

公益財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 横田 格 殿

助成研究成果概要報告書

教育機関名 : 富山大学	助成金額 : 750 千円	
研究代表者 : 石本哲也	所属 : 学術研究部医学系	職位 : 助教
研究題目 : ホタルイカルシフェリンを用いた尿中アルブミン定量法の確立		

研究概要

糖尿病腎症は高頻度に見られる糖尿病の合併症である。この腎症は初期の段階では無症状なため患者は進行に気づきにくい、その進行を検知できる指標の一つとして尿中のアルブミン濃度の上昇が挙げられる。アルブミンは血中に存在する蛋白質であるが、初期の腎症の尿中には微量のアルブミンが漏出していることが知られており、その時期に適切な治療を行うことが重要である。つまり尿中の微量なアルブミンを計測する技術は糖尿病腎症の進行を防ぐうえで必要不可欠である。本研究では、ホタルイカ体内のルシフェリンと呼ばれる化合物が、本来の反応相手のルシフェラーゼではなく、血中蛋白質アルブミンと反応し発光するという発見に基づき、この分子が糖尿病患者の尿中アルブミンの濃度を計測することに適用できないか検討した。また、その目的を達成するために、ホタルイカルシフェリン-アルブミン反応の反応条件や特徴の解析も行った。それらの研究の結果、ホタルイカルシフェリンを用いて、尿アルブミンを計測することに成功した。

成果要約

まずホタルイカルシフェリンとアルブミンが反応する条件の最適化を図った。その結果、高い pH でこの発光反応が効率よく起きることが分かった。また、ホタルイカルシフェリンと反応するアルブミンは熱処理等によって発光能を失うことも分かった。これはアルブミンが、ルシフェリンを発光せる酵素として働く可能性を示唆する。

次に糖尿病患者 20 名の尿サンプルを用いて、ホタルイカルシフェリンを用いて尿アルブミンの計測ができるか検証した。ホタルイカルシフェリンを尿と直接混合し、発光を計測すると、従来法である免疫比濁法で計測した結果と大きくずれることが分かった。これは尿中の夾雑物によって発光が阻害されたと考えられたので、尿中蛋白質を沈殿精製することで尿中アルブミンと効率よく反応させることを試みた。硫酸アンモニウム、ポリエチレングリコール、アセトンの 3 種類の化合物を用いて、尿アルブミンを沈殿させたが、尿中蛋白質をアセトン沈殿させてから、ホタルイカルシフェリンと反応させることで、従来法である免疫比濁法の結果と最も近い値を出せることが分かった。この結果から、ホタルイカルシフェリンを用いて尿中微量アルブミンを計測することが可能と結論付けられた。

この成果は原著論文（研究成果 1）として発表され、新聞社数社によって記事となった。

<p>研究成果 発表状況</p>	<p>【雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況】</p> <p>1. A New Method for Albuminuria Measurement Using a Specific Reaction between Albumin and the Luciferin of the Firefly Squid <i>Watasenia scintillans</i>. (原著論文、査読有) <u>Ishimoto T (責任著者)</u>, Okada T, Fujisaka S, Yagi K, Tobe K, Toyooka N, Mori H., <i>Int. J. Mol. Sci.</i> 2022 Jul 28;23(15):8342.</p> <p>この論文に関するメディア掲載：読売新聞（全国版）、北日本新聞、富山新聞、岩手日報、新潟日報、岐阜新聞、北國新聞、北陸中日新聞、京都新聞、山口新聞、ウェブサイト(ZakZak, ライブドア、糖尿病リソースガイド、他)</p> <p>2. Control of actin polymerization via reactive oxygen species generation using light or radiation. (総説、査読有) <u>Ishimoto T (責任著者)</u>, Mori H., <i>Front. Cell Dev. Biol.</i> 2022 Sep 23;10:1014008.</p> <p>3. ホタルイカの発光を用いた尿中アルブミン定量法開発（学会発表、口頭およびポスター）<u>石本哲也</u>、岡田卓哉、藤坂志帆、八木邦公、戸邊一之、豊岡尚樹、森寿</p>		
<p>経費の 執行状況</p>	<p style="text-align: center;">区 分</p> <p>【物品費】</p> <p>【旅費】</p> <p>【その他】</p> <p>論文投稿料金</p> <p>英文校正</p> <p>学会参加費</p> <p style="text-align: right;">合計</p>	<p style="text-align: center;">執行額（円）</p> <p>1,423</p> <p>68,320</p> <p>647,824</p> <p>17,433</p> <p>15,000</p> <p style="text-align: right;">750,000 円</p>	<p style="text-align: center;">備 考</p>