

---

 研究論文紹介
 

---

## 粥状動脈硬化症指標としての血清中のアポリポタンパク質 B-100 分解と架橋の評価

奈良女子大学食物<sup>1</sup>, 国立栃木病院内科<sup>2</sup>, 埼玉社会保険病院内科<sup>3</sup>, 国立循環器病センター<sup>4</sup>

橋本 亮子<sup>1</sup>, 松川 奈央<sup>1</sup>, 成山 陽子<sup>1</sup>, 大桐 由華子<sup>1</sup>, 濱川 愛理<sup>1</sup>, 田中 恭子<sup>1</sup>  
 臼井 保栄<sup>1</sup>, 中野 里美<sup>2</sup>, 丸山 太郎<sup>3</sup>, 京谷 晋吾<sup>4</sup>, 都島 基夫<sup>4</sup>, 小城 勝相<sup>1</sup>

Vitamins (Japan), 77 (5・6), 271-272 (2003)

### Evaluation of Apolipoprotein B-100 Fragmentation and Cross-linkage in Serum as an Index of Atherosclerosis

Ryoko HASHIMOTO<sup>1</sup>, Nao MATSUKAWA<sup>1</sup>, Yoko NARIYAMA<sup>1</sup>, Yukako OGIRI<sup>1</sup>, Eri HAMAGAWA<sup>1</sup>, Kyoko TANAKA<sup>1</sup>,  
 Yasue USUI<sup>1</sup>, Satomi NAKANO<sup>2</sup>, Taro MARUYAMA<sup>3</sup>, Singo KYOTANI<sup>4</sup>, Motoo TSUSHIMA<sup>4</sup>, Shosuke KOJO<sup>1</sup>

[*Biochim. Biophys. Acta*, 1584, 123-128 (2002)]

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, Nara Women's University, <sup>2</sup>National Tochigi Hospital

<sup>3</sup>Social Insurance Saitama Chuo Hospital, <sup>4</sup>National Cardiovascular Center

粥状動脈硬化症の発症の鍵を握るのは、低密度リポタンパク質 (LDL) の酸化反応 (ラジカル反応) であるとされている。LDL が酸化的修飾を受け、酸化 LDL をマクロファージが認識して貪食し、マクロファージが泡沫細胞になることが初発反応であるという説である。

従来、LDL の酸化反応の研究は、我々が発表したシアル酸残基の変化<sup>1)</sup> 以外は、ほとんど脂質過酸化とそれに続くアルデヒドによるタンパク質の修飾に関するものである。我々は最近、LDL のタンパク部分であるアポリポタンパク質 B-100 (アポ B: 分子量 512 kDa) が銅イオンによるラジカル反応により、断片化および架橋していくこと、同様の分解は血漿のラジカル反応でも起ることを Western blot 法を用いて証明した<sup>2)</sup>。

この分解反応は銅イオンを加えなければ起こらず、ラジカル捕捉剤で阻害され、ラジカル開始剤で開始されることから、プロテアーゼによるものではなく、ラジカル反応によることを確認している<sup>2)</sup>。アルブミンやトランスフェリンなどもラジカル反応で分解するため、タンパク質の酸化的分解反応はタンパク質であ

ば共通に起こる反応である<sup>3)</sup>。

しかし血漿を酸化すると、アルブミンやトランスフェリンが全く変化しない時期に、アポ B はすでに完全に分解していた。すなわち、アポ B の反応性はビタミン E (E) と同程度で、他の血漿タンパク質に比べて異常に高いことが分かった<sup>4)</sup>。早くから粥状硬化症と LDL の関係が注目されてきた理由の一つが、このアポ B の異常な高反応性のためではないかと考えられる。

さらに、断片化および架橋したアポ B がヒト血清に存在し、加齢と共に増加することも報告した<sup>2)</sup>。このことは、アポ B の会合・断片化は酸化ストレスの鋭敏な指標になりうることを示している。本研究では、ヒト血清中の会合・断片化アポ B の定量を試みた。さらに、この定量結果が他の動脈硬化指標とどのような関係があるかを検討した。

三重県 K 町における健康診断で、文書で同意を得た住民を対象とした。血清の SDS-PAGE のあと、抗ヒトアポ B 抗体を用いて Western blot を行った。画像をスキャナーで取り込み、NIH-Image でバンドの積分を行

表 1. パラメーター間の相関係数.

	LDLコレステロール	HDLコレステロール	IMT	年齢
B-ox	0.36** (242)	-0.29** (242)	0.23* (117)	0.26** (249)
LDL コレステロール		-0.15* (245)	0.20* (119)	0.05 (245)
HDL コレステロール			-0.19* (119)	-0.09 (245)
IMT				0.57** (119)

カッコ内にサンプル数を示す(\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).

表 2. B-ox と他のパラメーターとの相関係数.

	総コレステロール	トリグリセリド	ビタミンC	ビタミンE	ビタミンE/ 総コレステロール
B-ox	0.30** (242)	0.16* (242)	-0.15* (229)	0.08 (229)	-0.10 (229)

カッコ内にサンプル数を示す(\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ )

た. 画像解析で標準化するため, 常に同一の個人の血清を真ん中に置いた. その特定の個人の(架橋+断片化アポB)量に対する各人の(架橋+断片化アポB)の比をとって, B-ox と命名した. B-ox は各個人の酸化生成物の量と考えてよいので, これが大きいほど酸化ストレスが強いことを意味する. すなわち, B-ox が大きいほど粥状硬化症が進行しているはずである.

実際 B-ox は男女間に有意差があり, 男性で大きい( $p < 0.05$ ). また女性間で比較すると, 閉経後に有意に高いことも分かり, 粥状硬化症で知られている特徴と一致した. 表 1 に示すように, B-ox は超音波で測定した頸動脈内膜中膜複合体肥厚度(IMT), LDLコレステロール, 年齢と有意な正の相関を示した. IMTとの相関は, 従来から汎用される LDL コレステロールより高かった. また予想通り, HDL コレステロールと有意な負の相関を示した.

以前から ELISA 法により, アポ B の増加と粥状硬化症の関係が知られているが, 今回の blot により, 実際に 512 kDa にあるアポ B 自身が動脈硬化症の進行とともに増加することも分かった.

さらに表 2 に示すように, B-ox は総コレステロール, トリグリセリドと有意な正の相関を示した. ビタミン C

とは有意な負の相関を示した. このことは, B-ox が酸化ストレスの指標であることを支持すると共に, 食生活により一定の調節が可能であることを示している. 一方, E( $\alpha$ -トコフェロール)との有意な相関はなかった.

以上より, アポ B のラジカル反応を定量化した B-ox は粥状硬化症の指標となることから, 酸化ストレスが動脈硬化に関係することを支持している.

(平成 15. 1. 10 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, Iguchi H, Taketani S, Nakata R, Tokumaru S, Sugimoto T, Kojo S (1999) Facile degradation of apolipoprotein B by radical reactions and the presence of cleaved proteins in serum. *J Biochem (Tokyo)* **125**, 173-176
- 3) Yamada Y, Okamoto E, Tanaka K, Kojo S (1998) Degradation of transferrin and albumin by radical reactions in human plasma evaluated by immunoblot. *Biochem Mol Biol Int* **46**, 733-738
- 4) Hashimoto R, Narita S, Yamada Y, K. 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