

免疫・炎症が関与する動脈硬化の病態生理学的機序と抗体工学の臨床応用

松浦 栄次

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 産学官連携センター

キーワード：動脈硬化，自己免疫，感染免疫，インフラマソーム，PET イメージング

Immunity/inflammation-mediated pathophysiological mechanisms of atherosclerosis and clinical applications of antibody technology

Eiji Matsuura

Research Collaboration Center, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

はじめに

動脈硬化 (arteriosclerosis) とは、細胞の増殖や細胞外基質の増加によって動脈壁が肥厚し弾性を失って硬化する結果、動脈の機能低下や内腔の狭窄をきたす病変である。動脈硬化には幾つかの病型があり、その中でも最も注目されるのが粥状動脈硬化 (atherosclerosis) である。粥状動脈硬化では、内皮機能異常に続き、酸化 LDL の取り込みによるマクロファージの泡沫化が原因となる脂肪線条 (fatty streak) の形成や平滑筋細胞の増殖が起こる。さらに長い年月を経て無症候性に血管壁への脂質蓄積と血管内腔の狭窄が進み、最終的に、動脈硬化巣 (プラーク) が破綻することによって、忽ち血液凝固が亢進し動脈血栓 (athero-thrombosis) を生じる。

自己抗体による易血栓性が基本病態である難治性自己免疫疾患「抗リン脂質抗体症候群 (antiphospholipid

syndrome)」の発症機序について、基礎医学・臨床医学の両領域で解明が進んできた。抗リン脂質抗体症候群に特徴的な臨床症状 (血栓症) との関連が知られている自己抗体の中、とりわけ「抗カルジオリピン抗体」(抗 β 2-グリコプロテイン I [β 2GPI] 抗体) が動脈硬化の進展や動脈血栓症の発症に直接関与している。

一方、肺炎クラミジア、歯周病原菌、サイトメガロウイルスなどの慢性感染によって動脈硬化が進展することも知られている。最近、筆者らは、高脂血症 (動脈硬化好発) モデルマウスを用いた *Helicobacter pylori* による感染実験系で、感染によって動脈硬化が著しく進展することを示した。

ところで、インフラマソームとは、複数のタンパク質からなる複合体であり、自然免疫系受容体の一種である NOD 様受容体 (NLRs) の活性化により誘導される Caspase-1 を介して IL-1 β 、IL-18 などのサイトカインの産生を誘導し、炎症反応の誘導や進展に重要な役割を果たすことが知られている。インフラマソームがこの種の自己免疫が惹起する動脈血栓の形成に深く関わっていることも明らかになっている。

近年、筆者らは、このような免疫が関与する動脈硬

平成25年2月受理

〒700-8558 岡山市北区鹿田町 2-5-1

電話：086-235-7402 FAX：086-235-7404

E-mail：eijimatu@md.okayama-u.ac.jp

◆ プロフィール ◆



1984年3月 岡山大学大学院薬学研究科修士課程修了
 1985年5月 岡山大学薬学部 助手
 1986年9月 National Jewish Center for Immunology and Respiratory Medicine (米国コロラド州デンバー) Research Associate
 1988年11月 ヤマサ醤油株式会社診断薬部 主任研究員
 1995年11月 北海道大学医学部 生化学第一講座 助手
 1997年5月 岡山大学医学部附属分子細胞医学研究施設 (細胞工学部門) 講師
 2001年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 細胞化学 准教授
 2011年1月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 産学官連携センター 副センター長・教授

専門：免疫学、生化学。自己抗体による易血栓性が基本病態である自己免疫疾患「抗リン脂質抗体症候群」、動脈硬化、および間質性肺炎、などの発症機序に関する研究および体外診断薬の開発を行ってきた。具体的な体外診断薬としては、抗 CL \cdot β 2GPI キット「ヤマサ」EIA (保険収載品、ヤマサ醤油株)、SP-D キット「ヤマサ」EIA (保険収載品、ヤマサ醤油株)、Anti-AtherOx[®] (FDA 承認品、米国 Corgenix 社)、AtherOx[®] (FDA 承認申請準備中、米国 Corgenix 社)。現在、動脈硬化の PET 診断 (体内診断) を可能にする特異的抗体バリエーションを用いた体内イメージング薬を開発研究 중이다。

化（動脈血栓）の発症機序を解明するとともに、特異抗体による動脈硬化の *in vitro* および *in vivo* イメージング診断法の開発を行ってきた。

本稿では、これまで20年に亘る筆者らの研究の成果を中心に、自己抗体（自己免疫）あるいは慢性感染などの免疫応答が惹起する動脈硬化（動脈血栓）の発症機序および動脈硬化性疾患の診断・治療薬の開発ストラテジーについて概説する。

抗リン脂質抗体症候群

多臓器障害と多彩な自己抗体の出現を特徴とする難治性の自己免疫疾患、全身性エリテマトーデス (SLE), の患者では、抗カルジオリピン抗体やループスアンチコアグラントなどのいわゆる「抗リン脂質抗体」が出現し、また、1980年代にはそれら自己抗体の陽性患者に動・静脈血栓や習慣流産の発症頻度が高いことが相次いで報告された。ところが、これらの病態を有する抗体陽性患者であっても SLE としての診断基準を満たさないケースもあり、また、若年発症の脳梗塞、心筋梗塞、あるいは、肺血栓塞栓症、さらには、習慣流産の患者に一定の頻度で抗リン脂質抗体が認められることより、「抗リン脂質抗体症候群 (APS)」という新たな自己免疫疾患の概念が提唱された¹⁾。

抗リン脂質抗体症候群は、血栓症に由来するさまざまな臨床症状を呈するが、最も頻繁に見られるものが、脳梗塞や一過性脳虚血などの脳血管障害であり、動脈血栓症の90%を占める。心弁膜異常との関連も指摘されており、弁膜肥厚や、大動脈弁や僧帽弁の閉鎖不全も多くみられる。静脈系では下肢深部静脈血栓症および肺梗塞の頻度が高く、ほかに、門脈血栓症、腎静脈、

