

# 新規糖鎖マーカーを用いた肝臓の線維化診断技術

研究者：成松 久 国立研究開発法人 産業技術総合研究所 名誉リサーチャー

開発企業：家次 恒 シスメックス株式会社 代表取締役会長兼社長 CEO

(推薦者：高浜 洋一 シスメックス株式会社 第一エンジニアリング本部主幹技師)



成松 久 氏



家次 恒 氏

## 1. 技術の背景

ウイルス性肝炎やその他の原因により肝臓の線維化の進行度を検査する方法として、従来、肝生検など生体組織を採取するという体に負担の大きな検査法や高額な画像診断装置を使った検査法が一般的であった。

国立研究開発法人産業技術総合研究所(以下 産総研)の成松久は、2001年プロジェクト発足当初より臨床現場ニーズに基づいたバイオマーカー開発を意識し、糖鎖医工学研究センターを拠点として日本独自の糖鎖解析に関する技術開発を主導した。2006年からは国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構(以下 NEDO)糖鎖技術活用技術開発プロジェクトにおいて、世界的にリードしてきた糖鎖研究の成果を駆使し、10種類の疾患に関して、多数の糖鎖バイオマーカーを開発した。

シスメックスは、独自のタンパク質アッセイシステムである高感度化学発光法を利用した全自動免疫測定装置での測定可能性を検討開始。これまで築いたノウハウを融合させて、感度、特異性を改善し、誰がどこで測っても同じ結果が得られることを目標に開発を進めた。

2者の信頼関係に基づいた綿密な連携により、世界初の新規糖鎖マーカーを用いた血液検査で肝臓の線維化を診断する試薬を開発、2013年に薬事承認を取得し、2015年に保険の適応を受け、現在に至っている。

## 2. 技術の概要

2001年当時、産総研・糖鎖工学研究センターは、タンパク質世代より、さらに次世代の研究テーマに「糖鎖」を取り上げ、日本が世界のイニシア

タイプを取るよう経済産業省に提案。2001年からNEDOの糖鎖プロジェクトを率い、まずは糖鎖を生合成する糖転移酵素遺伝子の網羅的発見(Glycogene project:GGproject)に取り組んだ。GGプロジェクトは短期間で、40種類以上の糖転移酵素遺伝子を発見するに至り、知財化、論文化ともに成功裡に終わった。次は2003年に糖鎖の構造解析と合成技術を開発するStructural Glycomics Project(SGプロジェクト)を開始した。それまで生体成分に含まれる微量の糖タンパク質上の糖鎖の構造分析は世界的に手つかずの状況であった。それは、糖鎖がDNAやタンパク質よりはるかに複雑で、種類も多く、構造も細胞の分化とともに刻々と変化していくためであった。

