

LRP の欠損マウス

中原 洋*, 神 窪 勇 一*

Targeted Disruption of the Low Density Lipoprotein Receptor-related Protein Gene

Yo NAKAHARA*, Yu-ichi KAMIKUBO*

Key words : low density lipoprotein receptor-related protein, α_2 -macroglobulin receptor, LRP deficient mice, LRP deficient cells, serpin-enzyme complex

はじめに

LDL receptor-related protein (LRP) は LDL レセプターおよび gp330 (megalin あるいは LRP2 と呼ばれる), VLDL レセプター (VLDLR), そして, 最近発見されたアポリポ蛋白質 E レセプター 2 (apoER2) などとともに, LDL レセプター遺伝子ファミリーに属する膜タンパク質である. LRP はおもに肝細胞や脳のニューロン, 線維芽細胞, 平滑筋細胞, マクロファージなどに発現し¹⁾²⁾, アポリポ蛋白質 E (apoE) および apoE に富むリポタンパク質やカイロミクロンレムナント, リポ蛋白質リパーゼ (LPL) および LPL に富むリポタンパク質のレセプターとして脂質代謝に関与している. 一方, LRP は脂質代謝の機能に加えて, メチルアミンにより活性化した α_2 -マクログロブリン (以下 α_2 M) や, α_2 M とプロテアーゼ複合体のレセプターとしても知られており, LRP/ α_2 MR と表記されることも多い. このほかにも, LRP は urokinase-type plasminogen activator (uPA) や tissue-type plasminogen activator (tPA) と plasminogen activator

inhibitor-1 (PAI-1) との複合体, ラクトフェリンなど, 多くのリガンドと結合し, それらを細胞内に取り込むことが知られている. 最近の知見 (後述) も含め, LRP のリガンドを表 1 にまとめた. レセプター会合タンパク質 (RAP) は LRP とともに精製されてくる 39kDa のタンパク質で, 細胞からの分泌過程で LRP の活性を保護する分子シャペロンとして機能するが, 細胞外ではすべてのリガンドの LRP への結合を阻害する性質を示す. LRP について, 現在までに得られているタンパク質構造および遺伝子構造に関する知見を以下にまとめた³⁾. ①ヒト LRP は 4,544 アミノ酸残基からなる 600kDa の前駆体タンパク質として生合成され, 細胞表面への移行過程でプロセシング酵素のフューリン (furin) により限定分解を受け⁴⁾, 膜貫通部を持つ 85kDa のサブユニットと, リガンド結合部位を持つ 515kDa のサブユニットが非共有結合により会合した形となる. ②細胞内ドメインには被覆小胞への集合, およびエンドサイトーシスのシグナルとして機能する NPXY モチーフと呼ばれるアミノ酸配列が 2 カ所存在する. ③ヒト LRP 遺伝子は全長約 92kb, 89 個のエクソ

* (財)化学及血清療法研究所血液製剤研究部 [〒 860-8568 熊本市大窪 1-6-1]

Blood Products Research Department, The Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute, [1-6-1 Oukubo, Kumamoto-shi, Kumamoto 860-8568, Japan.]

表 1 LRP のリガンド

リポタンパク質関係
ApoE
ApoEを含む β -VLDL
LPL
LPLを含むVLDL
肝性リパーゼ (Hepatic lipase)
プロテアーゼおよびプロテアーゼインヒビター
メチルアミン活性化 α_2 M
α_2 M-プロテアーゼ複合体
tPA
uPA
tPA-PAI-1 複合体
uPA-PAI-1 複合体
Pregnancy zone protein (PZP)-プロテアーゼ複合体
プロテアーゼネキシン 1-uPA 複合体
プロテアーゼネキシン 1-トロンビン複合体
プロテアーゼネキシン 2 (β -アミロイド前駆体タンパク質)
TFPI
トロンビン-アンチトロンビン複合体
ヘパリンコファクター II-トロンビン複合体
α_1 アンチトリプシン-トリプシン複合体
α_1 アンチトリプシン-好中球エラスターゼ複合体
C1-インヒビター-C1s 複合体
その他
ラクトフェリン
緑膿菌外毒素 A (<i>Pseudomonas</i> exotoxin A)
ライノウイルスの一部
レセプター会合タンパク質 (RAP)
ピテロゲニン
トロンボスポンジン 1 および 2

ApoE, apolipoprotein E; VLDL, very low density lipoprotein; LPL, lipoprotein lipase; α_2 M, α_2 -macroglobulin; tPA, tissue-type plasminogen activator; uPA, urokinase-type plasminogen activator; PAI-1, plasminogen-activator inhibitor-1; TFPI, tissue factor pathway inhibitor.