副腎静脈血栓症、網膜中心静脈血栓症などが認められる。

抗リン脂質抗体症候群における自己抗体とそれらによる血栓形成

抗リン脂質抗体症候群の患者血清中に存在して *in vitro* の実験系でカルジオリピンに反応する抗体が、かつては、「抗カルジオリピン抗体」と呼称されていたが、本抗体の認識する抗原がカルジオリピンそのものではなく、カルジオリピンなどの陰性荷電リン脂質に結合した β 2-グリコプロテイン I (β 2GPI) であることを、1990年に筆者らを含む3つの研究グループが報告した (図1)²⁻⁴⁾。 β 2GPI が第5ドメインを介して陰性荷電リン脂質や酸素原子を酸化的に導入したポリスチレン固相などに結合する。さらに、結合によって構造変化を起した結果、現れる β 2GPI 分子上の cryptic なエピトープを抗カルジオリピン抗体が認識していることを筆者らが明らかにした⁵⁻⁷⁾。また、 β 2GPI およびそのプラスミンによる代謝体である nicked β 2GPI により、血栓形成制御系 (すなわち、血液凝固系、線溶系) あるいは血管新生系などが複雑に維持調節されていることも明らかにした (図2)。この種の自己抗体の β 2GPI への結合によってどの様に生体内で血栓 (特に静脈血栓) が形成されるかについて、実験事実 (主に *in vitro*) に基づいた様々な説が提唱されているものの、これらの複雑さ故、未だ不明な点も多い。結局のところ、「抗 β 2GPI 抗体による易血栓性の機序なるものは、この種の自己抗体が β 2GPI に結合するものの、個々の症例においては、どの様にこれら制御系の相互的均衡が破綻を来しているか、精査することは容易ではなく、また、*in vitro* および *in vivo* の実験系で、

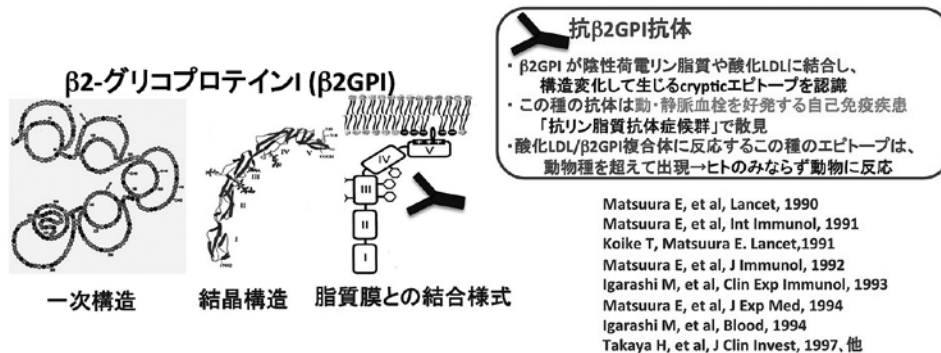


図1 血栓形成に関わる自己抗体 (抗 β 2-グリコプロテイン I (β 2GPI) 抗体) この種の易血栓性をもたらす抗 β 2GPI 抗体は、陰性荷電リン脂質や陰性荷電基を有する疎水表面に結合することで現れる β 2GPI 分子上の cryptic なエピトープを認識する。

$\beta 2$ GPI の作用についての見解の乖離があるケースも少なくない。

一方、抗リン脂質抗体症候群におけ抗体依存的な動脈血栓の形成機序としては、筆者らは、急性期（最終段階）の血液凝固の前に、長い年月を経て慢性的に起こる動脈の形質的变化（動脈硬化の進展促進）が主体であると考えている。すなわち、酸化 LDL に結合した $\beta 2$ GPI に、いわゆる「抗カルジオリピン抗体」（抗 $\beta 2$ GPI 抗体）結合した免疫複合体が、粥状動脈硬化を進展させると考えている⁸⁾。これまでに、 $\beta 2$ GPI リガンド（酸化脂質）を酸化 LDL より単離・同定し、筆者らは、コレステリルリノレートの酸化体であることも明らかにした（図 3）⁹⁻¹²⁾。これらのリガンドは、共通して、コレステロール骨格の 7 位にケトンをもつ、また、脂肪酸の ω 位にカルボキシル基を有する。すなわち、*in vitro* で、酸化 LDL は、遊離型 $\beta 2$ GPI と速やかに静電結合し、その後数時間で schiff base adduct などを形成し安定な複合体となる（図 1）。このような安定型の酸化 LDL/ $\beta 2$ GPI 複合体が動脈硬化巣で形成されること、および、それらが抗リン脂質抗体症候群患者をはじめとする種々の動脈硬化性疾患（糖尿病、急性冠症候群など）の患者血中に出現することは明白である¹²⁻¹⁴⁾。

自己抗体が関与する動脈硬化巣の形成機序

LDL は、通常、LDL 受容体を介して細胞に取り込まれる。そして、一定量（必要量）の LDL が取り込まれると負の制御（down-regulation）を受け細胞膜表面上の LDL 受容体数が減少する。ところが血管内皮下においては、負の制御を受けないスカベンジャー受容体を介した際限のない酸化 LDL の取り込みによりマクロファージは泡沫化する。

酸化 LDL が $\beta 2$ GPI と複合体を形成すると、酸化 LDL の陰性荷電が消失しスカベンジャー受容体に認識されにくくなる一方、抗リン脂質抗体症候群患者に検出されるような IgG 抗 $\beta 2$ GPI 抗体が存在する場合、酸化 LDL/ $\beta 2$ GPI 複合体との免疫複合体として Fc 受容体（Fc γ RI）を介して取り込まれマクロファージの泡沫化は亢進する（図 4）¹⁵⁾。従って、 $\beta 2$ GPI は、本来、抗動脈硬化作用を有するタンパク質であるが、抗リン脂質抗体症候群では自己抗体の関与によって逆に動脈硬化（動脈血栓）が進展する¹⁵⁾。また、 $\beta 2$ GPI は、単独ではマクロファージにほとんど結合しないが、酸化 LDL/ $\beta 2$ GPI 複合体やホスファチジルセリンなどの陰性荷電リン脂質小胞と結合するとスカベンジャー受容体を介してマクロファージに取り込まれ、エンドソ

