

令和4年 8月 2日

報道機関 各位

ホタルイカの光を糖尿病腎症の早期診断に利用する

■ ポイント

- ・糖尿病の合併症の糖尿病腎症の早期診断には、尿中のアルブミンという蛋白質の濃度測定が不可欠である。
- ・筆者らは、ホタルイカの発光に必要なルシフェリンという化合物が、アルブミンと結合して発光するという現象を発見した。
- ・ホタルイカルシフェリンを尿中アルブミンの測定に使用するために、尿中蛋白質の精製法や反応条件を最適化し、ホタルイカルシフェリンを用いて尿中アルブミンを定量することに成功した。
- ・ホタルイカが医療計測のために役立つという報告は今回が初めてである。

■ 概要

発光生物の体内では、発光蛋白質であるルシフェラーゼと、その基質であるルシフェリンが反応して発光することが知られている。我々はホタルイカルシフェリンが、ヒトアルブミンと特異的に反応して発光を呈するという予想外の現象を発見した。この反応の発光強度は、アルブミンの濃度と非常に広い範囲で比例関係を有していることが分かった。また、この発光がホタルイカの本来の青色光ではなく、緑色の発光であることも分かった。今回の発表では、この反応を、尿中のアルブミン濃度計測に応用することを試みた。その結果尿中蛋白質をアセトンで沈殿させるという工程を経ることで、アルブミンの定量が可能であることが分かった。

■ 研究の背景

ホタルイカは富山湾を代表する生物であり、発光の美しさから「ホタルイカ群雄海面」として特別天然記念物に指定されている（図1）。その発光メカニズムはホタルイカが持つルシフェラーゼという蛋白質と、ルシフェリンという低分子（図2）が反応することによるが、ルシフェラーゼ蛋白質はいまだ単離に成功していない。筆者はホタルイカのルシフェリンが、ルシフェラーゼ以外にも血液中の蛋白質であるアルブミンと反応し発光を呈するという予想外の現象を偶然発見した。本研究では、その反応を利用して尿中のアル

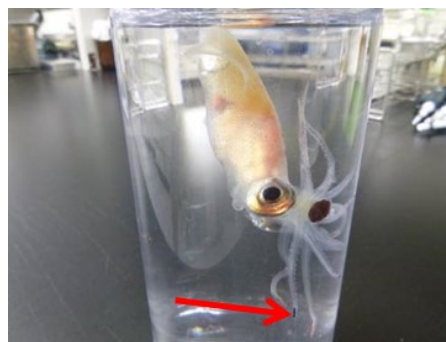


図1 ホタルイカは第4腕(矢印)から強い光を放出する。

ブミン濃度の測定への応用を試みた。

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。今回ホタルイカルシフェリンを用いて、尿中アルブミンを定量することが可能か調査した。

■研究の内容・成果

ホタルイカルシフェリンとヒトアルブミンが反応して発光を呈するという発見をした。この反応は Tris 緩衝液中で非常に広い範囲で比例関係を示すこともわかった(図3)。このことは発光強度を計測すれば、溶液中のアルブミンの濃度を計測できることを意味する。同時にルシフェリンとアルブミンの反応で発せられる光は、ホタルイカで見られる青色の光ではなく、550nm 付近の波長をピークとする緑色の光であることも分かった(図4)。

この発光現象を尿中アルブミンの濃度測定に利用しようと試みたが、尿中の夾雑物が反応を阻害することが分かり、その問題を解決することが必要となった。筆者らは尿中の蛋白質を沈殿させることで夾雑物を除去できるのではないかと考え、数種類の尿中蛋白質沈殿法を試した。その結果、アセトンを用いた蛋白質沈殿法を用いて尿中蛋白質を沈殿させた場合、アルブミン定量が可能であることが分かった。得られた定量データを、抗体を用いたアルブミン濃度計測法と比べた結果、両者の相関が高いことがわかり、従来法に比べてそんな色のない定量法であることがわかった(図5)。