ンからなり、染色体上の位置は12q13-q14とされている⁵⁾⁶⁾。④プロモーター領域の塩基配列は未だ報告されておらず、LRPの発現調節についてはよくわかっていない。

これまで、各種リガンドの取り込みにおけるLRPの関与は、LRPに対するポリクローナル抗体やRAPを用い、おもに生化学的に検討されてきた。しかし、LRPに対する抗体はそれぞれのリガンドの細胞内取り込みに対する阻害効果に差がみられ、RAPはLRPだけでなくLDLレセプター遺伝子ファミリーの他のレセプターにも結合することから、報告されている数々のリガンドすべてが生体内で本当にLRP

によって代謝されているかどうか、という点については懐疑的であった。また、従来、先天的LRP遺伝子欠損症患者や欠損動物の報告がなかったため、生体内におけるLRPの真の役割は不明であった。そこで、生体内でのLRPの役割を直接的に証明すべく、LRP遺伝子のノックアウトマウスが作製された。

LRP 欠損マウスからの情報

1992年、Herzら⁷⁾はneo遺伝子の挿入により破壊されたLRP遺伝子を相同組換えによりES細胞に導入し、このES細胞を注入した胚盤

胞からキメラマウスを得た。このキメラマウスの子孫として得られた LRP ヘテロ欠損マウス同士を交配させたところ、出生した仔 261 のうち、野生型 (LRP^{+/+}) が 90, ヘテロ欠損 (LRP^{+/-}) が 171 で、ホモ欠損マウス (LRP^{-/-}) は生まれなかった。ヘテロ欠損マウスは正常に出生し、出生後の表現型も野生型と差がなかった。また、肝臓での LRP 発現量をイムノプロットにより野生型と比較したところ有意な差は見られず、血漿の総コレステロールやトリグリセリドの量も野生型の同腹仔と差がなかった。発生途中の胚 (34 例) を摘出して調べたところ、胎齢 9.5 日~10.5 日の段階で野生型 (12 例) と LRP ヘテロ欠損胚 (22 例) しか子宮内に観察されなかった。一方、胎齢 3.5 日の着床前の時点ではホモ欠損の胚盤胞に発生異常は認められず、この胚盤胞を取り出し *in vitro* で培養すると、野生型やヘテロ欠損の胚盤胞と同様に約 20 日間にわたって生存し、細胞分裂による outgrowth もみられた。そこで、Herz らは着床および胎盤形成における uPA の役割に注目し、LRP ホモ欠損胚の致死は以下に示す uPA 活性低下による胚の着床不全が原因であろうと考えた。

着床から胎盤が完成するまでの間、胚の栄養膜に由来する細胞群が数多く子宮内膜内に侵入し、胎盤に特徴的な構造の形成に寄与することが知られている。細胞が細胞外マトリックスを分解して組織に侵入する際、uPA は進行方向の細胞表面前端において uPA レセプター (uPAR) に結合した状態で活性を発揮する。そして、この uPA 活性は PAI-1 によって制御されている。彼らは正常マウス胚 (胎齢 7.5 日) 着床部位の免疫組織染色を行い、組織侵襲性の高い栄養膜巨細胞に LRP 抗原が豊富に存在することを示し、この LRP は細胞の組織侵襲に必要な uPA の制御を行っているものと予想した。uPAR に結合した uPA は、組織中に豊富に存在する PAI-1 が結合すると不活性化され、形成された uPA-uPAR-PAI-1 複合体は LRP に結合して細胞内に取り込まれる。そして、uPA と

