

マロンジアルデヒド修飾 LDL (MDA-LDL) 測定法と臨床的意義について

Measurement and Clinical Significant of Malondialdehyde Modified LDL

なか じま かつ ゆき さくら ばやし いくのすけ
 中 嶋 克 行¹⁾：櫻 林 郁之介²⁾
 Katsuyuki NAKAJIMA Ikunosuke SAKURABAYASHI

<キーワード>

酸化 LDL、マロンジアルデヒド修飾 LDL-ELISA、small dense LDL、レムナント・リポ蛋白、アポB(100)、動脈硬化巣、血管内皮細胞、LOX-1

はじめに

一昨年、講談社カッパブックスから出版された“プリオン説は本当か?”(福岡伸一著)の中で、著者はプリオンは狂牛病の原因ではなく、狂牛病になった結果、牛の脳に蓄積したものではないかという疑問符を紹介して、多くの人の興味を誘った。プリオンが狂牛病の原因であるとの否定であるとともに、結果を原因と考えやすい医学生物学研究に対する警告を発した。著者もこの本を読んで、この考え方とまったく同じタイトルの疑問符、“酸化 LDL は本当に動脈硬化の原因なのか、それとも結果なのか?”という思いを強くした。酸化 LDL を動脈硬化の原因として見た場合と、結果としてみた場合では、その血中濃度の測定結果の解釈に大きな違いが出てくる。酸化 LDL 測定結果を動脈硬化の原因と考えるならば、LDL-C 以上に強い、独立した危険因子でなければならないだろう。しかしながら論文として報告されていない有名な臨床試験から、酸化 LDL は動脈硬化の危険因子ではなかったという話を、著者は著名な米国の研究者から聞いたことがある。

動脈硬化の発症機序として、過去の数多くの研究から依然として酸化 LDL が動脈硬化の原因である

とする考え方¹⁾が根強く残っているが、筆者らは、長年にわたるレムナント・リポ蛋白の研究の中から、“酸化 LDL は動脈硬化の結果であって、原因ではない”というプリオン説と同じ結論に至った。酸化 LDL を動脈硬化の原因、つまり危険因子として考えると、数多くの矛盾点が認められるが、動脈硬化巣の状態を反映する、つまり血管に形成された動脈硬化巣の“結果”を反映する因子と考えると、多くの論文に報告されている結論に納得できるという経験をしている。本著に筆者らのレムナント・リポ蛋白の研究の過程から見えてきた酸化 LDL “動脈硬化結果説”について述べ、それに関連して最近わが国で冠動脈疾患の二次発症予防を対象とした臨床検査法として、保健収載された酸化 LDL 測定法(マロンジアルデヒド修飾 LDL-ELISA)^{2,3)}の臨床的意義について述べる。

I. 酸化 LDL とは

LDL は分子量約 540 kDa という巨大な蛋白質であるアポ蛋白 B(アポ B) が 1 分子と、コレステロール、リン脂質、中性脂肪などの脂質から構成されている。そのリポ蛋白の酸化とは、スーパーオキシドやヒドロキシラジカルなどの活性酸素種の作用を受けて不飽和脂質の過酸化が進行し、脂肪酸の分解産物として各種アルデヒドやケトン類が生じる反応である。このようにして生じた反応性に富む分子がアポ B を修飾し、LDL を変性させて酸化 LDL を生じる⁴⁾。このように酸化 LDL とは、LDL が酸化的変性を受けて生じる多種多様の物質の総称であり、不均

1) 大塚製薬株式会社診断事業部(顧問)
 タフツ大学医学部 Lipid Metabolism Laboratory(客員教授)
 〒771-0195 徳島県徳島市川内町平石夷野 224-3
 2) 自治医科大学名誉教授
 〒330-8503 埼玉県さいたま市大宮区天沼町 1-847

1) Executive Director, Diagnostic Division, Otsuka Pharmaceutical Co. Ltd. Visiting Professor, Lipid Metabolism Laboratory, Tufts University, School of Medicine
 (224-3, Hiraishiebisuno, Kawauchi-cho, Tokushima-shi, Tokushima)
 2) Emeritus Professor, Jichi Medical University
 (1-847, Amanuma-cho, Omiya-ku, Saitama-shi, Saitama)

