

動脈硬化性心血管疾患に対する合成HDL治療

三浦伸一郎 朔 啓二郎

要 旨：高比重リポ蛋白(HDL)コレステロールの低値は、動脈硬化性心血管疾患の発症リスクである。HDLコレステロールは、その治療のターゲットであるが、現在までのHDLコレステロール増加療法には限界がある。しかし、最近、HDLコレステロールを合成して治療に生かそうという研究が盛んに行われるようになってきた。これらの研究により、合成HDLには、コレステロール逆転送系の増強とともに、さまざまな多面的効果を持っていることがわかってきた。ここでは、合成HDL治療の試みについて最近の私たちの知見を含めて概説する。

(J Jpn Coll Angiol, 2007, 47: 313-318)

Key words: reconstituted high-density lipoprotein cholesterol, atherosclerotic cardiovascular diseases, reverse cholesterol transport, pleiotropic effects

序 言

心血管疾患の一次・二次予防における高脂血症治療の原則は、スタチンによる低比重リポ蛋白(low density lipoprotein: LDL)コレステロールの低下療法である(Fig. 1)。特に、二次予防では、積極的脂質低下療法(LDLコレステロールを積極的に低下)が重要である。しかし、LDLコレステロールの積極的な低下だけでは、心血管疾患の発症の2/3は抑制できていない。そこで、次の治療標的として高比重リポ蛋白(high density lipoprotein: HDL)コレステロールの作用増強療法が注目されている^{1,2)}。しかし、現在まで、HDLコレステロールの増加薬としてスタチン、peroxisome proliferator-activated receptor- α 刺激薬、コレステロールエステル転送蛋白阻害薬などがあるが、その効果は十分でない。最近、HDL作用を増強させるために合成HDLの開発が進められている。ここでは、合成HDLによるHDL作用増強療法について私たちの知見も含めて概説する。

合成HDLの動脈硬化に対する効果

Fig. 2にコレステロール逆転送系における合成HDLの作用機序について示す。細胞内の余分な遊離型コレス

テロール(free cholesterol: FC)は、ATP-binding cassette transporter, subfamily A, member 1(ABCA1)により細胞外へ移行する。FCの引き抜きは、apolipoprotein A-I(ApoA-I)による特異的な経路と、球状HDLによる非特異的な経路の2つによって行われる。私たちは、合成HDL[1-palmitoyl-2-oleoyl phosphatidylcholineとApoA-Iを含有]をマクロファージとともに培養し、Fig. 2のグラフのように細胞内へ蓄積していたコレステロールが、合成HDLにより余分なFCが引き抜かれていることを確認した。さらに、Liらは³⁾、動脈硬化モデルマウスにおいて合成HDLの一つであるApoA-I Milanoを投与すると48時間以内に速やかに動脈硬化層が退縮するという報告を報告し、その即効性が期待されている。この合成HDLは、ApoA-Iの173番目のアミノ酸がアルギニンからシスチンに変異を持つ人では、HDL値が低いにもかかわらずApoA-Iがダイマーを形成するためにコレステロールの引き抜き能が非常に高いという発見⁴⁾を元に人工的に作製されたものである。最近、Nissenら⁵⁾は、急性冠症候群患者に対して、このApoA-I Milanoを投与し、血管内超音波にて冠動脈の動脈硬化度を評価したところ、プラークの有意な退縮作用を認めたと報告し(Fig. 3)、初めて冠動脈疾患に対する有用性を臨床面に

