

題 目

S100A12 の動脈炎症および血清脂質に及ぼす影響についての検討

こまつ ともひろ

小 松 知 広

(循環器病学 専攻)

防衛医科大学校

平成28年度

目 次

第1章 緒言	1 頁
第2章 健常人における血中S100A12濃度と血清HDL-C濃度等との関連についての検討	
第1節 背景	4 頁
第2節 研究方法および評価方法	6 頁
第3節 結果	8 頁
第4節 考察	10 頁
第3章 頸動脈硬化症患者におけるスタチン投与の血中S100A12濃度と血清脂質、動脈硬化性プラークの炎症に及ぼす影響	
第1節 背景	12 頁
第2節 研究方法および評価方法	15 頁
第3節 結果	18 頁
第4節 考察	20 頁
第4章 マウスにおけるヒト S100A12 強制発現の血清脂質に及ぼす影響に関する検討	
第1節 背景	24 頁
第2節 研究方法、材料および評価方法	26 頁
第3節 結果	28 頁
第4節 考察	29 頁

第5章 総括	3 1 頁
謝辞	3 2 頁
引用文献	3 3 頁
図表	4 1 頁

第1章 緒言

冠動脈疾患および脳血管疾患は先進諸国における主要な死因を占めているが、これら心血管疾患（cardiovascular disease：CVD）は動脈硬化を基盤とし、我が国においても癌とならぶ主要な死因を占めている。動脈硬化の原因として、従来、日本人に比較的多い高血圧が CVD 発症に大きく関与していたが、減塩施策や降圧治療の進歩により脳血管疾患は減少した。一方、脂質異常症、糖尿病、肥満、それらの重複した病態であるメタボリックシンドロームといった代謝異常症が、動脈硬化の原因として大きな位置を占めるようになってきている。

低比重リポ蛋白（low density lipoprotein：LDL）は、動脈硬化惹起性リポ蛋白として知られ、血中 LDL コレステロール（LDL-C）濃度が高いと CVD 発症が高いことが多くの疫学研究で明らかにされ、さらに HMG-CoA 還元酵素阻害薬（スタチン）を用いた脂質低下療法は、多くの介入試験によりその CVD 発症抑制効果が証明された¹。

一方、高比重リポ蛋白（High Density Lipoprotein：HDL）は、LDL が末梢組織にコレステロールを供給する役割を有するのとは対照的に、過剰に蓄積したコレステロールを末梢組織から引き抜き、肝臓へ運搬する役割を果たしている。HDL は、このコレステロール引き抜き能に加えて、抗炎症作用、抗酸化作用などを有した抗動脈硬化リポ蛋白として知られている。これまでの様々な国内外の疫学研究において、血中 HDL コレステロール（HDL-C）濃度は、冠動脈疾患の独立した予測因子であることが明らかとなっている²⁻⁴。

動脈硬化発症・進展における様々な過程で、炎症が大きく寄与していることがわかってきており⁵、その一つの機序として HDL との関わりが示唆されている。炎症が関与する病態では HDL-C 濃度が低下することは広く知られ、濃度のみならず HDL が持つ様々な好ましい機能を炎症が抑制するという報告がある⁶。血清

C 反応性タンパク (C-reactive protein : CRP) は全身性炎症マーカーとして知られているが、その高値と CVD 発症増加が関連する⁷。さらに高 CRP 血症では低 HDL-C 濃度を呈する場合が多く、日本人冠動脈疾患患者で予後が悪いとの報告がある⁸。一方、スタチンは LDL-C 低下作用に加えて抗炎症作用などの多面的効果 (pleiotropic effects) を有することが明らかになっている。HMG-CoA 還元酵素阻害薬 (スタチン) は、メバロン酸、ファルネシルピロリン酸、ゲラニルゲラニルピロリン酸の合成を抑制し、この下流に存在する低分子 G 蛋白 RhoA やニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸オキシダーゼの構成分子 Rac1 の活性化を抑制する。RhoA や Rac1 が炎症や血管収縮などに関与することから、スタチンは抗炎症効果を誘導すると考えられている^{9, 10}。実際、スタチンは血中 CRP 濃度を低下させること、CRP 濃度高値の冠動脈疾患患者においてより優れた CVD 予防効果を発揮することが知られている¹¹。

最近、血中 CRP 値と同様に、S100A12 の血中濃度高値が CVD 発症の増加に関連するとの報告がなされた¹²。S100A12 は calgranulin ファミリーに属し、RAGE (Receptor for advanced glycation end-products) のリガンドの一つとして知られている。RAGE は、糖尿病などにより生体内のタンパクが糖化された最終糖化産物 (AGEs : advanced glycation end-products) をリガンドとするマルチリガンド受容体であり、動脈硬化発症に寄与することが想定されている。S100A12 はこの RAGE を介して炎症や組織リモデリングなどを惹起すると考えられているがその生理作用についてはいまだ不明な点が多い。いくつかの基礎研究では、単球接着の促進、血管のリモデリングや動脈の石灰化など動脈硬化惹起作用の報告がある一方、単球によるサイトカイン産生の抑制、マトリックスメタロプロテアーゼ活性の抑制などの抗動脈硬化作用も報告されるなど多くの生理作用が報告されているが、いずれが正なる作用かについては一定した知見は得られて

いない¹³。一方、多くの臨床研究が血中 S100A12 濃度高値と動脈硬化性疾患発症¹⁴、あるいは不良な予後¹⁵との関連性を見いだしている。しかし、血中 S100A12 濃度に及ぼすスタチンの影響、および S100A12 濃度と HDL-C 濃度の関連についての報告はない。

上記の背景から、本研究では以下の 3 点について検討を行った。

- (1) 健常人における血中 S100A12 濃度と血清高比重リポ蛋白 (HDL-C) 濃度等との関連についての検討
- (2) 頸動脈硬化症患者におけるスタチン投与の血中 S100A12 濃度と血清脂質、動脈硬化性プラークの炎症に及ぼす影響
- (3) マウスにおけるヒト S100A12 強制発現の血清脂質に及ぼす影響に関する検討

第2章

健康人における血中 S100A12 濃度と血清 HDL-C 濃度等との関連についての検討

第1節 背景

低 HDL-C 血症は CVD 発症の独立したリスク因子として広く知られるが、炎症性疾患では低 HDL-C 血症を来すことから炎症による動脈硬化発症には HDL-C 低下が関与する可能性が指摘されている¹⁶。事実、血中 hsCRP 高値と低 HDL-C 血症との関連が示され、低 HDL-C 血症と関連が深い高 TG 血症、メタボリックシンドローム、肥満などにおいても高 CRP 血症との関連が見いだされている¹⁷⁻¹⁹。

CRP は主として肝臓で産生されるとされ、CRP の過剰発現マウスが動脈硬化発症に影響がなかった事実^{20, 21}から、CRP そのものは動脈硬化発症に直接的な役割を果たさない bystander である可能性がある。また、動脈硬化形成に及ぼす影響と同様に、CRP が直接 HDL 濃度を低下させることを示した研究はなく、低 HDL-C 血症に関しても CRP は bystander であることが想定される。そこで注目したのが S100A12 である。S100A12 は 24 種類以上のサブファミリーからなる低分子 S100 タンパクファミリーに属し、さらにその中でも S100A8/A9/A12 からなる calgranulin ファミリーの一つである。S100A12 の発現は上皮細胞、平滑筋細胞、骨髄細胞など様々な部位で認められ、血清 S100A12 濃度は単核球の S100A12 メッセンジャー RNA と強い正相関を示し²²、さらに血中 S100A12 濃度と白血球数および血中 CRP との間に強い正相関を認めている。多くの研究により、様々な遺伝子改変マウスの骨髄移植が動脈硬化に影響を与えることが知られているとおり、末梢白血球、単球などの骨髄由来細胞は動脈硬化発症・進展に大きな役割を果たしており²³、S100A12 は血中の白血球から産生され炎症に寄与することが想定される¹⁴。

以上の背景から、健常人における血中 S100A12 濃度と肥満指標や血圧などの身体計測値、血清脂質、およびその他の生化学的指標との関連について検討した。

第2節 研究方法および評価方法

(1) 対象

人間ハート病院で健康診断を実施した健康成人連続 165 名を対象に、身体計測、空腹時採血、CT による皮下/内臓脂肪面積測定を行った。以下を除外基準とした。①糖尿病 ($\text{HbA1c} \geq 6.5\%$)、②冠動脈疾患、③脳血管疾患、④末梢血管疾患、⑤その他のコントロール不良の疾患や降圧薬以外の定期的治療を受けている患者。その結果、健康成人 147 名が該当し、インフォームドコンセントを得て解析を施行した。

(2) 身体計測および皮下/内臓脂肪面積測定

ウエスト径、ヒップ径の測定は、National Health and Nutrition Examination Survey に従い施行した。身長および体重を計測し、Body Mass Index (BMI) は体重 (kg) を身長 (m) の 2 乗で除して求めた。皮下/内臓脂肪面積は、シングルスライス CT により既報²⁴の方法に従い計測した。

(3) 生化学的測定および Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法

血清脂質 (総コレステロール、トリグリセライド (TG)) およびグルコース濃度は酵素法、HDL-C 濃度はホモジニアス法で測定し、LDL-C は Friedewald の計算式で算出した。アポリポタンパク (アポ) は免疫比濁法により、レムナント様リポタンパクコレステロール (RLP-C) は RLP-コレステロール「JIMRO」II を用いて、ヘモグロビン A1c (HbA1c) は HPLC 法により、高感度 CRP (hsCRP) はデイドベアリング社の測定キットを用いて測定した。Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法を用いて、血中 S100A12 濃度 (S100A12/EN-RAGE kit、Circulex、Nagano、Japan)、Monocyte Chemotactic Protein-1 (MCP-1、Human CCL2/MCP-1 Immunoassay、R&D、Minneapolis、USA) を測定した。血中インスリン濃度は化学発光免疫測定法で測定した。homeostasis model

assessment-insulin resistance (HOMA-IR) は以下の式を用い算出した：空腹時インスリン値 (μ U/ml) \times 空腹時血糖値 (mg/dl) \div 405。

(4) 統計解析方法

正規分布するパラメータの結果は平均 \pm 標準偏差、正規分布しない場合には中央値および四分位範囲で表し、2群間の差は t 検定を用いて検討した。正規分布しないパラメータは log 変換後、正規分布することを確認し t 検定を行った。また、各パラメータにおける変化の相関は SAS もしくは JMP 統計ソフトを用い、Pearson の相関分析および多変量解析を行った。P 値は 0.05 未満を統計学的に有意な差（または相関）とした。

第3節 結果

対象の臨床的背景を表1に表す。青壮年（48.2±8.3歳，28～64歳）を対象とした健診という背景から、女性が男性の2倍弱であった。身体計測値および皮下/内臓脂肪面積に男女差が目立つため、男女別の比較を示した。男性では、BMI、ウエスト径、ウエスト・ヒップ比、内臓脂肪面積が女性と比較して有意に高値であったが、総脂肪面積や皮下脂肪面積に関しては男女間に差を認めなかった。男性は女性に比較し、拡張期血圧、TG/インスリン濃度、HOMA-IRが高値、HDL-Cは低値を示し、メタボリックシンドロームの臨床的特徴を有していた。収縮期血圧、HbA1c値、総コレステロール、LDL-C、hsCRP濃度には男女間に差を認めなかった。

健常成人において血清S100A12濃度を規定する因子を同定するために、諸因子との単相関分析を行った。その濃度はBMI、ウエスト径およびCTで測定した全脂肪/内臓脂肪面積と有意な正相関を認めたが、皮下脂肪面積とは関連がなかった（図1）。血清脂質については、総コレステロール、LDL-C、TG濃度とは相関がなかったが、HDL-C濃度と有意な負の相関を認めた（図2）。また、hsCRP濃度と有意な正相関を認めたが、MCP-1とは相関がなかった（図3）。HbA1c、空腹時血糖値、インスリン濃度、HOMA-IRといった糖代謝指標とはいずれも関連を認めなかった（図4）。

本研究では、HDL-C濃度はBMI、ウエスト径、ウエスト・ヒップ比、皮下/内臓脂肪面積、TG濃度と負の相関を認めた（図5）。さらにHDL-C濃度と糖代謝指標との関連を検討したところ、HDL-C濃度は、HbA1cと空腹時血糖とは相関を認めないものの、空腹時インスリン濃度、HOMA-IRと有意な負の相関を認めた（図6）。

S100A12を含めた炎症に関わる液性マーカーがHDL-C濃度といかなる関わりが

あるか検討するために、hsCRP および MCP-1 濃度との単相関をみたところ、hsCRP 濃度は HDL-C 濃度と逆相関関係を認めたが、MCP-1 とは関連性を認めなかった (図 7)。このように HDL-C 濃度は様々な因子に影響を受けるため、単相関分析で関連があった因子を説明変数 (BMI、収縮期血圧、LDL-C、TG、S100A12、hsCRP) として多変量解析にて検討を行った。多変量解析では、HDL-C 濃度と hsCRP 濃度の相関は消失し、TG 濃度、BMI とともに S100A12 濃度が有意な負の HDL-C 濃度の関連因子として示された (表 2)。

第4節 考 察

内臓脂肪の増加は低 HDL-C 血症の発症を惹起し、その他、高 TG 血症、高血圧、高インスリン血症といったメタボリックシンドロームの構成要素の原因となることは周知の事実である²⁵。本研究において、HDL-C 濃度が BMI、ウエスト径、ウエスト・ヒップ比、皮下/内臓脂肪面積、TG 濃度と有意な負の相関(図 5)、空腹時インスリン濃度、HOMA-IR と有意な負の相関を認めた(図 6)。以上より本研究の対象は、内臓脂肪型肥満を基盤としたメタボリックシンドロームを含む臨床的特徴を有している集団であることが確認された。

本研究の結果は、内臓脂肪増加による肥満により血中 S100A12 濃度が増加することを示唆した。同様の結果をいくつかの施設が報告しており、Ryder ら²⁶は血中 S100A12 濃度と BMI との正相関を、Yamaoka ら²⁷は末梢血の S100A12 mRNA レベルと BMI および内臓脂肪型肥満との関連を、それぞれ見いだしている。加えて、血中 S100A8/A9 濃度との関連についても、BMI²⁸ および内臓脂肪型肥満²⁷ との関連の報告があり、全ての S100/Calgranulin ファミリーの血中濃度は肥満において高値を示す可能性が示されている。S100A12 は 2 型糖尿病患者で高値²⁹、HOMA-IR と正相関²⁷などの糖尿病との関連した報告があるものの、本研究では S100A12 は HbA1c、空腹時血糖、インスリン値、HOMA-IR との関係性を認めなかった。これは本研究の対象が、非糖尿病の健常人から構成されていることに起因すると考えられる。

