血管内皮細胞中のトランスグルタミナーゼ 活性とビタミン A による活性亢進

小嶋 聡一* 萩原 啓実* 下仲 基之* 稲田 祐二*

Transglutaminase in endothelial cells from bovine carotid artery —Enhancement of the activity by retinol—

Soichi KOJIMA*, Hiromi HAGIWARA*, Motoyuki SHIMONAKA*
and Yuji INADA*

Key words: transglutaminae, endothelial cell, retinol,
low density lipoprotein

The transglutaminase activity was found in cytosol and membrane fractions of endothelial cells from bovine carotid artery. The molecular weight was estimated to be approximately 58,000 by gel permeation chromatography. Addition of retinoids (retinol, retinal and retinoic acid) to the endothelial cell culture medium caused a marked enhancement of the activity, and of the specific uptake of low density lipoprotein (LDL) into endothelial cells. It may be suggested that transglutaminase is involved in the receptor-mediated LDL uptake in bovine endothelial cells.

はじめに

トランスグルタミナーゼ (TGase) は血漿・肝臓・血小板・赤血球表皮等に存在することが知られている¹⁾。本研究は血管内皮細胞中に TGase の存在を証明し、その性質および生理的役割、特に低密度リポタンパク質 (LDL) の細胞内への取り込みについて調べたものである。

I. 方法

牛頸動脈より採取し継代培養した血管内皮細胞を用い、細胞質分画と膜可溶化分画とを調製した。TGase 活性はアセチルカゼインにモノダンシルカダベリン (MDC) を取り込ませ、大量のアンモニウムイオン添加により反応を停止した後に、モノダンシルカダベリンの蛍光強度を測定し求めた²⁾。LDL の内皮細胞への取り込

* 東京工業大学理学部生命理学科 [〒152 東京都目黒区大岡山 2-12-1], Laboratory of Biological Chemistry, Tokyo Institute of Technology, Ookayama, Meguroku, Tokyo, Japan.

Fig. 1 Gel permeation chromatographic pattern of cytosol from cultured endothelial cells using high pressure liquid chromatography. The transglutaminase activity was measured with each fraction ($500 \mu\text{l}$) eluted with 50 mM acetate ($\text{pH } 6.8$) in chromatography (flow rate: 0.5 ml/min) using Waters Protein Pak 300SW column. The reaction mixture was incubated at 37°C for 19 hours. The molecular weight of the enzyme was estimated, using bovine serum albumin, ovalbumin and myoglobin as standards. Transglutaminase 1 unit: 1 nanomole MDC/19 hr/ $500 \mu\text{l}$ fraction³⁾.

み量は、フルオレセインイソチオシアネート (FITC) により蛍光標識した LDL と内皮細胞とをインキュベーションした後に細胞を 1% トリトン X-100 で処理し、遠心後上清の蛍光強度を測定することにより定量した。

II. 結 果

培養内皮細胞より得た細胞質、膜の両分画中に TGase 活性が認められ、活性発現に 2 価金属イオン、特に Ca^{2+} を必要とする。細胞質に存在する TGase の分子量は約 $58,000$ である (図 1)。培養内皮細胞にビタミン A (レチノール, レチナール, レチノイン酸) を添加すると時間の経過とともに TGase 活性の上昇が観察される。レチノール $10 \mu\text{M}$ で細胞を 5 日間処理することにより対照に比べ、細胞質分画の活

Fig. 2 The enhancement of the transglutaminase activity and the specific uptake of LDL in endothelial cells by retinol. Endothelial cells were cultured for 5 days in the medium with various concentrations of retinol (0 – $10 \mu\text{M}$) dissolved in 1% ethanol. After the treatment, transglutaminase activity in membrane fraction and the specific uptake of LDL into the cells were measured. Curve A; transglutaminase activity, Curve B; amount of the specific uptake of LDL³⁾.

性は約 7 倍、膜分画の活性は約 3 倍に高められる。この現象に伴ない LDL の内皮細胞への取り込み促進が観察され (図 2)、内皮細胞の LDL 取り込みに TGase が関与している可能性が示唆される³⁾。

文 献

- 1) Folk, J.E.: Transglutaminases. *Ann. Rev. Biochem.*, **49**; 517–531, 1980.
- 2) Takagi, J., Saito, Y., Kikuchi, T. and Inada, Y.: Modification of transglutaminase assay; Use of ammonium sulfate to stop the reaction. *Anal. Biochem.*, **153**; 295–298, 1986.
- 3) Kojima, S., Hagiwara, H., Soga, W., Shimonaka, M., Saito, Y. and Inada, Y.: Transglutaminase in endothelial cells from bovine carotid artery. *Biomedical Res.*, **8**; 25–29, 1987.