

学生優秀発表賞受賞者：頼 劭睿 演題番号 院 22

## Myeloperoxidase と chymase の連続的作用により産生された HDL 中の新たな断片化 apolipoprotein A-I の解析

頼 劭睿<sup>\*1§</sup> 山形 友香<sup>\*2</sup> 堀内 優奈<sup>\*2</sup> 笠間 健嗣<sup>\*3</sup>  
 劉 俊仁<sup>\*4</sup> 戸塚 実<sup>\*2,5</sup> 大川 龍之介<sup>\*2</sup>

### I. 研究の概要

#### 【背景・目的】

高比重リポタンパク (HDL) は粥状動脈硬化に予防的に働いているリポタンパクである。しかし生体内、特に病巣部にある HDL は様々な修飾を受け、その抗粥状動脈硬化機能を損なうことが報告されている。その一例として、プラーク中にはマクロファージから放出される酸化酵素 myeloperoxidase (MPO) と肥満細胞から分泌されるタンパク分解酵素 chymase が共に存在することが知られている。先行研究において HDL にこの二つの酵素を連続的に作用させると、HDL の主要構成タンパクであるアポリポタンパク A-I (apoA-I, 28 kDa) を由来とする大きさの異なる二種類の断片を検出した。本研究は、イオンモビリティ搭載 四重極 - 飛行時間型質量分析計 (IMS QToF MS) を用いて断片化 apoA-I の全質量を計測し切断部位を特定することを目的とした。

#### 【方 法】

超遠心法を用いて分離した HDL (d = 1.063 ~ 1.210 g/mL) に 37°C で MPO (2 時間)、chymase

(24 時間) を連続的に作用させたのち、-20°C で 3:2 (v/v) のジエチルエーテル/エタノール (24 時間) と 100% のジエチルエーテル (24 時間) で脱脂した。精製されたタンパク混合液を LC / IMS QToF MS システム (Waters 社) を用いて解析した。

#### 【結 果】

タンパク混合液を解析したところ、28093 Da の物質一種 (インタクト apoA-I と推定)、17156 ~ 17412 Da の分子量の異なる物質三種 (apoA-II と推定) と 16578 Da の物質一種が特定された。アミノ酸配列により計算された分子量と照合したところ、16578 Da の物質は apoA-I の 100 番目のチロシンから C 末端までの分子量 (MW = 16552 Da) とおおよそ一致することがわかった。また、100 番目のチロシンから N 末端までに当たる、分子量の小さい方の断片は特定できなかった。

#### 【考 察】

HDL 中の apoA-I は MPO、chymase の連続的作用によって産生される断片のうち大きなものは、100 番目のチロシンの C 末端側から切断されていることが分かった。この両酵素に修飾された 16.5 kDa の断片化 ApoA-I は粥状動脈硬化の進行度を

\*1 東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科先端分析検査学 § laialc@tmd.ac.jp

\*2 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科先端分析検査学

\*3 株式会社ハイベップ研究所

\*4 臺北醫學大學醫學檢驗暨生物技術學系醫學生物科技博士學位學程

\*5 長野県立こども病院生命科学研究センター医療技術部

示す可能性があるため、今後はこの断片化 apoA-I を特異的認識する抗体を用いた ELISA 法の開発、または MS による検出方法を確立し、新たなバイオマーカーの開発へと発展させたい。

## II. 受賞の感想

この度は、第 14 回日本臨床検査学教育学会学術大会において「優秀発表賞」を頂き大変光栄に思っております。この研究は、多くの先生方や先輩の協力で成し遂げたものなので、この場を借りて厚くお礼を申し上げます。学会の発表に通じて、プレゼンテーションの要領や自分の研究を如何に分かりやすく伝えることを学び、そして人の前に堂々と話すスキルを身に着けることができまし

た。今回は学生として参加する最後の学会になるため、このような素晴らしい賞をいただいたのも社会人になる私にとって大きな励みになると思います。この賞を与えてくださった皆様に心から感謝を申し上げます。

## III. 将来の抱負

私は今年度をもって大学院を修了しますが、これからも自分の力で臨床検査の進化に貢献し続けたいと思っております。また、今まで学内外で積み上げたプレゼンテーションの経験や、研究室で培った問題を解決する力を社会人生活にも活かしたいと考えております。