本研究では、S100A12 濃度が hsCRP と正相関することを見いだした。歯周病において血中 S100A12 濃度と hsCRP 濃度は正相関し³⁰、ヒト単球細胞株に CRP タンパクを添加すると S100A12 発現が増加する³¹。さらに、炎症性疾患(関節リウマチ³²、成人 Still 病³³、肺炎³⁴、炎症性腸疾患³⁵)の疾患活動性と S100A12 濃度高値が関連するという報告が相次いでおり、S100A12 と CRP は炎症性疾患で高値

となり、お互いが密接に関連することは明らかである。

LDL が末梢組織にコレステロールを供給する役割を有するのとは対照的に、HDL は末梢組織に過剰に蓄積したコレステロールを血中に引き抜き、肝臓へ運搬する役割を果たしている。さらに、HDL 由来のコレステロールは肝臓から胆汁として分泌され、最終的に糞便として体外に排出される。HDL が担うこの一連の経路をコレステロール逆転送系 (reverse cholesterol transport, RCT) と呼び、HDL はこの RCT を活性化することにより抗動脈硬化作用を発揮することが数多くの研究で報告されている。近年、炎症により HDL が修飾され、コレステロール引き抜き能が低下するなどの機能低下を来し、動脈硬化発症の基盤を形成することが提唱されている³⁶。本研究では、ヒトの横断研究により血中 S100A12 濃度が肥満および炎症マーカーと関連し、血清 S100A12 濃度が HDL-C 濃度と負の相関を示すことを見いだした。

第3章

頸動脈硬化症患者におけるスタチン投与の血中 S100A12 濃度と血清脂質、動脈硬化性プラークの炎症に及ぼす影響

第1節 背景

動脈硬化の進展に伴い発症する急性心筋梗塞は、動脈硬化性プラークが破綻することにより血栓閉塞を来し発症することが知られている³⁷。閉塞部位の組織像の特徴として、マクロファージなどの炎症細胞の浸潤が認められ、このことは前述した動脈硬化発症における炎症の寄与を支持する。

動脈硬化の臨床研究においては動脈硬化の検査法が重要であるが、近年、動脈壁の炎症を画像的に、また血管内皮機能を評価することが可能となってきた。Positron emission tomography /computed tomography (PET/CT)検査は、悪性腫瘍の検索・術後評価、認知症などの脳疾患評価、リウマチ等の炎症性疾患の活動性評価などに臨床応用されているが、ブドウ糖が炎症病変部へ集積することを利用して動脈壁の炎症が可視化される。具体的には、ブドウ糖誘導体である¹⁸F-fluoro-2-deoxy-D-glucose(¹⁸FDG)をトレーサーとして動脈炎症部位への集積度を画像化するFDG-PET/CT検査は動脈炎症を定量性かつ再現性をもって評価する³⁸⁻⁴⁰。これまで、ヒト頸動脈の動脈硬化病変においてPET/CTプラークイメージングのFDG集積度と病理所見を対比して検討した報告から、FDGが高集積する動脈硬化部位では、炎症の活動性が高いことが示された⁴¹。さらに頸動脈以外でも、胸部大動脈、腹部大動脈、総腸骨動脈や大腿動脈など広い部位での動脈炎症評価が測定可能となっている^{42, 43}。さらに、¹⁸FDGを用いたPET/CTを使ったスタチンの抗炎症効果が臨床的に示されている。スタチンを投与することにより比較的短期間で動脈炎症を改善すること⁴⁴、動脈のみならず歯周の炎症を抑

制すること⁴⁵が示されており、スタチンの全身的な抗炎症効果が見いだされている。

血管内皮機能は、超音波検査法で血流依存性血管拡張反応（flow-mediated vasodilation、FMD）を計測することにより定量評価が可能となった。上腕動脈の圧迫とその解除による動脈血管へのずり応力により血管内皮細胞から一酸化窒素（NO）が産生・放出されて血管拡張を誘発する。正常血管はNO産生が十分であるが、血管内皮障害を有する血管はNO産生が低下するため血管拡張反応が障害されるので、血管内皮機能障害と判断できる。血管内皮機能障害は動脈硬化の初期病変とされ、FMDがCVD発症予測のサロゲートマーカーとして広く使用されるようになってきている⁴⁶。スタチンは、メバロン酸やRhoを抑制することで一酸化窒素合成酵素eNOS発現を亢進して、内皮からのNO産生を増加させると考えられており¹⁰、事実、スタチン投与でFMDを改善することが報告されている⁴⁷。近年、血中S100A12濃度高値がヒトのCVD発症や予後不良と関連することが報告されるようになってきているものの^{12, 48}、スタチン投与によるS100A12濃度への影響、S100A12濃度と血清脂質及び動脈炎症との関連については報告されていない。

第2章でヒトの横断研究により血中S100A12濃度と血清脂質および炎症マーカーとの相関を示す知見が得られたことから、本研究では、頸動脈エコー検査により同定された動脈硬化性プラークを有する患者を対象に、スタチン投与群および対照（食事療法）群を比較する無作為介入試験を行ない、スタチン投与が血清脂質、血中S100A12およびCRP濃度、PET/CTプラークイメージングにより検出される動脈炎症へどのような影響を及ぼすか、またFMD等の各パラメータの変化にどのような関連が見られるかについて検討した。これまで、スタチン投与前後で頸動脈の動脈炎症を調べた先行研究などがあるものの、頸動脈お

よび胸部・腹部大動脈と広範囲の動脈炎症を調べた点、また血管内皮機能検査を同時に行うことで包括的に検討した点がこれまでにはなく、新たな知見が得られる研究と判断して施行した。

第2節 研究方法および評価方法

(1) 対象および研究デザイン

頚動脈エコー検査で動脈硬化性プラークを同定され、かつ LDL-C が 120 mg/dl 以上、180 mg/dl 未満の 32 例を研究対象とした。頚動脈プラークの定義として、内膜中膜複合体が局所的に 1.4mm 以上血管内腔に突出した病変とした。除外基準として、①悪性腫瘍、血管炎などの全身の炎症性疾患、②エントリー時にスタチンもしくはフィブラートを服用している患者、③症候性冠動脈疾患、あるいは脳血管疾患患者、④過去 6 ヶ月以内に、急性冠動脈疾患、脳卒中、経皮的冠動脈形成術、末梢動脈手術を受けた患者、⑤コントロール不良の糖尿病患者 (HbA1C > 8.5%)、⑥コントロール不良の高血圧患者、⑦その他研究参加が妥当でないと判断されたものとした。図 8 に示すとおり、対象をアトルバスタチン 10mg/日投与する群としない群に無作為に割り付けた。いずれの群においても、合併する疾患に応じた食事療法を指導した。12 週の研究期間の前後で、PET/CT による動脈炎症の評価、FMD による血管内皮機能評価、空腹時採血を行った。この前向きオープンラベル無作為割り付け介入研究については、防衛医科大学校倫理委員会の承認が得られ (承認番号 570)、Clinical Trials.gov に登録済み (登録 ID: NCT00920101) である。

(2) 頚動脈および大動脈 ¹⁸FDG-PET/CT プラークイメージング

4 時間以上の絶食後、体重 1kg あたり 3.7 Mbq の ¹⁸FDG を静脈注射し、2 時間後に Siemens 社製 PET/CT スキャナー (Biograph LS0 Emotion) により全身の PET イメージングを行った。同時に頸部から骨盤部の CT を撮影した。これら融合画像での頚動脈、胸部、腹部大動脈において、FDG の集積部位へ 1cm×1cm 円状の関心領域を設定し、画像で計測される最も高い FDG の集積度を測定してその値を Standardized Uptake Value (SUV) として表し、動脈炎症の定量的指標とし

た。対象の割り付けを知らされていない PET/CT 専門の判読者 2 名により、測定が行われた。算出された SUV を、各群各動脈にて平均±標準偏差として表した。

(3) FMD による血管内皮機能評価

FMD は上腕動脈径を超音波断層法により測定することにより行った。一定の安静臥床後、水銀柱血圧計のマンスレットを前腕に巻き、収縮期血圧以上に加圧することにより 5 分間の駆血を行い、圧を解放したのち、30 から 100 秒後の上腕動脈径を連続的に記録した。検査開始時の血管径からの最大拡張度 (%) を FMD (%) とした。15 分後、低血圧のないことを確認しニトログリセリン 300 μ g の舌下投与を行い、5 分間上腕動脈径を連続的に記録し、ニトログリセリン誘発性内皮非依存性血管拡張反応 (NMD : Nitroglycerin-mediated dilatation) を測定した。ニトログリセリンの投与禁忌例は問診等で十分に確認した。

(4) 生化学的測定および Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法

血清脂質、RLP-C、グルコース、HbA1c、高感度 CRP、S100A12、MCP-1 濃度は第 2 章と同じ方法で行った。マロンジアルデヒド修飾 LDL (MDA-LDL) は Kotani ら⁴⁹の方法を用いて測定した。ELISA 法を用いて、血中 S100A8/A9 濃度

(S100A8/MRP8 ELISA kit、S100A9/MRP14 ELISA kit、Circulex、Nagano、Japan)、Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α 、Human TNF- α Immunoassa、R&D、Minneapolis、USA)、Petraxin 3 (Human Pentraxin 3/TSG-14 ELISA System、Tokyo、Japan) を測定した。

(5) 統計解析の方法

正規分布するパラメータの結果は平均±標準偏差、正規分布しない場合には中央値および四分位範囲で表し、2 群間の差は t 検定を用いて検討した。正規分布しないパラメータは log 変換後、正規分布することを確認し t 検定を行った。また、各パラメータにおける変化の相関は SAS もしくは JMP 統計ソフトを用い、

Pearson の相関分析および多変量解析を行った。P 値は 0.05 未満を統計学的に有意な差（または相関）とした。

第3節 結果

(1) アトルバスタチン投与による血液生化学検査、炎症マーカー、血管内皮機能への影響

ベースラインの臨床的特徴について表3に示す。1名がPET/CT検査により悪性腫瘍（胃癌疑）が疑われ、研究参加を取りやめたため、研究期間を完遂したのはアトルバスタチン群16名、食事療法群（対照）群15名となった。性別、年齢、合併症、血清脂質値、併用薬剤に両群間の差を認めなかった。介入12週間前後の両群の結果を表4に示す。アトルバスタチン投与群で総コレステロール/LDL-C濃度がそれぞれ27/43%と著明に低下した。また、TG濃度も23%と有意に低下したが、HDL-C濃度は6%と増加傾向を認めるものの統計学的有意差は認めなかった。さらに、アトルバスタチン投与によりLDLのアポB/C-II/C-III/E、マロンジアルデヒド修飾LDL、RLP-C濃度が有意に低下した。食事療法群では、アポBがわずかに低下、HbA1cはわずかに増加した以外に有意な変化を認めなかった。

血清hsCRP濃度値はアトルバスタチン群で有意な低下を認め、既報⁵⁰の結果を支持するものであった。血清S100A12濃度は、hsCRPと同様にアトルバスタチン群で有意な減少を認めた一方、S100A8/A9濃度には変化がなかった。他の炎症性分子（TNF- α 、MCP-1、Pentraxin 3）には変化を認めなかった。

血管内皮機能に関しては、既報どおりアトルバスタチン投与によりFMDが有意に増加した。

(2) ¹⁸FDG-PET/CTを用いたアトルバスタチン投与による動脈炎症への影響

アトルバスタチン投与群で動脈硬化部位へのFDG集積低下、すなわち動脈炎症軽減の一例を示す（図9）。また、表5に¹⁸FDG集積による動脈炎症に及ぼすアトルバスタチン投与の影響について示す。食事療法群では、頸動脈/大動脈への

¹⁸FDG の集積に変化を認めなかったが、アトルバスタチン投与群では頸動脈、胸部大動脈、腹部大動脈の全ての領域で ¹⁸FDG 集積の低下を認め、スタチンによる抗炎症効果が確認された。

(3) スタチン投与による動脈炎症軽減と関連する因子についての検討—動脈の解剖学的局在による差異

スタチン投与による動脈炎症の軽減が、どのような因子と関連するかを検討するために単相関分析を行った。血清脂質との関連では、頸動脈の ¹⁸FDG 集積の低下と LDL-C の低下に有意な正相関を認める (図 10) 一方、腹部大動脈では ¹⁸FDG 集積の低下と HDL-C 上昇に有意な逆相関を認めた (図 11)。血中炎症マーカーとの関連について、胸部大動脈の動脈炎症改善は血中 hsCRP 濃度の低下と関連するものの (図 12)、いずれの動脈部位においても血清 S100A12 濃度の変化とは関連していなかった (図 13)。そこでアトルバスタチン投与により変化したパラメータを説明変数 (LDL-C、TG、MDA-LDL、S100A12、hsCRP、FMD) として使用した多変量解析を行ったところ、血中 S100A12 濃度の低下が MDA-LDL/hCRP 濃度の低下、FMD の増加とともに、胸部大動脈における ¹⁸FDG 集積低下と関連しており (表 6)、スタチンによる S100A12 の低下が胸部大動脈の炎症を軽減させる可能性を示唆した。

第4節 考察

(1) アトルバスタチン投与による血液生化学検査、炎症マーカー、血管内皮機能への影響

スタチンは HMG-CoA 還元酵素阻害作用によって肝臓のコレステロール生合成を抑制し、LDL 受容体発現を高めて血中 LDL の肝臓への取り込みを促進することにより LDL-C 濃度を低下させる。本研究においては、アトルバスタチン投与で LDL-C は 43% と著明な低下を認め、それに伴いアポ B の有意な低下、酸化修飾 LDL である MDA-LDL の有意な低下を認めた。このことはアポ B が LDL の構成タンパクであること、MDA-LDL が LDL と同様に LDL 受容体を介し肝臓に取り込まれることを支持する。アポ C-II/アポ C-III/アポ E は VLDL, レムナントリポ蛋白などの TG の豊富なりポ蛋白に多く存在し、RLP コレステロールも TG の豊富なりポ蛋白中のコレステロール濃度である。アポ C-II/アポ C-III/アポ E、RLP コレステロールの低下、また血清 TG の有意な低下は、TG の豊富なりポタンパクがスタチンにより低下したことを示している。これらのリポタンパクも、LDL 受容体から取り込まれ代謝されることが以前に示されており⁵¹、これを支持する結果となった。スタチンによる HDL-C 濃度増加効果については、肝臓におけるコレステロールトランスポーターである ATP 結合カセットトランスポーターA1 の発現を高めることを介し、肝臓における HDL 新生が高まることにより生じるとされる⁵²。本研究ではアトルバスタチンによる HDL-C 増加は明らかでなく、サンプルサイズ不足がその要因である可能性がある。

