

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：32643

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15641

研究課題名（和文）臨床検査への応用に向けたトータルネットコレステロール引き抜き能評価法の開発

研究課題名（英文）Development of a Total Net Cholesterol Efflux Capacity Analysis Method for Clinical Laboratory Applications

研究代表者

亀田 貴寛（Kameda, Takahiro）

帝京大学・医療技術学部・講師

研究者番号：80758558

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：高比重リポタンパク（HDL）には動脈硬化を予防するコレステロール引き抜き能（CEC）がある。我々は、培養細胞や放射性物質の代わりにリポソームやBODIPY標識コレステロールを用いることで、高精度で簡便かつ安全なCEC評価法を開発し、固定化リポソーム結合ゲルビーズ法（ILG法）と命名した。一方、血清および血漿に含まれるビリルビンがCEC値に正の誤差をもたらすことが明らかになった。ビリルビンがCECに及ぼす影響の改善を試みた。励起波長の変更により、ビリルビンによる陽性誤差が約70%改善した。さらに、ビリルビンオキシダーゼの使用により、CECの偽高値を約80%改善することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、肝機能障害や新生児黄疸などの高ビリルビン血症検体のCEC値が測定できるようになった。特に、ILG法はCVDリスクを早期に評価するスクリーニング検査としての臨床導入を視野に入れているため、高ビリルビンの黄疸血清などの様々な検体への適用性を担保することが重要である。今回のビリルビンによる陽性誤差の改善は、ビリルビンが正常範囲にある患者にとっても有意義である。本研究で得られた結果は、BODIPY標識コレステロールを用いたCEC測定法全般において、ビリルビンが関与する測定値への影響の解決に大きく貢献すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：High-density lipoprotein (HDL) has cholesterol efflux capacity (CEC) to prevent atherosclerosis. We developed a highly accurate, simple, and safe method for CEC assessment using liposomes and BODIPY-labelled cholesterol instead of cultured cells or radioactive materials, which we named the immobilized liposome-linked gel bead (ILG) method. The ILG method can be performed in clinical practice. However, our previous study showed that bilirubin causes a positive error in the CEC value. Therefore, in this study, we attempted to improve the effect of bilirubin levels on the ILG method. It was found that bilirubin emitted fluorescence in the measurement setup of the ILG method. The positive error due to bilirubin could be improved by approximately 70% by shifting the excitation wavelength. Furthermore, the use of bilirubin oxidase improved the false high value of CEC by approximately 80%.

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 コレステロール引き抜き能 リン脂質引き抜き能

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) 動脈硬化と脂質検査

動脈硬化の検査として、低比重リポタンパク (LDL) および高比重リポタンパク (HDL) コレステロールの検査が普及している。疫学研究の結果から LDL-コレステロールは低いほうが良く、LDL コレステロール低下薬により、動脈硬化性疾患への一定の効果が認められている。しかし、LDL が基準範囲にも関わらず心血管イベント発生を引き起こす残余リスクの存在が新たに注目されている。多くの前向き研究により、低 HDL 血症が心血管疾患の独立した危険因子であることが明らかになった。薬物介入による HDL 増加の臨床試験が次々に行われたが、いまだ心血管イベントのリスクを低下させるような結果は示されていない。**従来のコレステロール量のみ**の評価には限界があり、**HDL をターゲットにした治療・予防戦略は「量から質」への転換期を迎えている。**

