

動脈硬化発症の分子機構

祖父江憲治

大阪大学大学院医学系研究科神経細胞医科学：吹田市山田丘2-2（〒565-0871）

Key Words

血管平滑筋細胞形質転換 血管内膜肥厚 不飽和リゾホスファチジン酸

はじめに

動脈硬化症は、血管壁の増殖性・変性病変を主体とする血管壁肥厚により血管内腔の狭窄を来す疾患である。しばしば血栓形成を併発し、血管閉塞性の致死的病態に至る。今日、三大成人病と言われる心筋梗塞・脳卒中・癌の中で、心筋梗塞と脳卒中はいずれも動脈硬化症を基礎疾患としたものである。糖尿病においても動脈硬化症の併発は必至で、糖尿病重篤化の要因となっている。これらの疾患は動脈硬化症による冠状動脈・あるいは脳血管・末梢血管の閉塞性機転により、虚血・梗塞・出血を伴う重篤な病態に至る。また、わが国における老人性痴呆は血管性痴呆が優位を占め（老人性痴呆患者の約60%が血管性痴呆と考えられている）、欧米のアルツハイマー型痴呆優位とは異なっている。現在の発症頻度から考えて20年後（2020年）の老人性痴呆患者はわが国で200万人にも達すると推定されているが、この実に120万人は血管性痴呆によるものである。医療が進歩し、救命が飛躍的に改善される一方で、急速に高齢化社会を迎えつつあるわが国にとって、生として生ける人生をより充実したものにす quality of life(QOL)重視の医学・医療が今求められている。

本稿では、動脈硬化発症の分子機構を解説し、その予防・診断・治療法開発への展望について述べる。

動脈硬化症とは

前述したように動脈硬化症は、血管壁の増殖性・変性病変による血管壁肥厚に加えて、時として血栓形成の併発を伴う血管内腔の狭窄性あるいは閉塞性病変である。動脈硬化症の発症病理に入る前に、まず血管の細胞構築について概説する。図1に、正常血管（動脈）を示した。血管内腔は単層の血管内皮細胞により被われており、次に多層性の中膜平滑筋細胞層と外膜層の三層より構成されている。血管内皮細胞は血液と中膜平滑筋細胞層を隔てるバリアーの役割を果している。脳血管系の内皮細胞はさらに特殊化し、グリア細胞とともに血液脳関門（blood brain barrier）を形成して脳実質内への物質輸送を選別している。中膜平滑筋細胞はその収縮能により血管トーンを調節しており、外膜は血管の外套に相当する。

米国心臓協会（American Heart Association）がまとめた動脈硬化症の組織学的分類（Staryの分類）を図2に示した¹⁾。この分類に従って、動脈硬化症の発症病理について述べる。Ⅰ型（初期）病変は血管平滑筋細胞由来の細胞（脱分化平滑筋細胞）による軽度血管内膜肥厚で、脂質を貪食した点在性の泡沫細胞が肥厚部に観察される。Ⅱ型病変は、血管内膜肥厚部において泡沫細胞の集積した脂肪斑が観察される。泡沫細胞はマクロファージと脱分化平滑筋細胞に由来している。Ⅲ型病変は、Ⅱ型病変に加えて小さな細胞外脂肪沈着巣を示すものである。アテローム（粥腫）は、脂質ごとにコレステロールエステルに富む無細胞



