
新たな血管の老化予防法の開発をめざした コレステロール逆転送系調節機序の解明

(H11-長寿-003)

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）総括・分担研究報告書

平成13年3月

主任研究者 堀内正公（熊本大学医学部生化学第二講座 教授）
分担研究者 横山信治（名古屋市立大学医学部生化学第一講座 教授）
松本明世（国立健康栄養研究所 臨床栄養部 分子栄養研究室長）
新井洋由（東京大学大学院 薬学系研究科 教授）

目 次

総括研究報告（堀内 正公）	1
分担研究報告（堀内 正公）	6
分担研究報告（横山 信治）	55
分担研究報告（松本 明世）	126
分担研究報告（新井 洋由）	144
研究成果の刊行に関する一覧表	179



厚生科学研究費（長寿科学総合研究事業）
総括研究報告書

新たな血管の老化予防法の開発をめざしたコレステロール逆転送系調節機序の解明

主任研究者 堀内 正公 熊本大学医学部生化学第二講座 教授

末梢細胞から肝臓に至るコレステロール逆転送系の調節機構の解析を行った。生体内糖化蛋白質 AGE は HDL 受容体 SR-BI に結合し、SR-BI を介する HDL コレステロールエステル(CE)の選択的細胞取り込み、並びに細胞からのコレステロール搬出を抑制した。アポ A-I による細胞脂質の搬出 (HDL 新生反応) は、タンジール病遺伝子 ABCA1 の発現とは必ずしも相関せず、むしろ caveolin-1 の発現と相関した。マウスにプロブコールを投与すると HDL 新生反応が抑制され、血中 HDL が低下した。ヒト肝癌由来 HepG2 細胞を多価不飽和脂肪酸で処理し、DNA チップで遺伝子発現調節を検討すると、mevalonate pyrophosphate decarboxylase や lysosomal acid lipase が負の調節を受けていた。SR-BI 結合蛋白質である CLAMP の変異型を SR-BI 過剰発現 CHO 細胞に発現させると、SR-BI 発現や HDL-CE の取り込みが減少した。アデノウィルスを用いて変異 CLAMP をマウス肝臓に発現させると、SR-BI 発現が低下し、HDL-CE のクリアランスが低下、血中 HDL レベルは増加した。

分担研究者

横山 信治 名古屋市立大学医学部
生化学第一講座教授

松本 明世 国立健康栄養研究所
分子栄養健康室長

新井 洋由 東京大学大学院薬学系研究科
教授

クな代謝系である。すなわち、動脈硬化病変のマクロファージ由来泡沫細胞などの末梢細胞に蓄積したコレステロールが、HDL 或いは HDL の主要アポリポ蛋白質であるアポ A-I によって引き抜かれ、HDL 粒子上でのコレステロールエステル (CE) への変換を経てコレステロールエステル転送蛋白質(CETP)による LDL (低比重リポ蛋白質) や VLDL (超低比重リポ蛋白質) への CE の転送によって、或いは HDL から HDL 受容体である SR-BI を介して直接 CE が肝細胞に取りこまれる一連の過程である。結果として、動脈硬化病変の進展抑制、更には退縮が期待され、抗動脈硬化的に作用すると考えられている。

A. 研究目的

高脂血症・動脈硬化は、日本人の死因の第二位をしめる心臓病、特に虚血性心疾患の最も重要な基礎病態である。臨床疫学的な研究から、血中 HDL (高比重リポ蛋白質) コレステロール値と虚血性心疾患の発症頻度の間には、負の相関が認められている。この事実を生理学的に説明するものとして、コレステロール逆転送系 (reverse cholesterol transport) が存在する。本経路は、末梢細胞から肝臓に至るコレステロールのダイナミッ

「HDL = 善玉コレステロール」として一般に受け入れられているが、HDL がなぜ善玉でありうるのかといった基本的な問題に対する解答のないまま概念だけが先行したきらいがある。そこで本研究では、コレステロール逆転送系に関与する個々の機能分子の構造及び機能を解明することを目的としている。

今年度は、堀内が総括及びや糖尿病に伴って生じる生体内糖化タンパク質(Advanced Glycation Endproducts: AGE)のコレステロール逆転送系に対する影響を、横山が遊離コレステロールの細胞膜への輸送とアポ蛋白 A-I によるコレステロール搬出の分子機序を、松本は肝細胞における多価不飽和脂肪酸による脂質代謝関連遺伝子の発現調節機構を、更に新井は SR-BI の細胞内結合タンパク質として世界に先駆けてクローニングに成功した CLAMP (C-terminal linking and modulating protein)の機構解析を担当した。

B. 研究方法

堀内は、新井によって作成された SR-BI 過剰発現 CHO 細胞(CHO-SR-BI 細胞)を用い、SR-BI機能に対するAGEの影響を検討した。AGE はウシ血清アルブミンを高グルコースに 40 週暴露して調製した(AGE-BSA)。AGE-BSA を放射ヨード標識し、CHO-SR-BI 細胞との結合を検討した。HDL の CE 部分を非分解性の ^3H cholesteryl oleoyl etherで、蛋白部分を ^{125}I で標識して二重標識 HDL を調製した。CHO-SR-BI 細胞と二重標識 HDL を保温し、CE の選択的細胞取り込み (^3H 取り込みから ^{125}I の取り込みを引いたもの)を求め、CE の選択的取り込みに対する AGE の効果を検討した。また CHO-SR-BI 細胞を予め ^3H コレステロールで標識し、HDL によるコレステロール搬出に対する AGE の効果を検討した。

横山は、マウス白血病細胞 RAW264 を用

い、アポ A-I との結合と cAMP による HDL 新生誘導との関連を検討した。無 HDL 血症を呈するタンジール病の原因遺伝子として同定されたヒト ABCA1 を各種細胞にトランスフェクションし、HDL 新生に伴う細胞内シグナルやコレステロール輸送を検討した。HDL 新生反応阻害剤、プロブコールを LCAT 欠損マウスに投与し、HDL 新生反応の意義を検討した。最後にラットアストロサイトを用いて、脳における HDL 新生を検討した。

