

## 動脈硬化進展の鍵分子プロテオグリカン：その特性及び合成調節

浦野晶子,<sup>a</sup> 山本千夏,<sup>a,b</sup> 藤原泰之,<sup>a,c</sup> 鍛冶利幸<sup>\*,a,b</sup>**Proteoglycan as a Key Molecule in Atherosclerosis Progression: Characteristics of the Structure and Regulation of the Synthesis**Akiko URANO,<sup>a</sup> Chika YAMAMOTO,<sup>a,b</sup> Yasuyuki FUJIWARA,<sup>a,c</sup> and Toshiyuki KAJI<sup>\*,a,b</sup><sup>a</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokuriku University, <sup>b</sup>Organization of Frontier Research, Hokuriku University, Ho-3 Kanagawa-machi, Kanazawa City 920-1181, Japan and<sup>c</sup>School of Pharmacy, Aichi Gakuin University, 1-100 Kusumoto-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8650, Japan

(Received October 15, 2007)

Proteoglycans are macromolecules comprising a core protein and one or more glycosaminoglycan side chains. The macromolecules particularly derived from vascular smooth muscle cells accumulate in atherosclerotic vascular wall and are involved in the progression of vascular lesions. However, the functions of proteoglycans depend on the type of core proteins and microstructure of glycosaminoglycan chains, suggesting importance of the regulation of proteoglycan synthesis in vascular smooth muscle cells. Although the regulation of glycosaminoglycan chain formation is not clear, core protein synthesis is regulated by growth factors/cytokines, mechanical strain, coagulation factors, and other factors. Recently, we found that adiponectin, an adipose-specific plasma protein that exhibits antiatherogenic activities, regulates proteoglycan synthesis in vascular smooth muscle cells.

**Key words**—atherosclerosis; proteoglycan; vascular wall

**1. はじめに**

動脈硬化は、先進諸国における死亡率の上位を占める虚血性心疾患や脳血管疾患などの循環器疾患の基礎病変として重要である。動脈硬化の発生病理は単純ではないが、主に2つの仮説が提唱されている。すなわち、response-to-injury hypothesis<sup>1)</sup>とresponse-to-retention hypothesis<sup>2)</sup>である。Response-to-injury hypothesisによると、動脈硬化は血管内皮細胞の機能障害が重要であり、それに付随して血栓の形成や低密度リポタンパク (LDL) の蓄積とそれに伴うマクロファージの泡沫化などの血管壁の一連の反応によって病変は進展する。これに対し、response-to-retention-hypothesisによると、LDLの血管壁への蓄積が初期の重要な事象であり、これを発端として病変は進行するという。いずれにおいて

も、血管壁 (内皮下層) で LDL が酸化変性を受け、これによって LDL のマクロファージあるいは血管平滑筋細胞への取り込みが加速され、<sup>3,4)</sup>それによって発生するこれらの cell type の泡沫化が動脈硬化病変進展の主要な要因であるとされる。Response-to-injury hypothesis が病変進展の全体像を合理的に説明しているのに対し、response-to-retention hypothesis は初期病変の発症をうまく説明していると思われる。しかしながら、動脈硬化進展の分子機構についてはいまだ不明な点が多く、多様な観点から研究が行われている。本稿では、細胞外マトリックスの構成成分であり、動脈硬化進展の鍵分子とされるプロテオグリカン (PGs) に焦点を当て、その特性と合成調節について概説する。

**2. 動脈硬化進展における LDL 代謝と PGs**

動脈硬化病変の形態学的特徴は、脂質の蓄積、LDL を取り込んで泡沫化したマクロファージ、T-リンパ球などの血球成分の集積と血管平滑筋細胞の増生<sup>5)</sup>及び細胞外マトリックスの過剰な蓄積<sup>6,7)</sup>による血管内膜の肥厚である。内膜に存在する血管平滑

<sup>a</sup>北陸大学薬学部, <sup>b</sup>北陸大学学術フロンティア研究組織 (〒920-1181 金沢市金川町ホ-3), <sup>c</sup>愛知学院大学薬学部 (〒464-8650 名古屋市千種区楠本町 1-100)

\*e-mail: t-kaji@hokuriku-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第127年会シンポジウムSD4で発表したものを中心に記述したものである。

筋細胞はミトコンドリアや粗面小胞体などの細胞内小器官が発達した合成型であり、活発に細胞外マトリックス成分を合成・分泌している。<sup>8,9)</sup> PGs は、コアタンパク質と呼ばれるタンパク質骨格にグリコサミノグリカン (GAG) 糖鎖が共有結合した複合糖質であり、細胞外マトリックスの主要構成成分の1つである。血管組織においては、血管内皮細胞が主としてパルカン及びビグリカンを産生する<sup>10)</sup>のに対し、血管平滑筋細胞はパーシカンとビグリカン及びデコリンを主に産生しヘパラン硫酸 PGs (HSPGs) の産生量は少ない。<sup>11)</sup> パルカンは、約 400 kDa のコアタンパク質にヘパラン硫酸糖鎖をおおむね 3 本結合した HSPGs の大型分子種である。<sup>12)</sup> パーシカンは、約 500 kDa のコアタンパク質にコンドロイチン硫酸糖鎖を結合したコンドロイチン硫酸 PGs (CSPGs) の大型分子種であり、<sup>13)</sup> ビグリカン及びデコリンは相同性の高いロイシンリッチな約 40 kDa のコアタンパク質にビグリカンは 2 本、デコリンは 1 本のデルマタン硫酸糖鎖を結合したデルマタン硫酸 PGs (DSPGs) の小型分子種である (Fig. 1)。<sup>14-18)</sup>

動脈硬化血管壁においては、パルカンが初期には減少し進行に伴い増加するのに対し、パーシカン、ビグリカン及びデコリンは初期から後期に至る

まで高く蓄積する。<sup>19,20)</sup> これらの PG 分子種のうち、パーシカン及びビグリカンが脂質の蓄積などを通じて動脈硬化病変の進展を加速することが示されている。すなわち、病変部位に蓄積したこれらの PG 分子種のコンドロイチン/デルマタン硫酸糖鎖は LDL と高い親和性を示し、<sup>21)</sup> 内膜に浸潤してきた LDL と不溶性の複合体を形成し、<sup>22)</sup> 血管壁への LDL の沈着を促進する。<sup>23)</sup> PGs と結合した LDL は容易に酸化され、<sup>24)</sup> マクロファージによる取り込みが促進され、<sup>25)</sup> その結果、マクロファージの泡沫化が加速される。また、パーシカン及びビグリカンは血管平滑筋細胞の増殖を促進することも知られている。<sup>26,27)</sup> このように、パーシカン及びビグリカンは LDL の蓄積及び血管平滑筋細胞の増生という動脈硬化病変の重要なイベントに促進的に関与する。これに対し、デコリンは病変の進展に抑制的に働くことが示されている。例えば、動脈硬化病変部位で高い発現が認められるトランスフォーミング増殖因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) は細胞外マトリックスの蓄積増加などにより動脈硬化病変の進展に大きく関与するサイトカインであるが、<sup>28)</sup> デコリンのコアタンパク質は TGF- $\beta$  と結合してその活性を失活させる。<sup>29-31)</sup> 一方、デコリンのデルマタン硫酸糖鎖は、細胞の遊走抑制活性を示す<sup>32)</sup>だけでなく、トロンビン阻害因子