アトルバスタチン投与による血中 hsCRP 濃度の有意な低下は、既報と一致する結果であった⁵⁰。第2章で健常成人において血中 S100A12 濃度と CRP 濃度が正相関を示し、さらにスタチン投与は CRP 濃度と同様に血中 S100A12 濃度を有意に低下させた。Mahajan ら³¹は単球細胞株 THP-1 細胞に炎症タンパクを添加する

と S100A12 発現が増加し、アトルバスタチンを加えるとその増加が抑制されることを報告したが、この細胞実験における成績は本研究のヒトにおけるスタチンの効果を支持するものである。以上の結果から、本研究では、ヒトにおいて初めてスタチン投与が血中 S100A12 濃度を低下させることが示され、S100A12 がスタチンの抗炎症効果と抗動脈硬化作用に関与する分子である可能性が示唆された。その機序については今後の検討が必要である。

スタチンの脂質低下を介さない抗動脈硬化作用として、eNOS 活性化による血管内皮機能改善作用⁵³がある。多くの既報およびロスバスタチンを用いた以前の我々の検討⁵⁴と同様に、アトルバスタチン投与は FMD を有意に増加させた。

(2) ¹⁸FDG-PET/CT を用いたアトルバスタチン投与による動脈炎症への影響

加齢⁴²、メタボリックシンドローム⁵⁵など様々な病態において、PET/CT により動脈炎症が同定される。本研究では、PET/CT による動脈炎症を有する対象をエントリーするため、選択基準として頸動脈プラークを有することを採用した。その結果、すべての対象において頸動脈、胸腹部大動脈のいずれかに ¹⁸FDG 集積を認めた。12 週という短期間のアトルバスタチン投与により、すべての部位の ¹⁸FDG 集積を低下させた。頸部・胸部大動脈の ¹⁸FDG 集積低下は既報を支持する結果であったが⁴⁴、スタチンによる腹部大動脈の抗炎症効果は、今回の研究により初めて示された。

(3) スタチン投与による動脈炎症軽減と関連する因子についての検討—動脈の解剖学的局在による差異

我々は核磁気共鳴イメージング (MRI) による動脈硬化プラークを評価して、動脈硬化形成におよぼす種々の因子の寄与度、あるいはスタチンのプラーク退縮作用に、動脈の解剖学的局在の違いがあることを報告してきた^{54, 56, 57}。本研究でも、スタチン投与により変化する様々な因子が動脈炎症の軽減とどのよう

に関連するかについて検討した。興味深いことに、アトルバスタチン投与による動脈炎症軽減は、頸動脈においては LDL-C、胸部大動脈においては hsCRP、腹部大動脈においては HDL-C の変化と関連することが単相関分析により示され、スタチンによる動脈炎症の軽減の機序は動脈部位により異なることが示唆された。

単相関分析では、スタチンによる血中 S100A12 濃度の低下と動脈炎症軽減との関連を認めなかったが、hsCRP 濃度との交絡性が想定されるため多変量解析を行った結果、単相関分析で hsCRP と ¹⁸FDG 集積に有意な関連を認めた胸部大動脈において、S100A12 濃度の低下も動脈炎症軽減の有意な説明因子であることが分かった。この解析では MDA-LDL および hsCRP の低下、FMD の増加も有意な説明因子として残ることから、胸部大動脈においてはスタチンが動脈炎症を抑制する過程で様々な因子が複雑に寄与することが示唆される。画像モダリティで同定された胸部大動脈の動脈硬化は、血中 LDL-C 濃度などの古典的な CVD リスクファクターと比較して、冠動脈の動脈硬化のより強い予測因子であり、脳梗塞や死亡率の予測因子としても有用と報告⁵⁸⁻⁶¹されている。胸部大動脈においてのみ動脈炎症の改善と血中炎症タンパク濃度低下が関連するという動脈の解剖学的局在による差異については、一般的にヒトでは上肢より下肢に動脈硬化が発症しやすいという事実から、早期の動脈硬化部位により抗炎症効果があらわれやすい可能性も考えられる。前述のとおり、血中 S100A12 濃度が CVD 発症予測のバイオマーカーとして有用であること^{12, 48}に加え、いくつかの基礎研究も S100A12 が動脈硬化/炎症に関わる成績を報告している。Hofmann Bowman ら⁶²は、血管平滑筋細胞特異的ヒト S100A12 発現マウスでは、野生型と比較し、大動脈瘤を高率に発症することを報告し、Jiang ら⁶³はヒトにおいて血中 S100A12 高値と胸部大動脈解離発症との関連について見いだしている。これらの事実と本研

究で見いだされたスタチンによる動脈炎症軽減に S100A12 が関与するかもしれないという知見は符合する。S100A12 の分子機能は未だ明らかでなく、今後のさらなる検討により明らかとなることが期待される。

本研究はスタチンが血清 S100A12 濃度を低下させることを初めて示した。また、12 週という短い治療期間であっても、スタチンは動脈炎症を軽減すること、その動脈における抗炎症効果は様々な因子が関与することが示唆された。特に S100A12 は動脈炎症と密接に関連し、スタチンの抗動脈硬化の一端を担う可能性が示唆された。スタチンを用いた大規模臨床試験では、軽度ながら有意な HDL-C 濃度増加作用が報告されているが本研究では認められなかった。また、本研究では、S100A12 濃度と HDL-C 濃度との関連性も認めなかった。原因として、研究対象者が 31 名と少なかったことが挙げられる。また、スタチン投与による動脈炎症軽減と関連する動脈の解剖学的局在による差異については、研究（スタチン投与）期間が短いことが影響した可能性もあり、本研究のリミテーションと考えられる。

第4章

マウスにおけるヒト S100A12 強制発現の血清脂質に及ぼす影響に関する検討

第1節 背景

前述のように CRP そのものは動脈硬化発症に直接的な役割を果たさない bystander である可能性があるものの、血清 CRP 高値と CVD 発症増加、低 HDL-C 濃度が関連している⁷。第2章では、ヒトの横断研究により血中 S100A12 濃度は hsCRP 濃度とは正の相関を、HDL-C 濃度とは負の相関を示すことを見出した。既に血中 S100A12 濃度高値と CVD 発症増加が関連することが報告されているが、S100A12 高値と低 HDL-C 血症が関連するという成績は本研究が初めてである。また単相関分析にて HDL-C 濃度に最も強く相関するのは血中 TG 濃度であった。その機序としては、コレステリルエステル転送蛋白による TG リッチリポタンパクの TG と HDL のコレステリルエステルの相互交換反応が促進して HDL-C 濃度が低下することが考えられる。ところがこの集団で S100A12 濃度は TG 濃度との関連がなく、HDL-C 濃度のみと有意な負の相関を示し、さらに多変量解析でも他の因子とは独立した HDL-C 濃度の説明因子であった。このことは S100A12 が HDL 代謝に独自の影響を有している可能性を示唆した。さらに、第3章で S100A12 は頸動脈硬化症を有するヒトにおいてスタチンによる動脈炎症の軽減に関与する可能性も示唆された。

このように S100A12 は炎症に関与し、HDL 代謝に影響を与える可能性が示されたことから、本研究では動物実験によりさらなる検討を行った。マウスでは S100A12 の発現が欠損している⁶⁴ため、その過剰発現マウスは S100A12 の機能を探索するのに適切なモデルである。そこで本研究では、マウスにアデノウィルスベクターを用いヒト S100A12 を過剰発現させ、HDL をはじめとした血中脂質へ

の影響について検討を行った。

第2節 研究方法、材料および評価方法

(1) ヒト (h) S100A12 発現プラスミドの作成

防衛医科大学校組み換えDNA実験安全委員会の承認を得て(承認番号2011-14)、防衛医科大学校組み換えDNA実験安全管理規則に従い、実験を行った。hS100A12発現ベクターを導入した大腸菌を購入し(MGC Human S100A12 Sequence-Verified cDNA)、LB培地を用いてその大腸菌を培養し、QIAprep Spin MINIPrep kit(Qiagen)を用いてプラスミドDNAを抽出した。抽出したプラスミドDNAを鋳型に、表7に示すようなhS100A12特異的なプライマーを用いPCR反応(KOD-Plus-Ver.2、TOYOBO)を行った。得られた精製DNA産物をpENTR/D-TOPOクローニングkit(Invitrogen)を用いて、pENTR/D-TOPOにサブクローニングした。得られたエントリークローンについてダイレクトシーケンス反応を行い、全ての塩基配列がNCBI, Gene Bankから得たhS100A12 mRNA (Accession number: NM_005621)の配列と比較し、PCR反応のミスマッチがないことを確認した。ほ乳類細胞における発現ベクター、pcDNA3.2 V5-DESTとpENTRエントリークローンとでLR反応を行い発現ベクターを得た。トランスフェクションに使用するプラスミドベクターはEndofree Maxiprepキット(Qiagen)を用いて調製した。

(2) hS100A12 遺伝子組み換えアデノウィルスの調製

hS100A12発現アデノウィルスベクターの作製は、Invitrogen社のViraPower Adenoviral Expression Systemを用いて行った。hS100A12エントリークローンと、サイトメガロウィルス(CMV)プロモーターを持ち、ヒトアデノウィルスE1遺伝子を欠失するpAd/CMV/V5-DEST (Invitrogen)とでLR組換え反応を行った産物をHEK293細胞にトランスフェクションすることでリコンビナントE1欠損アデノウィルス(Ad-hS100A12)を得た。コントロールとして使用したルシフェラーゼ(Luciferase, Luc)を発現するアデノウィルスベクター(Ad-Luc)は米国

国立衛生研究所 Santanmarina-Fojo 博士から譲渡された。Fast-Trap ウイルス精製・濃縮キット (Millipore) を用いて HEK293 細胞およびその溶解液からウイルス粒子を濃縮・調製した。一部を用いてウイルス力価の測定を行い、残りを使用時まで -80°C に保存した。

(3) マウスにおけるヒト S100A12 過剰発現の血清脂質への影響

防衛医科大学校実験動物倫理委員会の承認を得て (承認番号 09058, 12042)、防衛医科大学校実験動物規則に従い実験を行った。6~7 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを日本クレア (東京) より購入し、動物実験に用いた。7~8 週齢の雄性 C57BL/6J マウス 17 匹を 2 群に分け、9 匹に Ad-Luc 8.0×10^8 plaque forming unit (PFU)、8 匹に Ad-hS100A12 8.0×10^8 PFU を尾静脈から投与し、ウイルス投与 4 日、7 日後に 4 時間以上の絶食期間をおいて採血を行い、経時的に血清脂質および S100A12 濃度を測定した。総コレステロールおよび TG はコレステロール E-テストワコーおよびトリグリセライド E-ワコー (和光純薬、大阪)、HDL-C 濃度はポリエチレングリコール沈殿法^{65, 66}、リン脂質 (PL) はリン脂質 C-ワコー (和光純薬、大阪) を用いて、ヒト S100A12 濃度は第 2 章と同じ方法で測定した。各群 8~9 匹から得た血清をプールし、中高压液体クロマトグラフィー (FPLC) を用いてリポタンパク分画の分離を行い、分画中のコレステロールおよびリン脂質濃度を上述のとおり測定した。

第3節 結果

前述のとおり、マウスでは S100A12 蛋白が欠損している⁶⁴ため S100A12 強制発現による効果を検討するのに適した動物モデルである。本研究で用いたアデノウイルスベクターはヒト遺伝性疾患の肝臓遺伝子導入に使用されたように、組織特異的プロモーターを用いなくても経静脈的全身投与によりほぼ 100%に近い肝臓特異的発現を誘導する。S100A12 は分泌タンパクであるため、肝臓での過剰発現によって血中 S100A12 濃度を増加させることが可能であると考えた。実際、図 14 に示すように、投与前測定限界以下であった S100A12 濃度が、Ad-hS100A12 経静脈投与 7 日目でヒトと同等レベルまで増加することを確認した。このとき肝臓の S100A12 mRNA レベルは対照の 800 倍強と増加し、他の臓器では変化がなかった。血中 S100A12 が明らかに増加する投与 7 日目において総コレステロールおよび HDL-C 濃度が低下した (図 15)。さらに、ウイルス投与後 7 日目の血清を FPLC で分離したりポタンパク分画のコレステロール、PL 濃度を測定したところ、対照と比較して S100A12 発現により HDL 分画のコレステロール、PL 濃度の低下を認めた (図 16)。

第4節 考 察

第2章健常人における研究で図5、表2に示すように、HDL-C濃度に最も強く相関するのは血中TG濃度であったが、S100A12濃度はTG濃度と関連なくHDL-C濃度のみと有意な負の相関を示し、さらに多変量解析でも他の因子とは独立したHDL-C濃度の説明因子であった。このことは、S100A12がHDL-C濃度を制御する可能性を示唆し、その仮説を検証するために、マウスにおいてアデノウィルスベクターの経静脈投与によりS100A12タンパクを強制発現させる実験を行なったが、強制発現によってS100A12血中濃度をヒトと同等レベルに増加させた結果、HDL-C (PL)濃度が低下した。従って、第2章でのヒトを対象とした研究結果が、マウスを用いた炎症関連分子S100A12の強制発現系でもHDL低下という形で確認された。マウスにおけるS100A12強制発現と血清脂質との関連についての知見は、唯一Hofmann Bowmanらが⁶⁷報告している。S100A12トランスジェニックマウスにおいて血清脂質に変化を認めなかったとしているものの、発現部位が血管平滑筋特異的であること、血中S100A12濃度が示されていないことから、この報告の結果から血清脂質への影響について議論することはできないと思われる。

本研究の動物実験における限界として、非生理的なモデルを用いていることが挙げられる。前述のとおり、S100A12は骨髄由来細胞から産生されること、血中S100A12濃度は末梢血白血球数と良い正相関を認めることから、マウスにおいてS100A12の機能を見るためには、ヒトプロモーターにより制御されるS100A12トランスジーンを導入し過剰発現モデルを得るか、精製S100A12タンパクをマウスに経静脈投与するのが理想的である。しかし、本研究では、確立された方法であるアデノウィルスによる発現を試みた。前述のとおり、アデノウィルス経静脈投与ではほぼ100%近くが肝臓で発現するため、HDL粒子をはじめ

