



スカベンジャーレセプターと 動脈硬化予防薬の展望

研究ノート

土井健史*, 今西武**

1. はじめに

動脈硬化の初期病変部位では、アテローム性プラークの主要成分である泡沫細胞とよばれるコレステロールを大量に蓄積した細胞がみられる。この細胞の起源については長年不明であったが、免疫組織学的研究等の成果より、単球由来のマクロファージであることが明らかになってきた。しかし、マクロファージにおいては、LDL (low density lipoprotein) レセプターによるコレステロールの取り込みはほとんどみられず、他の経路を介したコレステロールの蓄積が考えられた。

BrownとGoldsteinは、種々の化学修飾をLDLに加えこれらのマクロファージへの取

り込みを調べたところ、アセチル化されたLDLが効率よく取り込まれ、細胞が泡沫化をおこすことを見いだした。当初、彼らはこの取り込みに関与するレセプターをアセチルLDLレセプターと呼んでいたが、その後、この取り込みはpoly I, poly G, デキストランスルフェート等により競合的に阻害されることが示され、その広い基質特異性よりスカベンジャーレセプターと呼ばれるようになった。¹⁾このレセプターの実体は長い間不明であったが、近年、児玉らによりそのcDNAのクローニングがなされ構造が明らかとなった。²⁾³⁾

