



Title	Molecular basis of CD36 deficiency
Author(s)	柏木, 浩和
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39644">https://hdl.handle.net/11094/39644</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	柏 木 浩 和
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学 位 記 番 号	第 1 2 1 1 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 7 年 10 月 17 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Molecular basis of CD36 deficiency (CD36欠損の遺伝子解析)
(主査)	
論 文 審 査 委 員	教 授 松沢 佑次
(副査)	
	教 授 木谷 照夫 教 授 谷口 直之

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目 的】

CD36は分子量88kDの膜糖蛋白であり、血小板、単球、血管内皮細胞などに発現している。CD36の生理的機能は不明な点が多いが、血小板におけるコラーゲンやトロンボスponジンの受容体の一つと考えられており、またマラリア感染赤血球の接着に関与していることが示されている。最近、CD36は酸化LDLや長鎖脂肪酸の受容体であることも示された。血小板CD36欠損は血小板輸血不応例の検討からみいだされ、本邦では献血者の約3%，欧米では約0.3%に存在する。我々は血小板CD36欠損には単球にもCD36を欠損しているタイプI欠損と、単球にはCD36を発現しているタイプII欠損の2種類が存在することを明らかにしている。本研究は上記CD36欠損の遺伝子異常を明らかにすることを目的としている。

#### 【方法ならびに成績】

CD36タイプI欠損2例、タイプII欠損5例の血小板、および単核球よりRNAを抽出し、RT-PCR法を用いてCD36 cDNAを増幅し、サブクローニングした後、塩基配列を決定した。タイプII欠損例2例(Case 1, 2)の血小板CD36 cDNAにおいて、1)  $^{478}\text{C} \rightarrow \text{T}$  (proline90  $\rightarrow$  serine) 置換、2) 停止コドン直後の4塩基挿入、3) 5'-非翻訳領域における $^{79}\text{C} \rightarrow \text{A}$ 置換、を認めた。3'-非翻訳領域の4塩基挿入および5'-非翻訳領域の1塩基置換に関してはCD36陽性例においても同様に認められた。 $^{478}\text{C} \rightarrow \text{T}$ 置換によりSau96Iによる切断点が消失することを利用して検討したところ、タイプI欠損の1例の血小板、単球CD36 cDNA、およびタイプII欠損の5例中4例(Cases 1-4)の血小板CD36 cDNAにおいては変異CD36 cDNA(T478)のみ検出された。Case 1, 2の単球においては正常型のCD36 cDNA(C478)と変異型T478のheterozygoteであった。一方CD36陽性例では、17例中16例の血小板および単球CD36 cDNAにおいてC478のhomozygoteであり、他の1例は血小板、単球ともにC478/T478のheterozygoteのパターンであった。以上の結果から $^{478}\text{C} \rightarrow \text{T}$ 置換がCD36発現と密接に関係している可能性が推測されたため、この置換を導入したCD36 cDNAを作成し人腎細胞由来の293T細胞を用いた発現実験を行った。まず抗CD36ポリクローナルまたはモノクローナル抗体を用いたFlow cytometryおよび免疫沈降法にてCD36発現を検討すると、T478変異をもつCD36

cDNAを導入した細胞では膜表面でのCD36の発現がほとんどみられなかった。次に [<sup>35</sup>S] メチオニンを用いて Pulse chase studyを行ったところ、野生型を導入した細胞ではラベル直後より 81kDのCD36前駆体が出現し、4時間以内に成熟型の 88kDに移行した。一方、T478 変異を導入した細胞では 81kDの前駆体は認めたが、88kDへの移行がみられなかった。

#### 【総括】

CD36欠損の遺伝子異常を検討し、以下の知見を得た。

- 1) タイプI欠損2例中1例の血小板、単球CD36 cDNA、およびタイプII欠損5例中4例の血小板CD36 cDNAにおいて<sup>478</sup>C→T (Pro90→Ser) 置換を認めた。
- 2) タイプII欠損例において、<sup>478</sup>C→置換に関し血小板と単球CD36 cDNAで異なる発現パターンを認めた。即ち、血小板では変異型T478 のみ検出されたのに対し、単球ではC478 のheterozygoteであった。
- 3) CD36には 81kDの前駆体が存在することを明らかにした。
- 4) <sup>478</sup>C→T (Pro90→Ser) 置換によりCD36前駆体から成熟型への移行に障害が生じ、細胞表面のCD36発現が著減することを明らかにした。

以上より、多くのCD36欠損例においてCD36 cDNAにおける<sup>478</sup>C→T (Pro90→Ser) 置換がその原因であることが明らかとなった。またタイプII欠損においては、血小板特異的にCD36遺伝子の転写異常をもつ allele が関与している可能性が示された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、本邦において見いだされたCD36欠損の遺伝子解析を世界に先駆けて行ったものである。その結果、<sup>478</sup>C→T (Proline90→serine) 置換がCD36欠損において高頻度に認められることを見いだした。更に発現実験によって、CD36の前駆体の存在を明らかにするとともに、Proline90→serine 置換によりCD36の processing に異常が生じ、細胞表面にCD36がほとんど発現されなくなることを明らかにした。また、タイプII欠損例における血小板と単球上のCD36の発現の違いに、血小板特異的な転写異常が関与している可能性も示した。

以上の点から本研究は学位に値すると考える。