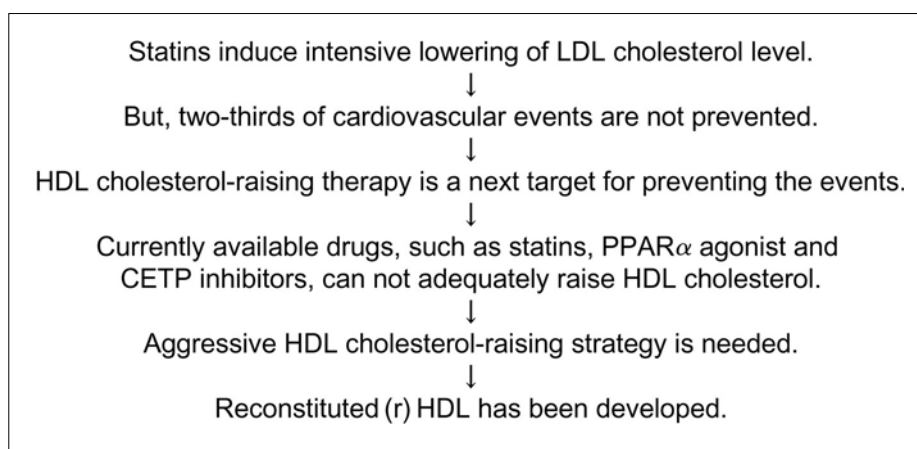


Figure 1 Primary and secondary prevention of cardiovascular events in the treatment of hyperlipidemia.

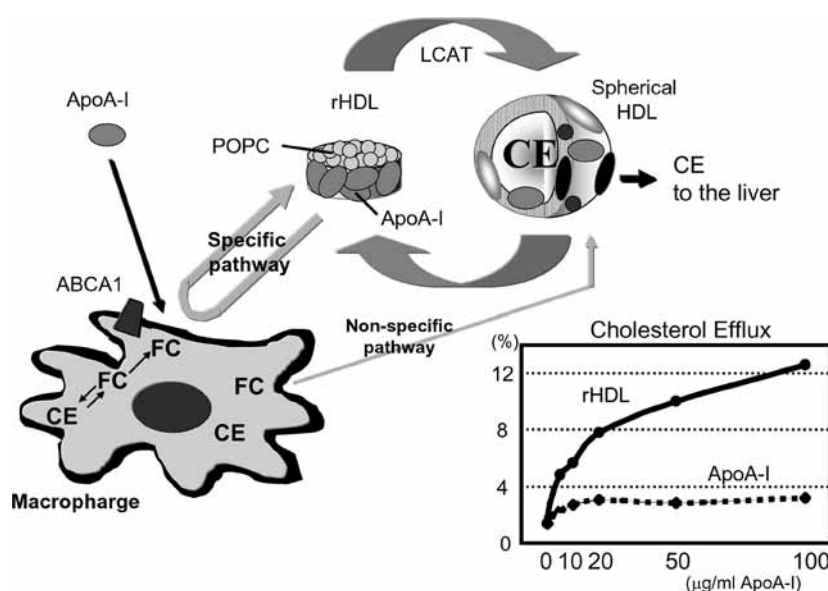


Figure 2 Function of reconstituted (r) HDL in reverse cholesterol transport. POPC: 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylcholine, ApoA-I: apolipoprotein A-I, FC: free cholesterol, CE: cholesterol ester

において証明した点で非常に意味深い。

多面的効果

HDLコレステロールには、逆転送系によるコレステロール引き抜き作用以外に、抗アポトーシス作用、血管弛緩・保護作用、泡沫細胞減少作用、抗炎症作用、血小板凝集作用などの多面的効果が報告されている

(Fig. 4)。合成HDLの主作用も逆転送系の増強作用によるコレステロールの引き抜きであることは言うまでもないが、成熟型HDLと同様の多面的な効果が推測されている。例えば、合成HDLは、RhoAの阻害とPI3キナーゼの刺激によりトロンビンによる内皮組織因子の発現を抑制し抗血栓作用を惹起すること⁶⁾、糖尿病ラットモデルにおいてヘムオキシゲナーゼ1や細胞外スー

