シンポジウム (II)

動脈硬化病変の進展に関する変性リポ蛋白の意義

マクロファージのスカベンジャー受容体*

児 玉 龍 彦** 松 本 明 世*** 高 久 史 磨**

板 倉 弘 重***

はじめに

動脈硬化症発症において主要な細胞成分である泡沫細胞は、その多くが、血中単球由来のマクロファージである。マクロファージは通常 LDL 受容体活性は低く抑制されており、代りにスカベンジャー受容体を介する変性 LDL の取り込み活性が亢進している。1979 年 Brown と Goldstein らは、スカベンジャー受容体を介する変性 LDL の取りこみが、コレステロールのマクロファージへの蓄積をもたらし、動脈硬化発症へつながるといふ、スカベンジャー仮説を提唱した。われわれは 5 年の歳月を費やし、120 頭の牛から 30 μ g のスカベンジャー受容体の精製に成功し、決定されたアミノ酸配列をもとに、2 種のスカベンジャー受容体の cDNA クローニングに成功した。さらに、ヒト単球系白血病 THP-1 においてフォルボルエステル処理後にスカベンジャー受容体の発現する所から、この細胞の cDNA ライブラリーより 2 種のヒト受容体の cDNA クローニングに成功した。

I. 動脈硬化発症とスカベンジャー / 変性 LDL 経路の関連の発見

動脈硬化症の発症の初期病変であるアテローム性プラークにおいて、コレステロール沈着の原因

となるのは、泡沫細胞とよばれる脂質球を多数含む細胞である。泡沫細胞の起源をめぐっては長い間研究が続けられ、1980 年代よりモノクローナル抗体等を用いた検討から、血中単球由来のマクロファージが主要な成分であることが同定された。マクロファージは、通常 LDL 受容体経路を介するコレステロールの取り込み能は低く抑制されており、多量のコレステロール沈着をもたらす新しい経路の存在が推測されていた。1979 年 Brown, Goldstein らは、LDL が negative の charge を増すように変性をうけると LDL 受容体とは異なる第 2 の受容体を介してマクロファージに急速にとりこまれ、これを泡沫細胞化させることを発見し、スカベンジャー受容体と名づけ、LDL 受容体欠損症である家族性高コレステロール血症等においては、このスカベンジャーを介するコレステロールとりこみの結果、動脈硬化症の著しい進展のみられることを報告した。さらに、Steinberg らは、血中の LDL が酸化的修飾をうけると、マクロファージに取りこまれるようになることを発見し、生理的条件下で起こりうる LDL 変性の機序の解明に端初を与えた。1987 年北らは、LDL の酸化抑制剤であるプロブコールを、家族性高コレステロール血症の動物モデルである WHHL ウサギに投与すると、動脈壁のプラーク形成を劇的に抑制することを発見し、さらにこの作用が、LDL の酸化抑制とよく相関することを解明し、動脈硬化治療への新しい道が開かれた。生体内においてこれらの変性リポ蛋白の存在様式の検証も進められ、Harberland らによりアテローム巣にマロンドイ

* 1990 年 1 月、日本動脈硬化学会平成元年度冬季大会において発表

** 東京大学医学部第三内科

*** 国立健康栄養研究所臨床栄養部

アルデハイド化 LDL の存在, Ylä-Herttuala らにより酸化 LDL の存在が示された。さらに北らにより喫煙時の気体を通過させたメディウム中に存在する LDL は、マクロファージに取りこまれやすくなる変性をうけていることが発見された。これら一連の発見の反面、マクロファージがいかにして、変性 LDL をとりこむかに関する解明は 1979 年以来 10 年以上大きな謎のままであった。Brown と Goldstein は、アセチル化した LDL を、陰性荷電の増した LDL のモデルとして使い、マクロファージのアセチル LDL を認識する機構は、マレイル化牛血清アルブミン(マレイル BSA)、ポリビニルサルフェート、フコイダン、poly I:C などの陰性荷電を有する巨大分子(蛋白、核酸、糖鎖いずれでも)とも反応することを示し、スカベンジャー受容体の認識機構が従来のレセプター概念と異なる新しいものであることを示唆した。さらに、同じ核酸の中でもポリ I、ポリ G はスカベンジャー受容体と結合するが、ポリ C、ポリ A、ポリ U は結合しない。これらのことは、スカベンジャー受容体を介する認識は単にリガンドの荷電のみをみるのではなく、この構造を識別することが示された。それでは一体スカベンジャー受容体とはどのような構造を有し生理的にはどのような役割をになっているのであろうか。