我々は、このレセプターの構造と機能の関係を明らかにする研究を行っているが、最近このレセプターのリガンド結合ドメインに関する興

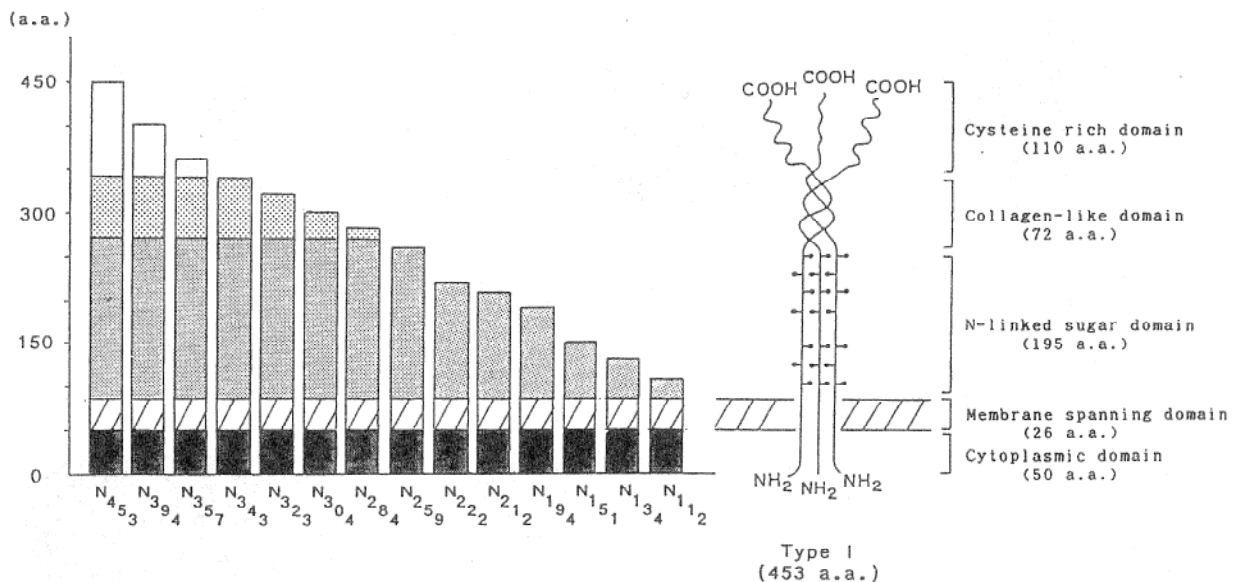


図1 スカベンジャーレセプターのC末端欠失変異体。N343は、N末端より343アミノ酸よりなる欠失変異体を示す。

*土井健史(Takefumi DOI), 大阪大学薬学部, 製薬化学科, 助手, 薬学博士, 生物有機化学

**今西武(Takeshi IMANISHI), 大阪大学薬学部, 製薬化学科, 教授, 薬学博士, 有機化学

味ある知見が得られたので、本稿では、その研究を紹介すると共に、新しい視点からの動脈硬化予防薬の展望について述べてみたい。

2. リガンド結合領域の探索

スカベンジャーレセプターは、図1に示すように構造上5つの領域からなっている。この今までに類をみない特異な構造を有するレセプターのどの部分に、修飾LDLをはじめとする高分子が結合し、細胞内に取り込まれるのであろうか。我々は、リガンド結合領域を決めるためにレセプターのC末端側からアミノ酸を欠失させた種々の変異体を作製し、これらの分子によるリガンド取り込み能を調べた。まず、サイトメガロウイルスのプロモーター下に挿入されたレセプターcDNAを3'末端よりexonuclease IIIを用い除去し、図1に示す変異体が発現されるプラスミドを構築した。これらプラスミドをCOS, CHO, HELの各細胞に導入し、1)細胞内での発現、2)細胞膜への移行、3)細胞膜

上での3量体形成(レセプターは3量体構造をとるとき活性)、4)リガンドの取り込み能を調べた。その結果、図1に示すN343変異体(N末端から343アミノ酸残基で構成されている欠失変異体)までは、C末端を欠失してもリガンドである蛍光標識された1, 1'-dioctadecyl-3, 3, 3', 3'-tetramethylindocarbocyanine-acetyl-LDLを取り込んだが、さらに20アミノ酸を欠如したN323変異体では全くリガンドを取り込まなかった(図2)。又、N323より短い変異体も同様に取り込みを示さなかった。このN323変異体を取り込みを示さなくなったのは、欠失によりリガンド結合部位が除去されたことに起因するのか、あるいはこの分子が細胞表面に出られなくなったためなのかを調べるため、以下の実験を行なった。まず、N-linked sugar domainの3量体構造を認識す