リポタンパク代謝の中心的臓器である肝臓に S100A12 を強制発現することは、生理的な制御を越えた結果を得る可能性がある。すなわち、本来 S100A12 は、分泌タンパクとして細胞外から肝臓などの細胞に作用するはずだが、肝細胞過剰発現では外因性の細胞内タンパクが細胞内の脂質代謝に関わる分子に直接影響するという懸念である。しかし、血中 S100A12 の顕著な増加をもたらしたアデノウイルスによる肝臓過剰発現は、そういった懸念を考慮しても、S100A12 の脂質代謝に及ぼす影響をみるための有益なツールであり、これまで不明であったこの領域において一定の新知見をもたらしたものと考えられる。

以上より本研究では、ヒトにおいて血中 S100A12 濃度と肥満との関係を見いだし、ヒトおよびマウスにおいて S100A12 は血中 HDL-C 濃度を制御する可能性が示唆された。これらの詳細な機序については今後の検討を要するものと考えられる。

第5章

総括

第2章では、健常成人において血中 S100A12 濃度が hsCRP 濃度と正の相関、HDL-C 濃度と負の相関を、肥満の指標、特に内臓脂肪面積と正の相関を示すことを見出した。

第3章では、脂質低下薬スタチンの投与はヒトの血中 S100A12 濃度を低下させること、S100A12 がスタチン投与による動脈炎症軽減に何らかの形で関与すること、その S100A12 の効果には動脈の解剖学的局在により差があることについて述べた。

第4章では、第2章の健常成人において血中 S100A12 濃度高値と HDL-C 濃度低値の関連性を、マウスでのヒト S100A12 強制発現により血中 HDL 濃度が低下するという知見で確認でき、S100A12 が直接血中 HDL-C 濃度を負に制御する可能性が示唆された。

スタチンは主として脂質低下作用を介し心血管疾患死を減少させると考えられているが、脂質以外の作用として最も注目されるのが抗炎症作用である。血中 CRP 濃度はこのスタチンの抗炎症作用のマーカーとして用いられてきたが、CRP そのものが動脈硬化形成過程に積極的に関わりとした成績はわずかで、動脈硬化治療の標的としての意義は失われつつあるのが現状である。また、血中 HDL-C 濃度が炎症により低下し、おそらく炎症による動脈硬化進展の一端をその低 HDL 血症が増幅させていることは以前より指摘されていた。しかし、なぜ炎症が HDL-C 濃度を低下させることは明らかではなかった。本研究の意義深い点は、S100A12 は CRP と異なり、動脈硬化形成過程および低 HDL 血症の発症に直接関わる可能性を提示したところにある。

しかし未だ残された疑問が存在する。1) 動脈硬化形成過程および低 HDL 血

症における S100A12 の作用は RAGE を介するか、2) 動脈硬化性疾患・炎症性疾患など、種々の疾患においても、血中 S100A12 濃度と HDL-C および CRP 濃度に
関連があるか、3) S100A12 が生理的に発現するモデルにおいて S100A12 発現(あ
るいはその作用)を抑制することにより、炎症および血中 HDL-C 濃度は変化す
るか、などである。これらの疑問に答えが与えられれば、動脈硬化性疾患およ
び低 HDL-C 血症における治療標的としての S100A12 の注目度が上がると考えら
れる。

本研究で得られた知見は、心血管疾患発症リスクが高い患者の層別に S100A12
が有用なバイオマーカーとなり得る可能性を提示し、さらには S100A12 をター
ゲットとした動脈硬化抑制治療戦略の創出に道を拓くものであり、今後、この
領域の研究発展がますます期待される。

謝 辞

本研究の遂行、論文の作成、留学中の研究指導に際し、終始ご教授賜りました、
防衛医科大学校内科学教授 池脇克則先生、同非常勤講師 綾織誠人先生、米
国国立衛生研究所 心肺血液研究所 脂質代謝部門 教授 Dr. Alan T. Remaley
に謹んで感謝御礼申し上げます。

引用文献

1. Fulcher J, O'Connell R, Voysey M, Emberson J, Blackwell L, Mihaylova B, Simes J, Collins R, Kirby A, Colhoun H, Braunwald E, La Rosa J, Pedersen TR, Tonkin A, Davis B, Sleight P, Franzosi MG, Baigent C and Keech A. Efficacy and safety of LDL-lowering therapy among men and women: meta-analysis of individual data from 174,000 participants in 27 randomised trials. *Lancet*. 2015;385:1397-405.
2. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, Jacobs DR, Jr., Bangdiwala S and Tyroler HA. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation*. 1989;79:8-15.
3. Kitamura A, Iso H, Naito Y, Iida M, Konishi M, Folsom AR, Sato S, Kiyama M, Nakamura M, Sankai T and et al. High-density lipoprotein cholesterol and premature coronary heart disease in urban Japanese men. *Circulation*. 1994;89:2533-9.
4. Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, Wood AM, Lewington S, Sattar N, Packard CJ, Collins R, Thompson SG and Danesh J. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA*. 2009;302:1993-2000.
5. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340:115-26.
6. Ansell BJ. Targeting the anti-inflammatory effects of high-density lipoprotein. *Am J Cardiol*. 2007;100:n3-9.
7. Emerging Risk Factors C, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R and Danesh J. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet*. 2010;375:132-40.
8. Ogita M, Miyauchi K, Tsuboi S, Shitara J, Endo H, Wada H, Doi S, Naito R, Konishi H, Dohi T, Kasai T, Tamura H, Okazaki S, Suwa S and Daida H. Impact of Combined C-Reactive Protein and High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels on Long-Term Outcomes in Patients With Coronary Artery Disease After a First Percutaneous Coronary Intervention. *Am J Cardiol*. 2015;116:999-1002.
9. Ni W, Egashira K, Kataoka C, Kitamoto S, Koyanagi M, Inoue S and Takeshita A. Antiinflammatory and antiarteriosclerotic actions of

- HMG-CoA reductase inhibitors in a rat model of chronic inhibition of nitric oxide synthesis. *Circ Res.* 2001;89:415-21.
10. Takemoto M and Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:1712-9.
 11. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT and Glynn RJ. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med.* 2008;359:2195-207.
 12. Saito T, Hojo Y, Ogoyama Y, Hirose M, Ikemoto T, Katsuki T, Shimada K and Kario K. S100A12 as a marker to predict cardiovascular events in patients with chronic coronary artery disease. *Circ J.* 2012;76:2647-52.
 13. Geczy CL, Chung YM and Hiroshima Y. Calgranulins may contribute vascular protection in atherogenesis. *Circ J.* 2014;78:271-80.
 14. Abbas A, Aukrust P, Dahl TB, Bjerkeli V, Sagen EB, Michelsen A, Russell D, Krohg-Sorensen K, Holm S, Skjelland M and Halvorsen B. High levels of S100A12 are associated with recent plaque symptomatology in patients with carotid atherosclerosis. *Stroke.* 2012;43:1347-53.
 15. He YY, Yan W, Liu CL, Li X, Li RJ, Mu Y, Jia Q, Wu FF, Wang LL and He KL. Usefulness of S100A12 as a prognostic biomarker for adverse events in patients with heart failure. *Clin Biochem.* 2015;48:329-33.
 16. Connelly MA, Shalaurova I and Otvos JD. High-density lipoprotein and inflammation in cardiovascular disease. *Transl Res.* 2016;173:7-18.
 17. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D and Northfield TC. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ.* 1996;312:1061-5.
 18. Yamada S, Gotoh T, Nakashima Y, Kayaba K, Ishikawa S, Nago N, Nakamura Y, Itoh Y and Kajii E. Distribution of serum C-reactive protein and its association with atherosclerotic risk factors in a Japanese population : Jichi Medical School Cohort Study. *Am J Epidemiol.* 2001;153:1183-90.
 19. Nagasawa SY, Ohkubo T, Masaki K, Barinas-Mitchell E, Miura K, Seto T, El-Saed A, Kadowaki T, Willcox BJ, Edmundowicz D, Kadota A, Evans RW, Kadowaki S, Fujiyoshi A, Hisamatsu T, Bertolet MH, Okamura T, Nakamura

- Y, Kuller LH, Ueshima H and Sekikawa A. Associations between Inflammatory Markers and Subclinical Atherosclerosis in Middle-aged White, Japanese-American and Japanese Men: The ERA-JUMP Study. *J Atheroscler Thromb.* 2015;22:590-8.
20. Clapp BR, Hirschfield GM, Storry C, Gallimore JR, Stidwill RP, Singer M, Deanfield JE, MacAllister RJ, Pepys MB, Vallance P and Hingorani AD. Inflammation and endothelial function: direct vascular effects of human C-reactive protein on nitric oxide bioavailability. *Circulation.* 2005;111:1530-6.
21. Schwedler SB, Amann K, Wernicke K, Krebs A, Nauck M, Wanner C, Potempa LA and Galle J. Native C-reactive protein increases whereas modified C-reactive protein reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation.* 2005;112:1016-23.
22. Hara M, Ando M, Morito T, Nokiba H, Iwasa Y, Tsuchiya K and Nitta K. S100A12 gene expression is increased in peripheral leukocytes in chronic kidney disease stage 4-5 patients with cardiovascular disease. *Nephron Clin Pract.* 2013;123:202-8.
23. Aparicio-Vergara M, Shiri-Sverdlov R, de Haan G and Hofker MH. Bone marrow transplantation in mice as a tool for studying the role of hematopoietic cells in metabolic and cardiovascular diseases. *Atherosclerosis.* 2010;213:335-44.
24. Yoshizumi T, Nakamura T, Yamane M, Islam AH, Menju M, Yamasaki K, Arai T, Kotani K, Funahashi T, Yamashita S and Matsuzawa Y. Abdominal fat: standardized technique for measurement at CT. *Radiology.* 1999;211:283-6.
25. Alberti KG, Zimmet P and Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet.* 2005;366:1059-62.
26. Ryder E, Pedreanez A, Vargas R, Pena C, Fernandez E, Diez-Ewald M and Mosquera J. Increased proinflammatory markers and lipoperoxidation in obese individuals: Inicial inflammatory events? *Diabetes Metab Syndr.* 2014;9:280-6.
27. Yamaoka M, Maeda N, Nakamura S, Mori T, Inoue K, Matsuda K, Sekimoto R, Kashine S, Nakagawa Y, Tsushima Y, Fujishima Y, Komura N, Hirata A, Nishizawa H, Matsuzawa Y, Matsubara K, Funahashi T and Shimomura I. Gene expression levels of S100 protein family in blood cells are associated with insulin resistance and inflammation (Peripheral blood

- S100 mRNAs and metabolic syndrome). *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;433:450–5.
28. Mortensen OH, Nielsen AR, Erikstrup C, Plomgaard P, Fischer CP, Krogh-Madsen R, Lindegaard B, Petersen AM, Taudorf S and Pedersen BK. Calprotectin—a novel marker of obesity. *PLoS One.* 2009;4:e7419.
 29. Kosaki A, Hasegawa T, Kimura T, Iida K, Hitomi J, Matsubara H, Mori Y, Okigaki M, Toyoda N, Masaki H, Inoue-Shibata M, Nishikawa M and Iwasaka T. Increased plasma S100A12 (EN-RAGE) levels in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:5423–8.
 30. Pradeep AR, Martande SS, Singh SP, Suke DK, Raju AP and Naik SB. Correlation of human S100A12 (EN-RAGE) and high-sensitivity C-reactive protein as gingival crevicular fluid and serum markers of inflammation in chronic periodontitis and type 2 diabetes. *Inflamm Res.* 2014;63:317–23.
 31. Mahajan N, Bahl A and Dhawan V. C-reactive protein (CRP) up-regulates expression of receptor for advanced glycation end products (RAGE) and its inflammatory ligand EN-RAGE in THP-1 cells: inhibitory effects of atorvastatin. *Int J Cardiol.* 2010;142:273–8.
 32. Nordal HH, Brun JG, Halse AK, Jonsson R, Fagerhol MK and Hammer HB. The neutrophil protein S100A12 is associated with a comprehensive ultrasonographic synovitis score in a longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis treated with adalimumab. *BMC Musculoskelet Disord.* 2014;15:335.
 33. Bae CB, Suh CH, An JM, Jung JY, Jeon JY, Nam JY and Kim HA. Serum S100A12 may be a useful biomarker of disease activity in adult-onset Still's disease. *J Rheumatol.* 2014;41:2403–8.
 34. Hou F, Wang L, Wang H, Gu J, Li M, Zhang J, Ling X, Gao X and Luo C. Elevated gene expression of S100A12 is correlated with the predominant clinical inflammatory factors in patients with bacterial pneumonia. *Mol Med Rep.* 2015;11:4345–52.
 35. Wright EK, Kamm MA, De Cruz P, Hamilton AL, Ritchie KJ, Keenan JI, Leach S, Burgess L, Aitchison A, Gorelik A, Liew D, Day AS and Gearry RB. Comparison of Fecal Inflammatory Markers in Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22:1086–94.
 36. Rosenson RS, Brewer HB, Jr., Ansell BJ, Barter P, Chapman MJ, Heinecke JW, Kontush A, Tall AR and Webb NR. Dysfunctional HDL and

- atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2016;13:48–60.
37. Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D, Hjemdahl-Monsen CE, Leavy J, Weiss M, Borricco S, Gorlin R and Fuster V. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1988;12:56–62.
 38. Rudd JH, Warburton EA, Fryer TD, Jones HA, Clark JC, Antoun N, Johnstrom P, Davenport AP, Kirkpatrick PJ, Arch BN, Pickard JD and Weissberg PL. Imaging atherosclerotic plaque inflammation with [18F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Circulation*. 2002;105:2708–11.
 39. Rudd JH, Myers KS, Bansilal S, Machac J, Rafique A, Farkouh M, Fuster V and Fayad ZA. (18)Fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging of atherosclerotic plaque inflammation is highly reproducible: implications for atherosclerosis therapy trials. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:892–6.
 40. Pedersen SF, Graebe M, Fisker Hag AM, Hojgaard L, Sillesen H and Kjaer A. Gene expression and 18FDG uptake in atherosclerotic carotid plaques. *Nucl Med Commun*. 2010;31:423–9.
 41. Tawakol A, Migrino RQ, Bashian GG, Bedri S, Vermylen D, Cury RC, Yates D, LaMuraglia GM, Furie K, Houser S, Gewirtz H, Muller JE, Brady TJ and Fischman AJ. In vivo 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging provides a noninvasive measure of carotid plaque inflammation in patients. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:1818–24.
 42. Bural GG, Torigian DA, Chamroonrat W, Houseni M, Chen W, Basu S, Kumar R and Alavi A. FDG-PET is an effective imaging modality to detect and quantify age-related atherosclerosis in large arteries. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35:562–9.
 43. Rudd JH, Myers KS, Bansilal S, Machac J, Pinto CA, Tong C, Rafique A, Hargeaves R, Farkouh M, Fuster V and Fayad ZA. Atherosclerosis inflammation imaging with 18F-FDG PET: carotid, iliac, and femoral uptake reproducibility, quantification methods, and recommendations. *J Nucl Med*. 2008;49:871–8.
 44. Tawakol A, Fayad ZA, Mogg R, Alon A, Klimas MT, Dansky H, Subramanian SS, Abdelbaky A, Rudd JH, Farkouh ME, Nunes IO, Beals CR and Shankar SS. Intensification of statin therapy results in a rapid reduction in