### (2) コレステロール引き抜き能の評価

HDL が担う動脈硬化に対する多彩な機能として、マクロファージなどの抹消細胞からのコレステロール引き抜き能 (CEC)、抗酸化能、抗炎症作用、内皮機能保護作用、抗血栓作用などが示されている。特に CEC は HDL コレステロールより優れた心血管疾患のリスクマーカーとして世界的に期待されている。しかし、従来の研究手法における HDL の CEC 測定は、培養マクロファージにトレーサーとして放射性標識コレステロールを取り込ませ、HDL によって細胞外へ移動したトレーサー量を評価している。しかし、本測定法の臨床検査への直接の応用は極めて困難であると言わざるを得ない。この測定法は、「細胞の使用、放射性同位体の使用、手技が煩雑、装置化が困難」という問題点をもつ。さらに私たちは CEC 評価の結果が研究グループ間で異なる点に着目し、機能の測定法を精査した。その結果、CEC の測定値が培養細胞の泡沫化の程度によって変化することを明らかにした (Yano et al. *Journal of Lipids*, 2016)。そこで私たちは臨床検査への応用に向けた固着化リポソーム結合ゲルビーズ (immobilized liposome-bound gel beads; ILG) を用いた測定法を開発した (Horiuchi et al. *Bioscience Reports*, 2018)。従来法との比較検討から、ILG が培養細胞に代わるコレステロールドナーとして有効であることが確認された (Horiuchi et al. *Bioscience Reports*, 2019; Horiuchi et al. *Bioscience Reports*, 2020)。しかし、将来の臨床現場での使用を視野に入れた場合、得られた結果を正しく解釈するために ILG 法の結果と疾患との関係性を引き続き精査する必要がある。また、HDL は他のリポタンパクからの脂質成分の流入、各種受容体、輸送体を介したコレステロールの移動、細胞密度勾配による取り込みにより成熟する。また、コレステロールエステル転送タンパク (CETP) による HDL のエステル型コレステロールと他のリポタンパクの中性脂肪との交換などの脂質転送が同時に進行している。HDL の血中濃度は動的な平衡状態とコレステロールホメオスタシスにより調節され、代謝様式のトータルネットに依存する。こうした HDL のネットのコレステロール運搬能力と CEC との関連は依然不明である。

## 2. 研究の目的

(1) 粥状動脈硬化の抑制には HDL の CEC の役割が非常に重要とされている。本研究では、HDL 以外のリポタンパクも含めた総合的な脂質保持容量の指標として、脂質分画異常でのトータルコレステロール引き抜き能の関連性を明らかにすることで粥状動脈硬化症の伸展のメカニズムを紐解き、病態の早期把握を目指す。

(2) 研究計画段階において HDL 以外のリポタンパクの影響を確認するため、超遠心法で得たカイロミクロン、超低比重リポタンパク、LDL を異なる比率にて再構成し、リポタンパク分画の組成割合の違いがトータル CEC に与える影響を解析するについて検討予定であったが、超遠心後の再構成リポタンパクを作成する際に使用される血清のビリルビンが ILG 法へ CEC 値に正の誤差をもたらすことが明らかになった。そこで上記の検討を行う前段階として、ビリルビン値が ILG 法に及ぼす影響の改善を試みた。

## 3. 研究の方法

本研究では、HDL 以外のリポタンパクも含めた総合的な脂質保持容量の指標として、脂質分画異常でのトータルコレステロール引き抜き能の関連性を明らかにすることを最終目標とする。今回の研究においては、その前段階としてビリルビン値が ILG 法に及ぼす影響の改善、ILG 法を用いたリン脂質引き抜き能 (PEC) 評価法の検討を行った。また先に述べたように HDL は他のリポタンパクからの脂質成分の流入、各種受容体、輸送体を介したコレステロールの移動、細胞密度勾配による取り込みにより成熟する。また、当研究室では急性期反応蛋白である血清アミロイド A (SAA) が HDL の性質や機能へ与える影響について着目し、抗粥状動脈硬化作用との関わりを明らかにしてきた。SAA の 90%以上が HDL と結合することが知られているが、HDL 以外のリポタンパクとも結合し複合体を形成することが明らかになっており、虚血性心疾患の血中には SAA と LDL との複合体 (SAA-LDL) が高値を示すことが報告されている。この HDL 以外のリポタンパクへの SAA の分布・転送は前述のリポタンパク分画異常や CETP の関与が疑

われている。リポタンパク分画の組成割合の違いがトータル CEC に与える影響を解析に先立って、SAA 添加の条件にて同様に解析を行い、SAA によるリポタンパク分画への影響を評価した。