II. スカベンジャー受容体の構造

スカベンジャー受容体は、マクロファージの細胞膜に存在する分子量 22 万のアセチル LDL 結合蛋白に対するモノクローナル抗体 IgG DI を用いて精製された。IgG DI の認識する蛋白がスカベンジャー受容体であることは ①マクロファージの膜表面上にあるアセチル LDL 結合蛋白であること、②組織中においてアセチル LDL を取りこむ細胞に検出されること、③単球からマクロファージへの分化につれて、スカベンジャー受容体活性の発現と共に、この 22 万の蛋白が出現してくることから、ほぼ確実と考えられたが、最終的には cDNA がクローニングされ、発現させた細胞がスカベンジャー受容体機能を発現させたため確認された。この 22 万の蛋白は、1 つのユニットが分子量 6~8 万の N 結合糖鎖を有する糖蛋白の 3

量体であり、3 量体のみが、機能的に活性を示す。

cDNA クローニングの結果、スカベンジャー受容体には 2 種のサブユニットが存在することが明らかになっているが、ホモトライマーかヘテロトライマーかは明らかとなっていない。マクロファージ様培養細胞中では、I 型、II 型いずれの mRNA も発現されている所から、ヘテロトライマーの可能性も高いと思われる。Fig. 1 に示すように、スカベンジャー受容体は、N 端側より、細胞質、膜透過、N 結合糖鎖、コラーゲン様、C 端側タイプ特異ドメインの 5 つのドメインよりなっている。

(i) 細胞質ドメイン：50 アミノ酸よりなり、N 端が細胞質にあるインサイド・アウト型の受容体である。エンドサイトーシス型受容体に重要と考えられている 4 つの芳香族アミノ酸の位置は、ヒトと牛で保存されている。26-29 番目のアミノ酸の位置には、プロテインカイネースの基質となる配列が存在している。

(ii) 膜透過ドメイン：26 アミノ酸よりなる疎水性のドメインである。

(iii) N 結合糖鎖ドメイン：細胞外の最初のドメインは 7 個の N 結合糖鎖部位を有するドメインで、実際は、2 つのロイシンジッパー様 α ヘリカルコイルのモチーフとその間のスパーサーに分かれる。2 つのロイシンジッパー様構造はそれぞれヒスタジンにより中断されており、ヒスチジンが pH6 で荷電の変化をみる所から、エンドサイトーシス後のリガンドの解離に関与していると考えられる。ロイシンジッパー様構造は、コイルの片側に疎水性アミノ酸のカラムを作り、3 量体構造を安定化させていると思われる。

(iv) コラーゲン様ドメイン：(Gly-X-Y) の 3 アミノ酸のくり返し構造を牛では 24 回、ヒトでは 23 回有する。このドメインは、全体に、リジン、アルギニンにとみ、中性 pH では正に荷電する。陰性荷電の巨大分子との結合に重要な役割をはたしていると思われる。細胞質外マトリックスの主要な成分であるコラーゲン様構造が、エンドサイトーシス型受容体のリガンド結合に関与する部分に用いられていることは極めて特徴的である。

(v) C 端側タイプ特異的ドメイン：I 型はシス

Fig. 1 ヒトスキャベンジャー受容体の構造

テインにとむ 110 アミノ酸よりなるドメインを有する。II 型はウシでは 6 アミノ酸，ヒトでは 17 アミノ酸よりなる。I 型も II 型も，それぞれ別個に COS 細胞に発現しても変性 LDL のとりこみをなう所から，リガンド特異性に差はないと考えられている。

