

令和 4 年 6 月 5 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07932

研究課題名(和文) HDLダイナミズムと粥状動脈硬化への影響

研究課題名(英文) Dynamism of HDL and its effect on atherosclerosis

研究代表者

大川 龍之介 (Ryunosuke, Ohkawa)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：50420203

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：多彩な抗粥状動脈硬化作用を有する高比重リポタンパク(HDL)は単一の粒子ではなく、様々な種類の粒子の総称であり、それぞれのタンパクや脂質の構成成分や機能が大きく異なっているため、各種HDLをより詳細に調べる必要がある。

本研究により、プラーク中に存在する二つの酵素からHDLの主要なタンパクであるapoA-Iが二種類の断片へと変化すること、超低比重リポタンパクから中性脂肪分解酵素を制御するapoC群がHDLへ偏って転送されること、炎症性タンパクの血清アミロイドAによりHDLの構造や機能が著しく変化すること、赤血球からのコレステロール放出が各リポタンパクへ影響を与えることなどを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、脂質異常症や粥状動脈硬化の進展の把握に高比重リポタンパクコレステロール濃度の定量が行われているが、一部の患者の病態しか反映されておらず、新たな心血管イベントの予測因子の発見が期待されている。

本研究で特定された特殊な条件下による断片化apoA-Iに対する抗体が作製されれば、粥状動脈硬化症の進行度を反映する新たな検査法の開発に繋がる可能性がある。また、血中で常に接触している他のリポタンパクや赤血球との相互作用、炎症性タンパクによるHDLの性質・機能への影響を明らかにしたことは、脂質異常症や粥状動脈硬化進展のメカニズムのさらなる解明に繋がるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：High-density lipoprotein (HDL) is a lipoprotein having various types of anti-atherosclerotic functions so that the cholesterol levels in HDL is measured for risk assessment of atherosclerosis. However, HDL is not homogeneous but heterogeneous particle. Each HDL contains different type/amount of proteins and lipids resulting in showing different characters and functions. Therefore, in addition to the quantification of cholesterol in whole HDL, we should understand each HDL in detail.

Current study revealed that consecutive reactions to HDL by two enzymes (myeloperoxidase and chymase) produced mainly two types of truncated apoA-I, which is main apolipoprotein of HDL. We also suggested that very low-density lipoprotein preferably transferred apoCs (regulators of triglyceride-degrading enzyme) to HDL, serum amyloid A modified HDL characters and functions dramatically, and the release of cholesterol from red blood cells affected each lipoprotein.

研究分野：臨床検査医学

キーワード：高比重リポタンパク 粥状動脈硬化 バイオマーカー 脂質代謝

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高比重リポタンパク (HDL) (比重 1.063-1.210 g/mL) は末梢から肝臓へコレステロールを運搬するコレステロール逆転送能や抗炎症能, 単球遊走抑制能, 抗血栓作用, 血管内皮細胞の生存維持・増殖など多彩な抗動脈硬化作用を有するリポタンパクである。そのため従来, 粥状動脈硬化のリスク評価として, 血清 HDL コレステロールの定量が利用されている。しかしながら, HDL の“量”と上記の抗動脈硬化作用とは必ずしも比例しない。なぜなら, 生体内に存在する HDL は単一のものではなく, ヘテロジニアスなリポタンパクであり, それぞれのタンパクや脂質の構成成分や機能が大きく異なっているためである。したがって, HDL と粥状動脈硬化の連関や早期の病態把握のためには, より細分化された HDL を丁寧に理解する必要がある。HDL は, 肝臓によって生成されたアポリポタンパク A-I (apoA-I) がコレステロールやリン脂質を伴い原始 HDL となり, やがて, 超低比重リポタンパク (VLDL) や低比重リポタンパク (LDL) といった他のリポタンパクとの脂質・タンパクの受け渡しや自身の酵素の作用によって, 亜分画である HDL₃, HDL₂ へと変化していく。これら全体の HDL をまとめて HDL と称しているが, この広義の HDL のタンパクを解析すると, 実に約 100 種類の様々なタンパクが存在することが知られている。HDL の分子量を考えると, それぞれの HDL に含まれるタンパクの種類は異なり, それに伴い異なる機能を有することが予測され, HDL を安易に抗粥状動脈硬化因子とひとえに括することはできないと考えられる。また, 炎症などといった各種病態によってさらに修飾を受けることも知られており, 実際に, 当研究室において, アポリポプロテイン E (apoE) 含有 HDL が通常の HDL とは異なるコレステロール引き抜き能を有すること (Horiuchi et al. *Biological Chemistry*, 2019), マクロファージから分泌されるミエロペルオキシダーゼ (MPO) による酸化により, 単球遊走を抑制する機能が減弱すること (Kameda et al. *Journal of Lipids*, 2015), 炎症によって分泌される血清アミロイド A (SAA) が HDL の主要な構成タンパクである apoA-I と置き換わり特殊な HDL (SAA 含有 HDL) を形成し, その抗酸化能が増加されること (Sato et al. *Bioscience Reports*, 2016) など, 多彩な HDL と機能の違いについて数多くの重要な知見を見出している。したがって, それぞれの HDL のキャラクターを把握し, HDL と粥状動脈硬化の全容を解明することが急務であるが, 酸化 HDL や糖化 HDL など, ごく一部の HDL しか調べられておらず, 多くが未解明である。ごく最近, われわれは, プラーク中に存在する二つの酵素 (MPO, Chymase) が HDL に作用すると HDL 中の apoA-I が断片化されること (未発表), HDL と VLDL を反応させると, 中性脂肪代謝に中心的な役割を果たすアポリポプロテイン C 群 (apoCs) やアポリポプロテイン E (apoE), 不明なタンパクが VLDL から HDL へ転送される (未発表) という新たな HDL の手がかりを見出した。しかしながら, これら特殊な HDL の性質や機能は不明である。また, 前述した SAA 含有 HDL において, 炎症患者中の SAA 含有 HDL を解析すると, 患者ごとに SAA の分布のパターン (大粒子 HDL, 小粒子 HDL) が非常に多岐にわたることも (Sato et al. *Bioscience Reports*, 2016) 見出したが, これらの形成機序や機能は不明である。さらに, 研究代表者はオーストラリア Baker Heart and Diabetes institute における共同研究によって, 赤血球もまた HDL のコレステロール代謝に深く関わっていることを見出した (未発表)。したがって, 今回, これらの新たに発見した HDL においても, 広義の HDL とは性質や粥状動脈硬化に関わる機能が異なっている, という仮説に基づきさらに研究を進めていく。