#### (1) ビリルビン値が ILG 法に及ぼす影響の改善

超遠心後の再構成リポタンパクのビリルビンが ILG 法へ CEC 値に正の誤差をもたらすことが明らかになったため、ビリルビンが ILG 法で CEC 値に正の誤差を生じる原因を調べるため、BODIPY 標識コレステロールとビリルビンの 3 次元蛍光スペクトルを測定した。ポリエチレングリコールを用いてアポリポタンパク B 除去血清 (BDS) を作製し、BODIPY 標識コレステロール含有リポソームを固相化ゲルビーズ (ILG) と 16 時間インキュベートした後、アッセイ後に得られた BDS 中の BODIPY 標識コレステロール、およびインキュベーション後の BDS 中の遊離および抱合ビリルビンの蛍光スペクトルを測定した (励起波長: 450 ~ 510 nm、蛍光波長: 490 ~ 600 nm)。ビリルビンは、「干渉チェック A プラス」(シスメックス株式会社)のビリルビンを使用した。

ビリルビンオキシダーゼ (BOD) を 150 mM の NaCl と 1 mM の EDTA を含む 10 mM Tris-HCl (pH7.4) に添加し、BOD 含有緩衝液を調整した。ビリルビンの調整については、上記の「干渉チェック A プラス」のビリルビンを血清に添加し (遊離型: 10 mg/dL、抱合型: 9.7 mg/dL) ポリエチレングリコールを用いてビリルビン添加血清から BDS を得た。調製したビリルビン添加血清 BDS を BOD 含有緩衝液と 16 時間インキュベートした後、吸光度スペクトルを分析した。さらに、16 時間のインキュベーションの間、ビリルビンの減少の時間経過をモニターした。さらに、BOD 含有 Buffer でインキュベートしたビリルビン添加 BDS の蛍光強度を測定した。

#### (2) ILG 法を用いたリン脂質引き抜き能 (PEC) 評価法の検討

PEC 測定のためのトレーサーとして Texas-Red-DHPE を含んだリポソームを作製し、これをゲルビーズに固相化した。リポソーム固相化ゲルビーズにアクセプターとして超遠心により分取した HDL、LDL、アルブミン、および血清、BDS の計 5 種類を混和、18 時間室温でインキュベーション後の上清の蛍光強度を FLUOROSKAN ASCENT により測定した (励起波長: 584 nm、蛍光波長: 612 nm)。それぞれのアクセプターは血清相当濃度で 5%、15%、25% に調整した条件と、濃度を 25% に固定し、HDL とアルブミン、LDL と BDS を混和した条件についても評価した。

#### (3) SAA によるリポタンパク分画への影響の評価

SAA は急性および慢性炎症時に増高する急性相反応蛋白の一つであり、分泌された SAA の 90%以上が HDL と結合することが知られている。以前、SAA が HDL の組成と表面電荷に影響を与え、その抗酸化力を増強することを報告した。一方、リコンビナントヒト SAA (rhSAA) を LDL に作用させ、リポタンパク電気泳動にて解析すると SAA と LDL が同一の泳動位置に共存し、LDL 自体が陽極側に移動する傾向がみられた。SAA が LDL に結合し、その表面電荷に影響を与えたと予想される。超遠心分離によって得た LDL (1.0 mg protein/mL) を 10、200、400 mg/L の rhSAA と反応させ、血清アミロイド A 修飾低比重リポタンパク (SAA-LDL) を得た。表面電荷をリポタンパク電気泳動、粒子径を Native-PAGE と抗 apolipoprotein (apo) B 抗体、抗 SAA 抗体を用いたウェスタンブロッティングによって分析した。抗酸化能は LDL (50  $\mu$ g protein/mL) を硫酸銅および 2,2'-Azobis(4-methoxy-2,4-dimethylvaleronitrile) (V-70) とそれぞれ 37 で反応させ、形成される共役ジエンを波長 234 nm にてモニターした。

### 4. 研究成果

#### (1) ビリルビン値が ILG 法に及ぼす影響の改善

BODIPY 標識コレステロールとビリルビンの 3 次元蛍光スペクトルを測定した (図 1A-B)。ILG 法の測定に使用される BODIPY 標識コレステロールの測定領域においてビリルビンが蛍光