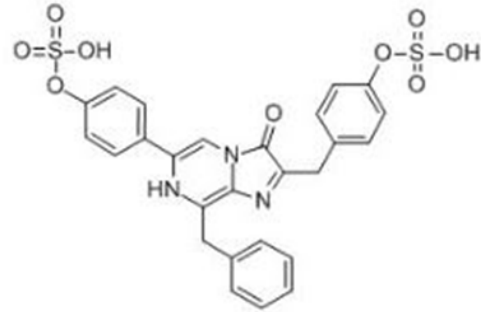


図2 ホタルイカルシフェリンの構造

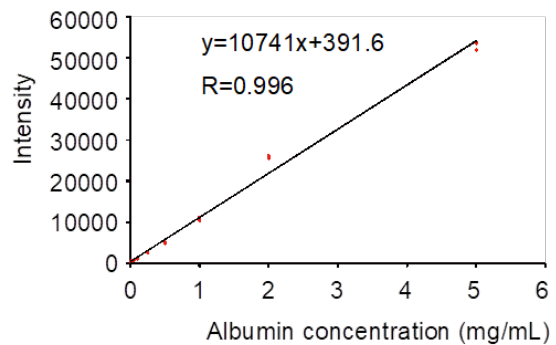


図3 アルブミン濃度と発光強度は広い範囲で比例する。

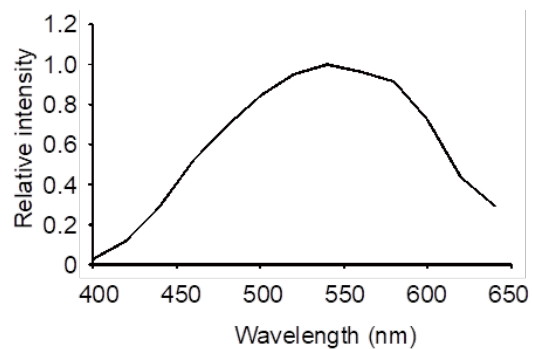


図4 ルシフェリンとアルブミンの反応は緑色の光を放出する。

■今後の展開

今後の課題としては、尿中の蛋白質の精製方法の簡便化が不可欠であると考えられる。アセトン沈殿以外の方法で尿中蛋白質の精製ができないか探る。また、ホタルイカルシフェリンを改変し、より発光の強い分子を合成することで、感度を向上させることも可能であると考えられる。

ルシフェリンとアルブミンが反応するというものの、生物学的意義は今のところ全くわからない。ルシフェリンとアルブミン

の反応がホタルイカ体内でも起きているのかについても調査を進めたい。

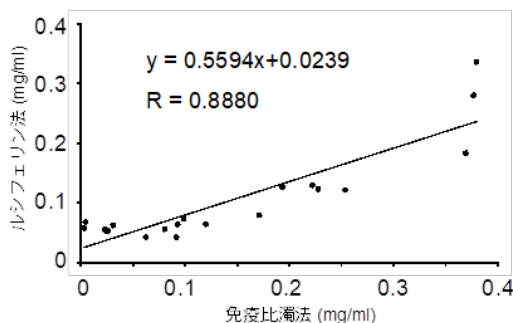
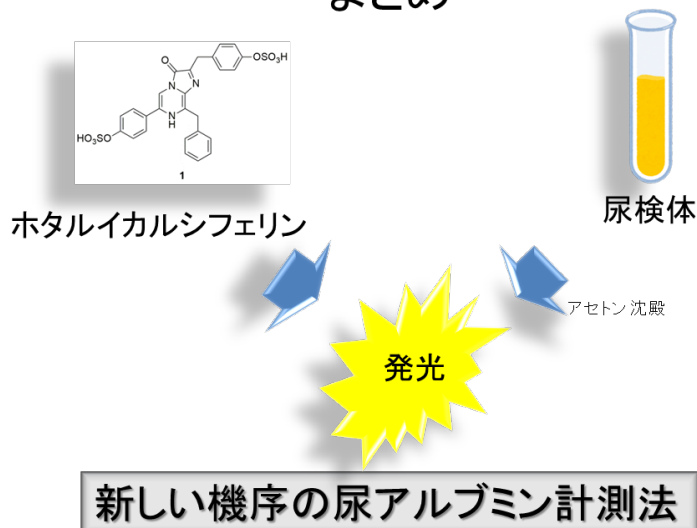


図5 ルシフェリンとアルブミンの発光による尿中アルブミン定量に成功した。

まとめ



本研究は、公益財団法人富山第一銀行奨学財団「研究活動に対する助成」を受けたものです。

【用語解説】

ルシフェリン

発光生物の体内では、小分子であるルシフェリンと、蛋白質であるルシフェラーゼが反応し発光する。ルシフェリン、ルシフェラーゼともに生物種によって構造が異なっていることが知られている。

アルブミン

血液中に最も多く存在する蛋白質。いろいろな分子と結合し、それらを運搬する役目を持つ。腎臓の機能が低下するとアルブミンは尿中に漏出されることが知られる。

【論文詳細】

掲載日

2022年7月28日

論文名：

A New Method for Albuminuria Measurement Using a Specific Reaction between Albumin and the Luciferin of the Firefly Squid *Watasenia scintillans*

著者：

Tetsuya Ishimoto^{1,2,*}, Takuya Okada³, Shiho Fujisaka⁴, Kunimasa Yagi^{4,5}, Kazuyuki Tobe⁴, Naoki Toyooka^{3,6} and Hisashi Mori^{1,2,6}

石本哲也^{1,2,*}、岡田卓哉³、藤坂志帆⁴、八木邦公^{4,5}、戸邊一之⁴、豊岡尚樹^{3,6}、森寿^{1,2,6}

¹Department of Molecular Neuroscience, Faculty of Medicine, University of Toyama

²Research Center for Idling Brain Science, University of Toyama

³Faculty of Engineering, University of Toyama

⁴First Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Toyama

⁵Department of Internal Medicine, Kanazawa Medical University

⁶Research Center for Pre-Disease Science, University of Toyama

¹富山大学 学術研究部 医学系 分子神経科学講座

²富山大学 アイドリング脳研究センター

³富山大学 工学部

⁴富山大学 学術研究部 医学系 内科学（第一）講座

⁵金沢医科大学 医学部 内科学講座

⁶富山大学 未病研究センター

掲載誌：

International Journal of Molecular Sciences

【本発表資料のお問い合わせ先】

富山大学学術研究部医学系 助教 石本哲也

TEL : 076-434-7231(直通) Email : ishimoto@med.u-toyama.ac.jp