

総 説

血漿プロテオーム

—— 副作用マーカー探索 ——

Plasma Proteomics

—— Discovery of protein markers associated with risks of drug side effects ——

西村俊秀¹⁾ 平野隆²⁾ 秋元信吾¹⁾

加藤治文²⁾

Toshihide NISHIMURA, Takashi HIRANO, Shingo AKIMOTO

Harubumi KATO

¹⁾東京医科大学臨床プロテオーム研究寄附講座

Clinical Proteome Center, Tokyo Medical University

²⁾東京医科大学外科学第一講座

Department of Surgery, Tokyo Medical University

1. はじめに

体内のあらゆる細胞は、各時点での生理状態の記録を血液中に放出している。血液はすべての組織で進行している生理的活動を反映するいまだに知られていないバイオマーカーの宝庫ととらえられる。全身性疾患では分泌タンパク質を診ることによりその発症機構に迫れる可能性が高い (図1参照)。血漿中にあるタンパク質研究は、プラズマ・プロテオミクス (plasma proteomics) と呼ばれる。術前における診断や定期的な初期診断 (アーリーディテクション) において疾病の証拠が得られれば、治癒率の高い処方や予後の良い治療を選択することが可能だ。現在用いられているバイオマーカーは治療可能な初期の癌を高い感度で検出することは出来ず、多くの場合には共通の良性腫瘍とあやまって分類してしまう。特定の疾患が唯一のバイオマーカーをもつことはあまり考えにくい。例え

ば、癌細胞がひとつの特異的なタンパク質を放出しているとも考えにくい。多様なタイプと病期の異なる細胞を含む癌のように不均一な疾病組織では、腫瘍と宿主との複雑なマイクロ環境で生理的活動は進行しており、感度及び特異度が非常に高い唯一のバイオマーカーを見つけることは本質的にほぼ不可能であろう。組織は血液やリンパ液が灌流しており、現場で産生されたタンパク質やそのフラグメントが循環の流れに入り込む。従って、腫瘍の存在する現場の状況が血液の中に特異的なタンパク質の指紋となって反映されることが考えられる。然しながら、血漿のプロテオームは非常に複雑で約 10^{10} のダイナミックレンジを持つ混合体であり、アルブミンや IgG といった古典的なプラズマタンパク質により大部分が占められ、残りの数%に 10,000 種以上の組織からの低存在量リーケージタンパク質やさらに極低存在量のインターロイキン類がある¹⁾。プラズマ・プロテオミクスには大きく分けて

2005年1月5日受付、2005年1月14日受理

キーワード：血漿、プロテオーム解析、臨床プロテオミクス、質量分析、インフォマティク

(別冊請求先：〒163-0217 東京都新宿区西新宿2-6-1 新宿住友ビル17階 東京医科大学研究寄附講座臨床プロテオームセンター 西村俊秀)

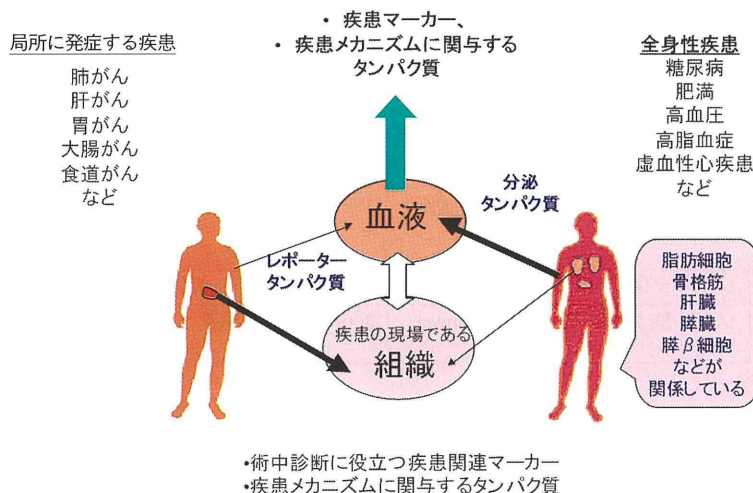


図1 疾患解析への血漿プロテオミクスからのアプローチ概略

二つのアプローチがある。ひとつは、アルブミンなどのキャリアータンパク質が集めてくる低存在量のタンパク質を調べるものである²⁾。他は、圧倒的に多い古典的なアルブミン等のプラズマタンパク質を除いて、疾患組織から放出された低い存在量のリーケージタンパク質 (leakage proteins) 等に注目するものである。大きいタンパク質は活性を受けて分泌し、患部組織中にある管壁の透過性が高まるなどして血流に入るが、分解や切断により小さくなることにより容易に血流に入り込む。このような血液のプロテオームにおける低分子タンパク質は、多くのタンパク質クラスをカバーしており、診断情報に富んでいると考えられる。