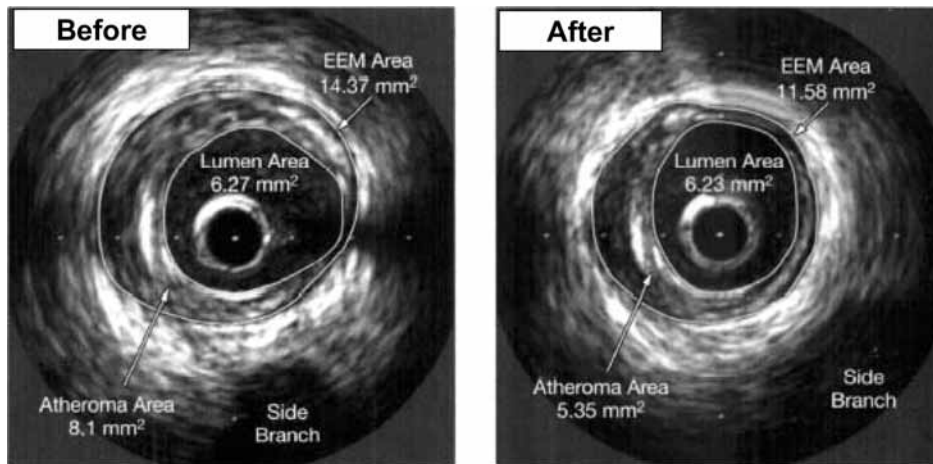


Figure 3 ApoA-I Milano (reconstituted HDL) reduces atheroma area in patients with acute coronary syndrome.

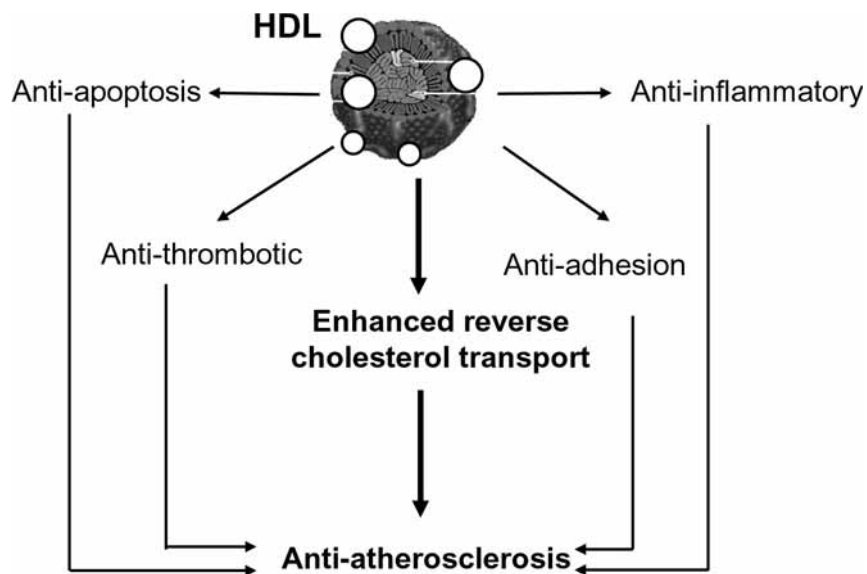


Figure 4 Mechanisms by which HDL protects against atherosclerosis.

パーオキシジスムターゼの増加による抗酸化作用をもたらすことが証明された⁷⁾。また、合成HDLは、pre- β HDLを増加させ、パラオキシゲナーゼを活性化し、抗炎症作用を發揮している⁸⁾。私たちは、合成HDLのpre- β HDLに關与する非レクチンコレステロールアセチルトランスフェラーゼ依存性のメカニズムがあることを見出した⁹⁾。さらに、Sumiら¹⁰⁾は、この合成HDLがendothelial progenitor cellsの分化を誘導し、血流を改善

させることを下肢虚血マウスモデルにて証明した(Fig. 5)。また、私たちは、活性リン脂質の一つであるスフィンゴシン 1 リン酸(S1P)を含有した新型合成HDL(POPC/S1P/ApoA-I)を作製した。この新型合成HDLは、*in vitro*においてコレステロールの引き抜き作用に加えて、冠動脈内皮細胞の管腔形成促進作用を示していた¹¹⁾(Fig. 6)。その作用は、Akt, extracellular-signal-regulated kinase(ERK)やendothelial NO synthase(eNOS)