III. スキャベンジャー受容体の生理的役割

スキャベンジャー受容体は，肝のクッパー細胞，肺マクロファージ他，マクロファージ系の細胞に広汎に存在している。スキャベンジャー受容体と結合しうるリガンドとしては，変性 LDL の他，poly I, poly I G, poly I: C 等の核酸，マレイル化牛アルブミン等の変性蛋白，フコイダン等の糖鎖，ポリビニルサルフェート等，広汎な陰性に荷電した巨大分子に及ぶ。このリガンド特異性の 1 つの特徴は，正常な生理的物質（例えばアルブミン，LDL 等）が，陰性荷電が増すように変性した時

にマクロファージへのとりこみをなうことである。例えばアセチル化は，リジンの ε アミノ基の正の荷電をなくし，マレイル化は，正荷電を逆に陰性荷電へと変化させる。スキャベンジャー受容体のコラーゲン様ドメインは中性 pH で正に荷電しており，陰性荷電の巨大分子のとりこみに適した構造といえよう。スキャベンジャー受容体は，生体内では，変性した蛋白や，細胞成分の処理にあたっていると思われ，ホメオスタシスの維持に重要な役割をはたしていると考えられる。例えば，赤血球などの表層脂質は，マクロファージのとりこみの対象とはならないが，内側の脂質成分を用いたミセルは，マクロファージにとりこまれ，そのとりこみは変性 LDL に阻害されることが西川らにより報告されている。スキャベンジャー受容体はマクロファージにコレステロール等が蓄積してもダウンレギュレーションをうけないため，過剰の変性 LDL 等が存在するとそれをエンドサイ

トーススしつづけ、泡沫細胞へ変化してしまうと考えられる。

動脈硬化との関連で注目されるのは、最近 Frank らの報告で、高コレステロール血症の初期には、変性した LDL が、動脈壁のコラーゲンにトラップされたように集積しているとの報告である。マクロファージは動脈壁のコラーゲンに付着した老廃物を、そのコラーゲン様ドメインで競合しながらスカベンジしていくと考えられる。一度変性 LDL がマクロファージにとりこまれると、マクロファージに対しては刺激的または細胞毒として働くことが知られており、マクロファージからのスーパーオキシダの放出や、サイトカインの放出につながり、いわば一種の炎症としての動脈硬化病変の進展をうながすと思われる。今後動脈硬化の治療の上でこれらの知見をもとに新しい方法の開発が望まれる。

文 献

- 1) Kodama, T., Freeman, M., Rohrer, L., et al.: Type I macrophage scavenger receptor contains α -helical and collagen-like coiled coils. *Nature*, **343**: 531-535 (1990).
- 2) Rohrer, L., Freeman, M., Kodama, T., et al.: Coiled-coil fibrous domains mediate ligand binding by macrophage scavenger receptor type II. *Nature*, **343**: 570-572 (1990).

- 3) Kodama, T., Reddy, P., Kishimoto, C., et al.: Purification and characterization of a bovine acetyl low density lipoprotein receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **85**: 9238-9242 (1988).
- 4) Brown, M. S. and Goldstein, J. L.: Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *A. Rev. Biochim.*, **52**: 223-261 (1983).
- 5) Kita, T., et al.: Probucol prevents the progression of atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit, an animal model for familial hypercholesterolemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **84**: 5928-5931 (1987).
- 6) Nishikawa, K., et al.: Scavenger receptor-mediated uptake and metabolism of lipid vesicles containing acidic phospholipids by mouse peritoneal macrophages. *J. Biol. Chem.*, (1990).
- 7) Frank, J. S. and Fogelman, A. M.: Ultrastructure of the intima in WHHL and cholesterol-fed rabbit aortas prepared by ultra-rapid freezing and freeze-etching. *J. Lipid Res.*, **30**: 967-978 (1989).

The Macrophage Scavenger Receptors

Tatsuhiko KODAMA*, Fumimaro TAKAKU*, Akiyo MATSUMOTO** and Hiroshige ITAKURA**

* The Third Department of Internal Medicine,
University of Tokyo

** Division of Clinical Nutrition, National Institute
of Health and Nutrition