

氏名	ほし 星	かわ 川	はじめ 一
学位(専攻分野)	博士(医学)		
学位記番号	医博第2068号		
学位授与の日付	平成11年1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	医学研究科外科系専攻		
学位論文題目	High affinity binding of oxidized LDL to mouse lectin-like oxidized LDL receptor (LOX-1) (マウス・レクチン様酸化LDLレセプター(LOX-1)への酸化LDLの高親和性結合) (主査)		
論文調査委員	教授 中尾一和	教授 北徹	教授 中村孝志

論 文 内 容 の 要 旨

動脈硬化の最初期段階においてはNO遊離の障害、白血球に対する化学的走化物質・接着分子、血管平滑筋に対する増殖因子の発現増強といった血管内皮の機能的変化が生じる。酸化LDLは内皮において以上のような変化を引き起こし動脈硬化発症において重要な役割を果たしていることが示されており、血管内皮上の特異的レセプターの存在が示唆されてきた。酸化LDLを含む変性LDLを取り込むレセプターはマクロファージにおけるスカベンジャーレセプターその他幾つかのレセプターが同定されてきたがこれらは内皮においては発現を認めなかった。そこで血管内皮における変性LDLに対するレセプターの同定を試み、lectin-like OxLDL receptor (LOX-1)をウシ大動脈内皮よりクローニングした。LOX-1はC型レクチンファミリーに属するII型膜貫通蛋白であり正常血管内皮及び粥状硬化内皮においても発現を認めた。生体における機能を明らかにするため遺伝子ノックアウトマウスを作製する目的でマウスLOX-1の単離を行った。既に単離したウシLOX-1の全長cDNAを用いてマウス胎盤cDNAライブラリーよりcDNAのクローニングを行った。

単離されたマウスLOX-1は363アミノ酸、推定分子量41,617の蛋白であり、C型レクチン構造やII型膜蛋白の特徴は保たれていた。レクチンドメインにおけるウシ・ヒトとの相同性はそれぞれ57%・59%であった。マウスLOX-1は細胞外ネットドメインにウシ・ヒトとは異なり3回の繰り返し配列を持っていた。

単離したマウスLOX-1を安定化発現した細胞MLOX-1-CHOを用いて酸化LDLの取り込みを調べた。DiIを用いて蛍光標識を行った酸化LDLは著明に取り込まれたが、20倍濃度の非標識酸化LDLにより取り込みは阻害された。またこの際、血清の存在下では酸化LDLの取り込みが顕著に増加することが観察された。

そこでこの血清のLOX-1の機能に対する影響を、酸化LDLのマウスLOX-1に対する結合実験で調べた。スクヤッチャード解析により血清存在下では高親和性及び低親和性結合部位が確認された。それぞれのKd値は0.60, 44 μ g/mlであった。一方血清非存在下では低親和性結合部位のみが認められた。非標識酸化LDLによる標識酸化LDLの置換実験でも同様の結果を得た。以上より血清添加により高親和性結合部位が出現することがわかった。また高親和性結合部位のKd値は既知の酸化LDLに対するレセプターの中で最も親和性の高いものであった。

マウスLOX-1の酸化LDLレセプターとしての機能を確定するため、次にMLOX-1-CHOにおける酸化LDLの分解産物の測定を¹²⁵Iで標識した酸化LDLを用いて行った。トリクロ酢酸可溶の分解産物の放射活性は過量の非標識酸化LDLにより顕著に抑制された。一方、過量の非標識アセチル化LDLでは中等度の抑制しかみられなかった。

以上の結果よりマウスLOX-1はヒトやウシLOX-1のC型レクチン構造やII型膜蛋白の特徴を保持し、アセチル化LDLよりも酸化LDLをよく取り込む能力の有ることが明らかとなった。また血清存在下ではLOX-1は酸化LDLに対し高・低2種の親和性を持った結合特性を示し、高親和性結合には血清中の未知の因子の存在が必要であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

酸化LDLによる血管内皮細胞傷害は種々の血管病，特に動脈硬化発症初期過程において重要な役割を果たしていることが良く知られている。申請者らがクローニングしたlectin-like oxidized LDL receptor (LOX-1) は血管内皮細胞に発現することが明らかとなった初めての酸化LDL受容体であり，このメカニズムの解明に寄与する可能性がある。

申請者はさらに，ウシLOX-1のcDNAを用いてマウスLOX-1のクローニングを行い，マウスLOX-1がC型レクチン様構造，II型膜蛋白などのLOX-1分子の基本構造を保っていることを明らかにした。また，LOX-1の酸化LDL取り込み活性は，血清中の未知の成分により著明に亢進し，これは高親和性結合部位が新たに出現するためであることを明らかにした。現時点ではこの成分の詳細は明らかでないが，生体内でのこの成分の多寡により，動脈硬化の進展の度合いが変化してくる可能性を示唆している。

以上の研究は，粥状動脈硬化症の発症・進展に重要と考えられる血管内皮細胞の分子とその活性調節を明らかにし，新たな病態のメカニズムの解明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11年1月7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。