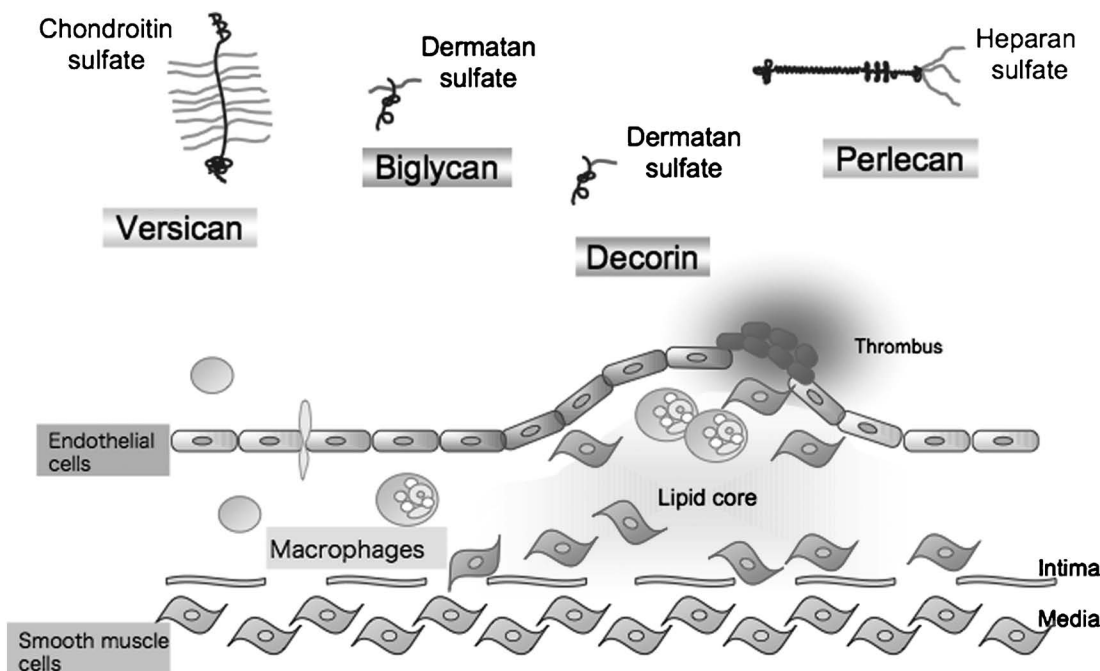


Fig. 1. Atherosclerosis and Proteoglycans

であるヘパリンコファクターIIを活性化<sup>33)</sup>する。動脈硬化と血液の凝固促進性が密接に関連していることは臨床的によく知られていることである。実際、血液凝固系の鍵酵素であるトロンピンは血栓形成に関与するだけでなく、血管平滑筋細胞を刺激してその増殖を促す。<sup>34)</sup>したがって、デコリンによるヘパリンコファクターIIの活性化は、トロンピン活性の阻害を通じて血管平滑筋細胞の増生の抑制につながる可能性がある。最近、動脈硬化モデルであるアポリポタンパク質E欠損マウスにおいてデコリンを過剰発現させたとき、動脈硬化病変の特徴である内膜肥厚が抑制されることが示されている<sup>35)</sup>ことは部分的にこの可能性を支持している。

### 3. 血管内皮及び平滑筋細胞におけるPG合成の調節

動脈硬化血管壁では病変の進展に伴って蓄積するPG分子種やGAG糖鎖の微細構造が多様に変化していく。<sup>19,20,36)</sup>このようなPGsの量的構造的変化は、主として血管平滑筋細胞のPG合成が動脈硬化病変部位で高く発現している細胞増殖因子/サイトカインなどによって調節される結果であると予想される。実験動物を用いてそのような調節を検討することは技術的に相当に困難であるため、培養細胞を使った検討が行われてきた。血小板由来増殖因子(PDGF)とTGF- $\beta$ は動脈硬化血管壁に高く発現している代表的な細胞増殖因子/サイトカインであるが、ともに血管平滑筋細胞においてパーシカンコア mRNA レベル及びパーシカンコアタンパク質合成を増加させ、そのコンドロイチン硫酸糖鎖を伸長させる。<sup>37)</sup>このとき、PDGFについては糖鎖の硫酸化パターンを変化させるといふ。また、PDGF及びTGF- $\beta$ はともにビグリカンコアタンパク質の合成を促進するが、その mRNA レベルはTGF- $\beta$ によって上昇するがPDGFによっては変化しない。PDGF及びTGF- $\beta$ はビグリカンのデルマタン硫酸糖鎖を伸長させる。その二糖組成については、PDGFによる硫酸化パターンの変化は認められるが、TGF- $\beta$ による変化は認められない。また、両者は血管平滑筋細胞におけるデコリンの合成には影響を及ぼさない。<sup>38)</sup>泡沫化したマクロファージが高く発現しているサイトカインであるインターロイキン-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) や腫瘍壊死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) も血管平滑筋細胞のPG合成を調節する。<sup>39,40)</sup>例えば、

IL-1 $\beta$ はパーシカンの合成を選択的に抑制する。筆者らは血液凝固因子トロンピンが血管平滑筋細胞のパーシカン合成を誘導することを明らかにし、<sup>41)</sup>動脈硬化進展と血液の凝固促進性の密接な関連が、トロンピンによる血管平滑筋細胞PG合成の調節を含むことを示唆した。

血管内皮細胞においても、TGF- $\beta$ ,<sup>42)</sup>結合組織増殖因子(CTGF),<sup>43)</sup>線維芽細胞増殖因子-2(FGF-2),<sup>44)</sup>TNF- $\alpha$ <sup>45)</sup>などの細胞増殖因子/サイトカインによるPG合成の調節が報告されている。このうち、TGF- $\beta$ は細胞密度が高い場合にはパーシカン及びビグリカンの合成を誘導し、ビグリカンについてはそのGAG糖鎖を伸長させる。細胞密度が低いときにはビグリカンの合成のみを誘導するが、GAG糖鎖の伸長は認められない。CTGFはTGF- $\beta$ の下流で発現し、TGF- $\beta$ の作用を介在しているとされる細胞増殖因子であるが、TGF- $\beta$ とは異なる様式—細胞密度が低い場合におけるビグリカン合成の抑制とデコリン合成の誘導—でPG合成を調節する。

