

# LDL アフェリシスと血管内皮機能

玉井 収・松岡 秀洋・今泉 勉

久留米大学医学部第三内科

**Key words:** cholesterol, low density lipoprotein, apheresis, endothelium, nitric oxide

## 1. はじめに

血管内皮は種々の血管作動物質を放出し微小循環のトーンを調節するばかりでなく、血小板粘着凝集抑制などを通じて血管保護作用を有する<sup>1)</sup>。高脂血症において動脈硬化発症前より内皮機能異常が存在することが知られており<sup>2)</sup>、内皮機能異常が動脈硬化発症に大きく関与することが示唆されてきた。

高脂血症患者においては、急速な動脈硬化の進展のため早期より心血管系合併症を高率に発症し予後が著しく不良であることから<sup>3)</sup>、その治療が急務である。現在、血中脂質を低下させる治療法として、食餌・運動などの生活習慣改善のほか、HMG-CoA還元酵素阻害薬をはじめとした脂質降下剤による薬物療法と血中のLDLを選択的に吸着するLDLアフェリシス療法がある<sup>4)</sup>。脂質降下剤の長期投与により動脈硬化の退縮をきたし血管内皮機能が改善することが知られており<sup>5-7)</sup>、同様の効果はLDLアフェリシスを繰り返すことによっても得られている<sup>8,9)</sup>。しかしながら、LDLアフェリシスは1回のセッションで血中のLDLを70%前後も急速かつ効果的に除去しうる治療法であり<sup>4)</sup>、LDLアフェリシスによる虚血症状の改善は脂質降下剤の効果よりしばしば急速かつ劇的であることから<sup>10-12)</sup>、内皮機能の改善は必ずしも動脈硬化病変の退縮によらない可能性が考えられる。本稿ではLDLアフェリシスと血管内皮機能との関連について最近の知見を交えて概説する。

## 2. 高脂血症と血管内皮機能

### 2.1 動脈硬化病変成立におけるLDLの役割

LDLはそれ自身向動脈硬化因子として作用するが、

酸化ストレス・糖化ストレスなどにより更に強力な血管傷害因子である変性LDLに変化する<sup>13)</sup>。この変性LDLの1つである酸化LDLは血管内皮下で部分的に酸化されたLDLでありリゾ脂質に代謝される<sup>14)</sup>。このリゾ脂質は細胞接着分子を増加させ、単球の血管内皮への接着・遊走を促進する。同時に、マクロファージを活性化させ、サイトカイン・増殖因子などを放出させ、血管平滑筋の遊走・増殖をもたらし、動脈硬化巣の形成にあずかる<sup>3)</sup>。アッセイ法の進歩により循環血中にも酸化LDLをはじめとする変性LDLが存在することが報告されるにつれ<sup>15)</sup>、動脈硬化病変発症前の血管内皮機能にLDLがどのような影響をもたらすかについての検討が重ねられてきた。

### 2.2 LDLは血管内皮機能を低下させる

1987年AndrewsらがLDLが直接ウサギ大動脈の内皮依存性血管拡張反応を抑制することを報告して以来<sup>16)</sup>、高脂血症動物の摘出血管を用いて変性LDLとその代謝産物であるリゾ脂質による血管内皮機能の検討がなされた<sup>13)</sup>。すなわち、LDLのうちネイティブなLDLは内皮依存性血管拡張反応を障害せず、酸化LDLが特異的に内皮依存性血管拡張反応を障害することが報告され<sup>17)</sup>、さらに、酸化LDLの代謝産物であるリゾレシチンも同様に内皮依存性血管拡張反応を障害することが報告されている<sup>14)</sup>。しかしながら、Jacobsらによると*in vitro*においてネイティブなLDLも内皮機能抑制作用を有するとしており<sup>18)</sup>、現在のところネイティブなLDL、酸化LDLいずれも内皮機能抑制作用を有する可能性がある。

### 2.3 LDLとL-アルギニン-NO系の異常

高脂血症における内皮依存性血管拡張反応低下にL-アルギニン-NO系の障害が注目されている。

Casino らはヒトにおいて健常群および高脂血症群それぞれの前腕に NO 合成阻害物質である L-NMMA を動注しその前後でアセチルコリンによる血管拡張反応を観察したところ、高脂血症群では健常群と比較して明らかにアセチルコリンによる血管拡張反応が低下しており、また L-NMMA の動注によりアセチルコリンによる血管拡張反応が抑制されないことからヒト高脂血症において NO の基礎産生量が低下している可能性を示唆し<sup>19)</sup>、ヒト高脂血症において L-アルギニン、NO 系の障害が存在すると考えた。

