

いて重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、スタチンによるLOX-1作用の抑制や、エンドセリン-1によるLOX-1活性誘導はこれらの薬剤や物質の血管疾患に対する効果を考える上で興味深い。一方、樹状細胞の抗原提示におけるLOX-1の役割が示唆されたことは、循環器疾患に免疫学的機序の関与が考えられるようになってきている中で、そこにLOX-1のような脂質代謝や酸化ストレスと関連した物質がかかわり、加齢性の免疫系の変化という観点が存在することを示唆するものである。

これらのLOX-1の新しい機能と調節機構がどのように複合して循環器疾患の成り立ちに関わっているかが今後の焦点である。

F. 研究発表

論文発表

1. D. Li, H. Chen, F. Romeo, T. Sawamura, T. Saldeen and J. L. Mehta, Statins modulate oxidized low-density lipoprotein-mediated adhesion molecule expression in human coronary artery endothelial cells: role of LOX-1, *J Pharmacol Exp Ther* 302, 601-605 (2002).
2. M. Honjo, M. Inatani, N. Kido, T. Sawamura, B. Y. Yue, Y. Honda and H. Tanihara, A Myosin Light Chain Kinase Inhibitor, ML-9, Lowers the Intraocular Pressure in Rabbit Eyes, *Exp Eye Res* 75, 135-142 (2002).
3. M. Chen, T. Masaki and T. Sawamura, LOX-1, the receptor for oxidized low-density lipoprotein identified from endothelial cells: implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis, *Pharmacol Ther* 95, 89 (2002).
4. H. Morawietz, N. Duerrschmidt, B. Niemann, J. Galle, T. Sawamura and J. Holtz, Augmented endothelial uptake of oxidized low-density lipoprotein in response to endothelin-1, *Clin Sci (Lond)* 103 Suppl 1, 9S-12S (2002).
5. Y. Delneste, G. Magistrelli, J. Gauchat, J. Haeuw, J. Aubry, K. Nakamura, N. Kawakami-Honda, L. Goetsch, T. Sawamura, J. Bonnefoy and P. Jeannin, Involvement of LOX-1 in Dendritic Cell-Mediated Antigen Cross-Presentation, *Immunity* 17, 353 (2002).
6. T. Nakagawa, M. Akagi, H. Hoshikawa, M. Chen, T. Yasuda, S. Mukai, K. Ohsawa, T. Masaki, T. Nakamura and T. Sawamura, Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 mediates leukocyte infiltration and articular cartilage destruction in rat zymosan-induced arthritis, *Arthritis Rheum* 46, 2486-2494 (2002).
7. D. Li, V. Williams, L. Liu, H. Chen, T. Sawamura, T. Antakli and J. L. Mehta, LOX-1 inhibition in myocardial ischemia-reperfusion injury: modulation of MMP-1 and inflammation, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283, H1795-1801 (2002).
8. T. Imanishi, T. Hano, T. Sawamura, S. Takarada and I. Nishio, Oxidized low density lipoprotein potentiation of fas-induced apoptosis through lectin-like oxidized-low density lipoprotein receptor-1 in human umbilical vascular endothelial cells, *Circ J* 66, 1060-1064 (2002).
9. T. Nakagawa, T. Yasuda, H. Hoshikawa, M. Shimizu, T. Kakinuma, M. Chen, T. Masaki, T. Nakamura and T. Sawamura, LOX-1 expressed in cultured rat chondrocytes mediates oxidized LDL-induced cell death-possible role of dephosphorylation of Akt, *Biochem Biophys Res Commun* 299, 91-97 (2002).
10. M. Honjo, H. Tanihara, K. Nishijima, J. Kiryu, Y. Honda, B. Y. Yue and T. Sawamura, Statin inhibits leukocyte-endothelial interaction and prevents neuronal death induced by ischemia-reperfusion injury in the rat retina, *Arch Ophthalmol* 120, 1707-1713 (2002).
11. K. Kataoka, K. Hasegawa, T. Sawamura, M. Fujita, T. Yanazume, E. Iwai-Kanai, T. Kawamura, T. Hirai, T. Kita and R. Nohara, LOX-1 pathway affects the extent of myocardial ischemia-reperfusion injury, *Biochem Biophys Res Commun* 300, 656-660 (2003).
12. M. Honjo, K. Nakamura, K. Yamashiro, J. Kiryu, H. Tanihara, L. M. McEvoy, Y. Honda, E. C. Butcher, T. Masaki and T. Sawamura, Lectin-like oxidized LDL receptor-1 is a cell-adhesion molecule involved in endotoxin-induced inflammation, *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 1274-1279 (2003).
13. D. Li, L. Liu, H. Chen, T. Sawamura, S. Ranganathan and J. L. Mehta, LOX-1 mediates oxidized low-density lipoprotein-induced expression of matrix metalloproteinases in human coronary artery endothelial cells, *Circulation* 107, 612-617 (2003).
14. L. Cominacini, A. Fratta Pasini, U. Garbin, A. Pastorino, A. Rigoni, C. Nava, A. Davoli, V. Lo Cascio and T. Sawamura, The platelet-endothelium interaction mediated by lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 reduces the intracellular concentration of nitric oxide in endothelial cells, *J Am Coll Cardiol* 41, 499-507 (2003).