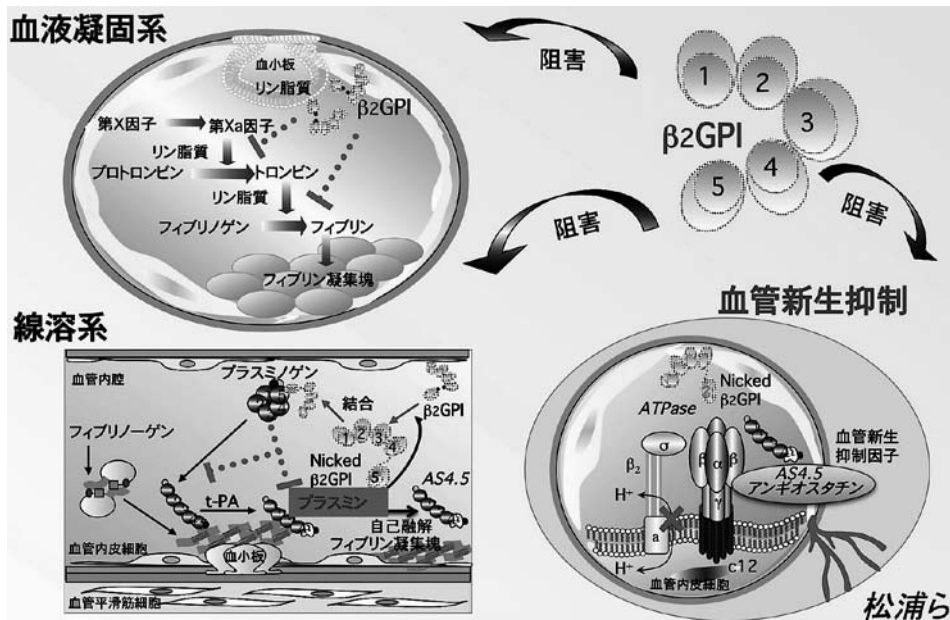


図2 $\beta 2$ -グリコプロテイン I ($\beta 2$ GPI) の凝固制御における作用
Nicked $\beta 2$ GPI：プラスミンによって $\beta 2$ GPI の第 5 ドメインが限定分解して、1 つのループ構造が開環した状態の $\beta 2$ GPI タンパク質を指す。

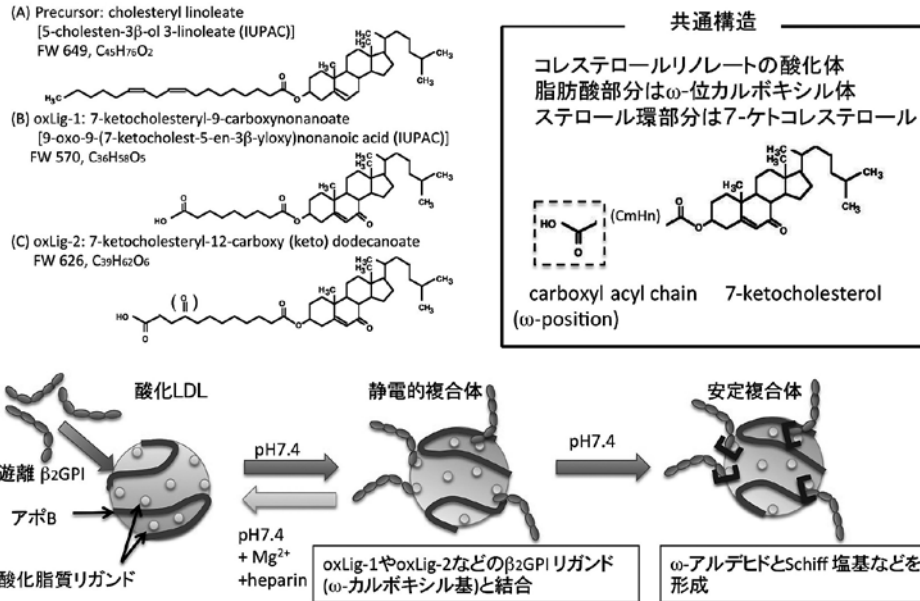


図3 β 2-グリコプロテインI (β 2GPI) に対する酸化LDL由来のリガンド
 β 2GPIは、oxLig-1、oxLig-2などの ω -カルボキシル基を有する酸化脂質を介して酸化LDL静電的に結合し、その後数時間で、アルデヒド基との間でschiff base adductなどを形成する。

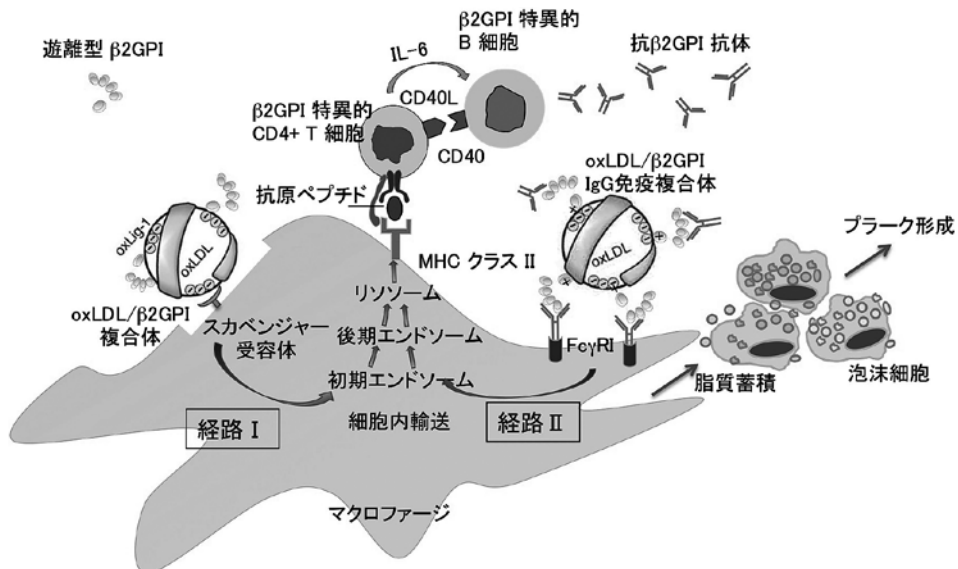


図4 自己抗体 (抗 β 2GPI 抗体) 産生の誘導と動脈硬化巣の形成機序
動脈壁内で炎症反応により産生された活性酸素により、酸化変性を受けたLDLは、 β 2GPIと複合体形成する。酸化LDL/ β 2GPI複合体は、スカベンジャー受容体を介して、取り込まれ、リソソーム経路で代謝分解され、MHCクラスII分子に、 β 2GPI分子ペプチドが提示され抗体誘導が起こる (抗リン脂質抗体症候群患者の場合)。同時にFc γ 受容体 (Fc γ RI) やスカベンジャー受容体 (CD36) の発現量が増加する。IgG抗 β 2GPI抗体が酸化LDL/ β 2GPI複合体と免疫複合体を形成する場合、Fc γ RIを介して取り込みが増加し、同様の免疫学的作用が増幅される他、細胞内には脂質蓄積が起こる。

