

ラジカル反応によるアポB蛋白分解の解析

○田中恭子¹, 得丸定子², 小城勝相¹(¹奈良女大・生環、²上越教大・生健)

【目的】動脈硬化症は、低密度リポタンパク質 (LDL) の酸化により何らかの修飾を受けたLDLがマクロファージに認識されて貪食されることが初発反応であると考えられている。従って、LDLの酸化反応については多くの研究がなされてきている。特に脂質過酸化とアルデヒドによるタンパク部分 (アポB) の修飾に焦点があてられている。最近、我々はLDLのシアル酸残基がラジカル反応により修飾されることを報告した (1)。しかし、アポBタンパクそのもののラジカル反応性を複合系で解析した例はない。今回、我々はアポBの酸化反応における動態を抗体を用いて特異的に追跡した

【方法】ヒトLDL、ヒト血清を銅イオンで酸化し、4% SDS-PAGE、Western Blottingを行い、抗アポB抗体を用いて解析した。また、正常人の血清の解析も行った。

【結果と考察】銅イオン存在下、37°Cの反応でアポBは1時間後より分解し始め、3時間後には約510kDaのアポBはほとんど消失した。ラジカル捕捉剤 (2-メルカプトエタノール、BHT、プロブコール) の添加によりこの分解は阻害され、一方、AAPHの添加によっても分解が見られたことより、アポBは、ラジカル反応によってペプチド結合が解裂していくことが分かった。また、ヒト血清を同様に銅イオンで酸化させ、同様の実験を行なった結果、血清中のLDLも単離したLDLと同様に分解することが観察でき、抗体を用いることによって、血清中のLDLの動態を検討できることがわかった。さらに、LDLの分解物は正常人の血清にも存在し、その量は加齢と共に増加する傾向があった。

(1) K. Tanaka, et al., FEBS Lett., 413, 202-204 (1997).