



Title	Oxidized LDL-Induced Activation of NF- $\kappa$ B and Subsequent Expression of a Variety of Proinflammatory and Proatherogenic Genes are Defective in Monocyte-derived Macrophages from CD36-Deficient Patients
Author(s)	Janabi, Mohamed Yakub
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42602">https://hdl.handle.net/11094/42602</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=" <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>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	Janabi, Mohamed Yakub
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第16066号
学位授与年月日	平成13年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Oxidized LDL-Induced Activation of NF- $\kappa$ B and Subsequent Expression of a Variety of Proinflammatory and Proatherogenic Genes are Defective in Monocyte-derived Macrophages from CD36-Deficient Patients. (CD36欠損症患者由来マクロファージにおいては酸化LDL添加によるNF- $\kappa$ Bの活性化及びそれに続く炎症性サイトカイン遺伝子の発現が低下している)
論文審査委員	(主査) 教授 松澤 佑次
	(副査) 教授 萩原 俊男 教授 谷口 直之

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

CD36はスカベンジャー受容体クラスBに属する膜2回貫通型糖蛋白であり、単球、単球由来マクロファージ、血小板や骨格筋細胞、脂肪細胞など全身に広く分布している。CD36のリガンドとしては、トロンボスボンジン、長鎖脂肪酸、コラーゲン、マラリア感染赤血球などが知られているが、その生理的意義は明らかとはなっていない。生体内で極めて多機能であると推察される。当教室においては、1990年に富山らがその遺伝的欠損症を発見して以来、その遺伝子解析とともに本分子の生理的意義について検討してきた。そこで、我々はCD36欠損症患者由来のマクロファージでは酸化LDLの取り込みが低下していることを見い出し、酸化LDL受容体として重要であることを明らかにした。またCD36が核内受容体であるperoxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )などによって発現調節を受けていることなどを明らかにしてきた。本研究は、CD36欠損症患者由来マクロファージを用いて、酸化LDLなどのリガンド添加によって生じるCD36を介した細胞内シグナル伝達機構とそれに引き続く遺伝子発現機構について検討することとした。

#### 【方法】

(1)CD36欠損症の診断は、フロサイトメトリー法。(2)正常者およびI型CD36欠損症患者より、Ficoll Plaque法により分離、培養したマクロファージを実験に供した。(3)リポ蛋白は分離超遠心法によって行い、硫酸銅を用いて酸化LDLを作成した。(4)CD36中和抗体として、OKM5を用いた。(5)TNF- $\alpha$ とIL-1 $\beta$ などのサイトカイン分泌は、ELISA法により測定し、RNA発現はRNase protection assay法により定量した。(6)NF- $\kappa$ B活性化は、mobility shift assayにより行った。

#### 【成績】

- i) CD36欠損症患者由来マクロファージは健常者のそれと比べて、酸化LDLまたはthrombospondin-1の添加による細胞培養液中のTNF- $\alpha$ とIL-1 $\beta$ の分泌は著明に低下していた。
- ii) CD36リガンド添加によって、正常者のマクロファージではTNF- $\alpha$ とIL-1 $\beta$ などの炎症性サイトカイン遺伝子発現増加が生じるが、CD36欠損マクロファージにおいては、その反応が極めて低下していた。
- iii) CD36中和抗体添加により健常者由来マクロファージにおいてもCD36欠損症患者と同様に上記遺伝子発現の低下を認めた。

- iv) 対象マクロファージにおいては酸化 LDL 添加後、NF-kB 活性化が観察されたが CD36欠損症患者由来マクロファージにおいては、酸化 LDL 刺激後の NF-kB 活性の低下を認めた。
- v) 一方、lipopolysaccharide による刺激によって生じる NF-kB の活性化は、CD36欠損症患者由来マクロファージにおいても保たれていた。

#### 【総括】

CD36欠損症患者マクロファージではリガンド刺激に対して生じる NF-kB の活性反応及びそれに引き続くサイトカイン遺伝子の発現が極めて低下していることを見い出した。以上より、CD36は酸化 LDL を結合し取り込むスカベンジャー受容体として機能するのみならず、リガンド刺激により NF-kB を介して種々の炎症性サイトカインの発現を調節し動脈硬化発症に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

本論文は、多機能受容体である CD36が、NF-kB を介して種々の炎症性サイトカインの発現を調節していることを明らかにした論文である。CD36は、生体内において血管壁細胞、脂肪細胞、骨格筋細胞など広く発現分布している膜蛋白で、リガンドとしては、酸化 LDL、長鎖脂肪酸、コラーゲン、マラリア感染赤血球などが知られているが、本分子の生理的意義はいまだ明らかではない。

CD36欠損症は、1990年に当教室において発見された我が国において比較的高頻度に認められる遺伝性疾患である。当教室のこれまでの検討で、CD36は酸化 LDL の取り込みや長鎖脂肪酸の取り込み分子として重要であることが明らかとなっている。本研究において、申請者は CD36欠損マクロファージを用いて、酸化 LDL などのリガンド添加による CD36のシグナル伝達機構について検討した。その結果、CD36のリガンド添加によって正常者マクロファージにおいて生じる NF-kB を介した TNF- $\alpha$ 、IF-1 $\beta$ などの種々の炎症性サイトカイン遺伝子発現が、CD36欠損マクロファージでは、極めて低下していることを見い出した。また、正常者マクロファージに CD36の中和抗体を添加することによって、CD36欠損マクロファージと同様の結果が得られることを確認し、本分子が酸化 LDL の添加により、NF-kB を介して炎症性サイトカイン発現に重要な役割を果たしている可能性を明らかにした。本研究は、CD36の新しい機能を見い出したのみならず、我が国に高頻度に認められる CD36欠損症の病態を考えうえで極めて意義深く、学位に十分値するものである。