

血管壁の炎症制御による冠動脈硬化症治療の基礎的研究

所属機関 順天堂大学医学部循環器内科
研究者名 代田 浩之

《研究の概要》

わが国における人口の急速な高齢化や生活習慣の変化は、冠動脈疾患を代表とする動脈硬化性疾患の著しい増加をもたらし、その治療と予防法の確立が急務である。本研究は、血管壁の炎症制御という新たなアプローチにより、冠動脈硬化症の発症・進展機構を解明し、これからの診断や治療への応用を検討するものである。本研究では、動脈硬化症の発症や進展における、①単球・マクロファージ・好中球による自然免疫の関与と細胞内分子機構の解析、②リンパ球による獲得免疫の関与とその分化・活性化機序、③血小板活性化における FcR γ 鎖の関与とそのメカニズム、④免疫応答に関連する遺伝的背景、⑤血管壁の炎症における骨髄細胞の関与、⑥新たな治療法の確立・応用のための動物モデルによる検討を行うことを目的とした。

自然免疫の検討：好中球が産生する殺菌ペプチドは、炎症や感染刺激により誘導されその活性化には NF κ B が関与すること、免疫担当細胞の遊走能を有することを報告した。殺菌ペプチド CAP11 は、LPS による好中球アポトーシスを誘導し、好中球や単球の炎症性サイトカイン産生やその LPS 結合を抑制した。単球・マクロファージ系細胞において、クラミジア LPS は弱いながらも LBP および CD14 依存的に活性化することを明らかにした。獲得免疫の検討：急性冠症候群では、Th1 サイトカインが高値で Th2 サイトカインが低下し Th1 側にバランスシフトしていることを見出した。スタチンは、この Th1/Th2 バランス不均衡を Th2 側に是正する免疫調節機能を有すること、その積極的な早期投与は有意に冠動脈病変の退縮をもたらすことを報告した。血小板活性化における FcR γ 鎖の役割：FcR γ 鎖ノックアウトマウスの大腿動脈障害モデルでは、野生型に比べ新生内膜増殖は有意に抑制されていた。血管障害後のコラーゲンによる血小板接着低下がその機序として示唆された。免疫応答に関連する遺伝的背景の検討：本邦における TLR4 遺伝子多型頻度は、欧米と比較しきわめて低い傾向を認めた。CD14C-260T 多型は、心筋梗塞症特に若年者において強い関連を認めた。また、ステント再狭窄にも CD14 多型や可溶性 CD14 濃度が関連することを見出した。骨髄細胞の関与：顆粒球コロニー刺激因子は、骨髄からの血管内皮前駆細胞の動員を促進し血管新生を促進することを明らかにした。動脈硬化モデル動物を用いた検討：高コレステロール食負荷 FcR γ 鎖ノックアウトマウスは、野生型と比較し大動脈血管弛緩反応は保持されていた。その機序として白血球活性酸素産生能の低下が示唆された。ブタ冠動脈ステント再狭窄モデルにおいて、スタチンは炎症性細胞の接着を抑制し内膜肥厚の抑制効果を有することを明らかにした。

以上の研究により、動脈硬化症の発症や進展には血管局所のみならず全身性の炎症反応、自然免疫や獲得免疫が深く関与しその背景には遺伝的な要素も重要であること、また血小板活性化にも免疫関連分子が関与することが明らかとなった。これらの結果から、新たな治療法開発の基礎

代田 浩之	順天堂大学医学部循環器内科 教授	研究の総括
大坂 顯通	順天堂大学医学部輸血学 教授	自然免疫と動脈硬化、動物モデルを用いた骨髄幹細胞の動員に関する検討
長岡 功	順天堂大学医学部生化学第二 教授	自然免疫と動脈硬化、動物モデルを用いた検討
加藤 洋一	順天堂大学医学部循環器内科 講師	血小板活性化における FcR γ 鎖の役割
島田 和典	順天堂大学医学部循環器内科 助手	自然免疫・獲得免疫と動脈硬化、遺伝的背景の検討、動物モデルを用いた検討

研究報告

I 研究目的

わが国における人口の急速な高齢化や生活習慣の変化は、冠動脈疾患を代表とする動脈硬化性疾患の著しい増加をもたらし、その治療と予防法の確立が急務である。本研究では、血管壁の炎症制御という新たなアプローチにより、冠動脈硬化症の発症・進展機構を解明し、これからの診断や治療への応用を検討するものである。本研究の目的は、動脈硬化症の発症や進展における、①単球・マクロファージ・好中球による自然免疫の関与とそのメカニズムおよび細胞内分子機構の解析、②リンパ球による獲得免疫の関与とその分化・活性化機序、③血小板活性化における FcR γ 鎖の関与とそのメカニズム、④免疫応答に関連する遺伝的背景、⑤血管壁の炎症における骨髄細胞の関与、⑥新たな治療法の確立・応用のための動物モデルによる検討を行うことである。