松本は、ヒト肝癌細胞 (HepG2 細胞) をオレイン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸などの不飽和脂肪酸で処理し、DNA チップを用いてこれらの脂肪酸による遺伝子発現調節機能を網羅的に解析した。

新井は、HDL 受容体である SR-BI の細胞質部分に結合する蛋白質として同定した CLAMP の生理的役割を検討した。CLAMP は蛋白質・蛋白質間の相互作用に関与する PDZ ドメインを4個もっている。第3、第4PDZ ドメインを欠失した変異 CLAMP を SR-BI とともに CHO 細胞に過剰発現し、SR-BI と CLAMP の結合、CLAMP の細胞内局在を検討した。アデノウイルスを用いてマウスの肝臓に変異 CLAMP を発現させ、血中脂質のプロフィール、HDL-CE の血中クリアランスを検討した。

C. 結果と考察

堀内は、AGE が SR-BI にリガンドとして認識されることをみいだした。すなわち、

SR-BI は AGE 受容体の一つであることが明らかになった。AGE の SR-BI への結合は HDL では抑制されず、HDL の SR-BI への結合も AGE によって抑制されなかった。従って、SR-BI 上の HDL 結合部位と AGE 結合部位は異なることが示唆される。

AGE は HDL の CHO-SR-BI 細胞への結合を抑制しないにもかかわらず、HDL-CE の CHO-SR-BI 細胞への選択的取り込みを抑制した。HDL による CHO-SR-BI 細胞からのコレステロール搬出は AGE により有意に抑制された。これらの結果は、SR-BI を介するコレステロール逆転送系の機能（肝臓への HDL-CE の選択的取り込みと末梢細胞からのコレステロール搬出）が、生体内糖化蛋白質 AGE によって抑制されていることを示唆しており、糖尿病性大血管障害の発症機構を考える上で重要な情報をもたらした。

横山は、1)マクロファージ系細胞では、cAMP による ABCA1 発現とアポ A-I 結合及び HDL 新生反応が同時に誘導され、この過程には caveolin-1 が必須であること、2) PMA による分化誘導では ABCA1 の誘導前にもコレステロールを含まない HDL 新生が起こり、ABCA1 は HDL 形成には必須でないこと、3) HDL 新生反応はプロブコールにより阻害され、マウス血漿 HDL は消失すること、4) 神経系細胞（アストロサイト）でも同じ機序で HDL 新生が起こることを明らかにした。

松本は、DNA チップを用いて、高度多価不飽和脂肪酸のヒト肝癌由来 HepG2 細胞における脂質代謝関連遺伝子の発現調節を

mRNA レベル比較した。mevalonate pyrophosphate decarboxylase、lysosomal acid lipase の発現が高度多価不飽和脂肪酸により減少することが示された。脂質代謝以外では、高度多価不飽和脂肪酸によりセリンプロテアーゼの prostaticin の発現抑制され、四肢分化に働く DSS1 の発現が増加した。近年、高度多価不飽和脂肪酸は単にエネルギー源としてのみでなく、種々の生物活性を持つことで注目を受けており、今回の結果は、生体内における高度多価不飽和脂肪酸のあらたな生物学的役割に関する基礎的情報を提供した。

新井は、PDZ ドメイン 3 及び 4 を欠失した変異型 CLAMP を CHO 細胞に過剰発現し、変異型 CLAMP は CLAMP と競合的に SR-BI に結合することを見いだした。変異型 CLAMP の発現により、SR-BI の発現は減少した。従って、CLAMP は SR-BI の安定性に関与していることが示唆された。

アデノウイルスを用いて変異型 CLAMP をマウス肝臓に発現させると、肝臓における SR-BI 蛋白質の発現が減少し、血漿中の HDL コレステロール量が有意に上昇していることが明らかになった。また変異型 CLAMP 発現マウスは、HDL-CE の血中クリアランスが有意に遅延していた。CLAMP は個体レベルにおいて SR-BI の発現レベルを規定し、HDL の代謝速度や HDL コレステロールレベルを調節していることを明確にした。

D. 結論

1) HDL 受容体 SR-BI を介するコレステロー

ル逆転送機能 (HDL-CE の肝細胞への選択的とりこみ及び末梢細胞からのコレステロール搬出) は、生体内糖化蛋白質 AGE により抑制される可能性が示唆された。

2) アポ A-I による細胞脂質の搬出 (HDL 新生反応) には caveolin-1 が重要である。HDL 新生反応阻害剤プロブコールは、マウスの血中 HDL を低下させた。アストロサイトでもアポ A-I による HDL 新生反応が生じることが確認された。

3) ヒト肝癌由来 HepG2 細胞における mevalonate pyrophosphate decarboxylase、lysosomal acid lipase の発現は、高度多価不飽和脂肪酸により抑制された。

