

Title	Oxidized LDL Increases, and Interferon- γ Decreases Expression of CD36 in Human Monocyte-Derived Macrophages
Author(s)	中川, 理
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43060
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	中 川 理
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 8 3 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 11 年 5 月 28 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	“Oxidized LDL Increases, and Interferon- γ Decreases Expression of CD36 in Human Monocyte-Derived Macrophages” (酸化 LDL 及びインターフェロン γ によるヒト単球由来マクロファージにおける新しい酸化 LDL 受容体 CD36 の発現調節)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 澤 佑 次 (副査) 教 授 平 野 俊 夫 教 授 荻 原 俊 男

論 文 内 容 の 要 旨

【背景と目的】

CD36は血小板表面等に存在する分子量88 kDa の膜糖蛋白で、従来血小板のトロンボスポンジンやコラーゲンの受容体として血小板凝集に関与していることが知られている。近年 Endemann 等によって CD36がスカベンジャー受容体につぐ酸化 LDL (Ox-LDL) の新たな受容体であることが報告されたが、その意義は明らかでなかった。当教室では CD36欠損症をみだし、その遺伝子異常を明らかにしてきた。さらに、我々は CD36欠損症患者のヒト単球由来マクロファージ (hM ϕ) を用いて、CD36が50%近く Ox-LDL の取り込みに関与しており、hM ϕ において主要な受容体として働いていることを明らかにしてきた。また、ヒト動脈硬化巣のマクロファージが CD36を発現していることを確認し、CD36が動脈硬化巣の形成に大きな影響を与えている可能性を示唆してきた。

本研究では、動脈硬化進展のメカニズムを解明する目的でこの Ox-LDL 受容体；CD36を制御する因子を解明することを目的とした。特に CD36のリガンドである Ox-LDL 及びヒト動脈硬化巣で存在が示唆されている種々のサイトカインの CD36発現に及ぼす影響を検討した。

【方法】

健常人全血及び buffy coat より単球を分離し、hM ϕ を採取、培養7日目の hM ϕ と種々の濃度の Ox-LDL、アセチル LDL を incubate した。CD36の発現は CD36に対するモノクローナル抗体である OKM5 と FA6-152を用い、Cell ELISA 法、Flow-cytometry 法によって定量化した。形態学的な変化は FA6-152を用いて、Immunocytochemistry によって観察した。CD36 mRNA の発現は Ribonuclease Protection Assay 法によって定量化した。同様の検討をインターフェロン γ (IFN- γ) をはじめとする種々のサイトカインで施行し、CD36発現に及ぼす影響について検討した。

【結果】

- 1) 単球分離後の培養日数によって hM ϕ の CD36の発現を Cell ELISA 法で定量化したところ、細胞蛋白あたりの CD36の発現量は10日目までは漸増し、10日目以後は減少した。
- 2) hM ϕ を25 μ g/ml、100 μ g/ml 濃度の Ox-LDL と24時間 incubate し、Cell ELISA 法で細胞表面の CD36を測定す

ると、Ox-LDL を含まない対照に比べ各々1.5倍、2倍に増加していた。

3) CD36の mRNA レベルは50 $\mu\text{g/ml}$ 濃度の Ox-LDL との24時間 incubation で最大約1.6倍まで発現の増加をみた。

4) Ox-LDL による upregulation の機構を調べるため、Ox-LDL 中に含まれる lysophosphatidylcholine、CD36の別のリガンドである oleate についても影響を検討したが、有意な変化は認められなかった。

5) 種々のサイトカイン中で IFN- γ のみが CD36発現に有意な影響を与え、1000 U/ml 濃度では蛋白量は-57%まで、mRNA レベルでは-30%まで発現の抑制が見られた。

6) 動脈硬化に関連する他のサイトカイン (PDGF-BB、TNF- α 、IL-1B) は hM ϕ の CD36発現に有意な影響を与えなかった。

【考察】

CD36は hM ϕ の分化とともに発現が増強し、またそのリガンドである Ox-LDL 自身によって upregulate される特異なりポ蛋白受容体であることが証明された。一方、サイトカインの中では IFN- γ は hM ϕ における CD36の発現を抑制することが証明された。

以上より、hM ϕ に存在する CD36は動脈壁においてこれらの局所的な因子によって発現調節を受け、動脈硬化巢の形成・進展に影響すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

動脈硬化の形成過程において酸化 LDL がマクロファージに取り込まれ、泡沫化される過程が重要であると考えられている。

CD36は血小板・単球由来マクロファージに発現している膜糖蛋白である。学位申請者らはこの CD36欠損症の病態を解析し、CD36を欠くマクロファージでは酸化 LDL の結合能が正常の50%に低下していること、コレステロールエステルの蓄積が減少することを示し、CD36が動脈硬化の形成・進展における主要な酸化 LDL 受容体の一つであることを証明してきた。

マクロファージの CD36の発現の調節機構はこれまで明らかではなかったが、本研究で申請者は2つの調節因子をはじめで見出している。特に CD36が受容体のリガンドである酸化 LDL 自身によりその発現が増加する positive-feedback regulation をうける、他に例を見ないリポ蛋白受容体であることが証明され、CD36がマクロファージの泡沫細胞化において重要な役割を果たしているものと考えられる。また CD36の発現が Interferon- γ によって抑制されることも本研究ではじめて明らかにされているが、このような制御因子を解明していくことが今後動脈硬化の形成・進展の防止を目ざした治療の開発に役立つ可能性が示唆される。

以上より本論文の研究は動脈硬化症の成因を考える上で重要な手がかりとなり、学位の授与に値するものと考えられる。