

近年、薬剤効果や食品機能性のスクリーニングにおいて **動物実験代替法** が注目されています。特に **動物細胞を用いたアッセイ系** は低コストでハイスループットであるだけでなく、動物福祉の観点からも開発が求められています。

弊社の **リポタンパク質詳細解析サービス** である **LipoSEARCH®** は高感度であり、**細胞培養上清** などの低濃度サンプルにも応用可能です。




LipoCULTURE について






- **LipoCULTURE** は、**LipoSEARCH®** による**細胞培養上清のリポタンパク質詳細解析サービス**です。
- **細胞培養上清をそのまま分析することができ、濃縮や変性前処理などがありません。**
- **LipoSEARCH®** (血清・血漿用サービス) と同じデータ項目をご提供します。

この資料では **細胞培養上清**

- **PXB-cells®** (ヒト初代肝細胞)
- **Caco-2** (ヒト大腸癌細胞株)
- **HepG2** (ヒト肝癌細胞株)

を対象とした **解析事例** をご紹介します。

| 論文タイトル | 細胞の種類 | 概要 |
|---|------------|--|
| <p>Lipoprotein profile and lipid metabolism of PXB-cells®, human primary hepatocytes from liver-humanized mice: proposal of novel in vitro system for screening anti-lipidemic drugs</p> <p><i>Biomed Res</i> 2020;41(1):33-42.</p>  | PXB-cells® | <p>PXB-cells® (ヒト化マウス肝臓から採取した新鮮なヒト初代肝細胞) が抗脂質異常症活性のスクリーニングに適した高レベルのリポタンパク質を産生すること明らかにした。 PXB-cells®から分泌されるリポタンパク質を評価する新規アッセイ系を開発した研究報告。</p> <ul style="list-style-type: none"> • LipoSEARCH® による解析の結果、PXB-cells®は、HepG2やHuH-7よりもリポタンパク質の産生が多く、実際の肝臓組織と同様に主に中性脂肪とコレステロールをVLDLとして分泌した。 • PXB-cells®ではVLDLの成分であるApoC2、ApoC3、ApoEが過剰発現していることも確認された。 • PXB-cells®を用いて既存薬剤であるフェノフィブラートを評価したところ、フェノフィブラートは、主にβ酸化経路を活性化することにより、PXB-cells®からのリポタンパク質産生を用量依存的に抑制した。 • PXB-cells®を用いたリポタンパク質解析は、抗脂質異常症活性のスクリーニングに適している。 |
| <p>High-throughput screening of anti-lipidemic agents using PXB-cells®, human primary hepatocytes from humanized mice livers: Assessment of lipoproteins by an enzyme-linked immunosolvent assay on apolipoproteins</p> <p><i>Journal of Biological Macromolecules</i> 2021 Volume 21 Issue 2 89-92</p>  | PXB-cells® | <p>PXB-cells®を用いたアッセイ系において、リポタンパク質産生抑制作用がELISA測定 (APOA5、APOB100) によってもLipoSEARCH®と同等の感度で評価可能であることを示した研究報告。 例として、既存薬剤であるフェノフィブラートを用いている。</p> <ul style="list-style-type: none"> • スループット向上のために、ラージスケールのスクリーニングにおいてはAPOA5およびAPOB100のELISA測定が有用である。 • その一方で LipoSEARCH® は粒子サイズやサブクラスなどリポタンパク質のより詳細な解析が可能である。 • 最近の研究では心筋梗塞との関連性から Large VLDL や small dense LDL などに注目が集まっており、これらリポタンパク質サブクラスを含めた詳細評価において LipoSEARCH® が有用と考えられる。 |
| <p>PXB-cells, fresh primary hepatocytes from humanized mouse livers, exhibit nonalcoholic fatty liver like properties, including large very low density lipoprotein</p> <p><i>Journal of Biological Macromolecules</i> 2021 Volume 21 Issue 1 51-52</p>  | PXB-cells® | <p>PXB-cells®が、非アルコール性脂肪肝様の性質 (大型VLDLを含む) を有することを示した研究報告。</p> <ul style="list-style-type: none"> • PXB-cells®から分泌されるVLDLの粒子サイズを LipoSEARCH® で評価したところ、移植後の期間が長くなるにつれてVLDL粒子サイズが大きくなることが示された (5w、16w、19wにて比較)。 • 移植後の期間がPXB-cells®の細胞内中性脂肪量に影響し、油滴の蓄積が分泌されるVLDLの粒子サイズと関連している可能性が示唆された。 • VLDL粒子サイズの評価は、NAFLDの診断および進行を確認する低侵襲性血漿バイオマーカーになり得る。 |
| <p>An in vitro assay system for antihyperlipidemic agents by evaluating lipoprotein profiles from human intestinal epithelium-like cells</p> <p><i>3 Biotech</i> 2013 Jun;3(3):213-218.</p>  | Caco-2 | <p>ヒト大腸癌細胞株 Caco-2 を小腸上皮様細胞に分化した。細胞が分泌するリポタンパク質を解析し、腸内脂質吸収モデルとして評価した研究報告。</p> <ul style="list-style-type: none"> • 5 mMの酪酸ナトリウムによりCaco-2細胞は小腸上皮様細胞に分化し、透過型電子顕微鏡で細胞頂側に多数の微絨毛が観察された。 • 定量的リアルタイムRT-PCRの結果、酪酸ナトリウムはCaco-2細胞の腸管分化マーカーの発現レベルを用量依存的に刺激し、5 mMの濃度にてIAP、SI、MTTPをそれぞれ非処理細胞の8.1倍、1.9倍、2.1倍に上昇させることが明らかとなった。 • 分化したCaco-2細胞にリソソファテジルコリンとオレイン酸Naを添加することでリポタンパク質の分泌は促進された。 • 分化したCaco-2細胞を用いて既存薬剤であるPluronic L-81の効果を確認した。LipoSEARCH® による解析の結果、Pluronic L-81は1.0 ug/mlで分泌リポタンパク質の中性脂肪を25.6%抑制し、10 ug/mlで分泌を完全に抑制した。 • このアッセイシステムは、腸における脂質吸収や脂質輸送を標的にした抗脂質異常症薬剤のスクリーニングに有用である。 |