このように、PG合成は細胞増殖因子/サイトカインなどによる調節を受けるが、その様式はcell typeによって異なるだけでなく、しばしば細胞密度に依存する。しかも、調節を受けるPG合成の過程は、コアタンパク質の合成、GAG糖鎖の伸長、及びGAG糖鎖の微細構造のそれぞれにおいて個別にしかも分子種毎に調節を受ける。動脈硬化血管壁におけるPGsの複雑な変化は、このようなPG合成の調節に起因すると考えられる。

### 4. 動脈硬化血管壁におけるPGs蓄積の意義 (Fig. 2)

動脈硬化血管壁に蓄積するPG分子種のうち、特に病変の進展に重要であると考えられているのは、パーシカン、ビグリカン及びデコリンである。このうち、特にパーシカン及びビグリカンがLDL代謝を通じて動脈硬化進展に重要であることは既に述べた。ここでは動脈硬化血管壁にPGが蓄積することの意義をLDL代謝以外の観点から整理したい。

パーシカンは一般的には約500 kDaのコアタンパク質にコンドロイチン硫酸糖鎖を多数結合したCSPGsの大型分子種であるとされるが、厳密にはオルタネイティブスプライシングによりV0, V1, V2及びV3の4つのバリエーションが存在する。<sup>46,47)</sup>血

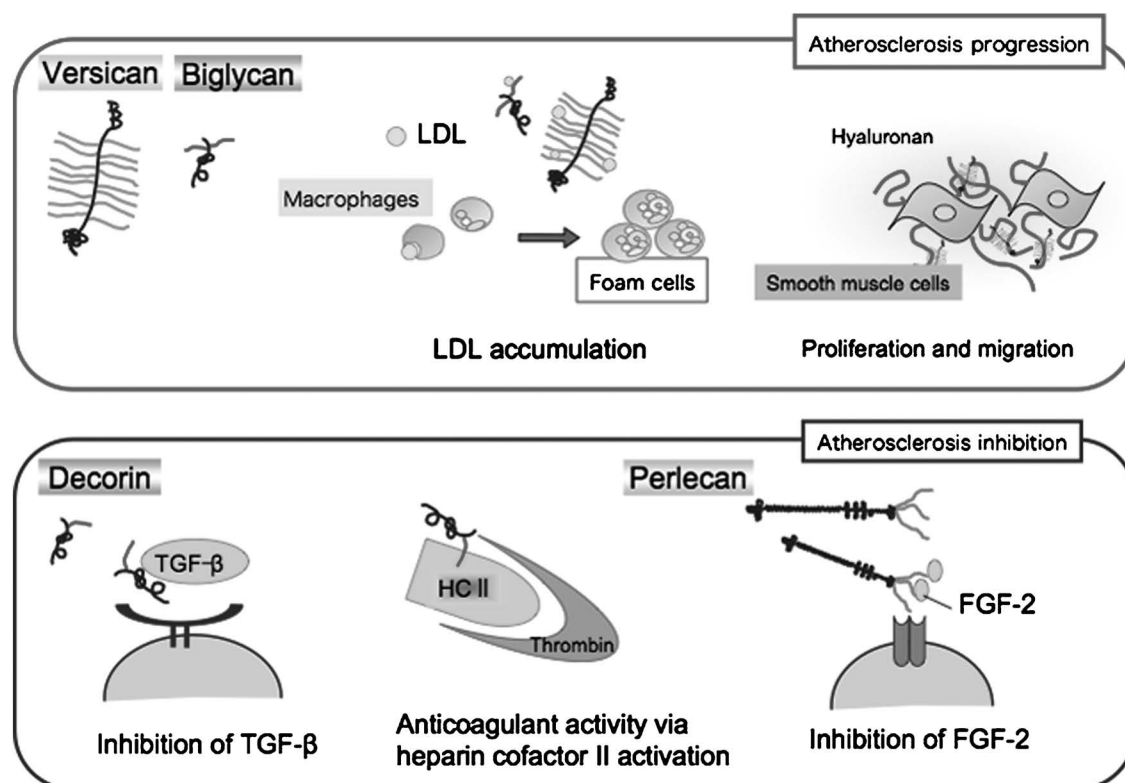


Fig. 2. Roles of Proteoglycans in Atherosclerosis Progression

管平滑筋細胞は、V0、V1 及び V3 を発現しているが、V2 の産生は認められない。<sup>48)</sup> それぞれのバリエーションは糖鎖結合領域の長さが異なるために結合しているコンドロイチン硫酸糖鎖の数が異なり、V3 には GAG 糖鎖が結合していない。バーシカンのコアタンパクはヒアルロン酸結合領域を持ち、<sup>48)</sup> ヒアルロン酸と巨大な集合体を形成する。<sup>49,50)</sup> この集合体によって細胞周囲に形成されたバーシカン-ヒアルロン酸リッチマトリックス（バーシカン V0/V1 バリエーション及びヒアルロン酸からなる）は血管平滑筋細胞の遊走や増殖に不可欠である。<sup>51)</sup> このことはバーシカン V0/V1 バリエーションの合成を誘導する因子、例えば前述の PDGF や TGF- $\beta$  などは、LDL 代謝だけでなく、バーシカン-ヒアルロン酸リッチマトリックスの過剰形成とそれに続く血管平滑筋細胞の遊走と増殖を通じて動脈硬化病変を進展させる因子であることが推察される。ビグリカンはこのような機能はないが、前述の通り、血管壁への LDL の蓄積を通じて動脈硬化進展に寄与する。

一方、パールカンのヘパリン硫酸糖鎖は細胞増殖因子 FGF-2 のスカベンジャーとして働くことによって血管平滑筋細胞の増殖を阻害し、<sup>52-54)</sup> 内膜肥厚

を抑制する<sup>55,56)</sup>とされる。また、パールカンは、トロンビンの生理的インヒビターの 1 つアンチトロンビン III の活性化を通じた血栓形成抑制などの作用も示す。<sup>57,58)</sup> パールカンのヘパリン硫酸糖鎖については、血管平滑筋細胞に対する FGF-2 の活性を増強している可能性も示唆されているが、<sup>59)</sup> 動脈硬化病変に対しては、特にその進展後期において抑制的に機能していると考えられている。

