

氏名	みなみ 南	まなぶ 学
学位(専攻分野)	博士(医学)	
学位記番号	医博第2476号	
学位授与の日付	平成14年3月25日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻	
学位論文題目	Expression of SR-PSOX, a Novel Cell-Surface Scavenger Receptor for Phosphatidylserine and Oxidized LDL in Human Atherosclerotic Lesions (新規酸化LDL受容体SR-PSOXのヒト動脈硬化病変における発現) (主査)	
論文調査委員	教授 成宮 周	教授 中尾 一和 教授 北 徹

### 論文内容の要旨

#### 【研究の背景と目的】

マクロファージによる、受容体を介した酸化LDLの取り込みとそれに引き続く泡沫細胞化が、粥状動脈硬化の発生、進展や粥腫の破綻に重要であると考えられている。酸化LDL受容体としてこれまで構造の異なる複数の分子が同定されており、発生工学的な手法を用いた検討などから、これら酸化LDL受容体のいくつかは、動脈硬化病変形成に極めて重要な役割を果たしていることが証明されていると同時に、未知の受容体が関与する可能性も示唆されている。我々は、ホルボールエステルで刺激しマクロファージ様に分化させたTHP-1細胞(ヒト単球系細胞株)のcDNAライブラリーから、発現クローニングの手法を用いて、新規酸化LDL受容体SR-PSOX(scavenger receptor for phosphatidylserine and oxidized lipoprotein)のクローニングに成功した。ヒトSR-PSOXは254アミノ酸残基からなるI型膜貫通蛋白で、酸化LDLに特異的な結合能と取り込み能を示し、他の変性LDLであるアセチル化LDLとは結合能を持たない、構造上も全く新規の酸化LDL受容体である。本研究では、SR-PSOXの動脈硬化病変形成における意義を明らかにするため、ヒト動脈硬化病変でのSR-PSOXの発現を、RT-PCR法および免疫組織学的手法を用いて検討した。

#### 【方法と結果】

ヒト頸動脈内膜剥離術手術標本(21標本)、およびヒト冠動脈アテレクトミー標本(11標本)より、組織RNAの抽出または新鮮凍結切片の作製を行った。正常対照には、大動脈手術標本で、肉眼的な動脈硬化病変を有さない2標本を用いた。

ヒトSR-PSOX特異的なプライマーを用いたRT-PCR法による検討では、動脈硬化病変部より抽出した各サンプルで、SR-PSOX mRNAの発現レベルの昂進を認めた。一方正常対照標本ではSR-PSOX mRNAの発現は殆ど認められず、その発現が、動脈硬化病変特異的であることが示された。

次に、免疫組織染色法を用いてSR-PSOXの発現様式をさらに詳細に検討するため、ヒトSR-PSOXに対する特異抗体を作製した。作製した抗体の抗原特異性は、ヒトSR-PSOXの一過性強発現細胞を用い、非発現細胞を対照とした、免疫細胞染色やウエスタンブロットにより確認された。このヒトSR-PSOX特異抗体を用いた免疫組織染色では、ヒト頸動脈動脈硬化病変部の新生内膜部分に、SR-PSOXの豊富な発現を認めた。さらに細胞マーカーを用いた免疫染色による検討などから、これらSR-PSOX発現細胞が、新生内膜に存在し、脂質を蓄積したマクロファージに一致することが示された。マクロファージにおけるSR-PSOXの発現は、免疫組織二重染色法でも確認された。一方正常対照血管、病変部の血管内皮細胞や中膜平滑筋細胞にはその発現は殆ど認められなかった。このようなSR-PSOXの発現様式は、ヒト冠動脈動脈硬化病変を用いた同様の検討でも確認された。

#### 【結論】

SR-PSOXは、ヒト粥状動脈硬化病変の、新生内膜に存在する脂質を蓄積したマクロファージに豊富に発現されることが、本研究より明らかになった。このことからSR-PSOXは、マクロファージによる酸化LDLの取り込みとその後の泡

沫細胞化に関与し、ヒト動脈硬化病変の形成・進展に重要な役割を果たしていることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

マクロファージによる、受容体を介した酸化 LDL の取り込みと泡沫細胞化が、粥状動脈硬化の発生に重要である。申請者は、発現クローニングの手法を用いて、新規酸化 LDL 受容体 SR-PSOX (scavenger receptor for phosphatidylserine and oxidized lipoprotein) をクローニングした。本研究では、SR-PSOX の動脈硬化病変形成における意義を明らかにするため、ヒト頸動脈内膜剥離術標本 (21 標本)、冠動脈アテレクトミー標本 (11 標本) を用いて、ヒト動脈硬化病変での SR-PSOX の発現を、RT-PCR 法および免疫組織染色法により検討した。大動脈手術標本で、肉眼的な動脈硬化病変のない 2 標本を正常対照とした。

RT-PCR 法では、動脈硬化病変の各標本でのみ SR-PSOX mRNA の発現レベルの昂進を認めた。次にヒト SR-PSOX に対する特異抗体を作製し、免疫組織染色法により、その発現をさらに詳細に検討した。その結果、ヒト動脈硬化病変の新生内膜に存在し、脂質を蓄積したマクロファージに、SR-PSOX が豊富に発現することが示された。一方正常対照血管にはその発現は殆ど認められなかった。

これらのことから、SR-PSOX は、マクロファージによる酸化 LDL の取り込みと泡沫細胞化に関与し、ヒト動脈硬化病変の形成に重要な役割を果たすことが示唆された。

以上の研究は、ヒト粥状動脈硬化病変における新規酸化 LDL 受容体 SR-PSOX の発現を証明したものであり、SR-PSOX を標的にした動脈硬化病変の形成抑制や粥腫不安定化予防の可能性を示し、臨床面への応用にも寄与するところが多い。

したがって本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成14年2月8日実施の、論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。