この L-アルギニン-NO 系の障害の原因としては、

1. NO の基質である L-アルギニンの不足・利用の低下、2. 内皮における NO 合成酵素活性低下、3. 産生された NO の不活性化の亢進、4. 血管平滑筋の NO に対する反応性の低下、5. 内皮細胞における細胞内情報伝達系の障害などが考えられている。

### 2.3.1 基質の低下

Cooke らは高脂血症動物の大動脈リングの実験において L-アルギニンの急性投与で内皮機能障害が正常化することを示し<sup>20)</sup>、また Wang らはウサギ冠動脈において L-アルギニン食が動脈硬化を予防しうること示した<sup>21)</sup>。これらの *ex vivo* の実験は、高脂血症における血管内皮細胞で NO の基質である L-アルギニンの代謝異常が存在することを示した。また高脂血症による内皮機能障害や動脈硬化は可逆的な変化であり、L-アルギニンの補充で改善かつ予防可能であることを示唆した。ヒトにおける検討では、Creager らは高脂血症患者の前腕においてメサコリンを動注し内皮依存性血管拡張反応の低下を示し、これらの患者にさらに L-アルギニンとそのコントロールとして光学異性体であるが NO の基質たりえない D-アルギニンを静注し、それぞれにおいてメサコリンに対する血管反応性を検討したところ、L-アルギニンの静注後内皮依存性血管拡張反応が改善することを示した<sup>22)</sup>。しかし、Casino らは同様に高脂血症患者の前腕において L-アルギニン、D-アルギニンそれぞれの動注前後においてアセチルコリンに対する内皮依存性血管拡張反応に有意な差はなく、NO の基質である L-アルギニンの利用率の低下は高脂血症における内皮機能障害には関与していないと報告しており<sup>23)</sup>、ヒトにおいては一定の見解が得られていない。

### 2.3.2 NO 合成酵素活性低下

酸化 LDL がマクロファージにおける NO 合成酵素の誘導を障害すること<sup>24)</sup>、ヒト大伏在静脈の内皮細胞

を用いた検討では酸化 LDL が内皮型 NO 合成酵素の mRNA を低下させること<sup>25)</sup>、ヒト血小板においても酸化 LDL は NO 合成酵素活性を低下させることが報告されている<sup>26)</sup>。一方、Minor らは動脈硬化血管の粥腫内内皮細胞において NO 合成酵素の発現および NO の放出が各々増強することを示した<sup>27)</sup>。Pritchard らは、ネイティブな LDL が活性酸素を過剰にし内皮由来 NO 産生亢進をもたらすことを示した<sup>28)</sup>。つまり、LDL は NO 合成酵素を抑制するにもかかわらず動脈硬化血管において NO 合成酵素の発現が増強する。すなわち、高脂血症においては酸化 LDL による内皮型 NO 合成酵素抑制とサイトカインによる NO 合成酵素誘導などが複雑に混在しているものと考えられる。

### 2.3.3 NO 不活性化亢進

NO はフリーラジカルなどの酸化的ストレスの亢進により失活されることが知られている。酸化 LDL は内皮細胞より放出された NO を失活させるとの報告があり<sup>29)</sup>、Ohara らは高脂血症動物の血管内皮においてキサンチンオキシダーゼの活性化のため活性酸素産生が増加しており、これが内皮由来 NO を失活させていると報告した<sup>30)</sup>。また、Pritchard らは *in vivo* ににおいてネイティブな LDL は NO 合成酵素には影響しないが内皮における活性酸素を増加していると考えている<sup>28)</sup>。このように酸化 LDL そのものが NO を失活させ、高脂血症における活性酸素の亢進状態が一層の NO の不活性化をもたらす EDRF 作用を低下させている可能性が考えられる。実際、Ohara らはコレステロール制限食により内皮スーパーオキシド産生が低下するというを示し<sup>31)</sup>、Mügge らは高脂血症においてスーパーオキシドディスムターゼにより内皮依存性血管拡張反応が改善するというを報告している<sup>32)</sup>。ビタミン E やプロブコールによる抗酸化作用により高脂血症における血管の酸化的ストレスが抑制され内皮機能障害が軽減することも報告されており<sup>13,33)</sup>、これらの結果からも高脂血症において活性酸素が NO の作用を減弱させていることが裏付けられている。

