
シンポジウム

高脂血症，動脈硬化をめぐって

Topics on Hyperlipedemia and Atherosclerosis

第 540 回新潟医学会

日 時 平成10年 6 月20日（土）午後 1 時50分～ 3 時50分

会 場 新潟大学医学部 有壬記念館

司 会 相澤義房（第一内科）

演 者 内藤 真（第二病理），三井田孝（検査診断学），林 千治（新潟市保健所），中村裕一（第一内科），
諸 久永（第二外科），西 慎一（血液浄化療法部）

発 言 者 榛沢和彦（第二外科），渡辺賢一（新潟薬科大学臨床薬理学科）

司会 今日は高脂血症，動脈硬化をめぐってという題でシンポジウムを仰せつかりました。実は，保健管理センターの山添助教授がこのシンポジウムのマネジメントをやって頂きました。最近，動脈硬化をめぐって分子生物学を含めた学問の進展は著しくて，昔は，動脈硬化の特集号が，一番売れ残ったそうですが，今では，一番のトピックスとなっています。循環器でもそうですし，内科，外科，病理，それから透析にも関わる大きなトピックスでもあります。そういった意味で，今日は多彩な顔

ぶれと，しかも冠動脈とか脳動脈とかに限らないで，いろいろな分野から新しい実験のデータの紹介をお願いしてございます。ではトップバッターとして内藤教授をお願いしたいと思います。タイトルの動脈硬化発症機序におけるマクロファージとスカベンジャー受容体の役割というのは内藤教授の研究のキーワードでありまして，この発表を通じて先生の研究について知っていただければと思います。では先生よろしく申し上げます。

1) 動脈硬化発症機序におけるマクロファージと
スカベンジャー受容体の役割新潟大学医学部病理学第2講座 内藤 眞
東京大学先端科学研究所分子生物学 和田洋一郎・児玉 龍彦

Roles of Macrophages and Scavenger Receptors in Atherogenesis

Makoto NAITO

*Second Department of Pathology,
Niigata University School of Medicine*

Yoichiro WADA and Tatsuhiko KODAMA

*Department of Molecular Biology and Medicine,
Research Center For Advanced Science and
Technology, Tokyo University*

Multi-ligand, cell surface receptors for modified lipoproteins are called scavenger receptors. They include three classes; class A (type I and type II scavenger receptors and macrophage receptor with collagenous structure designated as MARCO), class B (CD36 and SR-BI), and class C (dSR-CI, Fc γ R II-B2, and CD68/macrosialin). Among these scavenger receptors, type I and II class A macrophage scavenger receptors (MSR-A) are trimeric glycoproteins which mediate the recognition and uptake of a wide range of negatively charged macromolecules and are implicated in the deposition of cholesterol in arterial walls during atherogenesis through the receptor-mediated endocytosis of chemically modified low density lipoproteins (LDL). In the early lesions of atherosclerosis, it has been confirmed that blood monocytes migrate into the intima, differentiate into macrophages, and transform into foam cells by ingesting modified LDL. In order to analyze the mechanisms of monocyte chemotaxis and transformation of monocytes into foamy macrophages, we made a model system of aortic walls. Ultrastructural observation of transmigration of monocytes into collagen gel through the endothelial cell layer was performed.

Key words: scavenger receptor, monocyte, macrophage, atherosclerosis
スカベンジャー受容体, 単球, マクロファージ, 動脈硬化

Reprint requests to: Makoto NAITO
Second Department of Pathology,
Niigata University School of Medicine,
1 Asahimachi-dori,
951-8510 Niigata, JAPAN