学会発表

1. 酸化LDL受容体LOX-1の病態生理的意義
沢村達也
第7回関西医大心臓血管病フォーラム
2. 酸化LDL受容体LOX-1と動脈硬化、炎症
沢村達也
第8回成人病の病因・病態の解明に関する研究会
3. 酸化LDL受容体LOX-1と動脈硬化
沢村達也
第34回日本動脈硬化学会総会シンポジウム
4. 酸化LDL受容体LOX-1の機能と病態との関連
沢村達也
第3回動脈硬化2001特別講演
5. 酸化LDL受容体LOX-1
沢村達也
第25回日本高血圧学会総会サテライトシンポジウム
6. Pathophysiological Significance of LOX-1 in Atherosclerosis
Tatsuya Sawamura
International Society for Heart Research The 19th Annual Meeting

G. 知的所有権の取得
なし

Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) の心筋虚血
-再かん流障害における役割 に関する研究

分担研究者 長谷川 浩二 京都大学大学院医学研究科 助手

Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) は血管内皮細胞に発現する酸化 LDL 受容体として見出された。我々は心筋細胞における LOX-1 pathway の活性化は apoptosis を引き起こすことを示した。今回、成熟ラット心臓の虚血再かん流後に心筋 LOX-1 の発現が亢進すること、抗 LOX-1 抗体の投与は梗塞サイズを縮小することを示した。梗塞サイズ縮小効果に心筋アポトーシスの抑制が関与している可能性がある。

A. 研究目的

LOX-1 は血管内皮細胞における酸化 LDL 受容体として同定されたが、血小板や老廃化した赤血球も ligand となり得る。また内皮細胞の他、マクロファージや血管平滑筋において発現することがわかっている。しかし心筋細胞における発現とその役割については知られていない。LOX-1 は恒常的に発現するのではなく、酸化 LDL をはじめアンジオテンシン II やずり応力などの刺激によって発現が誘導されることから、種々の病態形成に関与する可能性が示唆される。さらに最近、我々は心筋細胞においてもノルエピネフリンなどの刺激によって LOX-1 が発現し、心筋 LOX-1 の過剰発現はアポトーシスを誘導すると報告した。心筋アポトーシスは虚血・再かん流障害の病態形成に強く関与している。そこで本研究では、抗 LOX-1 抗体により虚血・再かん流障害を軽減できるかどうかを検討した。

B. 研究方法

新生児ラット心筋細胞を調整し、LOX-1 に対するモノクローナル抗体を用いた免疫染色を施行した。心筋細胞 TUNEL 陽性細胞の率でアポトーシスの定量的評価をおこなった。成熟ラットにおいて冠動脈左前下行枝を結紮／解除することにより心筋虚血・再かん流を行い、TTC 染色により梗塞サイズを測定した。

C. 研究結果

培養心筋細胞において過酸化水素水刺激により LOX-1 発現が誘導されることが判明した。過酸化水素水により増加した TUNEL 陽性細胞は抗 LOX-1 抗体の投与により有意に抑制された。成熟ラットにおいては、再かん流後の心筋において、LOX-1 の発現が亢進することが判明した。

さらに (A) 抗 LOX-1 抗体投与群、(B) IgG 投与群、(C) 生食投与群において梗塞サイズ (IS) を比較したところ、リスクエリア (RA) は 3 群間で有意性を認めなかったが IS/RA は A 群が有意に B 群、C 群より小さかった。

D. 考察・結論

以上から再かん流障害の病態形成に心筋 LOX-1 の発現亢進が関与している可能性が示された。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

論文発表

1. Kataoka K, Hasegawa K, Sawamura T, Fujita M, Yanazume T, Iwai-Kanai E, Kawamura T, Hirai T, Kita T, Nohara R.
LOX-1 pathway affects the extent of myocardial ischemia-reperfusion injury.
Biochem Biophys Res Commun.
2003 ;300:656-660