一な分子である。その中から LDL が酸化変性を受けたときに生じるアルデヒド類のうち、多量かつ構造が明確であるマロンジアルデヒド (MDA) により修飾を受けた LDL が MDA-LDL である^{2,3)}。他によく知られた酸化 LDL として酸化 phosphatidyl-choline-LDL⁵⁾ が報告されており、これを認識する抗体を用いた酸化 LDL-ELISA 法⁶⁾ もよく知られている。その他世界的には何種類かの異なる認識部位を持つ抗体を用いた、酸化 LDL 測定 ELISA が研究用に市販されている。今回保険収載された酸化 LDL 測定法は、マロンジアルデヒド (MDA) により修飾を受けた MDA-LDL であり、同じ酸化 LDL を測定する方法でも、異なる抗体を用いたキットの違いにより、結果が異なることも知られている。

II. MDA-LDL の ELISA 測定

血液中 MDA-LDL を検出する目的で、MDA-LDL に対するモノクローナル抗体 (ML25) が小谷らにより作成された^{2,3)}。ML25 は MDA 修飾蛋白を認識し、他のアルデヒド類で修飾した蛋白は認識しない特異性をもっていた。そこで抗アポ B モノクローナル抗体 (AB 16) と ML25 を組合わせることにより、MDA-LDL を特異的に検出する ELISA 系が開発された (図 1)。MDA-LDL 濃度は、人工的に調製した MDA-LDL の 1mg/L と、同様のシグナルを示す血液中の MDA-LDL を 1U/L として表わしている。

これまでの数多くの報告より、酸化 LDL が必ず動脈硬化巣内に存在する⁷⁾ ことがわかってきたが、一方循環血液中における酸化 LDL の存在に関しては研究者により意見が割れるところであった。そ

の理由として血液中に酸化 LDL が存在すれば、肝臓のクッパー細胞が異物として処理し、血液中から速やかに消失する⁸⁾ ためと考えられていたが、この測定法の開発者である小谷らは、MDA 修飾部位は LDL 粒子表面には存在せず粒子内部に存在しているため、MDA-LDL は肝臓等にて異物としてクリアランスされずに、血液中に存在すると推測している。そこで、血清中 MDA-LDL の ELISA 系では、図 1 に示すように、界面活性剤を用いて血清を前処理し、リボ蛋白内部に存在する MDA 修飾部位が抗体 (ML25) と反応できるよう、LDL の構造を変化させた後に抗原抗体反応を行っている。なお、本測定系は、測定精度などの臨床検査に要求される性能を満足することが確認されている⁹⁾。

III. 従来報告された MDA-LDL の臨床意義

動脈硬化性疾患のリスクである高脂血症や糖尿病の場において、血清 MDA-LDL は高値を示すことが知られている^{9~11)}。また、MDA-LDL 濃度は血清 LDL-C あるいはアポ B 濃度と正相関を示すため、LDL の酸化の程度を評価するときは MDA-LDL/LDL-C、あるいは MDA-LDL/アポ B 濃度比として表示される。糖尿病では、健常者対象群に比べて、MDA-LDL だけでなく MDA-LDL/LDL-C や MDA-LDL/アポ B 比も高値となった^{12,13)}。さらに、糖尿病の中でも循環器疾患の合併症（心筋梗塞、狭心症）を伴う場合は、伴わない場合に比べて MDA-LDL と MDA-LDL/LDL-C 比が有意に高値を示した。冠動脈狭窄患者の場合、他の血清脂質値に差が認められないにもかかわらず、比較対象群に比べて MDA-LDL レベルと