別刷請求先: 〒951-8510 新潟市旭町通り1番町
新潟大学医学部病理学第2講座 内藤 眞

はじめに

コレステロールは低密度リポ蛋白 (low density lipoprotein: LDL) に豊富に含まれ, LDL 受容体¹⁾²⁾ とスカベンジャー受容体^{3)~6)} はコレステロール代謝において重要な役割を演じている. LDL の2/3は LDL 受容体を介してそのままの形で線維芽細胞など種々の細胞に取り込まれて代謝され (LDL 経路), 1/3は LDL が生体内で何らかの化学修飾をうけた修飾 LDL としてスカベンジャー受容体を介してマクロファージに活発に取り込まれる (スカベンジャー経路). スカベンジャー受容体は児玉らによってアセチル化 LDL の受容体として発見された³⁾⁴⁾. スカベンジャー受容体はマクロファージと肝類洞内皮に発現する. 生体内ではスカベンジャー受容体は酸化 LDL などの陰性荷電を取り込み, 動脈硬化の原因である泡沫細胞の形成に深く関与する. このことはスカベンジャー受容体ノックアウトマウスは動脈硬化を起こしにくいことから支持される⁷⁾. 本シンポジウムでは動脈硬化病変におけるマクロファージとスカベンジャー受容体の役割についてこれまでのわれわれの研究成績を概説し, 最近の試みについても触れる.

スカベンジャー受容体の種類

スカベンジャー受容体は広範なりガンドと結合するため, 複数存在することが予測されていた. 現在まで3タイプ, 8種類のスカベンジャー受容体ファミリーが同定されている (図1)^{3)~18)}. クラス A は3量体構造を示し, 1型と2型が最初にクローニングされ^{4)~6)}, 最近 macrophage receptor with collagenous structure (MARCO) が発見された⁸⁾. クラス B は CD36 と SR-B である^{9)~11)}. クラス C は dSR-C I, Fcγ R II-B2, および CD 68/macrosialin である^{12)~18)}. このうち, クラス A は, 1型2型がマクロファージに恒常的に発現しているのに対し, MARCO は脾臓の

辺縁帯やリンパ洞のマクロファージ以外には通常発現しておらず, LPS などによる刺激で誘導されることから, 細菌性抗原の認識に関与する受容体と考えられる. CD 36は88-kDa の糖蛋白で, 脂肪組織, マクロファージ, 上皮細胞, 内皮細胞, 血小板など種々の細胞に発現し, 修飾 LDL の他に thrombospondin, コラーゲン, 長鎖脂肪酸などと結合し, ことに脂肪酸代謝における役割が注目されている. CD 68とマウスのホモログである macrosialin はマクロファージに特異的なライソゾーム関連蛋白であり⁷⁾, lamp/lgp ファミリーの一員である. macrosialin と CD 68はマクロファージの貪食や細胞間相互作用に関わるものと考えられている.

動脈硬化病変におけるスカベンジャー受容体の発現

動脈硬化病変ではスカベンジャー受容体はマクロファージおよび泡沫細胞に発現し, 動脈硬化病変の進展の引き金としての役割が想定されている^{19)~22)}. 事実われわれはヒト大動脈のアテローム斑の泡沫細胞にスカベンジャー受容体クラス A I, II型の発現を確認している^{19)~22)}. ヒト生体内の変性 LDL としては酸化 LDL が重視されるが, 血中から動脈壁に浸透蓄積した LDL がどのような機序で酸化されるかについては明らかにされていない. 血中の単球は壁内に遊走し, マクロファージに分化成熟するとともに, スカベンジャー受容体を発現して酸化 LDL を取り込み, コレステロールエステルとして細胞内に貯留して泡沫細胞に変態する. 単球の動脈内への遊走には monocyte chemoattractant protein-1 などのケモカインが関与する. また, マクロファージへの分化やスカベンジャー受容体の発現の増強にはマクロファージコロニー刺激因子などの因子が関与すると考えられる. アテローム斑にはアポトーシスの出現も認められ, スカベンジャー受容体はアポトーシスの除去にも関与することが推測される. しかし, クラス A I型II型以外のスカベンジャー受容体の動脈硬化発症機序への関与についてはほとんど検討されていない.

