

Title	Expression of Macrophage (MΦ) Scavenger Receptor, CD36, in Cultured Human Aortic Smooth Muscle Cells, in Association with the Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ -Gain of MΦ-like Phenotype In Vitro and Its Implication in Atherogenesis
Author(s)	松本, 健吾
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41726">https://hdl.handle.net/11094/41726</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">ご参照ください</a> 。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名  
松本健吾  
博士の専攻分野の名称  
医学系研究科内科系専攻  
学位記番号  
第15302号  
学位授与年月日  
平成12年3月24日  
学位授与の要件  
学位規則第4条第1項該当  
学位論文名  
Expression of Macrophage (M $\phi$ ) Scavenger Receptor, CD36, in Cultured Human Aortic Smooth Muscle Cells, in Association with the Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ -Gain of M $\phi$ -like Phenotype *In Vitro* and Its Implication in Atherogenesis-

まつもとけんご  
松本健吾  
博士(医学)  
第15302号  
平成12年3月24日  
学位規則第4条第1項該当  
医学系研究科内科系専攻

Expression of Macrophage (M $\phi$ ) Scavenger Receptor, CD36, in Cultured Human Aortic Smooth Muscle Cells, in Association with the Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ -Gain of M $\phi$ -like Phenotype *In Vitro* and Its Implication in Atherogenesis-

(ヒト培養大動脈平滑筋細胞におけるマクロファージスカベンジャー受容体、CD36と Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ の発現及びその関連性について—*In Vitro*におけるマクロファージ様形質の獲得と動脈硬化巣形成における意義)

論文審査委員

(主査)

教授 松澤 佑次

(副査)

教授 荻原 俊男 教授 谷口 直之

## 論文内容の要旨

### 【背景と目的】

CD36はスカベンジャー受容体クラスB (SR-B) に属する88-kDaの膜糖蛋白で、血小板や単球—マクロファージ (M $\phi$ ) を始めとする種々の細胞に発現している。私達は当教室で発見したCD36欠損症例のM $\phi$ を用いて、この分子の生理的な機能の一つはOxLDLに対する受容体であることを明らかにし、また免疫組織学的検討でCD36は動脈硬化巣に強く発現していること、さらにOxLDLがCD36の発現を亢進させることを示してきた。また近年M $\phi$ においてOxLDLがPPAR $\gamma$ を介してCD36の発現を亢進することが報告されている。このことからCD36は泡沫化細胞の形成に重要な役割を演じていると考えられる。

一方、平滑筋細胞 (SMC) は動脈硬化巣の主要な構成細胞の一つであり、動脈硬化形成過程で収縮型から合成型に形質転換し、内膜へ遊走したSMCは増殖して内膜肥厚をきたすだけでなく、泡沫細胞の起源となる可能性が指摘されているが、未だ詳細は解明されていない。

本研究では血管平滑筋細胞のM $\phi$ への形質転換の可能性を明らかにするため、培養ヒト大動脈由来平滑筋細胞 (HASMC) におけるCD36の発現を検討すると共に、その発現の調節に関してPPAR $\gamma$ のリガンドとOxLDLの影響を検討した。

### 【方法ならびに成績】

#### 1) 細胞

8個体 (男性5名、女性3名、2.5ヶ月~29歳) の大動脈から得られたHASMCs (Clonetics社、Cascade社より購入) を培養し、サブコンフルエントな状態の4-5次培養細胞を実験に使用した。

#### 2) M $\phi$ 関連抗原の発現の検討

CD32、CD68などのM $\phi$  関連抗原の発現をFlow cytometryで検討し、すべての培養HASMCのlotにM $\phi$  関連抗原の発現を認めた。

#### 3) CD36 mRNA と蛋白の発現の検討

CD36 mRNAの発現をReverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 法及びRNase protection assayを用いて検討し、8個体中5個体より得られた培養HASMCにその発現を認めた。また蛋白レベルの発現はヒトCD36に対するモノクローナル抗体 (OKM5) を用いたFlow cytometry, immunofluorescence studyにて

確認した。

#### 4) スカベンジャー受容体発現の検討

次に CD36以外に泡沫細胞形成に重要な役割を果たすスカベンジャー受容体クラスA (SR-A) の発現を RT-PCR 法により検討した。CD36の発現を認める HASMC には SR-A の発現は認められず、CD36の発現が認められない HASMC では SR-A の発現が認められた。CD36陰性 HASMC に PDGF-BB、HB-EGF など種々の増殖因子を添加したが、CD36の発現は誘導されなかった。

#### 5) PPAR $\gamma$ mRNA の発現の検討

次に M  $\phi$  において CD36の発現に重要な役割を果たすことが知られている核内受容体 PPAR  $\gamma$  について RT-PCR 法にて検討した。CD36陽性 HASMC において PPAR  $\gamma$  mRNA の著明な発現が認められた。

#### 6) HASMC における CD36の機能の検討

OxLDL の結合能、細胞内コレステロールエステルの蓄積能を検討した。CD36陽性 HASMC は OxLDL を CD36特異的に結合し、細胞内脂質は有意に増加した。

#### 7) CD36の発現調節に関する検討

CD36の発現調節について CD36のリガンドである OxLDL と PPAR  $\gamma$  のリガンドである troglitazone 添加の影響を検討した。いずれの添加によっても CD36陽性 HASMC において CD36の発現は有意に増加した。

#### 【総括】

本研究より培養 HASMC は M  $\phi$  様形質を獲得しており、泡沫細胞形成に重要なマクロファージスカベンジャー受容体群に属する SR-A や CD36が発現していることを明らかにした。また培養 SMC は SR-A あるいは CD36の発現によってサブセットに分けられること、CD36の発現は PPAR  $\gamma$  の発現と関連していることが示唆された。我々は免疫組織学検討により動脈硬化巣における泡沫細胞においてすでに CD36と SR-A の発現分布に差異があることを見出し、形質転換した SMC は粥状動脈硬化巣の泡沫細胞となりうると推察される。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、血管平滑筋細胞のマクロファージ (M  $\phi$ ) 様形質転換の可能性を明らかにすると共に、泡沫細胞形成に重要な M  $\phi$  スカベンジャー受容体群に属する SR-A や CD36の発現様式を検討し、動脈硬化巣形成における平滑筋細胞の意義を明らかにしたものである。培養平滑筋細胞は CD68や CD32などの M  $\phi$  関連抗原を発現し、M  $\phi$  様に形質転換していることが示された。さらに培養平滑筋細胞には、SR-A を発現するもの、あるいは CD36を発現するものが存在することを発見し、平滑筋細胞はこれらの異なるスカベンジャー受容体の発現の点で、2つのサブセットに分けられる可能性を提示した。また、酸化低比重リポ蛋白 (OxLDL) や核内受容体 Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$  を介する CD36の発現調節の存在が培養平滑筋細胞においても存在することを示し、平滑筋細胞も M  $\phi$  様に形質転換することによって、CD36を介して OxLDL を取り込み泡沫化する可能性を示した。

本研究は平滑筋細胞が泡沫細胞の起源となりうる可能性を示し、粥状動脈硬化巣形成における血管平滑筋細胞の役割を解明する上で、極めて意義深いもので、学位に十分値するものである。