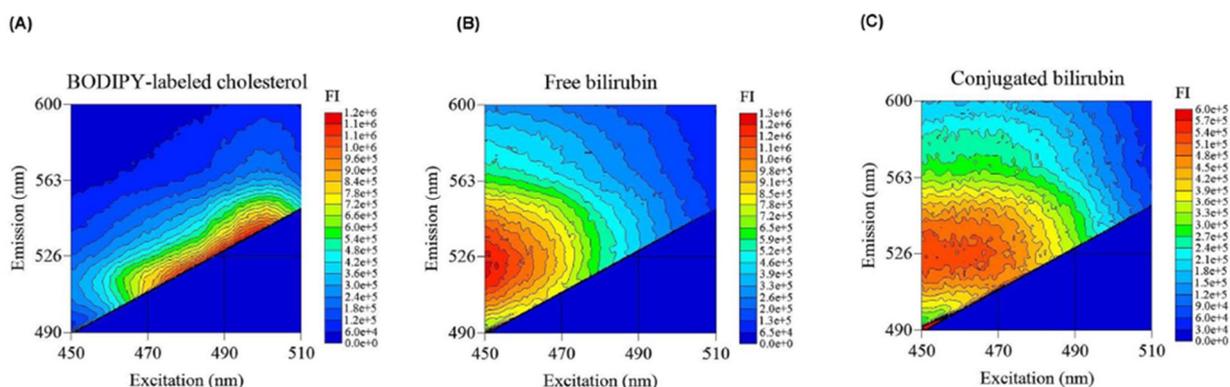


図 1. BODIPY 標識コレステロールとビリルビンの 3 次元蛍光スペクトルの比較

ILG アッセイ後に得られた BDS 中の BODIPY 標識コレステロール (A), およびインキュベーション後の BDS 中の遊離 (B) および抱合 (C) ビリルビンの蛍光スペクトルを示す。各 3 次元蛍光スペクトルは、蛍光強度のヒートマップとして表す。

を発することが確認された。そこで、ビリルビンが発する蛍光を避けるため、BODIPY 標識コレステロールの定量には励起波長をシフトした ILG 法を用いて CEC を測定した。励起波長を 485 nm (従来の励起波長) または 498 nm (新規励起波長) に設定した ILG 法を用いて、ビリルビン添加血清と陽性誤差の CEC 値を比較した。ビリルビン無添加血清 CEC に対する比によって計算された遊離 (図 2A) または抱合 (図 2B) ビリルビンの陽性誤差が示されている。励起波長をずらすことで、ビリルビンによる正誤差を約 70% 改善することができた。

また、ILG 法におけるインキュベーション時間中に緩衝液にビリルビンオキシダーゼを用いてビリルビンを酸化し、ビリルビンを消去することで蛍光を減弱可能であるかを検討した (図 3A、B)。ビリルビンオキシダーゼを利用することで、CEC の偽高値を約 80% 改善することができた。

ビリルビンは BODIPY-コレステロールを用いた CEC 測定を阻害するが、ILG 法を用いた CEC 評価におけるビリルビンの影響を改善することに成功した (Miyakoshi et al. *Bioscience Reports*, 2023)。これらの改善は ILG 法の臨床応用を促進するものである。

## (2) ILG 法を用いたリン脂質引き抜き能 (PEC) 評価法の検討

一方、HDL はコレステロール以外にもリン脂質も引き抜くことが知られているが、その評価法は確立されていない。CEC の測定におけるメカニズムとして、リポソームの接触表面からの引き抜き作用が予測される。リポタンパク表面構造はリン脂質によって構成されるため、トータル CEC の評価の基礎検討として ILG 法を用いたリン脂質引き抜き能 (PEC) 評価法の確立を目指した。PEC 測定のためのトレーサーとして Texas-Red-DHPE を含んだリポソームを作製し、これをゲルビーズに固相化した。リポソーム固相化ゲルビーズにアクセプターとして超遠心により分取した HDL、LDL、アルブミン、および血清、BDS の計 5 種類を混和、18 時間室温でインキュベーション後の上清の蛍光強度を測定した。アルブミンはばらつきが大きく濃度との関連性の評価は困難であったが、HDL、LDL、血清、BDS は概ね濃度依存的に引き抜き量が