動脈壁モデルを用いた動脈硬化の解析

以上の動脈硬化病変の成立におけるマクロファージとスカベンジャー受容体の役割を検討するため, われわれは種々の物質を含んだコラーゲンゲル上に内皮細胞を培養し, そこに単球を添加してマクロファージの内皮下への移動と泡沫化の過程を観察した. 単球は内皮に附着し (図2), 1~2時間で内皮下に沈み込み, 通過してゲ

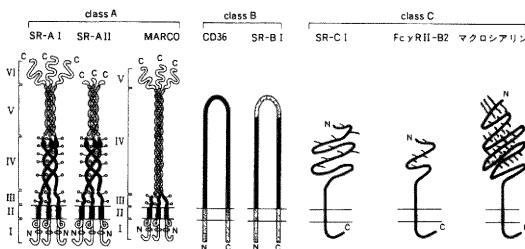


図1 スカベンジャー受容体の種類と構造

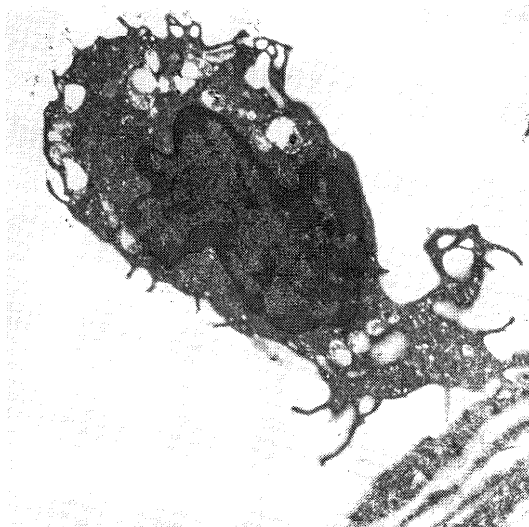


図2 培養内皮細胞への単球の付着. 透過電顕. X5000.

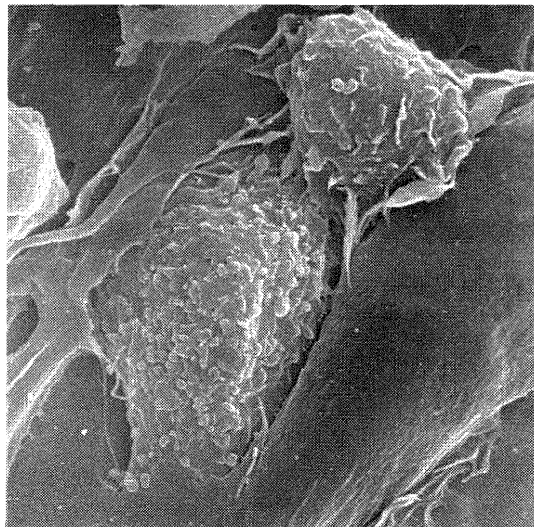


図3 培養内皮細胞への単球の付着ともぐり込み. 走査電顕. X5000.

ル内へ入り込んでいった(図3). ゲルに修飾 LDL を添加しておく, 数日後には単球は多数の脂肪滴を有する泡沫細胞へ変態した. 以上の所見から, 本モデルは動脈硬化の発症機序を検討する好適な *in vitro* のアッセイ系として有用であると判断された.

おわりに

スカベンジャー受容体クラス A I, II 型を介した変性 LDL のマクロファージへの取り込みはアテローム斑の形成に極めて重要である. しかし, その他のタイプのスカベンジャー受容体の動脈硬化への関わりの有無についてはほとんど知られておらず, 今後の検討課題である. また, LDL の変性機序, 単球の遊走機序, および泡沫細胞への変態機序も十分に解明されていない. 今後これらの定性的, 定量的解析に混合培養系の活用は重要な鍵を提供してくれるものと期待される.

参考文献

- 1) Goldstein, J.L., Ho, Y.K., Basu, S.K. and Brown, M.S.: Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **76**: 333~337, 1979.
- 2) Brown, M.S. and Goldstein, J.L.: Lipoprotein

metabolism in the macrophage: Implication for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu. Rev. Biochem.*, **52**: 223~264, 1983.