2. 研究の目的

断片化 apoA-I 含有 HDL, VLDL により修飾された HDL, SAA 含有 HDL, 赤血球関連 HDL に

ついて、その生成のメカニズム、性質と機能を調べ、粥状動脈硬化の形成機序のさらなる解明や病態の早期把握、予防へと繋げることを目的とする（図1）。HDLと粥状動脈硬化の関連性が密であることは言うまでもないが、単純な構造である原始HDLが循環血液中で他の因子によってダイナミックに変動し多様化することが粥状動脈硬化の伸展の理解に複雑さと矛盾を生み出している。しかしながら、現在までのところ、

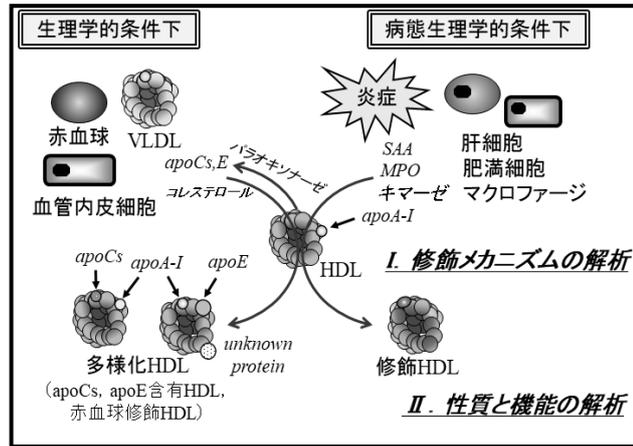


図1. 本研究の概略

、HDLと粥状動脈硬化の病態の関係性の一部分しか解明できていない。われわれはHDL研究に関するノウハウを生かし、世界に先駆けて、生体内（病態下も含む）には様々なHDLが存在し、その一部には異なる機能を有している多くの知見を見出してきた。今回、さらに生理学的・病態生理学的なHDLの多様性に関わる分子機構を解析するとともに、その多様化がもたらす性質・機能への影響について研究し、粥状動脈硬化伸展のメカニズムの更なる解明や病態の早期把握に貢献する。

3. 研究の方法

本研究では、HDLの多様化に関する分子機構の解明や、その多様化によって変化するHDLの性質や機能について明らかにする。そのために、①断片化apoA-Iの解析、②VLDL由来タンパクのHDLへの転送機序の解明および不明タンパクの同定、③SAA含有HDL形成機序の解明、④赤血球によるリポタンパクの修飾、に関する研究を行った。

(1) 断片化apoA-Iの解析

当研究室では、プラーク中に存在する二つの酵素（MPO, Chymase）の作用により、apoA-Iが切断され、約14.5 kDa, 12 kDaのペプチド断片が生成されることを明らかにしている。これらの断片をMALDI-TOF/TOF質量分析計（ultrafleXtreme）（Bruker社）にて切断部位および断片化apoA-Iのペプチド配列の決定を行った。健常者から分離したHDLにChymase, MPOを作用し、SDS-PAGEにて断片の生成を確認する。同じ試料を用いて、高速液体クロマトグラフィー（Prominence）（島津社）を用いて、二種類の断片化apoA-Iを単離し、MALDI-TOF/TOF質量分析計（ultrafleXtreme）（Bruker社）にて切断部位および断片化apoA-Iのペプチド配列を決定した。また、MPO, Chymase連続処理後のHDLのコレステロール引き抜き能を、当研究室で開発した固相化リポソームゲルビーズ法（Horiuchi et al. *Bioscience Reports*, 2018）を用いて行った。