ームを經由してリソソームに運ばれる^{15,16)}。そこで、分解され、生成される $\beta 2$ GPI ペプチドが自己反応性 T 細胞へ抗原提示される。この抗原提示機序は、抗リン脂質抗体症候群における自己抗体の産生誘導に極めて重要である (図 4)¹⁷⁾。

慢性感染と動脈硬化

1990年代後半より、動脈硬化の進展に動脈局所の炎症反応が関与していることが明らかにされ始め、最近では消化器感染症の原因菌 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)、呼吸器感染症の原因菌 *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*)、歯周病の原因菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*)、*cytomegalovirus* などの慢性感染病原体に対する宿主の炎症・免疫反応が動脈硬化を促進させると考えられている。

本邦では、約6,000万人が *H. pylori* に感染しているが、多くの感染患者には自覚症状がなく、また、消化性潰瘍以外の除菌治療は保険適応が認められていないため、このような無症候性 *H. pylori* 感染者は放置状態にある。また最近、市中肺炎の原因菌として分離される頻度が高くなっている *C. pneumoniae* は、封入体を形成し抗生物質の作用を逃れるためヒトの全身に播種し無症候性に慢性感染する。さらに *P. gingivalis* についても、歯周病罹患の若年齢化により同菌の慢性感染者数は全人口の過半数を超える。つまり、潜在的な動

脈硬化発症リスクをもつ無症候性慢性感染者が多数存在するのが現状である。

この様な状況の中、自然免疫 (感染免疫) と獲得免疫の両者が、また、血管内皮細胞の活性化に伴う免疫学的 (特に T リンパ球を中心とした) 機序が動脈硬化の進展に関与していることが様々な検討で明らかにされている。そして、これら病原体による動脈硬化促進機序の中で、主要な位置を占めるのが熱ストレスタンパク質60 (HSP60) に対する自己免疫である。

熱ストレスタンパク質は、分子シャペロンともいわれ、ストレス下でのタンパク質の立体構造変性を防止し細胞のホメオスタシスに関わっている。とりわけ、分子量60kDa である HSP60 は、哺乳動物のミトコンドリアや、細菌の細胞質など、真核、原核を問わず全ての生物に広く存在する。異なる生物種間で HSP60 のタンパク質構造の相同性が高いため、感染病原体由来の HSP60 に対する免疫応答が惹起されるとヒト (内因性) HSP60 に対しても標的性を示し、しばしばリウマチなどの自己免疫疾患の“引き金”となる。動脈硬化の促進機序も同様に、菌体側の HSP60 が活性化血管内皮細胞に発現する内在性 HSP60 の構造類似性のため、感染により誘導された抗 HSP60 抗体や HSP60 特異的 T 細胞がさらなる血管内皮細胞の活性化や傷害をもたらす、感染局所でない“動脈”に炎症を誘発し動脈硬化 (動脈血栓) 形成を促進することは容易に推測される (図 5)¹⁸⁻²⁰⁾。

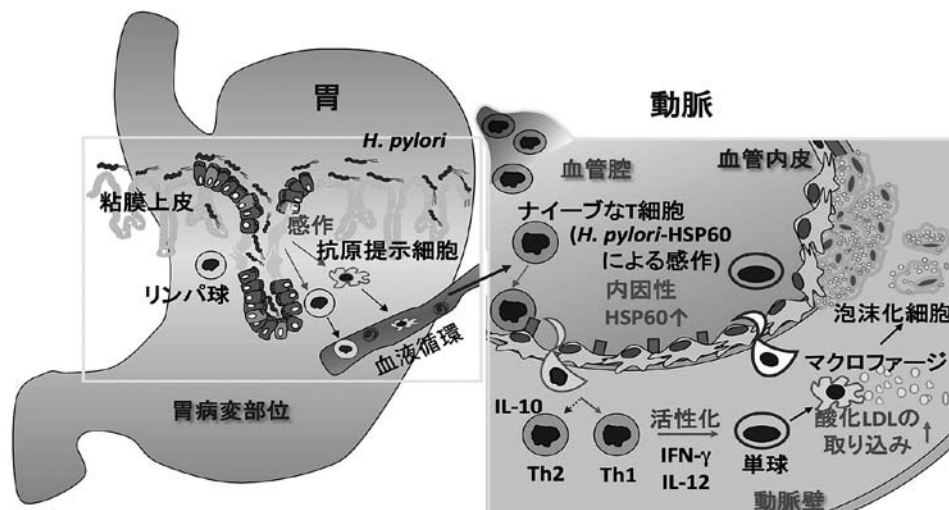


図5 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) の感染による動脈硬化の進展機序

H. pylori が胃粘膜上皮に感染することで、*H. pylori* 由来の HSP60 に対する免疫応答が誘導される。リクルートされた HSP60 特異的ナイーブ T 細胞は、シェアストレス、高脂血症、高血糖、高血圧など、動脈硬化の古典的要因で活性化された冠動脈の血管内皮細胞上に発現する内在性 HSP60 によって再感作され、Th1-oriented な分化を遂げ、単球からマクロファージへの分化を誘導し、泡沫化細胞の形成に寄与する。

動脈硬化巣の形成におけるインフラマソームの関与

前述の通り、動脈硬化は、まさに、脂質代謝、高血糖、高血圧、血管系のシェアストレスなど、従来から提唱されている、動脈硬化の“古典的”危険因子に加えて、自己免疫、感染免疫といった炎症性因子によって複合的に進展するものと考えられる（図6）。

