

学生優秀発表賞受賞者：山口奈摘美 演題番号 102

アガロースゲル電気泳動法を用いるリポ蛋白分画における 各脂質の反応性の相違 ーコレステロールとトリグリセライドの和を染色する新たな リポ蛋白分画との比較ー

山口 奈摘美^{*1§} 中島 一樹^{*2} 池澤 里桜^{*1} 小澤 恵理^{*1}

高橋 由季^{*1} 我妻 朋代^{*1} 松下 誠^{*1,2}

I. 研究の概要

現在の脂質検査は、総コレステロール(TC)、トリグリセライド(TG)、HDL-C、およびLDL-Cの測定が中心であり、必要に応じて、リポ蛋白を構成する個々のアポリ蛋白測定や電気泳動法を用いたリポ蛋白分画検査が実施されている。これらの脂質関連検査の中で、リポ蛋白分画に使用されている Fat red 7B 染色は、親油性の色素が脂質に結合することを利用しているため、個々の脂質の親油性や極性の違いで染色強度が異なることから、前述した各脂質検査と関連付けた評価が困難となっている。

一方、電気泳動法を利用して蛋白質を分離する検査には、蛋白分画やLD、ALP、CKなどのアイソザイム検査があり、これらは全て総蛋白やそれぞれの酵素の総活性が測定され、その総量と分画値(%)を掛け合わせることで各分画の濃度を算出することが可能となる。しかし、リポ蛋白分画では総量に該当する検査がなく、独立した検査となっている。

そこで今回、Fat red 法における各脂質に対する反応性を明確にするため、コレステロール(CH)とTGの分子数の和を染色する新たなリポ蛋白分画染色、CH・TG法を考案し、従来法との比較を行った。試料には健常者の脂肪食摂取前後の血清、およびリポ蛋白分画用の脂質コントロール血清を使用し、電気泳動は、全て自動電気泳動装置エパライザ 2Jrを用いるアガロースゲル法を使用した。また、全ての試料について、TC、TG、HDL-C、およびリン脂質(PL)濃度を自動分析機CA-270plusを用いる酵素法で測定した。CH・TG法では、ヘレナ研究所から市販されているCH分画とTG分画の両試薬を混合したものを使用した。染色原理は、CHにはコレステロール脱水素酵素、TGにはグリセロール-3-リン酸脱水素酵素を作用させ、ともにNTBを還元して不溶性のホルマザンを形成する。そのため、両試薬を混合した試薬を用いて得られたCH・TG法によるリポ蛋白分画は、CHおよびTGの分子数の和に比例した発色となる(図)。

脂質コントロール血清を用い、Fat red 法、CH・TG法およびCH法の3法の分画値を比較したと

^{*1} 埼玉県立大学 保健医療福祉学部 健康開発学科 検査技術科学専攻 [§] 1619434c@spu.ac.jp

^{*2} 埼玉県立大学大学院 保健医療福祉学研究科

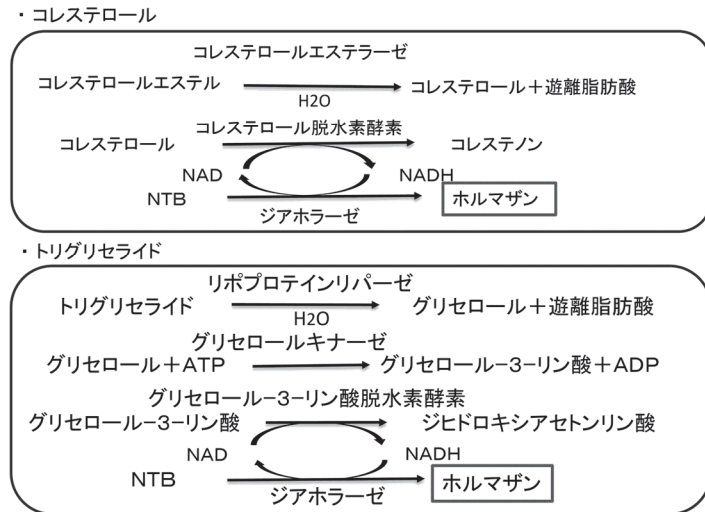


図 CH・TG法の染色原理

ころ、HDL および LDL 分画はこれら 3 法で大きな差が認められなかったが、VLDL 分画は、Fat red 法、CH・TG 法、CH 法の順に低値となった。これは、Fat red 法が TG に対する染色性が強いためであり、VLDL 分画値の相違から Fat red 法の TG に対する染色性は CH・TG 法の 2 倍以上と推測された。また、CH・TG 法の分画値と TC、TG との関係について、CH・TG 法では両者のモル濃度に比例した発色が得られるため、 $\text{CH} + \text{TG} / 2.29$ (2.29 は TG と遊離コレステロールの分子量比) の値を分画していることになる。したがって、CH・TG 法は、自動分析法で測定されている TC、TG、HDL-C 濃度と組み合わせることにより、各リポ蛋白中の TG 量を算出できる利点を有するものと考えられた。

II. 受賞の感想

今回このように優秀発表賞をいただくことができ大変喜ばしく思うとともに、丁寧にご指導して下さった松下先生や、共同研究者のメンバーには感謝の気持ちでいっぱいです。このような学会で発表させていただくのは私にとって初めての経験だったこともあり、発表の前は、時間内に発表を終えられるだろうか、質問にきちんと答えられるだろうかと不安な気持ちもありましたが、頷き

ながら私の発表を聞いてくださっていた先生方、ご清聴いただいた皆様のおかげで、私自身悔いのない発表ができたと自負しています。

今回研究を進めるにあたって、試薬の混合を行う際や染色原理が全く異なる 2 法の染色性を数字で比較する際に、様々な問題に悩みました。しかし、解決策を共に考えてくださったり、助言をくださった先生のおかげで、研究とはどうしたものなのか、問題をどのように対処すべきかなど、研究に対する姿勢を学ぶことができました。改めて、ご指導して下さった先生と、このような発表の機会を与えてくださった全ての方々に感謝申し上げます。ありがとうございました。

III. 将来への抱負

私はこれまでの学びの中で脂質に特に興味を持っていたため、このようなテーマを研究できたことを光栄に思います。そして、今後については大学院への進学も決定していることから、進学後はこの研究をさらに進めていきたいと考えています。今回、優秀発表賞を受賞できたことで、ますます研究に対する意欲が大きくなりました。いずれはこの研究が、臨床で用いることができるような新たな染色法の開発に繋がることを心から願っています。