II 研究計画および材料と方法

自然免疫の検討：ヒト末梢血単球およびマウスマクロファージ系細胞株 RAW264.7 を用いて、好中球の産生する殺菌ペプチド (α -defensin、 β -defensin、CAP18/LL-37) の関与を検討した。クラミジア由来 LPS の結合能、種々の炎症性サイトカインに対する産生誘導能について FACS および ELISA を用いて検討した。さらに、クラミジア LPS と自然免疫関連分子 (パターン認識受容体、接着分子) との相互作用について、FACS および ELISA で解析した。

獲得免疫の検討：急性冠症候群症例、安定冠動脈硬化症例、および健常人における Th1 サイトカイン (IL-12・IL-18)、Th2 サイトカイン (IL-10) 濃度を ELISA 法にて測定した。リンパ球培養系におけるサイトカイン産生能を解析し、ヘルパーT リンパ球のサブセットである Th1/Th2 バランスの意義を検討した。さらに、HMG-CoA 還元酵素阻害薬による Th1/Th2 バランス調整作用をリンパ球内サイトカイン産生能を測定することにより検討した。

血小板活性化における FcR γ 鎖の役割：FcR γ 鎖ノックアウトマウスの FcR γ 鎖ノックアウトマウスの balloon injury モデルを用いて、動脈硬化症における血小板活性化と FcR γ 鎖の役割について、マウス虚血再還流モデルを用いて血小板活性化における FcR γ 鎖の役割について検討した。

免疫応答に関連する遺伝的背景の検討：健常人や冠動脈硬化症例において、動脈硬化の発症や進展に関連する自然免疫関連遺伝子の解析（TLR4 遺伝子多型：PCR-SSCP 法、CD14 プロモーター多型：PCR-RFLP 法）を行った。

血管壁の炎症における骨髄細胞の関与：動物モデルに顆粒球コロニー刺激因子を全身および局所投与し、骨髄からの血管内皮前駆細胞の動員および血管新生の機序を解析した。動脈硬化モデル動物を用いた検討：高コレステロール食負荷 FcR γ chain ノックアウトマウスと Wild type マウスとの血管弛緩反応による内皮機能解析および白血球活性酸素産生能を測定した。ブタの冠動脈ステント再狭窄モデルを用いてスタチンの抗炎症効果を検討した。

III 研究成果

自然免疫の検討：好中球の産生する殺菌ペプチドである defensin の一部は、炎症や感染刺激により誘導されその活性化には NF κ B が関与すること、さらに樹状細胞のみならず T リンパ球や肥満細胞の遊走能を有し、自然免疫や獲得免疫にも関与すること、CAP18/LL-37 も同様な遊走能を有することを見出した。殺菌ペプチド CAP11 は、LPS による好中球アポトーシス抑制作用を減弱させ、結果的にアポトーシスを誘導した。また CAP11 は、好中球や単球の炎症性サイトカイン産生やその LPS 結合を抑制した。クラミジア LPS は、末梢血単球およびマクロファージ系細胞に対し大腸菌 LPS と同様に LPS-binding protein (LBP) 依存的に結合し、炎症性サイトカインの産生を誘導した。しかし、クラミジア LPS の結合量およびサイトカイン産生誘導能は大腸菌 LPS に比べると著しく低値であった。また、末梢血単球に対するクラミジア LPS の結合には、LPS 受容体の CD14 および TLR4 の他に TLR2、CD11b が関与していた。一方、サイトカインの産生誘導には CD14、TLR4 に加えて TLR2 が関与していた。さらに、クラミジア LPS と CD14 または LBP の相互作用を検討したところ、クラミジア LPS は CD14 および LBP の両者に直接結合した。そして LBP の濃度に依存的して CD14 への結合量が増加した。しかし、大腸菌 LPS と比べるとクラミジア LPS の CD14 および LBP に対する結合能は有意に低値であった。