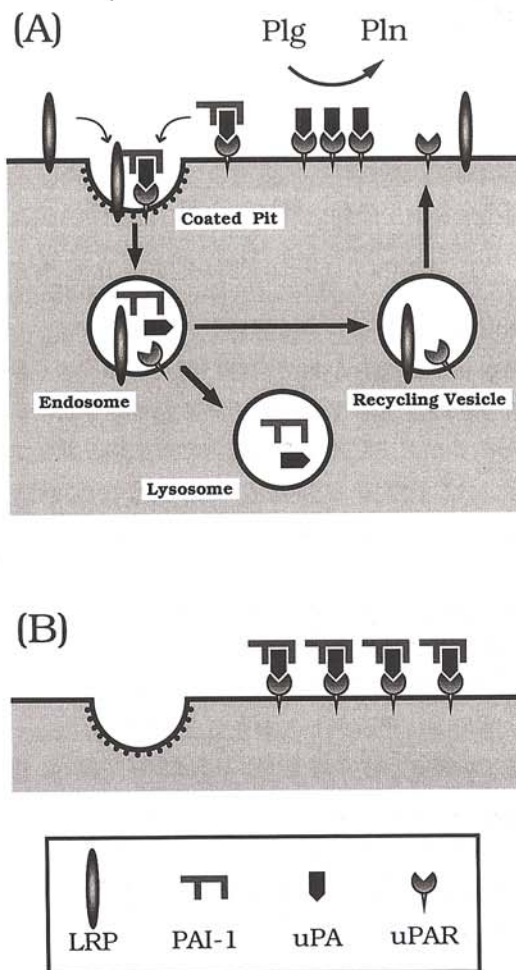


図 1 LRP による uPA-PAI-1 複合体の代謝
uPA-uPAR 複合体はプラスミノゲン (Plg) を活性化してプラスミン (Pln) を生成し、生じた Pln により細胞外マトリックスの分解が行われる。PAI-1 により不活性化された uPA-uPAR-PAI-1 複合体は LRP と結合して細胞内に取り込まれる。エンドソームでこの 4 量体は解離し、uPA と PAI-1 はリソソームに運ばれ分解される。一方、uPAR と LRP はリサイクリングされ、再び細胞表面へと運ばれる (A)。LRP を発現していない細胞では uPAR のリサイクリングが起こらないため、細胞表面には不活性な uPA-uPAR-PAI-1 複合体が蓄積し、Pln の生成が起きない (B)。

PAI-1 はリソソームで分解され、LRP と uPAR は再度細胞表面に戻るとされている (図 1)。つまり、LRP は細胞表面の不活性な複合体の除去

表2 LRP^{+/-} 同系交配から作出されたマウスの性状 (文献9より引用・改変, 転載許可取得)

胎 齢	母胎数	胎児数	遺伝型			ホモ欠損胚 (LRP ^{-/-}) の表現型
			LRP ^{+/+}	LRP ^{+/-}	LRP ^{-/-}	
9.5日	3	18	5	8	5	発達遅延*2例; 正常3例
10.5日	5	43	14	23	6	発達遅延3例; 死亡1例, 胚内出血あり; 正常2例
13.5日	5	35	3	22	10	10例すべて死亡, うち3例に胚内出血
成 体	—	261	90	171	0	ホモ欠損 (LRP ^{-/-}) マウス出生せず

*以下の判断基準のひとつまたはそれ以上が該当した場合, 発達遅延とした。

(1) 野性型またはヘテロ欠損の同腹仔と比べ, 有意に胚が小さい, (2) 神経管閉鎖不全, (3) 脳胞進展不全

と, uPAR および自分自身の細胞表面へのリサイクリングをつかさどっていると推定される。ところが, LRP ホモ欠損細胞ではこのリサイクリングが起こらないため, 不活性な uPA-uPAR-PAI-1 複合体によって細胞表面が占拠され, 細胞浸潤過程が阻害されるという仮説である。

しかし, 後になって胎齢 9.5 日~10.5 日でヘテロ欠損として同定していた 22 例の胚にホモ欠損胚も 4 例混入していたことが判明した。そこで, 彼らはさらに 62 例の胚について調べ, 修正報告を行った⁸⁾。その結果, 胎齢 13.5 日までにはすべての胚が死滅するが, 胎齢 9.5 日~10.5 日ではホモ欠損胚が子宮内に着床して生存していることが確認され (表 2), ホモ欠損胚は着床できないという前報での仮説は棄却された。近年, Carmeliet らによって uPA のホモ欠損マウス, さらに PAI-1 とのダブルノックアウトマウスが作製され, いずれも出生し生殖可能であることが示されており⁹⁾, プラスミノーゲンのホモ欠損マウスも胚発生上の障害は認められなかった¹⁰⁾¹¹⁾ ことを考えても, LRP ホモ欠損胚の致死の原因を uPA-プラスミン系による細胞の組織浸潤不全に求めるのはやはり無理があると言えよう。

ところで, 上記修正報告には LRP ホモ欠損胚の表現型についてわずかながら記載がある。すべての胚で観察されているわけではないが, 発生遅延 (胚の矮小さ, 神経管閉鎖不全, 脳胞進展不全で判断) と胚内出血が見られたとある (表 2)。Herz らはこれ以上の組織学的解析を行

っていないため, 致死原因については結局のところ明らかになっていないが, 以下, この表現型をヒントにして, 最近明らかになった LRP に関する知見も加えて再度考察を行ってみた。

