

27PA-am005

蛍光標識ペプチドを用いた新規動脈硬化診断用プローブの開発

○佐藤 陽¹, 上田 千恵美¹, 木村 龍¹, 小林 千智¹, 山崎 洋次¹, 蝦名 敬一¹ (¹いわき明星大薬)

【目的】酸化低密度リポ蛋白質 (酸化 LDL) は動脈硬化の主な原因物質として知られており、酸化の程度によって minimally modified LDL (MM-LDL)、heavily oxidized LDL (Ox-LDL) が存在する。MM-LDL は血液中の全 LDL の 5-10%程度存在し、Ox-LDL は主にプラークに存在することが知られている。最近私達は、Ox-LDL との特異的結合能を有する複数種の蛍光標識ペプチドを見出した。本研究では、蛍光標識ペプチドを用いた新規動脈硬化診断用プローブを開発する目的から、本ペプチドの MM-LDL、Ox-LDL に対する結合性、ならびにそのプローブとしての有用性を調べた。【方法】蛍光標識ペプチドは (FITC) KP6 を用いた。LDL は、ヒト健常者 (20~30 歳代) の血漿より、超遠心による段階的分画浮上法を用いて単離・精製した。Ox-LDL、MM-LDL は LDL の銅、鉄酸化によりそれぞれ作製した。(FITC) KP6 と各種 LDL ならびにそれら主要構成リン脂質 [ホスファチジルコリン (PC)、酸化 PC、リゾ PC] との結合解析は、4%ポリアクリルアミドゲル電気泳動および蛍光イメージアナライザーを用いて行い、その結合親和性の解析は表面プラズモン共鳴を用いて行った。培養したヒト単球系 THP-1 細胞由来マクロファージに各種 LDL、(FITC) KP6 を添加し、蛍光顕微鏡を用いて観察した。【結果】(FITC) KP6 は Ox-LDL、MM-LDL と結合しその結合親和性はいずれも非常に高いこと、その結合は MM-LDL、Ox-LDL に多量存在する酸化 PC、リゾ PC を介して行われることがそれぞれわかった。また、(FITC) KP6 はマクロファージにおいて MM-LDL、Ox-LDL を特異的に検出できた。【結論】本蛍光標識ペプチドは酸化 LDL (MM-LDL、Ox-LDL) を特異的に検出する新規動脈硬化診断用プローブとして有用であると考えられた。