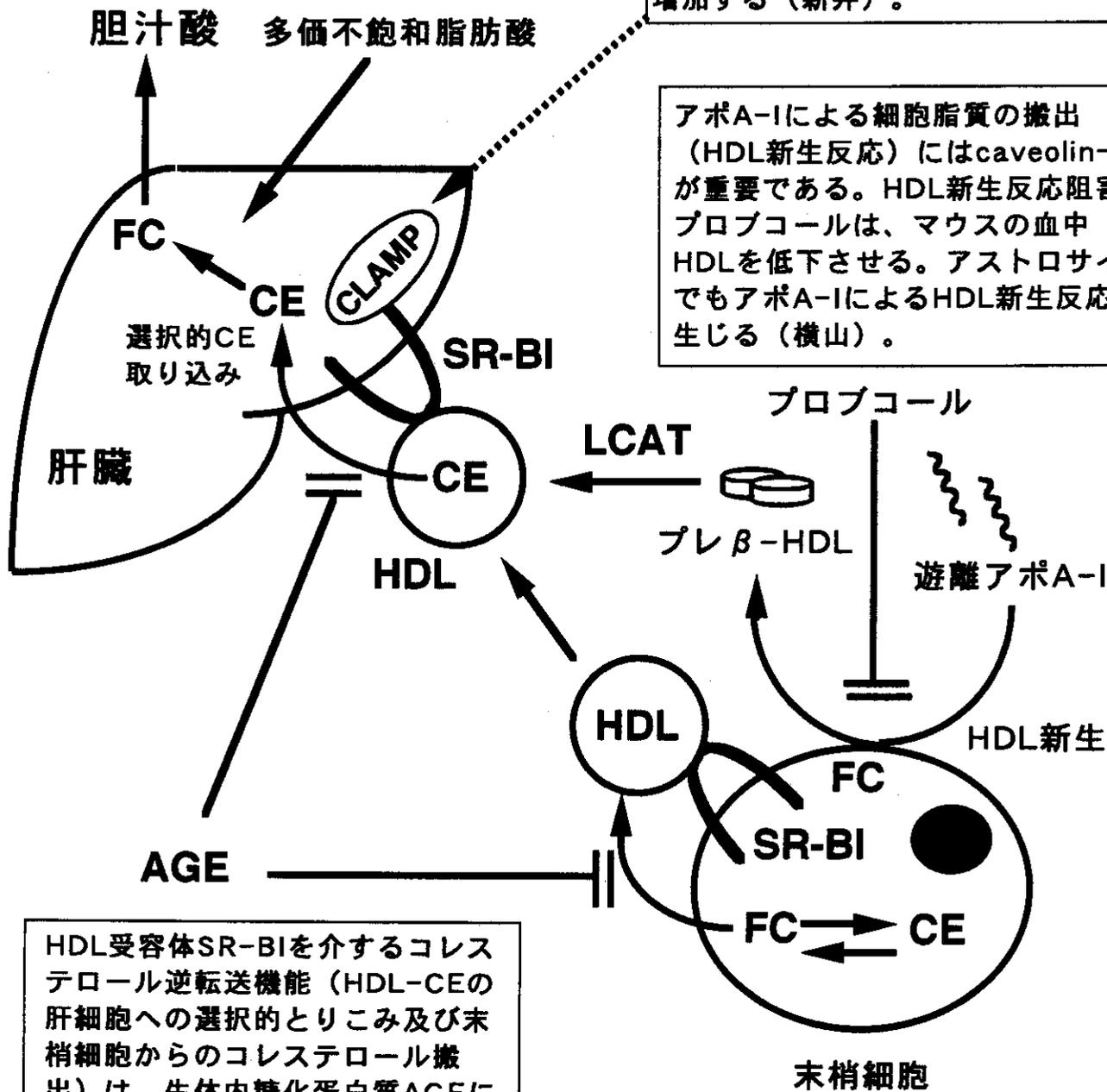
4) SR-BI 結合蛋白質 CLAMP は、HDL 受容体である SR-BI の安定化に関与しており、マウス肝臓に変異 CLAMP を発現させると、SR-BI 発現は減少、血中 HDL-CE のクリアランスは遅延し、血中 HDL は増加した。

まとめ

ヒト肝癌由来HepG2細胞における mevalonate pyrophosphate decarboxylase、lysosomal acid lipaseの発現は、高度多価不飽和脂肪酸により抑制される（松本）。

CLAMPはSR-BIの安定化に参与しており、マウス肝臓に変異CLAMPを発現させると、SR-BI発現は減少、血中HDL-CEのクリアランスは遅延し、血中HDLは増加する（新井）。

アポA-Iによる細胞脂質の搬出（HDL新生反応）にはcaveolin-1が重要である。HDL新生反応阻害剤プロブコールは、マウスの血中HDLを低下させる。アストロサイトでもアポA-IによるHDL新生反応が生じる（横山）。



HDL受容体SR-BIを介するコレステロール逆転送機能（HDL-CEの肝細胞への選択的とりこみ及び末梢細胞からのコレステロール搬出）は、生体内糖化蛋白質AGEにより抑制される（堀内）。

FC：遊離コレステロール
CE：コレステロールエステル

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

新たな血管の老化予防法の開発をめざしたコレステロール逆転送系調節機序の解明
—細胞内遊離コレステロール調節機構—

主任研究者 堀内 正公 熊本大学医学部生化学第二講座

クラス B・I 型スカベンジャー受容体(SR-BI)は、HDL 受容体として機能し、HDL コレステロールエステル(CE)の肝細胞への選択的取り込みや末梢細胞からのコレステロール搬出に関与する。SR-BI を過剰発現した CHO 細胞(CHO-SR-BI)を用い、生体内糖化蛋白質 (AGE)の SR-BI への結合及びその機能への影響を検討した。結合実験により SR-BI は AGE をリガンドとして認識することが明らかになった。また、HDL-CE の CHO-SR-BI 細胞への選択的取り込み並びに CHO-SR-BI 細胞から HDL へのコレステロール搬出は AGE により抑制された。AGE は、SR-BI の機能を抑制することにより、コレステロール逆転送系を抑制し、糖尿病性血管合併症の発症・進展に促進的に作用している可能性が示された。

A. 研究目的

末梢細胞から肝臓にコレステロールを転送する経路をコレステロール逆転送系といい、高密度リポタンパク質(HDL)がその主役を担っている。HDL の抗動脈硬化作用は、コレステロール逆転送系における役割によって説明されている。

HDL 受容体として最初に同定されたクラス B・I型スカベンジャー受容体(SR-BI)は、HDL による末梢細胞からのコレステロール搬出とともに、肝細胞への HDL コレステロールエステル(CE)の選択的取り込みに関与していることが提唱されている。SR-BI はコレステロール逆転送系を賦活化し、動脈硬化進展に対して抑制的に作用していると考えられる。

非酵素的糖付加反応（メイラード反応）は、蛋白とグルコースが反応し、アマドリ化合物に至る前期反応と、さらに酸化、架橋、重合などの複雑な反応を経て後期生成物(Advanced Glycation Endproducts: AGE)に至る後期反応からなる。近年、AGE は、網膜症、腎症、末梢神経障害などの糖尿病性細小血管障害、粥状動脈硬化症を代表とする糖尿病性大血管障害の促進因子として注目されている。

