OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	The endocytosis of oxidized LDL via the activation of the angiotensin II type 1 receptor
Author(s)	Huang, Yibin
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/89542
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	黄一彬
論文題名 Title	The endocytosis of oxidized LDL via the activation of the angiotensin II type 1 receptor（アンジオテンシンII1型受容体の活性化を介した酸化LDLのエンドサイトーシスに関する研究）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

Arrestin-dependent internalization of a G-protein-coupled receptor (GPCR) can intracellularly transport adjacent molecules. In this study, we analyzed direct downstream signaling pathways of AT1 by oxLDL; and investigated if the oxLDL-LOX-1 complex utilizes AT1-βarrestin internalization to undergo endocytosis.

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

Methods: We used CHO-cells stably transfected with LOX-1 (CHO-LOX-1), AT1 (CHO-AT1), LOX-1 and AT1 (CHO-LOX-1-AT1), and LOX-1 and mutated AT1 that lacks ability to activate G protein or β-arrestin pathway (CHO-LOX-1-mAT1). Activation of Gαq and Gαi were quantified by measuring the accumulation of IP1 and the inhibition of forskolin-induced cAMP production, respectively. Endocytosis of the oxLDL-LOX-1 complex through the AT1-β-arrestin pathway was detected by real-time imaging of the membrane dynamics of LOX-1, and visualization of endocytosis of oxLDL. Accumulation of oxLD was performed with artificial CHO-cells and human endothelial cells by genetic or pharmaceutic approach inhibited AT1-β-arrestin pathway.

Results: Using genetically modified CHO cells, we found that oxLDL induced Gαi-dependent inhibition of cAMP production only in the presence of both LOX-1 and AT1 with intact G protein binding. In contrast, oxLDL did not induce the accumulation of IP1, a downstream of Gαq signaling. Real-time imaging of cellular membrane revealed that oxLDL induced endocytosis of LOX-1 that depends on the intact βarrestin pathway of AT1. oxLDL accumulated in CHO cells expressing both LOX-1 and AT1 more prominently than those expressing LOX-1 or AT1 alone. This enhanced accumulation depended on the βarrestin-binding potency of AT1, and was abolished by dominant-negative βarrestin. Accumulation of oxLDL was similarly attenuated by knockdown of AT1-β-arrestin or LOX-1 in human vascular endothelial cells.

〔総　括(Conclusion)〕

Taken together, our findings indicate that oxLDL triggers selective G protein activation and βarrestin-dependent internalization of AT1 whereby the oxLDL-LOX-1 complex undergo endocytosis.

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）黄一彬

論文審査担当者	（職）	氏　名	
主　査	大阪大学教授	森木 宏実	署名
副　査	大阪大学教授	坂田 泰史	署名
副　査	大阪大学教授	猪阪 善隆	署名

論文審査の結果の要旨

Gタンパク質共役型受容体（GPCR）のアレスチン依存的な活性化は、エンドサイトーシスによる受容体複合体の細胞内在化を引き起こす。本研究では、パターン認識受容体（PRR）レクチン様酸化低密度リポタンパク質（oxLDL）受容体（LOX-1）とGPCRアンジオテンシンIIタイプ1受容体（AT1）の相互作用を解析し、GPCRの内在化がPRRリガンドの細胞内エンドサイトーシスを仲介するというこれまで未知の機構が報告された。

遺伝子組換えチャイニーズハムスター卵巣細胞およびヒト血管内皮細胞を用いて、oxLDLが選択的なGタンパク質を活性化し、β-アレスチン依存的にAT1を内在化し、oxLDL-LOX-1複合体はエンドサイトーシスを受けることが示された。本研究は、PRRのリガンドがGPCRのシグナル伝達経路を刺激し、その結果、リガンドと受容体複合体が細胞に内在化されるという輸送システムの最初の例を示したものであり、学位に値するものと認める。