| 論文タイトル | 細胞の種類 | 概要 |
|---|--|--|
| <p>Anti-dyslipidemic effects of water extract from the leaves of <i>Petasites japonicus</i> subsp. <i>giganteus</i> (Akitabuki)</p> <p><i>Journal of Biological Macromolecules</i> 2021 Volume 21 Issue 1 33-44</p>  | Caco-2 HepG2 | <p>Caco-2(小腸上皮様細胞に分化)とHepG2を用いて食用植物エキスの抗脂質異常症活性を評価した研究報告。 アキタブキ抽出物を評価しており、高中性脂肪血症および脂肪肝疾患の治療効果が期待できる食品素材であることが示された。</p> <ul style="list-style-type: none"> • LipoSEARCH® による解析の結果、アキタブキ抽出物は、両細胞においてリポタンパク質の分泌を抑制した。 • 定量的リアルタイムRT-PCRの結果、アキタブキ抽出物は、両細胞においてアシル基転移に関わるMGAT2とDGAT2の発現量を抑制した。 • また、リポタンパク質の合成および分泌に関わるMTTPとAPOB100の発現量を抑制した。 • アキタブキ抽出物は、高脂肪食負荷マウスにおいて小腸からの脂質吸収と脂肪組織の蓄積を抑制し、肝臓中性脂肪含量および血漿中性脂肪値を正常化することも示された。 |
| <p>HPLC analysis of lipoproteins in culture medium of hepatoma cells: an in vitro system for screening antihyperlipidemic drugs</p> <p><i>Biotechnol Lett</i> 2009 Jul;31(7):953-7.</p>  | HepG2-Lipo; HepG2-derived subclone | <p>ヒト肝癌細胞株HepG2から分泌されるリポタンパク質プロファイルを評価することで抗脂質異常症活性をスクリーニングする新規アッセイ系を開発した研究報告。 HepG2細胞からサブクローニングでコレステロールと中性脂肪の分泌量が多い「HepG2-Lipo」を単離し、評価に用いている。</p> <ul style="list-style-type: none"> • HepG2細胞からサブクローニングでコレステロールと中性脂肪の分泌量の高い「HepG2-Lipo」を単離した。 • HepG2-Lipoを用いて既存薬剤を評価したところ、シンバスタチンの添加によってコレステロールの分泌が低下し、フェノフィブラートの添加によってコレステロールと中性脂肪の両方の分泌が低下することが確認された。 • HepG2-Lipoを用いた LipoSEARCH® によるリポタンパク質解析は、抗脂質異常症活性のスクリーニングに有用である。 |
| <p>Lupeol reduces triglyceride and cholesterol synthesis in human hepatoma cells</p> <p><i>Phytochemistry Letters</i> Volume 2, Issue 4, 19 November 2009, Pages 176-178</p>  | HepG2-Lipo; HepG2-derived subclone | <p>HepG2-Lipoを用いたアッセイ系により、ルペオール(植物に含まれるトリテルペン化合物の一種)の抗脂質異常症活性を評価した研究報告。 ルペオールは肝細胞における脂質の合成と分泌を抑制し、コレステロールおよび中性脂肪を低下させることが示された。</p> <ul style="list-style-type: none"> • LipoSEARCH® による解析の結果、ルペオールはHepG2-Lipoからのコレステロールと中性脂肪の分泌を用量依存的に抑制した。 • 定量的リアルタイムRT-PCRの結果、ルペオールは、脂質合成に必要なSREBP-1c、FAS、SREBP-2、HMGS-1、FDFTの発現を抑制し、また、リポタンパク質の合成および分泌に関わるAPOB100とMTTPの発現も抑制した。 |
