

酸化コレステロールがリン脂質ホスファチジルコリン膜構造へ与える影響の酸化部位の違いによる差

(群大院工¹・理研 Spring-8²・理研和光³、群大院理工⁴) 星野達也¹,
引間孝明²・高田昌樹²・小林俊秀³・○高橋 浩^{1,4}

【緒言】生体膜は主にリン脂質の二重層膜から構成される。コレステロールは膜内に入り込み、リン脂質間の空隙を埋めることで、生体膜機能を有効に発揮できるように、生体膜の構造や物性を調整し最適化している。この調整が上手くいかないと、生体膜の機能が低下すると考えられる。人間の体内では約 15 種類程度の酸化コレステロールが存在する。その中で、フリーラジカルとの反応により生成した酸化コレステロールの一部は、細胞毒性を持ち、病気との関連が指摘されている。そして酸化部位の違いによって、関連する病気が異なることが知られている。これはリン脂質二重層膜の構造・物性への酸化コレステロールの影響が、酸化部位の違いにより異なるためと推測される。そこで、本研究では、ステロイド骨格の C7 位が酸化した 7 β ヒドロキシコレステロール(7 β OH)と側鎖部分の C25 位が酸化した 25 ヒドロキシコレステロール(25OH)を用いて、酸化コレステロールがリン脂質膜構造へ与える影響の酸化部位の違いによる差を、通常のコレステロール(Chol)の場合と比較することを通して検討した。

【実験】リン脂質には、動物細胞の生体膜の主要リン脂質であるパルミト-オレオイル-ホスファチジルコリン(POPC)を用いた。膜構造を調べるために、ラメラの X 線回折強度から電子密度分布を再構成した。位相決定は Swelling 法によって行った。得られた相対的電子密度を、異なるサンプル間で比較できるようにするためにリン脂質・ステロール複合体の質量密度を H₂O/D₂O を用いた浮沈法により決定した。

【結果と考察】図 1 に、分子体積と相対的な電子密度分布から決まる膜厚を基に、計算した側方の分子占有面積を考慮して、絶対値ではないが、異なるサンプル間で電子密度の値が比較できる規格化した電子密度分布を示した。ここで、リン脂質とステロールのモル比は、7:3 である。この図より、7 β OH 混合系は、Chol 混合系と比較して、膜中心付近の電子密度は低く、位置 ± 1 から ± 2 nm 付近では高いことが分かる。この傾向は、飽和のリン脂質 DPPC でも同じであった。この結果は、7 β OH が PC 膜中では脂質極性頭部の近くに局在していることを示唆する。Chol では、C3 位の OH 基を膜表面方向に、炭化水素鎖を膜の内部方向に向けて膜の法線方向に、Chol 分子の長軸が平行になるように入るが、7 β OH は二つの OH 基を膜表面方向に向けようとして、分子の長軸をやや傾けて膜に入ると想像される。一方、25OH 混合系では、より膜中心付近の電子密度が Chol より高くなっている。この結果は、PC 膜中心部分付近に 25OH が局在していることを示している。さらに、25OH は膜中心付近で OH 基を集合させるように位置すると推測される。

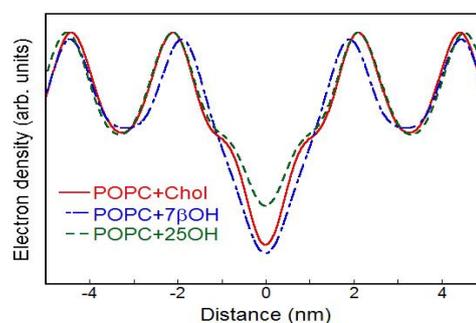


Fig. 1 Electron density profiles of POPC bilayers containing Chol, 7 β OH, and 25OH. The molar ratio of POPC:sterol is 7:3.

Comparative study of structural effects of oxysterols on phosphatidylcholine bilayers –difference of the oxidized position –

T. HOSHINO¹, T. HIKIMA², M. TAKATA², T. KOBAYASHI³, H. TKAHASHI^{1,4} (Grad. Sch. Eng. Gunam Univ.¹, RIKEN Spring-8², RIKEN Wako³, Sci.&Tech. Gunma Univ.⁴, Colloid Univ., hiroதாகashi@gunma-u.ac.jp)

Some types of oxysterols are cytotoxic. For example, 7 β -hydroxycholesterol (7 β OH) and 25-hydroxycholesterol (25OH) have been reported to be associated with neurodegenerative diseases. In this study, we have explored the locations of these oxysterols in in phosphatidylcholine (POPC) bilayers. It was found that 25OH is located more near the center of the POPC bilayers in comparison with normal cholesterol. On the other hand, 7 β OH is located more near the polar POPC headgroup regions. We estimated these locations from the combination of the X-ray diffraction data and the molecular volume data obtained by the D₂O/H₂O flotation method.