Herz らは apoE のホモ欠損マウスが胚発生上特に異常を認めなかったという Plump らの報告¹²⁾ をもとに, LRP ホモ欠損胚の致死原因は脂質代謝異常ではないと考えたようであるが, 近年これを見直さざるを得ない知見が得られている。まず, gp330 の欠損マウス¹³⁾ とアポリポタンパク質 B (apoB) の欠損マウス¹⁴⁾ が報告され, これらの遺伝子のホモ欠損マウスには LRP ホモ欠損胚にみられたと同様の中枢神経系の形成不全が起きていることが明らかになった。gp330 ホモ欠損マウスは胚発生の途上で致死に至ることはないが, 生後 2~3 時間以内に呼吸不全ですべて死亡する。この呼吸不全は肺サーファクタントの産生障害によるものと考えられているが, そのほかにこれらの新生仔には共通して前脳系の形成異常, すなわち脳梁の欠損, 小眼症/無眼症, 共通脳室系, 脈絡叢の逸脱, 嗅球の異形成, 外脳症などが観察されている。apoB ホモ欠損マウスはさらに LRP ホモ欠損胚に似た経過をとり, 胎齢 9.5 日付近から発生の遅延または停止が起こり, 胎齢 11.5 日までは大半が死滅する。10.5 日を過ぎてわずかに生存している胚もほとんどは無脳症となっており, 出生時までにはすべて死亡する。

こうした前脳系の形成異常や無脳症は, 一般に頭側神経管の閉鎖不全によって起こるとされているが, ヒトや動物モデルを用いた実験でビ

タミン E の欠乏により同様の形成異常を起こすことが古くから知られていたため、上記の 2 つの報告ではいずれも胚のビタミン E 欠乏を脳神経系形成異常の一因として挙げている。原腸形成後、胚内循環系が確立するまでの間、神経管の閉鎖に向けて急速に細胞分裂を行っている神経上皮は羊水に接しており、各種栄養分はこの羊水から供給されると考えられている。ビタミン E は細胞活動の維持に必須の脂溶性ビタミンで、通常 apoB を含むリポタンパク質によって体内輸送されるが、この時期、母体に接した卵黄嚢膜上では母体由来のビタミン E が apoB を含むリポタンパク質にパッケージされ、羊水に分泌される。しかし、apoB が欠損していると、胚へのビタミン E 供給がなくなり、正常な神経上皮細胞の増殖や分化が阻害されて脳神経系の形成不全を生じる。実際に予備的な検討の結果、胎齢 9.5~10.5 日の apoB ホモ欠損胚内には α -トコフェロールが検出されなかったというデータもある (Farese らの未発表データ)。gp330 は胚の神経上皮に発現しており、apoE を介して β -VLDL を、apoB を介して LDL を取り込むことが知られていることから、羊水から脂溶性ビタミンを含むリポタンパク質を取り込んで神経上皮細胞へ供給する役割を果たしていると考えられる。

脂溶性のビタミンであるビタミン A (レチナール) も脊椎動物の胎仔奇形に関与することが古くから知られていた。現在、様々なビタミン A 活性の本体はビタミン A の代謝物質であるレチノイン酸であることが明らかになっている。最近、Bavik らは、レチノール結合タンパク質のアンチセンスオリゴヌクレオチドをマウス胚卵黄嚢膜内に投与し、レチノールからレチノイン酸への合成を阻害した状態で *in vitro* 全胚培養を行い、レチノイン酸濃度を低下させた状態での形態形成を観察した。その結果、レチノイン酸欠乏下では、前脳・中脳に相当する部分の神経管閉鎖不全や、水晶体プラコードの形成不全などが起こることを見出した¹⁷⁾。レチノ

イン酸は Hox 遺伝子などのホメオボックス遺伝子の発現を制御することによって形態形成に深く関与しているらしい。

以上のように、リポタンパク質による母体由来脂溶性ビタミンの転送は、神経管の閉鎖が起こる胎齢 9 日付近での正常な胚発生に必要な不可欠のようである。LRP ホモ欠損胚の表現型は apoB ホモ欠損の場合と酷似していること、また LRP のタンパク質構造と機能は gp330 に非常に近いことから、LRP ホモ欠損胚致死の原因もリポタンパク質の取り込みが阻害されたことによる脂溶性ビタミン枯渇に関連したものかも知れない。LRP ホモ欠損胚の一部に見られた胚内の出血も、脂溶性ビタミンであるビタミン K 欠乏で説明することもできる。

しかし、gp330 とのリガンド特性の類似性や apoB ホモ欠損マウスとの表現型類似性で単純に説明がつくものでもない。なぜなら、LRP は gp330 のように apoB を介して VLDL や LDL を取り込む作用はなく、また LRP、gp330 それぞれのホモ欠損がお互いに代償されず、ホモ欠損胚の表現型も多少異なっている。また、マウス胚組織では LRP と gp330 の発現様式は異なっている。Kounnas らの報告¹⁸⁾によると、gp330 は上皮細胞の頂端表面 (apical surface) に極めて限局していることが示されている。一方、LRP は皮膚、心筋、間充織、肝臓、脾臓、脳の辺縁部をはじめとして胚組織のかなり広範囲に分布しており、上皮細胞においては apical surface でなく、細胞内か側面に発現していた。これらの事実は、胚発生における両レセプターの機能が異なっていることを想像させるが、詳細はまだ不明である。

