

審査の結果の要旨

氏名 渡辺 雄一郎

核内受容体 $LXR\alpha$ は核内受容体遺伝子ファミリーの相同性からオーファン受容体としてクローニングされた。その後、遺伝子工学的手法を用いた研究により、オキシステロール受容体であると同定され、コレステロール代謝遺伝子の転写発現調節の中心的役割を果たすと考えられている。しかしながら、生理的に発現するタンパク質を検出できるモノクローナル抗体は得られておらず、タンパク質レベルでの研究は困難であった。そこで本研究では、核内受容体 $LXR\alpha$ タンパク質に対する特異的モノクローナル抗体を樹立し、生理的に内在する $LXR\alpha$ タンパク質の検出及び発現の解析を行った。

本研究で樹立されたモノクローナル抗体 **K-8607** は、**COS-7** 細胞に強制発現したヒト $LXR\alpha$ タンパク質を、イムノブロット及び免疫染色で特異的に認識した。**K-8607** を用いたイムノブロットにより、ヒト単球及びヒト単球由来マクロファージから調製した核タンパク質を用い、ヒト $LXR\alpha$ タンパク質が単球に存在せず、マクロファージにのみ発現していることを明らかにした。ヒト単球由来マクロファージに生理的に発現する $LXR\alpha$ タンパク質の量は、**COS-7** 細胞に強制発現した $LXR\alpha$ タンパク質と比較して非常に少なく、これまでの検出の困難さの原因を示唆するものであった。

さらに、生理的に発現する $LXR\alpha$ タンパク質の免疫染色を可能にすべく、 $LXR\alpha$ LBD を用いて新たに樹立されたモノクローナル抗体 **PPZ0412** は、免疫染色において、ヒトおよびラット組織に生理的に発現する $LXR\alpha$ タンパク質を特異的に認識した。この抗体を用いた免疫染色によって、 $LXR\alpha$ タンパク質が肝 **Kupffer** 細胞、脾臓マクロファージ、肺胞マクロファージ等のマクロファージに特に強く発現していることが明らかになった。また、肝臓実質細胞、脂肪細胞にも弱い発現が認められた。

動脈硬化病変において、 $LXR\alpha$ タンパク質は泡沫細胞に特異的に強く発現していた。粥状物質の多い部位では、泡沫細胞数が減少するだけでなく、 $LXR\alpha$ タンパク質の発現量も低下していた。以上から、 $LXR\alpha$ タンパク質が動脈硬化病変部位において、その病状の進行と深く関係している可能性が示唆された。

$LXR\alpha$ タンパク質は他のタンパク質との相互作用によって機能すると考えられる。そこで酵母 **Two-Hybrid** スクリーニングを行い、**ARA55** が $LXR\alpha$ LBD に結合する

ことを見出した。**LXR α** と**ARA55**は、酵母細胞、哺乳類細胞のどちらにおいても、リガンドの存在する場合のみ結合することが示された。その生理的意義については更なる解析を要するが、リガンド依存的に相互作用していることから、リガンド依存的転写制御に関わる分子であることが期待される。

上記の研究は生理的に発現する**LXR α** タンパク質を認識し、広い有用性を持つモノクローナル抗体の樹立に成功し、**LXR α** の生化学的研究を前進させた内容である。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。