デコリンの抗動脈硬化作用<sup>35)</sup>のメカニズムには不明な点が多いが、以下の知見が報告されている。第 1 に、デコリンは細胞周期を負に制御し細胞増殖を抑制する因子である p21 及び p27 の発現を誘導することによってマクロファージの増殖及び分化を抑制する。<sup>60)</sup> 第 2 に、デコリンは、単球やマクロファージの表面に発現している EGF レセプターに作用することで単球の内膜への浸潤を抑制する。<sup>35,61,62)</sup> 第 3 に、デコリンは TGF- $\beta$ <sup>29-31)</sup> 及び PDGF<sup>63)</sup> の活性を阻害することを通じて、血管内膜の肥厚を抑制すると考えられる。第 4 に、デコリンは、ヘパリンコファクター II の活性化<sup>33)</sup>を通じて、血栓形成作用とは別に血管平滑筋細胞の増殖を促進する<sup>64)</sup> トロンビンを失活させる。デコリンとビ

グリカンは相同性の高いコアタンパク質にデルマトン硫酸糖鎖を結合した、構造的には類似性の高いPGsであるが、動脈硬化病変進展に関しては、デコリンは抑制的に、ビグリカンは促進的に働くとされる。その違いは、血管壁におけるデコリンとビグリカンの局在が異なるからだと思われる。すなわち、動脈硬化血管壁において、ビグリカンはマクロファージに隣接した血管平滑筋細胞の細胞外マトリックスに広く局在しているのに対し、デコリンはマクロファージが集積している場所にTGF- $\beta$ とともに分布している。<sup>20)</sup>

#### 5. 抗動脈硬化作用を示すアディポネクチン (Table 1) と血管平滑筋細胞のPGs

近年、動脈硬化病変の発症につながる病態としてメタボリックシンドロームが問題となっている。この病態は、エネルギー過剰の状態が続くことにより内臓肥満の増加やインスリン抵抗性を来し、その結果、耐糖能異常、脂質代謝異常、高血圧などの動脈硬化のリスクファクターが複合的に発生する状態である。最終的には動脈硬化が原因となり、虚血性心疾患や脳血管障害、閉塞性動脈硬化症などの重大な疾患につながる。<sup>65,66)</sup>メタボリックシンドロームが発症する背景には、高脂肪食や運動不足などエネルギー過剰となるような生活習慣があるが、病態の上流因子として重要なのが肥満、特に内臓脂肪型の肥満である。脂肪組織は従来エネルギーを貯蔵するための臓器と考えられてきたが、生理状況に応じて

種々の生理活性物質を分泌する内分泌器官としての機能も有することが分かってきた。この脂肪組織由来の生理活性物質を総称してアディポサイトカインと呼ぶ。アディポサイトカインにはアディポネクチンやレプチン、腫瘍壊死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター1型 (PAI-1)、ヘパリン結合性上皮増殖因子 (HB-EGF)、遊離脂肪酸などがあり、糖・脂質代謝、血管壁の恒常性維持などに重要な働きをしている。<sup>65,67)</sup>ところが、エネルギー過剰の状態が長期間続くことによって肥大化した内臓脂肪細胞では、アディポサイトカインの分泌異常、すなわち炎症性サイトカインTNF- $\alpha$ 、線溶を阻害して血栓形成作用を示すPAI-1及び血管平滑筋細胞の増殖を促進するHB-EGFなどの病変の進展に促進的に働くアディポサイトカインの分泌増加と、インスリン抵抗性改善作用を有するアディポネクチンなど病変の進展に抑制的に働くアディポサイトカインの分泌低下が並行して起こり、これによってメタボリックシンドロームが惹起されていく。<sup>68-71)</sup>現在では、メタボリックシンドロームの原因として特にアディポネクチンの発現抑制が病変の進行に重要であるとされている。<sup>72,73)</sup>実際、肥満や糖尿病、虚血性心疾患などにおいてアディポネクチンの血中レベルが減少していることや、<sup>74,75)</sup>低アディポネクチン血症がインスリン抵抗性や血管障害を引き起こすこと、<sup>76,77)</sup>また動物実験において、アディポネクチンがインスリン抵抗性を

Table 1. Activities of Adiponectin

|  |   |                                   |
|--|---|-----------------------------------|
| Liver                                      | } | Improvement of insulin resistance |
| Inhibition of gluconeogenesis              |   |                                   |
| Promotion of fat metabolism                |   |                                   |
| Skeletal muscle                            |   |                                   |
| Activation of glucose uptake               | } | Antiatherogenic effects           |
| Promotion of fat metabolism                |   |                                   |
| Pancreas $\beta$ cells                     | } | Antiatherogenic effects           |
| Insulin secretion                          |   |                                   |
| Vascular tissue                            | } | Antiatherogenic effects           |
| Inhibition of intimal expansion            |   |                                   |
| Vascular endothelial cells                 | } | Antiatherogenic effects           |
| Inhibition of adhesion molecule expression |   |                                   |
| Production of nitric oxide                 | } | Antiatherogenic effects           |
| Vascular smooth muscle cell                |   |                                   |
| Inhibition of migration and proliferation  | } | Antiatherogenic effects           |
| Macrophages                                |   |                                   |
| Inhibition of foam cell formation          | } | Antiatherogenic effects           |
|  |   |                                   |

改善することが報告されている。<sup>78)</sup>

アディポネクチンは脂肪組織で高く発現が認められるアディポサイトカインの1つで、N末端にコラーゲン様ドメイン、C末端に補体様ドメインを持つ分泌タンパク質である。<sup>79-82)</sup> アディポネクチンには2つの受容体、AdipoR1及びAdipoR2が存在するが、AdipoR1が骨格筋をはじめ多くの組織で発現が認められるのに対し、AdipoR2は肝臓に豊富に発現し、血管にはAdipoR1/R2の両方が発現している。<sup>83)</sup>

血管組織においては、アディポネクチンは血管壁に対し直接的な抗動脈硬化作用を示すことが報告されている。<sup>84)</sup> すなわち、血管内皮細胞に対しては接着分子の発現抑制<sup>85)</sup>や一酸化窒素(NO)の産生促進、<sup>86)</sup> 血管平滑筋細胞に対してはHB-EGF、PDGF、塩基性線維芽細胞増殖因子等の増殖因子により誘導される細胞増殖の抑制、<sup>87,88)</sup> マクロファージに対してはスカベンジャー受容体発現抑制を介した泡沫化抑制<sup>89)</sup>などによって、脂質プラークの形成抑制や新生内膜の肥厚抑制などの抗動脈硬化作用を示す。<sup>90,91)</sup> さらに、アディポネクチンの抗動脈硬化作用には、脂肪組織やマクロファージにおけるTNF- $\alpha$ の分泌・発現の抑制や血小板凝集・血栓形成の抑制<sup>92)</sup>などの間接的な作用も含まれる。このように、アディポネクチンは多様な作用によって動脈硬化に対し防御的に働く。