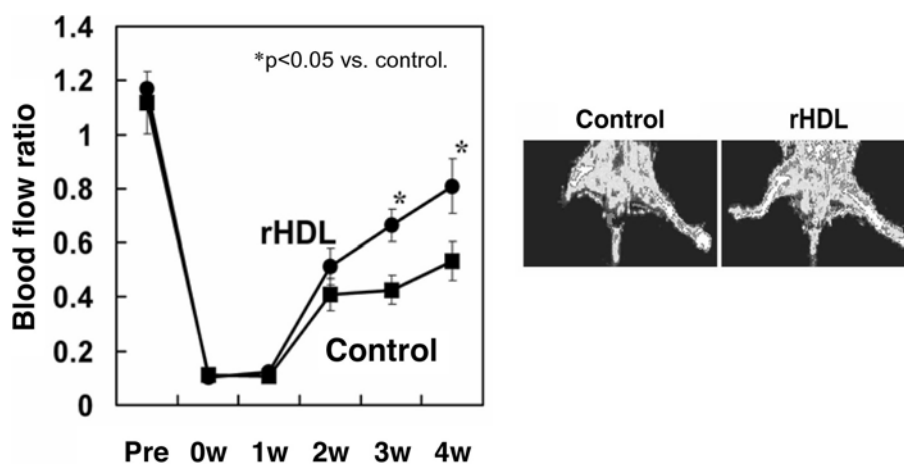


Figure 5 Reconstituted (r) HDL increases capillary density in the ischemic muscle at 4 weeks after surgery in mouse hind limb ischemia model.

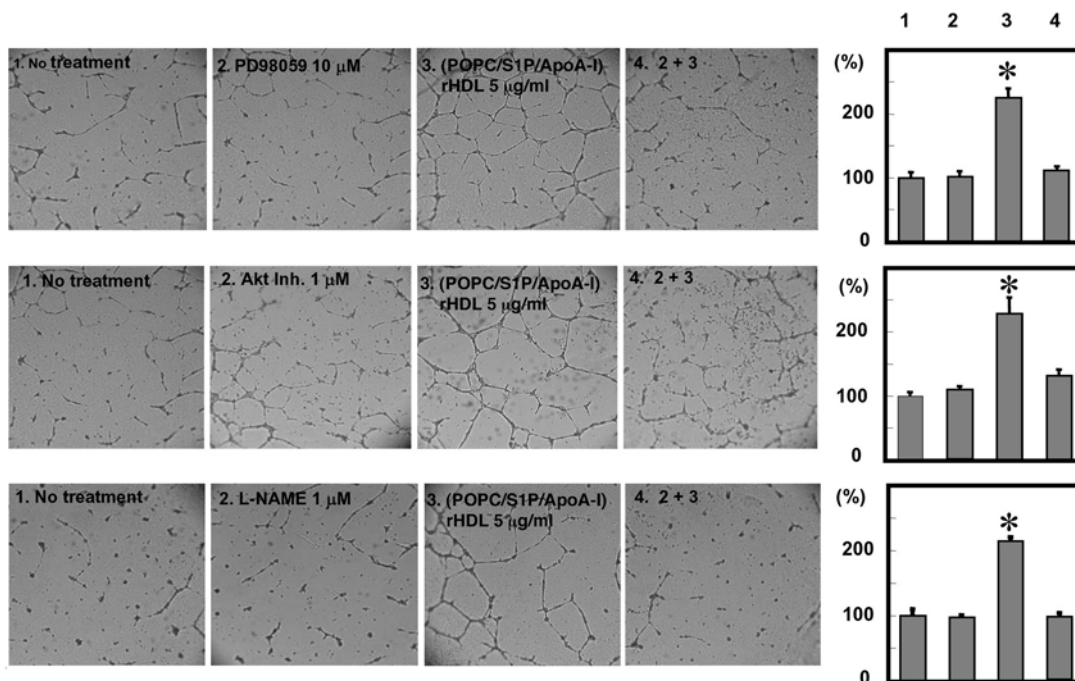


Figure 6 Newly developed (POPC/S1P/ApoA-I) reconstituted (r) HDL promotes coronary endothelial tube formation. PD98059 and L-NAME are inhibitors of extracellular-signal-regulated kinase (ERK) and endothelial NO synthase (eNOS), respectively.
*: $p < 0.05$ vs No 1

の各阻害薬により抑制されたことから、Akt/ERK/eNOS 経路が関与していると推測された。この新型合成HDL は、将来的には、severeな冠動脈病変を有する狭心症患者や閉塞性動脈硬化症患者において、動脈硬化の退縮とともに血管新生による側副血行路の発達の一助とな