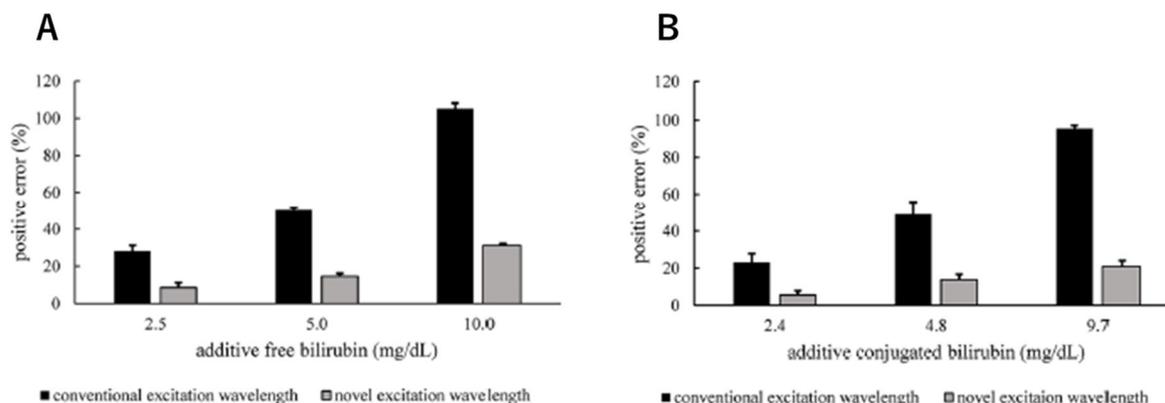


図 2. ILG 法の励起波長シフトによる CEC におけるビリルビンによる陽性誤差の改善

ビリルビン無添加血清 CEC に対する比によって計算された遊離 (A) または抱合 (B) ビリルビンの陽性誤差が示されている。値は平均値±SD で示した (n = 3)。

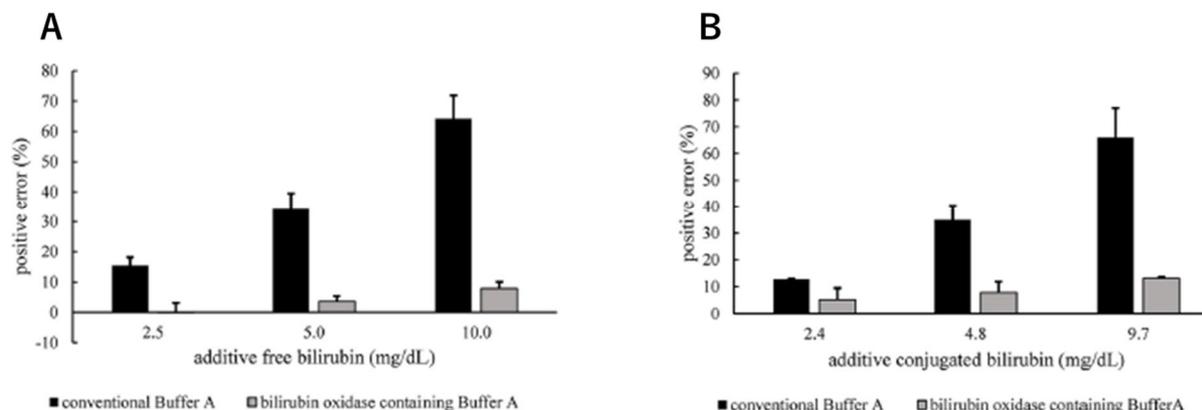


図 3. ILG 法におけるビリルビンオキシダーゼの利用による CEC のビリルビンによる陽性誤差の改善

ビリルビンオキシダーゼ含有緩衝液 A を用いた ILG 法によりビリルビン添加血清の CEC を測定し、各添加ビリルビン濃度における CEC 値を求め、ビリルビン非添加血清 CEC に対する比によって計算された遊離 (A) または抱合 (B) ビリルビンの陽性誤差を示した。値は平均値±SD で示した (n = 3)。

増加する傾向があり、特に LDL、BDS は 5%と 25%のサンプル間で有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。

