995, **6**: 634-646.
- 8 Das UN: Free radicals, cytokines and nitric oxide in cardiac failure and myocardial infarction. *Mol Cell Biochem*, 2000, **215**: 145-152.
- 9 Nagai R, Unno Y et al: Peroxynitrite induces formation of N^ε-(carboxymethyl) lysine by the cleavage of Amadori product and generation of glucosone and glyoxal from glucose. *Diabetes*, 2002, **51**: 2833-2839.
- 10 Okawara T, Kawamura N et al: Site-specific and random fragmentation of Cu, Zn-superoxide dismutase by glycation. *J Biol Chem*, 1992, **267**: 18505.
- 11 Sakata N, Moh A et al: Contribution of superoxide to reduced antioxidant activity of glycoxidative serum albumin. *Heart Vessels*, 2002, **17**: 22-29.
- 12 Griendling KK, Ushio-Fukai M et al: Angiotensin II signaling in vascular smooth muscle. New concepts. *Hypertension*, 1997, **29**: 366-373.
- 13 Kranzhofer R, Schmidt J et al: Angiotensin induces inflammatory activation of human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19**: 1623-1629.
- 14 Tummala PE, Chen X-L et al: Angiotensin II induces vascular cell adhesion molecule-1 expression in rat vasculature: a potential link between the rennin-angiotensin system and atherosclerosis. *Circulation*, 1999, **100**: 1223-1229.
- 15 Suzuki K, Nakazato K et al: The role of oxidative stress on pathogenesis of hypertensive arterial lesions in rat mesenteric arteries. *Acta Histochem Cytochem*, 2002, **35**: 287-293.
- 16 Millner DS, Zinsmeister AR et al: Soft tissue calcification in pediatric patients with end-stage renal disease. *Kidney Int*, 1990, **38**: 931-936.
- 17 Sakata N, Noma A et al: Modification of elastin by pentosidine is associated with the calcification of aortic media in patients with end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* (in print).
- 18 Wallin R, Wajih N et al: Arterial calcification: A review of mechanisms, animal models, and the prospects for therapy. *Med Res Rev*, 2001, **21**: 274-301.
- 19 Sakata N, Meng J et al: Nonenzymatic glycation and extractability of collagen in human atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis*, 1995, **116**: 63-75.

Oxidative stress and arterial wall injury

Noriyuki Sakata

Department of Pathology, School of Medicine, Fukuoka University

Key words: Oxidative stress, Atherosclerosis, Hypertensive arterial lesion, Calcification, Aging

There is extensive evidence that oxidative stress may be a mechanism of progression in various diseases, including cancer, inflammation and aging. Various arterial lesions, encompassing atherosclerosis, hypertensive arterial lesion, calcification and senescent changes, may be attributed to the hyperoxidative state, which is caused by hyperlipidemia, hypertension, diabetes mellitus and aging. This leads to the hypothesis that oxidative stress may be a common mechanism of progression in these arterial lesions. The focus of this review is to examine if oxidative stress plays a role in these arterial lesions. (J. Jpn. Coll. Angiol., 2003, **43**: 685-689)