上述した如く、LRP ホモ欠損胚の致死原因を脂溶性ビタミンの転送も含めた脂質代謝異常とする考え方は魅力的であるが、その具体的な機序については今のところ明らかでない。LDL レセプター遺伝子ファミリーのうち、胚発生途上で死亡する欠損マウスは LRP のみである。これらレセプターはリガンド特性の重複がみられ

るが、なぜ LRP の機能は他のレセプターで代償できないのか。妊娠時には apoE 優位な脂質代謝系になると言われている¹⁹⁾が、なぜ apoE やほかのアポタンパク質のホモ欠損マウスは出生し、apoB のみが致死となるのか。トリグリセリドの水解に関与し、LRP や gp330 のリガンドでもある LPL のホモ欠損マウスが、gp330 のホモ欠損マウスと同様、呼吸不全で生後間もなく死亡する²⁰⁾が、この事実を LRP や gp330, apoB ホモ欠損の致死性とどう関係づけるかなど疑問は多い。今後、胚発生におけるそれぞれの因子の役割についてさらなる検討が必要である。

ところで、LRP の代表的なリガンドのひとつに活性化した α_2 M や α_2 M-プロテアーゼ複合体もあるが、 α_2 M のホモ欠損マウスが胚発生時および出産後いずれにおいても異常を認めなかった²¹⁾ことから、LRP ホモ欠損胚の致死原因としては除外してよいと思われる。 α_2 M ホモ欠損マウスでは、 α_2 M と構造・機能の似た murinogloburin (MUG) というタンパク質が代償しているという説もあるが、マウス胚の発生時に MUG の mRNA はほとんど検出されないという報告³⁸⁾もあり、この点については α_2 M と MUG のダブルノックアウトマウスに期待したい。

LRP 欠損細胞を使った研究

さて、LRP 遺伝子ホモ欠損マウスは成体として得られなかったが、1994年、Willnowらは LRP 欠損マウスの子宮から初期胚を摘出し、この胚から LRP 遺伝子のヘテロ欠損およびホモ欠損の胚線維芽細胞を株化することに成功した²²⁾。メチルアミン活性化 α_2 M および uPA-PAI-1, RAP の分解はヘテロ欠損株で野生型の約半分となり、ホモ欠損株ではほとんど分解されなかった。以後、これらの細胞を用いて、細胞レベルでの LRP の機能解析が可能となり、新たなリガンドが次々と発見されている。

まず、よく知られていた tPA や uPA と PAI-1 との複合体以外にも、数多くの serpin-enzyme complex (SEC) の細胞内クリアランスに、LRP が関与することが報告された。かつて Perlmutter ら²³⁾²⁴⁾は、肝細胞 (HepG2 細胞) に トロンビン-アンチトロンビン複合体 (TAT)、ヘパリンコファクター II (HCII)-トロンビン複合体、 α_1 アンチトリプシン (α_1 AT)-トリプシン複合体などの SEC を代謝する新たなレセプターが存在することを示し、SEC レセプターと名付けた。その後、このレセプターは単球や好中球でも発現されていると報告され、細胞の増殖や遊走といったシグナル伝達にも関与することが示唆された。しかし、Kounnas ら²⁵⁾は、LRP 欠損および野生型マウス胚線維芽細胞株を用い、これら SEC がそれぞれ LRP を介して細胞内に取り込まれ分解されることを示した。また、HepG2 細胞におけるこれら SEC の分解も RAP や抗 LRP 抗体で阻害されることから、Perlmutter らが指摘した肝細胞上の SEC レセプターは、実は LRP ではないかと考えられた。また、Pizzo ら²⁶⁾はプロテアーゼと複合体を形成した C1-インヒビターや α_2 プラスミンインヒビターのクリアランスに関与する第二の SEC レセプター (SEC II レセプター) の存在を予想したが、Storm ら²⁷⁾は C1-インヒビターと C1s の複合体が LRP を介して代謝されることを示した。ほかにも、プロテアーゼネキシン I (PN1) と uPA の複合体や PN1-トロンビン複合体のエンドサイトーシスも LRP 依存性であり、PN1-トロンビンが LRP によって代謝される際に、PN1 の N 末端に近い Pro⁴⁷-Ile⁵⁸ のアミノ酸配列が必要であること²⁸⁾、トロンビン-PAI-1 複合体は、LRP だけでなく gp 330 を介してもクリアランスされ、ビトロネクチン存在下にそのクリアランスがさらに促進されること²⁹⁾など、LRP を介して細胞内に取り込まれる SEC の例が続々と報告されている。