現段階においては、再構成リポタンパク検体を作製するにあたって、血清由来成分の影響や脂質の濃度勾配によるリポタンパク間のコレステロール移動の存在が示唆されており、当初の研究計画で見据えていたトータル CEC の評価において、ILG 法のより正確な測定やメカニズムを把握しておく必要があると考えられる。測定法の原理を踏まえた上で、引き続きトータル CEC の評価の検討を進めていく予定である。

### (3) SAA によるリポタンパク分画への影響の評価

炎症を伴う患者検体において総 SAA、HDL 分画 SAA、non-HDL 分画 SAA 量を評価し、併せて HDL およびトータル CEC に与える影響の検討に向けて、SAA のリポタンパク中での存在様式や機能について探索した。

SAA が LDL の機能へ及ぼす影響については未だ不明な点も多く、rhSAA を用いて SAA-LDL の構造および抗酸化機能への影響を解明に着手した。超遠心分離によって得た LDL (1.0 mg protein/mL) を 10、200、400 mg/L の rhSAA と反応させ、SAA-LDL を得た。表面電荷をリポタンパク電気泳動によって分析した (図 4A)。抗酸化能は LDL (50  $\mu$ g protein/mL) を硫酸銅とそれぞれ 37 で反応させ、形成される共役ジエンを波長 234 nm にてモニターした (図 4B)。リポタンパク電気泳動において SAA-LDL は SAA 処理濃度が高いほど、その陽極側への移動度が増加した。抗酸化能試験では、LDL に対する SAA-LDL (10、200、400 mg/L rhSAA) の相対的ラグタイムは  $1.01 \pm 0.10$ 、 $1.54 \pm 0.20$ 、 $2.21 \pm 0.36$  であった。相対  $V_{max}$  は  $0.99 \pm 0.09$ 、 $0.69 \pm 0.05$ 、 $0.52 \pm 0.02$  であった。この結果より、SAA は LDL の表面電荷に影響を与え、その抗酸化能力を高めていることが示された。一方で、V-70 をラジカル開始剤とした反応においては、SAA 処理濃度によるラグタイムの変化は確認されなかった。ラジカル開始剤によってジエン形成の結果が異なる点について、SAA-LDL は金属触媒によるラジカル生成反応を妨害する広義の抗酸化作用を担う一方で、直接的ラジカル消去反応は示さないものと推測する。急性炎症時に SAA はリポタンパクへの代償的な抗酸化作用を発揮することで動脈硬化に防御的役割を果たす可能性が示唆された。今後は、再構成リポタンパク検体を作製するにあたって SAA-LDL を使用し、CEC に及ぼす影響についても検討を進める予定である。