- 3) Kodama, T., Reddy, P., Kishimoto, P.C. and Krieger, M.: Purification and characterization of a bovine acetyl low density lipoprotein receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **85**: 9238~9242, 1988.
- 4) Kodama, T., Freeman, M., Rohrer, L., Zabrewsky, J., Matsudaira, P. and Krieger, M.: Type I macrophage scavenger receptor contains α -helical and collagen-like coiled coils. *Nature*, **343**: 531~535, 1990
- 5) Rohrer, L., Freeman, M., Kodama, T., Penman, M. and Krieger, M.: Coiled-coil fibrous domains mediate ligand binding by macrophage scavenger receptor type II. *Nature*, **343**: 570~572, 1990.
- 6) Freeman, M., Ashkenas, J., Rees, K.J.G., Kingsley, D.M., Copeland, N.G., Jenkins, N.A. and Krieger, M.: An ancient, highly conserved family of cysteine-rich protein domains revealed by cloning type I and type II murine macrophage scavenger receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**: 8810~8814, 1990.
- 7) Suzuki, H., Kurihara, Y., Takeya, M., Kamada, N., Kataoka, M., Jishage, K., Ueda, O., Sakaguchi, H.,

- Higashi, T., Suzuki, T., Takashima, Y., Kawabe, Y., Cynshi, O., Wada, Y., Honda, M., Kurihara, H., Aburatani, H., Doi, T., Matsumoto, A., Azuma, S., Noda, T., Toyoda, Y., Itakura, H., Yazaki, Y., Horiuchi, S., Takahashi, K., Kruijt, J.K., van Berkel, T.J. C., Steinbrecher, U.P., Ishibashi, S., Maeda, M., Gordon, S. and Kodama, T.: A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature*, **386**: 292~296, 1997.
- 8) Elomaa, O., Kangas, M., Sahlberg, C., Tuukkanen, J., Sormunen, R., Liakka, A., Thesleff, I., Kraal, G., Tryggvason, K.: Cloning of a novel bacteria-binding receptor structurally related to scavenger receptors and expressed in a subset of macrophages. *Cell*, **80**: 603~609, 1995.
 - 9) Endermann, G., Stanton, L.W., Madden, K.S., Bryant, C.M., White, T. and Protter, A.A.: CD 36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J. Biol. Chem.*, **268**: 11811~11816, 1993.
 - 10) Acton, S.A., Scherer P.E., Lodish H.F. and Krieger M.: Expression cloning of SR-BI, a CD 36-related class B scavenger receptor. *J. Biol. Chem.*, **269**: 21003~21009, 1994.
 - 11) Landschultz, K.T., Pathak, R.K., Rigotti, A., Krieger, M. and Hobbs, H.H.: Regulation of scavenger receptor, class B, type I, a high density lipoprotein receptor, in liver and steroidogenic tissues of the rat. *J. Clin. Invest.*, **98**: 984~995, 1996.
 - 12) Pearson, A., Lux, A., Krieger, M.: Expression cloning of dSR-CI, a class C macrophage-specific scavenger receptor from *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**: 4056~4060, 1995.
 - 13) Stanton, L.W., White, R.T., Bryant, C.M., Protter, A.A. and Endemann, G.: A macrophage Fc receptor for IgG is also a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J. Biol. Chem.*, **267**: 22446~22451, 1992.
 - 14) Ramprasad, M.P., Terpstra, V., Kondratenko, N., Quehenberger, W. and Steinberg, D.: Cell surface expression of mouse macrosialin and human CD 68 and their role as macrophage receptors for oxidized low density lipoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**: 14833~14838, 1996.
 - 15) Ramprasad, M.P., Fischer, W., Witztum, J.L., Sambrano, G.R., Quehenberger, W. and Steinberg, D.: The 94- to 97-kDa mouse macrophage membrane protein that recognizes oxidized low density lipoprotein and phosphatidylserine-rich liposomes is identical to macrosialin, the mouse homologue of human CD68. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**: 9580~9584, 1995.
 - 16) Holness, C.L., da Silva H.P., Fawcett, J., Gordon, S. and Simmons, D.L.: Macrosialin, a mouse macrophage-restricted glycoprotein, is a member of the lamp/lgp family. *J. Biol. Chem.* **268**: 9661~9666, 1993.
 - 17) Rabinowitz, S.S. and Gordon, S.: Macrosialin, a macrophage restricted membrane sialoprotein differentially glycosylated in response to inflammatory stimuli. *J. Exp. Med.*, **174**: 827~836, 1991.
 - 18) Smith, M.J. and Koch G.L.E.: Differential expression of murine macrophage surface glycoprotein antigens in intracellular membranes. *J. Cell Sci.*, **87**: 113~119, 1987.
 - 19) Naito, M., Kodama, T., Matsumoto, A., Doi, T. and Takahashi, K.: Tissue distribution, intracellular localization, and in vitro expression of bovine scavenger receptors. *Am. J. Pathol.*, **139**: 1411~1423, 1991.
 - 20) Naito, M., Suzuki, H., Mori, T., Kodama, T., Matsumoto, A. and Takahashi, K.: Coexpression of type I and II human macrophage scavenger receptors in macrophages in various organs and foam cells in atherosclerotic lesions. *Am. J. Pathol.*, **141**: 591~599, 1992.
 - 21) Matsumoto, A., Naito, M., Itakura, H., Ikemoto, S., Asaoka, H., Hayakawa, I., Kanamori, H., Aburatani, H., Takaku, F., Suzuki, H., Kobari, Y., Miyai, T., Takahashi, K., Cohen, E.H., Wydro, R., Housman, D.E. and Kodama, T.: Human macrophage scavenger receptors: Primary structure, expression, and localization in atherosclerotic lesions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**: 9133~9137, 1990.
 - 22) Ylä-Herttuala, S., Rosenfeld, M.E., Parthasarathy, S., Sigal, E., Särkioja, T., Witztum, J. L. and