### 2.3.4 血管平滑筋反応性の低下

血管平滑筋の NO に対する反応性の低下は機序として考えられない。何故なら、多くの報告で高脂血症において NO 供与体であるニトロプルシッドに対する反応は保たれているからである。

### 2.3.5 細胞内情報伝達系の障害

Shimokawa らは高コレステロール食摂取のブタ冠動脈において百日咳毒素による Gi 蛋白抑制効果が低

下していることを示すことによって高脂血症における Gi 蛋白の機能低下を報告した<sup>34)</sup>。またヒトにおいても Gilligan らは健常人と高脂血症患者の前腕に百日咳毒素感受性の細胞内伝達系を介するとされるアセチルコリンと、百日咳毒素非感受性の細胞内伝達系を有するブラジキニンをそれぞれ動注したところ、アセチルコリンによる血管拡張反応は高脂血症患者の群で健常人の群より有意に低下しているにもかかわらず、ブラジキニンによる血管拡張反応には両群間で有意差を認めなかったことより、ヒト高脂血症においてもアセチルコリン受容体かあるいは百日咳毒素感受性の細胞内伝達系が選択的に障害されることにより血管内皮機能異常が生じることを示唆した<sup>35)</sup>。また、培養内皮細胞においても、ネイティブ LDL が Gq 蛋白は阻害せず Gi 蛋白を阻害し刺激による内皮由来 NO 放出を低下させることが報告され<sup>36)</sup>、変性 LDL の代謝産物であるリソフォスファチジルコリン (LPC) が Gi 蛋白を介する細胞内信号伝達を阻害することが明らかとなった<sup>37)</sup>。Ohgushi らは酸化 LDL や LPC はプロテインカイネース C を活性化させることにより血管内皮機能低下をもたらす、プロテインカイネース C 阻害剤がこの反応を抑制することを示した<sup>38)</sup>。以上のように高脂血症における受容体及び細胞内情報伝達系の異常も現在詳細に解明されつつある。

## 2.4 LDL と EDHF

NO やプロスタサイクリン以外の内皮由来血管拡張物質として、現在未同定であるが血管平滑筋の過分極により血管拡張をもたらす内皮由来血管過分極因子 (EDHF) が知られている。最近、Eizawa らは *in vitro* において LPC が NO による血管拡張反応のみでなく EDHF による血管拡張反応も障害すると報告していることから<sup>39)</sup>、動脈硬化血管の調節機構の新しいメカニズムとして今後の研究成果が期待される。

## 2.5 LDL とエンドセリン

*in vivo* における酸化 LDL のエンドセリンに対する効果に関しては、酸化 LDL はエンドセリンの放出を刺激するという報告<sup>40)</sup> と、反対にエンドセリンの放出を抑制すると報告<sup>41)</sup> があり、酸化 LDL のエンドセリンに対する効果は一定した見解がなかった。しかしながら、最近の詳細な検討では培養ヒト内皮細胞において少量の酸化 LDL はエンドセリンの放出を刺激する可能性があるが、大量の酸化 LDL はエンドセリンの放出を抑制することが示された<sup>42)</sup>。我々の教室の検討においても単回 LDL アフェレシスによる酸化

LDL の急激な除去により血中のエンドセリンは有意に増加するという結果を得ている。LDL アフェレシス後は血行動態が改善し、むしろ血管拡張性が増強する傾向となるにもかかわらず内皮由来血管収縮因子であるエンドセリンが増加する機序に関しては現在不明であるが、ヒト前腕において少量のエンドセリン動注はむしろ血管を拡張させると報告されており<sup>43)</sup>、LDL アフェレシス後のエンドセリンの有意ではあるが軽度の増加は必ずしも血管収縮反応を示すものではないと考えられる。

## 3. ヒト高脂血症における内皮機能異常は治療により改善するか？

以上のように、LDL 及び変性 LDL が血管内皮機能異常をもたらす、抗酸化剤・脂質降下剤により改善することが明らかとなったが、ヒト高脂血症において血管内皮機能異常が治療により可逆的か否か検討することは臨床的に極めて重要な問題である。