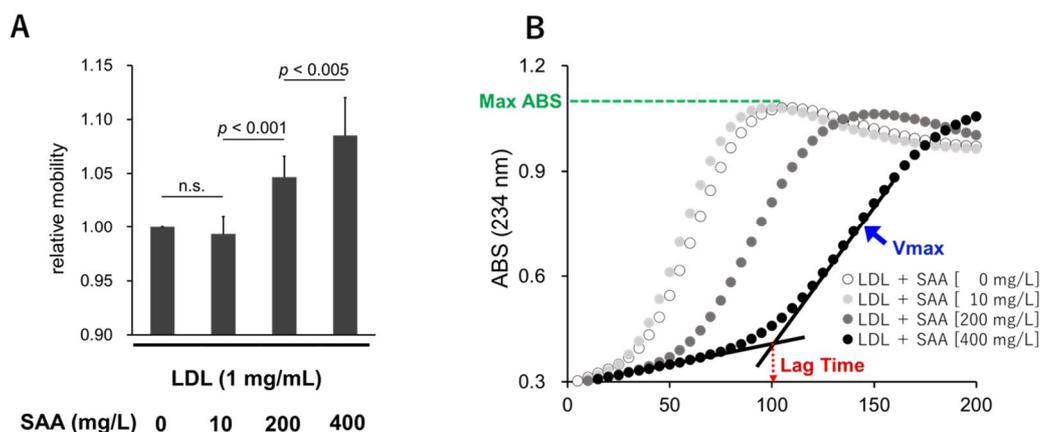


図 4. SAA-LDL におけるリポタンパク電気泳動の移動度の変化と抗酸化能の解析

LDL (1.0 mg protein/mL) を 10、200、400 mg/L の rhSAA と反応させ、SAA-LDL を作製した。リポタンパク電気泳動の SAA 未処理 LDL の移動度を基準とし、相対移動度を求めた (A)。抗酸化能は LDL (50  $\mu$ g protein/mL) を硫酸銅とそれぞれ 37 で反応させ、形成される共役ジエンを波長 234 nm にてモニターした (B)。値は平均値 $\pm$ SD で示した ( $n = 3$ )。n.s.有意差なし。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Lai Shao-Jui, Kameda Takahiro, Morita Maasa, Yamagata Yuka, Nishizaka Kaoruko, Horiuchi Yuna, Kobayashi Yukihiko, Usami Yoko, Liu Jun-Jen, Kasama Takeshi, Tozuka Minoru, Ohkawa Ryunosuke	4. 巻 218
2. 論文標題 Characterization of novel truncated apolipoprotein A-I in human high-density lipoprotein generated by sequential treatment with myeloperoxidase and chymase	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biochimie	6. 最初と最後の頁 34 ~ 45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biochi.2023.09.024	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 Miyakoshi Tsunehiro, Mutsuda Yume, Horiuchi Yuna, Kameda Takahiro, Tozuka Minoru, Ohkawa Ryunosuke	4. 巻 43
2. 論文標題 Improvement in bilirubin influence on cholesterol efflux capacity evaluation using the immobilized liposome-bound gel beads method	5. 発行年 2023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/BSR20230393	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 Mutsuda Yume, Miyakoshi Tsunehiro, Horiuchi Yuna, Kameda Takahiro, Tozuka Minoru, Ohkawa Ryunosuke	4. 巻 43
2. 論文標題 Development and validation of novel automatable assay for cholesterol efflux capacity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bioscience Reports	6. 最初と最後の頁 BSR20221519
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/BSR20221519	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 <i>N</i> -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 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25件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Miyakoshi T., Horiuchi Y., Araki M., Yonetsu T., Watanabe M., Nakamura M., Kameda T., Yoshimoto A., Ichimura N., Tohda S., Tozuka M., Sasano T., Ohkawa R.
2. 発表標題 Association between CEC measured by immobilized liposome-bound gel beads method and the size of lipid-rich coronary artery plaque.
3. 学会等名 Scientific Session of the American Heart Association 2023.11.09 Philadelphia (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Horiuchi Y., Kameda T., Ogura M., Miida T., Tozuka M., Ohkawa R.
2. 発表標題 Search for standardizable references in cell-free cholesterol efflux assay using immobilized liposome-bound gel beads.
3. 学会等名 the 12th International Congress on Lipid & Atherosclerosis with Asia-Australia Vascular Biology Meeting (ICoLA 2023 in conjunction with AAVBM) 2023.09.15 Seoul (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Miyakoshi T., Mutsuda Y., Horiuchi Y., Kameda T., Tozuka M., Ohkawa R.
2. 発表標題 Application of bilirubin oxidase for improvement of false positive error caused by bilirubin on cholesterol efflux capacity assay by immobilize liposome-bound gel beads method.
3. 学会等名 American Association for Clinical Chemistry (AACC) 2023 AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo 2023.07.24 Anaheim (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮腰 恒広, 堀内 優奈, 荒木 誠, 米津 太志, 渡部 芽以, 中村 元紀, 亀田 貴寛, 吉本 明, 市村 直也, 東田 修二, 戸塚 実, 笹野 哲郎, 大川 龍之介.
2. 発表標題 HDLサブクラスおよび冠動脈内プラークのサイズと無細胞系測定法によるコレステロール引き抜き能の関連.
3. 学会等名 第70回日本臨床検査医学会学術集会 2023.11.18 長崎
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 亀田貴寛, 加柴美里, 川口莉奈, 大川龍之介.
2. 発表標題 血清アミロイドA修飾低比重リポタンパク(SAA-LDL)における抗酸化能の解析.
3. 学会等名 第63回日本臨床化学会年次学術集会 2023.10.27 東京
