
 研究論文紹介

低密度リポタンパク質 (LDL) のラジカル反応において、アポリポタンパク質 B-100 と α -トコフェロールはシアル酸より反応性が高い

奈良女子大学食物

松川 奈央, 成山 陽子, 橋本 亮子, 小城 勝相

Vitamins (Japan), 78 (3), 141-142 (2004)

Higher Reactivity of Apolipoprotein B-100 and α -Tocopherol Compared to Sialic Acid Moiety of Low Density Lipoprotein (LDL) in Radical Reaction

Nao MATSUKAWA, Yoko NARIYAMA, Ryoko HASHIMOTO, Shosuke KOJO

[*Bioorg. Med. Chem.*, 11, 4009-4013 (2003)]

Department of Food Science and Nutrition, Nara Women's University

低密度リポタンパク質 (LDL) が酸化反応を受け、マクロファージに取り込まれることが粥状動脈硬化の初発反応と考えられている。LDL は糖鎖を持つ 512 kDa のアポリポタンパク質 B-100 (アポ B) と脂質から構成されている。ラジカル反応においては脂質の反応性が高いため、LDL の酸化反応については、脂質過酸化に関する研究がほとんどである。しかし、LDL の一番外側に存在する糖鎖の修飾はマクロファージの認識に関与する可能性がある。実際、動脈硬化患者の LDL のシアル酸は減少しているという報告もあるが、増加しているという報告もある。シアル酸の反応性からこの問題に何らかのアプローチが可能であると考えられる。

我々は、以前に LDL の銅イオンによるラジカル反応でシアル酸が減少することを報告した¹⁾。シアル酸は他の糖とは異なり電子が豊富なカルボン酸陰イオンの近傍に C-H 結合を持つため、求電子的なラジカルに攻撃されやすいことを指摘した¹⁾が、実際、トランスフェリンのラジカル反応でも糖鎖の糖の中でシアル酸の反応性が最も高い²⁾。

一方、タンパク質部分のアポ B は他の血漿タンパク質であるアルブミンやトランスフェリンよりラジカル

反応性ははるかに高く、血漿のラジカル反応でアポ B は α -トコフェロール (E) と同程度の速度で分解する³⁾。この結果から予想されるように、アポ B の分解物は正常ヒト血清に存在し、ラジカル反応生成物である会合体と分解物の合計は動脈硬化指標として有効である⁴⁾。

それでは LDL の脂質 (E で代表される)、タンパク質 (アポ B)、糖 (シアル酸) の反応性はどのような順序になるのだろうか。本研究ではラジカル反応における糖の相対反応性を初めて検討した。

本研究では、アポ B は SDS-PAGE のあと Western blot 法で、シアル酸も SDS-PAGE のあとシアル酸特異的レクチンを用いて染色し、デンストメーターにより、定量性のある領域で定量した。

単離したヒト LDL を銅イオンで酸化すると、まず E が減少し、512 kDa のアポ B とアポ B に結合したシアル酸が同じ速度で減少した (図 1)。しかし抗アポ B 抗体染色によるアポ B の分解パターンとレクチンによる染色がほとんど同じであった。この結果が意味するのは、分解したアポ B にはシアル酸が結合しており、そのパターンがアポ B タンパク質の量と対応していることから、シアル酸はほとんど減少しないということである。

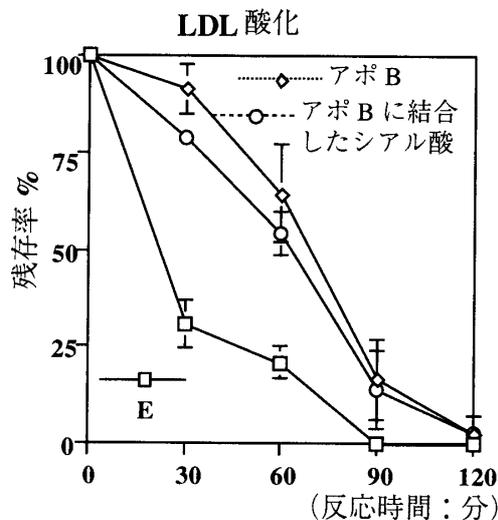


図 1. LDL の銅イオンによる酸化反応における E, アポ B, アポ B に結合したシアル酸の変化.

この結果から, シアル酸の反応性はアポ B よりはるかに低いことが判明した.

血漿を銅イオンで酸化した場合も同様の結果が得られたため, やはり, 512 kDa の場所に検出されるアポ B に結合するシアル酸が減少するのはアポ B 自身の分解によるものであることが判明した. 以上より, ラジカル反応におけるアポ B と E の反応性は, シアル酸よりはるかに高いので, 酸化ストレスや動脈硬化指標としてはアポ B の分解のほうが有効であると考えられる.

マクロファージが酸化 LDL の何を認識しているかは不明だが, シアル酸の酸化物, ないし脱シアル酸糖鎖 (この場合アシアロ糖タンパクということになり, この受容体は既知である) を認識している可能性は排除できない. アポ B の分解物はかなりの量が血中に存在していることから, 酸化ストレス指標にはなってもマクロファージの認識対象ではないようである. ビタミン C や E 欠乏の ODS ラットの脳でシアル酸が有意に減少することから, これまで考えられてこなかった糖, 特にシアル酸とラジカル反応の関係は今後の重要なテーマになる可能性がある.

(平成 16. 1. 23 受付)

文 献

- 1) Tanaka K, Tokumaru S, Kojo S (1997) Possible involvement of radical reactions in desialylation of LDL. *FEBS Lett* **413**, 202-204
- 2) Tanaka K, Yamada Y, Narita S, Hashimoto R, Kojo S (1999) Comparison of reactivity among carbohydrate moieties of transferrin to a radical reaction. *Res Commun Biochem Cell Mol Biol* **3**, 63-68
- 3) Hashimoto R, Narita S, Yamada Y, Tanaka K, Kojo S (2000) Unusually high reactivity of apolipoprotein B-100 among proteins to radical reactions induced in human plasma. *Biochim Biophys Acta* **1483**, 236-240
- 4) Hashimoto R, Matsukawa N, Nariyama Y, Ogiri Y, Hamagawa E, Tanaka K, Usui Y, Nakano S, Maruyama T, Kyotani S, Tsushima M, Kojo S (2002) Evaluation of apolipoprotein B-100 fragmentation and cross-link in the serum as an index of atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta* **1584**, 123-128
- 5) Tanaka K, Tokumaru S, Kojo S (1998) Change in the level of sialic acid in plasma, brain and liver of inherently scorbutic rats during vitamins C and E deficiencies. *Biosci Biotechnol Biochem* **62**, 1592-1593