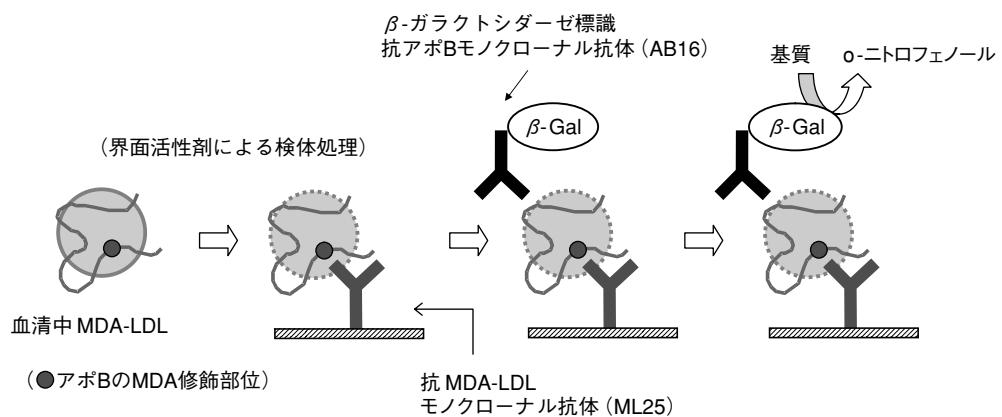


図 1 MDA-LDL 測定法の原理

MDA-LDL/LDL-C 比が高値を示した¹⁴⁾。また、頸動脈内膜中膜複合体肥厚度 (IMT) が高値のとき、MDA-LDL レベルが高い傾向にあった¹⁴⁾。以上の結果より、MDA-LDL レベルは動脈硬化性疾患のリスクや存在だけでなく、重症度も反映している可能性が示唆されていた。

血清 MDA-LDL は、LDL 分画の中でも特に small dense 分画に多く存在しており²⁾、LDL サイズと MDA-LDL 濃度に逆相関の関係が認められている¹³⁾。LDL 分画の中でも small dense LDL は虚血性心疾患のリスクであり、動脈硬化惹起性リポ蛋白であると報告されている¹⁵⁾。また、small dense LDL は正常な LDL に比べ、LDL レセプターとの結合能が弱いため血中半減期が長くなり、血中滞留時間が長く酸化変性を受ける機会が多いと考えられている¹⁶⁾。さらに、small dense LDL は通常の LDL に比べ酸化されやすい^{17, 18)}。これらの結果より、MDA-LDL は主に small dense LDL に存在する可能性が考えられ、虚血性心疾患のリスク因子としての臨床意義が期待された。

さらに血清 MDA-LDL を低下させる薬剤として、スタチンやフィブロートなどの高脂血症治療剤¹⁹⁾が報告されている。スタチンは LDL レセプターを介して LDL 代謝を充進させ、MDA-LDL の前駆体である LDL を減少させることで MDA-LDL レベルを低下させるものと考えられている。一方、フィブロートが MDA-LDL レベルを低下させるメカニズムとして、小粒子化した LDL サイズを正常化することに関与することも考えられる²⁰⁾。なお、スタチン類の中でもアトルバスタチンは、プラバスタチンに比べ、MDA-LDL レベルだけでなく、MDA-LDL/LDL-C 比を低下させる作用も大きかった²⁰⁾。これは、アトルバスタチンがもつ抗酸化作用を反映したものと考えられる。そのほか、プロブコール²²⁾などの抗酸化作用も報告された。以上のことから MDA-LDL 測定の臨床意義として、動脈硬化の危険因子としての脂質の質的異常を測定し、冠動脈疾患の予防や治療効果の判定に有用であると報告してきた。

IV. MDA-LDL 測定の新しい臨床的意義

酸化 LDL 測定も従来から知られている冠動脈硬化症の危険因子と同じ目的で長い間検討されてきた

が、それらを凌駕する指標とはなり得なかった。しかしながら以下のような観点から再検討されたことにより、従来ある血液マーカーでは診断できない冠動脈におけるplaquesの状態を把握する、有用な検査法となる可能性がみえてきた。

1. 血中濃度が LDL に比べて極めて低値である

ELISA 法の開発により、酸化 LDL の血中濃度が LDL 全体のわずか 0.1% 以下という低濃度しか見出されない^{3, 6, 22)}ことが明らかとなってきた。その理由として、血中に存在する酸化 LDL は変性リポ蛋白であるため、肝臓で速やかに処理され、ほとんど血中には認められないという考え方が今でも主張されている。しかし小谷らにより、MDA-LDL はリポ蛋白内部に存在する可能性が示され、測定法もそのような MDA-LDL が検出できるよう前処理がなされている^{2, 3)}。リポ蛋白表面が変性することにより異物として認識されなければ、血中における存在形態は他のリポ蛋白と同様なものと考えられる。LDL-C、HDL-C、レムナント等、リポ蛋白はいずれもかなりの濃度で血中に存在し、血中濃度が冠動脈疾患のリスクを反映している。従ってこのような微量な酸化 LDL が、動脈硬化を引き起こす危険因子であると考えるのは、不自然さを否定できない。