プロテオミクスには、疾患プロセスを媒介するタンパク質分子同定による、病因解明、疾患検出・診断及び処方技術における現在の限界を克服する大きな期待がある。さらに、臨床プロテオミクスから得られる知識は、診断法や治療法に大きな変革をもたらす。新しいタンパク質バイオマーカーを用いて疾患の初期診断法や、加速的な薬物開発、薬物の有効性や毒性の評価がすでに行われている。

病気の治療において、役に立たない作用 (side effects)、あるいは依存、乱用、催奇形、中止時の反跳、発がん、ウイルス感染、薬物相互作用などによる有害な反応 (adverse event) を広く「副作用」と呼ぶ。副作用の発症は、薬剤の種類により異なり、ひとつの薬にもいろいろな副作用があるのが普通である。眠気や喉の渇きといった軽い症状から、生命に関わるような重篤な副作用まで、その程度もまちまちである。また、副作用発症は体質にも依存、一般にアレルギー体質の

人、腎臓や肝臓の機能の悪い人、高齢の人などは副作用が出やすく、また薬剤を多量に投与すれば当然副作用が出やすくなる。

副作用の頻度は薬剤の種類によって異なり、一概に何%ということとは出来ない。ビタミン剤のように殆ど副作用がない薬剤から、抗がん剤のように高頻度に起こるものまで、さまざまである。一般的によく使用される薬剤に関しては、副作用は経験的に多くはないというのが関係者の見方であり、以外なことに、一つ一つの薬剤における副作用の発症頻度について、正確に把握されていないことも多々ある。薬剤によっては、使用成績調査などで得られたデータが添付文書に記載されており、ある程度の目安にはなるが、これを持って全てとすることは出来ない。本稿では、臨床プロテオミクス研究による副作用リスク因子 (マーカー) の探索につき論ずる。

2. 報告された副作用

どんなに画期的な薬剤であっても、副作用発症の可能性はある。副作用の報告件数で常に上位を占めるのはペニシリンに代表される抗生物質である。しかしながら、安易な使用は問題であるが、肺炎、敗血症など、生命に関わるような感染症の治療にはなくてはならない非常に有用な薬剤であることは間違い。「副作用が多い」が即「悪い薬剤」というような単純なものではない。一般、副作用が多い薬剤には、効果の高い優れた薬剤が多い。死亡例を含めた薬剤の副作用の一覧 (表1)、死亡例を含めた抗がん剤の副作用の一覧 (表2) を示す。これらの結果は正しく、薬剤は「安全性」と「有効性」のバランスの上に成り立っていることを

表1 最近の副作用例

商品名	一般名	会社名	発売	適応・特徴	主な副作用
メソトレキセート	Methotrexate	Wyeth	1963	白血病:	間質性肺炎、血液障害、肝機能障害
ノスカル (2000年自主回収)	Troglitazone	三共	1997	糖尿病	劇症肝炎などの肝障害
バイコール (バイエル)/ セルタ (武田) (2001年自主回収)	Carivastatin	Bayer・武田	1999	高コレステロール血症	横紋筋融解症
アラバ	レフルノミド	Aventis	2003	関節リウマチ	間質性肺炎
セロクエル	フマル酸クエチア ピン	AstraZeneca/ 藤澤	2001	抗精神病薬	高血糖、糖尿病性昏睡、糖 尿病性ケトアシドーシス

* 上記はすべて死亡例あり

表2 最近の副作用例 (抗がん剤)