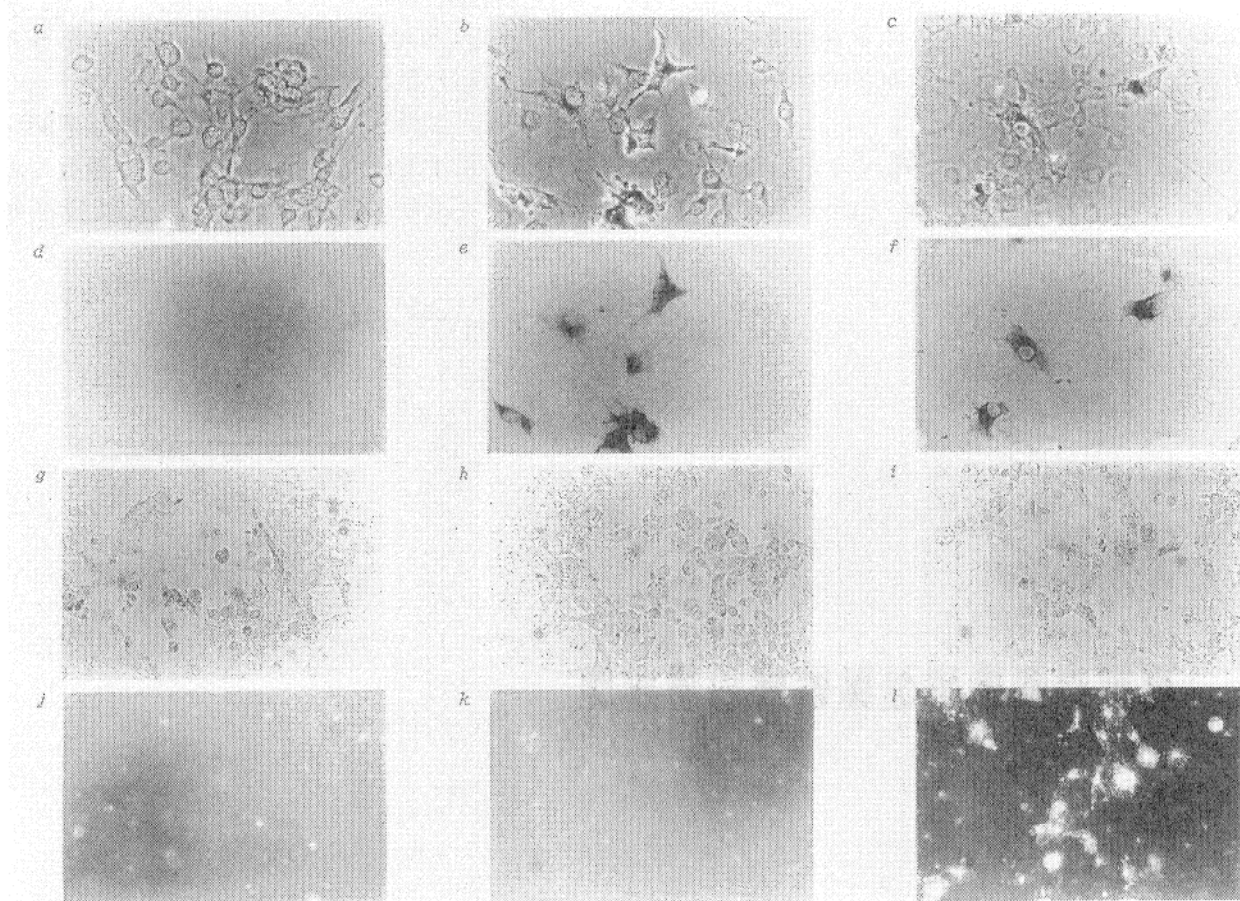


図2 欠失変異体のリガンド取り込み活性とCOS細胞内での発現。ベクターのみ(a, d, g, j), N323遺伝子(b, e, h, k), 全長遺伝子(c, f, i, l)をCOS細胞に導入した時のリガンドの取り込み(g-l)と細胞内での発現(a-f)を示す。明視野(a-c, g-i), 蛍光視野(j-l), 免疫組織学的染色(d-f)の細胞を示す。

る抗体を用い、免疫組織学的染色実験を行なった。すなわち、変異体を発現している細胞を固定化し、これに上記抗体と2次抗体、発色剤等を加え細胞を染色する方法で、これによりN323変異体は3量体として細胞に存在していることがわかった(図2)。次に、この変異体が、細胞表面上に運ばれレセプタータンパク質として存在しているかどうかを、4℃下での生細胞への上記抗体及びリガンドの結合実験を行うことにより調べた。その結果、N323変異体は、天然のレセプターと同様、細胞表面に存在していることがわかった。以上のことより、N323変異体を取り込みを示さなかったのは、リガンド結合領域が欠除したためであり、N343からN323までの20アミノ酸がリガンド結合に関与していることが明らかとなった。興味あることにこの領域には正の電荷が集まっており、我々のこの結果は、スカヴェンジャーレセプターがpoly I等の負の電荷を有する高分子も取り込むという現象をうまく説明している。

3. 動脈硬化予防薬の開発

動脈硬化症の3大危険因子として、高血圧、

喫煙、高脂血症が知られているが、その最大の危険因子は高脂血症で、以前よりこの治療を目的とし、多くの薬物が開発されている。

図3にコレステロール代謝系よりみた動脈硬化抑止策を示す。コレステロールの吸収阻害剤としては、直接小腸で胆汁酸と結合し吸収を抑制するcholestyramineやcolestipol等の樹脂がある。これらの作用は、吸収抑制と更にこれに伴う肝臓の細胞表面LDLレセプターの増加による血中LDL濃度の低下である。又、コレステロールの合成阻害剤としては、図3に示すように3-hydroxyl-3-methylglutaryl CoA (HMG CoA) と類似の構造を有し、このことによりHMG CoA還元酵素を阻害し、肝臓におけるコレステロール合成を抑制するcompactin, mevinolin等の薬物がある。その他、VLDL量を下げたりlipoprotein lipaseの活性を上げる等の作用を有する薬物も使用されている。

最近、新しいアプローチとして注目されているのが、LDLの酸化抑制剤の開発である。図にあげたprobucolは、以前より血中LDL濃度を下げるために用いられていたが、この薬物の