(2) VLDL由来タンパクのHDLへの転送機序の解明および不明タンパクの同定

健常者から分離したVLDLをビオチン標識し、HDLの亜分画であるHDL₂およびHDL₃とそれぞれ反応させた後、HDL₂, HDL₃を再び分離した。各種アポリポタンパクのHDLからVLDLへの転送を確認するために、免疫沈降法を用いて、各HDLに含まれるVLDL由来のapoC-II, apoC-III, apoE中のビオチンを検出した。また、分離したHDL中のVLDL由来タンパクをゲル濾過HPLCにて粒子サイズ別に各フラクションを回収し、SDS-PAGEにてどの粒子サイズのHDLにVLDL由来タンパクが多く転送されるかを調べた。

(3) SAA含有HDL形成機序の解明

内科的疾患のない整形外科にて手術を受けた13名の患者残血清中の術前、術後（直後、1日、

3日、6日後)のHDLを解析した。各HDLの平均粒子サイズはゲル濾過HPLCを用いて、表面荷電はアガロースゲル電気泳動、SAAの各HDL亜分画への分布はポリアクリルアミド電気泳動とウェスタンブロットにて解析した。HDLコレステロール引き抜き能は、前述と同様に固相化リポソームゲルビーズ法(Horiuchi et al. *Bioscience Reports*, 2018)を用いて行った。

(4) 赤血球によるリポタンパクの修飾

HDLに強く影響を及ぼす可能性のある赤血球に着目して、赤血球による各種リポタンパクへの影響さらにはその因子を調べた。血漿を洗浄赤血球と同体積で混合し、

37°Cで反応させた。反応後に上清を回収し、総コレステロール(TC)濃度、遊離型コレステロール(FC)濃度を測定した。また同様に、超遠心で得られた各種リポタンパク(VLDL, LDL, HDL)およびリポタンパク除去血清(Lipo free)を赤血球と混合した条件や、赤血球と混和前にリポ蛋白中のレシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ(LCAT)を阻害した条件についても同様に評価した。また、赤血球からHDLへのコレステロールの移動を定量化する方法に関して、先行研究ではトリチウム標識コレステロールを用いていたが、蛍光コレステロールによる簡便な評価法への改良を試みた。

4. 研究成果

(1) 断片化 apoA-I の分析

プラーク中に存在する二つの酵素(Myeloperoxidase, Chymase)の作用によって産生された断片化 apoA-I をMALDI-TOF/TOF質量分析計およびLC-ESI-QToF質量分析計を解析した。データベースとの照合、断片化 apoA-I の質量より、両酵素の作用による切断部位を特定した。さらに、この断片化によるHDLの機能の一つであるコレステロール引き抜き能には影響がないことを確認した(投稿準備中)。今後、この断片化 apoA-I に対する特異抗体を精製し、プラーク中に局在する両酵素によって修飾を受けた断片化 apoA-I が血清中に検出されることを確認するとともに、粥状動脈硬化症の進行度と関連があるかを解析していく。

(2) VLDL 由来タンパクの HDL への転送機序の解明および機能への影響

VLDL と HDL₂ および HDL₃ を反応させた後、HDL 中の apoC-II, apoC-III を検出すると、VLDL の濃度依存的に apoC-II, apoC-III が転送された。さらに apoE の転送

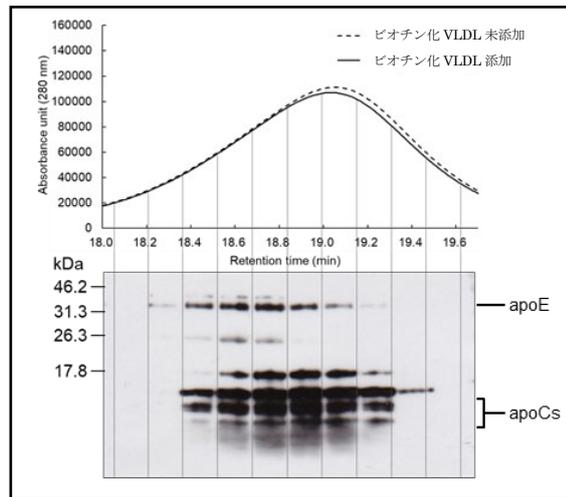


図2. VLDL から HDL への apoCs の転送
ビオチン標識した VLDL を HDL に反応させた後、HDL をゲル濾過 HPLC にて粒子サイズ別に分離し、ウェスタンブロットにてビオチンを視覚化した。