商品名	一般名	会社名	発売	適応・特徴	主な副作用
カンプト (ヤクルト)・ トポテシン (第一)	Irinotecan Hydrochloride	ヤクルト・ 第一製薬	1994	9種の癌腫: I型DNAトポイソメ ラーゼ阻害によるDNA 阻害剤	骨髄抑制、感染症合併、腸 管麻痺、間質性肺炎、多量 の腹水、胸水
タキソテール	Docetaxel	アベンティス	1995	非小細胞肺癌: タキソイ ド系、チューブリン系重 合促進。細胞の有糸分裂 を停止。	骨髄抑制、感染症合併
ユーエフティ	Tegafur uracil	大鵬	1984	肺癌: 代謝拮抗剤	劇症肝炎、TS1併用による 血液障害
ジェムザール	Gemcitabine	Lilly	1999	非小細胞肺癌: 腫瘍細胞 のDNA合成阻害	血球数 (赤血球、白血球、 血小板) 低下
イレッサ	Gefitinib	AstraZeneca	2001	非小細胞肺癌: EGFRチロシンキナーゼ 選択的阻害剤	間質性肺炎・急性肺障害
ランダ (日本化薬)、 プリプラチン (BMS)	Cisplatin	日本化薬、BMS	1984	非・小細胞肺癌: 腫瘍細胞 のDNA合成阻害及び 細胞分裂を阻害	腎障害

* 上記はすべて死亡例あり

示すものである。

① 糖尿病治療薬ノスカル (Troglitazone) の
ケース

三共株式会社が開発した初めてのインスリン抵抗性改善薬として期待され、1997年3月に、日本では開発元の三共株式会社、米国ではパークデービス・ワーナーランバート、英国ではグラクソウエルカムより発売された。1997年秋、全世界で死者6名を含む130件の肝障害が報告され、英国ではグラクソウエルカムが発売を中止した。同年末、我が国では厚生省より緊急安全情報が発令され、米国では消費者団体 (Public Citizen) が販売中止を要求した。1999年3月、FDAで安全性の再審査が行われたが、条件付 (慎重投与) で発売の継続が認可された。2000年3月、米国においてFDAの勧告を受け入れてメーカーが自主回収、日本でもメーカーが自主回収を決定した。2年間に、延べ

150万人に処方されながら、肝機能障害による副作用のため米国において発売中止を余儀なくされ、日本においては発売中止ではなく自主回収された。米国では75万人に投与され、90人が肝障害を起し、うち63名が死亡している。7人は肝移植をうけて存命し、10人は肝移植なしで回復した。日本においては、約9万人が使用し、死亡者は8名であった。

3. 副作用のメカニズムが解明された例

現在では、副作用のメカニズムが解明され、副作用の発症を回避できるようになった抗生物質が幾つかある。ストレプトマイシンによる聴覚障害は、ミトコンドリアの遺伝子型を調べることで事前に副作用の発症を回避できる。ペニシリンやセファロsporin系のアレルギーによるショック死は、投与前に皮下試験を行い、アレルギーの有無を確認することで副作用の

発症を回避できる。安全な睡眠薬として開発・販売されたサリドマイドは、妊娠初期の妊婦が用いた場合に催奇形性があり、四肢の全部あるいは一部が短いなど、独特の奇形を持つ新生児が多数生じた。一方、副作用の発症メカニズムが解明された現在では、サリドマイドが有する優れた薬効が再認識され、多発性骨髄腫、前立腺がん、らい性結節性紅斑の特効薬としての期待が高まっている。

4. 副作用マーカー探索のためのプロテオミクス

臨床でのプロテオミクス研究を実施する上で考慮すべき前提として、1) 施設内等の倫理委員会承認などの倫理的な配慮、2) 治験に付属する場合などには、GCPやGLPといった法的な規制の遵守、3) 検体採取時におけるインフォームドコンセントの徹底、出来るだけ患者負担の少ない採取法、4) 試料及び解析に使用する臨床データの匿名化による患者プライバシーの保護、5) 試料のプロテオーム解析を行う研究者に対する潜在的感染性の予防、6) 臨床検体の注意深い取り扱いや、採取、採取時処理、凍結、輸送、保管等の手順などを確立などがある。副作用マーカー探索はもっぱら血液（血漿）を用いて行われ、そのプロテオーム解析全体を血漿プロテオミクス（plasma proteomics）という。