最近、筆者らはアディポネクチンが血管平滑筋細胞のPG合成を調節することを見出ししている。すなわち、アディポネクチンに曝露した培養ヒト冠動脈平滑筋細胞では、細胞層と培地へのPGsの蓄積が有意に増加しており、特に培地で顕著な増加が観察された。このことは、アディポネクチンが血管平滑筋細胞に作用して培地へ分泌されるタイプのPGsの合成を促進したことを示唆している。アディポネクチンのこの作用はFGF-2、HB-EGF、PDGF-BB、TNF- $\alpha$ 及びTGF- $\beta$ の作用とおおむね相加的に起こった(Fig. 3)ので、アディポネクチンの作用はこれらの細胞増殖因子/サイトカインを介したのではないことが示唆された。そこで次に、アディポネクチンによって合成が促進されるPG分子種についての検討を行った。<sup>[35S]</sup>硫酸で代謝標識したPGsを培地から抽出し、SDS-PAGEによって分離したところ、分子量約85-130 kDaの位

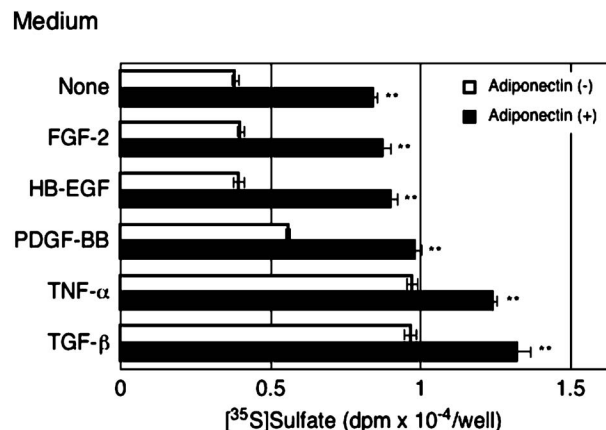


Fig. 3. Incorporation of <sup>[35S]</sup>Sulfate into GAGs Accumulated in the Conditioned Medium of Dense Cultures of Human Coronary Artery Smooth Muscle Cells after Treatment with Adiponectin (30  $\mu$ g/ml) and/or FGF-2 (100 ng/ml), HB-EGF (50 ng/ml), PDGF-BB (10 ng/ml), TNF- $\alpha$  (5 ng/ml), or TGF- $\beta$  (10 ng/ml) for 48 h

Values are means  $\pm$  S.E. of four samples. \*\*Significantly different from the corresponding control,  $p < 0.01$ .

### Medium

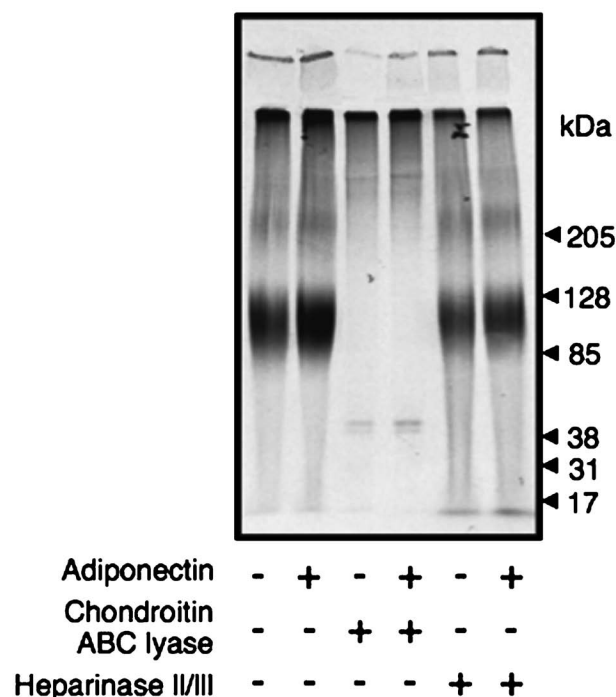


Fig. 4. SDS-polyacrylamide Gel Electrophoresis of <sup>[35S]</sup>Sulfate-Labeled GAGs Extracted from the Conditioned Medium of Dense Human Coronary Artery Smooth Muscle Cells after Treatment with Adiponectin (30  $\mu$ g/ml) for 48 h

置にプロテオグリカン特有のブロードなバンドが観察され、その放射活性はアディポネクチンによって増加していた(Fig. 4)。このバンドはコンドロイ

チン ABC リアーゼに対して感受性であるがヘパリナーゼ II/III に対しては抵抗性であったこと、及びそのバンドの位置から DSPGs の小型分子種デコリンであることが推察され、実際に Western Blot 分析でそれを確認した。血管平滑筋細胞が発現している PGs の主要分子種について、そのコアタンパク質 mRNA レベルをリアルタイム RT-PCR で検討したところ、デコリンコアタンパク質の mRNA レベルの上昇も観察された (Fig. 5)。このとき、HSPGs の大型分子種パルカンのコアタンパク質 mRNA のレベルも上昇していたが、タンパク質レベルでの増加は認められなかった。興味深いことに、デコリン/ビグリカンのデルマタン硫酸糖鎖を蛍光標識糖鎖電気泳動分析で解析したところ、アデ

ィポネクチンによってグルクロン酸を含む二糖単位の割合が増加し、逆にイズロン酸を含む二糖単位の割合が減少していた (Table 2)。このことは、アディポネクチンに曝露した血管平滑筋細胞では、デルマタン硫酸糖鎖の形成過程でグルクロン酸からイズロン酸へのエピマー化が阻害されていることを示唆している。しかしながら、硫酸化に対するアディポネクチンの作用は認められなかった。デルマタン硫酸糖鎖の微細構造の変化の意義はよく分からないが、この検討の結果は、アディポネクチンの抗動脈硬化作用のメカニズムが血管平滑筋細胞のデコリン合成の誘導を含むことを示唆している。