図 1. 血管の細胞構築
ラット頸動脈のH E 染色像。血管は血管内皮細胞層, 中膜平滑筋細胞層, 外膜の3層より構成される。

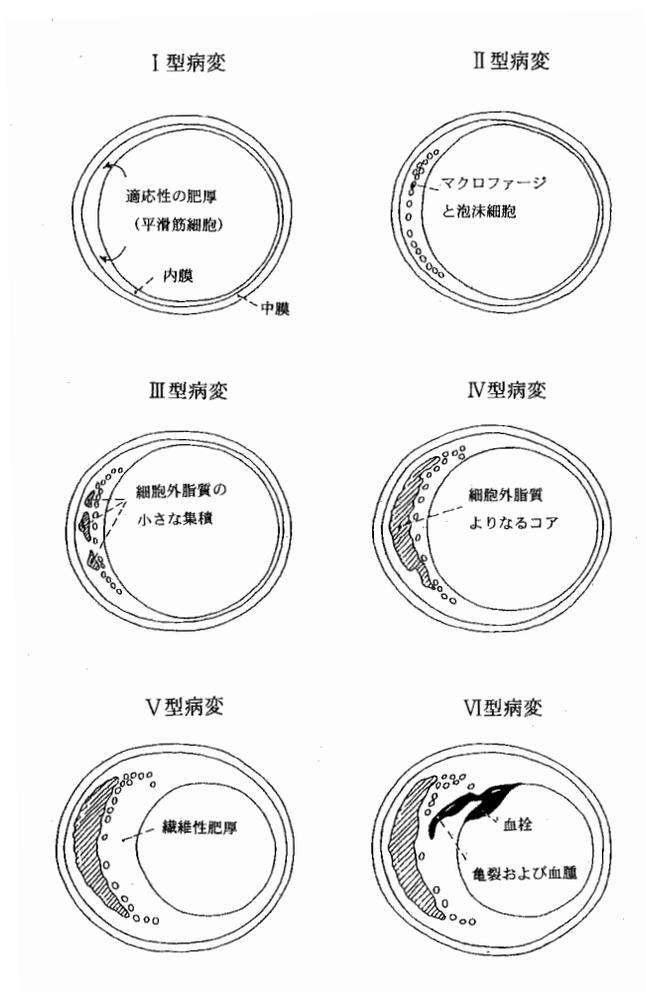


図 2. 米国心臓協会による動脈硬化症の組織学的分類 (Stary の分類)¹⁾

性の壊死性中心（粥腫粥）と、これを被う膠原繊維に富んだ繊維性被膜（fibrous cap）より形成される血管内膜の限局性肥厚である。繊維性被膜の薄いものをIV型病変、厚いものをV型病変と呼んで区別している。アテロームに出血、潰瘍形成、血栓形成など二次変化を伴ったものをVI型病変と呼んでいる。この病変分類が進行性病変である動脈硬化症の進行度と一致するのか、例えば、IV型病変の脂肪斑が他の進行病変へ移行するのか、アテロームが複雑病変であるVI型病変へ移行するのかなど、まだ議論の余地が多い。これは、動脈硬化病変が長時間かけて形成されるためその過程で修復・増悪が繰り返されることと、分類自体が個々の症例をまとめた総合判断であり同一個体での経時変化を把握したものではないことなどによる。いずれにしても、血管内膜初期肥厚形成や脂肪斑形成などの動脈硬化初期変化において、血管平滑筋細胞の増殖が最も基本的変化である。Schwartzは多数の冠状動脈硬化病理像を解析し、動脈硬化発症の初期像の主体は血管平滑筋細胞の遊走・増殖による内膜肥厚であるとしている²⁾。動脈硬化発症の初期像の捉え方は、発症原因究明にも関連して重要である。いずれにしても、脱分化型平滑筋細胞を主体とした血管内膜肥厚形成に続き、内膜肥厚層での脂肪沈着、アテローム形成、プラーク破綻と血栓形成へと進行し、時に石灰化を伴った硬化巣病変へ進行すると考えられる。

次に、動脈硬化発症原因について述べる。Rossは、血管内皮細胞をはじめとする血管構築細胞の傷害によって血管に反応性変化が生じ動脈硬化が発症する考えた（血管傷害反応仮説）³⁾。Rossの仮説をもう少し紹介する。血管内皮細胞の傷害により血中の単球・リンパ球は血管壁に侵入する。中でも、単球は増殖してマクロファージに分化する。このように血管壁に侵入したマクロファージやリンパ球は成長因子・サイトカイン・ケモカインを分泌し、血管平滑筋細胞の形質転換（分化・脱分化）を誘導する。脱分化平滑筋細胞はさらに血管内膜側に遊走・増殖して血管内膜肥厚を形成し、ついには血管内腔の狭窄を来すというものである。従って、Rossの仮説は前述の米国心臓協会の動脈硬化分類で進行が推定される発症病理初期過程で、血管傷害による炎症反応に伴う血管壁の増殖性・変性病変が動脈硬化発症原因である

という立場であり、炎症説とも呼ばれる。一方血中のLDLは正常血管において血管内皮細胞を經由して血管壁に浸潤することが知られている。但し、血管壁に浸潤したLDLは代謝され、血管壁内でのLDL貯留は常に防がれている。ところが、酸化ストレスにより形成される酸化LDLは強力な動脈硬化誘導能を示すことが知られており、Steinbergは生体内で酸化ストレスによるLDL酸化が動脈硬化発症原因であると主張した（酸化ストレス説）⁴⁾。事実、LDL酸化により形成されるPAF様の酸化リン脂質は、血管内皮細胞の活性化を来す⁵⁾。BrownとGoldsteinによるLDLレセプター発見とLDLレセプター変異による家族性高コレステロール血症の解明は⁶⁾、動脈硬化症の研究に飛躍的進歩をもたらした。この結果、LDLレセプター欠損マウス、アポE欠損マウス、Watanabeウサギなどの動脈硬化症モデル動物が登場した。いずれも、高コレステロール血症を示すことから、コレステロールが動脈硬化発症の引き金とさえ考えられた時期があった。確かに、高コレステロール血症は動脈硬化発症にとってリスク因子ではあるが、血中コレステロール値と動脈硬化症との相関は必ずしも一致しない。従って、動脈硬化発症のメカニズムについては、依然不明であると言わざるをえない。

前述した動脈硬化症の発症病理から考えると、血管平滑筋細胞の形質転換は発症過程で大きな役割を果たしており、発症の引き金を決定する上でも重要な点である。しかしながら、血管平滑筋細胞側からのアプローチは前述の動物モデルを用いた解析が中心で、血管平滑筋細胞形質転換の分子機構を的確に解析できる*in vitro*システムの確立には至っていなかった。平滑筋細胞は横紋筋細胞（心筋及び骨格筋細胞）と異なり分化といっても非可逆的な最終分化という状態ではなく、動脈硬化発症病理で述べたように血管壁内においても容易に形質転換し脱分化する。培養系も同様で、これまで用いられてきた血清存在下で増殖・継代した血管平滑筋細胞は、血管内での分化型形質と異なった細胞（脱分化平滑筋細胞）に変化したものである。従って、従来の初代培養血管平滑筋細胞を用いた研究では、分化型平滑筋細胞の特性及び脱分化過程を解析することは困難であった。この様な現状を背景に、我々は分化した血管平滑筋細胞の特性（細胞形