Steinberg, D.: Gene expression in macrophage-rich human atherosclerotic lesions. 15-lipoxygenase and acetyl low density lipoprotein receptor messenger RNA colocalize with oxidation specific lipid-protein adducts. J. Clin. Invest., 87: 1146-1152, 1991.

司会 内藤先生にご質問ございませんか。

マクロファージは LDL リセプターはないけども、酸化 LDL リセプターはあるのでしょうか。

内藤 ええ、酸化 LDL に対するリセプターがスカベンジャー受容体です。

司会 酸化 LDL のリセプターと LDL のリセプターとのホモロジーはあるのでしょうか。

内藤 全くありません。細胞内動態としましてはゴルジ装置を経由してリサイクルするという意味では似ております。

司会 そうですか。ほかにご質問はございませんか。どうぞ。

榛沢 単球が入り込むところの血管に特異性はあるのでしょうか。私たち見ていると、病変が大動脈にはあるが頸動脈にはないというようなことを見るのですが、組織球がくっつきやすいというようなことはあるのでしょうか。

内藤 最初の、くっつくところは接着因子が大きく働くと思います。その接着因子がどのように誘導されるのかについては、いくつもの説明があります。一つは血流の動態というヘモダイナミックなもので、物理的にシエアストレスというか物理的に力が掛かるとそこに接着因子が出てくるというものです。動脈の分岐部などですね。実際に LDL の形で血管壁に浸透して変化するのか、あるいは、血中の変性 LDL が浸透するのか、その浸透の仕方も血流力学的な影響もあるし、動脈の構造自体の問題もそれに絡むだろうと思います。確かに、一カ所にだけ動脈硬化ができるということがありますが、直線的な動脈に一カ所だけできるという原因はよくわかりません。動脈壁に蓄積する物質にマクロファージが反応しているのですが、なぜ局所的に蓄積するのかは分かっていません。

司会 今の榛沢先生のご質問は非常に重要と思います。酸化 LDL が内皮下にたまったらマクロファージが行くのか、あるいは、マクロファージが行って酸化 LDL を取り寄せるのでしょうか。その辺、先生どうなのでしょうか。