## 6. おわりに

以上、動脈硬化病変進展に係わる PGs の特性と

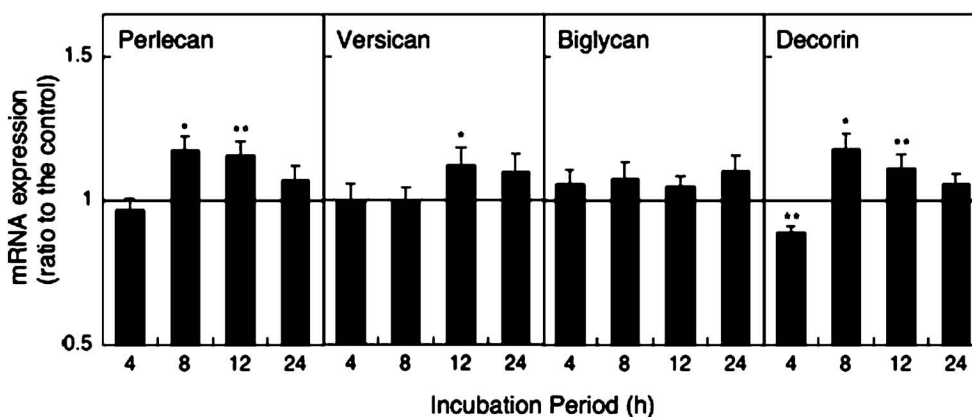


Fig. 5. Real-time RT-PCR of Perlecan, Versican, Biglycan, and Decorin mRNA in Vascular Smooth Muscle Cells after Treatment with Adiponectin

Human coronary artery smooth muscle cells were incubated at 37°C for 4, 8, 12, or 24 h in the presence or absence of adiponectin (30 µg/ml). Values are means ± S.E. of three samples. Significantly different from the corresponding control, \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ .

Table 2. Disaccharide Composition of Dermatan Sulfate of Biglycan/Decorin

|                      | Disaccharides (pmol/cm <sup>2</sup> ) |                      |
|----------------------|---------------------------------------|----------------------|
|                      | Control                               | Adiponectin          |
| GlcA-GalNAc          | 0.72 ± 0.36 ( 0.4)                    | 3.27 ± 0.73 ( 1.9)   |
| GlcA-GalNAc (6S)     | 12.13 ± 0.47 ( 7.0)                   | 15.82 ± 0.01 ( 9.0)  |
| GlcA-GalNAc (4S)     | 123.64 ± 2.86 (71.8)                  | 147.17 ± 2.07 (83.3) |
| GlcA-GalNAc (4S, 6S) | 1.39 ± 0.06 ( 0.8)                    | 2.32 ± 0.50 ( 1.3)   |
| IdoA-GalNAc          | 1.26 ± 0.13 ( 0.7)                    | N.D. (0)             |
| IdoA-GalNAc (6S)     | 1.27 ± 1.31 ( 0.7)                    | N.D. (0)             |
| IdoA-GalNAc (4S)     | 26.91 ± 2.76 (15.6)                   | 4.07 ± 3.41 ( 2.3)   |
| IdoA-GalNAc (4S, 6S) | 5.22 ± 0.15 ( 3.0)                    | 3.84 ± 0.99 ( 2.2)   |

Human coronary artery smooth muscle cells were treated with adiponectin (30 µg/ml) for 48 h. The disaccharide composition of dermatan sulfate chains bound to the biglycan/ decorin fraction in the conditioned medium, which was obtained by Sepharose CL-4B molecular sieve chromatography, was analyzed by fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis analysis.

合成調節を筆者らの研究成果を含めながら概説した。PGsは動脈硬化進展の鍵分子であり、その代謝調節の解明は、動脈硬化病変の理解に不可欠である。研究の活発な展開を期待する。

#### REFERENCES

- 1) Ross R., *Nature*, **362**, 801–809 (1993).
- 2) Williams K. J., Tabas I., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **15**, 551–561 (1995).
- 3) Henriksen T., Mahoney E. M., Steinberg D., *Arteriosclerosis*, **3**, 149–159 (1983).
- 4) Steinbrecher U. P., Parthasarathy S., Leake D. S., Witztum J. L., Steinberg D., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **81**, 3883–3887 (1984).
- 5) Jonasson L., Holm J., Skalli O., Bondjers G., Hansson G.K., *Arteriosclerosis*, **6**, 131–138 (1986).
- 6) Grundy S. M., *Dis. Mon.*, **29**, 1–58 (1983).
- 7) Wight T. N., *Arteriosclerosis*, **9**, 1–20 (1989).
- 8) Wight T. N., Ross R., *J. Cell Biol.*, **67**, 675–686 (1975).
- 9) Mayne R., *Arteriosclerosis*, **6**, 585–593 (1986).
- 10) Yamamoto C., Xingyun D., Fujiwara Y., Kaji T., *J. Health Sci.*, **51**, 576–583 (2005).
- 11) Wight T. N., *Fed. Proc.*, **44**, 381–385 (1985).
- 12) Saku T., Furthmayr H., *J. Biol. Chem.*, **264**, 3514–3523 (1989).
- 13) Morita H., Takeuchi T., Suzuki S., Maeda K., Yamada K., Eguchi G., Kimata K., *Biochem. J.*, **265**, 61–68 (1990).
- 14) Choi H. U., Johnson T. L., Pal S., Tang L. H., Rosenberg L., Neame P. J., *J. Biol. Chem.*, **264**, 2876–2884 (1989).
- 15) Fisher L. W., Termine J. D., Young M. F., *J. Biol. Chem.*, **264**, 4571–4576 (1989).
- 16) Krusius T., Ruoslahti E., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **83**, 7683–7687 (1986).
- 17) Neame P. J., Choi H. U., *J. Biol. Chem.*, **264**, 8653–8661 (1989).
- 18) Roughley P. J., White R. J., *Biochem. J.*, **262**, 823–827 (1989).
- 19) Wight T. N., *Curr. Opin. Lipidol.*, **6**, 326–334 (1995).
- 20) Evanko S. P., Raines E. W., Ross R., Gold L. I., Wight T. N., *Am. J. Pathol.*, **152**, 533–546 (1998).
- 21) Steele R. H., Wagner W. D., Rowe H. A., Edwards I. J., *Atherosclerosis*, **65**, 51–62 (1987).
- 22) Camejo G., Lalaguna F., Lopez F., Starosta R., *Atherosclerosis*, **35**, 307–320 (1980).
- 23) Galis Z. S., Alavi M. Z., Moore S., *Am. J. Pathol.*, **142**, 1432–1438 (1993).
- 24) Hurt-Camejo E., Camejo G., Rosengren B., Lopez F., Ahlstrom C., Fager G., Bondjers G., *Arterioscler. Thromb.*, **12**, 569–583 (1992).
- 25) Salisbury B. G., Falcone D. J., Minick C. R., *Am. J. Pathol.*, **120**, 6–11 (1985).
- 26) Wight T. N., *Curr. Opin. Cell Biol.*, **14**, 617–623 (2002).
- 27) Shimizu-Hirota R., Sasamura H., Kuroda M., Kobayashi E., Hayashi M., Saruta T., *Circ. Res.*, **94**, 1067–1074 (2004).
- 28) Sporn M. B., Roberts A. B., Wakefield L. M., de Crombrughe B., *J. Cell Biol.*, **105**, 1039–1045 (1987).
- 29) Yamaguchi Y., Ruoslahti E., *Nature*, **336**, 244–246 (1988).
- 30) Yamaguchi Y., Mann D. M., Ruoslahti E., *Nature*, **346**, 281–284 (1990).
- 31) Hildebrand A., Romaris M., Rasmussen L. M., Heinegard D., Twardzik D. R., Border W. A., Ruoslahti E., *Biochem. J.*, **302**, 527–534 (1994).
- 32) Merle B., Durussel L., Delmas P. D., Clezardin P., *J. Cell. Biochem.*, **75**, 538–546 (1999).
- 33) Whinna H. C., Choi H. U., Rosenberg L. C., Church F. C., *J. Biol. Chem.*, **268**, 3920–3924 (1993).
- 34) MaNamara C. A., Sarembock I. J., Gimple L. W., Fenton II J. W., Coughlin S. R., Owens G. K., *J. Clin. Invest.*, **91**, 94–98 (1993).
- 35) Al Haj Zen A., Caligiuri G., Sainz J., Lemitre M., Demerens C., Lafont A., *Atherosclerosis*, **187**, 31–39 (2006).
- 36) Shirk R. A., Parthasarathy N., San Antonio J. D., Church F. C., Wagner W.D., *J. Biol. Chem.*, **275**, 18085–18092 (2000).
- 37) Schönherr E., Järveläinen H. T., Sandell L. J., Wight T. N., *J. Biol. Chem.*, **266**, 17640–17647 (1991).
- 38) Schönherr E., Järveläinen H. T., Kinsella M. G., Sandell L. J., Wight T. N., *Arterioscler. Thromb.*, **13**, 1026–1036 (1993).



