

講演番号：3A01p07

講演日時：3月19日 15:40～ A校舎 01会場

ABCA1 と apoA-I によるコレステロール排出メカニズム解明への新しい定量的アプローチ

A new quantitative approach to revealing the lipid efflux mechanism by ABCA1 and apoA-I

○三好 里奈¹、小笠原 史彦¹、石神 正人¹、永田 紅^{1,2}、木村 泰久¹、木岡 紀幸¹、植田 和光^{1,2} (1 京大院農・応用生命科学、² 京大 iCeMS)

○Rina Miyoshi¹, Fumihiko Ogasawara¹, Masato Ishigami¹, Koh Nagata^{1,2}, Yasuhisa Kimura¹, Noriyuki Kioka¹, Kazumitsu Ueda^{1,2} (¹Div.Appl.Life Sci., Grad.Sch. of Agric., Kyoto Univ., ²iCeMS, Kyoto univ.)

【背景・目的】

ATP-binding cassette transporter A1(ABCA1)は善玉コレステロール(HDL)産生に必須の脂質輸送体であり、細胞内に過剰に蓄積したコレステロールをリン脂質と共に血中のアポリポプロテイン A-I (apoA-I) に受け渡すことで HDL を産生する。ABCA1 による HDL 産生は、コレステロールを末梢細胞から肝臓へ逆輸送する唯一の経路であり、動脈硬化の予防に大きく貢献する。しかし、HDL 産生において ABCA1 がどのように apoA-I に脂質を受け渡しているのかについては議論が分かれており、その詳細は未だ解明されていない。従来、ABCA1 と apoA-I による脂質排出は、ABCA1 を発現させた細胞を apoA-I と共に 24, 48 時間といった長時間培養した際の脂質排出活性で評価されてきた。しかし、この条件では、ABCA1-apoA-I 間の直接相互作用など、脂質排出の詳細なメカニズムを解析することができない。本研究では、ABCA1 を発現させた細胞と apoA-I を短時間反応させた際の脂質排出量を測定することで、ABCA1 による脂質排出の初速を定量的に解析した。これによって ABCA1 と apoA-I によるコレステロール排出メカニズムを解明することを目的とした。

【方法・結果】

まず、ABCA1 を誘導発現できる BHK/ABCA1 株を用いて apoA-I 依存的なコレステロール排出を測定したところ、反応時間 1 時間までコレステロール排出量は直線的に増加することが分かった。次に、³H-コレステロールを細胞に取り込ませることによって、反応時間 1 時間での脂質排出活性を感度良く測定できる系を確立した。次に、この系を用いて 0~40 µg/mL の apoA-I を細胞に添加し、ABCA1 によるコレステロール排出活性の apoA-I 濃度依存性を評価した。その結果、ABCA1 は添加した apoA-I 濃度に依存したコレステロール排出活性を示した。さらに、コレステロール排出活性と apoA-I 濃度の関係はシグモイド曲線で表され、曲線回帰を行ったところ Hill 係数 $n=1.8$ で表される Hill 式に回帰した。Hill 係数は酵素反応における協同性の指標とされることから、ABCA1 と apoA-I による脂質排出には何らかの正の協同性が働いていることが明らかになった。当研究室ではこれまでに、ABCA1 は HDL 産生過程において一時的に細胞膜上で二量体化することを明らかにしている。このことから、本研究で明らかになった脂質排出における正の協同性には、ABCA1 の二量体化が関与すると考えた。現在、この仮説の検証を進めている。

ABCA1, cholesterol, HDL