G. 知的財産権の出願・登録状況：特になし

酸化LDL受容体LOX-1の炎症における役割の研究

分担研究者 本田 孔士 京都大学大学院医学研究科 教授

動脈硬化と病態の共通性が指摘されている加齢黄斑変性新生血管板におけるLOX-1の発現を解析する。また、網膜虚血再還流障害におけるLOX-1の発現についても検討する。

H. 研究目的

高齢者の中途失明原因として重要な加齢黄斑変性では内皮障害、内皮での接着分子の発現の増大による単球、マクロファージの浸潤、血管平滑筋での血管増殖因子の分泌、血管肥厚など動脈硬化との病態の類似性が指摘されており、その病態の一つである新生血管板におけるLOX-1の発現を解析した。

また、網膜虚血性疾患は糖尿病網膜症、眼血流塞栓網膜症等の様々な網膜疾患における主要な病態であるが、前年度、LOX-1が内皮細胞、血小板のinteractionを制御し、炎症機転に主要な役割を果たすことを明らかになった。そこで、その他の病的な条件下での現象をin vivoで検討するため、網膜虚血再還流障害におけるLOX-1の発現変化についても検討した。

I. 研究方法

硝子体手術時に摘出した加齢黄斑変性、特発性新生血管、近視性新生血管の新生血管板において、LOX-1の発現を免疫染色で検討した。

網膜微少循環蛍光造影を利用し、ラット網膜虚血再還流モデルでの白血球動態の観察、および病態との関連の評価を行った。抗LOX-1抗体を用いて細胞浸潤、組織学的な神経保護効果を検討し、LOX-1の発現変化をRT-PCR法、免疫染色で検討した。

（倫理面への配慮）

生体に対してもっとも侵襲の少ない方法であり、また動物実験はARVOの定める基準に則って行われた。

J. 研究結果

加齢黄斑変性新生血管板においてLOX-1の血管内皮、マクロファージでの発現上昇をみとめた。発現は血管透過性の亢進、血中コレステロール値と相関をみとめた。

ラット網膜虚血再還流モデルにおいて、LOX-1はmRNA、蛋白ともに発現が上昇しており、抗LOX-1抗体前投与により、白血球のrolling・adhesionは有意な抑制され、神経障害の指標となる神経網膜層の厚みの現減少、神経節細胞数の減少、アポトーシス細胞数も有意な抑制がみられた。

K. 考察

加齢黄斑変性の病態においても重要な制御因

子である可能性が示唆された。また、LOX-1は虚血再還流障害においても血管内皮と白血球のinteractionを制御していることが明らかになった。

L. 結論

LOX-1は加齢黄斑変性の病態に大きく関わっている可能性が示唆された。また、酸化LDL受容体としてのみでなく、病態に近いモデルである虚血再還流障害機転においても重要な役割を果たしていることがわかった。

M. 健康危険情報

特になし

N. 研究発表

論文発表

- Honjo M, Tanihara H, Nishijima K, Kiryu J, Honda Y, Yue BY, Sawamura T. Statin inhibits leukocyte-endothelial interaction and prevents neuronal death induced by ischemia-reperfusion injury in the rat retina. *Arch Ophthalmol.* 2002 ;120:1707-13.
- Nishijima K, Kiryu J, Tsujikawa A, Honjo M, Nonaka A, Yamashiro K, Kamizuru H, Ieki Y, Tanihara H, Honda Y, Ogura Y. Inhibitory effects of antithrombin III on interactions between blood cells and endothelial cells during retinal ischemia-reperfusion injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:332-41.
- Honjo M, Nakamura K, Yamashiro K, Kiryu J, Tanihara H, McEvoy LM, Honda Y, Butcher EC, Masaki T, Sawamura T. Lectin-like oxidized LDL receptor-1 is a cell-adhesion molecule involved in endotoxin-induced inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:1274-9.

