

[別紙 1]

論文の内容の要旨

論文題目 **血管内皮細胞の新規スカベンジャー受容体、SREC
の発現調節とその機能に関する発生工学的研究**

指導教官 木村 哲 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成10年4月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏 名 **田村 嘉章**

クラス A タイプ I/II スカベンジャー受容体(MSR-A)をはじめとするスカベンジャー受容体ファミリー分子は、酸化 LDL などの変性した低比重リポ蛋白(LDL)を取り込むが、これはマクロファージが泡沫細胞に変化し動脈硬化性病変が進展する過程において重要な役割を果たす。また、スカベンジャー受容体はこの他にも、糖化変性タンパク質やアポトーシス細胞の除去、細胞接着や、細菌やエンドトキシンに対する免疫反応など、さまざまな生理機能において働くことが知られている。一方、血管内皮細胞上にも MSR-A をはじめとするさまざまなスカベンジャー受容体が存在し、変性 LDL 処理に関わっていることが報告されてきた。

最近、我々は血管内皮細胞に発現する新規スカベンジャー受容体(SREC; Scavenger Receptor Expressed by Endothelial Cells)をクローニングした。ヒト SREC を恒常的に発現させた CHO 細胞はアセチル LDL に高い親和性を有し、これをエンドサイトーシスによって取り込み、分解した。しかし、SREC の真のリガンドや機能はいままで明らかにされていない。

SREC の生体内における機能を明らかにするため、われわれは、SREC の発現に影響を与える物質を *in vitro* の実験で検索した結果、腹腔マクロファージ (Mouse Peritoneal Macrophage; MPM)において SREC が発現しており、リポポリサッカライド(LPS)がこの発現を誘導することを発見した。LPS は、エンドトキシンショックの原因物質であり、MSR-A はこれを結合する。また、MSR-A のノックアウトマウスではエンドトキシンショック時の死亡率が増悪あるいは改善するという報告がある。LPS は、濃度、時間依存性に MPM での SREC の発現を誘導した。その強さは、同じ内皮細胞のスカベンジャー受容体である LOX-1 (lectin-like Ox-LDL receptor-1)よりは小であったが、MSR-A より大であった。その機序には、転写活性の亢進と転写産物の安定性の亢進の両機序が関与している可能性があり、またその過程には TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α) は介在していないと考えられた。一方、LPS の内皮細胞への投与では、SREC の発現誘導は認められなかった。さらに、LPS の *in vivo* の投与においても、MSR-A や LOX-1 は発現が誘導されたが、SREC の発現量に変化は認められなかった。

これらの事実を踏まえ、我々は次いで遺伝子ターゲティングの手法を用いて SREC 遺伝子を欠損したマウスを作製した。ターゲティングベクターは、SREC の膜貫通ドメインを neo カセットで置換するように構築した。SREC ホモ欠損マウスのノーザンブロットでは、膜貫通ドメインを欠きサイズが短縮した mRNA を認めたが、イムノブロットでは、SREC 蛋白の欠損が証明され、この短縮型 SREC は細胞膜表面に発現することができず、受容体としての機能は失われていると考えられた。ホモ欠損マウスは外見上正常であり、主要臓器の

病理所見、生殖能や妊孕性も正常だった。また血清脂質にも、異常を認めなかった。

SREC が何らかの炎症反応に介在するという仮定のもとにフェノタイプ検索を行った結果、われわれはグルカン(zymosan)投与後において肝臓での granuloma 形成が抑制されるということを見出した。その原因として SREC ホモ欠損マウスのマクロファージの細胞接着能の低下を疑い、これを検討したが、これには異常を認めなかった。一方、SREC ホモ欠損マウスでのエンドトキシンショックによる死亡率は野生型と著変なかった。LPS 刺激による SREC 誘導の生理的な意義については、さらなる検討が必要であると考えられた。

最後にわれわれは、SREC 欠損マウスにおけるアセチル LDL 代謝の変化について検討した。肝臓血管内皮細胞(Liver Vascular Endothelial cells; LEC)は経静脈的に投与されたアセチル LDL の主要な処理の場となっているが、この処理の過程に MSR-A がどの程度関与しているかについては、複数のグループが MSR-A ノックアウトマウスの LEC を用いて実験しているが、議論が分かれており、SREC のこの機能への関与が疑われる。しかし、SREC 欠損マウスの LEC におけるアセチル LDL に対する特異的な取り込み能や分解能は低下していなかった。われわれは MPM でも同様の実験をおこなったが、MPM でもアセチル LDL の取り込み能や分解能は低下していなかった。MPM ではこの過程に MSR-A が主要に関与していることが実証されているが、LEC では MSR-A およびその他のスカベンジャー受容体の関与が疑われた。さらに、SREC ホモ欠損マウスでは経静脈的に投与したアセチル LDL の肝臓での処理も障害されていなかった。以上のことより、アセチル LDL の代謝、処理には SREC と独立した経路が存在することが示唆されたが、in vivo でのアセチル LDL のきわめてすみやかなクリアランスは MSR-A ノックアウトマウスでも同様に確認されており、生体内でのアセチル LDL の処理の過程は更に複雑であると考えられた。

これら一連の結果から、SREC は変性リポ蛋白の代謝よりも、おもに異物除

去や、それに伴う炎症・免疫反応に関与していることが推測されたが、その詳細な意義については、さらなる検討が必要であると考えられた。