態・収縮能・平滑筋細胞分子マーカーの発現)を指標として初代培養条件を検討し,分化型形質維持の可能な血管平滑筋細胞初代培養を確立した。

血管平滑筋細胞の特性と培養系の確立

血管中膜層の平滑筋細胞は紡錘形細胞で,ラミニン・IV型コラーゲン・エラスチンから成る細胞外マトリクスに埋め込まれている。血管平滑筋細胞の役割は収縮能であり,これにより血管トーンすひいては血圧調整を行っていることはすでに述べた。この収縮能は,血管平滑筋細胞に豊富に存在する収縮蛋白質であるアクチン - ミオシン系の相互作用によりATPの化学的エネルギーを力学的エネルギーに変換して発生する。つまり,ミオシンはATPをエネルギー源としてアクチンというレールの上を走るモーターである。平滑筋細胞の収縮・弛緩は細胞内Ca²⁺濃度変化(Ca²⁺シグナル)に依存しており,Ca²⁺シグナルはミオシンとアクチンの両側を調節している。Ca²⁺シグナルに依存したミオシンリン酸化によるミオシンの活性化と逆に脱リン酸化によるミオシンの不活化がミオシン側制御で⁷⁾,アクチン - ミオシン相互作用の強さを決定している。アクチンに結合するカルデスモン・トロポミオシンとCa²⁺/カルモデュリンによるアクチン - ミオシン間の調節(on/offスイッチ)がアクチン側制御である^{8,9)}。

動脈硬化薬で内膜肥厚を形成する脱分化平滑筋細胞,あるいは血清存在下で増殖した培養平滑筋細胞は紡錘形から繊維芽細胞様に形態変化し,アクチン - ミ

オシン系より成る筋原線維は著しく減少して収縮能を消失している。代って,脱分化平滑筋細胞は遊走・増殖能を獲得するようになる。これら構造面または機能面以外に,分子レベルでもアクチン - ミオシン系蛋白質や接着蛋白質レセプターである1インテグリンの発現が平滑筋細胞の形質に応じて変化する。これら蛋白質の変化は平滑筋細胞形質を忠実に反映していることから,平滑筋細胞分子マーカーとして平滑筋細胞形質の指標に用いられてきた。これら分子マーカーの発現変化は転写レベルで調節されており,発現量が変化するグループとmRNAの選択的スプライシングによるアイソフォーム間で発現変換を起こす2つのグループに大別される。平滑筋型 - アクチン(-SMアクチン)¹⁰⁾,カルポニン¹¹⁾,SM22¹¹⁾, -トロポミオシン¹²⁾,1インテグリン¹³⁾が前者の例である。カルデスモン^{14,15)}, -トロポミオシン¹²⁾,メタピンキュリン¹⁶⁾,平滑筋型ミオシン重鎖¹⁷⁾は後者に相当する。スプライシングにより発現変換するグループの中でも,カルデスモンと -トロポミオシンのアイソフォーム変換は協調的に制御されている¹²⁾。また,カルデスモン¹⁸⁾, -トロポミオシン¹²⁾と平滑筋型ミオシン重鎖¹⁷⁾遺伝子はいずれも平滑筋細胞特異的な転写調節を受ける(後述)。上記の平滑筋細胞の形質に応じた分子マーカーの発現パターンを表1にまとめた¹⁹⁾。

前述した様に,血管壁内の平滑筋細胞は細胞外マトリクスに埋め込まれており,この構築が平滑筋細胞の分化型形質維持に重要な役割を果たしている。事実,酵素分散法もしくは組織切片法で細胞外マトリクスが

表 1. 平滑筋細胞形質転換に伴う分子マーカーの発現変化

	分化	脱分化
カルデスモン	↑ <i>h</i> -CaD	<i>l</i> -CaD ↓
α-トロポミオシン	↑ α-TM	F1-TM, F2-TM ↓
β-トロポミオシン	↑	↓
平滑筋型 α-アクチン	↑	↓
ミオシン重鎖	↓ SMemb	SMemb ↑
	↑ SM1	SM1 ↓
	↑ SM2	SM2 ↓
SM22 α	↑	↓
カルポニン	↑	↓
α1インテグリン	↑	↓