- atherosclerotic inflammation: results of a multicenter fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography feasibility study. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:909-17.
45. Subramanian S, Emami H, Vucic E, Singh P, Vijayakumar J, Fifer KM, Alon A, Shankar SS, Farkouh M, Rudd JH, Fayad ZA, Van Dyke TE and Tawakol A. High-dose atorvastatin reduces periodontal inflammation: a novel pleiotropic effect of statins. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:2382-91.
 46. Yeboah J, Sutton-Tyrrell K, McBurnie MA, Burke GL, Herrington DM and Crouse JR. Association between brachial artery reactivity and cardiovascular disease status in an elderly cohort: the cardiovascular health study. *Atherosclerosis*. 2008;197:768-76.
 47. Zhang L, Gong D, Li S and Zhou X. Meta-analysis of the effects of statin therapy on endothelial function in patients with diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 2012;223:78-85.
 48. Ligthart S, Sedaghat S, Ikram MA, Hofman A, Franco OH and Dehghan A. EN-RAGE: a novel inflammatory marker for incident coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34:2695-9.
 49. Kotani K, Maekawa M, Kanno T, Kondo A, Toda N and Manabe M. Distribution of immunoreactive malondialdehyde-modified low-density lipoprotein in human serum. *Biochim Biophys Acta*. 1994;1215:121-5.
 50. Jialal I, Stein D, Balis D, Grundy SM, Adams-Huet B and Devaraj S. Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme a reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels. *Circulation*. 2001;103:1933-5.
 51. Chappell DA, Fry GL, Waknitz MA, Muhonen LE and Pladet MW. Low density lipoprotein receptors bind and mediate cellular catabolism of normal very low density lipoproteins in vitro. *J Biol Chem*. 1993;268:25487-93.
 52. Tamehiro N, Shigemoto-Mogami Y, Kakeya T, Okuhira K, Suzuki K, Sato R, Nagao T and Nishimaki-Mogami T. Sterol regulatory element-binding protein-2- and liver X receptor-driven dual promoter regulation of hepatic ABC transporter A1 gene expression: mechanism underlying the unique response to cellular cholesterol status. *J Biol Chem*. 2007;282:21090-9.
 53. Balakumar P, Kathuria S, Taneja G, Kalra S and Mahadevan N. Is targeting eNOS a key mechanistic insight of cardiovascular defensive potentials of statins? *J Mol Cell Cardiol*. 2012;52:83-92.

54. Yogo M, Sasaki M, Ayaori M, Kihara T, Sato H, Takiguchi S, Uto-Kondo H, Yakushiji E, Nakaya K, Komatsu T, Momiyama Y, Nagata M, Mochio S, Iguchi Y and Ikewaki K. Intensive lipid lowering therapy with titrated rosuvastatin yields greater atherosclerotic aortic plaque regression: Serial magnetic resonance imaging observations from RAPID study. *Atherosclerosis*. 2014;232:31-9.
55. Tahara N, Kai H, Yamagishi S, Mizoguchi M, Nakaura H, Ishibashi M, Kaida H, Baba K, Hayabuchi N and Imaizumi T. Vascular inflammation evaluated by [18F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography is associated with the metabolic syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:1533-9.
56. Yonemura A, Momiyama Y, Fayad ZA, Ayaori M, Ohmori R, Higashi K, Kihara T, Sawada S, Iwamoto N, Ogura M, Taniguchi H, Kusuhara M, Nagata M, Nakamura H, Tamai S and Ohsuzu F. Effect of lipid-lowering therapy with atorvastatin on atherosclerotic aortic plaques detected by noninvasive magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:733-42.
57. Taniguchi H, Momiyama Y, Fayad ZA, Ohmori R, Ashida K, Kihara T, Hara A, Arakawa K, Kameyama A, Noya K, Nagata M, Nakamura H and Ohsuzu F. In vivo magnetic resonance evaluation of associations between aortic atherosclerosis and both risk factors and coronary artery disease in patients referred for coronary angiography. *Am Heart J*. 2004;148:137-43.
58. Solberg LA and Strong JP. Risk factors and atherosclerotic lesions. A review of autopsy studies. *Arteriosclerosis*. 1983;3:187-98.
59. Fazio GP, Redberg RF, Winslow T and Schiller NB. Transesophageal echocardiographically detected atherosclerotic aortic plaque is a marker for coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 1993;21:144-50.
60. Wittteman JC, Kannel WB, Wolf PA, Grobbee DE, Hofman A, D'Agostino RB and Cobb JC. Aortic calcified plaques and cardiovascular disease (the Framingham Study). *Am J Cardiol*. 1990;66:1060-4.
61. Cohen A, Tzourio C, Bertrand B, Chauvel C, Bousser MG and Amarenco P. Aortic plaque morphology and vascular events: a follow-up study in patients with ischemic stroke. FAPS Investigators. French Study of Aortic Plaques in Stroke. *Circulation*. 1997;96:3838-41.
62. Hofmann Bowman M, Wilk J, Heydemann A, Kim G, Rehman J, Lodato JA, Raman J and McNally EM. S100A12 mediates aortic wall remodeling and aortic

- aneurysm. *Circ Res.* 2010;106:145-54.
63. Jiang W, Wang Z, Hu Z, Wu H, Zhang M, Hu X, Ren Z and Chen H. Highly expressed S100A12 in aortic wall of patients with DeBakey type I aortic dissection could be a promising marker to predict perioperative complications. *Ann Vasc Surg.* 2014;28:1556-62.
 64. Fuellen G, Foell D, Nacken W, Sorg C and Kerkhoff C. Absence of S100A12 in mouse: implications for RAGE-S100A12 interaction. *Trends Immunol.* 2003;24:622-4.
 65. Komori H, Arai H, Kashima T, Huby T, Kita T and Ueda Y. Coexpression of CLA-1 and human PDZK1 in murine liver modulates HDL cholesterol metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28:1298-303.
 66. Chiba H, Akita H, Tsuchihashi K, Hui SP, Takahashi Y, Fuda H, Suzuki H, Shibuya H, Tsuji M and Kobayashi K. Quantitative and compositional changes in high density lipoprotein subclasses in patients with various genotypes of cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J Lipid Res.* 1997;38:1204-16.
 67. Hofmann Bowman MA, Gawdzik J, Bukhari U, Husain AN, Toth PT, Kim G, Earley J and McNally EM. S100A12 in vascular smooth muscle accelerates vascular calcification in apolipoprotein E-null mice by activating an osteogenic gene regulatory program. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011;31:337-44.

表1 健康成人147名における横断研究-対象の臨床的背景

	男性 (n=53)	女性 (n=94)	総合 (n=147)
年齢, 歳	46.5±9.4	49.1±7.5	48.2±8.3
BMI, kg/m ²	25.3±3.9 *	23.6±3.4	24.2±3.7
ウエスト径, cm	88.2±10.0 †	77.6±10.3	81.4±11.4
ウエスト・ヒップ比	0.9±0.0 †	0.8±0.1	0.9±0.1
総脂肪面積, cm ²	316±133	288±116	298±122
皮下脂肪面積, cm ²	170±98.3	195±82.0	186±88.7
内臓脂肪面積, cm ²	146±50.9 †	93±44.6	112±53.3
収縮期血圧, mmHg	119±14.8	117±16.2	118±15.6
拡張期血圧, mmHg	77.4±11.1 *	72.0±10.4	74.0±10.9
空腹時血糖, mg/dl	92.8±12.3	90.3±11.2	91.2±11.6
空腹時インスリン値, μU/ml	9.2±6.2 *	6.6±4.0	7.5±5.0
HOMA-IR	1.72 [1.02-2.84] *	1.20 [0.82-1.77]	1.37 [0.87-2.27]
HbA1c, %	4.92±0.47	4.97±0.39	4.95±0.42
TC, mg/dl	209±28.7	205±33.0	206±31.5
LDL-C, mg/dl	131±28.5	122±31.3	125±30.5
TG, mg/dl	117 [76.0-162] †	74 [56.0-98.0]	83 [60.0-122]
HDL-C, mg/dl	57.6±17.5 †	67.8±15.2	64.1±16.8
RLP-C, mg/dl	4.60 [3.50-7.50] †	3.70 [3.00-4.70]	3.90 [3.20-5.10]
hsCRP, mg/l	0.42 [0.19-0.89]	0.38 [0.16-0.65]	0.40 [0.18-0.75]
MCP-1, pg/ml	48.3±16.9 *	40.5±15.7	43.6±16.6
S100A12, ng/ml	76.4±36.3 *	61.7±23.4	67.0±29.5

略語: HOMA-IR, homeostasis model assessment-insulin resistance; HbA1c, hemoglobin A1c; TC, total cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; RLP-C, remnant-like particle-cholesterol, レムナント様リポ蛋白コレステロール; hsCRP, high sensitive C-reactive protein.

