

# 25PB-am155

## Stopped-flow 法による尿エクソゾームの水透過性測定

○宮澤 優子<sup>1</sup>, 三上 早紀<sup>1</sup>, 木村 春光<sup>1</sup>, 櫻井 宏樹<sup>1</sup>, 佐々木 成<sup>1</sup>, 石橋 賢一<sup>1</sup> (1明治薬大)

【目的】尿中エクソゾーム(細胞外小胞)には水チャネル Aquaporin2 (AQP2)が発現しているが、不良品として捨てられている可能性もある。そこでヒト尿からエクソゾームを単離し、浸透圧性水透過性 pf を stopped-flow 法により測定し AQP2 が水チャネルとして機能しているか調べた。

【方法】健人新鮮尿を使用し(本学研究倫理委員会承認番号 2609)、遠心(2,500g)で細胞・細胞断片や不溶物を除去し、その上清をさらに超遠心(160,000g)して沈渣にエクソゾームを単離した。PBS で 150  $\mu$ g/ml となるよう希釈し stopped-flow 法でグリセリン浸透圧勾配による容積変化を散乱光強度変化で測定した。正常検体のほかに水チャネル阻害剤である水銀や膜破壊をした検体、温度を変えて pf を測定した。また、サンドイッチ ELISA 法にてエクソゾーム中の AQP2 タンパク量を定量して pf との関連を検討した。同時に AQP1 発現しているマウス赤血球 RBC においても同様に測定した。

【結果および考察】エクソゾームの平均直径は 45.9  $\pm$  15.9nm (n=120)。単離したエクソゾームの水透過性は pf=2.0  $\pm$  0.15  $\times$  10<sup>-4</sup>cm/s (RBC の pf=4.5  $\pm$  0.29  $\times$  10<sup>-2</sup>cm/s)であり、0.1mM 塩化水銀で 31.5%抑制され、温度変化による Activation Energy 計算では 1.325 kcal/mol でチャネル透過性を示唆する値であった。また、エクソゾーム中の AQP2 のタンパク量と、pf 値は正の相関傾向が認められた。尿中エクソゾームの AQP2 は水チャネルとして機能していることがわかったが、エクソゾームはサイズが小さく、また今回の測定 pf も小さいので、AQP2 の生理的な意義については今後の検討が必要である。