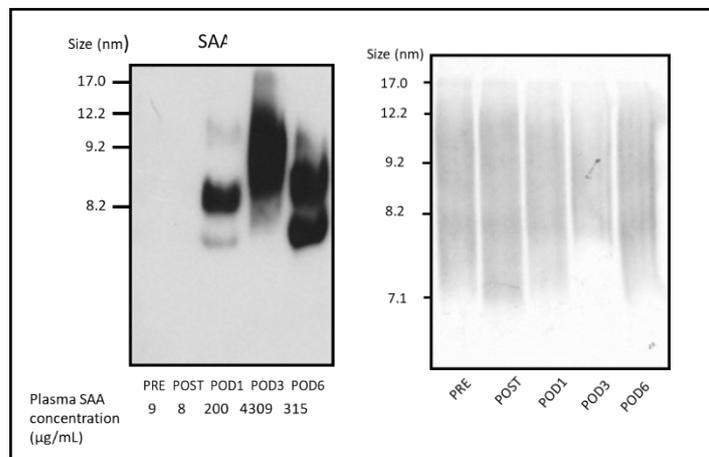


図3. 術後 SAA 増加に伴う HDL の変化
外科的手術前後における血清 HDL 中の SAA (左図) および apoA-I (右図) の分布を Native-PAGE により分析した。図中の Size (nm) は、HDL 粒子の直径をあらわしている。

も見られた (Yamazaki et al. *Biological Chemistry*, 2021). また, この転送が VLDL 由来であることをビオチン標識および免疫沈降法により確認した後, さらに apoC-II, apoC-III が HDL₂ や大型の HDL₃ へ優先的に転送されることを明らかにした (図 2). 健常者 HDL₂ および HDL₃ に含まれる apoC-II, apoC-III 含有量を測定したところ, 健常者間においても大きく偏っていることを確認した. 今後は, これらの VLDL-HDL 間のアポリポタンパクの受け渡しが, それぞれのリポタンパクの機能にどのような影響を及ぼすか解析していく.

(3) 血清アミロイド A (SAA) 含有 HDL 形成機序の解明

整形外科にて手術を受けた 13 名の患者の術前, 術後 (直後, 1 日, 3 日, 6 日後) の残血清において, SAA と HDL の変化を解析したところ, SAA は術後 3 日目にピークに到達し, HDL 中の SAA 含有量もそれに伴い増加した. さらに, SAA ピーク時の血清では, 小型の HDL が消失していることを明らかにした (図 3). このピーク時の血清中の HDL-SAA の増加量は, HDL の平均粒子サイズ, 表面荷電の陰性化と正の相関を示した (Shimano et al. *BioMmed Research International*, 2021). さらに, 上記の HDL を用いてコレステロール引き抜き能を調べたところ, 一部の検体において, SAA の増加に伴ってコレステロール引き抜き能の低下が認められた.

(4) 赤血球によるリポタンパクの修飾

血漿と赤血球を接触させると, 血漿中 TC 濃度は赤血球との反応 48 時間後に約 20% (35.02 mg/dL) 増加した. また LCAT を阻害した血漿を用いると, 赤血球から血漿のコレステロールの受け取り量は制限された. さらに VLDL, HDL, Lipo free をそれぞれ赤血球と反応させると, 増加した TC 中の FC の割合はそれぞれ 96.41%, 84.33%, 91.71%であったのに対し, LDL では, 増加した TC 中の 49.07%が EC であるという予想に反する結果が得られた (赤血球膜のコレステロールの大半が FC であるため). このように, 血漿中の各種リポタンパクは赤血球からコレステロールを多く受け取り, その因子として LCAT が重要であったが, エステル型コレステロールの増加の原因は不明であった.

さらに, この赤血球から HDL へのコレステロールの移動を定量化する方法に関して, 先行研究ではトリチウム標識コレステロールを用いていたが, 蛍光コレステロールによる簡便な評価法への改良を行った. これにより, 経時的な赤血球から HDL へのコレステロールの移動が観察可能となり, 今後, この方法を利用して, 上記の課題も含めさらに検討していく.

以上, 本研究により, 他のリポタンパク, 血球細胞, 炎症性物質などの様々な (病態) 生理学的条件下における各種 HDL の性質・機能への変化の一端を明らかにした. 今後, さらに病態との関連を解明, 特殊な修飾 HDL を検出あるいは機能評価する方法の開発を目指していく.