最近、Perlmutter らが SEC レセプターの認識部位と主張していた serpin の C 末端領域は、

立体構造解析の結果, 分子内部の疎水性コアに埋没しており, レセプターの認識部位になり得ないことも示され³⁰⁾, 今では SEC レセプターの存在自体に疑問が生じている. しかし一方で, Poller ら³¹⁾ は α_1 AT-エラスターゼ複合体 (α_1 AT-NEL) の分解が LRP 依存的であること, α_1 アンチキモトリプシン-カテプシン G 複合体 (α_1 ACT-CathG) は LRP 非依存的に分解されることを明らかにした. そして, この α_1 ACT-CathG は HepG2 細胞で分解される (この分解は RAP で阻害されない) ことから, HepG2 細胞上には LRP とは別に α_1 ACT-CathG などを認識する SEC レセプターが存在すると主張している. また, SEC レセプターは細胞増殖や走化性誘導, 特定の遺伝子の発現増強など, 各種のシグナル伝達を仲介するといわれているが, LRP がシグナル伝達を仲介するという報告はないこと, SEC レセプターは 80kDa と想定されており, LRP の分子量とは大きく異なっていることなどから, 現段階では SEC レセプターすべてを LRP で説明できるものではない. さらにサイトケラチン 18 のような細胞内タンパク質が肝細胞表面で TAT と結合するという報告³²⁾もあり, SEC の代謝に関しては未だ明快なスキームが提示されていないのが現状である.

Kunitz 型プロテアーゼインヒビターも LRP のリガンドとなることが報告されている. Narita ら³³⁾ や Warshawsky ら³⁴⁾ は外因系凝固反応のインヒビターとして知られる TFPI が, Kounnas ら³⁵⁾ は Kunitz ドメインを持つ β -amyloid precursor protein (APP), 別名プロテアーゼネキシン II (PN2) や, それと FIXa などとの複合体が LRP によって細胞内クリアランスされることを示した. これに関連して, 近年, アルツハイマー症患者脳の老人斑に, LRP やそのリガンドである apoE, uPA, tPA, PAI-1, α_2 M, ラクトフェリンなどの蓄積が示唆され, 脳における LRP の生理的意義や病態形成への関与が注目されている.

その他, 肝性リパーゼ³⁶⁾ や, 血管新生の制御

や, 胚発生などに作用すると言われるトロンボスポンジン 1 および 2³⁷⁾ なども LRP のリガンドであることが示されている.

おわりに

今回の内容をまとめると, ① LRP ヘテロ欠損マウスは正常に出生し, 出生後の表現型も野生型と差がなかった. 一方, LRP ホモ欠損マウスは胚発生途上で (胎齢 13.5 日までに) すべて死亡し, LRP は胚の発生上必須であることがわかった. ②致死の原因として Herz らがはじめに提唱した uPA-プラスミン系の関与は考えにくい. ホモ欠損胚に中枢神経系の形成異常や胚内出血が観察されたことから, リポタンパク質を介した脂溶性ビタミンの欠乏が推測されるが, 詳細は不明である. ③着床前の LRP 欠損胚より LRP 欠損胚絨線維芽細胞株が樹立され, 近年この細胞を用いて LRP の新たなリガンドが続々見つかった. 特に, SEC のクリアランスに深く関与していることが明らかになりつつある.

LRP は多様なリガンドと結合し, それらリガンドも多彩な生理作用を持つものが多いことから, LRP の生理的意義を全体像として捉えるためにはさらなる知見の蓄積が必要である.

謝 辞: 御校閲をいただきました岩永貞昭先生 (藤田保健衛生大学・客員教授) に深謝いたします.

文 献

- 1) Wolf BB, Lopes MBS, VandenBerg SR, Gonias SL: Characterization and immunohistochemical localization of α_2 -macroglobulin receptor (low-density lipoprotein receptor-related protein) in human brain. *Am J Pathol* **141**: 37-42, 1992.
- 2) Moestrup SK, Gliemann J, Pallesen G: Distribution of the α_2 -macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein in human tissue. *Cell Tissue Res* **269**: 375-382, 1992.