糖尿病には高率に脂質代謝異常が合併するが、そのメカニズムに関しては明らかでない。本研究により、SR-BI が AGE をリガンドとして認識すること、SR-BI を介する細胞からのコレステロール搬出や HDL-CE の細胞への選択的取り込みは AGE により阻害されることが明らか

となった。AGE によるこれら SR-BI 機能の抑制は、糖尿病に高率に合併する脂質代謝異常や糖尿病性大血管障害の発症機構を解明する上で重要である。

B. 研究方法

1) リガンドの調製

ウシ血清アルブミン(BSA)を 37°C で 40 週保温して AGE-BSA を得た。健常者空腹時血漿から超遠心で LDL ($d=1.019-1.063$)及び HDL($d=1.063-1.21$) を精製した。LDL を 5 μ M の硫酸銅で 24 時間保温して酸化 LDL を調製した。LDL を無水酢酸処理してアセチル化 LDL を調製した。

1) 結合・取り込み実験

各種リガンドを [125 I]標識し、SR-BI を過剰発現した CHO 細胞(CHO-SR-BI 細胞)と 0°C で一定時間保温し、細胞を洗浄して細胞へのリガンドの結合量を測定した。同様の実験系で細胞を 37°C で保温し、細胞へのリガンドの取り込みを測定した。またメジウムの酸可溶性の放射活性を測定し、細胞分解とした。

1) HDL-CE の選択的細胞取り込み

HDL のコレステロールエステル(CE)を非分解性の [3 H]コレステロールオレオイルエーテルで標識した。同時に HDL の蛋白部分を [125 I]で標識し、二重標識 HDL を得た。CHO-SR-BI 細胞を二重標識 HDL と一定時間保温し、細胞に取り込まれた [3 H]と [125 I]の放射活性を測定した。 [3 H]と [125 I]の取り込み量を HDL の蛋白量に換算

し、 $[^3\text{H}]$ の取り込みから $[^{125}\text{I}]$ の取り込みを引いた値を CE の選択的取り込みとした。

4) HDL によるコレステロール搬出

CHO-SR-BI 細胞の細胞膜コレステロールを $[^3\text{H}]$ コレステロールで予め標識し、HDL と一定時間保温した。メジウム中に遊離した $[^3\text{H}]$ の放射活性を測定し、コレステロール搬出量とした。

C. 研究結果

1) CHO-SR-BI 細胞と HDL、AGE-BSA との結合

既報の通り、CHO-SR-BI 細胞は HDL との特異的結合 ($K_d=6.5 \mu\text{g/ml}$) を示した。結合実験で AGE-BSA と CHO-SR-BI 細胞の結合を検討したところ、 $K_d=2.3 \mu\text{g/ml}$ の特異的結合がみられた。すなわち、SR-BI は AGE をリガンドとして認識することが明らかになった (Fig. 1)。

放射標識 AGE-BSA の CHO-SR-BI 細胞への結合は、非標識 AGE-BSA、酸化 LDL、アセチル化 LDL によって抑制されたが、LDL や HDL により抑制されなかった。また、放射標識 HDL の CHO-SR-BI 細胞への結合は、非標識 HDL により抑制されたが、AGE-BSA によって抑制されなかった (Fig. 2)。細胞取り込みや細胞分解も同様の結果が得られた。

2) HDL-CE の選択的取り込みに対する AGE の効果

CE 部分と蛋白部分を二重標識した HDL を CHO-SR-BI 細胞と保温すると CE の選択的取り込みがみられる。このとき同時に非標識 HDL を添加すると、CE の選択的取り込みは用量依存的に 85% 抑制された。非標識 AGE-BSA を添加すると CE の選択的取り込みは、非標識 HDL よりもさらに効果的に低濃度で抑制された (Fig. 3)。ヒト肝細胞のモデルとして HepG2 細胞を用い同様の実験を行った。HepG2 細胞への HDL-CE の選択的取り込みは、非標識 HDL により用量依存的に 75% まで抑制された。AGE は CE の選択的取り込みを 33% 抑制した。

3) 細胞からのコレステロール搬出に対する AGE の効果

CHO-SR-BI 細胞を $[^3\text{H}]$ コレステロールで標識し、一定時間 HDL と保温するとメジウム中には有意な $[^3\text{H}]$ コレステロールの遊離が認められた。このコレステロール搬出量を測定するとコントロール CHO 細胞に比較して 2.5 倍に増加していた。 $[^3\text{H}]$ コレステロール標識した CHO-SR-BI 細胞を HDL とともに AGE-BSA を添加して保温すると、HDL によるコレステ

ロール搬出は約 60% 抑制され、コントロール CHO 細胞からのコレステロール搬出と同じレベルまで低下した (Fig. 4)。

D. 考察

我々はこれまでに AGE がクラス A スカベンジャー受容体 (SR-A) 及びクラス B スカベンジャー受容体である CD36 にリガンドとして認識されることを報告してきた。今回クラス B スカベンジャー受容体に属する SR-BI を過剰発現した CHO 細胞を用い、AGE が SR-BI にもリガンドとして認識されることを観察した。

AGE の CHO-SR-BI 細胞への結合は、酸化 LDL やアセチル化 LDL によって抑制されたが、HDL によって抑制されなかった。このことは、HDL と AGE はともに SR-BI に結合するが、SR-BI 上の結合部位が異なるということを示唆している。酸化 LDL やアセチル化 LDL は AGE の結合部位と同じ部位に結合するものと考えられる。

今回の研究で極めて興味ある知見の一つは、AGE が HDL の CHO-SR-BI 細胞への結合を抑制しないにもかかわらず、HDL と SR-BI との結合を介する二つの細胞現象 (HDL-CE の選択的細胞取り込みと HDL による細胞からのコレステロール搬出) を効果的に抑制したことである。従って、SR-BI 上の AGE の結合部位は HDL 結合部位とは異なるが、HDL-CE の選択的取り込みやコレステロール搬出に重要な部位であるということが示唆される。SR-BI を介する HDL-CE の選択的取り込み現象において、疎水性の CE がどのような機構により細胞に移行するのか未だ不明であるが、一つの仮説として、SR-BI により HDL から細胞膜に至る疎水性のチャンネルが形成され、このチャンネルを通して HDL の CE が細胞に移行するのではないかとこのモデルが提唱されている。AGE はこの SR-BI によって形成される疎水性チャンネルの形成を空間的に阻害しているのではないかと想像される (Fig. 5)。