る可能性をもたらした。最近、私たちは、直接的な心臓に対する作用として、合成HDLがラット心筋梗塞モデルにおいて、左室の線維化を減少させ、心リモデリングを抑制し、ejection fraction (EF) や fractional shortening (FS) が改善すること (Fig. 7)² やラット冠動脈再灌流

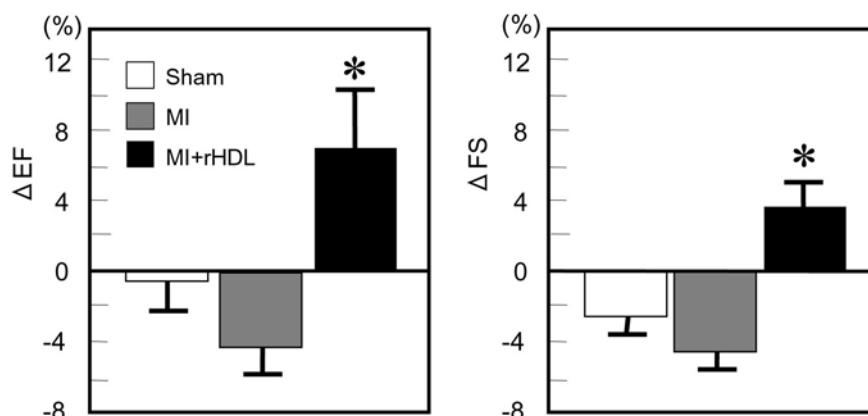


Figure 7 Reconstituted (r) HDL improves ejection fraction (EF) and fractional shortening (FS) in acute myocardial infarction mice model.

*: $p < 0.05$ vs MI

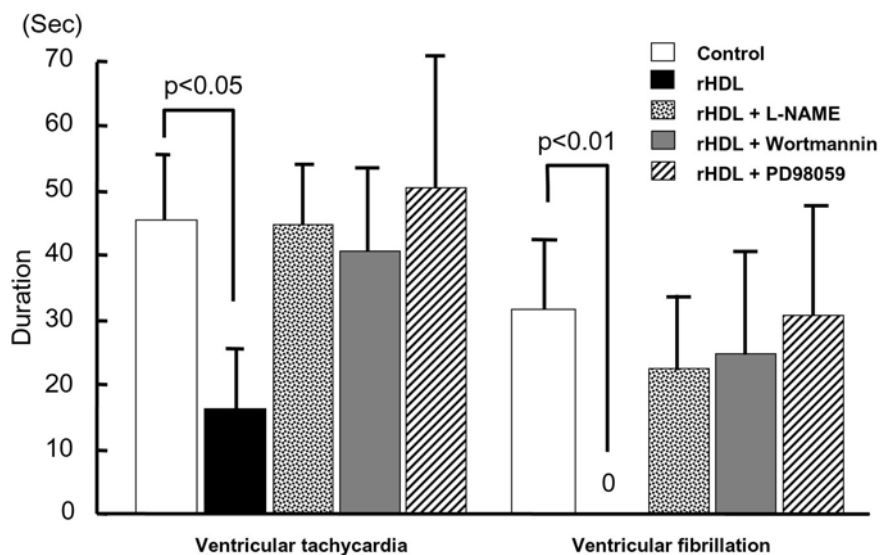


Figure 8 Anti-arrhythmogenic effect of reconstituted (r) HDL was blocked by inhibitors of PI3K, ERK and eNOS.

PD98059, wortmannin and L-NAME are inhibitors of extracellular-signal-regulated kinase (ERK), PI3K (kinase) and endothelial NO synthase (eNOS), respectively.

不整脈モデルにおいて致死的な不整脈(心室頻拍や心室細動)を抑制すること(Fig. 8)³⁾を報告している。この合成HDLの抗不整脈作用は、PI3K(キナーゼ)、ERKやeNOSの各阻害薬によって消失することから、PI3K/ERK/eNOS経路を介した作用と考えられる。また、Calabresiらは、ラット単離心において、合成HDLの虚血/再灌流後の心保護作用にtumor necrotic factor- α の減少やプロスタグランジン遊離の増加が関与しているこ

