

講演番号：3C03a09

講演日時、会場：3月29日 10:27～ C校舎03会場

Apolipoprotein A-I 周囲環境変化に着目した新規 HDL 形成測定法の開発

Detection of HDL formation by sensing the environmental change around apolipoprotein A-I

○長尾 耕治郎、大村 理紗、斎藤 博幸 (徳島大院 HBS)

○Kohjiro NAGAO, Risa OMURA, Hiroyuki SAITO (Univ. of Tokushima)

ATP-binding cassette (ABC) トランスポーターである ABCA1 は、コレステロールとリン脂質を血液中の apolipoprotein A-I (apoA-I) に受け渡すことで善玉コレステロールとして知られる高密度リポタンパク質 (HDL) を形成する。近年、血清 HDL コレステロール量だけでなく、マクロファージによる HDL 形成量が動脈硬化症の発症リスクと強く逆相関することが報告され、HDL 形成過程の重要性が再認識された。しかし、現在使用されている HDL 形成の各測定法には感度が低い、多検体解析に不向きである等の問題がそれぞれ存在する。そこで、apoA-I の周辺環境が HDL 粒子へ組み込まれることで親水性から疎水性へと変化することに着目し、この apoA-I の環境変化を環境感受性プローブ POLARIC で検出するという新規の HDL 形成測定法を開発することを本研究の目的とした。

ApoA-I の 53 番目に導入したシステイン残基を POLARIC-maleimide (五稜化学) により標識することで apoA-I-POLARIC を作成した。ApoA-I-POLARIC をコール酸透析法により人工 HDL に組み込むと、蛍光強度が約 4 倍増加したことから、試験管内での HDL 形成を POLARIC 蛍光強度変化により検出できることが示された。次に、ヒト ABCA1 を過剰発現させたハムスター由来 BHK 細胞による HDL 形成の測定に apoA-I-POLARIC を適用した。ABCA1 発現細胞の培養液へ apoA-I-POLARIC を添加すると、apoA-I-POLARIC 濃度に依存して培養液の蛍光強度が増加し、 K_m 値付近の 2.5 $\mu\text{g/ml}$ apoA-I-POLARIC では 6 時間で約 70%増加した。一方、ABCA1 を発現していない細胞では蛍光強度は増加しなかった。また、ABCA1 発現細胞の培養上清からゲル濾過クロマトグラフィーにより分離した HDL 画分が高い蛍光強度を示したことから、apoA-I-POLARIC の蛍光強度の増加が HDL 形成に起因していることが明らかになった。さらに、ヒトマクロファージ様細胞 THP-1 による HDL 形成を本方法により測定することができた。上記のように、ABCA1 に依存した HDL 形成を apoA-I の周辺環境の変化により検出するという新規の方法を開発することに成功した。

HDL, cholesterol, ABC transporter