学会発表

- 桐生純一：脈絡膜新生血管における酸化LDLレセプターLOX-1. 第4回 JAPAN MACULA CLUB
 - 本庄恵、桐生純一、本田孔士、沢村達也：脈絡膜新生血管における酸化LDLレセプターLOX-1 第26回日本眼科手術学会総会
0. 知的財産権の出願・登録状況：特になし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Chen, M., Masaki, T., <u>Sawamura, T.</u>	LOX-1, the receptor for oxidized low-density lipoprotein identified from endothelial cells: implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis.	Pharmacol Ther	95(1)	89	2002.7
Li, D., Chen, H., Romeo, F., <u>Sawamura, T.</u> , Saldeen, T., Mehta, J.L.	Statins modulate oxidized low-density lipoprotein-mediated adhesion molecule expression in human coronary artery endothelial cells: role of LOX-1.	J Pharmacol Exp Ther	302(2)	601-5	2002.8
Honjo, M., Inatani, M., Kido, N., <u>Sawamura, T.</u> , Yue, B.Y., Honda, Y., Tanihara, H.	A Myosin Light Chain Kinase Inhibitor, ML-9, Lowers the Intraocular Pressure in Rabbit Eyes.	Exp Eye Res	75(2)	135-42	2002.8
Morawietz, H., Duerschmidt, N., Niemann, B., Galle, J., <u>Sawamura, T.</u> Holtz, J.	Augmented endothelial uptake of oxidized low-density lipoprotein in response to endothelin-1.	Clin Sci	103Suppl 48	9S-12S	2002.8
Delneste, Y., Magistrelli, G., Gauchat, J., Haeuw, J., Aubry, J., Nakamura, K., Kawakami-Honda, N., Goetsch, L., <u>Sawamura, T.</u> , Bonnefoy, J., Jeannin, P.	Involvement of LOX-1 in Dendritic Cell-Mediated Antigen Cross-Presentation.	Immunity	17(3)	353	2002.9
Nakagawa, T., Akagi, M., Hoshikawa, H., Chen, M., Yasuda, T., Mukai, S., Ohsawa, K., Masakai, T., Nakamura, T., <u>Sawamura, T.</u>	Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 mediates leukocyte infiltration and articular cartilage destruction in rat zymosan-induced arthritis.	Arthritis Rheum	46(9)	2486-94	2002.9
Li, D., Williams, V., Liu, L., Chen, H., <u>Sawamura, T.</u> , Antakli, T., Mehta, J.L.	LOX-1 inhibition in myocardial ischemia-reperfusion injury: modulation of MMP1 and inflammation.	Am J physiol	283	H1795-801	2002.11

Imanishi, T., Hano, T., Sawamura, T., Takarada, S., Nishino, I.	Oxidized low density lipoprotein potentiation of Fas-induced apoptosis through lectin-like oxidized-low density lipoprotein receptor-1 in human umbilical vascular endothelial cells.	Circ J	66(11)	1060-4	2002.11
Nakagawa, T., Yasuda, T., Hoshikawa, H., Chen, M., Yasuda, T., Mukai, S., Ohsawa, K., Masakai, T., Nakamura, T., Sawamura, T.	LOX-1 expressed in cultured rat chondrocytes mediates oxidized LDL-included cell death---possible role of dephosphorylation of Akt.	Biochem Biophys Res Commun	299	91-97	2002.11
Honjo, M., Tanihara, H., Nishijima, K., Kiryu, J., Honda, Y., Sawamura, T.	Statin inhibits leukocyte-endothelial interaction and prevents neuronal death included by ischemia-reperfusion in the rat retina.	Arch Ophthalmol	120(12)	1707-13	2002.12
Honjo, M., Nakamura, K., Yamashiro, K., Kiryu, J., Tanihara, H., McEvoy, L.M., Honda, Y., Butcher, E.C., Masaki, T., Sawamura, T.	Lectin-like oxidized LDL receptor-1 is a cell-adhesion molecule involved in endotoxin-induced inflammation.	Proc Natl Acad Sci U. S. A.	100(3)	1274-79	2003.1
Kataoka, K., Hasegawa, K., Sawamura, T., Fujita, M., Yanazume, T., Iwai-Kanai, E., Kawamura, T., Hirai, T., Kita, T., Nohara, R.	LOX-1 pathway affects the extent of myocardial ischemia-reperfusion injury.	Biochem Biophys Res Commun	300(3)	656-60	2003.1
Li, D., Liu, L., Chen, H., Sawamura, T., Ranganathan, S., Mehta, J.L.	LOX-1 mediates oxidized low-density lipoprotein-induced expression of matrix metalloproteinases in human coronary artery endothelial cells.	Circulation	107(4)	612-617	2003.2
Cominacini, L., Pasini, A. F., Garbin, U., Pastorino, A., Rigoni, A., Nava, C., Davoli, A., Lo Cascio, V. and Sawamura, T.	The platelet-endothelium interaction mediated by lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 reduces the intracellular concentration of nitric oxide in endothelial cells.	J Am Coll Cardiol	41(3)	499-507	2003.2

Wilson, S.H., Chade, A.R., Feldstein, A., <u>Sawamura, T.</u> , Napoli, C., Lerman, A., Lerman, L.O.	Lipid-lowering independent effects of simvastatin on the kidney in experimental hypercholesterolemia.	Nephrol Dial Transplant			in press
Sakurai, K., <u>Sawamura, T.</u>	Endothelial Dysfunction via lectin-like oxidized LDL receptor-1.	J Pharmacol Sci			in press

20020252

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.25-P.27の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。