ヒト肝細胞のモデルとして用いた HepG2 細胞においても、HDL-CE の選択的取り込みが AGE により有意に抑制された。従ってヒトの生体内においても、肝細胞への HDL-CE の選択的取り込みが AGE によって抑制されている可能性が示唆される。これまで AGE が動脈硬化の促進因子として作用することが提唱されてきたが、本研究により AGE が SR-BI 機能の阻害を介して動脈硬化の進展を促進している可能

性が示された (Fig. 6)。

E. 結論

- 1) AGE は HDL 受容体として知られる SR-BI に結合する。SR-BI 上の AGE 結合部位は HDL 結合部位とは異なる。
- 2) AGE は、SR-BI を介する HDL-CE の選択的取り込みを抑制するとともに、細胞からの HDL によるコレステロール搬出を阻害する。
- 3) AGE は SR-BI の機能阻害を介して、末梢細胞から肝臓に至るコレステロール逆転送系を阻害している可能性が示唆される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sakashita, N., Miyazaki, A., Takeya, M., Horiuchi, S., Chang, C. C. Y., Chang, T. Y., and Takahashi, K. Localization of human acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase-1 (ACAT-1) in macrophages and various tissues. *Am. J. Pathol.* 156:227-236, 2000.
- 2) Biwa, T., Sakai, M., Matsumura, T., Furukawa, N., Kaneko, K., Miyazaki, A., Hakamata, H., Horiuchi, S., and Shichiri, M. Sites of action of protein kinase C and phosphatidylinositol 3-kinase are distinct in oxidized low density lipoprotein-induced macrophage proliferation. *J. Biol. Chem.* 275:5810-5816, 2000.
- 3) Ohgami, N., Kuniyasu, A., Furukawa, K., Miyazaki, A., Hakamata, H., Horiuchi, S., and Nakayama, H. Glibenclamide acts as an inhibitor of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase (ACAT) enzyme. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 277:417-422, 2000.
- 4) Sakashita, N., Miyazaki, A., Takeya, M., Horiuchi, S., Chang, C. C. Y., Chang, T. Y., and Takahashi, K. Acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase (ACAT) in macrophage-derived foam cells and its distribution in human organs. *Acta Histochem. Cytochem.* 33:189-194, 2000.
- 5) Miyazaki, A., Biwa, T., Hakamata, H., Sakai, M., Sakamoto, Y., Maung, K. K., Yuksel, M., and Horiuchi, S. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor plays a priming role in murine macrophage growth induced by oxidized low density lipoprotein. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 902:342-346, 2000.
- 6) Sakai, M., Kobori, S., Miyazaki, A., and Horiuchi, S. Macrophage proliferation in atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* 11:503-509, 2000.

Lipidol. 11:503-509, 2000.

- 7) Maung, K. K., Miyazaki, A., Nomiyama, H., Chang, C. C. Y., Chang, T. Y., and Horiuchi, S. Induction of acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase-1 by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ or 9-cis retinoic acid in undifferentiated THP-1 cells. *J. Lipid Res.* 42:181-187, 2001.
- 8) Zhu, W., Sano, H., Nagai, R., Fukuhara, K., Miyazaki, A., and Horiuchi, S. The role of galectin-3 in endocytosis of advanced glycation end products and modified low density lipoproteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280:1183-1188, 2001.
- 10) Ohgami, N., Nagai, N., Miyazaki, A., Ikemoto, M., Arai, H., Horiuchi, S., and Nakayama, H. Scavenger receptor class B type I-mediated reverse cholesterol transport is inhibited by advanced glycation endproducts. *J. Biol. Chem.* In press.

2. 学会発表

- 1) Ohgami N, Nagai R, Nakayama H, Ikemoto M, Horiuchi S. CD36, a member of class B scavenger receptor, as a receptor for Advanced Glycation End products. 60th Scientific Sessions of American Diabetes Association. June 9-13, 2000. San Antonio, Texas, USA.
- 2) 大神信孝, 永井竜児, 池本 守, 新井洋由, 中山 仁, 堀内正公. メイラード反応後期生成物(AGE)は SR-BI によって認識される. 第 73 回日本生化学会大会. 2000 年 10 月 13 日. 横浜.
- 3) 堀内正公, 大神信孝, 永井竜児, 池本 守, 新井洋由, 中山 仁. 糖尿病性血管合併症における AGE 受容体の意義 (シンポジウム). 第 8 回日本血管細胞生物学会. 2000 年 11 月 23 日. 東京.
- 4) 大神信孝, 永井竜児, 堀内正公, 中山 仁, メイラード反応後期生成物(AGE)は CD36 によって認識される. 第 43 回日本糖尿病学会年次学術集会. 2000 年 5 月 25 日. 名古屋.
- 5) 坂下直実, 宮崎 章, 堀内正公, 竹屋元裕, 高橋 潔. アセチル LDL 処理によるヒトおよびマウスマクロファージ泡沫細胞化に伴う細胞内 ACAT-1 局在の変化. 第 32 回日本動脈硬化学会. 2000 年 6 月 1 日. 浦安.
- 6) 宮崎 章, チューチューマウン, 堀内正公, 坂下直実, 竹屋元裕, 高橋 潔. 単球・マクロファージにおける ACAT 活性調節機構. 第 42 回日本脂質生化学研究会・研究集会. 2000 年 6 月 17 日. 北九州