各値は、平均±標準偏差(ただし、HOMA-IR, TG, RLP-CおよびhsCRPは、中央値と四分位範囲)で表した。

* P<0.05, † P<0.001 vs 女性

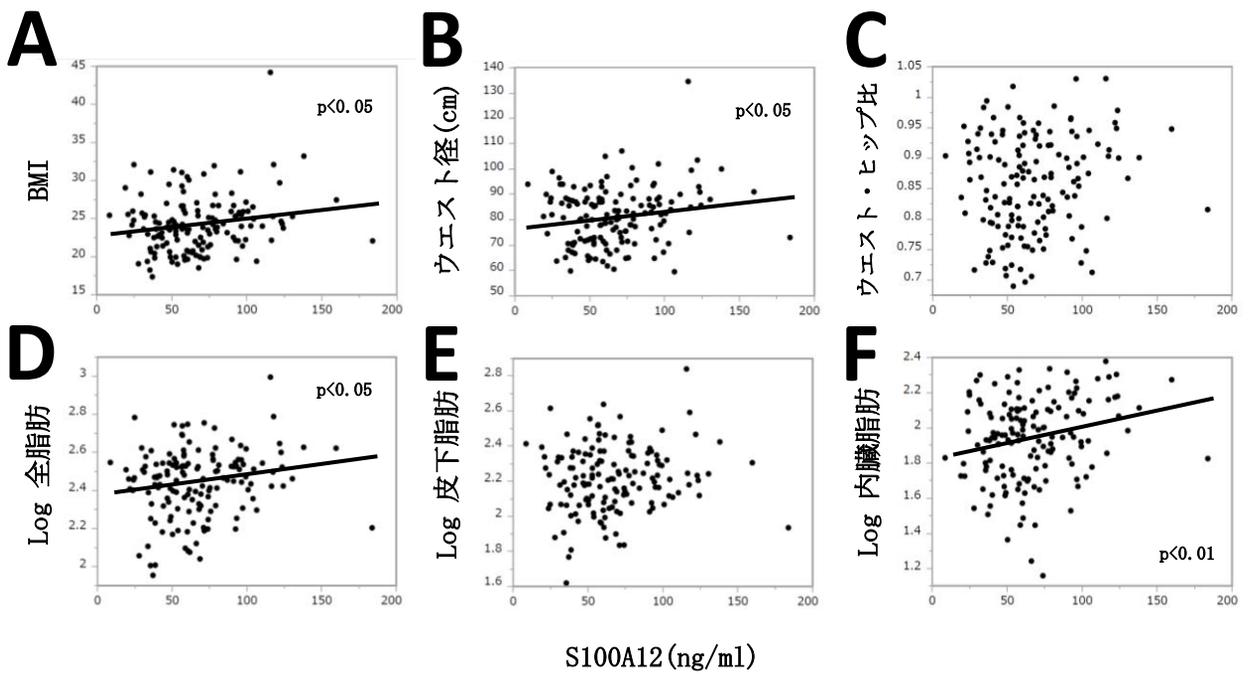


図1 S100A12が身体計測値へ及ぼす影響

S100A12と、(A)BMI、(B)ウエスト径、(C)ウエスト・ヒップ比、(D)全脂肪、(E)皮下脂肪、(F)内臓脂肪との関連性について検討した。

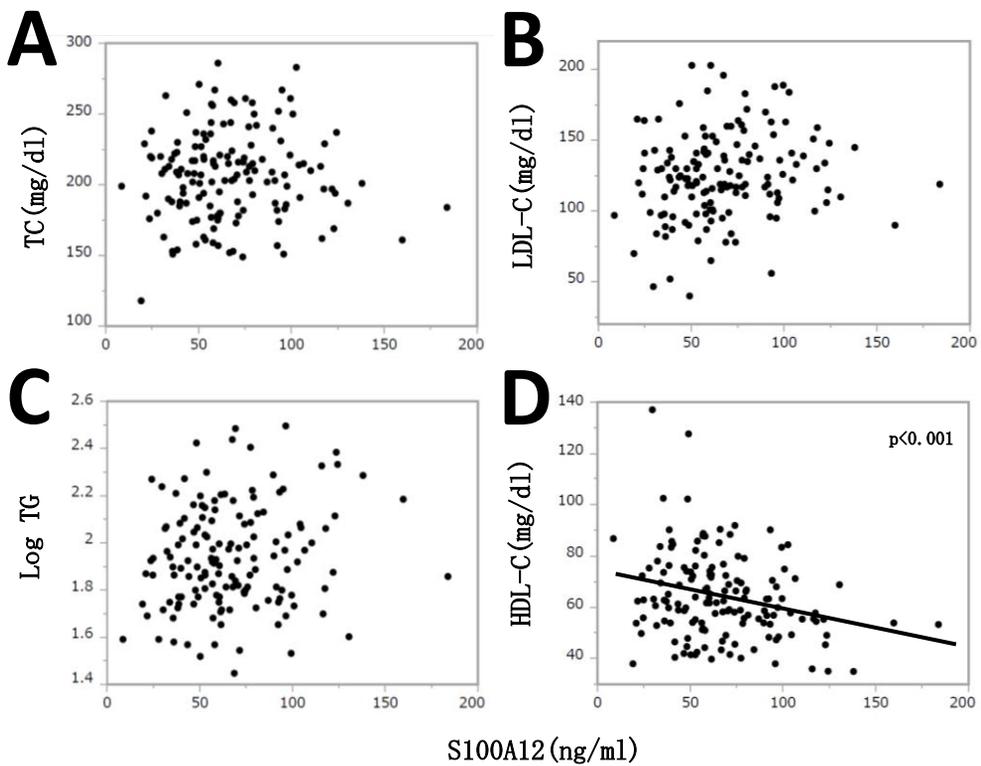


図2 S100A12が血清脂質へ及ぼす影響

S100A12と、(A)TC、(B)LDL-C、(C)TG、(D)HDL-Cとの関連性について検討した。

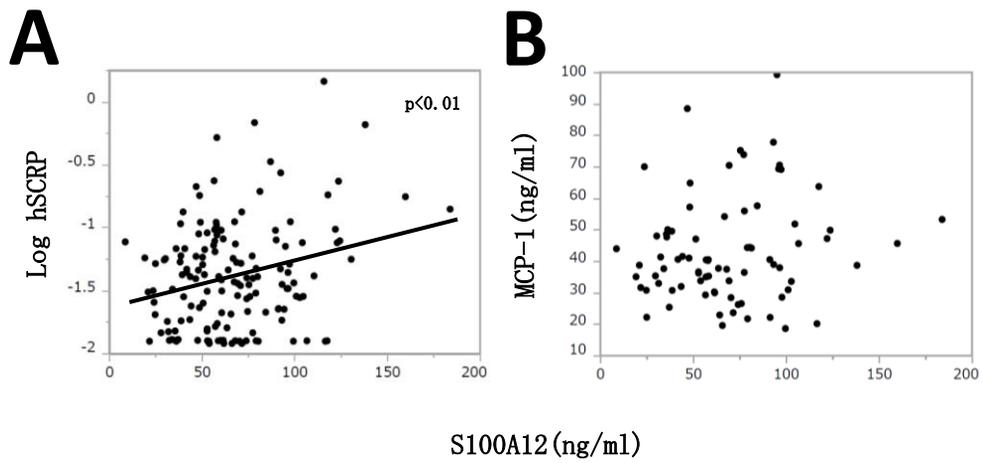


図3 S100A12が炎症マーカーへ及ぼす影響
S100A12と、(A)hsCRP、(B)MCP-1との関連性について検討した。

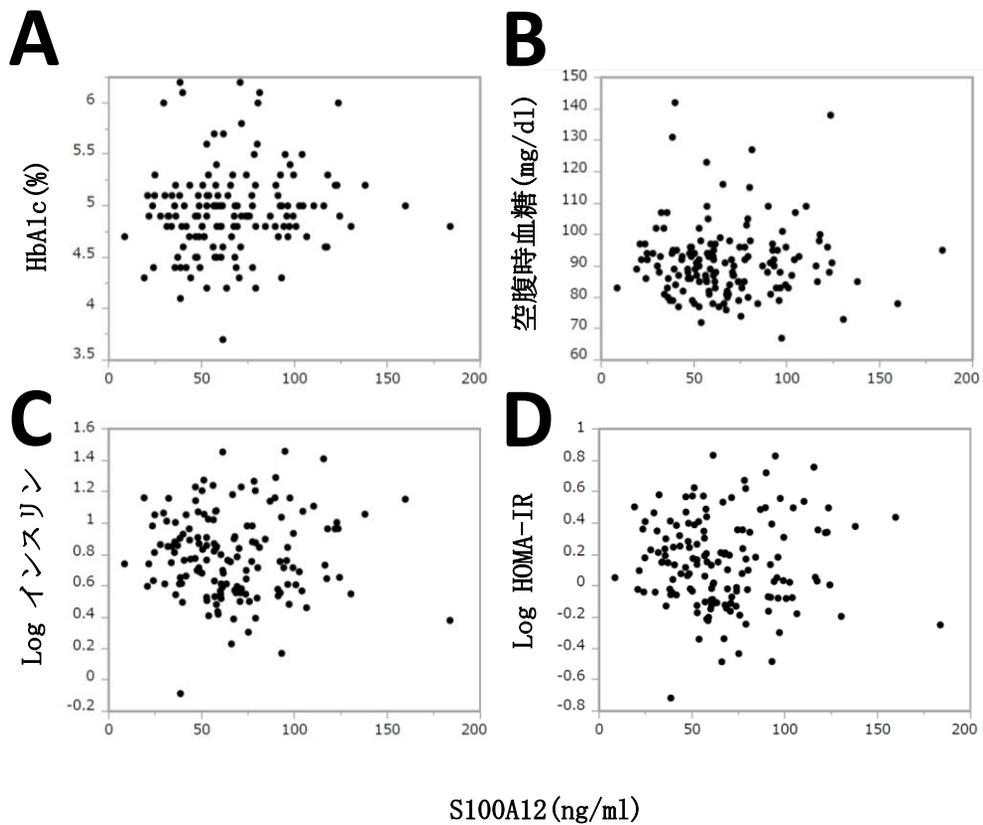


図4 S100A12が糖代謝指標へ及ぼす影響
S100A12と、(A)HbA1c、(B)空腹時血糖、(C)インスリン、(D)HOMA-IRとの関連性について検討した。

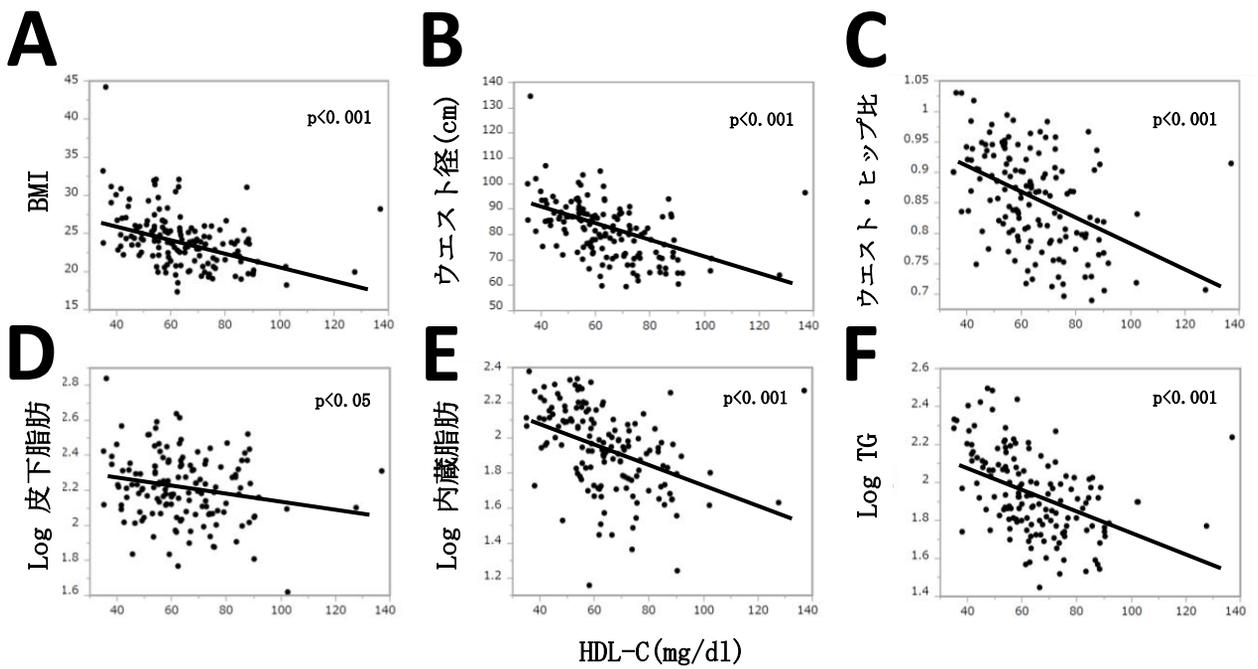


図5 HDL-Cが身体計測値、血清脂質へ及ぼす影響

HDL-Cと、(A)BMI、(B)ウエスト径、(C)ウエスト・ヒップ比、(D)皮下脂肪、(E)内臓脂肪、(F)TGとの関連性について検討した。

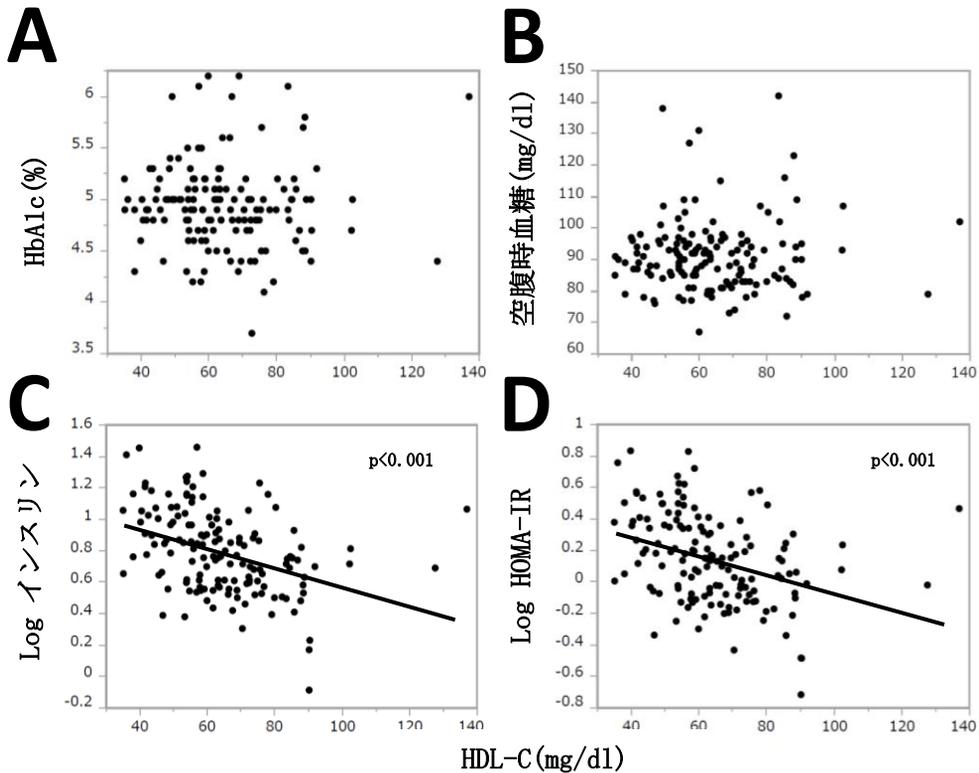


図6 HDL-Cが糖代謝指標へ及ぼす影響

HDL-Cと、(A)HbA1c、(B)空腹時血糖、(C)インスリン、(D)HOMA-IRとの関連性について検討した。

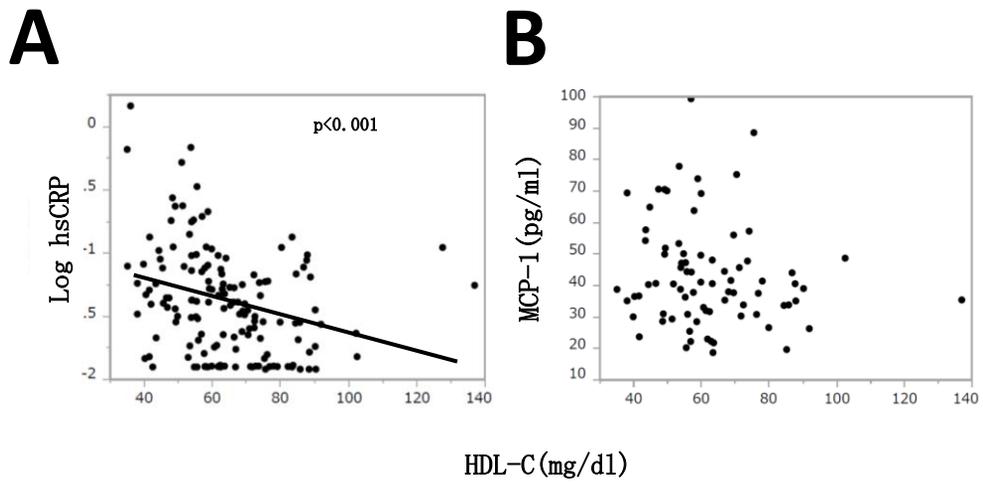


図7 HDL-Cが炎症マーカーへ及ぼす影響
HDL-Cと、(A)hsCRP、(B)MCP-1との関連性について検討した。

表2 HDL-Cと関連する因子-多変量解析

項目	p 値
Log TG	<0.0001
BMI	0.0057
S100A12	0.0414
LDL-C	0.0787
収縮期血圧	0.3660
Log hsCRP	0.9883

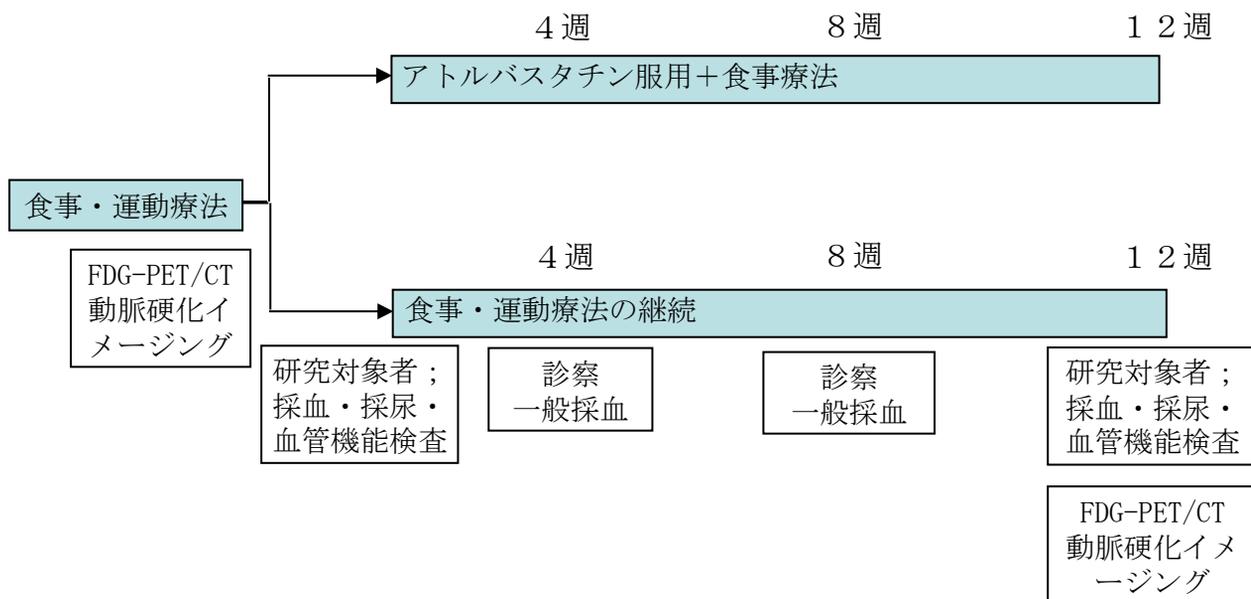


図8 アトルバスタチンが動脈炎症およびS100A12等炎症マーカーに及ぼす影響
-研究デザイン概要

表3 アトルバスタチンが動脈炎症およびS100A12等炎症マーカーに及ぼす影響
-対象の臨床的背景

	食事療法群 (n=15)	アトルバスタチン群 (n=16)
性別, 男性	12	12
年齢, 歳	60.1 ± 14.8	62.9 ± 8.3
BMI, kg/m ²	23.4 ± 2.4	23.4 ± 2.3
喫煙, n	3	3
糖尿病, n	4	4
高血圧, n	7	5
冠動脈疾患, n	1	1
脳梗塞, n	0	2
閉塞性動脈硬化症, n	1	0
TC, mg/dl	239 ± 34.7	226 ± 32.6
LDL-C, mg/dl	147 ± 28.5	132 ± 32.0
TG, mg/dl	121 [104, 192]	117 [89, 147]
HDL-C, mg/dl	55.7 ± 16.9	58.8 ± 12.2
内服, n		
降圧薬	7	5
抗血小板薬	4	4
糖尿病薬	2	2

