

P-15 対角線電気泳動法を用いた健常人尿中 Tamm Horsfall protein 解析

◎御園生圭太¹⁾、中山亜紀²⁾、飯島史朗^{1,2)}

1) 文京学院大学大学院 保健医療科学研究科、2) 文京学院大学 保健医療技術学部

【目的】 Tamm Horsfall protein (THP)は、腎臓の遠位尿細管上皮細胞より産生され、健常人の尿中に豊富に排泄されている質量約 100 kD のタンパク質である。THP には48個のシステイン、24箇所のSS結合が存在する。尿路結石や膀胱炎などの泌尿器系疾患でTHPの排泄量が低下することが報告されており、THPの臨床的意義が期待されている。健常人尿を非還元 SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)法によって分離し、THPのウェスタンブロットを行うと、100 kD から高分子に渡る陽性像が確認される。この原因の一つがジスルフィド(SS)結合を介した重合であるかを検討するため、対角線電気泳動法を用いた THP 構造多型の解明を目的とした。

【方法】 対象には同意の得られた健常人 64 名(男性 32 名、女性 32 名、平均±SD=21±2 歳)の随時尿を用いた。初めに尿中 THP 濃度を 50 µg/mL に調整し、7.5%ゲルで非還元 SDS-PAGE 法を行った後、ウェスタンブロットで THP の検出を行った。対角線電気泳動法は非還元 SDS-PAGE 法で泳動したゲルを 1 レーン毎に切り分け、

dithiothreitol で還元処理を行った後、10%ゲルの上に横にして置き、還元 SDS-PAGE 法を行った。泳動後は銀染色を行い、タンパク質を抽出した。対角線電気泳動後のゲルから、特徴的なスポットを切り取り、高速液体クロマトグラフィー・質量分析装置を用いてタンパク質同定を行った。

【結果】 健常人 64 名のウェスタンブロットの結果、全てにおいて THP 主バンドの 100 kD の位置に像がみられた。主バンドより高分子にブロードの泳動パターンが様々見られ、対角線電気泳動法を行ったところ、高分子のブロード像は 100 kD 付近に収束した。質量分析を行った結果、1次元目に 228 kD、270 kD を示した THP 陽性バンド部分から THP 及び免疫グロブリン γ 鎖と κ 鎖が同定された。

【考察】 対角線電気泳動法より、高分子領域にみられた THP は IgG などのグロブリンと SS 結合を介した複合体ではないかと推測された。また、THP は重合体を形成してダイマーやトリマーとして高質量領域にバンドが確認されたと推測される。本研究で臨床応用が期待されている THP の生理条件下での構造多型を明らかにできた。