### 3.1 脂質降下剤

動脈硬化病変が脂質降下剤の長期投与により退縮することが NHLBI type II<sup>44)</sup>、CLAS I<sup>45)</sup>、CLAS I<sup>46)</sup>、FATS<sup>47)</sup> などの多くの臨床試験において確認されている。一方、脂質レベルの改善により高脂血症において低下した血管内皮機能が回復することも報告されてきた。現在までコレステラミンと低コレステロール食併用<sup>5)</sup>、ロバスタチンとプロブコール併用<sup>7)</sup> が報告されており、冠動脈においても Egashira らはプラバスタチンにより脂質を正常化することによってアセチルコリンによる内皮依存性血管拡張反応の改善を示している<sup>48)</sup>。しかしながら、いずれの検討においても数カ月の治療期間が当てられており、動脈硬化退縮などの血管構築の変化によって血管拡張反応の改善がもたらされた可能性があることから、単純に治療による血管内皮細胞の機能的変化を検討するには限界があった。

### 3.2 LDL アフェレシス

LARS<sup>8)</sup>、及び FHRS<sup>9)</sup> の 2 つのトライアルにおいて、LDL アフェレシスと脂質降下剤の併用は、脂質降下剤単独に比し、より効果的に冠動脈狭窄病変を退縮させることが報告された。一方では、LDL アフェレシスの反復治療による循環改善作用に関する検討が 80 年代後半より進められてきた。冠動脈病変を有する家族性高脂血症患者に 3 年間 LDL アフェレシスを施行すると全例に狭心痛の改善が得られ<sup>49)</sup>、閉塞性動脈硬化症患者に 3 カ月間 10 回の LDL アフェレシスを行

うと下肢の虚血症状の改善と同時にサーモグラフィーとプレチスモグラフィーによる下肢血流の増加がみられている<sup>12)</sup>。Rubbaらは3週間にわたる計6回のLDLアフェレシスにより上下肢基礎血流の軽度増加、末梢血管抵抗の減少、全身血圧の低下を認めたが、血管内皮機能を反映するとされる上腕の虚血後反応性充血の程度は変化しなかったと報告した<sup>50)</sup>。以上のことから、彼らはLDLアフェレシスを反復して得られる末梢循環の改善は主として血液粘稠度の低下や赤血球変形能の改善に基くことを示唆した。同様にSchuff-WernerらはLDLアフェレシスによる急性・慢性の筋酸素飽和度増加は血液粘稠度やフィブリノーゲンの低下によると結論づけている<sup>51)</sup>。しかしながら、LDLアフェレシス1日及び7日後に脳循環を評価した報告によると、血圧・末梢血管抵抗などの全身的な血行動態の変化はアフェレシス前後でみられなかったが、LDLアフェレシス1日後に脳血流速度の明らかな増加がありこれが7日後まで持続したという<sup>52)</sup>。即ち、LDLアフェレシスは血液流動学的に影響する因子以外にも血管内皮機能を改善させる可能性が示唆された。

前述のように、LDL及び酸化LDLは内皮依存性血管拡張反応を強力に抑制し、同時にLDLアフェレシ

スはNO産生刺激物質であるブラジキニン血中濃度を増加させる<sup>53,54)</sup>ことから、単回のLDLアフェレシスによっても内皮依存性血管拡張反応が改善する可能性がある。そこで、我々はLDLアフェレシスを施行している高脂血症患者において、前腕動脈に内皮依存性血管拡張物質であるアセチルコリンと内皮非依存性血管拡張物質であるニトロプルシッドナトリウムを注入することにより、単回のLDLアフェレシス前後の血管拡張反応を検討した<sup>55)</sup>。単回のLDLアフェレシスは血漿中LDLとともに血漿中酸化LDL濃度を著減させたが、前腕動脈の基礎血流は変化させずニトロプルシッドナトリウムによる内皮非依存性血管拡張反応に影響を与えなかった(図1B)。しかし、アセチルコリンによる内皮依存性血管拡張反応はLDLアフェレシス後で著明に改善し(図1A)、その改善度と血漿中LDL及び酸化LDLの低下は有意な逆相関を示した(図2A, B)。この事実はLDLアフェレシスによって急速に脂質を低下させることにより血管構築が変化しないような短時間内に血管内皮機能は改善することを示す。その機序を明らかにするために、我々はアセチルコリン注入前後のNO代謝産物を前腕灌流静脈血で測定したところ、前腕におけるNO産生はLDLア

