

## 研究成果報告

研究課題 特異抗体を活用したアポリポ蛋白 A-I 体内動態評価法の開発

研究期間 平成 28 年 1 月 1 日～平成 29 年 3 月 30 日

### 1)研究目的

本研究では、血漿中での高密度リポタンパク質（HDL）の産生や代謝を制御しているアポリポタンパク質 A-I（アポ A-I）が、遺伝的変異や酸化修飾等によって動脈硬化性疾患やアミロイドーシスなどの発症を引き起こす分子機構を解明するとともに、これら疾患に関連するアポ A-I 構造特異抗体を新たに開発し、体液中濃度の測定系や組織での局在様式の画像化法への適用、さらにはアポ A-I 構造異常に関連する病態解明や疾患バイオマーカーとしての応用を進めることで、動脈硬化性疾患やアミロイドーシスに対する新たな診断・治療法開発につながる成果を得ることを目的とした。

### 2)実施内容

HDL のコレステロール除去活性の指標となる結合アポ A-I 分子の高次構造（コンフォメーション）の微小な差異の検出を目的として、マウス過免疫・B 細胞ハイブリドーマ法による抗ヒトアポ A-I 抗体の作製を行った。さらに、開発した新規抗アポ A-I 抗体を利用した HDL コンフォメーション特異的高感度イムノアッセイ系の構築を行った。

### 3)研究成果

ELISA 等によるスクリーニングの結果、いくつかの領域特異的抗アポ A-I 抗体が得られ、なかでも 44-65 残基領域内をエピトープとする抗体は、アポ A-I のランダムコイルから  $\alpha$ -ヘリックスへの構造転移を検出できることが明らかとなり、HDL 形成に伴うアポ A-I の微小構造変化を識別できる可能性が示された。本研究成果は、英文誌 *Scientific Reports* (IF 5.228) において掲載されるとともに、日本薬学会年会や物理系薬学部会主催の生体膜と薬物の相互作用シンポジウム等においてポスター発表を行った。

### 4)研究組織

#### <本学>

研究代表者 斎藤 博幸（京都薬科大学・薬学部・教授）

#### <共同研究先>

研究代表者 小林 典裕（神戸薬科大学・薬学部・教授）

研究分担者 大山 浩之（神戸薬科大学・薬学部・助教）

研究分担者 森田 いずみ（神戸薬科大学・薬学部・助手）

## 成果発表

### 1)原著論文

1. Immunochemical Approach for Monitoring of Structural Transition of ApoA-I upon HDL Formation Using Novel Monoclonal Antibodies. Kimura H, Mikawa S, Mizuguchi C, Horie Y, Morita I, Oyama H, Ohgita T, Nishitsuji K, Takeuchi A, Lund-Katz S, Akaji K, Kobayashi N, Saito H. *Sci. Rep.* 査読有, 7(1), 2988 (2017).

2)産業財産権 該当なし

3)招待講演

4)学会発表

1. Shiho Mikawa, Chiharu Mizuguchi, Izumi Morita, Hiroyuki Oyama, Teruhiko Baba, Akira Shigenaga, Toshinori Shimanouchi, Norihiro Kobayashi, Akira Otaka, Kenichi Akaji, Hiroyuki Saito. Effect of heparin on amyloid fibril formation of apoA-I fragment peptides. 第53回ペプチド討論会、2016. 10. 26-28、京都テルサ（京都府京都市）

2. 木村仁, 三河志穂, 森田いずみ, 大山浩之, 小林典裕, 斎藤博幸、HDL-apoA-I 微小構造変化の検出を目的とした新規抗 apoA-I 抗体の開発、第 38 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム、2016.11.17-18、名古屋市立大学薬学部（愛知県名古屋市）

3. 三河志穂, 木村仁, 扇田隆司, 森田いずみ, 大山浩之, 小林典裕, 斎藤博幸、ApoA-I 構造特異抗体の開発に向けた抗体評価系の確立、日本薬学会第 137 年会、2017.3.25-27、仙台国際センター（宮城県仙台市）