インフラマソームは、カスパーゼ-1活性化によりIL-1 β 、IL-18分泌などを誘導するなど、炎症の要とな

る細胞質内タンパク質複合体である。インフラマソームは、病原菌など外来因子、コレステロール結晶、尿酸結晶などの内在性因子によっても活性化され、感染症や自己免疫疾患などの疾患の発症に重要な役割を果たしている。また、インフラマソームの中心的構成因子であるNLRP3の変異は自己炎症性疾患をひき起こすことも知られている。表1、表2に示すとおり、既に、動脈硬化そのもの、あるいは、抗リン脂質抗体で誘導される自己抗体の対応抗原（ β 2GPI）分子状態と

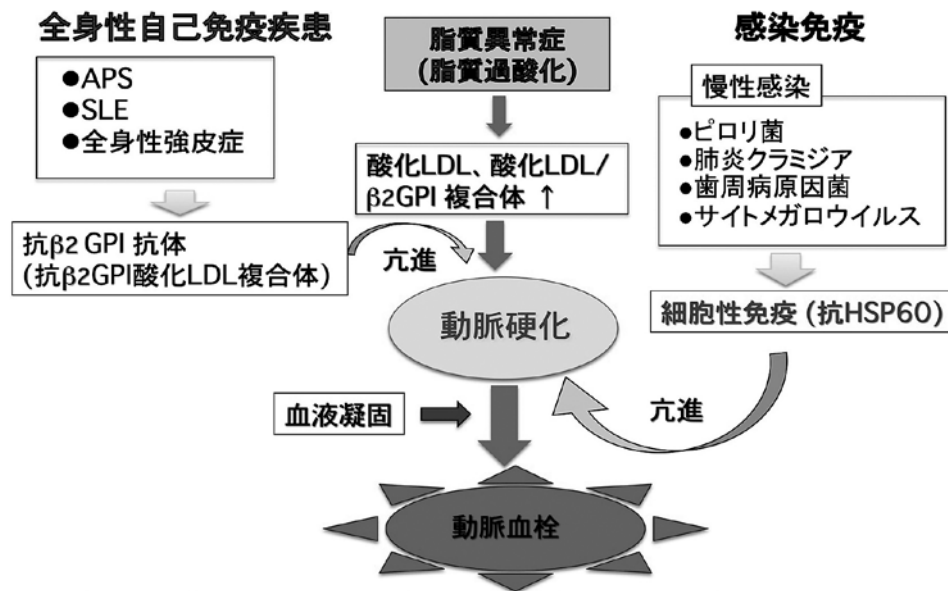


図6 炎症反応に伴うLDLの酸化と自己免疫関与の動脈硬化初期病変の形成機序
動脈硬化（動脈血栓）の進展には、古典的な動脈硬化発症機序（脂質代謝異常）の他、免疫応答が関わる。

表1 動脈硬化発症におけるIL-1 β およびNLRP インフラマソームの役割

著者/年	研究対象	新規知見
Persson J, <i>et al.</i> 2008	・ヒトマクロファージ THP-1 (<i>in vitro</i>)	・IL-1 β およびTNF- α は、細胞内脂質蓄積を促進することにより、マクロファージの泡沫化を促進する
Olofsson PS, <i>et al.</i> 2009	・ヒト動脈硬化巣におけるIL-1受容体拮抗剤の多様性	・正常血管に比し動脈硬化血管では、IL-1 β およびIL-1R α 量が増加している
Rajamaki K, <i>et al.</i> 2010	・ヒトマクロファージ (<i>in vitro</i>)	・コレステロール結晶は、IL-1 β および casase-1 依存的にインフラマソームの活性化を誘導する
Duewell P, <i>et al.</i> 2010	・マウス動脈硬化発症モデル	・コレステロール結晶は、ファーゴリソソームの障害を介し、NLRP3 インフラマソームと炎症（内因性危険シグナル）を活性化する
Zhou R, <i>et al.</i> 2010	・マウス糖尿病発症モデル	・尿酸結晶は、チオレドキシニン依存的にNLRP3インフラマソームを活性化する
Connat JL, 2011	・マウスマクロファージ (<i>in vitro</i>)	・NLRP インフラマソームにおいて、IL-1 β およびIL-8量が増加する ・マウスマクロファージにおいて、プラークNLRP3の上方調節・活性化（および酸化LDLによる調節）が起こる

表2 酸化ストレス調節および自然免疫・獲得免疫応答におけるβ2GPIの役割

著者/年	研究対象	新規知見
Kajiwara T, <i>et al.</i> 2007	・マウスマクロファージ (J774) におけるβ2GPI/酸化LDL複合体の細胞内輸送 (<i>in vitro</i>)	・リソソーム内に局在する酸化LDLと複合体形成したβ2GPIは、CD36およびFcγR1発現を上方調節する
Passam FH, <i>et al.</i> 2010	・β2GPIの酸化還元(チオレドキシニン)調節 ・vWFを介した血小板接着(<i>in vitro</i>)	・チオレドキシニン-1により還元されたβ2GPI(ドメインV中のCys288-Cys326)は、vWF結合と血小板接着を促進する
Agar C, <i>et al.</i> 2011	・単球および内皮細胞における自然免疫の新たな構成要素としてのβ2GPI (<i>in vitro</i>)	・β2GPIは、LPSへの結合することで、LPSによるTFおよびIL-6発現を抑制する
Ioannou Y, <i>et al.</i> 2011	・自己免疫における酸化β2GPIの検出	・β2GPIの翻訳後酸化修飾(遊離型チオールが存在しない)は、血栓形成を促進する
Ioannou Y, <i>et al.</i> 2011	・酸化ストレスによる細部障害から還元型β2GPIが血管内皮細胞を保護 (<i>in vitro</i>)	・チオレドキシニン-1による還元を受けたβ2GPI(Cys288-Cys326ドメインV)は、抗酸化作用と血小板接着抑制を示す
Passam FH, <i>et al.</i> 2011	(総説および未発表データ)	・遊離チオールを有する還元型β2GPIは抗酸化剤の受け皿となる ・酸化型β2GPI(遊離チオールが存在しない)は、Th1応答を増強する

