シンポジウム

動脈硬化病変進展におけるマクロファージの役割—最近の進歩

マクロファージのスカベンジャー受容体研究の最近の進歩*

松本明世** 板倉弘重** 児玉龍彦*** 矢崎義雄***

I. はじめに

動脈硬化巣にみられる特徴的病変は、アテローム性プラークの存在である。その主要な細胞成分は、泡沫細胞と呼ばれるエステル型コレステロールを大量に蓄積した細胞である。この泡沫細胞は単球由来のマクロファージが低比重リポ蛋白 (LDL) 由来のコレステロールを取り込んで形成されると考えられている。

LDL 受容体の欠損した家族性高コレステロール血症の患者のマクロファージが LDL 由来のコレステロールを取り込んで泡沫細胞化していることから、Brown と Goldstein らは、1979 年にマウスの腹腔マクロファージと LDL を培養させた実験で、マクロファージは正常の LDL とはほとんど結合しないが、アセチル化し陰性荷電の増加した LDL とはよく結合し、100 倍ものコレステロールエステルを貯留するようになるという事実を示し^{1,2)}、マクロファージのアセチル LDL/スカベンジャー受容体が変性 LDL と結合し、取り込むことによって泡沫細胞化し、動脈硬化が発症するというスカベンジャー経路仮説を提唱した。

その後10年間にわたり、スカベンジャー受容体の重要性を示すデータが蓄積されてきたが、スカベンジャー受容体の実態が不明であることや、多様な陰性荷電を持つ巨大分子でスカベンジャー受容体機能が阻害されることなどにより、単一の受容体機能であるのか、それともマクロファージの持つ貪食能の一部なのか不明の点が多かった。

1988 年、児玉らはウシスカベンジャー受容体を精製し³⁾、その cDNA の塩基配列を決定した⁴⁾。さらに、われわれはウシスカベンジャー受容体 cDNA をプローブ

として用いてヒトスカベンジャー受容体の cDNA をクローニングし、その塩基配列を決定した⁵⁾。また、ヒト受容体遺伝子のクローニング、ヒト受容体に対する抗体の作成とそれらを用いた免疫組織化学からの検討などを行った。これらの研究により、スカベンジャー受容体が単一の受容体であることが明らかになり動脈硬化症の研究に新たな展開をもたらしている。

II. スカベンジャー受容体の構造

マクロファージスカベンジャー受容体は分子量 200~250 kD の三量体糖蛋白で、ヒトおよび栗原らによりクローニングされたマウススカベンジャー受容体 cDNA の塩基配列の解析からも、ウシと同様に 2 種のスカベンジャー受容体、I 型と II 型の存在が明らかになった。これらスカベンジャー受容体は、共に 6 つのドメイン、すなわち I: 細胞質ドメイン、II: 膜透過ドメイン、III: スペーサードメイン、IV: α -helical coiled coil ドメイン、V: コラーゲン様ドメインおよび VI: C 端側型特異的ドメインから構成されている。ヒトスカベンジャー受容体の I 型と II 型のモデルを Fig. 1 に示す。

スカベンジャー受容体遺伝子は、ヒトでは染色体 8 番に存在し、最近、江見らによって、コスミドライブラリーからクローニングされた (Fig. 2)。遺伝子は全長約 80 kb あり、11 個のエクソンから構成される。エクソン 1~8 は I 型と II 型の共通部分で、5' 非翻訳領域 (①)、細胞質ドメイン (②)、膜透過ドメイン (③)、スペーサーと coiled coil ドメイン (④、⑤) およびコラーゲン様ドメイン (⑥、⑦、⑧) にコードされる。続いてまず II 型特異ドメインと II 型の 3' 非翻訳領域が一つのエクソン (⑨) として続き、次に 10 kb 以上のイントロンをはさんで I 型特異ドメイン (⑩) と I 型の 3' 非翻訳領域 (⑪) に対応するエクソンから構成されている。これらエクソンの構成とアミノ酸配列からみられるドメイン構造とを比較すると、上述のようにおのおのの機能ドメイ

* 1991 年 6 月、第 23 回日本動脈硬化学会総会において発表

** 国立健康・栄養研究所臨床栄養部

*** 東京大学医学部第三内科

Fig. 1 ヒトスカベンジャー受容体の構造.

Fig. 2 ヒトスカベンジャー受容体遺伝子の構造.