2. 遺伝性高酸化 LDL 血症は存在しない

血中酸化 LDL が動脈硬化の原因、つまり危険因子として認めにくい他の理由の一つに、ヒトにおいて血中酸化 LDL 濃度が特別に高値を示す遺伝性疾患が見当たらないことがある。LDLにおいてもレムナントにおいても、FH や III 型高脂血症という冠動脈疾患のリスクが非常に高い有名な遺伝性疾患が知られている。これらの疾患において、LDL やレムナントが異常に高く、これらが冠動脈硬化症の独立した危険因子、つまり原因の一つであることが、数多くの臨床研究から証明されている。もし酸化 LDL が動脈硬化の原因であるとすれば、遺伝的な高酸化 LDL 血症というのがあるはずではないかと考えている。ヒトにおいても実験動物においても、そのような報告は全く存在しない。

3. 酸化 LDL とレムナントの類似性

酸化 LDL とレムナントは、生化学的性状が極め

てよく似ていることが現在までの研究で知られてれている。特に久木山ら^{23, 24)}により、RLPが血中すでに酸化されている可能性を強く示唆する詳細な *in vitro*、*in vivo* の実験結果が報告され、RLP自身が血中で酸化 LDL と同様な酸化ストレス様の作用を持つ可能性が示唆されている。また RLP を *in vitro* でさらに酸化させても、酸化 LDL のような native LDL と大きく異なる生理的作用は示さず、更なる酸化はわずかしか受けないように見える^{25, 26)}（図 2）。これら *in vitro* の数多くの報告から、酸化 LDL と RLP の動脈硬化惹起性作用は、過酸化リン脂質のような共通のリガンドの存在に由来しているのではないかと推察されている²⁴⁾。その根拠の一つとして、両者の動脈硬化惹起性を示す生理活性作用（表 1）は、ほとんど同じ濃度域で認められる。ところが両リポ蛋白の血中濃度には、大きな違いが認められている。つまりこれらの *in vitro* で認められ

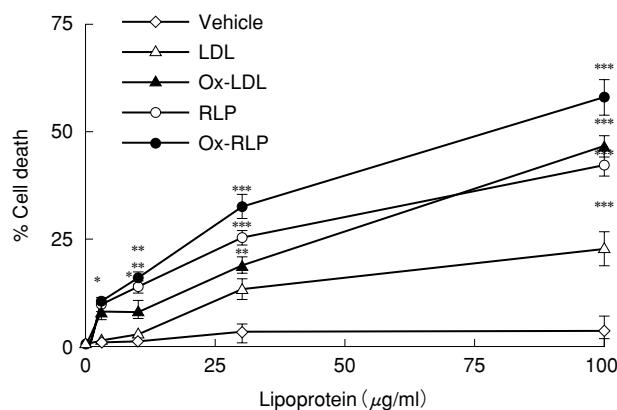


図 2 酸化 LDL とレムナントによる血管内皮細胞の細胞障害性に与える影響。濃度依存的に障害性が強くなり、同濃度域にて酸化 LDL とレムナントは同程度の障害性を示した。酸化レムナントは LDL と異なり、酸化の影響をわずかしか受けなかった。（文献 21 より引用）