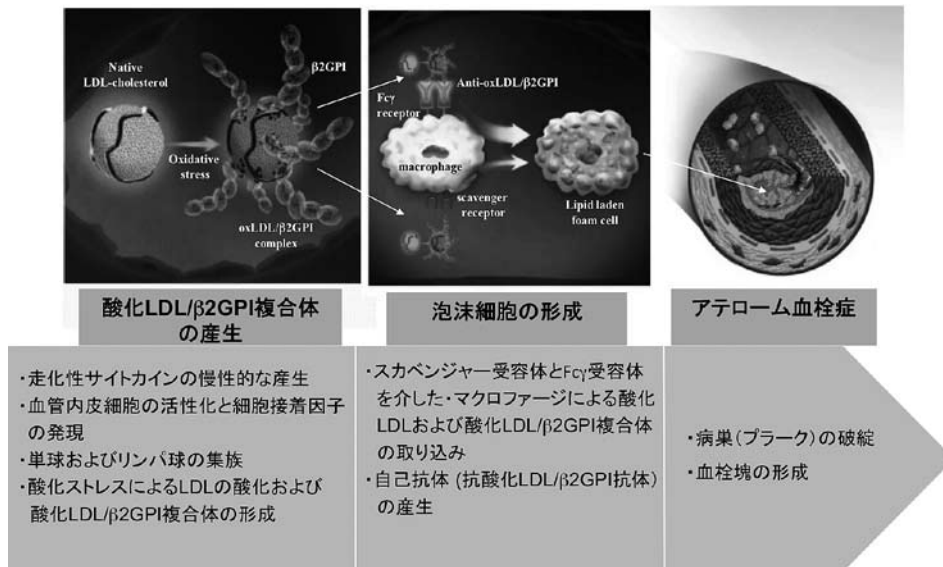


図7 マクロファージによる特異的抗体に依存的な酸化LDL取り込み機序と炎症性疾患としての動脈硬化の発症機序

インフラマソームとの関連性(図7)を示す数多くの報告がある²¹⁾。

また、最近の当該領域研究の急速な展開により、これら疾患に対するインフラマソーム情報伝達系を標的とした新しい治療法開発も検討されている。

先端医療を実現する新設の分子イメージングセンター(OMIC)とそこで展開する「抗体を用いる動脈硬化の革新的標的医療(Immuno-Theranostics)」の現状

「おかやまメディカルイノベーションセンター(OMIC)」は、独立行政法人科学技術振興機構(JST)により地域産学官共同研究拠点として設置された本格的アニマル分子イメージング技術を核とする日本有数のオーブ

ンイノベーション施設である。OMICの最大の特徴は、医学・医療の教育・研究の場とその実践の場である大学病院が存在する岡山大学医療系キャンパス内に設置されていることであり、基礎から臨床への橋渡し研究を可能にする。サイクロトロンおよびサイクロトロンにより取り出されたポジトロン放出核種を用いてPET薬剤合成する装置、および、合成された薬剤を用いて、マウス、ラットなどの小型実験動物から、ウサギ、霊長類などの中型実験動物までを対象に *in vivo* イメージングを実施するためのPETカメラが設置されており、各種疾患、病態、代謝を反映する生体内バイオマーカーの評価法が可能である。また、臨床試験を実施するために試験薬GMPに準拠した施設を整備している。

筆者らは、国内外の協働企業との連携体制のもとで、動脈硬化性疾患の診断を目的とし、 β 2GPIに特異的な抗体を作製し、前述した血中酸化LDL/ β 2GPI複合体測定用のELISA法（体外診断薬 [AtherOx[®]]）を開発（間もなく米国FDAに製造承認申請）するとともに、このOMIC施設を利用して、特異抗体による動脈硬化の *in vivo* イメージング薬の開発を実施中であり、さらには、診断と治療が同時（一体として）に出来る革新的抗体標的薬（Immuno-theranostics）の開発研究を進めている。

特異抗体と生分解性ポリマーを用いた動脈硬化性疾患の革新的標的薬（Immuno-theranostics）開発の必要性

脳梗塞、心筋梗塞の重篤な循環器疾患の主因である動脈硬化は、長年をかけて血管壁における炎症反応により無症候性に進行する。多くのケースでは、終末期、すなわち、血管の著しい形質的变化による狭窄が起きて初めて痛みを伴ってその存在を自覚することになる。そのため、自覚した時にはすでに致死的な状態にあることが多い。急性心筋梗塞などの症状が現れる致死的な状況下では、侵襲的でリスクのあるカテーテル検査が施行されるが、この種の処置には、医療事故や造影剤による副作用の可能性も含まれる。近年、カテーテル検査に代わり、64~256列のマルチスライスCTが使用されるようになったが、この手段でも副作用が懸念される造影剤の使用は不可欠で、また、破綻する可能性の高い不安定プラークを確実に検出できるものでもない。さらに、動脈の中膜で石灰化が起きている場合、内側に存在する粥腫（不安定プラーク）の鑑

別が困難である。このような医療事情を勘案すると、極めて非侵襲的で副作用がなく危険性が高い不安定プラークを、自覚症状のない極めて早期に特異的に検出できる検査法の開発が待ち望まれる。

この問題を克服するため、動脈硬化を非侵襲的に診断する技術の開発研究が世界中で行われている。注目したい研究の一つは、ハーバード大学のグループが精力的に開発を進めている研究プロジェクトで、彼らは、動脈硬化の発症過程に生じる炎症反応に注目し、動脈硬化好発モデル動物を用いて、マトリクス・メタロプロテナーゼ（MMP）や血管細胞接着分子（VCAM-1）などの活性発現を可視化しようとしている。しかしながら、MMPやVCAM-1は、一般的な炎症関連酵素であり動脈硬化以外の病巣でも発現する。また、当該酵素の物質量ではなく、活性化状態を的確に把握する必要があり、未だ技術的に克服しなければならない問題が蓄積している。また、国内外で実施者らと類似のアプローチとして抗体によるイメージング技術の開発も進められているが、抗マクロファージ抗体を使うイメージングについては、抗体の結合によって免疫反応が活性化され動脈硬化の進展を促進することも危惧される。また、抗酸化LDL抗体を用いたアプローチは、今回の提案のベクトルと酷似しているが、2004年以降、研究の進展を示す報告がない。