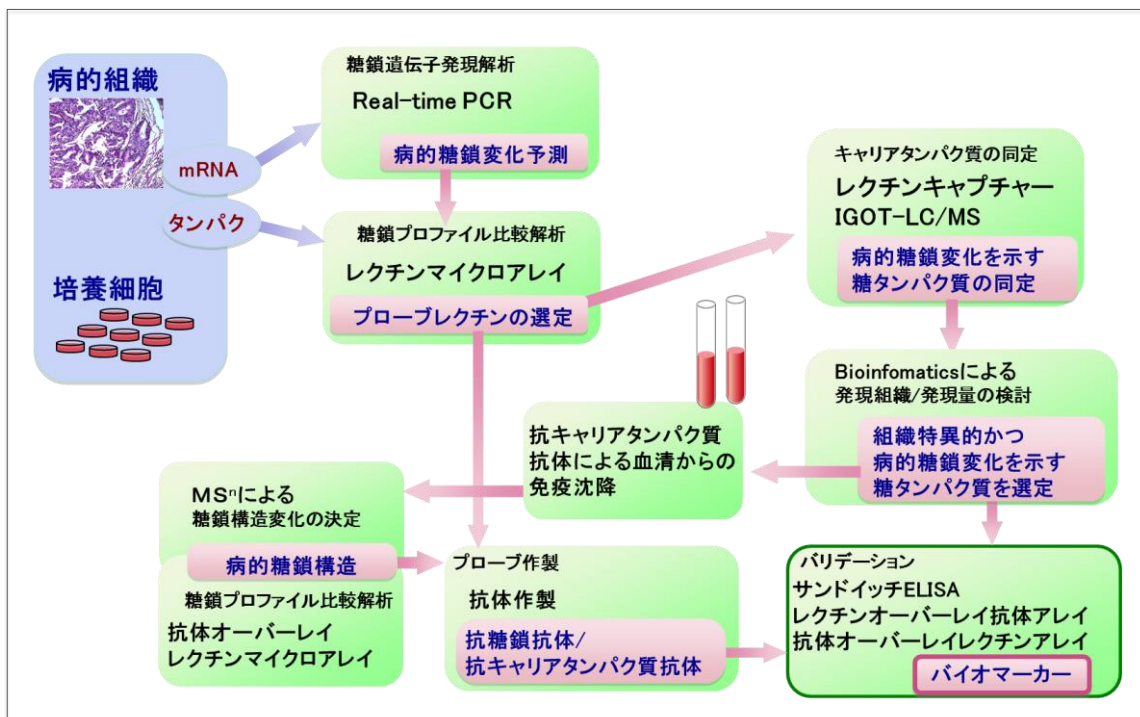


図1 新規糖鎖マーカーの開発戦略

2003年、同センターのレクチン技術開発チームは糖鎖のある決まった形の部分を認識して結合するレクチンという多種類のタンパク質の研究を進め、その情報の蓄積を診断への応用を考案、2005年に「レクチンアレイ法」という43種類の特異性の異なるレクチンへの反応から糖鎖構造の特徴を抽出する画期的な基礎技術が開発された。レクチンアレイ法は当時、世界各地で開発されていたが、産総研チームはエヴァネッセント波を利用することで世界最高感度のレクチンマイクロアレイ法を完成させた。それに並行して、質量分析(MS)装置による糖鎖構造解析技術も開発し、糖鎖構造解析における2大技術を完成させた。他国が未踏の分野である時期に、いち早く糖鎖構造解析技術の開発を果たしたことで、この二つの技術を臨床

研究に適応させて、多くの肝臓医の方々を巻き込むことになり、研究が加速された。

以後、世界的にリードしてきた糖鎖研究の成果を駆使し、新規糖鎖マーカーの開発戦略から慢性肝炎の患者の血中には、特定の糖鎖構造を持ったM2BP と呼ばれる糖タンパク質 (M2BP 糖鎖修飾異性体；M2BPGi と命名)が増加することを産総研が発見 (図 1)。