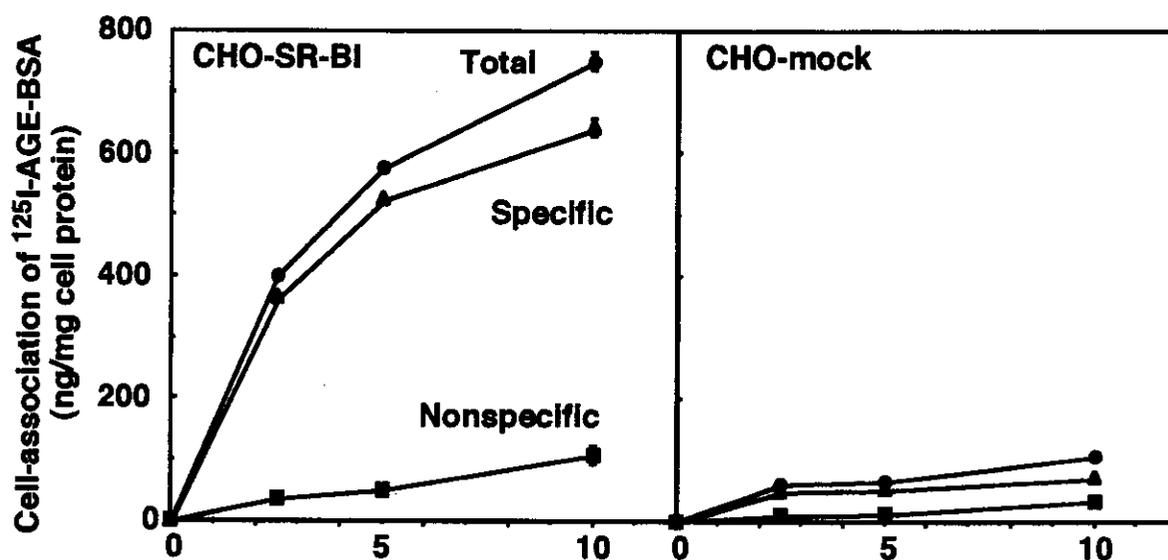


Fig. 1. Endocytic uptake of AGE-BSA by CHO-SR-BI cells. CHO-SR-BI cells or mock-transfected CHO cells were incubated with radiolabeled AGE-BSA. After washing, cell-associated radioactivity was determined.

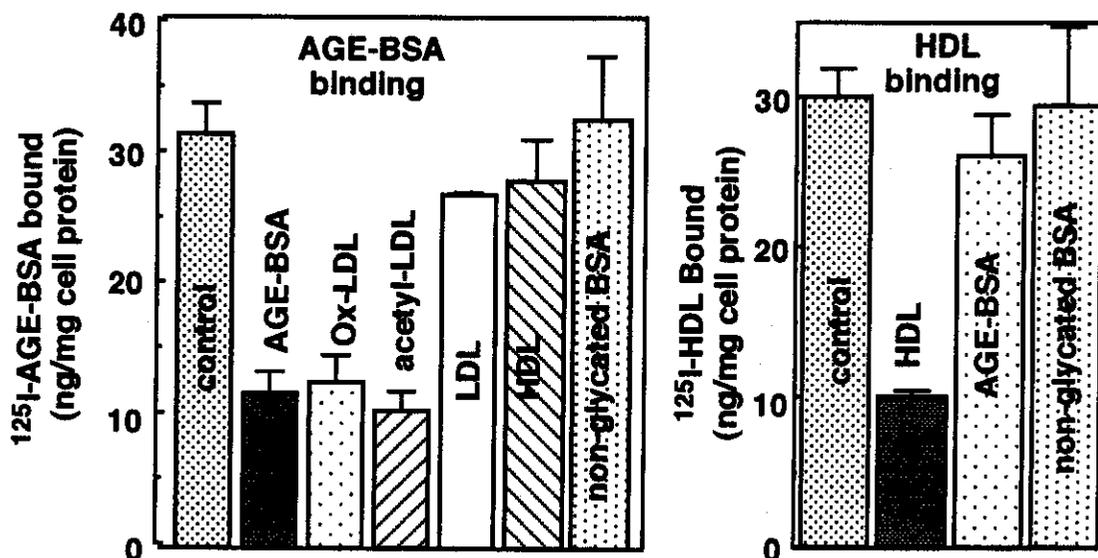


Fig. 2. Inhibitory effects of various ligands on the binding of AGE-BSA or HDL to CHO-SR-BI cells. CHO-SR-BI cells were incubated with radiolabeled AGE-BSA or HDL at 0°C in the presence of various unlabeled ligands. After washing, cell-associated radioactivity was determined.

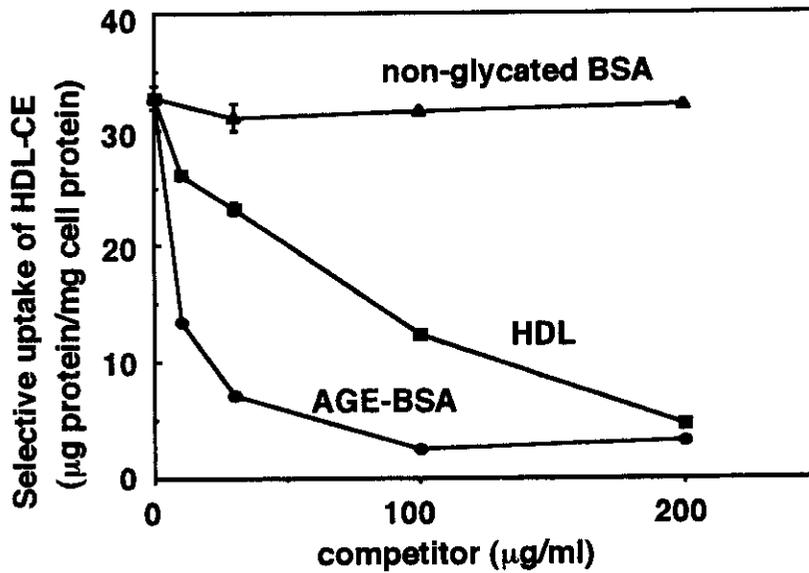


Fig. 3. Effect of AGE-BSA on selective uptake of HDL-CE by CHO-SR-BI cells. HDL was doubly labeled with [³H] cholesteryl oleoyl ether and [¹²⁵I] and incubated with CHO-SR-BI cells in the absence or presence of AGE-BSA. After washing, cell-associated radioactivities were determined. Selective uptake of HDL-CE was calculated by subtracting uptake of HDL particle ([¹²⁵I]) from CE uptake ([³H]).