ら離脱した平滑筋細胞はすみやかに脱分化する。また、培養液に含まれる血清は脱分化を強烈に促進する。従って、これまで行われてきた継代した血管平滑筋細胞はいずれも脱分化型であり、分化型血管平滑筋細胞の特性を欠失している理由は血清にあった。また現在のところ、未分化または脱分化細胞から分化型平滑筋細胞への形質転換可能な培養条件や株化細胞は確立されていない。そこで我々は種々の細胞外マトリクスや細胞外因子が培養血管平滑筋細胞の形質に及ぼす影響を、無血清培養下で細胞形態・収縮能・平滑筋細胞分子マーカーを指標に検討した。その結果、細胞接着因子であるラミニン、成長因子であるIGF-Iが血管平滑筋細胞の分化維持に必須であることを見出した。この条件下で14日以上分化型を維持した血管平滑筋細胞の増殖が可能になった。他の細胞接着因子・成長因子・サイトカインあるいは血清はいずれも脱分化を引き起こす。この分化型血管平滑筋細胞培養系の概要を図3に示した^{20, 21}。

血管平滑筋細胞の形質を決定する 細胞内シグナル伝達系と遺伝子発現機構

我々は分化型細胞培養系を用いて、平滑筋細胞形質を決定する細胞内シグナル伝達系とその下流の遺伝子発現機構を解析した。図4にその結果をまとめた。血管平滑筋細胞の分化・脱分化形質を決定する細胞内シグナル伝達系は以下のようなものである。IGF-I刺激によるIGF-Iレセプター活性化は、PI3キナーゼ/プロテインキナーゼB (Akt)系を介して分化維持を行っている。一方、大多数の成長因子・サイトカインなどによる刺激は、ERKとp38MAPKの協調的活性化により脱分化を誘導する。すなわち、PI3キナーゼ/プロテインキナーゼB系とERK及びp38MAPK系の力のバランスにより血管平滑筋細胞の分化・脱分化形質が決定されることが判明した^{21, 22}。

次に、この細胞内シグナル下流の血管平滑筋細胞特異的遺伝子発現制御に関しては、平滑筋細胞分子マ-

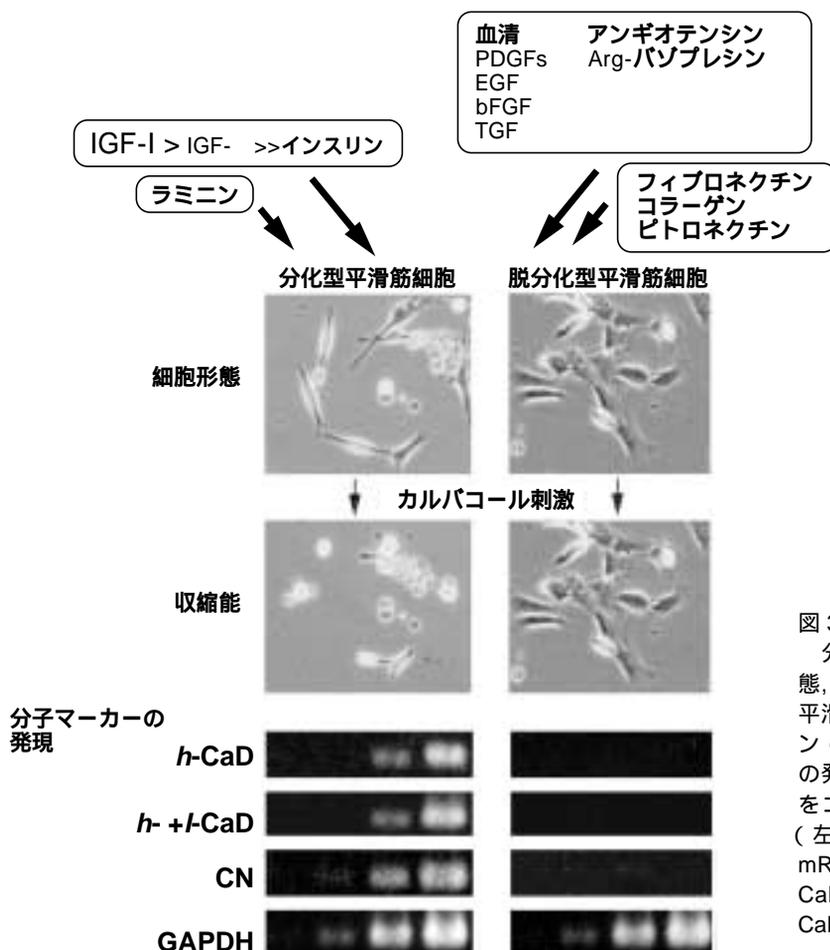


図3. 分化型血管平滑筋細胞培養系の確立

分化型と脱分化型血管平滑筋細胞の形質は、細胞形態、機能（カルバコール刺激に応答した収縮反応）と平滑筋細胞分子マーカー（RT-PCRによるカルデスモン（CaD）及びカルポニン（CN）のmRNAの定量）の発現を指標として決定した。GAPDH mRNAの発現をコントロールとし、RT-PCRのサイクル数を変えて（左から右に向かう程サイクル数が増加）各々のmRNA発現量を比較した。高分子型カルデスモン（*h*-CaD）、低分子型カルデスモン（*l*-CaD）、*h*-CaDと*l*-CaDを合わせた全カルデスモン（*h*+*l*-CaD）。