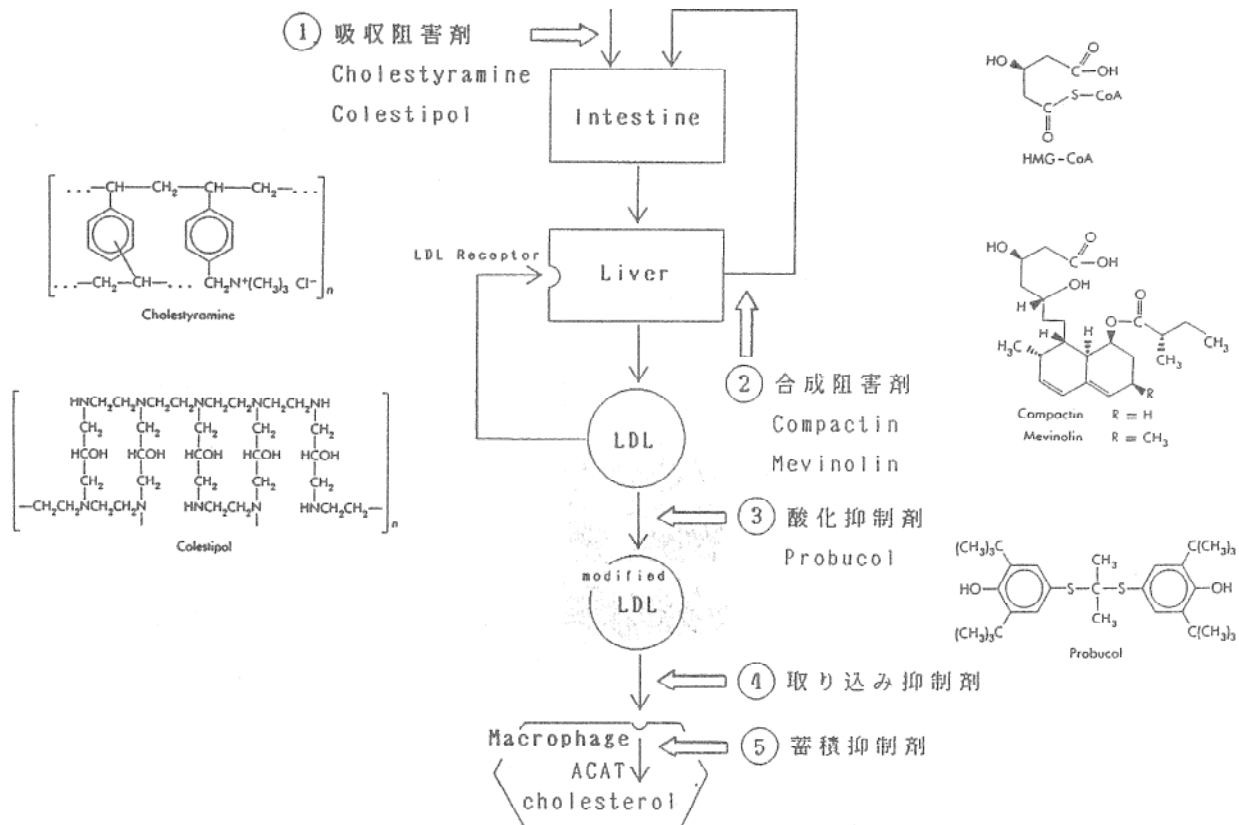


図3 動脈硬化抑止策。

作用点は、LDLの酸化抑制であることが最近ようやく明らかにされた。

次に、動脈硬化発症の直接の原因となるマクロファージの泡沫化を抑える作用点が考えられる。図3に示すように、修飾LDLの取り込みを抑える方法やマクロファージ内への蓄積を抑える方法等が考えられるが、取り込み抑制に関しては、今回、我々がスカベンジャーレセプターのリガンド結合領域を明らかにしたことにより、この部分をブロックするような薬物のデザインが可能になってきた。マクロファージ内への蓄積に関しては、取り込まれたコレステロールをエステル化し細胞内への蓄積に関与するacyl-CoA acyltransferase (ACAT)を抑制する方法などが考えられるが、今後の研究開発に期待したい。

4. おわりに

以上、スカベンジャーレセプターに関する最近の我々の仕事と、動脈硬化の予防薬の開発について簡単に述べてきた。従来より家族性高

コレステロール血症においては、アキレス腱等のコラーゲンへコレステロールが沈着することが観察されていたが、今回の我々のこの結果から、スカベンジャーレセプター上のリガンド結合ドメインであるコラーゲン様配列が、この沈着に重要な役割を果たしていることが考えられる。前節でも述べたように、変性LDLとコラーゲン、変性LDLとスカベンジャーレセプターの結合をそれぞれ抑えるような薬物が開発されれば、動脈硬化の新しい予防薬となる可能性があり、今後、このことに関して更に検討を進めていきたい。

参 考 文 献

- 1) Brown, M. S. & Goldstein, J. L. : Ann. Rev. Biochem., 52, 223-261 (1983) .
- 2) Kodama, T. et al. : Nature, 343, 531-535 (1990) .
- 3) Rohrer, L. et al. : Nature, 343, 570-572 (1990) .