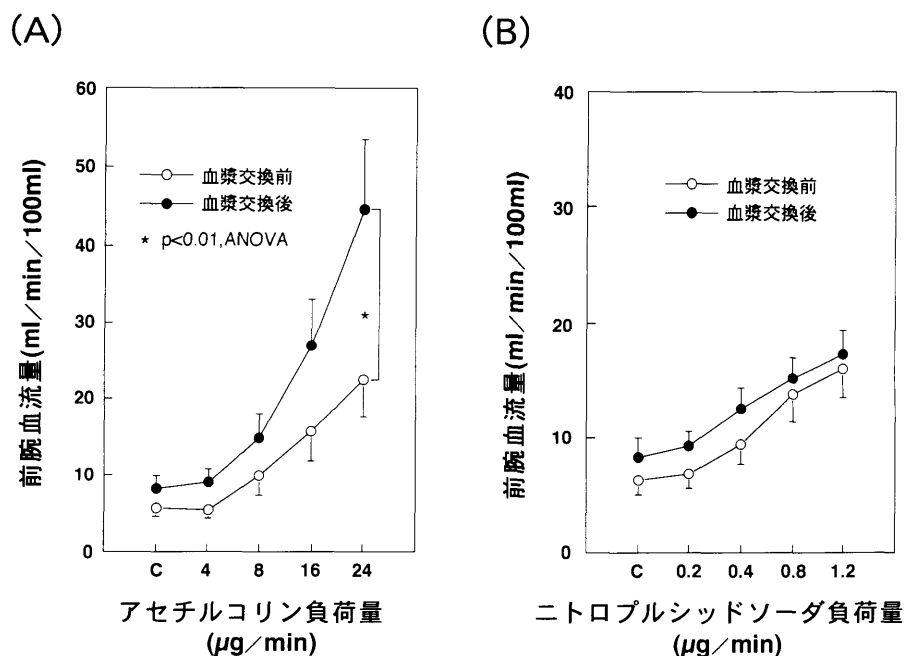
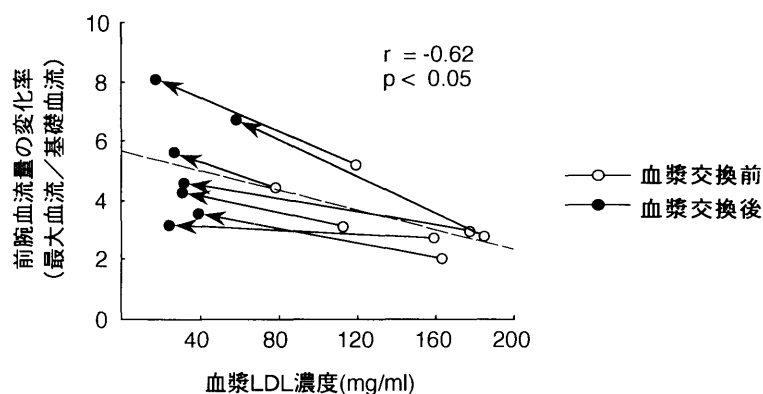


図1 LDLアフェレシス前後における(A)アセチルコリン動注による内皮依存性血管拡張反応及び、(B)ニトロプルシッドソーダ動注による内皮非依存性血管拡張反応

(A)内皮依存性血管拡張反応はLDLアフェレシス後に著明に改善しているが( $p < 0.01$ ), (B)内皮非依存性血管拡張反応はLDLアフェレシス前後で有意な変化を認めていない。

(A)



(B)

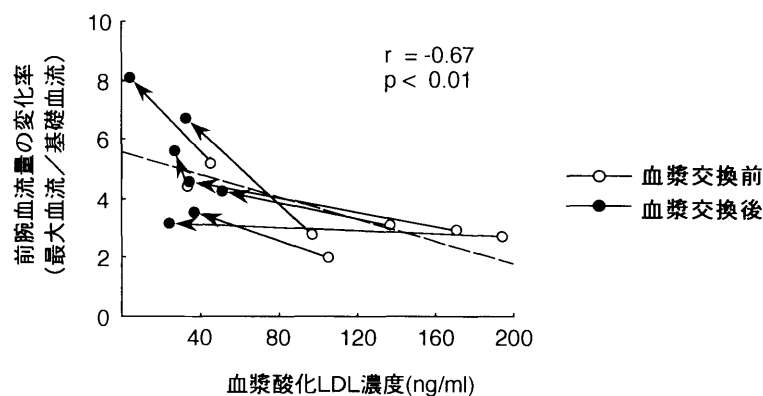


図2 LDLアフェレシス前後における(A)血漿LDL濃度とアセチルコリンによる前腕血流量変化率の相関及び、(B)血漿酸化LDL濃度とアセチルコリンによる前腕血流量変化率の相関  
血漿LDL濃度及び酸化LDL濃度いずれもアセチルコリンによる内皮依存性血管拡張反応の血流量変化率と有意な負の相関を示した ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ).