- 3) Strickland DK, Kounnas MZ, Williams SE, Argraves WS: LDL receptor-related protein (LRP): a multiligand receptor. *Fibrinolysis* 8: 204-215, 1994.
- 4) Willnow TE, Moehring JM, Inocencio NM, Moehring TJ, Herz J: The low-density-lipoprotein receptor-related protein (LRP) is processed by furin *in vivo* and *in vitro*. *Biochem J* 313: 71-76, 1996.
- 5) van der Zee A, Stas L, Hilleker C, van Leuven F, van Dijk KW, Havekes L, Frants R, Hofker M: Genomic cloning of the mouse LDL receptor related protein/ α_2 -macroglobulin receptor gene. *Genomics* 23: 256-259, 1994.
- 6) Van Leuven F, Stas L, Hilliker C, Lorent K, Umans L, Serneels L, Overbergh L, Torrekens S, Moechars D, De Strooper B: Structure of the gene (LRP1) coding for the human α_2 -macroglobulin receptor lipoprotein receptor-related protein. *Genomics* 24: 78-89, 1994.
- 7) Herz J, Clouthier DE, Hammer RE: LDL receptor-related protein internalizes and degrades uPA-PAI-1 complexes and is essential for embryo implantation. *Cell* 71: 411-421, 1992.
- 8) Herz J, Clouthier DE, Hammer RE: Correction: LDL receptor-related protein internalizes and degrades uPA-PAI-1 complexes and is essential for embryo implantation. *Cell* 73: 428, 1993.
- 9) Carmeliet P, Schoonjans L, Ream B, Degen J, Bronson R, De Vos R, van den Oord JJ, Collen D, Mulligan RC: Physiological consequences of loss of plasminogen activator gene function in mice. *Nature* 368: 419-424, 1994.
- 10) Bugge TH, Flick MJ, Daugherty CC, Degen JL: Plasminogen deficiency causes severe thrombosis but is compatible with development and reproduction. *Genes Dev* 9: 794-807, 1995.
- 11) Ploplis VA, Carmeliet P, Vazirzadeh S, Van Vlaenderen I, Moons L, Plow EF, Collen D: Effects of disruption of the plasminogen gene on thrombosis, growth, and health in mice. *Circulation* 92: 2585-2593, 1995.
- 12) Plump AS, Smith JD, Hayek T, Aalto-Setälä K, Walch A, Verstuyft JG, Rubin EM, Breslow JL: Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells. *Cell* 71: 343-353, 1992.
- 13) Willnow TE, Hilpert J, Armstrong SA, Hammer RE, Burns DK, Herz J: Defective forebrain development in mice lacking gp330/megalin. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 8460-8464, 1996.
- 14) Farese RV, Ruland SL, Flynn LM, Stokowski RP, Young SG: Knockout of the mouse apolipoprotein B gene results in embryonic lethality in homozygotes and protection against diet-induced hypercholesterolemia in heterozygotes. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 1774-1778, 1995.
- 15) Willnow TE, Goldstein JL, Orth K, Brown MS, Herz J: Low density lipoprotein receptor-related protein and gp330 bind similar ligands, including plasminogen activator-inhibitor complexes and lactoferrin, an inhibitor of chylomicron remnant clearance. *J Biol Chem* 267: 26172-26180, 1992.
- 16) Stefansson S, Chappell DA, Argraves KM, Strickland DK, Argraves WS: Glycoprotein 330/low density lipoprotein receptor-related protein-2 mediates endocytosis of low density lipoproteins via interaction with apolipoprotein B100. *J Biol Chem* 270: 19417-19421, 1995.
- 17) Bavik C, Ward SJ, Chambon P: Development abnormalities in cultured mouse embryos deprived of retinoic acid by inhibition of yolk-sac retinol binding protein synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 3110-3114, 1996.
- 18) Kounnas MZ, Haudenschild CC, Strickland DK, Argraves WS: Immunological localization of glycoprotein 330, low density lipoprotein receptor related protein and 39kDa receptor associated protein in embryonic mouse tissues. *In Vivo* 8: 343-351, 1994.
- 19) Overbergh L, Lorent K, Torrekens S, Van Leuven F, Van den Berghe H: Expression of mouse α_2 -macroglobulins, lipoprotein receptor-related protein, LDL receptor, apolipoprotein E, and lipoprotein lipase in pregnancy. *J Lipid Res* 36: 1774-1786, 1996.
- 20) Weinstock PH: Severe hyperglyceridemia reduced high density lipoprotein, and neonatal death in lipoprotein lipase knockout mice. *Mild*