| <p>In vitro screening for antihyperlipidemic activities in foodstuffs by evaluating lipoprotein profiles secreted from human hepatoma cells</p> <p><i>J Nat Med</i> 2011 Jul;65(3-4):670-4.</p>  | HepG2 | <p>HepG2にオレイン酸Naを添加して培養することでリポタンパク質の合成・分泌を誘導し、サブクローニングを要さないアッセイ系を確立した研究報告。 このアッセイ系を用いて7種類の食用植物エキスの抗脂質異常症活性を評価し、ジュンサイ抽出物がコレステロールと中性脂肪の分泌を強く阻害することを見出した。</p> <ul style="list-style-type: none"> • LipoSEARCH® による解析の結果、ジュンサイ抽出物は、オレイン酸Naで刺激したHepG2からのコレステロールおよび中性脂肪の分泌を著しく低下させた。 • 定量的リアルタイムRT-PCRの結果、ジュンサイ抽出物はコレステロールおよび中性脂肪の合成に必要な遺伝子の発現を抑制した。 • さらに、ジュンサイ抽出物は、高脂肪食負荷マウスにて血清TG値を正常化し、脂肪組織の蓄積を抑制することも確認された。 |
| <p>Lipoprotein profiles of hepatic cell lines at various stages of differentiation</p> <p><i>In Vitro Cell Dev Biol Anim</i> 2017 Feb;53(2):93-95.</p>  | HLE HLF HepG2 HuH-7 HepaRG HC | <p>5つのヒト肝細胞株(HLE、HLF、HepG2、HuH-7、HepaRG)と初代肝細胞(HC)を用いて、ヒト肝細胞のさまざまな分化段階におけるリポタンパク質プロファイルを評価した研究報告。 肝細胞におけるリポタンパク質産生が分化に関連しており、APOA1、APOB100、MTTPの発現がリポタンパク質合成に重要な役割を果たすことが示された。</p> <ul style="list-style-type: none"> • LipoSEARCH® による解析の結果、主要リポタンパク質(VLDL、LDL、HDL)の産生が高分化細胞株(HepG2、HuH-7、HepaRG)と初代ヒト肝細胞(HC)の培養上清で検出されたが、未分化細胞株(HLE、HLF)の培養上清では検出されなかった。 • 定量的リアルタイムRT-PCRの結果、APOA1、APOB100、MTTPの発現量は、肝未分化細胞株にて著しく低いことが明らかになった。 • 成熟肝細胞では、アポリポタンパク質の合成とMTTPによる中性脂肪の輸送がリポタンパク質産生の律速段階である可能性が示された。 |

* 研究内容の詳細については各論文をご参照ください。
* 「PXB-cells®」は株式会社フェニックスバイオの登録商標です。

In vitro 試験のリポタンパク質詳細解析には "LipoCULTURE" をご用命ください。

お問合せ先：株式会社免疫生物研究所 営業部

TEL：0274-50-8666

Email：do-ibl@ibl-japan.co.jp

ご案内



動画

