

微生物酵素を用いた小児がんの新規診断法

三井 亮司 田中 三男 (理学部 生物化学科 応用微生物学研究室)
 (株)札幌イムノ・ダイアグノスティック・ラボラトリー (札幌 IDL)

Keywords : 検査薬、微生物酵素、腫瘍マーカー、小児がん

1. 開発目的

副腎髄質や交感神経節で生成される神経伝達物質であるカテコールアミン類は、生体内で代謝を受け最終代謝産物としてバニリルマンデル酸 (VMA) となり尿中へ排出される。副腎髄質や交感神経節で発生する腫瘍ではカテコールアミンが過剰に産生されるため必然的に VMA が高値となる。このような病態は神経芽細胞腫があり、小児がんとして白血病に次いで患者数が多い。尿中 VMA の簡便、迅速かつ正確な測定法を確立するため、VMA を資化する微生物 (*Rhodospiridium paludigenum* VMA4) を自然界より分離し、その微生物から抽出した酵素を用いて VMA を測定する新規な方法を開発した。酵素の大量発現と安定供給を遺伝子組換え等により検討している。

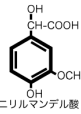
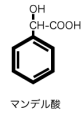
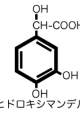
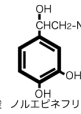
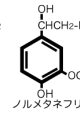
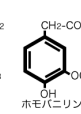
2. VMA 測定法の概要と特徴

現在の VMA 測定法としては主に高速液体クロマトグラフィー (HPLC) が用いられている。しかし、機器が高額である上、多検体の分析には時間がかかる。

本方法では

- 1) 酵素反応を用いるので尿中に含まれる他の物質に影響されにくく、特異的かつ迅速に VMA を測定できる。HPLC では分離が難しい D 体の VMA を特異的に測定できる (表 1)。
- 2) 発色により VMA 濃度を確認でき、定量性も高い (図 1)。札幌 IDL 株式会社がマススクリーニングに用いている酵素法蛍光測定試薬を適用することにより、HPLC よりもさらに高感度の測定が可能であるか検討中である。これによりジヒドロキシマンデル酸などの血中測定も可能となる可能性がある。

表 1 VMA 脱水素酵素の基質特異性

						
	バニリルマンデル酸	マンデル酸	ジヒドロキシマンデル酸	ノルエピネフリン	ノルメタネフリン	ホモバニリン酸
Relative activity (%)	100	25	90	0	0	0
Configuration	(D)	D	(D)	—	—	—
K _m (mM)	0.9 (0.45)	1.1	0.1(0.05)	—	—	—

(バニリルマンデル酸およびジヒドロキシマンデル酸はラセミ体を用いての測定値 () の値は D 体のみを基質として測定した場合の測定値)

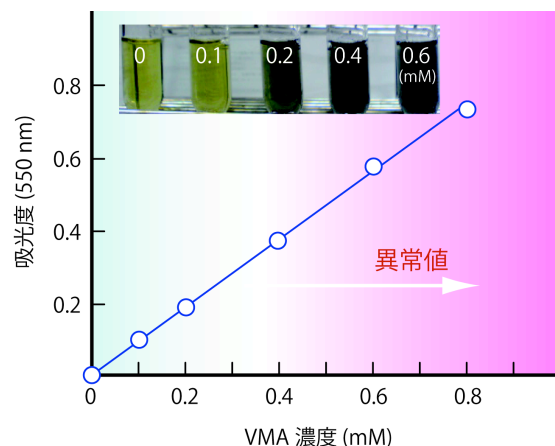


図 1 VMA 脱水素酵素を用いた VMA 濃度測定

本研究は文部科学省「社会連携研究推進事業」の一環として行ったものである。

※特許出願「D-マンデル酸誘導体脱水素酵素」