ンが異なったエクソンにコードされていることが示された。したがって、I型とII型の mRNA の生成は alternative splicing により起こり、I型 mRNA は 5'より8個の共通エクソンと、1個のエクソンをとばして、2個のI型特異エクソンにスプライスされる。このように、受容体のC端側のドメインがエクソンの alternative splicing によって複数生成されることは興味深く、スカベンジャー受容体はいわゆるインサイドアウト型の受容体であるため可能な生成機構であると考えられる。

III. ドメイン構造の特徴

ウシ、ヒトおよびマウスのスカベンジャー受容体のアミノ酸配列を比較すると、C端の型特異的ドメインを除き、両タイプとも高い相同性を示し、各ドメインの機能的に重要と思われるアミノ酸はよく保存されていることが示された (Fig. 3)。

スカベンジャー受容体のN端側は細胞質にあり、トランスフェリン受容体やアシアログリコプロテイン受容

(Consensus)		-- - - +@- + + -+									
Human	1- 45	MAQWDDFPDQEDTDSCTESVKFDARSVTALLPPHPKNGPTLQER									
Bovine	1- 45	MEQWDHFHNQEDTDSCSESVKFDARSMTALLPPNPKNPSLQEK									
Mouse	1- 50	MTKEMTENQRLCPHEREDADCSSSESVKFDARSMTASLPSTKNGPSVQEK									
		+ @+ - + -									
Human	46- 95	LKSFK <u>AA</u> LI AL YLLVFAVLIPLIGIVAAQLL KWETKNCSVSSTNANDITQ									
Bovine	46- 94	MKS Y K <u>TA</u> LIT LY LIVFVVLVPIIGIVAAQLL KWETKNCTV-GSVNADISP									
Mouse	51-100	LKSFK <u>AA</u> LI AL YLLVFAVLI PV VGVIT QA QLLN EMKNCLVCSRNTSDTSQ									
		+ -M+ M M M- + -									
Human	96-145	SLTGKGNDSSEEMR FQEVFMEHMSNMKRIQHILDMEANLMDTEHFQNF									
Bovine	95-144	SPEGKGNSEDEMR FREAVMERMSNMESRIQYLSDNANLLDAKNFQNF									
Mouse	101-149	GPMKENTS N VEMR F-TIIMAHMKDMEERIQSISNSKADLIDTGRFQNF									
		- + - + -									
Human	146-195	MTDQRFNDJLLQLSTLFSSVQGAGNAIDEISKSLISLNTTLLDLQLNIE									
Bovine	145-194	ITDQRFNDVLFQLNSLSSIQEHE NI IGD IS KSLVGLNTTVLDLQFSIE									
Mouse	150-199	MATDQRLNDJLLQLNSLILSVQEHGNSLDAISKSLQSLNMTLLDVQLHTE									
		+ + -- + --- - - - - +									
Human	196-245	NLNGKIQENTFKQEEISKLEERVYNVSAEIMAMKEEQVHLEQEKGEVK									
Bovine	195-244	TLN GR VQENPFKQ EE MRKLEERIYNASAEIKSLDEKQVYLEQEKGEVK									
Mouse	200-249	TLHVRVRESTAKQ ED ISKLEERVYKVS AE VQSVKEEQAHVEQEVKQEV									
		- + + - + -+ -+									
Human	246-295	VIN NI TNDLRLK WE HSQT LR NITLIQ GPPGPPGEKGDRGPTGESGPRGF									
Bovine	245-294	L NI TNDLRLK WE HSQT LK NITLLQ GPPGPPGEKGDRGPPGQNGIPGF									
Mouse	250-299	V NI TNDLRLK WE HSQT LK NITFIQ GPPGPQGEKGDRGLTGQTGPPGA									
		+ -+ + + + + + -+									
Human	296-342	PGPIGPPGLKGDRGAI G FP GS RGLPGYA---GRP GN SGPKGQKGEKGSG									
Bovine	295-343	PGLIGTPGLKGDRGISGLPGVRGFP GM <u>QKTGKPGLN</u> GQKGEKGSG									
Mouse	300-348	PGIRGIPGVKGDRGQIGFP GG RGNPGAPGKPGRS GS PGPKGQKGEKGSV									
		+									
Human	344-358	N TL RPVQLTDHIRAGPS									
Bovine	344-349	SMQRP									
Mouse	349-354	GGSRSV									

Fig. 3 スカベンジャー受容体のアミノ酸配列の比較。

体などと同様にインサイドアウト型である。低比重リポ蛋白受容体やインシュリン受容体の細胞質側には Asn-Pro-X-Tyr (NPXY) 配列がエンドサイトーシスシグナルとして重要な配列として知られているが、インサイドアウト型にはこの配列がみられず、トランスフェリン受容体では Tyr-X-Arg-Phe (YXRF) 配列がエンドサイトーシスに重要であることが知られている。スカベンジャー受容体の細胞質ドメインにはこれらの配列は認められないが、和田らによる N 端側のアミノ酸を欠失させた変異体を COS 細胞に発現させた実験から、2 から 8 残基を欠失させた変異体は受容体活性を示すが 2 から 18 残基を欠失させたものは活性を示さず、9 から 18 残基の間にエンドサイトーシスに重要なシグナルのあることが示唆されている。

コラーゲン様ドメインはスカベンジャー受容体の特徴部位であり、グリシン (Gly) ではじまるトリプレット構造 (Gly-X-Y) は、ヒトで 23 回、ウシとマウスで 24 回の繰り返しで構成されていた。コラーゲン様ドメインの C 端側は Lys, Arg に富む陽性に荷電したクラスターを形

