氏名	はやし 林	だ 田	かず 和	たか 隆
学位(専攻分野)	博士(医学)			
学位記番号	医博第2577号			
学位授与の日付	平成15年3月24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	Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) supports adhesion of mononuclear leukocytes and a monocytic-like cell line THP-1 cells under static and flow conditions (静止条件および流速下における末梢血単核白血球および単球様培養細胞 THP-1 の LOX-1 を介した接着について)			
論文調査委員	(主査) 教授 月田承一郎	教授 内山 卓	教授 北	徹

論 文 内 容 の 要 旨

【研究の背景と目的】

粥状動脈硬化は虚血性心疾患や脳血管障害などの原因病変であり、その発症進展機構を解明することは極めて重要である。粥状動脈硬化の発生及び進展機構においていくつかの重要な段階があることが知られているが、特に病変形成の初期の段階において、血液中の単核白血球、特に単球が血管内皮細胞に接着、ローリングをすることが非常に重要であると考えられている。これまでの検討においてはいくつかの分子が接着、ないしローリングにおいて重要な役割を果たしていることが証明されているが、それ以外の分子が関与する可能性も示唆されている。Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) は血管内皮細胞から cloning された約 40-50KDa のⅡ型膜蛋白でなる酸化 LDL 受容体である。LOX-1 は、その発現が種々の炎症性刺激やシヤストレスなどといった刺激により著明に上昇する。またヒトの動脈においては正常な部分には殆ど発現が認められないのに対して、動脈硬化病変においては血管内皮細胞のみならずマクロファージや血管平滑筋細胞において著明にその発現の亢進を認める。特に動脈硬化病変の初期変化に当たる部位においては血管内皮細胞に強い発現を認める。さらに LOX-1 は酸化 LDL 以外にも、細菌やフィブロネクチンなどの多くの生理的リガンドが存在することが知られている。本研究では LOX-1 が単核白血球に対する接着分子として機能するかどうかを検討した。

【方法と結果】

Plate に LOX-1 を強発現する CHO 細胞 (hLOX-1-CHO)、対照野生型 CHO 細胞 (WT-CHO) を培養ないし LOX-1 の細胞外領域からなる大腸菌リコンビナント蛋白をコート (rhLOX-1-ECD) し、BECF-AM (生存細胞のみを蛍光標識する) で標識されたヒト末梢血単核白血球 (MNL) ないし種々の白血球 cell line の plate に対する接着能を検討した。30分の incubation 後、5分間の遠心 (270XG) により非接着細胞を除去し、接着細胞数を蛍光測定により算定した。MNL および THP-1 細胞において LOX-1 発現 CHO に対する接着が有意に亢進した (約1.5倍、および約3.5倍)。またこの接着の亢進は 4℃ においても認められ、インテグリン非依存性の接着と考えられた。rhLOX-1-ECD をコートした plate に対する MNL および THP-1 細胞の接着も濃度依存的に上昇し飽和した。またこれら接着は LOX-1 機能遮断抗体および酸化 LDL によって抑制された。ウシ大動脈血管内皮細胞に対する THP-1 細胞の接着も LOX-1 機能遮断抗体および酸化 LDL によって有意に抑制された。フローチャンバーを用い、種々の流速下における hLOX-1-CHO 及び WT-CHO 上の蛍光標識された白血球のローリング速度及びその細胞数を蛍光顕微鏡下で検討した。1.5dyne/cm² 以下において、hLOX-1-CHO 上で有意にローリングする細胞が増加しており、その速度も低下していた (対照比約56%)。

【結論】

本研究は初めて LOX-1 が静止及び流速下において接着分子として機能することを示したものであり、白血球との接着を介して動脈硬化病変の形成及び進展や炎症反応において非常に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

粥状動脈硬化の発生およびそのプラーク破綻においては、血中の単核白血球が血管内皮細胞表面に接着し内皮下に集積することが重要である。複数の分子が単核白血球の内皮への接着に関与することが知られているが、未知の分子が関与する可能性も示唆されている。接着分子として機能するセレクトインと同様にレクチン様構造をもつ酸化 LDL 受容体 Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) は動脈硬化病変における選択的な発現がみられ、特に初期病変においては血管内皮細胞に強い発現を認める。本研究では LOX-1 が単核白血球に対する接着分子として機能するかを検討した。THP-1 細胞及び末梢血単核白血球は LOX-1 を強発現する細胞及び LOX-1 細胞外領域のリコンビナント蛋白に対して有意に接着が亢進し、これらは LOX-1 機能遮断抗体および酸化 LDL によって抑制された。血管内皮細胞に対する THP-1 細胞の接着も LOX-1 機能遮断抗体および酸化 LDL によって有意に抑制された。流速下でも LOX-1 発現細胞上でローリングする白血球の移動速度は低下し、その数は増加していた。以上の研究より LOX-1 が静止及び流速下において単核白血球の接着分子として機能することが明らかとなり、動脈硬化をはじめとする単核白血球が浸潤する病態において LOX-1 がその予防・治療の標的となる可能性が提示された。

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15年1月30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。