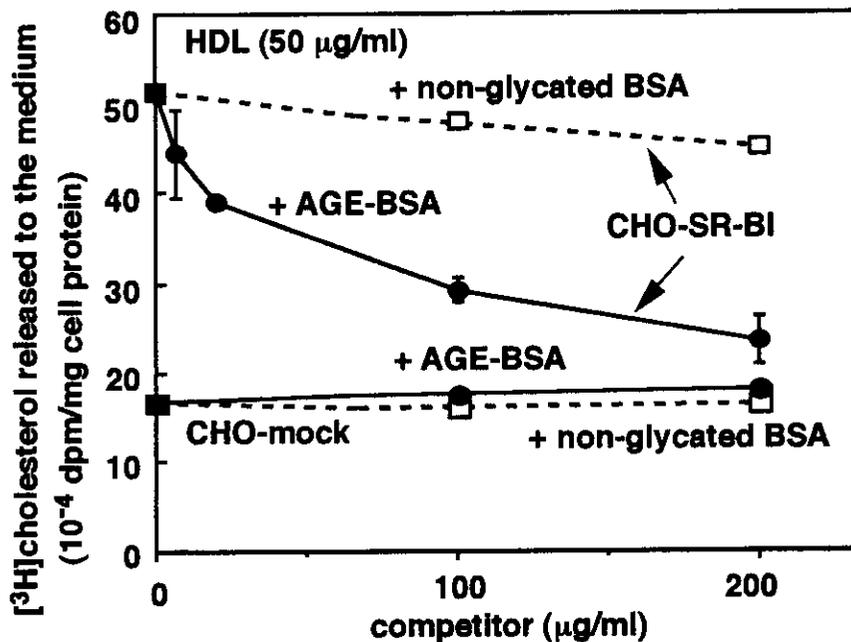


Fig. 4. Effect of AGE-BSA on cholesterol efflux from CHO-SR-BI cells. CHO-SR-BI cells or mock-transfected CHO cells were labeled with [³H] cholesterol and further incubated with HDL in the absence or presence of AGE-BSA. Radioactivities of [³H]cholesterol released to the medium was determined.

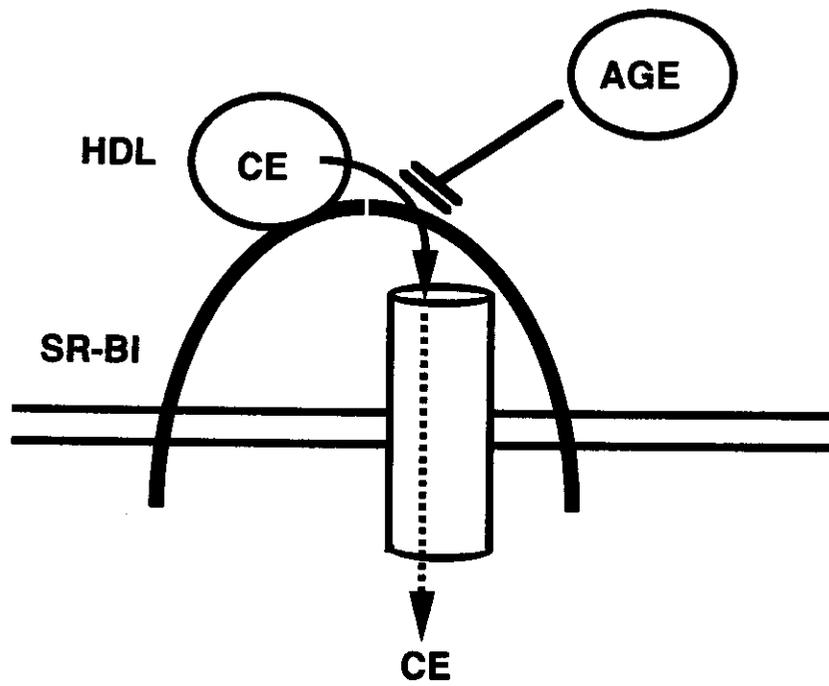


Fig. 5. Hypothetical hydrophobic channel in SR-BI that mediates selective uptake of HDL-CE.