獲得免疫の検討：冠動脈硬化症、特に急性冠症候群では、Th1 サイトカインである IL-12 や IL-18 が高値で Th2 サイトカインである IL-10 が低下し、Th1 側にシフトしていることを見出した。さらに、リンパ球培養系における細胞内サイトカイン産生能の検討から、急性冠症候群では Th1/Th2 バランスは Th1 にシフトしていることが確認された。また、HMG-CoA 還元酵素阻害薬は、臨床的にも Th1/Th2 バランスを Th2 側にシフトさせる免疫調節機能を有し、その積極的な早期投与は有意に冠動脈病変の退縮をもたらすことを報告した。

血小板活性化における FcR γ 鎖の役割：FcR γ 鎖ノックアウトマウスにおける大腿動脈 balloon injury 後の新生内膜増殖は、wild タイプに比べ有意に抑制されていた。血管障害 2 時間後の電顕像では血小板と好中球の接着が有意に低下し、7 日後の免疫組織染色では好中球が減少していた。FcR γ 鎖ノックアウトマウスは、wild タイプに比し虚血再還流モデルにおける梗塞サイズは有意に縮小した。FcR γ 鎖ノックアウトマウスでは、電顕像における血小板凝集や微小血栓による冠動脈の閉塞は有意に減少し、血小板の Syk 活性化は有意に減弱し、好中球上の CD11b 発現には差がなかった。

免疫応答に関連する遺伝的背景の検討：健常人における TLR4 遺伝子 A896G 多型の頻度

は、ヘテロ接合体の頻度が4%であり、欧米と比較し低い傾向を認めた。CD14 遺伝子プロモーターC-260T 多型は、心筋梗塞症例において T/T ホモ接合体の頻度は39%であった。年齢別に検討したところ、高齢者と比較し若年者において T/T ホモ接合体の頻度はより高い傾向を認めた。ステント再狭窄にも CD14 遺伝子プロモーターC-260T 多型や可溶性 CD14 濃度が関連することを見出した。

血管壁の炎症における骨髄細胞の関与：顆粒球コロニー刺激因子は、骨髄からの血管内皮前駆細胞の動員を促進し血管新生を促進することを明らかにした。

動脈硬化モデル動物を用いた検討：高コレステロール食負荷 FcR γ chain ノックアウトマウスは、Wild タイプと比較し大動脈血管弛緩反応は保持されていた。FcR γ chain ノックアウトマウスでは、白血球活性酸素産生能が低値であった。ブタの冠動脈ステント再狭窄モデルにおいて、新規スタチンであるピタバスタチンは、炎症性細胞の接着を抑制し内膜肥厚の抑制効果を認めた。

IV 考察

自然免疫の検討：殺菌ペプチドの本来の役割は、病原微生物から宿主を守る防御作用であるが、今回の研究により明らかにされた種々の免疫担当細胞の遊走作用や、最近報告された樹状細胞の成熟や活性化への関与等、自然免疫のみならず獲得免疫への橋渡し役としても重要な分子として注目されている。今後、本研究による成果を発展させ、動脈硬化症への関与を検討する予定である。動脈硬化症の発症や進展に深く関与していると考えられているクラミジアは、産生する LPS の生物活性中心である Lipid A 部位が大腸菌 LPS と大きく異なっている。今回我々は、クラミジア LPS が弱いながらも単球・マクロファージ系細胞を LBP および CD14 依存的に活性化することを明らかにした。このクラミジア LPS の生物活性の低値は、CD14 および LBP に対する LPS の結合能の低値に起因する可能性を示した。このクラミジア LPS 活性の低値は、寄生細胞が組織からの排除を免れ慢性かつ持続的に活性化される要因の一つと考えられる。

獲得免疫の検討：IL-12 は IL-18 の存在下で強力な Th1 誘導作用を発揮する。Th1 から産生される IFN- γ は、抗炎症性サイトカインである IL-10 の作用や産生を抑制し、さらに Th1 側へとシフトさせる。IFN- γ は、マクロファージからの MMP 産生を促進し細胞間マトリクスを減少させ、血管平滑筋細胞の増殖を抑制し、結果的にプラークの不安定化を助長すると考えられる。これまで急性冠症候群におけるスタチンの有用性が報告されているが、今回我々はその多面的作用の一つとして Th1/Th2 バランス調整作用を臨床的に初めて報告した。

血小板活性化における FcR γ 鎖の役割：大腿動脈 balloon injury 障害後の新生内膜増殖は、wild タイプに比べ FcR γ 鎖ノックアウトマウスにおいて有意に抑制されていた。血管障害 2 時間後の電顕像では、cR γ 鎖ノックアウトマウスにおいて血小板と好中球の接着が有意に低下し、7 日後の免疫組織染色では好中球が減少していたことから、血管障害後のコラーゲンによる血小板接着を低下させることによりその後の新生内膜増殖が抑制されたと考えられる。一方、マウスの心筋梗塞モデルにおいて、FcR γ 鎖ノックアウトマウスは、野生型マウスに比し梗塞サイズの有意な縮小効果を示した。FcR γ 鎖ノックアウトマウスでは、血小板凝集や微小血栓による冠動脈の閉塞は有意に減少し、血小板の Syk 活性化は

