

## ホモシステインチオラクトン添加血清における パラオキシナーゼ 1 の評価

川口 莉奈\*<sup>1</sup> 亀田 貴寛\*<sup>1,2</sup> 吉本 明\*<sup>1</sup> 大川 龍之介\*<sup>1§</sup>

### I. 研究の概要

#### 【背景・目的】

高比重リポタンパク (HDL) は、酸化や糖化、ニトロ化等、様々な化学修飾を受けることが知られている。ホモシステインの活性型であるホモシステインチオラクトン (HcyT) も、HDL を修飾し、抗粥状動脈硬化能を減弱させる。先行研究により、HDL に含まれる酵素の一つであり、抗粥状動脈硬化能に関わるパラオキシナーゼ 1 (PON1) に着目し、HcyT により修飾した HDL 分画中の PON1 を分析すると、酵素活性および分子量に変化が認められることが明らかになった。一方、超速心により分離した HDL 分画中の PON1 は、HDL 粒子から離脱し、タンパク量が著しく減少するため、分離した HDL 分画を使用した研究が生体内の環境を反映できているかは不明であった。そこで、本研究では、HDL の代替検体として血清を使用し、HcyT により PON1 が影響を受けるかどうかを調査した。

#### 【方 法】

健常なボランティアから採取した血清に、異なる濃度の HcyT (0, 1, 10, 20 mM) を添加し、24 時間、37°C でインキュベートした。その後、3 種の PON1 活性 (アシルエステラーゼ、パラオキシ

ナーゼ、ホモシステインチオラクトナーゼ活性) を測定し、タンパクの変化を電気泳動法により評価した。

本研究は、医学部倫理委員会承認の下に行った (M2015-546)。

#### 【結 果】

はじめに、PON1 活性を測定したところ、高濃度の HcyT 添加により、3 種の活性はすべて低下した。パラオキシナーゼ活性に関しては、HcyT 濃度依存的な活性低下が観察された。次に、PON1 タンパクは、HcyT 処理により、約 43 kDa 付近に観察される intact が減少し、分子量 138 kDa 以上の複合体の形成が見られた。また、HDL の主要アポリポタンパクであるアポリポタンパク A-I (apoA-I) に関しても PON1 複合体と同じ分子量に複合体形成見られた。加えて、HcyT 添加により、複数の apoA-I を含む複合体の形成が観察された。最後に、HDL 粒子上の PON1 の分布が、HcyT 添加により、小粒子の HDL から大粒子側に移動した。

#### 【考 察】

血清を用いることにより、HcyT による粒子サイズの異なる HDL 間の PON1 分布の変化が新たに観察された。加えて、観察された PON1 の複合体は apoA-I を含有している可能性が示唆された。

\*<sup>1</sup> 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科臨床分析・分子生物学分野 § ohkawa.alc@tmd.ac.jp

\*<sup>2</sup> 帝京大学医療技術学部

アポリポタンパクの分布は疾患との関連も調査されており、HDL 機能において重要な要因である。ただし、血清を使用しているため、HcyT が直接 PON1 に影響を与えたかどうかは不明である。そのため、今後は HcyT 添加による PON1 の変化に関与する物質の解析を行う。

## II. 受賞の感想

この度は、第 17 回日本臨床検査学教育学会学術大会において、研究発表の機会をいただきましたこと、並びに優秀発表賞に選出だけいただきましたことを大変光栄に思います。このような素晴らしい賞を賜りましたのも、指導教員である大川龍之介教授をはじめ、臨床分析・分子生物学分野の研究室の皆さまから、スライド作成や伝え方に関するたくさんのアドバイスをいただいたおかげであると存じます。普段は、動脈硬化や臨床化学といった専門の学会にて発表することが多いですが、本学会では臨床検査の幅広い分野の演題を拝聴する機会をいただき多くの知見を得られました。学会賞は研究内容を評価するものが多い中、発表姿勢に対する賞ということで、専門外の先生方にも、自身の研究テーマを理解し、興味を持ってもらえるようなスライドや話し方を意識しました。また、専門によってスライドのトレンドが異なることも興味深く、自身の発表に取り入れたいと感じるものも多くあり、実りの多い学会参加になりました。この場をお借りいたしまして、学会

発表の機会を与えてくださったすべての皆様に厚く御礼申し上げます。

## III. 将来への抱負

現在、博士課程にて勉強中ですが、将来は、臨床検査学における基礎と臨床の橋渡しとなる研究者を目指しています。医療研究に関与する研究者の根幹にあるものは、医療・保健という観点から社会の役に立ちたいという気持ちかと思えます。治療法や治療薬の開発や、新規バイオマーカーの確立には、臨床研究における臨床的意義の証明が必要ですが、そのためには、基礎研究による確かなエビデンスも必要不可欠です。基礎研究から実臨床応用に向けて研究を行う際に、臨床検査技師として、データの信憑性に着目する視点を大切にしています。

基礎研究では、還元する患者さんが見えにくくなってしまふこともあるかと思いますが、初心を忘れず自身の研究が臨床にどのようにつながっていくかを意識しながら研究を進めていきたいと考えております。私自身まだまだ未熟であり、大きな志を持つには力不足ではありますが、多くのご支援をいただくことや、本学会のように評価していただく機会をいただくことができ、邁進する活力をいただいております。ご指導いただき、成長する機会をいただける環境に感謝しながら、これからも目指すべき研究者像に近づけるように日々精進してまいります。