

## 第82回麻布獣医学会 一般演題6

## マイクロ2次元電気泳動法を応用したネコ尿中アルブミンの 定量と病態解析

前田 浩人<sup>1</sup>, 堀江 和香<sup>1</sup>, 渡辺 俊文<sup>2</sup>, 坂口 和子<sup>3</sup>, 鈴木 潤<sup>3</sup>

<sup>1</sup>前田獣医科医院, <sup>2</sup>麻布大学附属動物病院, <sup>3</sup>麻布大学環境保健学部

[はじめに]

小動物臨床現場においてネコの慢性腎不全 (chronic renal failure; CRF) の発症は増加傾向にあり, その治療に不可欠である感度の高い早期診断方法の確立が望まれている。しかしながら, 獣医臨床においてこの分野における研究, 検討に関する報告は少ない。今回, ミクロ2次元電気泳動法 (M2D-PAGE) を応用し, ネコ尿中アルブミン (Alb) 値を定量する測定方法を用いて実際の症例に対してデータの解析を行い, CRFの早期診断マーカーとしての有用性について検討を行ったので報告する。

[材料および方法]

カテーテル採尿にて得られたネコ尿 (正常96例, CRF59例) 0.25  $\mu$ L を試料とし, M2D-PAGEと免疫比濁法で尿中Alb値を定量した。M2D-PAGE (2次元目7%ゲル) は既報に従い, 標準物質Alb (Sigma社製) による標準曲線を作成し, ネコ尿中タンパク質スポット (スポット) からAlb値を定量するとともに, このスポットに対し質量分析を実施した。免疫比濁法によるAlb値は, 原尿と抗ヒトアルブミン抗体による特異的な抗原抗体反応を濁度により測定した (外注)。血清クレアチニン (Cr) 値の測定は, クレアチニンディミニナーゼを用いる酵素法により富士ドライケムスライドCRE-P III (富士フィルムメディカル) を使用して測定した。

[結果および考察]

はじめに, 異なる採尿方法による尿から検出されたM2D-PAGEのタンパク質スポット (スポット) に差異が認められないことから, カテーテル採尿法を用いて得られたスポットに対して質量分析を実施し,

ネコAlbと同定した。また, 標準物質 (Alb) を用いた標準曲線からAlbスポットを定量した結果, 再現性試験の変動係数 (CV) は低値を示し, 保存温度, 日差変動 (4日間) については,  $-30^{\circ}\text{C}$ にて冷凍した検体において測定値に変動差の少ないことが認められた。さらにこれらの方法を用いて, 正常ネコ尿およびCRFネコ尿に対しM2D-PAGEで定量した尿中Alb値と, 従来より臨床現場にて応用されている免疫比濁法にて定量した尿中Alb値を測定した結果を, それぞれの尿中Alb値に対して比較すると, M2D-PAGEで測定した尿中Alb値は約5倍の高値を示した。さらに, M2D-PAGEで定量した尿中Alb値とCrについて, 正常ネコ尿およびCRFネコ尿について測定した結果, 国際腎臓病研究科会グループ (IRIS) による病期分類I期においてもM2D-PAGE定量により多量のAlbが尿中に含まれていることが確認された。また, 同病期の症例に対し病理組織学的検査を実施した結果, 慢性間質性腎炎と確定診断した。

以上の結果から, 同じ検体を用いて異なる測定方法で定量した尿中Alb値について比較検討を行った結果, 正常ネコ尿, CRFネコ尿のどちらにおいても免疫比濁法に比較してM2D-PAGEは約5倍感度の高い測定方法であった。また, IRIS分類I期においてすでに慢性腎不全が発症していることが尿中Alb値, 病理組織学検査所見から確認された。これらのことから尿中Albの測定において本法 (M2D-PAGE) は, 従来臨床現場で行われている免疫比濁法に比較して感度の高い測定方法であり, CRFに対する早期診断方法の1つとして有効であることが示唆された。