フェレシス後で著増し、その増加の程度と脂質の低下が明らかに相関した。即ち、LDLアフェレシスはLDL又は酸化LDLを除去することにより内皮NO産生を増加させ、内皮依存性血管拡張反応を改善させた。今回の我々の結果は、LDLアフェレシスの臨床的意義を裏打ちするものであり、同時にヒトにおいてLDL又は酸化LDLが直接内皮機能異常をもたらす病因的可能性を強く示唆する。

#### 4. おわりに

高脂血症における血管内皮機能異常の機序、及び脂質降下剤やLDLアフェレシスなどの治療による改善について我々の知見を含め概説した。今後これらの研究成果を活かし、心血管合併症を持つ患者に対する一

層のLDLアフェレシスの適応の拡大が望まれる。

#### 文 献

- 1) Glasser SP, Selwyn AP, Ganz P: Atherosclerosis: risk factors and the vascular endothelium. *Am Heart J* **131**: 379-384, 1996
- 2) Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME, et al: Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* **86**: 228-234, 1990
- 3) Levine GN, Keaney JF, Vita JA: Cholesterol reduction in cardiovascular disease. Clinical benefits and possible mechanisms. *New Engl J Med* **322**: 512-521, 1995
- 4) Gordon BR, Saal SD: Advances in LDL-apheresis for the treatment of severe hypercholesterolemia. *Current Opinion in Lipidology* **5**: 69-73, 1994
- 5) Leung W-H, Lau C-P, Wong C-K: Beneficial effect of cholesterol-lowering therapy on coronary endothelium-dependent relaxation in hypercholesterolaemic patients.

