

氏名	ちん 陳	めい 明	ぎ 義
学位(専攻分野)	博士(医学)		
学位記番号	医博第2429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	医学研究科脳統御医科学系専攻		
学位論文題目	Conserved carboxyl-terminal residues within the lectin-like domain of LOX-1 are essential for oxidized LDL binding (レクチン様ドメイン内の保存されたC末端アミノ酸残基が酸化LDLのLOX-1への結合に必須である)		
論文調査委員	(主査) 教授北	徹	教授鍋島陽一 教授成宮周

### 論文内容の要旨

レクチン様酸化LDLレセプターLOX1は、エンドサイトーシスによる酸化LDLの細胞内取り込みを仲介する受容体である。LOX-1は、動脈硬化や動脈硬化性病変をきたす基礎疾患である高血圧、高脂血症、糖尿病などの病態で発現の上昇が認められ、動脈硬化の病態生理に深く関与していることが明らかとなっている。LOX-1は、血管内皮細胞に発現が多くみられるが、血管内皮のみならず、単球由来マクロファージや平滑筋細胞にも発現誘導が認められ、動脈硬化初期にみられる内皮機能障害、泡沫細胞の形成に重要な役割を果たしていることが示唆されている。

LOX-1は、50KDaのタイプII膜蛋白で、レクチン様ドメイン、ネックドメイン、膜貫通ドメイン、細胞質ドメインの4つのドメインから成る。LOX-1は、Cタイプレクチンファミリーに属し、クラスAスカベンジャーレセプター、クラスBスカベンジャーレセプターなどの既知のスカベンジャーレセプターと構造上類似が認められず、リガンド特異性も異なっていた。

現在のところLOX-1のリガンドとして酸化LDLをはじめとする修飾LDLのみならず、陰性荷電をもったリン脂質や老化赤血球、活性化血小板、アポトーシス細胞などが知られているが、LOX-1がリガンドを認識するメカニズムについてはいまだ明らかにされていない。

そこで我々は、LOX-1の欠失変異体を作成することにより酸化LDLの結合に必要な部位の同定を試みた。まずはじめに、LOX-1のアミノ酸配列の比較を種間で行った。アミノ酸配列の比較から、レクチン様ドメインのアミノ酸配列が非常によく保存されていることがわかった。レクチン様ドメインには6つのシステイン残基が存在するが、このシステイン残基はすべての種で保存されており、加えてN末端から数えて260番～265番目のアミノ酸残基が種間でよく保存されており、262番263番目のリジン残基はすべての種で保存されていた。また、Cタイプレクチンファミリーレセプターのリガンド結合部位は、レクチン様ドメインであることが知られており、LOX-1の酸化LDL結合部位も、レクチン様ドメインであることが推察された。そこでレクチン様ドメインを欠失させた変異体を作成し、酸化LDLの結合能を調べたところ、酸化LDLは結合できなかったため、レクチン様ドメインが酸化LDLの結合に重要であることが示唆された。次にレクチン様ドメインのどの部位が酸化LDLの結合に重要かを調べるため、レクチン様ドメインで保存されている6つのシステイン残基を境としてC末端側から欠失させた変異体を6個作成した。その結果6つのシステイン残基が保存されているC末端欠失変異体、すなわちN末端から数えて261～270番目を欠失させた変異体で酸化LDLの結合がみられなくなった。更なる研究の結果、N末端から265番目以降のアミノ酸を欠失させた変異体で酸化LDLの結合能が認められなくなったことから265番目以降のアミノ酸が酸化LDLの結合に重要であることが示唆された。また種間でよく保存されている262番のリジン残基をアラニンに置換した変異体、263番目のリジン残基をアラニン残基に置換した変異体では、酸化LDLの結合が減弱し、262番目と263番目のリジン残基を2つともアラニンに置換した変異体では酸化LDLの結合がみられなくなった。このことから262番目と263番目のリジン残基の陽性荷電も酸化LDLの結合に重要であることが示唆された。

以上より LOX-1 の酸化 LDL 結合には、LOX-1 の C 末端領域が重要であることが明らかとなった。

#### 論文審査の結果の要旨

レクチン様酸化 LDL 受容体 LOX-1 は、血管内皮細胞に発現し、エンドサイトーシスによって酸化 LDL の細胞内への取込みを仲介する受容体である。動脈硬化や動脈硬化性病変をきたす基礎疾患である高血圧、高脂血症、糖尿病などの病態で発現の上昇が認められ、動脈硬化の病態生理に深く関与していると考えられている。

本論文で、申請者は LOX-1 の欠失変異体を作成することにより酸化 LDL の結合に必要な LOX-1 の機能部位の同定を試みた。本論文は、レクチン様ドメインが酸化 LDL の結合部位であることが示し、さらにレクチン様ドメインのうち C 末端領域が必須で、その中の塩基性アミノ酸の持つ陽性荷電が陰性荷電を持つ酸化 LDL との相互作用に重要な位置を占めることを明らかにした。しかも、LOX-1 の活性中和抗体が同一部位への結合を示すことから、この部分に結合する化合物が LOX-1 のアンタゴニストとして機能する可能性を示した。

以上の研究は動脈硬化性病変の解明に貢献し、新しい原理に基づく動脈硬化治療薬の開発に寄与するところが大きい。

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13年11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。