成している。土井らによるウシスカベンジャー受容体の各種変異体を COS 細胞に発現させた系を用いた検討から、N 端から 342 残基までをもつ変異体 (C 端型特異ドメインを欠失) は正常な受容体と同等の活性を示すが、N 端から 320 残基までの変異体、すなわちコラーゲンドメインの C 端側の陽性に荷電した領域を欠失させた変異体はリガンドを取り込めなくなることが示された⁷⁾。またこれらの発現系を用いた実験から、酸化低比重リポ蛋白の結合・分解量は生理的条件下でのマクロファージと同様の特異性を示すことが示された。したがって、この領域が変性 LDL や陰性荷電の増した巨大分子などリガンドとの結合部位であると考えられる。

IV. 動脈硬化病巣におけるスカベンジャー受容体の発現

ヒトスカベンジャー受容体のコラーゲンドメインに対応するペプチドに対する抗体 (ANTI-HSRI-2) を用いて、内藤らにより動脈硬化病巣におけるスカベンジャー受容体の発現が検討された (Fig. 4)。肥厚のほとんど見られ

Fig. 4 ヒト動脈硬化病巣におけるスカベンジャー受容体の発現.

ない初期病変部位 (case 1) では内皮直下に認められるコレステロールを蓄積したマクロファージにスカベンジャー受容体の存在が示された。また、肥厚の見られる病変部位 (case 2) では case 1 とは異なり内膜の深部にスカベンジャー受容体の存在が認められた。これらの免疫組織化学の結果よりスカベンジャー受容体が動脈硬化症の発症に強く関与することが示唆された。ヒトスカベンジャー受容体の C 端の型特異ドメインのペプチドに対する I 型, II 型特異的抗体を用いた検討から、分離した肺泡マクロファージには両方の型とも発現していることが示され、さらに動脈硬化病変のマクロファージにも両タイプとも発現していることが示された。したがって、スカベンジャー受容体はホモおよびヘテロ三量体として機能していると考えられる。

以上のように、動脈硬化病巣のマクロファージ由来の泡沫細胞にスカベンジャー受容体の発現が確認され、最近 *in-situ* による検討から動脈硬化病変にはスカベンジャー受容体の発現はマクロファージで認められるが、病変の周囲を含め低比重リポ蛋白受容体の発現はほとんど認められないことが報告され⁸⁾、本受容体が動脈硬化の発症に強く関与することが示された。

V. まとめ

スカベンジャー受容体の動脈硬化症における役割が明らかにされつつある。ここに述べたスカベンジャー受容体はマクロファージ系細胞のみで発現しているものであ

る。京都大学の荒井らは酸化 LDL に特異性の高いスカベンジャー受容体の存在を報告している⁹⁾。また、動脈硬化病巣には平滑筋細胞 (SMC) 由来の泡沫細胞も認められ、変性 LDL を取り込むことが報告されている。今後これら一連のスカベンジャー受容体に関する詳しい研究が進むにつれ、その生理的役割や動脈硬化との関係も明らかになると考えられる。

文 献

- 1) Brown, M. S., Goldstein, J. L., Krieger, M., et al.: Reversible accumulation of cholesteryl esters in macrophages incubated with acetylated lipoproteins. *J. Cell Biology*, **82**: 597-613 (1979).
- 2) Goldstein, J. L., Ho, Y. K., Basu, S. K., et al.: Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **76**: 333-337 (1979).
- 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) Kodama, T., Freeman, M., Rohrer, L., et al.: Type I macrophage scavenger receptor contains α -helical and collagen-like coiled coil. *Nature*, **343**: 531-535 (1990).
- 5) Matsumoto, A., Naito, M., Itakura, H., et al.: Human macrophage scavenger receptor: Primary structure, expression and localization in atherosclerotic lesion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **87**: 9133-9137 (1990).
- 6) Frank, J. S. and Fogelman, A. M.: Ultrastructure of intima in WHHL and cholesterol-fed rabbit aortas

- prepared by ultra-rapid freezing and freeze-etching. *J. Lipid Res.*, **30**: 967-978 (1989).
- 7) 土井健史, 松本明世, 児玉龍彦: マクロファージ上のスカベンジャー受容体. 蛋白質, 核酸, 酵素, **35**: 1505-1516 (1990).
- 8) Yla-Herttuala, S., Rosenfeld, M. E., Parthasarathy, S., Sigal, E., Sarkioja, T., Witztum, J. L. and Steinberg, D.: Gene expression in macrophage-rich human atherosclerotic lesions. *J. Clin. Invest.*, **87**: 1146-1152 (1991).
- 9) Arai, H., Kita, T., Yokoda, M., et al.: Multiple receptors for modified low density lipoproteins in mouse peritoneal macrophages: Different uptake

mechanisms for acetylated and oxidized low density lipoproteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **159**: 1375-1382 (1989).

Recent Progress in Studies on Macrophage Scavenger Receptors

Akiyo MATSUMOTO and Hiroshige ITAKURA

Division of Clinical Nutrition

The National Institute of Health and Nutrition

Tatsuhiko KODAMA and Yoshio YAZAKI

Third Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Tokyo