- Lancet **341**: 1496-1500, 1993
- 6) Egashira K, Hirooka Y, Kai H, et al: Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent coronary vasomotion in patients with hypercholesterolemia. *Circulation* **89**: 2519-2524, 1994
  - 7) Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, et al: The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *New Engl J Med* **332**: 488-493, 1995
  - 8) Tatami R, Inoue N, Itoh H, et al: Regression of coronary atherosclerosis by combined LDL-apheresis and lipid-lowering drug therapy in patients with familial hypercholesterolemia: A Multicenter study. *Atherosclerosis* **95**: 1-13, 1992
  - 9) Thompson GR, Maher VMG, Matthews S, et al: Familial hypercholesterolaemia regression study: A randomised trial of low-density-lipoprotein apheresis. *Lancet* **345**: 811-816, 1995
  - 10) Agishi T, Chikamori M, Suzuki T: Effect of double filtration plasmapheresis on peripheral circulation. In: Oda T ed. *Therapeutic Plasmapheresis (I)*, FK Schattauer Verlag, Stuttgart, 1981, p. 119-124
  - 11) Agishi T, Kitano Y, Suzuki T, Miura A: Improvement of peripheral circulation by low density lipoprotein adsorption. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* **XXXV**: 349-351, 1989
  - 12) Naganuma S, Agishi T, Ota K: LDL apheresis in atherosclerotic disease with hyperlipidemia. *ASAIO* **38**: M436-M439, 1992
  - 13) Keany JF Jr, Vita JA: Atherosclerosis, oxidative stress, and antioxidant protection in endothelium-derived relaxing factor action. *Progress in Cardiovascular Diseases* **XXXVIII**: 129-154, 1995
  - 14) Mangin EL, Kugiyama K, Nguy JH, et al: Effects of lysolipids and oxidatively modified low density lipoprotein on endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta. *Circ Res* **72**: 161-166, 1993
  - 15) Itabe H, Takeshima E, Iwasaki H, Kimura J, et al: A monoclonal antibody against oxidized low density lipoprotein recognizes foam cells in atherosclerotic lesions. Complex formation of oxidized phosphatidylcholines and polypeptides. *J Biol Chem* **269**: 15274-15279, 1994
  - 16) Andrews HE, Bruckdorfer KR, Dunn RC, Jacobs M: Low-density lipoproteins inhibit endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta. *Nature* **327**: 237-239, 1987
  - 17) Kugiyama K, Kerns SA, Morrisett JD, et al: Impairment of endothelium-dependent arterial relaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins. *Nature* **344**: 160-162, 1990
  - 18) Jacobs M, Plane F, Bruckdorfer KR: Native and oxidized low density lipoproteins have different inhibitory effects on endothelium-derived relaxing factor in the rabbit aorta. *Br J Pharmacol* **100**: 21-26, 1990
  - 19) Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, et al: The role of nitric oxide in endothelium-dependent vasodilation of hypercholesterolemic patients. *Circulation* **88**: 2541-2547, 1993
  - 20) Cooke JP, Andon NA, Girerd XJ, et al: Arginine restores cholinergic relaxation of hypercholesterolemic rabbit thoracic aorta. *Circulation* **83**: 1057-1062, 1991
  - 21) Wang B-Y, Singer AH, Tsao PS, et al: Dietary arginine prevents atherogenesis in the coronary artery of the hypercholesterolemic rabbit. *J Am Coll Cardiol* **23**: 452-458, 1994
  - 22) Creager MA, Gallagher SJ, Girerd XJ, et al: L-Arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* **90**: 1248-1253, 1992
  - 23) Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, et al: Investigation of decreased availability of nitric oxide precursor as the mechanism responsible for impaired endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic patients. *J Am Coll Cardiol* **23**: 844-850, 1994
  - 24) Yang X, Cai B, Sciacca RR, Cannon PJ: Inhibition of inducible nitric oxide synthase in macrophages by oxidized low-density lipoproteins. *Circ Res* **74**: 318-328, 1994
  - 25) Liao JK, Shin WS, Lee WY, Clark SL: Oxidized low-density lipoprotein decreases the expression of endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem* **270**: 319-324, 1995
  - 26) Chen LY, Mehta P, Mehta JL: Oxidized LDL decreases L-arginine uptake and nitric oxide synthase protein expression in human platelets relevance of the effect of oxidized LDL on platelet function. *Circulation* **93**: 1740-1746, 1996
  - 27) Minor RL, Myers PR, Guerra R, et al: Diet-induced atherosclerosis increase of nitrogen oxides from rabbit aorta. *J Clin Invest* **86**: 2109-2116, 1990
  - 28) Pritchard KA Jr, Groszek L, Smalley DM, et al: Native low-density lipoprotein increases endothelial cell nitric oxide synthase generation of superoxide anion. *Circ Res* **77**: 510-518, 1995
  - 29) Chin JH, Azhar S, Hoffman BB: Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidized lipoproteins. *J Clin Invest* **89**: 10-18, 1992
  - 30) Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG: Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest* **91**: 2546-2551, 1993
  - 31) Ohara Y, Peterson TE, Sayegh HS, et al: Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. *Circulation* **92**: 898-903, 1995
  - 32) Mügge A, Elwell JH, Peterson TE, et al: Chronic treatment with polyethylene-glycolated superoxide dismutase partially restores endothelium-dependent vascular relaxations in cholesterol-fed rabbits. *Circ Res* **69**: 1293-1300, 1991
  - 33) Stewart-Lee AL, Forster LA, Nourooz-Zadeh J, et al: Vitamin E protects against impairment of endothelium-mediated relaxations in cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler Thromb* **14**: 494-499, 1994
  - 34) Shimokawa H, Flavahan NA, Vanhoutte PM: Loss of endothelial pertussis toxin-sensitive G protein function in atherosclerotic porcine coronary arteries. *Circulation* **83**: 652-660, 1991
  - 35) Gilligan DM, Sack MN, Guetta V, et al: Effect of antioxidant vitamins on low density lipoprotein oxidation and impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* **24**: 1611-1617, 1994
  - 36) Liao JK: Inhibition of Gi proteins by low density lipoprotein attenuates bradykinin-stimulated release of

