

[別紙 2]

## 審査の結果の要旨

氏名 小倉 彩世子

本研究は、低酸素における酸化LDL受容体の発現の変化、またその役割と酸化ストレスのかかわりについて検討し、以下の結果を得た。

### 1. 慢性低酸素における酸化LDL受容体 (lectin-like oxidized LDL receptor-1:LOX-1) の発現と酸化ストレス

低酸素ガス (O<sub>2</sub> 10%, N<sub>2</sub> 90%) で充満した閉鎖されたチャンバー内で飼育した野生型(C56/BL6)マウスの肺組織の検討から、低酸素負荷により肺組織でのLOX-1の蛋白レベル・mRNAレベルでの発現の増加を認めた。また培養肺微小血管内皮細胞においてCOCl<sub>2</sub>の24時間負荷後、酸化LDLのとりこみが上昇を認めた。低酸素負荷による活性酸素種は増大しており、NADPHの活性化も増加を認めた。NADPH oxidase inhibitorであるApocyninの投与によって低酸素による活性酸素の産生は抑制され、低酸素によって発現が亢進したLOX-1も抑制を認めた。これにより低酸素では血管におけるNADPH oxidaseの活性化が酸化ストレスを増大させるひとつの原因であり、活性酸素の除去はリモデリングの抑制およびLOX-1発現の抑制に有効であることが示唆された。

### 2. LOX-1 過剰発現マウスおよびノックアウトマウスにおける低酸素での変化

LOX-1 トランスジェニックマウス (Tg) は野生型マウス (WT) に比べ、組織の障害は野生型 (WT) に比べて強く、肺血管のリモデリングの増強が認められた。一方ノックアウト (KO) マウスでは組織の障害は野生型 (WT) に比べて少なく、低酸素負荷による死亡率はトランスジェニックマウスが早期から死亡率の増加を認めたのに対し、ノックアウト (KO) では死亡率の抑制を認めた。また、低酸素による酸化ストレスはトランスジェニックマウス (Tg) がもっとも増加し、一方ノックアウトマウス (KO) では酸化ストレスは抑制傾向をみとめた。酸化ストレスの増大が、血管障害の増悪を惹き起こしていることが示唆された。

### 3. LOX-1 とRac1、NADPHoxidase 活性化の関わり

LOX-1の発現の変化における低酸素での酸化ストレスの変化として、NADPH oxidaseの活性化の差が認められた。そこでNADPH oxidase活性化をsmall G

蛋白 Rac1 の膜への移行を NADPH の膜サブユニットである p47phox との Rac1 の免疫沈降を用いて検討した。低酸素後の Tg マウスでは Rac1 と p47phox の interaction を強く認め、一方 KO マウスではこの interaction は抑制されていた。このことから、低酸素によって LOX-1 は Rac1 の膜への移行を亢進させ、NADPH oxidase を活性化することが示された。

以上、本論文は低酸素による酸化ストレスの増大のメカニズムとして LOX-1 の発現亢進、LOX-1 による NADPH oxidase の活性化を示した。低酸素によって LOX-1 の発現が亢進することは新しい報告であり、LOX-1 トランスジェニックマウス・ノックアウトマウスの検討から、LOX-1 の発現は低酸素における血管障害と密接に関連しており、低酸素における酸化ストレスの発生においても重要な役割を示していることが示唆された。今後の低酸素と酸化ストレスおよび血管障害の研究に役立つものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。