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 孫成満, 亀田貴寛, 大川龍之介.
2. 発表標題 血清中アポリポタンパク複合体apoA-I/apoA-IIヘテロダイマー測定法の改良と性能評価.
3. 学会等名 第63回日本臨床化学会年次学術集会 学生シンポジウム 2023.10.28 東京
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮腰恒広, 山崎あずさ, 川口莉奈, 渡部芽以, 堀内優奈, 亀田貴寛, 吉本明, 市村直也, 東田修二, 戸塚実, 大川龍之介.
2. 発表標題 加温処理による血清中HDL構造変化と細胞法および無細胞系測定法を用いたコレステロール引き抜き能の關係の解析.
3. 学会等名 日本医療検査科学会第55回大会 2023.10.6横浜
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 秋山 葉菜恵, 宮腰 恒広, 10.6 川口 莉奈, 亀田 貴寛, 吉本 明, 大川 龍之介.
2. 発表標題 THP-1 細胞と BODIPY 標識コレステロールを用いたABC トランスポーター A1 依存的コレステロール引き抜き能評価法におけるコレステロール添加量に関する検討.
3. 学会等名 第17回日本臨床検査学教育学会学術大会 2023.08.24 奈良
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 波木井 優奈, 亀田 貴寛, 荻野 芽生, 大川 龍之介.
2. 発表標題 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazylを用いた血清および高比重リポタンパクの活性酸素種消去能測定の見直し.
3. 学会等名 日本医療検査科学会第54回大会 2022.10.9 神戸
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮腰 恒広, 亀田 貴寛, 陸田 優芽, 戸塚 実, 大川 龍之介.
2. 発表標題 固相化リポソーム結合ゲルビーズ法を用いたコレステロール引き抜き能測定におけるビリルビンの影響回避.
3. 学会等名 第62回日本臨床化学会年次学術集会 2022. 09.30 富山
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大熊 彩花, 荻野 芽生, 亀田 貴寛, 大川 龍之介.
2. 発表標題 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)を用いた各種血液検体の抗酸化能測定の見直しに向けた試み.
3. 学会等名 第16回日本臨床検査学教育学会学術大会 2022.08.19 埼玉
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 橋本 大知, 渋谷 茉璃乃, 亀田 貴寛, 大川 龍之介.
2. 発表標題 固相化リボソームゲルビーズ法によるリン脂質引き抜き能測定.
3. 学会等名 第16回日本臨床検査学教育学会学術大会 2022.08.19埼玉
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 亀田 貴寛, 岡林 若菜, 荻野 芽生, 川口 莉奈, 渋谷 茉璃乃, 山田 貴子, 池永 絢香, 孫 成満, 大川 龍之介.
2. 発表標題 血清アミロイドAが低比重リポ蛋白の構造および抗酸化能に及ぼす影響.
3. 学会等名 第75回日本酸化ストレス学会学術集会 2022.05.25 On-line
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kameda T., Ogino M., Kawaguchi R., Shibuya M., Yamada T., Ikenaga A., Sun C., and Ohkawa R..
2. 発表標題 Effects of serum amyloid A on the structure and antioxidant ability of low-density lipoprotein.
3. 学会等名 American Association for Clinical Chemistry (AACC) 2022 AACC Annual Scientific Meeting & Clinical Lab Expo 2022.07.26 Chicago
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuna Horiuchi, Takahiro Kameda, Naoya Ichimura, Katunari Kina, Kazunori Miyake, Shuji Tohda, Minoru Tozuka, Takashi Miida, Ryunosuke Ohkawa.
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, Kyoto, Japan, 2021.10. 24-27 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yume Mutsuda, Takahiro Kameda, Hideko Tanaka, Jyunichiro Takahashi, Mitsuyo Okazaki, Masumi Ai, Ryunosuke Ohkawa.
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, Kyoto, Japan, 2021.10. 24-27 (国際学会)
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 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 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ピリルピ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 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 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60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60回日本臨床化学会年次学術集会 学生シンポジウム
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60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 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 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

〔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	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

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	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

〔取得〕 計0件

〔その他〕

臨床分析・分子生物学分野ホームページ <a href="https://www.tmd.ac.jp/gradh/alc/achiev.html">https://www.tmd.ac.jp/gradh/alc/achiev.html</a>
---

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
---------	---------