- 39) Lemire J. M., Chan C. K., Bressler S., Miller J., LeBaron R. G., Wight T. N., *J. Cell. Biochem.*, **101**, 753–766 (2007).
- 40) Kaji T., Hiraga S., Yamamoto C., Sakamoto M., Nakashima Y., Sueishi K., Koizumi F., *Biochim. Biophys. Acta*, **1176**, 20–26 (1993).
- 41) Yamamoto C., Wakata T., Fujiwara Y., Kaji T., *Biochim. Biophys. Acta*, **1722**, 92–102 (2005).
- 42) Kaji T., Yamada A., Miyajima S., Yamamoto C., Fujiwara Y., Wight T. N., Kinsella M. G., *J. Biol. Chem.*, **275**, 1463–1470 (2000).
- 43) Kaji T., Yamamoto C., Oh-i M., Nishida M., Takigawa M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **322**, 22–28 (2004).
- 44) Kinsella M. G., Tsoi C. K., Järveläinen H.T., Wight T.N., *J. Biol. Chem.*, **272**, 318–325 (1997).
- 45) Ramasamy S., Lipke D. W., McClain C. J., Hennig B., *J. Cell. Physiol.*, **162**, 119–126 (1995).
- 46) Naso M. F., Zimmermann D. R., Izzo R. V., *J. Biol. Chem.*, **269**, 32999–33008 (1994).
- 47) Shinomura T., Zako M., Ito K., Ujita M., Kimata K., *J. Biol. Chem.*, **270**, 10328–10333 (1995).
- 48) Lemire J. M., Braun K. R., Maurel P., Kaplan E. D., Schwartz S. M., Wight T. N., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **19**, 1630–1639 (1999).
- 49) Chang Y., Yanagishita M., Hascall V. C., Wight T. N., *J. Biol. Chem.*, **258**, 5679–5688 (1983).
- 50) Matsumoto K., Shionyu M., Go M., Shimizu K., Shinomura T., Kimata K., Watanabe H., *J. Biol. Chem.*, **278**, 41205–41212 (2003).
- 51) Evanko S. P., Angello J. C., Wight T. N., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **19**, 1004–1013 (1999).
- 52) Nugent M. A., Karnovsky M. J., Edelman E. R., *Circ. Res.*, **73**, 1051–1060 (1993).
- 53) Kinsella M. G., Tran P. K., Weiser-Evans M. C., Reidy M., Majack R. A., Wight T. N., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **23**, 608–614 (2003).
- 54) Lundmark K., Tran P. K., Kinsella M. G., Clowes A. W., Wight T. N., Hedin U., *J. Cell. Physiol.*, **188**, 67–74 (2001).
- 55) Benitz W. E., Kelley R.T., Anderson C. M., Lorant D. E., Bernfield M., *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **2**, 13–24 (1990).
- 56) Bingley J. A., Hayward I.P., Campbell J. H., Campbell G. R., *J. Vasc. Surg.*, **28**, 308–318 (1998).
- 57) Marcum J. A., Rosenberg R. D., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **126**, 365–372 (1985).
- 58) Nugent M. A., Nugent H.M., Iozzo R. V., Sanchack K., Edelman E. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 6722–6727 (2000).
- 59) Kinsella M.G., Irvin C., Reidy M. A., Wight T. N., *Atherosclerosis*, **175**, 51–57 (2004).
- 60) Xaus J., Comalada M., Villedor A. F., Celada A., *Blood*, **98**, 2124–2133 (2001).
- 61) Santra M., Reed C. C., Iozzo R. V., *J. Biol. Chem.*, **277**, 35671–35681 (2002).
- 62) Lamb D. J., Modjtahedi H., Plant N. J., Ferns G. A. A., *Atherosclerosis*, **176**, 21–26 (2004).
- 63) Nili N., Cheema A. N., Giordano F. J., Barolet A. W., Babaei S., Hickey R., Eskandarian M. R., Smeets M., Butany J., Pasterkamp G., Strauss B. H., *Am. J. Pathol.*, **163**, 869–878 (2003).
- 64) Pakala R., Liang C. T., Benedict C. R., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **37**, 619–629 (2001).
- 65) Matsuzawa Y., *Diabetes Metab. Rev.*, **13**, 3–13 (1997).
- 66) Kadowaki T., Yamauchi T., Kubota N., Hara K., Ueki K., Tobe K., *J. Clin. Invest.*, **116**, 1784–1792 (2006).
- 67) Funahashi T., Nakamura T., Shimomura Y., Maeda K., Kuriyama H., Takahashi M., Arita Y., Kihara S., Matsuzawa Y., *Int. Med.*, **38**, 202–206 (1999).
- 68) Shimomura I., Funahashi T., Takahashi M., Maeda K., Kotani K., Nakamura T., Yamashita S., Miura M., Fukuda Y., Takemura K., Tokunaga K., Matsuzawa Y., *Nat. Med.*, **2**, 800–803 (1996).
- 69) Yamauchi T., Kamon J., Waki H., Murakami K., Motojima K., Komeda K., Ide T., Kubota N., Terauchi Y., Tobe K., Miki H., Tsuchida A., Akanuma Y., Nagai R., Kimura S., Kadowaki T., *J. Biol. Chem.*, **276**, 41245–41254 (2001).
- 70) Matsumoto S., Kishida K., Shimomura I., Maeda N., Nagaretani H., Matsuda M.,