る RLP の生理活性は、生体の血中濃度とほぼ同程度であるが、酸化 LDL は生理活性を示しうる濃度の 100 分の 1 以下しか血中に存在しないことが明らかとなった²²⁾。このことから推定して、血中にて一定濃度以上に増加した RLP は血管内皮細胞に直接作用して、動脈硬化惹起作用を示す可能性が示唆されたが、酸化 LDL は血中に存在する濃度域では、直接血管内皮細胞に障害を与える可能性は極めて低いと考えられる。このようなことからも、酸化 LDL は動脈硬化発症の最初のステップである血管内皮細胞を障害する原因と考えるのは無理があると考えられる。レムナント等により血管内皮細胞が障害を受け、血管壁への侵入が容易になったとき、最も高濃度に血中に存在する LDL が大量に血管壁に侵入し、酸化を受けてマクロファージ等に取り込まれ、泡沫化を伴う動脈硬化巣の形成を促進すると考えられる。従って血中に存在する酸化 LDL は、このようにして血管壁にできた動脈硬化巣から、不安定なプラークから漏れ出てきたものと考えられる。従って量的にも大量の血漿により希釈され、癌抗原 CEA が血中で微量に検出される状況に近いのではないかと思われる。

4. 血中酸化 LDL は動脈硬化巣から漏れ出てくる Shedding Antigens か？

最近筆者らは、血中レムナント・リポ蛋白が動脈硬化の発症に直接関与する因子の一つであり、酸化 LDL は動脈硬化進展に伴う、あるいは進展が促進された結果増えてくる因子ではないかという仮説を提唱した²⁷⁾。つまり酸化 LDL は生体において動脈硬化発症の原因ではなく、結果であるという考え方である。酸化 LDL は動脈硬化巣に確かにその存在が強く認められている⁷⁾。しかしながら動脈硬化巣

表 1 酸化 LDL ならびにレムナント・リポ蛋白の共通の動脈硬化惹起性に関連する生理活性

1. マクロファージの泡沫化を促進する。
2. 単球、T 細胞、マクロファージの遊走促進因子として作用する。
3. マクロファージや血管内皮細胞上の接着因子の誘導を促進する。
4. 血管平滑筋細胞やマクロファージの細胞分裂、増殖を促進する。
5. 酸化—還元反応系による血管細胞の炎症性蛋白遺伝子の発現調節。
6. 血小板凝集の促進ならびに血液凝固系因子を誘導する。
7. NO 活性の抑制に伴う血管拡張作用を抑制する。
8. 血管内皮細胞、平滑筋細胞の障害ならびにアポトーシスを誘導する。
9. LOX-1 受容体の誘導

（文献 27 より引用）

には LDL のみでなく、VLDL もかなり存在するという報告が古くからあり²⁸⁾、動脈硬化巣において検出される酸化 LDL は、LDL 由来のみでなく VLDL 由来のアポ B-100 も含まれる可能性が考えられている。

ELISA 法の開発により血中にも酸化 LDL の存在が認められ、前述したように動脈硬化性疾患において健常対象群よりも高値を示すことが知られている。われわれはこの酸化 LDL は、多くの癌マーカーのように、ある活性化した状況下の病巣から漏れ出てくる shedding antigens ではないかと考えてきた。われわれは動脈硬化巣から酸化 LDL が漏れ出てくることを直接証明したわけではないが、そのようなことを推定させる論文はかなり報告されている。この考え方をもって、筆者は酸化 LDL 原因説を提唱したカリフォルニア大学 San Diego 校の Steinberg 教授¹⁾と何度も議論したが、彼も酸化 LDL 原因説が“シンプルすぎた”ということは認めていた。何故なら彼がその説を発表した後で、スカベンジャー・レセプター以外の新しいリポ蛋白受容体が次々と発見されたからである。筆者らは特に、沢村ら²⁹⁾により新たに発見された、血管内皮細胞に存在する酸化 LDL 受容体“LOX-1 受容体”とレムナントの関係を軸に、なぜ酸化 LDL は動脈硬化の原因ではなく結果なのかを、詳しく文献 27) にて論じている。詳細に興味のある方はご参照していただきたい。

V. 酸化 LDL 測定は冠動脈硬化症のリスクの診断ではなく、二次発症の可能性を予測する検査として有用

本総説の主題である MDA-LDL 測定が、冠動脈硬化症の二次発症等の予知、予測のマーカーとして、また PTCA 後の再狭窄の予測として有用であることが最近の研究で明らかとなり³⁰⁾、診断薬として新たに承認された。このことからも酸化 LDL は動脈硬化の危険因子というよりも、イベントの再発症を予測するような動脈硬化巣の状況を反映すると考えられている。酸化 LDL 測定によりplaques 等の状況をある程度把握できるとすれば、カテーテル検査等を行わなくとも非侵襲的に冠動脈の危険度を推定することが可能と考えられる。

