流 れ

メタロチオネイン測定法の開発

中里 享美¹¹ 群馬県前橋市昭和町3-39-22 群馬大学大学院保健学研究科

文献情報

投稿履歴：

受付 平成27年 2月23日

修正 平成27年 3月 3日

採択 平成27年 3月12日

論文別刷請求先：

中里 享美

〒371-8514 群馬県前橋市昭和町3-39-22

群馬大学大学院保健学研究科

電話：027-220-8977

E-mail: nkyoumi@gunma-u.ac.jp

保健学科の前身である医療技術短大を卒業後、群大附属病院草津分院で臨床検査技師として勤務していた私は、1992年に医療技術短大の助手に着任しました。草津分院では、院長だった白倉卓夫先生等とともに温泉浴の効果と血液粘度への影響などについての研究を行っていましたが、医療技術短大着任後、1994年より鈴木慶二教授の下で現在まで続くメタロチオネインの研究を始めました。

メタロチオネイン (MT) は熱や酸に安定な低分子量 (6,000~7,000) の金属結合蛋白質で、構成アミノ酸の約 1/3 をシステインが占めています。ヒトやマウス、ラットなどの哺乳類では4種のアイソフォーム (MT-I, -II, -III, -IV) が存在しています。MT-I と MT-II はその構成アミノ酸や構造がよく似ており、どちらも全身の臓器に存在して有害重金属の解毒や亜鉛や銅などの必須微量元素の代謝調節、抗酸化作用、細胞の増殖・分化、化学発がんの防御などに関与しています。MT-III は MT-I / II に比べて構成アミノ酸数が多く、主に脳に存在し、神経突起の成長抑制や亜鉛代謝などに関与しており、アルツハイマー病との関連も示唆されています。MT-IV は皮膚や消化管に存在すると報告されていますが、その生理作用は未だよくわかっていません。

MT は、システイン残基が多く芳香族アミノ酸を含まないという特徴的なアミノ酸構成やその分子構造から、一般的な定量法による測定が極めて難しく、その測定法は組織や細胞を用いた免疫染色や western blotting, 原子吸光法、ICP-MS を用いた Cd-hem 法などでした。これらの方法は

測定感度や測定法の煩雑さ、特殊な機器の必要性などから、日常的な MT 蛋白量の定量や生理的機能の検討には不向きで、MT の発現と様々な疾患の病態やがんの予後等との関与が示唆されながらも詳細な検討は進んでいませんでした。私が MT の研究を始めた頃にも組織を用いた免疫染色と northern blotting による mRNA 発現の解析が主で、組織中や血中の MT 濃度の測定は行っていません。

そこで、保健学科の長嶺竹明教授や客員教授である中嶋克行先生らとともに、血中や尿中の MT 蛋白濃度の定量も可能な MT 測定法の開発に取り組むことになりました。まずは MT-I / II に対する新たな抗体を作製することから始め、2008年に従来の抗体よりも反応性の良い特異的な抗 MT-I / II ポリクローナル抗体を作製することができました。¹ その後、この抗体を用いた独自の高感度 MT-I / II 測定 ELISA 法を確立し、血中や尿中の MT-I / II 濃度測定も可能となりました。² これまでに、この ELISA 法による健康者の基準値を設定し、様々な疾患における MT-I / II 値の測定を行っています。メタボリックシンドロームや糖尿病患者では血清中 MT-I / II 値は高値となる傾向があり、ウィルソン病やメネケス病患者では血清中 MT-I / II 値は有意な高値を示しました。前立腺がん患者では尿中 MT-I / II 値と血中 PSA 値とに正の相関の傾向がみられました。また、この抗体を用いた免疫染色においても、NASH の肝組織では正常な肝組織や NAFLD の肝組織に比べて MT-I / II 蛋白の発現が有意に低下していることを示しま

した。MT-I/IIの発現は、種々のがんの発生や予後に関与するともいわれており、乳がんや肺がん、子宮がん、卵巣がん、腎がんなどではMT-I/II発現は上昇し、肝がんや前立腺がんではMT-I/II発現は低下するとの報告もあります。血中MT-I/II値測定がこれらの腫瘍マーカーとなる可能性も考えられ、今後、検討を進めていきたいと考えています。

MT-IIIについても、新たな抗MT-IIIモノクローナル抗体を作製し、独自の高感度MT-III測定ELISA法の開発を行っています。³ このMT-III測定ELISA法が確立されれば、アルツハイマー病やパーキンソン病などの中枢神経系疾患の病態解明や診断指標として役立つことが期待されます。また、近年、精巣や前立腺、卵巣、腎臓などにもMT-IIIの存在が認められており、これらの臓器でのMT-IIIの生理作用の解明にも利用できると考えています。

学生時代には、研究者になることなどほとんど考えておらず、臨床検査技師として就職した私でしたが、諸先生方

とのご縁とご指導により今日に至っています。今後もMT測定法の確立と臨床への応用を研究することで、医療や臨床検査に少しでも貢献できればと思っています。

文献

1. Nakazato K, Nakajima K, Kusakabe T, et al. Immunohistochemical staining with newly developed metallothionein fragment antibodies against NH₂-terminal, middle-regional and COOH-terminal peptides in rabbits. *Pathol Int* 2008; 58: 765-770.
2. Nakajima K, Kodaira T, Kato M, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for metallothionein- I and -II in plasma of humans and experimental animals. *Clin Chim Acta* 2010; 411: 758-761.
3. Saito H, Nakazato K, Kato M, et al. Determination of metallothionein-3 by a competitive enzyme-linked immunosorbent assay in experimental animals. *J Toxicol Sci* 2013; 38: 83-91.