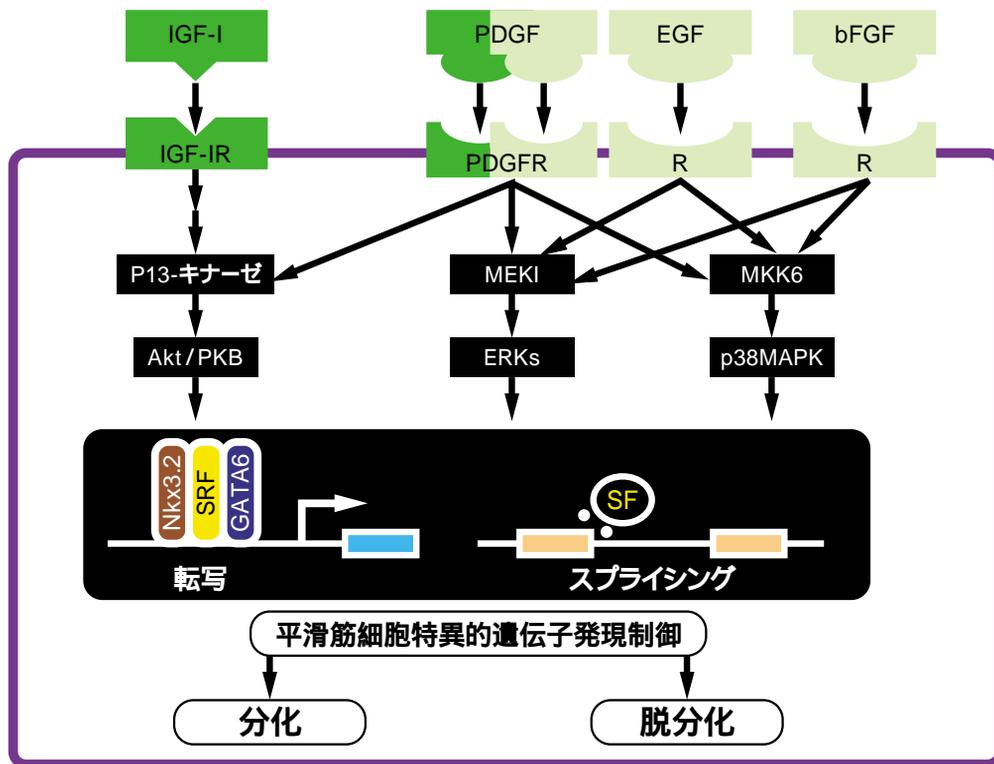


図 4. 血管平滑筋細胞の形質を決定するシグナル伝達と遺伝子発現機構
図の詳細な説明は本文中を参照。

カーであるカルデスモン・ α 1インテグリン・ β -トロポミオシン・SM22 遺伝子上流域 (プロモーター領域) を詳細に解析した。図 4 は、 α 1インテグリン遺伝子の例を示す。 α 1インテグリン遺伝子のプロモーター領域には、TAATコア・CArGボックス・GATAボックスの3つの cis - エレメントが存在する。その各々に対応する転写因子はNkx3.2 (ホメオ転写因子), SRF, GATA6 (GATA転写因子) であり、この3転写因子により α 1インテグリンの血管平滑筋細胞特異的転写が行われる²³⁾。同様の結果は、カルデスモン・ α -トロポミオシン・SM22 においても確認している (in preparation)。おもしろいことに、この3転写因子が共通して発現する細胞は血管平滑筋細胞のみである²³⁾。このようにして、血管平滑筋細胞の分化・脱分化を決定する細胞内シグナル伝達機構と遺伝子発現制御の全貌が次第に明らかになってきた。

血管平滑筋細胞脱分化因子の検索

血清が血管平滑筋細胞を強力に脱分化することはすでに述べた。そこで我々は、分化型血管平滑筋細胞

培養系を用いてヒト血清中の脱分化因子の検索を行った²²⁾。血清中の血管平滑筋細胞脱分化能の大部分は脂質分画に存在する (血漿は血管平滑筋細胞脱分化能を全く示さない)。血清及び血漿由来の脂質分画を分析し、リゾホスファチジン酸 (LPA) が血清脂質分画のみに存在すること、抽出したLPA画分は強力な血管平滑筋細胞脱分化能を示すことを見出した。つまり、LPAは血清中の主要な血管平滑筋細胞脱分化因子であることが判明したのである。LPAは血清以外にも mild oxidation された LDL (moxLDL) 及びヒト動脈硬化病巣に存在することが報告されている²⁴⁾。LPAは脂肪酸鎖長と不飽和度の違いにより、各種の分子種が存在する。我々は、ヒト血清・moxLDL及びヒト動脈硬化病巣に存在するLPA分子種を分離・定量した。いずれにおいても、飽和脂肪酸を側鎖に持つLPA (12:0, 14:0, 16:0, 18:0, 20:0) と不飽和脂肪酸側鎖を持つLPA (18:1, 18:2, 20:4) が存在する。そこで血清・moxLDL・ヒト動脈硬化病巣で検出されたLPA分子種 (12:0, 14:0, 16:0, 18:0, 16:1, 18:1, 18:2) とLPA近縁のスフィンゴシン1-リン酸 (S1P), さらに生体内でLPAの前駆体であるホスファチジン酸 (PA)