- hypertriglyceridemia with impaired very low density lipoprotein clearance in heterozygotes. *J Clin Invest* **96**: 2555-2568, 1995.
- 21) Umans L, Serneels L, Overbergh L, Lorent K, Van Leuven F, Van den Berghe H: Targeted inactivation of the mouse α_2 -macroglobulin gene. *J Biol Chem* **270**: 19778-19785, 1995.
- 22) Willnow TE, Herz J: Genetic deficiency in low density lipoprotein receptor-related protein confers cellular resistance to *Pseudomonas* exotoxin A: Evidence that this protein is required for uptake and degradation of multiple ligands. *J Cell Sci* **107**: 719-726, 1994.
- 23) Perlmutter DH, Glover GI, Rivetna M, Schasteen C, Adams SP, Fallon RJ: Identification of a serpin-enzyme complex receptor on human hepatoma cells and human monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* **87**: 3753-3757, 1990.
- 24) Perlmutter DH, Joslin G, Nelson P, Schasteen C, Adams SP, Fallon RJ: Endocytosis and degradation of α_1 -antitrypsin-protease complexes is mediated by the serpin-enzyme complex (SEC) receptor. *J Biol Chem* **265**: 16713-16716, 1990.
- 25) Kounnas MZ, Church FC, Argraves WS, Strickland DK: Cellular internalization and degradation of antithrombin III-thrombin, heparin cofactor II-thrombin, and α_1 -antitrypsin-trypsin complexes is mediated by the low density lipoprotein receptor-related protein. *J Biol Chem* **271**: 6523-6529, 1996.
- 26) Pizzo SV: Serpin receptor 1: a hepatic receptor that mediates the clearance of antithrombin III-proteinase complexes. *Am J Med* **87**: 10S-14S, 1989.
- 27) Storm D, Herz J, Trinder P, Loos M: C1 inhibitor-C1s complexes are internalized and degraded by the low density lipoprotein receptor-related protein. *J Biol Chem* **272**: 31043-31050, 1997.
- 28) Knauer MF, Hawley SB, Knauer DJ: Identification of a binding site in protease nexin I (PN1) required for the receptor mediated internalization of PN1-thrombin complexes. *J Biol Chem* **272**: 12261-12264, 1997.
- 29) Stefansson S, Lawrence DA, Argraves WS: Plasminogen activator inhibitor-1 and vitronectin promote the cellular clearance of thrombin by low density lipoprotein receptor-related protein 1 and 2. *J Biol Chem* **271**: 8215-8220, 1996.
- 30) Maekawa H, Tollefsen DM: Role of the proposed serpin-enzyme complex receptor recognition site in binding and internalization of thrombin-heparin cofactor II complexes by hepatocytes. *J Biol Chem* **271**: 18604-18609, 1996.
- 31) Poller W, Willnow TE, Hilpert J, Herz J: Differential recognition of α_1 -antitrypsin-elastase and α_1 -antichymotrypsin-cathepsin G complexes by the low density lipoprotein receptor-related protein. *J Biol Chem* **270**: 2841-2845, 1995.
- 32) Wells MJ, Hatton MWC, Hewlett B, Podor TJ, Sheffield WP, Blajchman MA: Cytokeratin 18 is expressed on the hepatocyte plasma membrane surface and interacts with thrombin-antithrombin complexes. *J Biol Chem* **272**: 28574-28581, 1997.
- 33) Narita M, Bu G, Olins GM, Higuchi DA, Herz J, Broze Jr GJ, Schwartz AL: Two receptor systems are involved in the plasma clearance of tissue factor pathway inhibitor *in vivo*. *J Biol Chem* **270**: 24800-24804, 1995.
- 34) Warshawsky I, Herz J, Broze GJ, Schwarz AL: The low density lipoprotein receptor-related protein can function independently from heparan sulfate proteoglycans in tissue factor pathway inhibitor endocytosis. *J Biol Chem* **271**: 25873-25879, 1996.
- 35) Kounnas MZ, Moir RD, Rebeck GW, Bush AI, Argraves WS, Tanzi RE, Hyman BT, Strickland DK: LDL receptor-related protein, a multifunctional apoE receptor, binds secreted β -amyloid precursor protein and mediates its degradation. *Cell* **82**: 331-340, 1995.
- 36) Kounnas MZ, Chappell DA, Wong H, Argraves WS, Strickland DK: The cellular internalization and degradation of hepatic lipase is mediated by low density lipoprotein receptor-related protein and requires cell surface proteoglycan. *J Biol Chem* **270**: 9307-9312, 1995.
- 37) Chen H, Strickland DK, Mosher DF: Metabolism of thrombospondin 2. Binding and degradation

- by 3T3 cells and glycosaminoglycan-variant Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* **271**: 15993-15999, 1996.
- 38) Lorent K, Overbergh L, Delabie J, Van Leuven F, Van Den Berghe H: Distribution of mRNA coding for Alpha-2-macroglobulin, the murinoglobulins, the Alpha-2-macroglobulin receptor and the Alpha-2-macroglobulin receptor associated protein during mouse embryogenesis and in adult tissues. *Differentiation* **55**: 213-223, 1994
-