内藤 今のところ分かっているのは、動脈硬化病変部に MCP-1 という単球遊走因子が増強することです。

司会 それは内皮ということですか。

内藤 内皮にもあるかもしれませんが、中膜平滑筋、あるいは内膜と中膜の間にある fibroblast のような細胞から出ているだろうと思います。

司会 それを出すトリガーになっているのが、酸化 LDL であると考えていいのでしょうか。

内藤 そう考えたのですが、ではなぜ酸化 LDL ができるのか、血中でできるのが沈着するのか、さらに酸化 LDL はマクロファージが LDL を取り込んでから酸化 LDL にするという話もあります。酸化 LDL が原因という考えそのものも検証しなければいけないと思います。

司会 内皮にも接着因子が出ているためか、あるいは、マクロファージはそういったものがあるかならうが、浸透していくのでしょうか。

内藤 内皮は、炎症と同じような接着因子の出方をしています。しかし、マクロファージが内皮細胞のどこを通り抜けていくのか、接着因子のところを通り抜けていくのか、細胞質の薄いところを通り抜けていくのか、そんなことも分かっていません。

司会 では MCP-1 があるだけということですか。

内藤 今やられているのは MCP-1 ですが、そのほかのケモカインも報告されています。

司会 それを出すものもまだ謎ということですね。榛沢先生いかがですか。

榛沢 私も勉強不足なのですが、組織球も、肝臓のマクロファージのように血管ごとに別のマクロファージがあるということはあるのでしょうか。

内藤 構造的に、大血管の内膜と中膜には、マクロファージはありません。病変が大きくなって、外膜にも及ぶようになってくると、マクロファージも反応すると思います。直接的に反応するのは単球です。あとは、平滑筋がマクロファージの持っているリセプターを発現するようになって、動脈硬化に関与してくることはもちろんあります。組織マクロファージは大動脈の内膜中膜にはないと考えています。

司会 ほかにございませんか。

三井田 今の先生の実験系に、HDL も同時に加えたときに、マクロファージの形成がどうなるでしょう。最近フリーなアポ蛋白を加えると、細胞からの引き抜きも起こると考えられていますが、実験系にフリーなアポ蛋白を加えると今後のプランとして考えていらっしゃる

のでしょうか。

内藤 考えてはいなかったのですが、HDL が一緒に入っていると、aggregated LDLが入っていると、そういうものを調べるのも重要だと思って観察しています。

三井田 SAA（血清アミロイド蛋白 A）は、炎症の時に増加する急性期蛋白の一つです。動脈硬化巣で発現していると報告されています。その意義は不明であり、SAA を先生の実験系に同時に添加した時にどういう反応になるか大変興味があります。是非教えていただきたいと思います。

内藤 いろいろな問題があると思います。この培養系ではマクロファージを扱っていますが、それにリンパ球を加えたらどうなるのか、実際の病変に近づけていけたらと思っています。

司会 培養血管平滑筋細胞の上に内皮細胞を置きましたよね。血管平滑筋の形質転換はいかがでしょうか。

内藤 まだそれは検討しておりません。

司会 内皮は LDL を取り込んで泡沫化することはないと考えてよろしいですか。

内藤 まだ一回しか見ていないので、言っているのかわかりませんが、内皮細胞が泡沫化しつつあるとか、平

滑筋はそこまで行かずに apoptosis におちいるということを見ています。培養系の制約がありますので、これから検討したい思います。

司会 ほかにございませんか。

渡辺 スカベンジャーレセプターには A type と B type などたくさんありますが、A type が亢進した場合、ほかのタイプは減少するのでしょうか。

内藤 まだ詳しくは調べられておりませんが、ほかの研究グループでは、class A の別の MARCO という受容体、あるいは、CD 68の発現は同じように増強していると報告しておりますので、連動して発現が増強するのではないかと考えております。

渡辺 もう一つ質問があります。PPAR などの、核内レセプターがマクロファージを引き寄せると言うことは分かっているのでしょうか。

内藤 そこまでは調べておりません。

司会 よろしいですか。内藤先生は実験系をお示しいただき、一つ解決しては次々と問題がでてくるという状態です。我と思う人は、先生のところへ行って共同研究してみたいかがでしょうか。先生どうもありがとうございました。ではつぎ、三井田先生よろしく願いいたします。