

# 26PB-am190

サンドイッチ ELISA 法による尿中エキソゾームの水チャネル AQP2 の測定と尿浸透圧との相関

滝沢 凌健<sup>1</sup>, 新井 健太<sup>1</sup>, 小沢 遼平<sup>1</sup>, 武藤 史彬<sup>1</sup>, 須藤 直人<sup>1</sup>, 佐々木 成<sup>1</sup>, 田中 靖子<sup>1</sup>,  
○石橋 賢一<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>明治薬大・病態生理学)

【背景】尿にはネフロン上皮細胞に発現している膜蛋白がエキソゾーム (膜小胞) として排泄されている。しかしその測定には超遠心を必要であるため技術的な困難を伴う。

【目的】尿をそのまま使って AQP2 が検出可能であるサンドイッチ ELISA 法の有用性について明らかにする。

【方法】ヒトの早朝尿サンプルを用いて、これまでの超遠心法によるエキソゾーム分画に回収される AQP2 と、最近市販されたヒトアクアポリン 2 ELISA キットによる AQP2 の検出を比較し、さらに尿浸透圧と尿中 AQP2 濃度の相関を調べた。

【結果】DDT や蛋白分解酵素阻害剤を入れない状態で尿中 AQP2 濃度を測定すると、キットでは 6.83ng/mL (n=6: 3.04~12.21) と検出された。尿の 3000g 15 分遠心では AQP2 量は上清/沈渣=6.73/0.99 であり、細胞分画に AQP2 は 13%検出された。この上清を 200,000g 1 時間超遠心してエキソゾームを沈殿させて AQP2 を測定したところ上清/沈渣=0.03/4.99 であった。この沈殿物のウェスタンブロット法によって AQP2 のバンドが検出されたが、尿そのままのウェスタンブロット法ではバンドは検出されなかった。さらに尿浸透圧  $U_{osm}$  と尿中 AQP2 濃度は相関係数  $r=0.63204$  の正の相関 ( $U_{osm}(mosm)=480+31AQP2(ng/mL)$ ) を認めた。

【考察】尿中 AQP2 をサンドイッチ ELISA 法によって検出する方法によって、AQP2 のほとんどがエキソゾーム画分に存在しており、従って、超遠心することなくエキソゾーム分画として測定可能であり、尿浸透圧によく相関している。