の血管平滑筋細胞に対する脱分化能を検討した。この結果、不飽和LPA (16:1, 18:1, 18:2) のみが強力な脱分化能を示し (IC₅₀は20-30nM)、飽和LPA, S1P及びPAは脱分化能を示さなかった。つまり血管平滑筋細胞の脱分化は、不飽和LPAに特異的に依存している (図5) また、不飽和LPA刺激により速やかに血管平滑筋細胞の脱分化が進行しこの脱分化は不可逆的であること、さらにこの脱分化後、遊走・細胞増殖を起こすことも明らかになった。

不飽和LPA刺激は、ERKとp38MAPK系及びPI3キナーゼ/プロテインキナーゼB系を活性化する。つまり、図4のPDGFと同じシグナル伝達系である。従って、ERKとp38MAPKの両MAPキナーゼ系優位により脱分化誘導を起こす。LPAレセプターとしてこれまでにEdg2²⁵⁾・Edg4²⁶⁾・Edg7²⁷⁾の3種類のEdgファミリーが知られていたが、血管平滑筋細胞で発現しているのはEdg2とEdg7のみである²²⁾。ところが、いずれのEdgも程度の差こそあれ飽和・不飽和LPAいずれとも親和性を示す。従って、血管平滑筋細胞脱分化を誘導する不飽和LPA特異的な新規レセプターの存

在が期待される。また、培養血管平滑筋細胞のみならず、*in vivo*で不飽和LPA特異的血管(動脈)内膜肥厚モデルラットの作製にも成功した(submitted)。

LDLの酸化は動脈硬化症患者の血漿や動脈硬化病変で酸化LDLとして存在が確認されている。そこでこれまで、LDL酸化により形成される“何”が動脈硬化症に関連しているのかが重要視されてきた。我々が見出した不飽和LPAによる血管平滑筋細胞脱分化と*in vivo*での血管内膜肥厚モデルは、まさにこのLDL酸化により形成される不飽和LPAそのものがこの“何”である可能性が高い。また、我々の不飽和LPA研究の発端となった血清中の不飽和LPAの存在から考えると、血小板活性化により放出される不飽和LPAも動脈硬化発症に一役かっていることが期待される(図6)。事実、動脈硬化病変の好発部位は血管の中でもずり応力の高い部位であり、ここではしばしば血小板凝集塊の存在が観察されている。以上のように、動脈硬化発症因子としての不飽和LPAの役割への期待が高まってきた。

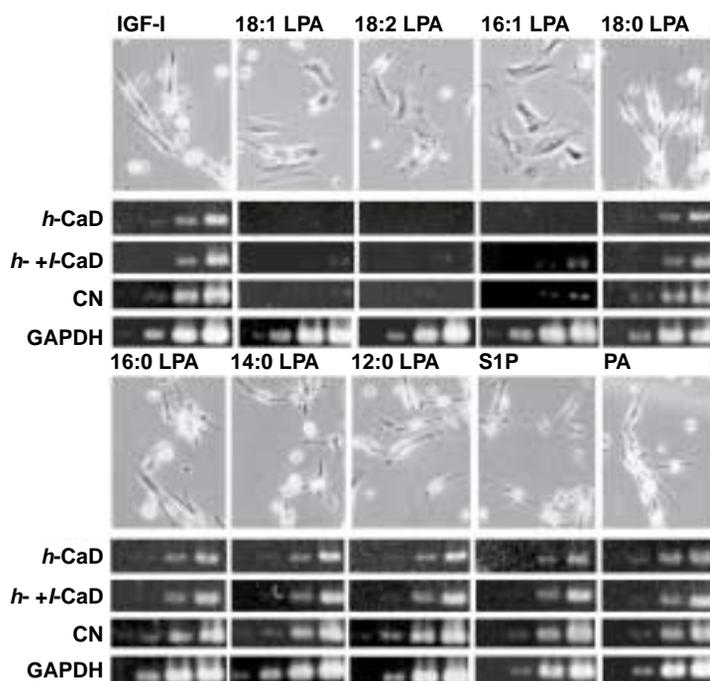


図5. 不飽和LPAは血管平滑筋細胞を特異的に脱分化する

LPA各分子種、スフィンゴシン-1-リン酸(S1P)、ホスファチジン酸(PA)による分化型血管平滑筋細胞に及ぼす影響を検討した(各1μM)。培養血管平滑筋細胞の形態と平滑筋細胞分子マーカー(図3と同じ)を示す。IGF-I(コントロール)は分化型維持培養条件。18:1, 18:2, 16:1 LPA(不飽和LPA)のみが脱分化能を示し、18:0, 16:0, 14:0, 12:0 LPA(飽和LPA)とS1P及びPAは脱分化能を示さない。