有意に減弱した。また、好中球上の CD11b 発現には差がなかったことから、FcR γ 鎖を介した血小板の活性化は、虚血再還流障害に重要な役割を担うことが示唆された。

免疫応答に関連する遺伝的背景の検討：TLR4 遺伝子多型頻度は欧米と比較しきわめて低い傾向を認めた。当初この多型は抗動脈硬化的に作用すると報告されたが、最近動脈硬化促進的に作用するとの相反する報告もあり、更なる検討が必要である。また、感染症やアレルギー性疾患においては、TLR4 のみならず他の TLR 遺伝子多型も関連するとの報告されている。今回の結果を踏まえ、種々の TLR 多型と動脈硬化症との関連を網羅的に検討する予定である。

血管壁の炎症における骨髄細胞の関与：マウスモデルにおいて顆粒球コロニー刺激因子は、骨髄からの血管内皮前駆細胞の動員を促進し血管新生を促進した。今後の臨床応用を踏まえ、詳細な機序の解明が必要である。

動脈硬化モデル動物を用いた検討：高コレステロール食負荷マウスモデルにおいて、FcR γ chain ノックアウトマウスは、Wild type マウスと比較し白血球活性酸素産生能の低下を認めた。FcR γ chain ノックアウトマウスにおける大動脈血管弛緩反応による内皮機能改善は、活性酸素産生の低下に基づく内皮障害の軽減作用によると考えられた。今後、FcR γ 鎖と LDL 受容体とのダブルノックアウトマウスを用いて動脈硬化症における FcR の役割を検討する予定である。

V 研究結果の発表.

1. Nagaoka I, Hirota S, Niyonsaba F, Hirata M, Adachi Y, Tamura H, Tanaka S, Heumann D. Augmentation of the lipopolysaccharide-neutralizing activities of human cathelicidin CAP18/LL-37-derived antimicrobial peptides by replacement with hydrophobic and cationic amino acid residues. *Clin Diagn Lab Immunol* 9: 972-982; 2002.
2. Ohmura H, Mokuno H, Sawano M, Hatsumi C, Mitsugi Y, Watanabe Y, Daida H, Yamaguchi H. Lipid compositional differences of small, dense low-density lipoprotein particle influence its oxidative susceptibility: possible implication of increased risk of coronary artery disease in subjects with phenotype B. *Metabolism* 51: 1081-1087; 2002.
3. Inoue K, Cynshi O, Kawabe Y, Nakamura M, Miyauchi K, Kimura T, Daida H, Hamakubo T, Yamaguchi H, Kodama T. Effect of BO-653 and probucol on c-MYC and PDGF-A messenger RNA of the iliac artery after balloon denudation in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 161: 353-363; 2002.
4. Enomoto F, Andou I, Nagaoka I, Ichikawa G. Effect of new macrolides on the expression of adhesion molecules on neutrophils in chronic sinusitis. *Auris Nasus Larynx* 29: 267-269; 2002.
5. Iwabuchi K, Nagaoka I. Lactosylceramide-enriched glycosphingolipid signaling domain mediates superoxide generation from human neutrophils. *Blood* 100: 1454-1464; 2002.
6. Niyonsaba F, Iwabuchi K, Someya A, Hirata M, Matsuda H, Ogawa H, Nagaoka I.