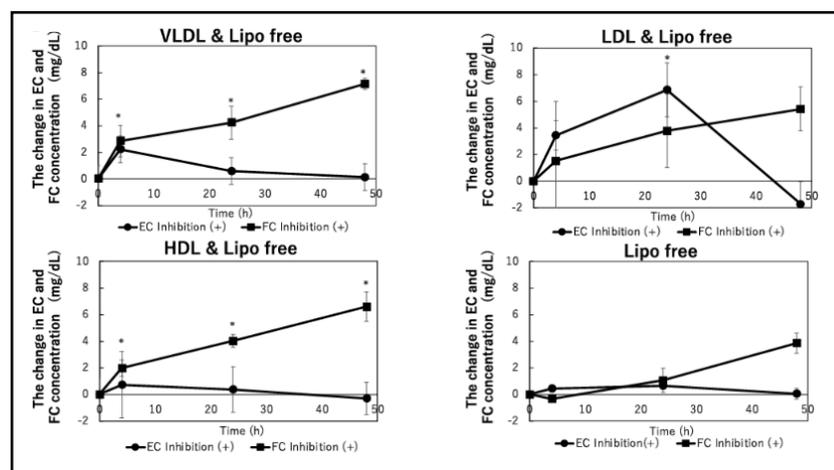


図 4. 各種リポタンパク (VLDL, LDL, HDL) および Lipo free を赤血球と接触させた際の, コレステリルエステル (EC), フリーコレステロール (FC) の変化を示す. FC から EC への変化を抑制するために, それぞれのリポタンパクおよび Lipo free には LCAT 阻害剤処理を行っている