しかしながら、上記「レクチンアレイ法」による分析では 18 時間かかっており、新たな技術を市場に出すには測定時間の迅速化が不可欠であった。

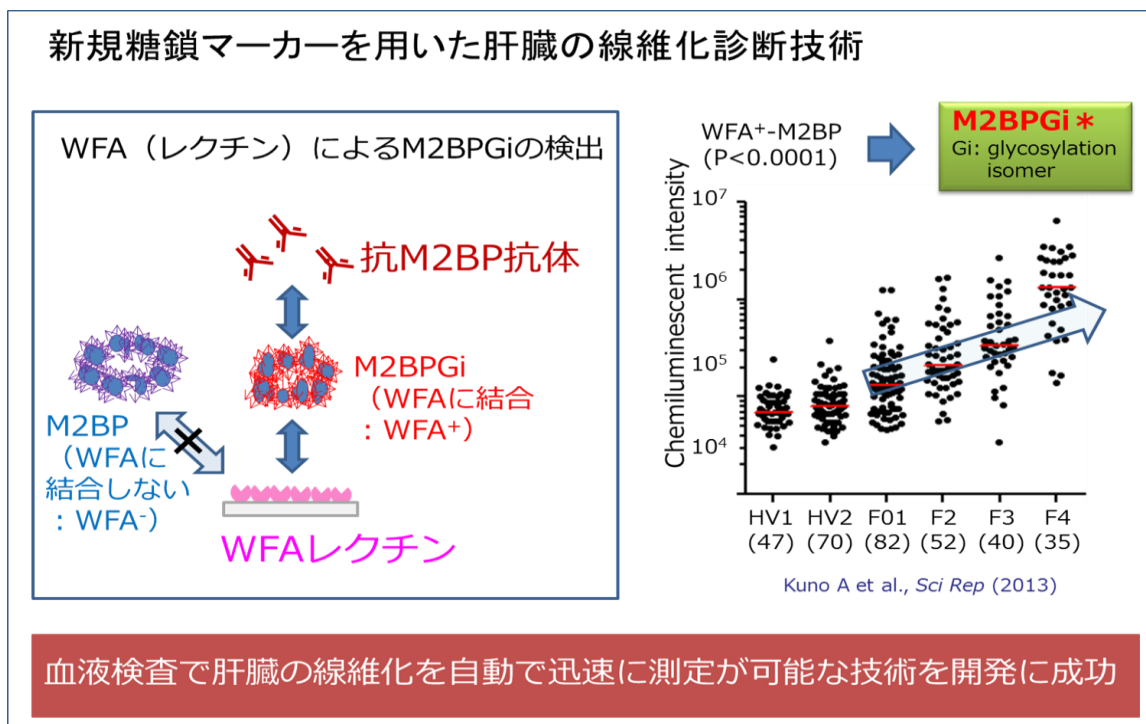


図 2 新規糖鎖マーカーの自動化測定技術の開発

シスメックスは独自のタンパク質アッセイシステムである高感度化学発光法を利用した全自動免疫測定装置「HISCL-2000*i*」での M2BPGi の測定可能性を検討開始。M2BPGi の特異な糖鎖構造を認識するレクチンとして、産総研が WFA レクチンを選定した。一般的に糖鎖とレクチンの結合力は非常に弱く反応速度も遅いため、HISCL-2000*i* 用に試作した試薬の安定性も 3 日で使えなくなり、装置内での 17 分の自動化工程にも耐えられる状況ではなかった。WFA レクチンを固相に高密度に感作し、反応性を高めるための増感剤、および試薬安定化のための薬剤の開発等、これまで築いたシスメックスのノウハウを融合させて、感度、特異性を改善し、誰がどこで測っても同じ結果が得られることを目標に開発を進めた (図 2)。

### 3. 効果

2013 年に「HISCL-M2BPGi 試薬」は薬事承認を受け、2015 年に保険の適

応を受けて実用化開発を完了した（図 3）。この日本の産官学連携の技術の「橋渡し」は産総研とシスメックスが互いに橋を架け合い、臨床医の先生方の協力を得ることで、All Japan で新たな診断法が生まれた。日本の最先端の科学技術が、糖鎖を活用した臨床分野へのパラダイムシフトを起こした一例である。


<p>使用目的：血清中のMac-2 binding Protein (M2BP) 糖鎖修飾異性体<sup>※</sup>の測定 (肝臓の線維化進展の診断補助)</p> <p>反応時間：<b>17分</b> (反応時間のみ)</p> <p>対象検体：血清のみ (10<math>\mu</math>L)</p> <p>測定範囲：C.O.I. = 0.10~20.00 (半定量法)</p> <p>判定方法：陰性 (C.O.I. &lt; 1.0) 陽性1+ (1.0 <math>\leq</math> C.O.I. &lt; 3.0) 陽性2+ (C.O.I. <math>\geq</math> 3.0)</p>		<p>非慢性肝炎判定カットオフ 慢性肝炎判定カットオフ 肝硬変判定カットオフ</p>
<p>■ <b>保険適用日：2015年1月1日</b></p> <p>■ <b>保険適用の内容</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>測定項目：Mac-2 結合蛋白 (M2BP)糖鎖修飾異性体</li> <li>参考点数：D215-2 肝硬度測定 <b>200点</b> D026-3 生化学的検査 (I) 判断料 <b>144点</b></li> </ul>		

図 3 新規糖鎖マーカーを用いた肝臓の線維化診断技術

本邦では 300 万人を超える C 型肝炎患者がいる。2015 年に HCV ウイルスを排除できる治療薬が登場し、治る病気になった。当該技術開発で実用化された「M2BPGi 試薬」により、適切な時期に適切な治療を行うことが可能になり、治療費の削減につながる。さらに、これら治療薬でウイルスが排除された状態 (SVR という) になったとしても、5 年後に肝がんを発がんする患者が 4% 以上存在することがわかってきた (肝がん治療費は 2000 万円/人)。この発がん予測に M2BPGi 試薬は有効であることが複数の臨床研究で明らかになっており、日本肝臓学会肝炎診療ガイドライン作成委員会が編集した C 型肝炎治療ガイドライン第 5.1 版 (2016 年 10 月) において、治療後のフォローアップに M2BPGi が有効であることが明記されている。

日本での治験やエビデンスをベースとして、中国や韓国・東南アジアなどへも診断や治療における貢献、さらには肝発癌リスクファクターとしての臨床的有用性の確立に向けた研究活動を継続して実施していく計画である。