- endothelial-derived nitric oxide. *J Biol Chem* **269**: 12987-12992, 1994
- 37) Flavahan NA: Lysophosphatidylcholine modifies G protein-dependent signalin in porcine endothelial cells. *Am J Physiol* **264**: H722-H727, 1993
  - 38) Ohgushi M, Kugiyama K, Fukunaga K, et al: Protein kinase C inhibitors prevent impairment of endothelium-dependent relaxation by oxidatively modified LDL. *Arterioscler Thromb* **13**: 1525-1532, 1993
  - 39) Eizawa H, Yui Y, Inoue R, et al: Lysophosphatidylcholine inhibits endothelium-dependent hyperpolarization and N<sup>ω</sup>-Nitro-L-arginine/indomethacin-resistant endothelium-dependent relaxation in the porcine coronary artery. *Circulation* **92**: 3520-3526, 1996
  - 40) Horio T, Kohno M, Yasunari K, et al: Stimulation of endothelin-1 release by low density and very low density lipoproteins in cultured human endothelial cells. *Atherosclerosis* **101**: 185-190, 1993
  - 41) Jougasaki M, Kugiyama K, Saito Y, et al: Suppression of endothelin-1 secretion by lysophosphatidylcholine in oxidized low density lipoprotein in cultured vascular endothelial cells. *Circ Res* **71**: 614-619, 1992
  - 42) He Y, Kwan WCP, Steinbrecher UP: Effects of oxidized low-density-lipoprotein on endothelin secretion by cultured endothelial-cells and macrophages. *Atherosclerosis* **119**: 107-118, 1996
  - 43) Kiowski W, Lüscher T, Linder L, Bühler FR: Endothelin-1-induced vasoconstriction in humans. Reversal by calcium channel blockade but not by nitrovasodilators or endothelium-derived relaxing factor. *Circulation* **83**: 469-475, 1991
  - 44) Brensike JF, Levy RI, Kelsey SF, et al: Effects of therapy with cholestyramine on progression of coronary atherosclerosis: Results of the NHLBI Type II coronary intervention study. *Circulation* **69**: 313-324, 1984
  - 45) Blankenhorn DH, Nessim SA, Johnson RL, et al: Beneficial effects of colestipol niacin therapy on coronary atherosclerosis and coronary venous bypass grafts. *JAMA* **257**: 3233-3240, 1987
  - 46) Cashin-Hemphill L, Mack WJ, Pogoda MJ, et al: Beneficial effects of colestipol-niacin on coronary atherosclerosis. *JAMA* **264**: 3013-3017, 1990
  - 47) Brown BG, Albers JJ, Fisher LD, et al: Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid-lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. *New Engl J Med* **323**: 1289-1298, 1990
  - 48) Egashira K, Hirooka Y, Kai H, et al: Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent coronary vasomotion in patients with hypercholesterolemia. *Circulation* **89**: 2519-2524, 1994
  - 49) Borberg H, Oette K: Experience with and conclusions from three different trials on low density lipoprotein apheresis. In: Agishi T, Kawamura A, Mineshima M eds, Therapeutic plasmapheresis (XII), VSP, Utrecht, 1993, p. 13-20
  - 50) Rubba P, Iannuzzi A, Postiglione A, et al: Hemodynamic changes in the peripheral circulation after repeat low density lipoprotein apheresis in familial hypercholesterolemia. *Circulation* **81**: 610-616, 1990
  - 51) Schuff-Werner P, Schutz E, Seyde WC, et al: Improved haemorheology associated with a reduction in plasma fibrinogen and LDL in patients being treated by heparin-induced extracorporeal LDL precipitation (HELP). *Eur J Clin Invest* **19**: 30-37, 1989
  - 52) Rubba P, Faccenda F, Somma SD, et al: Cerebral blood flow velocity and systemic vascular resistance after acute reduction of low-density Lipoprotein in familial hypercholesterolemia. *Stroke* **24**: 1154-1161, 1993
  - 53) Koga N, Nagano T, Sato T, Kagasawa K: Anaphylactoid reactions and bradykinin generation in patients treated with LDL-apheresis and an ACE inhibitor. *ASAIO J* **39**: M288-M291, 1993
  - 54) Kojima S, Harada-Shiba M, Toyota Y, et al: Changes in coagulation factors by passage through a dextran sulfate-cellulose column during low density lipoprotein apheresis. *Int J Artif Organs* **15**: 185-190, 1992
  - 55) Tamai O, Matsuoka H, Imaizumi T, et al: Single LDL-apheresis improves endothelium-dependent vasodilatation in hypercholesterolemic humans. *Circulation* (in press)