- A cathelicidin family of human antibacterial peptide LL-37 induces mast cell chemotaxis. *Immunology* 106: 20-26; 2002.
7. Niyonsaba F, Iwabuchi K, Matsuda H, Ogawa H, Nagaoka I. Epithelial cell-derived human beta-defensin-2 acts as a chemotaxin for mast cells through a pertussis toxin-sensitive and phospholipase C-dependent pathway. *Int Immunol* 14: 421-426; 2002.
 8. Hua J, Sakamoto K, Nagaoka I. Inhibitory actions of glucosamine, a therapeutic agent for osteoarthritis, on the functions of neutrophils. *J Leukoc Biol* 71: 632-640; 2002.
 9. Tsutsumi-Ishii Y, Nagaoka I. NF-kappa B-mediated transcriptional regulation of human beta-defensin-2 gene following lipopolysaccharide stimulation. *J Leukoc Biol* 71: 154-162; 2002.
 10. Ohsaka A, Hoshino S, Kobayashi M, Kudo H, Kawaguchi R. Blast crisis of Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukaemia carrying micro-bcr breakpoint (e19a2 and e191a). *Br J Haematol* 118: 251-254; 2002.
 11. Ohsaka A, Hisa T. Spectral karyotyping refined the identification of a der (Y) t (Y; 1) (q11.1 or. 2; q12) in the blast cells of a patient with atypical chronic myeloid leukemia. *Acta Haematol* 107: 224-229; 2002.
 12. Ohsaka A, Hisa T, Watanabe N, Kojima H, Nagasawa T. Tetrasomy 21 as a sole chromosome abnormality in acute myeloid leukemia. fluorescence in situ hybridization and spectral karyotyping analyses. *Cancer Genet Cytogenet* 134: 60-64; 2002.
 13. 長岡功, 華見, 勝呂栞, 坂本廣司. グルコサミンの好中球機能抑制作用とそのメカニズム 炎症・再生 22 : 461-468 ; 2002.
 14. 島田和典, 宮内克己, 宮崎哲朗, 大坂顯通. 冠動脈硬化症における単球活性化の役割 特に CD14/Fc γ -RIII (CD16) 単球サブセット測定および末梢血単球中サイトカイン産生能の検討. 順天堂医学 48 : 262 ; 2002.
 15. 高谷典秀, 加藤洋一, 伊藤誠悟, 小西博広, 羅智靖. 虚血再灌流障害における免疫グロブリンレセプターの役割 FcR γ 鎖ノックアウトマウスを用いた解析 順天堂医学 48: 268-269 ; 2002.
 16. 柏倉祐司, 加藤洋一, 玉寄兼治, 杉本耕一, 湯原千治. ヒト臍帯血幹細胞を用いた血管平滑筋細胞への分化誘導 順天堂医学 48 : 255-256 ; 2002.
 17. 柏倉祐司, 加藤洋一, 小西博広, 高谷典秀, 代田浩之, 玉寄兼治, 杉本耕一, 山田正典, 湯原千治. ヒト SM22_promoter によるマウス骨髄間質細胞から平滑筋前駆細胞の単離 順天堂医学 48 : 413-414 ; 2002.
 18. Kashiwakura Y, Katoh Y, Tamayose K, Konishi H, Takaya N, Yuhara S, Yamada M, Sugimoto K, Daida H. Isolation of bone marrow stromal cell-derived smooth muscle cells by a human SM22alpha promoter: in vitro differentiation of putative smooth muscle progenitor cells of bone marrow. *Circulation* 107: 2078-2081; 2003.

19. Yamashita H, Shimada K, Seki E, Mokuno H, Daida H. Concentrations of interleukins interferon, and C-reactive protein in stable and unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 91: 133-136; 2003.
20. Kuremoto K, Watanabe Y, Ohmura H, Shimada K, Mokuno H, Daida H. Human paraoxonase (PON1) genotype determining the susceptibility to oxidation of lipoproteins in Japanese subjects. *J Atheroscler Tromb* 10: 85-92; 2003.
21. Miyazaki T, Shimada K, Mokuno H, Daida H. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, is associated with smoking status in patients with coronary artery disease. *Heart* 89: 663-664; 2003.
22. Daida H, Ouchi Y, Saito Y, Yamada N, Nishide T, Mokuno H, Kurata T, Sato H, Eto M, Ako JY, Tango T, Yamaguchi H; Coronary Atherosclerosis and Lipid Research Group. Preventing angiographic progression of coronary atherosclerosis with pravastatin. *J Atheroscler Thromb* 10: 25-31; 2003.
23. Iida KT, Kawakami Y, Shimano H, Toyoshima H, Sone H, Shimada K, Iwama Y, Watanabe Y, Mokuno H, Kamata K, Yamada N. Effect of thiazolidinediones and metformin on LDL oxidation and aortic endothelium relaxation in diabetic GK rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283: E1125-E1130; 2003.
24. Niyonsaba F, Hirata M, Ogawa H, Nagaoka I. Epithelial cell-derived antibacterial peptides human beta-defensins and cathelicidin: multifunctional activities on mast cells. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2: 224-231; 2003.
25. Enomoto F, Kin R, Kataoka T, Yamazaki Y, Yokoi H, Fujimori M, Nagaoka I, Ichikawa G. Modulation of neutrophil adhesion to vascular endothelial cells in rat experimental otitis media treated with a macrolide. *Auris Nasus Larynx*. 30: 247-251; 2003.
26. Ohwada A, Tsutsumi-Ishii Y, Yoshioka Y, Iwabuchi K, Nagaoka I, Fukuchi Y. Acid exposure potentiates intercellular adhesion molecule-1 and e-cadherin expression on A549 alveolar lining epithelial cells. *Exp Lung Res*. 29: 389-400; 2003.
27. Tsutsumi-Ishii Y, Nagaoka I. Modulation of human beta-defensin-2 transcription in pulmonary epithelial cells by lipopolysaccharide-stimulated mononuclear phagocytes via proinflammatory cytokine production. *J Immunol* 170: 4226-4236; 2003.
28. Ohwada A, Yoshioka Y, Iwabuchi K, Nagaoka I, Dambara T, Fukuchi Y. VEGF regulates the proliferation of acid-exposed alveolar lining epithelial cells. *Thorax* 58: 328-332; 2003.
1. 島田和典, 代田浩之. Inflammation, Infection. 循環器 New Trends シリーズ 虚血性心疾患のリスクファクターと予防戦略. 編集 島本和明. メジカルビュー社, 東京, 75-92, 2003.
30. 島田和典. 高感度 C 反応性蛋白 (CRP). 順天堂医学 49 : 11 ; 2003.
31. 山下晴世, 島田和典, 代田浩之. 動脈硬化と炎症性サイトカイン. *Geriatric Medicine*