ところで、体内診断用医薬品（イメージング診断）の市場について言及すれば、血管造影剤、がん検診用の¹⁸F-FDG、肝臓がんを対象としたMRI造影剤、プリモビスト（ガドキセト酸ナトリウム）がイメージング診断薬の売り上げの大部分を占めている。一方、新規イメージング診断薬開発もがん中心に進められており、がん以外の分野としてはアルツハイマー病の早期診断に関する研究が行われている。しかしながら、がんと同様に本邦の死因の3割を占めている動脈硬化の早期診断に関するイメージング診断薬の開発に関しては、企業レベルでは筆者ら以外のグループの動向は表面化していない。その主要因は、動脈硬化の原因である酸化LDL/ β 2GPI複合体を認識する本提案の抗体ほど、特異性・親和性に優れた抗体が得られていないためであると考えられる。緻密な動脈硬化の進展機序の解析に基づき、筆者らが長年労力をかけて臨床診断の目的で作製に成功した抗酸化LDL/ β 2GPI複合体抗体を用いる点が他の先行技術に比べて優位である。

現在、当該研究グループは、 β 2GPIおよび抗 β 2GPI

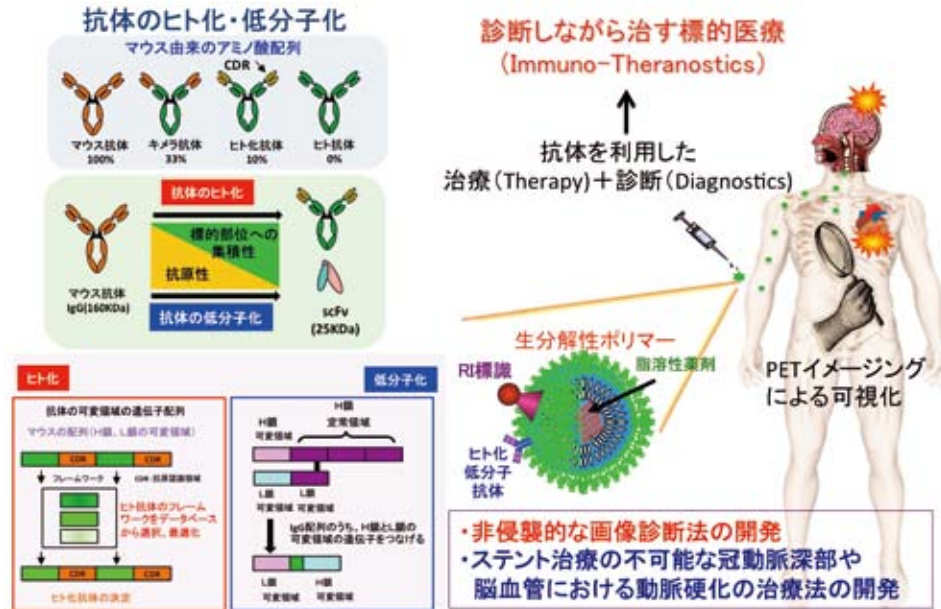


図8 特異抗体を用いるヒト動脈硬化性疾患の革新的な一体型診断・治療法 (Immunotheranostics) の確立

自己抗体の病態生理学的意義に関する解析を継続するとともに²²⁻²⁸⁾、昨今、マウスで作製した当該抗体の遺伝情報に基づき、臨床に用いることのできる製剤としてヒト低分子抗体ペプチド (scFv) を開発することに概ね成功した。今後、PET 診断と同時に治療ができる安全性の高い (体に優しい) 生分解性ポリマーによる drug delivery system (DDS), すなわち, Immunotheranostics の開発を進めていく (図8)。

おわりに

心筋梗塞や脳梗塞などの動脈硬化性疾患は、我が国でも年々増加し続けており、早急に対応しなくてはならない厚生行政上の最大課題の一つである。本稿では、自己免疫・感染免疫機構が関与する動脈硬化 (血栓) の進展機序について概説した。細胞性免疫および液性免疫、自己免疫および自然免疫といった様々な次元の免疫応答が関わる病態発症機序について一層の精査に努め動脈硬化 (血栓) の発症機序を十分理解する必要がある。研究の過程で確立した抗体が特異的に動脈硬化巣へポジロン核種や薬剤を搬送することができ、PET イメージングによる体内画像診断や標的治療を同時に可能とする技術の礎ができれば、抗体標的性による的確な早期診断および予防・治療法による動脈硬化の撲滅に向けた対策が現実化すると確信している。

文 献

- 1) Harris EN, Gharavi AE, Hughes GRV : Antiphospholipid antibodies. Clin Rheum Dis (1985) 11, 591-609.
- 2) McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA : Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation : β 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). Proc Natl Acad Sci USA (1990) 87, 4120-4124.
- 3) Galli M, Comfurius P, Maassen C, Hemker HC, de Baets MH, van Breda-Vriesman PJ, Barbui T, Zwaal RF, Bevers EM : Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma lipoprotein cofactor. Lancet (1990) 335, 1544-1547.
- 4) Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Koike T : Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. Lancet (1990) 336, 177-178.
- 5) Matsuura E, Igarashi Y, Fujimoto M, Ichikawa K, Suzuki T, Sumida T, Yasuda T, Koike T : Heterogeneity of anticardiolipin antibodies defined by the anticardiolipin cofactor. J Immunol (1992) 148, 3885-3891.
- 6) Matsuura E, Igarashi Y, Yasuda T, Triplett DA, Koike T : Anticardiolipin antibodies recognize β 2-glycoprotein I structure altered by interacting with an oxygen-modified solid phase surface. J Exp Med (1994) 179, 457-462.
- 7) Igarashi M, Matsuura E, Igarashi Y, Nagae H, Ichikawa K, Triplett DA, Koike T : Human β 2-glycoprotein I as an anticardiolipin cofactor determined using deleted mutants expressed by a baculovirus system. Blood (1996) 87, 3262-3270.
- 8) Hasunuma Y, Matsuura E, Makita Z, Katahira T, Nishi