- Nishizawa H., Kihara S., Funahashi T., Matsuzawa Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **292**, 781–786 (2002).
- 71) Matsuzawa Y., *FEBS Lett.*, **580**, 2917–2921 (2006).
- 72) Kadowaki T., Yamauchi T., *Endocr. Rev.*, **26**, 439–451 (2005).
- 73) Trujillo M. E., Scherer P. E., *J. Intern. Med.*, **257**, 167–175 (2005).
- 74) Arita Y., Kihara S., Ouchi N., Takahashi M., Maeda K., Miyagawa J., Hotta K., Shimomura I., Nakamura T., Miyaoka K., Kuriyama H., Nishida M., Yamashita S., Okubo K., Matsubara K., Muraguchi M., Ohmoto Y., Funahashi T., Matsuzawa Y., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **257**, 79–83 (1999).
- 75) Hotta K., Funahashi T., Arita Y., Takahashi M., Matsuda M., Okamoto Y., Iwahashi H., Kuriyama H., Ouchi N., Maeda K., Nishida M., Kihara S., Sakai N., Nakajima T., Hasegawa K., Muraguchi M., Ohmoto Y., Nakamura T., Yamashita S., Hanafusa T., Matsuzawa Y., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **20**, 1595–1599 (2000).
- 76) Ouchi N., Ohishi M., Kihara S., Funahashi T., Nakamura T., Nagaretani H., Kumada M., Ohashi K., Okamoto Y., Nishizawa H., Kishida K., Maeda N., Nagasawa A., Kobayashi H., *Hypertension*, **42**, 231–234 (2003).
- 77) Kumada M., Kihara S., Sumitsuji S., Kawamoto T., Matsumoto S., Ouchi N., Arita Y., Okamoto Y., Shimomura I., Hiraoka H., Nakamura Y., Funahashi T., Matsuzawa Y., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **23**, 85–89 (2003).
- 78) Yamauchi T., Kamon J., Waki H., Terauchi Y., Kubota N., Hara K., Mori Y., Ide T., Murakami K., Tsuboyama-Kasaoka N., Ezaki O., Akanuma Y., Gavrilova O., Vinson C., Reitman M. L., Kagechika H., Shudo K., Yoda M., Nakano Y., Tobe K., Nagai R., Kimura S., Tomita M., Froguel P., Kadowaki T., *Nat. Med.*, **7**, 941–946 (2001).
- 79) Scherer P. E., Williams S., Fogloano M., Baldini G., Lodish H. F., *J. Biol. Chem.*, **270**, 26746–26749 (1995).
- 80) Maeda K., Okubo K., Shimomura I., Funahashi T., Matsuzawa Y., Matsubara K., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **221**, 286–289 (1996).
- 81) Hu E., Liang P., Spiegelman B. M., *J. Biol. Chem.*, **271**, 10697–10703 (1996).
- 82) Nakano Y., Tobe T., Choi-Miura N. H., Mazda T., Tomita M., *J. Biochem. (Tokyo)*, **120**, 803–812 (1996).
- 83) Yamauchi T., Kamon J., Ito Y., Tsuchida A., Yokomizo T., Kita S., Sugiyama T., Miyagishi M., Hara K., Tsunoda M., Murakami K., Ohteki T., Uchida S., Takekawa S., Waki H., Tsuno N. H., Shibata Y., Terauchi Y., Froguel P., Tobe K., Koyasu S., Taira K., Kitamura T., Shimizu T., Nagai R., Kadowaki T., *Nature*, **423**, 762–769 (2003).
- 84) Shimada K., Miyazaki T., Daida H., *Clin. Chim. Acta*, **344**, 1–12 (2004).
- 85) Ouchi N., Kihara S., Arita Y., Maeda K., Kuriyama H., Okamoto Y., Hotta K., Nishida M., Takahashi M., Nakamura T., Yamashita S., Funahashi T., Matsuzawa Y., *Circulation*, **100**, 2473–2476 (1999).
- 86) Chen H., Montagnani M., Funahashi T., Shimomura I., Quon M. J., *J. Biol. Chem.*, **278**, 45021–45026 (2003).
- 87) Arita Y., Kihara S., Ouchi N., Maeda K., Kuriyama H., Okamoto Y., Kumada M., Hotta K., Nishida M., Takahashi M., Nakamura T., Shimomura I., Muraguchi M., Ohmoto Y., Funahashi T., Matsuzawa Y., *Circulation*, **105**, 2893–2898 (2002).
- 88) Matsuda M., Shimomura I., Sata M., Arita Y., Nishida M., Maeda N., Kumada M., Okamoto Y., Nagaretani H., Nishizawa H., Kishida K., Komuro R., Ouchi N., Kihara S., Nagai R., Funahashi T., Matsuzawa Y., *J. Biol. Chem.*, **277**, 37487–37491 (2002).
- 89) Yamauchi T., Kamon J., Waki H., Imai Y., Shimozawa N., Hioki K., Uchida S., Ito Y., Takakuwa K., Matsui J., Takata M., Eto K., Terauchi Y., Komeda K., Tsunoda M., Murakami K., Ohnishi Y., Naitoh T., Yamamura K., Ueyama Y., Froguel P., Kimura S., Nagai R., Kadowaki T., *J. Biol. Chem.*, **278**, 2461–2468 (2003).
- 90) Kubota N., Terauchi Y., Yamauchi T., Kubota T., Moroi M., Matsui J., Eto K., Yamashita T., Kamon J., Satoh H., Yano W., Froguel

- P., Nagai R., Kimura S., Kadowaki T., Noda T., *J. Biol. Chem.*, **277**, 25863–25866 (2002).
- 91) Okamoto Y., Kihara S., Ouchi N., Nishida M., Arita Y., Kumada M., Ohashi K., Sakai N., Shimomura I., Kobayashi H., Terasaka N., Inaba T., Funahashi T., Matsuzawa Y., *Circulation*, **106**, 2767–2770 (2002).
- 92) Kato H., Kashiwagi H., Shiraga M., Tadokoro S., Kamae T., Ujiie H., Honda S., Miyata S., Ijiri Y., Yamamoto J., Maeda N., Funahashi T., Kurata Y., Shimomura I., Tomiyama Y., Kanakura Y., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **26**, 224–230 (2006).