- 41 : 217-221 ; 2003.
32. 大村寛敏, 代田浩之. 高コレステロール血症診療の意義と EBM 動脈硬化予防 2 : 26-36 ; 2003.
 33. 秋元芳典, 山上伸一郎, 代田浩之. 冠動脈疾患 検査と画像診断 現代医療 35 : 2713-2721 ; 2003.
 34. 横山貴之, 代田浩之. 動脈硬化の診断技術の進歩とスタチンの評価 興和医報 45 : 24-30 ; 2003.
 35. 大木勇一, 代田浩之, Heissig Beate, 大坂顯通. 末梢性血管疾患に対する G-CSF 併用療法による末梢血幹細胞移植の血管新生療法とそのメカニズムの解析 順天堂医学 49 : 235 ; 2003.
 36. 柏倉祐司, 加藤洋一, 代田浩之. 血管の形成と障害 スタチンの分子生物学的特性 Heart View 7 : 284-287 ; 2003.
 37. 柏倉祐司, 加藤洋一, 代田浩之, 玉寄兼二, 杉本耕一, 山田正典. 骨髄間質細胞からの平滑筋の分化誘導 順天堂医学 49 : 373 ; 2003.
 38. 華見, 勝呂栞, 石井裕子 [堤], 岩渕和久, 坂本廣司, 長岡功. グルコサミンの血小板機能に及ぼす影響 炎症・再生 23 : 164-169 ; 2003
 39. Shimada K, Miyauchi K, Daida H. Early intervention with atorvastatin modulates Th1/Th2 imbalance in patients with acute coronary syndrome: from bedside to bench. *Circulation* 109: e213-214; 2004.
 40. Shimada K, Mokuno H, Matsunaga E, Miyazaki T, Sumiyoshi K, Kume A, Miyauchi K, Daida H. Predictive value of circulating oxidized LDL for cardiac events in type 2 diabetic patients with coronary artery disease. *Diabetes Care* 27: 843-844; 2004.
 41. Shimada K, Miyauchi K, Mokuno H, Watanabe Y, Iwama M, Shigekiyo M, Matsumoto M, Okazaki S, Tanimoto K, Kurata T, Sato H, Daida H. Promoter polymorphism in the CD14 gene and concentration of soluble CD14 in patients with in-stent restenosis after elective coronary stenting. *Int J Cardiol* 94: 87-92; 2004.
 42. Shimada K, Mokuno H, Matsunaga E, Miyazaki Y, Sumiyoshi K, Miyauchi K, and Daida H. Circulating oxidized low density lipoprotein is an independent predictor for cardiac events in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 174: 343-347; 2004.
 43. Shimada K, Miyazaki T, Daida H. Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clin Chim Acta* 344: 1-12; 2004.
 44. Okazaki S, Yokoyama T, Miyauchi K, Shimada K, Kurata T, Sato H, Daida H. Early Statin Treatment in Patients with Acute Coronary Syndrome: Demonstration of Beneficial Effect on Atherosclerotic Lesions by Serial Volumetric IVUS Analysis during Half a Year after Coronary Event (The ESTABLISH study) *Circulation* 110: 1061-1068; 2004.
 1. Yokoyama T, Miyauchi K, Kurata T, Sato H, Daida H. Effect of probucol on neointimal thickening in a stent porcine restenosis model. *Jpn Heart J* 45:

- 305-313; 2004.
46. Yokoyama T, Miyauchi K, Kurata T, Satoh H, Daida H. Inhibitory efficacy of pitavastatin on the early inflammatory response and neointimal thickening in a porcine coronary after stenting. *Atherosclerosis* 174: 253-259; 2004.
 47. Matsuda S, Arima M, Ohigawa T, Tanimoto K, Takagi A, Kanoh T, Yamagami S, Daida H. Relation between serum lipoprotein (a) and residual lesion stenosis of coronary artery after myocardial Infarction without reperfusion therapy. *Jpn Heart J* 3: 397-407; 2004.
 48. Kashiwakura Y, Watanabe M, Kusumi N, Sumiyoshi K, Nasu Y, Yamada H, Sawamura T, Kumon H, Takei K, Daida H. Dynamin-2 regulates oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis of vascular smooth muscle cell. *Circulation* 110: 3329-3334; 2004.
 49. Nagaoka I, Yomogida S, Tamura H, Hirata M. Antibacterial cathelicidin peptide CAP11 inhibits the lipopolysaccharide (LPS)-induced suppression of neutrophil apoptosis by blocking the binding of LPS to target cells. *Inflamm Res* 53: 609-622; 2004.
 50. Hua J, Suguro S, Iwabuchi K, Tsutsumi-Ishii Y, Sakamoto K, Nagaoka I. Glucosamine, a naturally occurring amino monosaccharide, suppresses the ADP-mediated platelet activation in humans. *Inflamm Res* 53: 680-688; 2004.
 51. Shimo-Nakanishi Y, Hasebe T, Suzuki A, Mochizuki H, Nomiya T, Tanaka Y, Nagaoka I, Mizuno Y, Urabe T. Functional effects of NAD (P) H oxidase p22 (phox) C242T mutation in human leukocytes and association with thrombotic cerebral infarction. *Atherosclerosis* 175: 109-115; 2004.
 52. Sato SB, Ishii K, Makino A, Iwabuchi K, Yamaji-Hasegawa A, Senoh Y, Nagaoka I, Sakuraba H, Kobayashi T. Distribution and transport of cholesterol-rich membrane domains monitored by a membrane-impermeant fluorescent polyethylene glycol-derivatized cholesterol. *J Biol Chem* 279: 23790-6; 2004.
 53. 代田浩之. 動脈硬化の新しい危険因子 炎症 日本臨床内科医会誌 19: 30-37; 2004.
 54. 島田和典. 急性冠症候群発症における免疫応答の関与とその制御 医学のあゆみ 208: 162-163 ; 2004.
 55. 石井裕子, 島田和典. 動脈硬化症の病変形成における疾患関連遺伝子の発現・変異と環境因子としての微生物感染の役割 順天堂医学 50 : 464 ; 2004.
 56. 大坂顯通, 島田和典, 佐藤弥生. 粥状動脈硬化症の発症における単球・マクロファージと性ホルモンの役割 順天堂医学 50 : 453-454 ; 2004.
 57. 住吉克彦, 島田和典, 宮崎哲朗, 久米淳美, 代田浩之, 大澤俊也, 大坂顯通. 急性冠症候群における末梢血単核球上 Fc_R II (CD32) 発現の検討 順天堂医学 50: 425; 2004.
 58. 島田和典, 代田浩之. 炎症と冠動脈硬化症 日本冠疾患学会雑誌 10 : 189-195 ; 2004.
 59. 宮崎哲朗, 石井裕子, 島田和典. 動脈硬化の発症と進展に関する感染・免疫関連遺伝子の網羅的解析と新規遺伝子の同定 順天堂医学 50 : 283-284 ; 2004.
 60. 山下晴世, 島田和典, 代田浩之. 高感度 CRP と心血管病のリスク 呼吸と循環 52: 929-