略語: BMI, body mass index; TC, total cholesterol,
LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides;
HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol.
各値は、平均±標準偏差（ただし、TGは、中央値と四分位範囲）として表した。

表4 食事療法群、アトルバスタチン群におけるS100A12等各種指標へ及ぼす影響

	食事療法群			アトルバスタチン群		
	開始時	12週後	p値	開始時	12週後	p値
体重, kg	63.9 ± 7.0	63.5 ± 7.9	0.4	61.5 ± 6.9	61.7 ± 6.4	0.4
収縮期血圧, mmHg	134 ± 14	132 ± 19	0.7	132 ± 19	125 ± 17	0.2
拡張期血圧, mmHg	78.1 ± 12.7	75.1 ± 7.6	0.2	78.3 ± 14.9	70.7 ± 13.5	0.1
各生化学検査項目						
TC, mg/dl	229 ± 35	217 ± 34	0.1	222 ± 42	161 ± 25	<0.001
LDL-C, mg/dl	132 ± 44	133 ± 30	0.9	137 ± 42	78.6 ± 21.2	<0.001
TG, mg/dl	106 [81, 147]	95 [74, 118]	0.1	117 [80, 177]	95 [74, 118]	0.030
HDL-C, mg/dl	59.6 ± 21.3	60.5 ± 20.9	0.6	57.6 ± 18.5	61.2 ± 20.1	0.1
apoA-I, mg/dl	140 ± 37	136 ± 37	0.4	138 ± 29	145 ± 28	0.3
apoA-II, mg/dl	28.5 ± 4.7	27.7 ± 4.3	0.5	27.7 ± 4.8	29.4 ± 4.4	0.2
apoB, mg/dl	116 ± 25	108 ± 26	0.023	119 ± 30	74.8 ± 15.1	<0.001
apoC-II, mg/dl	4.76 ± 2.57	4.33 ± 2.23	0.1	5.20 ± 2.60	4.28 ± 2.29	0.016
apoC-III, mg/dl	11.1 ± 6.1	9.83 ± 4.43	0.2	10.9 ± 4.8	9.73 ± 4.64	0.035
apoE, mg/dl	4.92 ± 2.17	4.45 ± 1.12	0.3	4.62 ± 1.36	3.64 ± 1.49	<0.001
RLP-C, mg/dl	11.9 ± 15.2	7.8 ± 9.6	0.2	9.31 ± 6.9	5.37 ± 6.70	0.013
MDA-LDL, U/l	153 ± 61	140 ± 55	0.6	166 ± 62	106 ± 27	0.002
空腹時血糖, mg/dl	106 ± 23	104 ± 18	0.5	112 ± 36	112 ± 31	1.0
HbA1c, %	5.73 ± 0.82	5.91 ± 0.82	0.041	6.30 ± 1.22	6.43 ± 1.29	0.4
hsCRP, mg/l	0.61 [0.28, 0.89]	0.84 [0.44, 1.42]	0.2	0.59 [0.27, 0.90]	0.37 [0.16, 0.52]	0.004
S100A12, ng/ml	140.9 ± 82.62	200.4 ± 141.8	0.1	125 ± 83	89.5 ± 67.0	0.030
S100A8, ng/ml	34.0 ± 8.9	42.0 ± 17.91	0.1	30.2 ± 11.8	27.5 ± 9.5	0.4
S100A9, ng/ml	22.73 ± 12.6	35.22 ± 27.26	0.4	19.8 ± 18.6	15.5 ± 11.9	0.054
TNF-α, pg/ml	17.33 ± 10.3	13.71 ± 9.5	0.3	23.0 ± 10.0	19.5 ± 11.5	0.3
MCP-1, pg/ml	240.3 ± 79	241.5 ± 97	0.5	187 ± 56	180 ± 64	0.9
Pentraxin3, pg/ml	35.6 ± 22.42	43.0 ± 40.0	0.2	35.6 ± 25.9	25.9 ± 12.8	0.4
血管内皮機能						
FMD, %	6.14 ± 4.35	6.51 ± 2.68	0.8	6.00 ± 2.27	8.27 ± 4.32	0.039
NMD, %	21.9 ± 9.1	19.9 ± 6.3	0.6	20.7 ± 10.2	20.2 ± 8.7	0.9

略語: TC, total cholesterol ; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; apo, apolipoprotein ; RLP-C, remnant-like particle-cholesterol, レムナント様リポ蛋白コレステロール; MDA-LDL, malondialdehyde-modified LDL, マロンジアルデヒド修飾LDL ; HbA1c, hemoglobin A1c ; hsCRP, high sensitive C-reactive protein ; TNF, tumor necrosis factor ; MCP-1, monocyte chemotactic protein-1; FMD, flow-mediated dilatation ; NMD, nitroglycerin-mediated dilatation.

各値は、平均±標準偏差（ただし、TG、hsCRPは、中央値と四分位範囲）として表した。

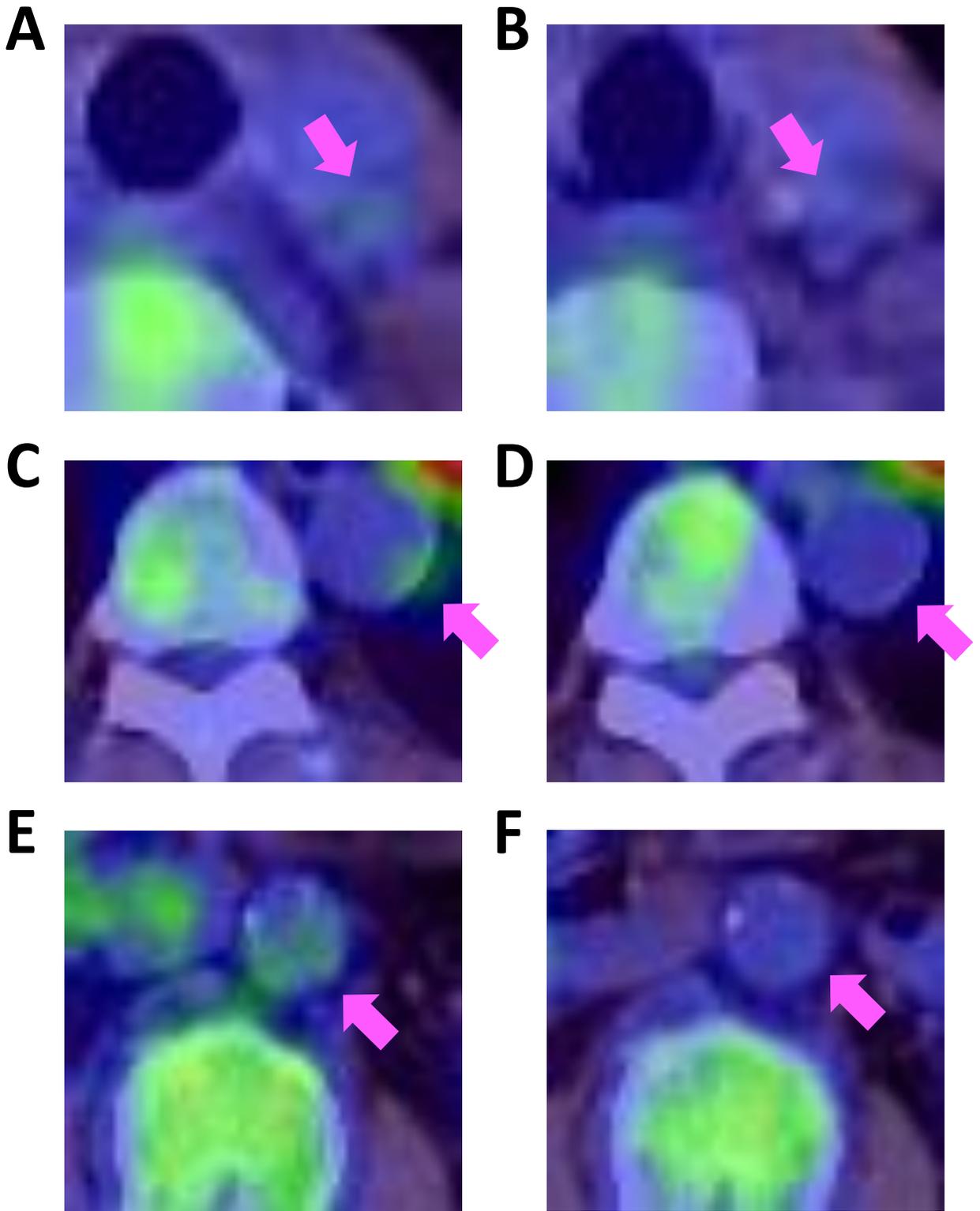
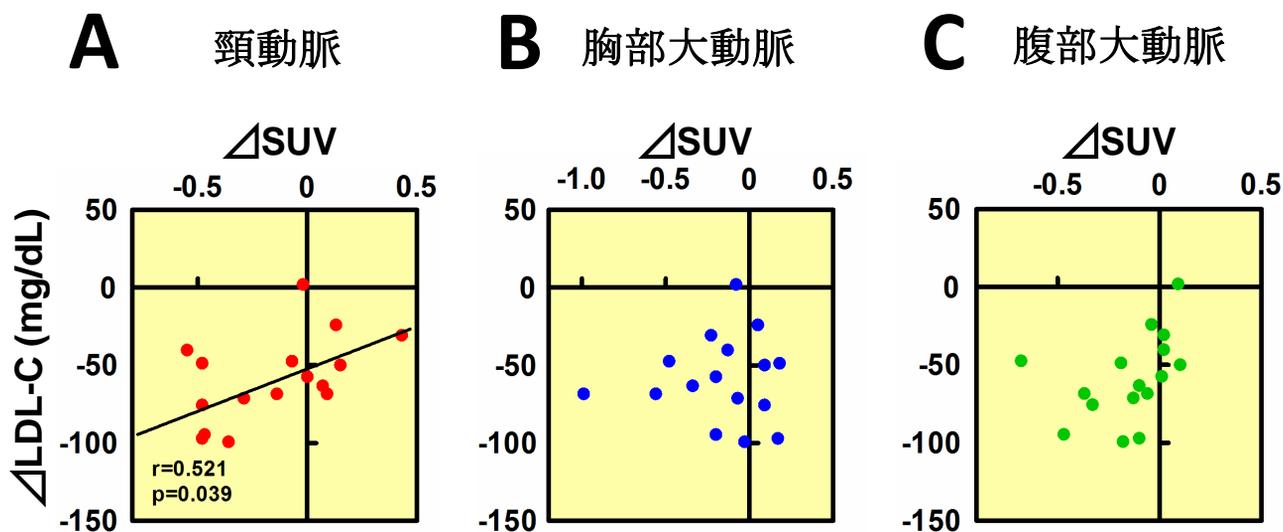


図9 アトルバスタチン投与による動脈炎症軽減の一例（同一症例）
 アトルバスタチン投与によるFDG集積の経過を、部位別・投与前後で表した。
 頸動脈の投与前(A)・投与後(B)、胸部大動脈の投与前(C)・投与後(D)、腹部大動脈
 の投与前(E)・投与後(F)である。