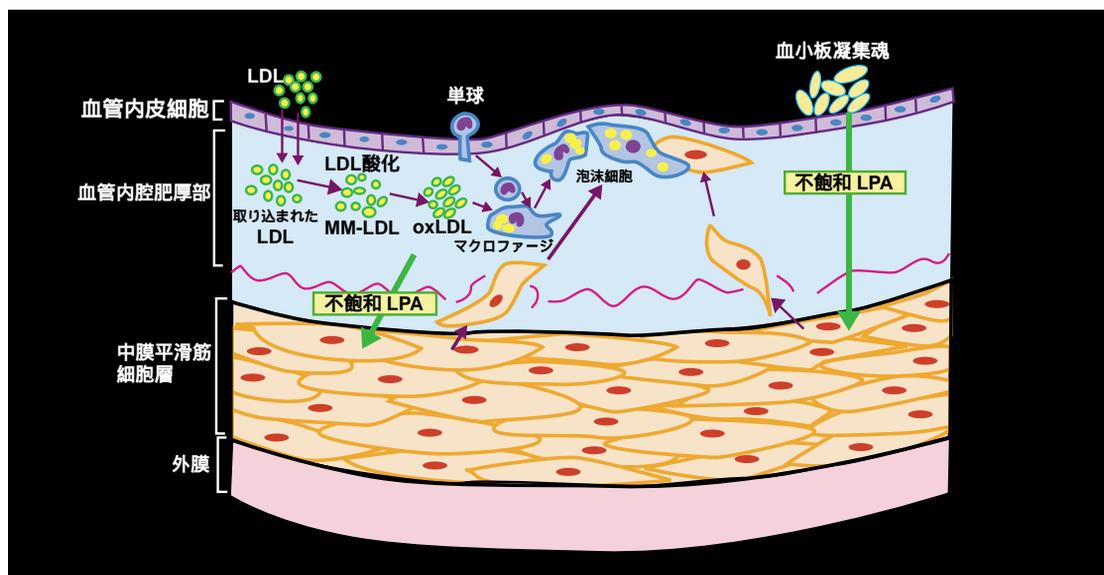


図6. 不飽和LPAを引き金とする動脈硬化発症モデル

不飽和LPAは、血管壁内に取り込まれたLDLの酸化による生成と血小板活性化により放出されるものと2つの経路がある（血清中の一群のLPA分子種は血小板のみならず、赤血球をはじめとした血球成分の細胞膜からリゾホスホリパーゼDによっても形成される）。いずれの不飽和LPAも強力な血管平滑筋細胞脱分化能を示し、この結果脱分化血管平滑筋細胞は遊走・増殖能を獲得して血管内腔肥厚層を形成し、ついには脂質貪食により泡沫細胞に至る。

動脈硬化症の予防・診断・治療法開発への展望 (おわりにかえて)

動脈硬化症の研究はその長い歴史にもかかわらず、遺伝子工学的手法の導入が遅れてきた分野である。その理由の1つは、前述した通りである。しかしながら、今後は急展開を示す分野でもあると期待される。但し、解析が進み動脈硬化発症メカニズムが分子レベルで語られるようになって、動脈硬化症はやはり生活習慣病である。つまり、食事内容からはじめて人間の生活様式に至るあらゆる点が、発症のリスク因子である。興味深い研究を紹介する。アフリカグリーン猿やネズミを用いた研究で、飽和脂肪酸の豊富な食餌を与えると心筋梗塞の発症頻度が高くなり、不飽和脂肪酸では逆に発症が抑制される。これは、栄養学の分野では古くから知られていたことであり、多くの追試が重ねられてきた。魚油が体に良い、動脈硬化発症を抑制するというのも同じ視点である。本文で紹介した我々の研究成果は、この食餌性研究と大いに関連しているように思われる。

現代はまさに飽食の時代。この中で、もう一度過去

を振り返りつつ、現代を見直す必要があるのかも知れない。前述したように遺伝子工学が進歩し、分子・遺伝子レベルで“細胞の営み”が語られても、人間の本質は語れない。同様に、生活・習慣に根ざした病気の本質も語れないであろう。本文に述べたように脂質を中心とした新たなうねりが、動脈硬化症の本態を明らかにする日もそう遠くない。従って、そこで得られる知見を基にして、発症診断ではなく発症前診断の開発により、発症予防の道が拓かれることが期待される。もちろん、発症原因の究明による治療法の開発は言わずもがなのことである。発症前診断・発症前予防と治療法開発があつてこそ、動脈硬化症というこの難物を人類が凌駕できると確信している。殊に発症前診断と発症前予防は、文頭で述べた心筋梗塞・脳卒中をはじめ血管性痴呆に至る現代の成人病に対抗しうる医学・医療の新戦略である。科学とは未知を知に変える学問である。古より知られていた経験則・民間療法の中にも、科学の光で燦然と輝く宝珠が必ずや存在する。近代医学・医療の進展を期待するとともに、現代人の生活・習慣を今一度見直す時期に来ているように思われる。