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 大川 龍之介, 堀内 優奈, 戸塚 実	4. 巻 70
2. 論文標題 固相化リボソーム結合ゲルビーズ法によるコレステロール引き抜き能測定	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本臨床検査医学会誌	6. 最初と最後の頁 314-322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 渡部 芽以, 島野 志都子, 亀田 貴寛, 藤井 祐葵, 平尾 裕子, 大野 一彦, 市村 直也, 東田 修二, 大川 龍之介	4. 巻 47
2. 論文標題 生化学自動分析装置を用いたアポリポタンパクE含有高比重リポタンパクコレステロール測定試薬の性能評価	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 医療検査と自動化	6. 最初と最後の頁 43-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ogino Mei, Kameda Takahiro, Mutsuda Yume, Tanaka Hideko, Takahashi Junichiro, Okazaki Mitsuyo, Ai Masumi, Ohkawa Ryunosuke	4. 巻 -
2. 論文標題 Development of internal standard for lipoprotein subclass analysis using dual detection gel-permeation high-performance liquid chromatography system	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BSR20220291	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Horiuchi Yuna, Lai Shao-Jui, Kameda Takahiro, Tozuka Minoru, Ohkawa Ryunosuke	4. 巻 59
2. 論文標題 Novel cholesterol efflux assay using immobilized liposome-bound gel beads: Confirmation and improvement for application in clinical laboratory	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine	6. 最初と最後の頁 134 ~ 143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/00045632211054406	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kameda Takahiro, Horiuchi Yuna, Shimano Shitsuko, Yano Kouji, Lai Shao-Jui, Ichimura Naoya, Tohda Shuji, Kurihara Yuriko, Tozuka Minoru, Ohkawa Ryunosuke	4. 巻 403
2. 論文標題 Effect of myeloperoxidase oxidation and N-homocysteinylation of high-density lipoprotein on endothelial repair function	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 265 ~ 277
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1515/hsz-2021-0247	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi Tamaki, Kurano Makoto, Nanya Mai, Shimizu Tomo, Ohkawa Ryunosuke, Tozuka Minoru, Yatomi Yutaka	4. 巻 28
2. 論文標題 Glycation of HDL Polymerizes Apolipoprotein M and Attenuates Its Capacity to Bind to Sphingosine 1-Phosphate	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 730-741
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.55699	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimano Shitsuko, Ohkawa Ryunosuke, Nambu Mayu, Sasaoka Mai, Yamazaki Azusa, Fujii Yuki, Horiuchi Yuna, Lai Shao-Jui, Kameda Takahiro, Ichimura Naoya, Fujita Koji, Tohda Shuji, Tozuka Minoru	4. 巻 2021
2. 論文標題 Marked Changes in Serum Amyloid A Distribution and High-Density Lipoprotein Structure during Acute Inflammation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BioMed Research International	6. 最初と最後の頁 1 ~ 8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2021/9241259	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Horiuchi Yuna, Lai Shao-Jui, Kameda Takahiro, Tozuka Minoru, Ohkawa Ryunosuke	4. 巻 40
2. 論文標題 Comparison of a novel cholesterol efflux assay using immobilized liposome-bound gel beads with the conventional method	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience Reports	6. 最初と最後の頁 1 ~ 11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BSR20201495	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Low Hann, Mukhamedova Nigora, Capettini Luciano dos Santos Aggum, Xia Yining, Carmichael Irena, Cody Stephen H., Huynh Kevin, Ditiatkovski Michael, Ohkawa Ryunosuke, Bukrinsky Michael, Meikle Peter J., Choi Soo-Ho, Field Seth, Miller Yury I., Sviridov Dmitri	4. 巻 40
2. 論文標題 Cholesterol Efflux-Independent Modification of Lipid Rafts by AIBP (Apolipoprotein A-I Binding Protein)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology	6. 最初と最後の頁 2346 ~ 2359
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/ATVBAHA.120.315037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ohkawa, R., Low, H., Mukhamedova, N., Fu, Y., Lai, S.J., Sasaoka, M., Hara, A., Yamazaki, A., Kameda, T., Horiuchi, Y., Meikle, J.P., Pernes, G., Lancaster, G.I., Ditiatkovski, M., Nestel, P., Vaisman, B.L., Sviridov, D., Murphy, A.J., Remaley, A.T., Sviridov, D., and Tozuka, M	4. 巻 61
2. 論文標題 Cholesterol transport between red blood cells and lipoproteins contributes to cholesterol metabolism in blood	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Lipid Research	6. 最初と最後の頁 1577 ~ 1588
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1194/jlr.RA120000635	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamazaki Azusa, Ohkawa Ryunosuke, Yamagata Yuka, Horiuchi Yuna, Lai Shao-Jui, Kameda Takahiro, Ichimura Naoya, Tohda Shuji, Tozuka Minoru	4. 巻 402
2. 論文標題 Apolipoprotein C-II and C-III preferably transfer to both high-density lipoprotein (HDL)2?and the larger HDL3?from very low-density lipoprotein (VLDL)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 439 ~ 449
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1515/hsz-2020-0288	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mukhamedova Nigora, Hoang Anh, Dragoljevic Dragana, Dubrovsky Larisa, Pushkarsky Tatiana, Low Hann, Ditiatkovski Michael, Fu Ying, Ohkawa Ryunosuke, Meikle Peter J., Horvath Anelia, Brichacek Beda, Miller Yury I., Murphy Andrew, Bukrinsky Michael, Sviridov Dmitri	4. 巻 15