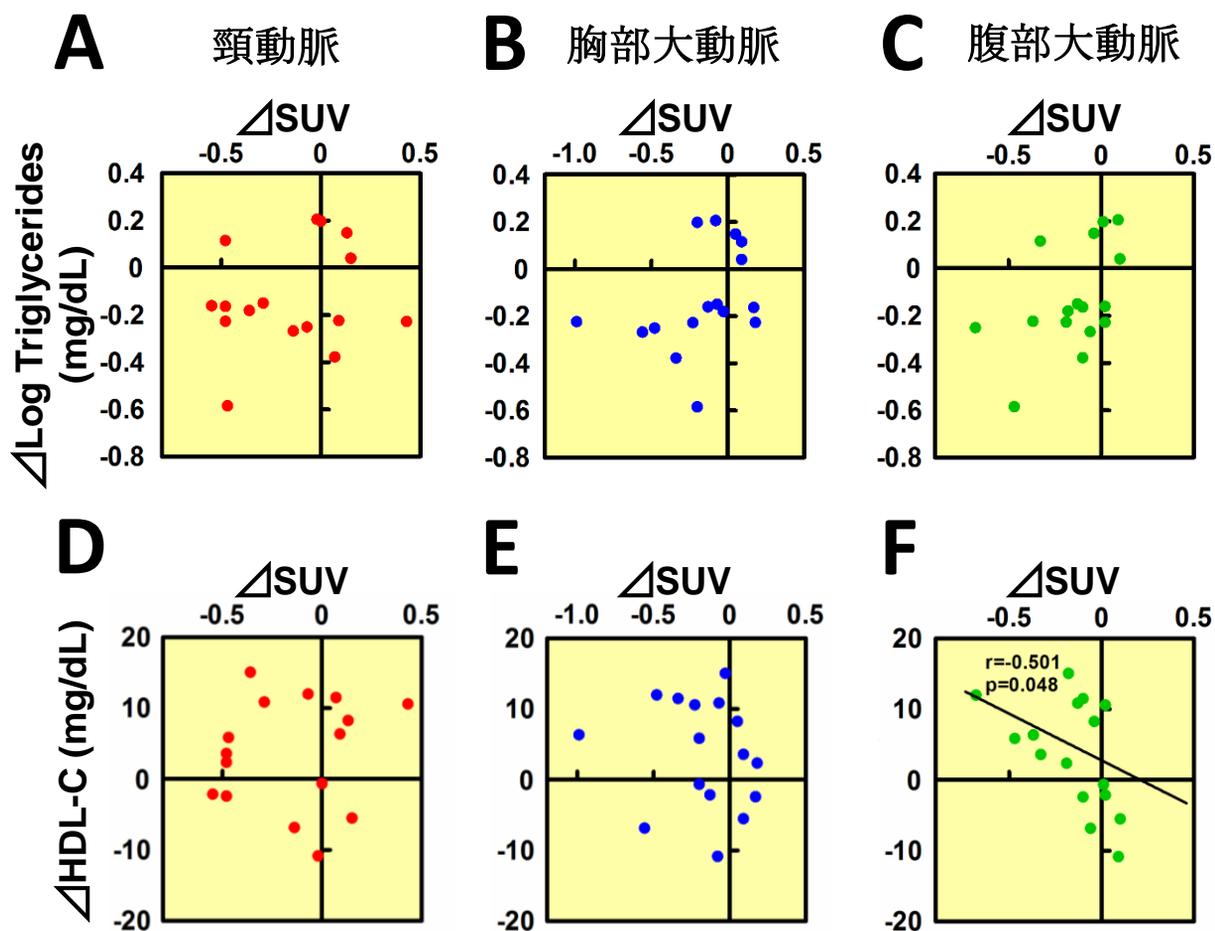
表5 食事療法、アトルバスタチンが頸動脈、胸部大動脈および腹部大動脈における動脈炎症に及ぼす影響

	食事療法群			アトルバスタチン群		
	開始時	12週後	p値	開始時	12週後	p値
頸動脈	1.99±0.24	1.85±0.30	0.1	1.94±0.40	1.77±0.40	0.039
胸部大動脈	2.01±0.27	1.90±0.25	0.1	2.07±0.30	1.90±0.26	0.044
腹部大動脈	2.05±0.17	2.03±0.19	0.8	2.05±0.25	1.89±0.33	0.015



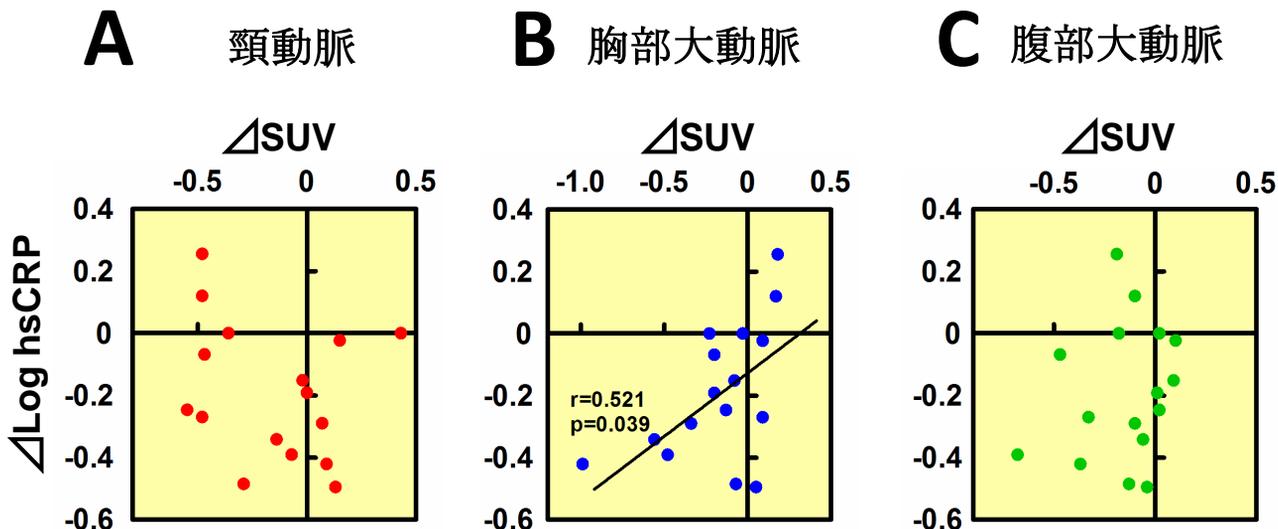
略語: SUV, Standardized Uptake Value.

図10 アトルバスタチン投与による動脈炎症軽減と関連する因子についての検討
LDL-C変化量と、(A)頸動脈、(B)胸部大動脈、(C)腹部大動脈における炎症の変化量との
関連性について検討した。



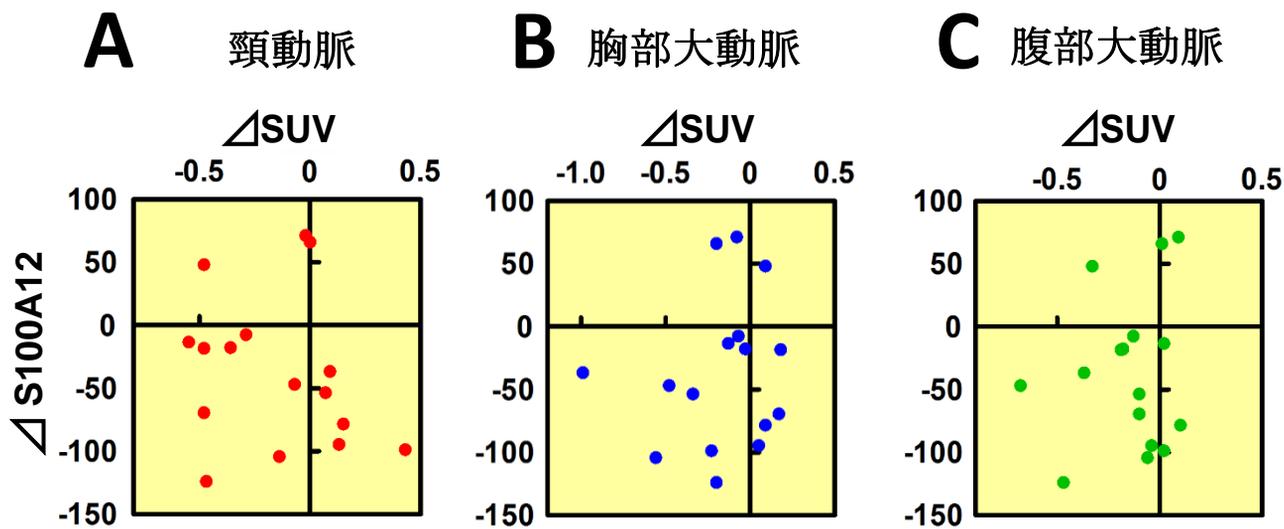
略語: SUV, Standardized Uptake Value.

図11 アトルバスタチン投与による動脈炎症軽減と関連する因子についての検討
 TG変化量と、(A)頸動脈、(B)胸部大動脈、(C)腹部大動脈における炎症の変化量との関連性について検討した。また同様に、HDL-C変化量と、(D)頸動脈、(E)胸部大動脈、(F)腹部大動脈における炎症の変化量との関連性について検討した。



SUV, Standardized Uptake Value.

図12 アトルバスタチン投与による動脈炎症軽減と関連する因子についての検討
 hsCRP変化量と、(A)頸動脈、(B)胸部大動脈、(C)腹部大動脈における炎症の変化量との
 関連性について検討した。



SUV, Standardized Uptake Value.

図13 アトルバスタチン投与による動脈炎症軽減と関連する因子についての検討
 S100A12変化量と、(A)頸動脈、(B)胸部大動脈、(C)腹部大動脈における炎症の変化量との
 関連性について検討した。

表6 S100A12等各種指標が頸動脈、胸部大動脈および腹部大動脈の動脈炎症へ及ぼす影響-多変量解析

	p 値
頸動脈	
LDL-C	0.605
Log TG	0.896
MDA-LDL	0.225
Log hsCRP	0.343
S100A12	0.090
%FMD	0.940
胸部大動脈	
LDL-C	0.055
Log TG	0.351
MDA-LDL	0.011
Log hsCRP	0.001
S100A12	0.020
%FMD	0.045
腹部大動脈	
LDL-C	0.622
Log TG	0.429
MDA-LDL	0.769
Log hsCRP	0.708
S100A12	0.502
%FMD	0.680

表7 ヒトS100A12のcDNAクローニングに用いたプライマー配列

hS100A12 cDNAクローニング
Forward: 5'-CACCATGACAAAACCTTGAAGAGCATCTG-3';
Reverse: 5'-CTACTTGTCATCGTCGTCCTTGTAGTCCTCTTTGTGGGTGTGGTAATG-3'.

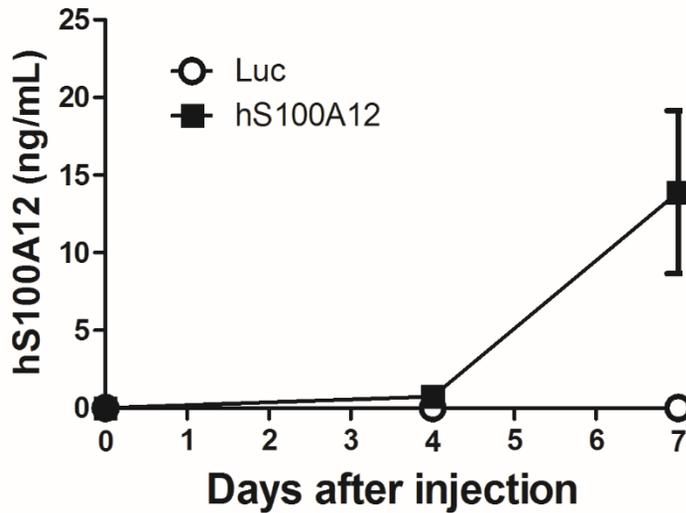


図14 マウスにおけるhS100A12の発現様式

雄性C57BL/6JマウスにhS100A12発現アデノウイルスベクター (8.0×10^8 PFU) を経静脈投与し、経時的に採血を施行した後、hS100A12の発現を測定した (Luc ; N=9 vs S100A12 ; N=8で施行)。各値は、平均±標準誤差で表した。

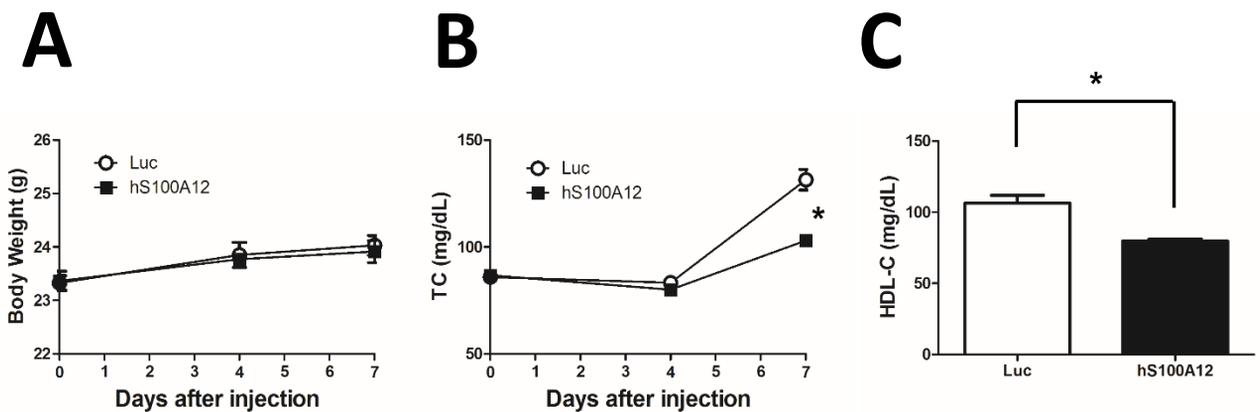


図15 マウスにおけるhS100A12発現が及ぼす影響

雄性C57BL/6JマウスにhS100A12発現アデノウイルスベクター (8.0×10^8 PFU) を経静脈投与して、経時的に(A)体重測定、(B)TC、また(c)7日目のHDL-Cを測定した (Luc ; N=9 vs S100A12 ; N=8で施行)。各値は、平均±標準誤差で表した。

* $p < 0.05$ vs Luc

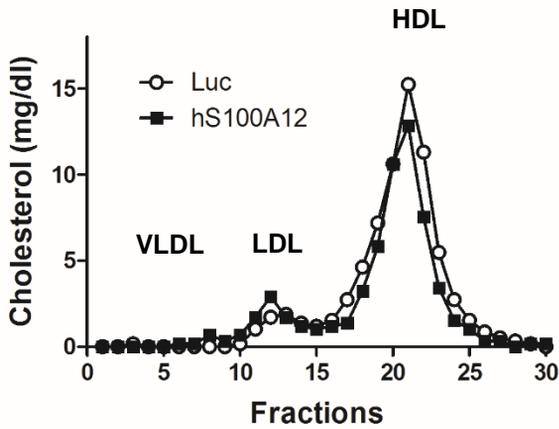
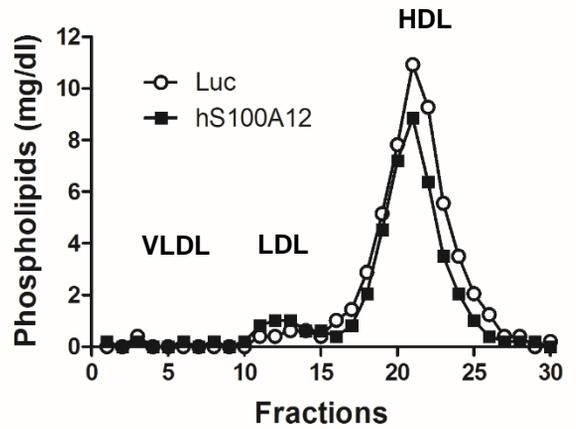
A**B**

図16 中高压液体クロマトグラフィー (FPLC) によるリポ蛋白分画の分離と脂質測定
 雄性C57BL/6JマウスにhS100A12発現アデノウイルスベクター (8.0×10^8 PFU) を経静脈投与7日後のプール血清 (Luc ; N=9 vs S100A12 ; N=8) にて、FPLCを用いてリポタンパク分画を分離し、(A)コレステロール濃度、(B)リン脂質を測定した。