- S, Koike T : Involvement of β 2-glycoprotein I and anticardiolipin antibodies in oxidatively modified low-density lipoprotein uptake by macrophages. *Clin Exp Immunol* (1997) 107, 569-573.
- 9) Kobayashi K, Matsuura E, Liu Q, Furukawa J, Kaihara K, Inagaki J, Atsumi T, Sakairi N, Yasuda T, Voelker DR, Koike T : A specific ligand for β 2-glycoprotein I mediates autoantibody-dependent uptake of oxidized low density lipoprotein by macrophages. *J Lipid Res* (2001) 42, 697-709.
 - 10) Liu Q, Kobayashi K, Furukawa J, Inagaki J, Sakairi N, Iwado A, Yasuda T, Koike T, Voelker DR, Matsuura E : ω -Carboxyl variants of 7-ketocholesteryl esters are ligands for β 2-glycoprotein I and mediate antibody-dependent uptake of oxidized LDL by macrophages. *J Lipid Res* (2002) 43, 1486-1495.
 - 11) Kobayashi K, Kishi M, Atsumi T, Bertolaccini ML, Makino H, Sakairi N, Yamamoto I, Yasuda T, Khamashta MA, Hughes GR, Koike T, Voelker DR, et al. : Circulating oxidized LDL forms complexes with β 2-glycoprotein I : implication as an atherogenic autoantigen. *J Lipid Res* (2003) 44, 716-726.
 - 12) Matsuura E, Kobayashi K, Tabuchi M, Lopez LR : Oxidative modification of low-density lipoprotein and immune regulation of atherosclerosis. *Prog Lipid Res* (2006) 45, 466-486.
 - 13) Lopez D, Garcia-Valladares I, Palafox-Sanchez CA, De La Torre IG, Kobayashi K, Matsuura E, Lopez LR : Oxidized low-density lipoprotein/ β 2-glycoprotein I complexes and autoantibodies to oxLig-1/ β 2-glycoprotein I in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Am J Clin Pathol* (2004) 121, 426-436.
 - 14) Tabuchi M, Inoue K, Usui-Kataoka H, Kobayashi K, Teramoto M, Takasugi K, Shikata K, Yamamura M, Ando K, Nishida K, Kasahara J, Kume N, et al. : The association of C-reactive protein with an oxidative metabolite of LDL and its implication in atherosclerosis. *J Lipid Res* (2007) 48, 768-781.
 - 15) Kobayashi K, Tada K, Itabe H, Ueno T, Liu PH, Tsutsumi A, Kuwana M, Yasuda T, Shoenfeld Y, de Groot PG, Matsuura E : Distinguished effects of antiphospholipid antibodies and anti-oxidized LDL antibodies on oxidized LDL uptake by macrophages. *Lupus* (2007) 16, 929-938.
 - 16) Kajiwaru T, Yasuda T, and Matsuura E : Intracellular trafficking of β 2-glycoprotein I complexes with lipid vesicles in macrophages : Implications on the development of antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun* (2007) 29, 164-173.
 - 17) Yamaguchi Y, Seta N, Kaburaki J, Kobayashi K, Matsuura E, Kuwana M : Excessive exposure to anionic surfaces maintains autoantibody response to β 2-glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome. *Blood* (2007) 110, 4312-4318.
 - 18) Okada T, Ayada K, Usui S, Yokota K, Cui J, Kawahara Y, Inaba T, Hirohata S, Mizuno M, Yamamoto D, Kusachi S, Matsuura E, et al. : Antibodies against heat shock protein 60 derived from *Helicobacter pylori* : diagnostic implications in cardiovascular disease. *J Autoimmun* (2007) 29, 106-115.
 - 19) Ayada K, Yokota K, Kobayashi K, Shoenfeld Y, Matsuura E, Oguma K : Chronic infections and atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci* (2007) 1108, 594-602.
 - 20) Ayada K, Yokota K, Hirai K, Fujimoto K, Kobayashi K, Ogawa H, Hatanaka K, Hirohata S, Yoshino T, Shoenfeld Y, Matsuura E, Oguma K : Regulation of cellular immunity prevents *Helicobacter pylori*-induced atherosclerosis. *Lupus* (2009) 18, 1154-1168.
 - 21) Matsuura E, Lopez LR, Shoenfeld Y, Ames PR : β 2-glycoprotein I and oxidative inflammation in early atherogenesis : A progression from innate to adaptive immunity? *Autoimmun Rev* (2012) 12, 241-249.
 - 22) Matsuura E, Kobayashi K, Matsunami Y, Lopez LR : The immunology of atherothrombosis in the antiphospholipid syndrome : antigen presentation and lipid intracellular accumulation. *Autoimmunity Rev* (2009) 8, 500-505.
 - 23) Greco TP, Conti-Kelly AM, Greco T Jr, Doyle R, Matsuura E, Anthony JR, Lopez LR : Newer antiphospholipid antibodies predict adverse outcomes in patients with acute coronary syndrome. *Am J Clin Pathol* (2009) 132, 613-620.
 - 24) Greco TP, Conti-Kelly AM, Anthony JR, Greco T Jr, Doyle R, Boisen M, Kojima K, Matsuura E, Lopez LR : Oxidized-LDL/ β 2-glycoprotein I complexes are associated with disease severity and increased risk of adverse outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Am J Clin Pathol* (2010) 133, 737-743.
 - 25) Huang Z, Li W, Wang R, Zhang F, Chi Y, Wang D, Liu Z, Zhang Y, Matsuura E, Liu Q : 7-ketocholesteryl-9-carboxynonanoate induced nuclear factor-kappa B activation in J774A.1 macrophages. *Life Sci* (2010) 87, 651-657.
 - 26) Shen L, Matsunami Y, Quan N, Kobayashi K, Matsuura E, Oguma K : *In vivo* oxidation, platelet activation and simultaneous occurrence of natural immunity in atherosclerosis-prone mice. *Isr Med Assoc J* (2011) 13, 278-283.
 - 27) Zhang Y, Li W, Chi Y, Wang R, Wang D, Zhang F, Liu Z, Matsuura E, Liu Q : Recombinant domain V of β 2-glycoprotein I inhibits the formation of a 7-ketocholesteryl-9-carboxynonanoate and β 2-glycoprotein I complex. *J Biochem* (2011) 149, 35-42.
 - 28) Li W, Wang D, Chi Y, Wang R, Zhang F, Ma G, Chen Z, Li J, Liu Z, Matsuura E, Liu Q : 7-Ketocholesteryl-9-carboxynonanoate enhances the expression of ATP-binding cassette transporter A1 via CD36. *Atherosclerosis* (2013) 226, 102-109.