おわりに

酸化 LDL は血中濃度から判断して、それ自体が血管内皮細胞の障害を引き起こす動脈硬化発症の直接の原因ではなく、血管内皮の障害により細胞の膜透過性が高まり、血流から血管壁に大量に入り込んだ LDL の変性の産物であろうと考えられる。したがって血管壁の動脈硬化巣に存在する LDL は強い酸化変性を伴っており、マクロファージ等に取り込まれて泡沫細胞の生成を促進する。このようにして形成された動脈硬化巣の不安定なplaques から、酸化 LDL が血中に漏れ出てくるものと考えられる。酸化 LDL は今回診断薬として承認された MDA-LDL のみでなく、さまざまな酸化形態を伴った LDL が考えられ、どのような組成の酸化 LDL が一番高頻度に血中にリークされてくるのかにより、臨床的感度が変わってくるものと予想される。いずれにしても血中酸化 LDL 濃度を測定することは、不安定plaques のようなイベントを起こしやすい病態を反映すると考えられる。以上のことから、血中酸化 LDL は動脈硬化巣から漏れて出てくる shedding antigens と考えられ、冠動脈疾患の非侵襲モニターとして、新しい臨床的意義を持つリポ蛋白と考えられる。

文 献

- Steinberg D, Parthasarathy S, Crew TE, et al. Beyond cholesterol : modification of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* **320** : 915-924, 1989.
- Kotani K, Maekawa M, Kanno T, Kondo A, Toda N, Manabe M. Distribution of immunoreactive malondialdehyde-modified low-density lipoprotein in human serum. *Biochim Biophys Acta*. **1215** : 121-5, 1994.
- Kotani K, Kondo A, Manabe M, Maekawa M, Kanno T. Determination of malondialdehyde-modified LDL (MDA-LDL) and its potential usefulness 臨床病理. **45** : 47-54, 1997.
- Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherosclerosis. *J Clin Invest*. **88** : 1785-92, 1991.
- Itabe H, Yamamoto H, Suzuki M, et al. Oxidized phosphatidylecholins that modify proteins. Analysis of monoclonal antibody against oxidized low density lipoproteins. *J Biol Chem* **271** : 33208-17, 1996.
- Itabe H, Yamamoto H, Imanaka T et al. Sensitive detec-