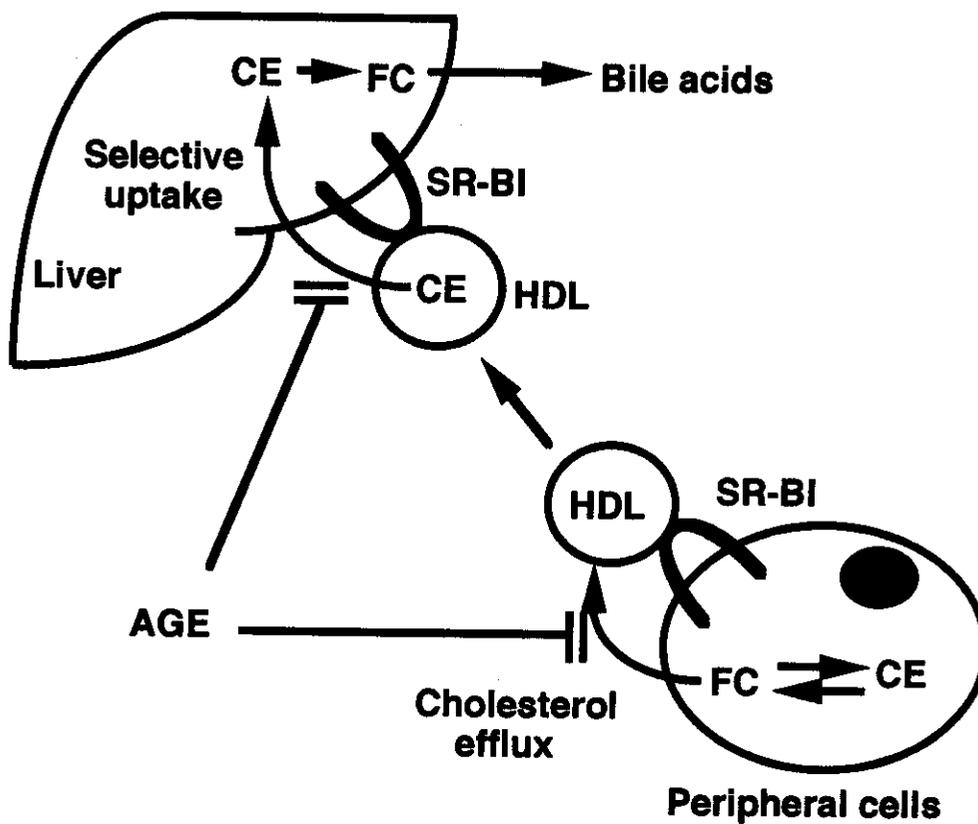


Fig. 6. Role of AGE in Reverse Cholesterol Transport

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ohgami, N., Kuniyasu, A., Furukawa, K., Miyazaki, A., Hakamata, H., Horiuchi, S., and Nakayama, H.	Glibenclamide acts as an inhibitor of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase (ACAT) enzyme.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	277	417-422	2000
Sakai, M., Kobori, S., Miyazaki, A., and Horiuchi, S.	Macrophage proliferation in atherosclerosis.	Curr. Opin. Lipidol.	11	503-509	2000
Ohgami, N., Nagai, R., Ikemoto, M., Arai, H., Kuniyasu, A., Horiuchi, S., and Nakayama, H.	CD36, a member of the class B scavenger receptor family, as a receptor for advanced glycation end products.	J. Biol. Chem.	276	3195-3202	2001
Ohgami, N., Nagai, N., Miyazaki, A., Ikemoto, M., Arai, H., Horiuchi, S., and Nakayama, H.	Scavenger receptor class B type I-mediated reverse cholesterol transport is inhibited by advanced glycation endproducts.	J. Biol. Chem.		In press.	2001
Maung, K. K., Miyazaki, A., Nomiyama, H., Chang, C. C. Y., Chang, T. Y., and Horiuchi, S.	Induction of acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase-1 by 1,25-dihydroxyvitamin D3 or 9-cis retinoic acid in undifferentiated THP-1 cells.	J. Lipid Res.	42	181-187	2001
Ito, J., and Yokoyama, S.	Sialosylcholesterol induces reorganization of astrocyte filament network.	Biochim. Biophys. Acta	1495	195-202	2000
Ito, J., Nagayasu, Y., and Yokoyama, S.	Cholesterol-sphingomyelin interaction in membrane and apolipoprotein-mediated cellular cholesterol efflux.	J. Lipid Res.	41	894-904	2000
Tsujiita, M., Tomimoto, S., Okumura-Noji, K., Okazaki, M., and Yokoyama, S.	Apolipoprotein-mediated cellular cholesterol/phospholipid efflux and plasma high density lipoprotein level in mice.	Biochim. Biophys. Acta	1485	199-213	2000
Teo, K. K., Burton, J. R., Buller, C. E., Plante, S., Catellier, D., Tymchak, W., Dzavik, V., Taylor, D., Yokoyama, S., and Montague, T. J. on behalf of the SCAT investigators.	Long term effects of cholesterol lowering and angiotensin-converting enzyme inhibition on coronary atherosclerosis: The Simvastatin/Enalapril Coronary Atherosclerosis Trial (SCAT).	Circulation	102	1748-1754	2000
Abe-Dohmae, S., Suzuki, S., Wada, Y., Aburatani, H., Vance, D. E., and Yokoyama, S.	Characterization of apolipoprotein-mediated HDL generation induced by cAMP in a murine macrophage cell line.	Biochemistry	39	11092-11099	2000
Arakawa, R., Abe-Dohmae, S., Asai, M., Ito, J., and Yokoyama, S.	Involvement of caveolin-1 in cholesterol-enrichment of HDL during its assembly by apolipoprotein and THP-1 cells.	J. Lipid Res.	41	1952-1962	2000
Suzuki, S., Abe-Dohmae, S., Fukutomi, T., Ito, S., Itoh, M., and Yokoyama, S.	Enhancement of the cAMP-induced apolipoprotein A-I-mediated cellular lipid release by calmodulin inhibitors W7 and W5 from RAW264 mouse macrophage cell line cells.	J. Cardiovasc. Pharmacol.	36	609-616	2000
Yokoyama, S.	Release of cellular cholesterol: Molecular mechanism for cholesterol homeostasis in cells and in the body.	Biochim. Biophys. Acta	1529	231-244	2000
Zhang, L. Y., Ito, J., Kato, T., and Yokoyama, S.	Cholesterol homeostasis in rat astrocytoma cells GA-1.	J. Biochem.	128	837-845	2000
Iizuka, A., Iijima, O., Kondo, K., Matsumoto, A., Itakura, H., Yoshi, F., Komatsu, Y., Takeda, H., Matsumiya, T.	Antioxidative effects of Choi-oki-to and its ability to inhibit the progression of atheroma in KHC rabbits.	J. Atheroscler. Thromb.	6	49-54	2000
Hanaka S, Abe T, Itakura H, Matsumoto, A.	Gene expression related to cholesterol metabolism in mouse brain during development.	Brain Dev.	22	321-326	2000
Ikemoto, M., Arai, H., Feng, D., Tanaka, K., Aoki, J., Dohmae, N., Takio, K., Adachi, H., Tsujimoto, M. and Inoue, K.	Identification of a PDZ domain-containing protein that interacts with the HDL receptor SR-BI.	Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.	97	6538-6543	2000
Ikemoto, M., Furuchi, T., Arai, H., and Inoue, K.	Dual pathways for the secretion of lysosomal cholesterol into a medium from cultured macrophages.	J. Biochem.	128	251-259	2000
Shibata, N., Arita, M., Misaki, Y., Dohmae, N., Taiko, K., Inoue, K., and Arai, H.	Supernatant protein factor, which stimulates the conversion of squalene to lanosterol, is a cytosolic squalene transfer protein and enhances cholesterol biosynthesis.	Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.	98	2244-2249	2001

20000152

以降のページは雑誌／図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。