
胆汁酸トランスポーターの種差を含めた輸送機作の解明

東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻・特任准教授 小林 彰子

■ 目的

胆汁酸は肝臓でコレステロールから合成され、食後に十二指腸へ分泌され脂質吸収を促進する。分泌胆汁酸の95%は小腸下部で再吸収され肝臓に戻る(腸肝循環)。この再吸収を担うのが Apical Sodium-dependent Bile Acid Transporter(ASBT)であり、その阻害は肝臓での胆汁酸合成を促進して血中コレステロールを低下させるため、脂質異常症創薬の標的とされる。ヒト胆汁酸はタウロコール酸(TC)とグリココール酸(GC)が主で比率は1:3だが、マウスでは10~30:1でほぼTCであり、組成が大きく異なる。さらにASBTの相同性は76%で、輸送活性にも差が生じる可能性がある。マウスは脂質異常症研究の主要モデルだが、この違いは臨床応用との隔たりとなり得る。そこで本研究では、ヒトおよびマウスASBT発現細胞を用いTC・GCの取り込みを比較し、種差を明らかにすることを目的とした。

■ 方法

ヒトASBTおよびマウスAsbtを発現させたCOS-7細胞を用い、 $[^3\text{H}]$ -TCまたは $[^3\text{H}]$ -GCを添加し取り込み量を測定した。まず時間依存性試験を行い飽和しない条件を決定し、次に濃度依存性試験からミカエリスメンテン式に基づき V_{max} 、 K_m を算出した。さらにFlagタグを導入した発現細胞を用い、膜画分を抽出してウエスタンブロッティングによりASBT発現量を定量した。

■ 結果および考察

時間依存性試験の結果、ヒトASBTは15分、マウスAsbtは10分で直線性を示したため、それぞれの条件で濃度依存性試験を実施した。TCおよびGC取り込み試験の結果、 K_m は両種で同程度であったが、 V_{max} はマウスが高かった。膜画分におけるASBT発現量には差がなかったため、この違いは発現量ではなくアミノ酸配列や膜での安定性の差による可能性が示唆された。

■ 結語

マウスAsbtはヒトASBTよりもTCおよびGCの輸送キャパシティが高く、その違いは配列の相違や膜での安定性に起因する可能性がある。