2. 論文標題 Exosomes containing HIV protein Nef reorganize lipid rafts potentiating inflammatory response in bystander cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 e1007907
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1007907	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Lai Shao-Jui, Ohkawa Ryunosuke, Horiuchi Yuna, Kubota Tetsuo, Tozuka Minoru	4. 巻 400
2. 論文標題 Red blood cells participate in reverse cholesterol transport by mediating cholesterol efflux of high-density lipoprotein and apolipoprotein A-I from THP-1 macrophages	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 1593 ~ 1602
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1515/hsz-2019-0244	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大久保 滋夫, 堀内 優奈, 増山 みさき, 大川 龍之介, 金森 きよ子, 川上 保子, 戸塚 実	4. 巻 19
2. 論文標題 修飾高比重リポタンパクの機能解析と粥状動脈硬化形成との関わり	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 文京学院大学総合研究所紀要	6. 最初と最後の頁 175 ~ 183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計39件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 孫 成満, 亀田 貴寛, 大川 龍之介
2. 発表標題 HDL中のアポリポタンパク A-I/A-II複合体の測定法の改良
3. 学会等名 第16回東京都医学検査学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原 安由子, 亀田 貴寛, 山崎 あずさ, 平尾 裕子, 大川 龍之介
2. 発表標題 赤血球-リポタンパク間におけるコレステロール移動の評価
3. 学会等名 第16回東京都医学検査学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 陸田 優芽, 亀田 貴寛, 田中 秀子, 高橋 純一郎, 岡崎 三代, 藍 真澄, 大川 龍之介
2. 発表標題 ゲル濾過HPLCを用いて分離されたりポタンパク分画分析における採血管および凍結保存による影響
3. 学会等名 第61回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 陸田 優芽, 堀内 優奈, 亀田 貴寛, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 固相化リボソーム結合磁気ビーズ法の開発と評価
3. 学会等名 第61回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀内 優奈, 亀田 貴寛, 市村 直也, 喜納 勝成, 三宅 一徳, 東田 修二, 戸塚 実, 三井田 孝, 大川龍之介
2. 発表標題 無細胞系コレステロール引き抜き能評価法における血清のポリエチレングリコール処理条件の検討
3. 学会等名 第61回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 堀内 優奈, 山崎 あずさ, 藤井 祐葵, 亀田 貴寛, 市村 直也, 喜納 勝成, 三宅 一徳, 東田 修二, 戸塚 実, 三井田 孝, 大川龍之介
2. 発表標題 免疫グロブリン高値検体のコレステロール引き抜き能評価
3. 学会等名 第53回日本動脈硬化学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮腰 恒広, 陸田 優芽, 堀内 優奈, 亀田 貴寛, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 ILG法を用いた高比重リポタンパクのコレステロール引き抜き能の測定におけるビリルビンの影響回避の検討
3. 学会等名 日本医療検査科学会第53回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 清水 梨帆, 原 安由子, 川口 莉奈, 亀田 貴寛, 大川 龍之介
2. 発表標題 蛍光標識コレステロールを用いた赤血球コレステロール放出能測定法の検討
3. 学会等名 日本医療検査科学会第53回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 荻野 芽生, 亀田 貴寛, 大川 龍之介
2. 発表標題 . 11,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) を用いた血清抗酸化能測定系の確立
3. 学会等名 日本医療検査科学会第53回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 陸田 優芽, 亀田 貴寛, 田中 秀子, 高橋 純一郎, 岡崎 三代, 藍 真澄, 大川 龍之介
2. 発表標題 ゲル濾過HPLCを用いて分離されたりポタンパク分画におけるヘモグロビンの影響回避の検討
3. 学会等名 日本医療検査科学会第53回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渋谷 茉璃乃, 陸田 優芽, 堀内 優奈, 亀田 貴寛, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 固相化リボソーム結合ゲルビーズを用いたリン脂質引き抜き能評価法の確立
3. 学会等名 第15回日本臨床検査学教育学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mutsuda Y., Kameda T., Tanaka H., Takahashi J., Okazaki M., Ai M., and Ohkawa R
2. 発表標題 Analysis of apolipoproteins distribution in subdivided lipoprotein fractions applying LipoSEARCH system
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Horiuchi Y., Kameda T., Ichimura N., Kina K., Miyake K., Tohda S., Tozuka M., Miida T., and Ohkawa R
2. 発表標題 Novel cholesterol efflux assay using immobilized liposome-bound gel beads: validation of condition in polyethylene glycol precipitation procedure
3. 学会等名 The 19th International Symposium on Atherosclerosis (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Horiuchi Y., Lai S.J., Shimano S., Kameda T., Ichimura N., Tohda S., Tozuka M. and Ohkawa R.
2. 発表標題 Novel cholesterol efflux assay using immobilized liposome-bound gel beads: comparison to conventional method
3. 学会等名 88th EAS congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Horiuchi Y., Lai S.J., Shimano S., Kameda T., Ichimura N., Tohda S., Tozuka M. and Ohkawa R.
2. 発表標題 Novel cholesterol efflux assay using immobilized liposome-bound gel beads: confirmation and improvement for application in clinical laboratory
3. 学会等名 2020 AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shimano S., Ohkawa R., Nambu M., Sasaoka M., Yamazaki A., Fujii Y., Igarashi K., Horiuchi Y., Lai S.J., Kameda T., Ichimura N., Fujita K., Tohda S. and Tozuka M
2. 発表標題 Dramatic change of high-density lipoprotein structure and serum amyloid A distribution after orthopedic surgery
3. 学会等名 2020 AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ohkawa R., Low H., Mukhamedova N., Fu Y., Lai S.J., Sasaoka M., Horiuchi Y., Ditiatkovski M., Nestel P., Sviridov D., and Tozuka M.
2. 発表標題 Evaluation of cholesterol uptake and efflux by red blood cells
3. 学会等名 2020 AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀内 優奈, 山崎 あずさ, 島野 志都子, 亀田 貴寛, 市村 直也, 東田 修二, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 培養細胞および放射性物質を用いない新たな測定法によるコレステロール引き抜き能とHbA1cの関連の検討
3. 学会等名 第52回日本動脈硬化学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 陸田 優芽, 堀内 優奈, 島野 志都子, 藤井 祐葵, 山崎 あずさ, 頼 劭睿, 亀田 貴寛, 市村 直也, 藤田 浩二, 東田 修二, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 炎症患者における血清アミロイドAによる高比重リポタンパクのコレステロール引き抜き能への影響
