

糖尿病マーカーとしてのアデノシンデアミナーゼ2の定量法の検討

○伊東 輝美¹, 並木 千秋¹, 江川(岩城) 祥子¹, 高橋 和彦¹, 渡辺 泰裕¹(¹北海道薬大)

【目的】アデノシンデアミナーゼ(以下 ADA)は、アデノシンをイノシンへ非可逆的に脱アミノ化させるプリン代謝酵素の一つであり、ADA1 と ADA2 の二つのアイソザイムが存在する。ADA1 は分子レベルでその性質が詳しく知られているが、ADA2 に関しては、HIV 感染症、結核、急性白血病、慢性肝炎などで血清中の酵素活性の上昇が報告されているものの、分子レベルでの解析は緒についた段階である。近年、2型糖尿病患者血清中でも ADA2 活性の上昇がみられることが報告され、定量法の開発により、病態の変動に関連した新たな疾患マーカーとして利用できる可能性がある。今回、他の糖尿病マーカーと ADA2 の関連性を調べるとともに、新たに作成した二種類の抗 ADA2 抗体を用い、血清中の ADA2 の分離と定量測定法を検討した。

【方法】ADA2 と全 ADA 酵素活性は、各々 ADA1 特異的阻害剤である EHNA の添加、非添加における活性を測定して求めた。また全 ADA 活性から ADA2 活性を差し引いた値を ADA1 活性とした。ADA2 抗体は、アミノ酸配列から抗原性を分析し、抗原性が高い二か所の配列を選択、ペプチドを合成し、各々に対するウサギペプチド抗体を作成した。免疫沈降法により血清から ADA2 を分離し、ウエスタンブロッティングによりバンドを検出した。

【結果・考察】健常人および糖尿病患者血清中の ADA 活性は、全 ADA、ADA1、ADA2 いずれも患者血清中で有意に高い活性を示した ($p < 0.001$)。また、全 ADA 活性にしめる ADA2 の割合は 65%と、健常人の場合とかわらなかった。糖化ヘモグロビン(HbA1c)とは弱い相関を示し、血糖コントロールで不良とみなされる HbA1c ≥ 7 のグループにおいて、患者血清中のアディポネクチンと ADA2 間に相関がみられた。患者血清を用いてウエスタンブロッティングを行った結果、ADA2 のバンドを確認することができ、現在定量化を進めている。