参 考 文 献

- 1) Stary HC, et al. : A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis : a report from the committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, american heart association. *Circulation*, **92** : 1355 ~ 1374, 1995.
- 2) Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM : Lessons from sudden coronary death : a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler*, **20** : 1262 ~ 1275, 2000.
- 3) Ross R : The pathogenesis of atherosclerosis : a perspective for the 1990s. *Nature*, **362** : 801 ~ 809, 1993.
- 4) Steinberg D, Lewis A : Conner Memorial Lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation*, **95** : 1062 ~ 1071, 1997.
- 5) Watson AD, et al. : Structural identification by mass spectrometry of oxidized phospholipids in minimally oxidized low density lipoprotein that induce monocyte / endothelial interactions and evidence for their presence *in Vivo*. *J Biol Chem*, **272** : 13597 ~ 13607, 1997.
- 6) Brown MS, Goldstein JL : A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science*, **232** : 34 ~ 47, 1986.
- 7) Sellers JR : Regulation of cytoplasmic and smooth muscle myosin. *Curr Opin Cell Biol*, **3** : 98 ~ 104, 1991.
- 8) Sobue K, et al. : A common actin-linked regulatory protein in the smooth muscle and nonmuscle contractile system. *J Cell Biochem*, **37** : 317 ~ 325, 1998.
- 9) Sobue K, Sellers JR. Caldesmon : A novel regulatory protein in smooth muscle and nonmuscle actomyosin systems. *J Biol Chem*, **266** : 12115 ~ 12118, 1991.
- 10) Owens GK, et al. : Expression of smooth muscle-specific α -isoactin in cultured vascular smooth muscle cells : relationship between growth and cytodifferentiation. *J Cell Biol*, **102** : 343 ~ 352, 1986.
- 11) Gimona M, et al. : Smooth muscle specific expression of calponin. *FEBS Lett*, **274** : 159 ~ 162, 1990.
- 12) Kashiwada K, et al. : Coordinate expression of α -tropomyosin and caldesmon isoforms in association with phenotypic modulation of smooth muscle cells. *J Biol Chem*, **272** : 15396 ~ 15404, 1997.
- 13) Obata H, Hayashi K, Nishida W, Momiyama T, Sobue K : Smooth muscle cell phenotype-dependent transcriptional regulation of the $\alpha 1$ integrin gene. *J Biol Chem*, **272** : 26643 ~ 26651, 1997.
- 14) Ueki N, Sobue K, Kanda K, Hada T, Higashino K : Expression of high and low molecular weight caldesmons during phenotypic modulation of smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **84** : 9049 ~ 9053, 1987.
- 15) Hayashi K, et al. : Genomic structure of the human caldesmon gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **89** : 12122 ~ 12126, 1992.
- 16) Glukhova MA, Frid MG, Koteliansky VE : Developmental changes in expression of contractile and cytoskeletal proteins in human aortic smooth muscle. *J Biol Chem*, **265** : 13042 ~ 13046, 1990.
- 17) Kuro-o M, et al. : Developmentally regulated expression of vascular smooth muscle myosin heavy chain isoforms. *J Biol Chem*, **264** : 18272 ~ 18275, 1989.
- 18) Yano H, et al. : Transcriptional Regulation of the Chicken Caldesmon Gene. *J Biol Chem*, **270** : 23661 ~ 23666, 1995.
- 19) Sobue K, Hayashi K, Nishida W : Expressional regulation of smooth muscle cell-specific genes in association with phenotypic modulation. *Mol Cell Biochem*, **190** : 105 ~ 118, 1999.
- 20) Hayashi K, et al. : Differentiated phenotype of smooth muscle cells depends on signaling pathways through insulin-like growth factors and phosphatidylinositol 3-kinase. *J Biol Chem*, **273** : 28860 ~ 28867, 1998.
- 21) Hayashi K, et al. : Changes in the balance of phosphoinositide 3-kinase / protein kinase B (Akt) and the mitogen-activated protein kinases (ERK / p38MAPK) determine a phenotype of smooth muscle cells. *J Cell Biol*, **145** : 727 ~ 740, 1999.
- 22) Hayashi K, et al. : Phenotypic modulation of vascular smooth muscle cells induced by unsaturated lysophosphatidic acids. *Cir. Res*, **89** : 251 ~ 258, 2001.
- 23) Nishida W, et al. : Smooth muscle cell-specific transcription of $\alpha 1$ integrin gene mediated by Nkx3.2, SRF, and GATA6. *EMBO J*, 2001 (in press) .
- 24) Siess W, et al. : Lysophosphatidic acid mediates the rapid

-
- activation of platelets and endothelial cells by mildly oxidized low density lipoprotein and accumulates in human atherosclerotic lesions. Proc Natl Acad Sci U S A, 96 : 6931 ~ 6936, 1999.
- 25) Hecht JH, et al. : Ventricular zone gene-1 (vzg-1) encodes a lysophosphatidic acid receptor expressed in neurogenic regions of the developing cerebral cortex. J Cell Biol, 135 : 1071 ~ 1083, 1996.
- 26) An S, et al. : Characterization of a novel subtype of human G protein-coupled receptor for lysophosphatidic acid. J Biol Chem, 273 : 7906 ~ 7910, 1998.
- 27) Bandoh K, et al. : Molecular cloning and characterization of a novel human G-protein-coupled receptor, EDG7, for lysophosphatidic acid. J Biol Chem, 274 : 27776 ~ 27785, 1999.

Molecular Mechanism During Development and Progression of Atherosclerosis

Kenji SOBUE

Department of Neuroscience, Osaka University Graduate School of Medicine

2-2 Yamadaoka, Suita 565-0871

Key Words

Phenotypic Modulation of Vascular Smooth Muscle Cell, Intimal Thickening, Unsaturated Lysophosphatidic Acid