3. 学会等名 日本医療検査科学会第52回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 亀田 貴寛, 島野 志都子, 堀内 優奈, 矢野 康次, 頼 劭睿, 市村 直也, 東田 修二, 栗原 由利子, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 MPO酸化修飾およびN-ホモシステイン化修飾がHDLの血管内皮修復能に及ぼす影響について
3. 学会等名 第60回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎 あずさ, 堀内 優奈, 頼 劭睿, 亀田 貴寛, 市村 直也, 東田 修二, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 HDL亜分画におけるタイトルアポリポプロテインC-IIおよびアポリポプロテインC-IIIの分布とVLDLからの転送について
3. 学会等名 第60回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀内 優奈, 島野 志都子, 頼 劭睿, 亀田 貴寛, 市村 直也, 東田 修二, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 無細胞系コレステロール引き抜き能測定法の臨床現場での測定に向けた検討
3. 学会等名 第60回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡部 芽以, 島野 志都子, 亀田 貴寛, 藤井 祐葵, 大野 一彦, 市村 直也, 東田 修二, 大川 龍之介
2. 発表標題 生化学自動分析装置を用いたアポリポタンパクE含有高比重リポタンパクコレステロール測定試薬の性能評価
3. 学会等名 第67回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤井 祐葵, 島野 志都子, 渡部 芽以, 堀内 優奈, 亀田 貴寛, 大野 一彦, 市村 直也, 東田 修二, 大川 龍之介
2. 発表標題 自動分析装置による高比重リポタンパク亜分画コレステロールの測定
3. 学会等名 第67回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山崎 あずさ, 堀内 優奈, 頼 勁睿, 亀田 貴寛, 市村 直也, 東田 修二, 大川 龍之介
2. 発表標題 赤血球膜コレステロール含有量測定法の検討
3. 学会等名 第67回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀内 優奈, 頼 勁睿, 島野 志都子, 亀田 貴寛, 市村 直也, 東田 修二, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 無細胞系コレステロール引き抜き能測定法におけるreference serumに代わるタンパクの探索
3. 学会等名 第67回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ohkawa R.
2. 発表標題 Various types of research networks for medical technology
3. 学会等名 the 5th congress of AASMT (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Horiuchi Y., Ohkawa R., Lai S.J., Shimano S., Hagihara M., Tohda S., and Tozuka M
2. 発表標題 Availability of apoB-depleted serum in clinical assay for cholesterol efflux capacity using immobilized liposome-bound gel beads
3. 学会等名 European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 2019.5.19-5.23. Barcelona (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fujii Y., Ohkawa R., Lai S.J., Horiuchi Y., Shimano S., Ohno K., Ichimura N., Hagihara M., Tozuka M., Tohda S
2. 発表標題 Analysis of Serum Amyloid A Containing HDL Formation in HepG2
3. 学会等名 2019 KAMT congress & International conference. 2019.8.30-8.31. Pyeongchang (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamazaki A., Ohkawa R., Horiuchi Y., Lai S.J., Shimano S., Itoi A., Ichimura N., Hagihara M., Tozuka M., Tohda S
2. 発表標題 Analysis of Apolipoprotein C-II and C-III Transfers between High-density Lipoprotein and Very Low-density Lipoprotein
3. 学会等名 2019 KAMT congress & International conference. 2019.8.30-8.31. Pyeongchang (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原 安由子, 頼 劭睿, 笹岡 真衣, 堀内 優奈, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 酵素法と蛍光標識法を用いた赤血球コレステロール放出能測定法の検討
3. 学会等名 第14回日本臨床検査教育学会学術大会 . 2019.08.21-08.23 . 熊本
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 陸田 優芽, 堀内 優奈, 藤井 祐葵, 頼 劭睿, 戸塚 実, 大川 龍之介 . 血清アミロイドAが高比重リポタンパクのコレステロール引き抜き能に及ぼす影響
2. 発表標題 血清アミロイドAが高比重リポタンパクのコレステロール引き抜き能に及ぼす影響
3. 学会等名 第14回日本臨床検査教育学会学術大会 . 2019.08.21-08.23 . 熊本
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 頼 劭睿, 山形 友香, 堀内 優奈, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 Myeloperoxidaseとchymaseの連続的作用により産生されたHDL中の新たな断片化apolipoprotein A-Iの解析
3. 学会等名 第14回日本臨床検査教育学会学術大会 . 2019.08.21-08.23 . 熊本
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀内 優奈, 頼 劭睿, 鳥野 志都子, 萩原 三千男, 東田 修二, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 血清を測定対象とする固相化リポソーム結合ゲルビーズを用いたコレステロール引き抜き能測定の検討
3. 学会等名 第59回日本臨床化学会年次学術集会 . 2019.9.27-9.29 . 仙台
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀内 優奈, 頼 劭睿, 島野 志都子, 萩原 三千男, 東田 修二, 戸塚 実, 大川 龍之介
2. 発表標題 臨床現場で利用可能なコレステロール引き抜き能測定法の開発と評価
3. 学会等名 日本臨床検査自動化学会第51回大会 . 2019.10.03-10.05 . 横浜
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀内 優奈, 南部 真由, 頼 劭睿, 戸塚 実, 大川龍之介
2. 発表標題 固相化リボソーム結合ゲルビーズを用いたコレステロール引き抜き能測定法の従来法との比較
3. 学会等名 第66回日本臨床検査医学会学術集会 . 2019.11.21-24 . 福岡
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 南部 真由, 堀内 優奈, 頼 劭睿, 戸塚 実, 大川龍之介
2. 発表標題 新たなコレステロール引き抜き能評価法へのレシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼの影響
3. 学会等名 第66回日本臨床検査医学会学術集会 . 2019.11.21-24 . 福岡
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山形 友香, 山崎 あずさ, 頼 劭睿, 堀内 優奈, 戸塚 実, 大川龍之介
2. 発表標題 超低比重リポタンパクと高比重リポタンパク間におけるアポリポタンパク転送の解析
3. 学会等名 第66回日本臨床検査医学会学術集会 . 2019.11.21-24 . 福岡
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤井 祐葵, 大川 龍之介, 堀内 優奈, 頼 劭睿, 島野 志都子, 大野 一彦, 萩原 三千男, 戸塚 実, 東田 修二
2. 発表標題 HepG2を用いたSAA含有HDLの形成メカニズムの解析
3. 学会等名 第66回日本臨床検査医学会学術集会. 2019.11.21-24. 福岡
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 新規のコレステロール引き抜き能測定法	発明者 大川龍之介, 陸田優芽, 堀内優奈, 亀田貴寛, 戸塚実	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021- 94456	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 新規のコレステロール引き抜き能測定法	発明者 大川龍之介, 陸田優芽, 堀内優奈, 亀田貴寛, 戸塚実	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2022/022081	出願年 2022年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

先端分析検査学分野ホームページ https://www.tmd.ac.jp/gradh/alc/index.html

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
オーストラリア	Baker Heart and Diabetes Institute			