- tion of oxidatively modified low density lipoprotein using a monoclonal antibody. *J Lipid Res.* **37** : 45-53. 1996.
- 7) Boyd HC, Gown AM, Wolfbauer G and Chait A. Direct evidence for a protein recognized by a monoclonal antibody against oxidatively modified LDL in atherosclerotic lesions from a Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit. *Am J Pathol* **135** : 815-825, 1989.
 - 8) Van Berkel TJ, De Rijke YB, Kruyt JK. Different fate in vivo of oxidatively modified low density lipoprotein and acetylated low density lipoprotein in rats. Recognition by various scavenger receptors on Kupffer and endothelial liver cells. *J Biol Chem.* **266** : 2282-9, 1991.
 - 9) Kitano S, Kanno T, Maekawa M et al. Improved method for the immunological detection of malondialdehyde-modified low-density lipoproteins in human serum. *Anal Clin Acta* ; **509** : 229-235, 2004.
 - 10) Suzuki T, Kohno H, Hasegawa A, et al. Diagnostic implications of circulating oxidized low density lipoprotein levels as a biochemical risk marker of coronary artery disease. *Clin Biochem.* 2002 Jul ; **35**(5) : 347-53.
 - 11) Kondo A, Manabe M, Saito K, Maekawa M, Kanno T. Insulin treatment prevents LDL from accelerated oxidation in patients with diabetes. *J Atheroscler Thromb.* **9** : 280-7, 2002.
 - 12) Kondo A, Muranaka Y, Ohta I Relationship between triglyceride concentrations and LDL size evaluated by malondialdehyde-modified LDL. *Clin Chem.* **47** : 893-900, 2001.
 - 13) Kondo A, Li J, Manabe M, Saito K, Kanno T, Maekawa M. Relationship between high-density lipoprotein-cholesterol and malondialdehyde-modified low-density lipoprotein concentrations. *J Atheroscler Thromb.*; **10** : 72-8, 2003.
 - 14) Tanaga K, Bujo H, Inoue M, et al. Increased circulating malondialdehyde-modified LDL levels in patients with coronary artery diseases and their association with peak sizes of LDL particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **22** : 662-6, 2002.
 - 15) Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA.* **260** : 1917-21, 1988.
 - 16) Galeano NF, Milne R, Marcel YL, et al. Apoprotein B structure and receptor recognition of triglyceride-rich low density lipoprotein (LDL) is modified in small LDL but not in triglyceride-rich LDL of normal size. *J Biol Chem.* **269** : 511-9, 1994.
 - 17) de Graaf J, Hak-Lemmers HL, Hectors MP, Demacker PN, Hendriks JC, Stalenhoef AF. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler Thromb.* **11** : 298-306, 1991.
 - 18) Sevanian A, Hwang J, Hodis H, et al. Contribution of an in vivo oxidized LDL to LDL oxidation and its association with dense LDL subpopulations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **16** : 784-793, 1996.
 - 19) Tamura A, Watanabe T, Nasu M. Effects of atorvastatin and pravastatin on malondialdehyde-modified LDL in hypercholesterolemic patients. *Circ J.* **67** : 816-20, 2003.
 - 20) Kondo A, Morita H, Nakamura H, et al. Influence of fibrate treatment on malondialdehyde-modified LDL concentration. *Clin Chim Acta.* 2004 Jan ; **339** (1-2) : 97-103.
 - 21) 佐藤則之、加瀬浩之、鈴木 学、他：プロブコール投与が高脂血症を合併した2型糖尿病患者の脂質代謝に及ぼす効果—特にMDA—LDLの検討を中心として—糖尿病 **45**(3) : 199-204, 2002.
 - 22) Toshima S, Hasegawa A, Kurabayashi M, et al. Circulating oxidized low density lipoprotein levels. A biochemical risk marker for coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **20** : 2243-7, 2000.
 - 23) Kugiyama K, Motoyama T, Doi H, et al. Improvement of endothelial vasomotor dysfunction by treatment with alpha-tocopherol in patients with high remnant lipoprotein levels. *J Am Coll Cardiol.* **33** : 1512-1518, 1999.
 - 24) Doi H, Kukiyama K, Oka H, et al. Remnant lipoproteins induce proatherothrombogenic molecules in endothelial cells through a redox-sensitive mechanism. *Circulation* **102** ; 670-6, 2000.
 - 25) Shin HK, Kim YK, Kim KY, Lee JH, Hong KW. Remnant lipoprotein particles induce apoptosis in endothelial cells by NAD(P)H oxidase-mediated production of superoxide and cytokines via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 activation : prevention by cilostazol. *Circulation* **109** : 1022-8, 2004.
 - 26) Tamura M, Tanaka A, Yui K, Nakajima K, Numano F. Oxidation of remnant-like particles from serum of diabetic patients, patients with ischemic disease and normal subjects. *Horm Metab Res* **29** : 398-402, 1997.
 - 27) Nakajima K, Nakano T, Tanaka A. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis : The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta* **367** : 36-47, 2006.
 - 28) Rapp JH, Lespine AL, Hamilton RL, et al. Triglyceride-rich lipoproteins isolated by selected affinity anti-apolipoprotein B immunosorption from human atherosclerotic plaque. *Arterioscler Thromb.* **14** : 1767-1774, 1994.
 - 29) Sawamura T, Kume N, Aoyama T, et al. An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Nature* **386** : 73-77, 1997.
 - 30) Shigematsu S, Takahashi N, Hara M, Yoshimatsu H, Saikawa T Increased incidence of coronary in-stent restenosis in type 2 diabetic patients is related to elevated serum malondialdehyde-modified low-density lipoprotein. *Circ J.* **71** : 1697-702, 2007.