

氏名	いの うえ かず ひこ 井 上 和 彦
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2922 号
学位授与の日付	平成 18 年 1 月 23 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	Overexpression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 induces intramyocardial vasculopathy in apolipoprotein E-null mice. (アポリポタンパク質 E 遺伝子欠損マウスにおけるレクチン様酸化 LDL 受容体 LOX-1 の過剰発現は心筋内の血管病変を誘発する)
論文調査委員	(主査) 教授 長澤 丘 司 教授 淀井 淳 司 教授 開 祐 司

論 文 内 容 の 要 旨

レクチン様酸化 LDL 受容体 (lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1; LOX-1) は主に血管内皮細胞に発現する酸化 LDL 受容体である。LOX-1 は刺激のない状態ではほとんど発現していないが、TNF- α のような炎症性サイトカインやアンジオテンシンのような血管収縮性ペプチドによって一過性に発現が誘導される。また、リガンドである酸化 LDL やその構成脂質のリゾホスファチジルコリン、さらには shear stress のような流体力学的因子によっても発現が誘導される。一方、酸化 LDL との結合による LOX-1 の活性化は、MCP-1 のようなケモカインや ICAM-1, VCAM-1 といった接着分子の発現を亢進させ、血管弛緩作用を持つ NO の放出を抑制する。また、LOX-1 は動脈硬化巣で高発現しており、高血圧、高脂血症、糖尿病でも発現が増加している。このため、LOX-1 は血管内皮機能の障害が原因となる病態に深く関与していると考えられている。

しかしこれらの知見は全て *in vitro* の系での結果であり、*in vivo* での LOX-1 の役割は不明であった。そこで、LOX-1 を過剰発現する LOX-1 トランスジェニックマウス (LOXtg) を作製し、LOX-1 の *in vivo* での役割を検証することにした。

血管内皮細胞特異的に LOX-1 を過剰発現させるために、mouse preproendothelin-1 プロモーターに bovine LOX-1 cDNA をつなげたものを、C57BL/6 マウスの卵にマイクロインジェクションした。この結果、5 系統の LOXtg を得ることができた。全ての系統において導入遺伝子は心臓で高発現しており、特に心筋細胞と冠動脈の血管内皮細胞に強く発現していた。さらに、蛍光標識した酸化 LDL の取り込みを指標にして、過剰発現させた LOX-1 が本来の酸化 LDL 受容体としての機能を有していることを確認した。

LOX-1 の機能と高脂血症や動脈硬化との関連を調べるために、高脂血症を呈して動脈硬化を発症しやすいアポリポタンパク質 E のノックアウトマウス (apoEKO) と LOXtg を掛け合わせたマウス (LOXtg/apoEKO) を作製した。高脂肪食を3週間与えたところ、LOXtg/apoEKO では対照となる apoEKO に比べて次のような表現型が見られた。

- ① 心臓において、酸化 LDL 及び酸化ストレスのマーカー分子である 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine の集積した冠動脈の割合が共に約10倍に増加した。
- ② 心臓において、ICAM-1 mRNA と VCAM-1 mRNA の発現が共に約 2 倍に亢進し、冠動脈周囲へ浸潤したマクロファージの数が約 5 倍に増加した。
- ③ 冠動脈における動脈硬化巣の面積が約10倍に増大した。

一方、LOXtg 及び LOXtg/apoEKO ともそれぞれの対照となるマウスと比べて、総コレステロールやトリグリセリド等の血清生化学値、LDL や HDL といったリポタンパク質の組成、血圧や心拍数といった血液動態学的数値に有意差は見られなかった。

この結果、高脂血症下での LOX-1 の過剰発現は、冠動脈における炎症反応と脂質の沈着を促進させることが明らかになった。また、これは血液中のリポタンパク質の変化というよりむしろ、LOX-1 の過剰発現による冠動脈周囲への酸化 LDL の集積が原因になっていると考えられる。従って、*in vivo* でも LOX-1 が血管内皮機能の障害を引き起こし、動脈硬化を促進させることを証明した。

論文審査の結果の要旨

レクチン様酸化 LDL 受容体 (lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1; LOX-1) は主に血管内皮細胞に発現する酸化 LDL 受容体であり、動脈硬化の発症・進展に深く関与していることが *in vitro* で提示されている。本研究では、LOX-1 を過剰発現する LOX-1 トランスジェニックマウス (LOXtg) を作製し、LOX-1 の動脈硬化における *in vivo* での役割を検証した。

mouse preproendothelin-1 プロモーターを使って心筋細胞と冠動脈の血管内皮細胞で LOX-1 が強発現する LOXtg を作製した。動脈硬化を起こしやすいアポリポタンパク質 E 遺伝子欠損マウスと LOXtg を掛け合わせたマウスに高脂肪食を 3 週間与えたところ、対照マウスに比べて冠動脈で酸化 LDL の蓄積、酸化ストレスの亢進、接着分子 (ICAM-1, VCAM-1) の発現上昇、血管周囲へ浸潤したマクロファージ数の増加が見られ、動脈硬化巣の面積が約 10 倍に増大した。一方、血清中の総コレステロール値、リポタンパク質の組成、血圧、心拍数に有意な変化は見られなかった。

以上の研究は LOX-1 が *in vivo* でも炎症反応と脂質の沈着を亢進させて動脈硬化を進行させることを明らかにし、動脈硬化の発症・進展抑制の分子標的として LOX-1 が有用であることが示された。

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 17 年 12 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。