- 936 ; 2004.
61. 島田和典, 代田浩之. 動脈硬化の早期診断を目指して 生化学マーカーによる早期診断はどこまで可能か? THE CIRCULATION FRONTIER 8 : 40-53 ; 2004.
 62. 山下晴世, 島田和典, 代田浩之. 動脈硬化と炎症性サイトカイン Geriatric Medicine 41 : 217-221 ; 2003.
 63. 長岡功, 諫山太郎. サイトカインの生理活性 造血系 好中球とサイトカイン 医学のあゆみ別冊サイトカイン-state of arts : 93-97 ; 2004.
 64. 長岡功, 蓬田伸, 田村弘志, 平田陸正. Cathelicidin ファミリーの殺菌ペプチド CAP11 による好中球アポトーシスの制御 炎症・再生 24 : 166-172 ; 2004.
 65. 岡崎真也, 代田浩之. 冠動脈疾患の診断 不安定プラークの見分け方と治し方 呼吸と循環 52 巻 3 : 307-314 ; 2004.
 66. 渡辺嘉郎, 代田浩之. 最近注目される 心機能・冠動脈疾患関連因子 PPAR family Mebio 21 : 32-39 : 2004.
 67. Niyonsaba F, Ogawa H, Nagaoka I. Human beta-defensin-2 functions as a chemotactic agent for tumour necrosis factor-alpha-treated human neutrophils. *Immunology* 111: 273-281; 2004.
 68. Kashiwakura Y, Tamayose K, Iwabuchi K, Hirai Y, Shimada T, Matsumoto K, Nakamura T, Watanabe M, Oshimi K, Daida H. Hepatocyte growth factor receptor is a coreceptor for adeno-associated virus type 2 infection. *J Virol* 79: 609-614; 2005.
 69. Makuuchi H, Furuse A, Endo M, Nakamura H, Daida H, Watanabe M, Ohashi Y, Hosoda Y, Hosoda S, Yamaguchi H, Yasui H. Effect of pravastatin on progression of coronary atherosclerosis in patients after coronary artery bypass surgery. *Circ J* 69: 636-643: 2005.
 70. Watanabe M, Nasu Y, Kashiwakura Y, Kusumi N, Tamayose K, Nagai A, Sasano T, Shimada T, Daida H, Kumon H. Adeno-associated virus 2-mediated intratumoral prostate cancer gene therapy: long-term maspin expression efficiently suppresses tumor growth. *Hum Gene Ther* 6: 699-710; 2005.
 71. Miyazaki T, Shimada K, Sato O, Kotani K, Kume A, Sumiyoshi K, Sato Y, Ohmura H, Watanabe Y, Mokuno H, Daida H. Circulating Malondialdehyde-modified LDL and atherogenic lipoprotein profiles measured by nuclear magnetic resonance spectroscopy in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 179: 139-145; 2005.
 72. Nagaoka I, Kuwahara-Arai K, Tamura H, Hiramatsu K, Hirata M. Augmentation of the bactericidal activities of human cathelicidin CAP18/LL-37-derived antimicrobial peptides by amino acid substitutions. *Inflamm Res* 54: 66-73; 2005.
 73. Fukumoto K, Nagaoka I, Yamataka A, Kobayashi H, Yanai T, Kato Y, Miyano T. Effect of antibacterial cathelicidin peptide CAP18/LL-37 on sepsis in neonatal rats. *Pediatr Surg Int* 2005 1: 20-24; 2005.

74. Shimada K, Daida H, Ma-Krupa W, Goronzy JJ, Weyand CM. Lipopolysaccharide, CD14, and Toll-like Receptors: An Emerging Link between Innate Immunity and Atherosclerotic Disease. *Future Cardiology* 1: 2005 (in press)
75. Watanabe M, Kashiwakura Y, Kusumi N, Tamayose K, Nasu Y, Nagai A, Shimada T, Daida H, Kumon H. Adeno-associated virus-mediated human IL-10 gene transfer suppresses the development of experimental autoimmune orchitis. *Gene Ther* 2005 (in press)
1. 長岡功. 好中球アポトーシスの分子制御 臨床免疫 43 : 236-242 ; 2005.
77. 代田浩之. 急性冠症候群の診断と治療 日本内科学会雑誌 94 : 118-124 ; 2005.
78. 石井(堤)裕子, 島田和典, 代田浩之, 長岡功: クラミジア属細菌の Lipopolysaccharide (LPS) 構造と生物活性. エンドトキシン研究 8, 日本エンドトキシン研究会編著, 医学図書出版株式会社, 東京, 印刷中.
79. Takaya N, Katoh Y, Iwabuchi K, Hayashi I, Okumura K, Nagaoka I, Daida H. Platelets. activated by collagen through immunereceptor tyrosine-based activation motif in the Fc receptor _ chain play pivotal role in development of myocardial ischemia-reperfusion injury. (submitted).
80. Ohki Y, Hattori K, Heissig B, Satoh Y, Shimada K, Ohsaka A, Daida H. Granulocyte colony-stimulating factor contributes to mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for ischemic neovascularization. (submitted).