とを報告した¹⁴⁾。

おわりに

最近の臨床・基礎研究の成果により合成HDLを治療として捉えるようになってきた。今後のさらなる発展には、その作製方法・安全性の確立とともに大規模な臨床試験による成果が必要であろう。

文 献

- 1) Brewer HB Jr: Increasing HDL cholesterol levels. *N Engl J Med*, 2004, **350**: 1491–1494.
- 2) Newton RS, Krause BR: HDL therapy for the acute treatment of atherosclerosis. *Atheroscler Suppl*, 2002, **3**: 31–38.
- 3) Li X, Chyu KY, Faria Neto JR et al: Differential effects of apolipoprotein A-I-mimetic peptide on evolving and established atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Circulation*, 2004, **110**: 1701–1705.
- 4) Calabresi L, Vecchio G, Longhi R et al: Molecular characterization of native and recombinant apolipoprotein A-I Milano dimer. The introduction of an interchain disulfide bridge remarkably alters the physicochemical properties of apolipoprotein A-I. *J Biol Chem*, 1994, **269**: 32168–32174.
- 5) Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM et al: Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA*, 2003, **290**: 2292–2300.
- 6) Viswambharan H, Ming XF, Zhu S et al: Reconstituted high-density lipoprotein inhibits thrombin-induced endothelial tissue factor expression through inhibition of RhoA and stimulation of phosphatidylinositol 3-kinase but not Akt/endothelial nitric oxide synthase. *Circ Res*, 2004, **94**: 918–925.
- 7) Kruger AL, Peterson S, Turkseven S et al: D-4F induces heme oxygenase-1 and extracellular superoxide dismutase, decreases endothelial cell sloughing, and improves vascular reactivity in rat model of diabetes. *Circulation*, 2005, **111**: 3126–3134.
- 8) Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST et al: Apolipoprotein A-I mimetic peptides. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25**: 1325–1331.
- 9) Zhang B, Miura S, Fan P et al: ApoA-I/phosphatidylcholine discs remodels fast-migrating HDL into slow-migrating HDL as characterized by capillary isotachopheresis. *Atherosclerosis*, 2006, **188**: 95–101.
- 10) Sumi M, Sata M, Miura S et al: Reconstituted high-density lipoprotein stimulates differentiation of endothelial progenitor cells and enhances ischemia-induced angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27**: 813–818.
- 11) Matsuo Y, Miura S, Kawamura A et al: Newly developed reconstituted high-density lipoprotein containing sphingosine-1-phosphate induces endothelial tube formation. *Atherosclerosis*, 2006, Epub ahead of print.
- 12) Kiya Y, Miura S, Uehara Y et al: Reconstituted high-density lipoprotein prevents pathological remodeling after myocardial infarction in rats. *Circ J*, 2005, **69** Suppl: 646.
- 13) Maizumi S, Miura S, Kiya Y et al: Molecular basis of the suppression of reperfusion-induced arrhythmias by Apolipoprotein A-I discs. *Circ J*, 2007, **71** Suppl.
- 14) Calabresi L, Rossoni G, Gomaschi M et al: High-density lipoproteins protect isolated rat hearts from ischemia-reperfusion injury by reducing cardiac tumor necrosis factor- α content and enhancing prostaglandin release. *Circ Res*, 2003, **92**: 330–337.

Therapeutic Strategy for Atherosclerotic Cardiovascular Diseases

Shin-ichiro Miura and Keiji Saku

Department of Cardiology, Fukuoka University Hospital, Fukuoka, Japan

Key words: reconstituted high-density lipoprotein cholesterol, atherosclerotic cardiovascular diseases, reverse cholesterol transport, pleiotropic effects

A low level of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) level is one of the strongest predictors of coronary risk. While HDL is a targeted factor in the treatment of atherosclerotic cardiovascular diseases, therapeutic options to increase HDL-C remain limited. Recent years have seen an emergence of reconstituted (r) HDL, an promising therapeutic strategy, which has been a focus of attention for research. The studies show that rHDL has anti-atherosclerotic effects that enhance reverse cholesterol transport, in addition to pleiotropic effects. We discuss here rHDL therapy based on our data.

(J Jpn Coll Angiol, 2007, **47**: 313–318)

Online publication July 23, 2007

脈管学 Vol. 47, 2007