① 血漿のプロテオミクス

血漿プロテオミクスに大きく異なったアプローチが二つある。ひとつは、アルブミンなどのキャリアー蛋白質が集めてくる低存在量の蛋白質変動を調べるものである³⁾。他は、圧倒的に多い古典的なアルブミン等のプラズマ蛋白質を除いて、薬物投与に関連して疾患組織から血中に放出された（leakage）低い存在量のリーケージ蛋白質等に注目して調べるものである。

プロテオーム解析は、これまで二次元ポリアクリルアミド・ゲル・電気泳動（two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis: 2-D PAGE)⁴⁾に基づくものが主流を占めてきた。最近でも 2-D PAGE と質量分析法（mass spectrometry: MS）を用いて疾患で発現する蛋白質をプロファイリングする研究が行われている⁵⁾。病態（臨床）プロテオーム解析には高い感度、定量性、高いスループットが必要となることは明確である。2-D PAGE の蛋白質提示能力は、2,000~5,000 分子、典型的な蛍光色素や銀染色での検出感度は約 100 fmol、膜蛋白質のほとんどが一次元目の固定化 pH 勾配ゲル（IPG）に可溶化することが適用困難、高分子

量や低分子量の蛋白質及び酸性及び塩基性蛋白質の解析が困難、また重ね合わせはマニュアル編集を行わなければならない自動化が難しいなど、欠点も多いのが現状である。従って、プロテオーム解析に必要な要件、出来るだけワイドなスコープで発現蛋白質を一度に探索的に把握し、発現量を高いダイナミックレンジで達成するには、後述する多次元液体クロマトグラフィー（multi-dimensional liquid chromatography: MD LC)^{6,7)}を質量分析と直接統合させた解析などの方法論の導入が必須である。

別の方法として、米国 Food and Drug Administration (FDA) と National Cancer Institute (NCI) は、マトリックス支援レーザー脱離イオン化（matrix-assisted laser desorption ionization: MALDI）法⁸⁾と表面アフィニティーをもちいて血漿からキャプチャーされた蛋白質の質量分析測定を行い、イオン・シグナルのパターンと疾患とを結びつける研究を行っている。この surface-enhanced laser desorption ionization (SELDI) を用いた卵巣癌の臨床研究成果が 2002 年の初頭に Lancet 誌に発表され⁹⁾、臨床プロテオミクスの医学への有効性を証明した功績は大きい。50 人の卵巣癌患者と 66 人の健康な女性の血液を対象として、卵巣癌と結びついた蛋白質シグナル・パターンを同定した（パターン・ディスカバリー）。このパターンをマスクされた血液セットに適用し（パターン・マッチング）、100%の感度、95%の特異度で卵巣癌を検出した。従来 CA125 による診断感度 35% に比べて圧倒的な優位性を示した。さらに、North Carolina 大学と共同での前立腺癌については、プロテオーム・パターンとしては前立腺癌患者 38 人中 36 人を同定し、良性腫瘍患者 228 人中 177 人を同定した⁹⁾。Prostate-specific antigen (PSA) がその基準まで上昇していた患者に対しての特異度は 71% であった。1 回の細胞診で前立腺癌と断定された 28 人及びそうでない 63 人からなる 91 人に対するブラインドされた試料に対する結果では、100%の感度と 67%の特異度が得られた。然しながら、SELDI 法によるプラズマ・プロテオミクスは、パターン・ディスカバリーという点では非常に有効であるが、トランケーションや翻訳後修飾を受けた蛋白質のイオン・シグナルからどのような蛋白質かを同定するのは甚だ困難である。

¹ 試料をレーザー光を吸収するマトリックスと混合し、乾燥させて結晶とし、レーザー照射による瞬間加熱にもとづいて分解させずに試料をイオン化する方法。

Anderson ら¹⁰⁾ は、血漿中に含まれる古典的なプラズマ蛋白質以外の蛋白質群を異なった方法から収集して non-redundant な 1,175 種をリスト化している。方法は、1) 文献、2) 血漿試料から抗体アフィニティークロマトグラフィーにより albumin, haptoglobin, transferrin, transthyretin, α -1-anti trypsin, α -1-acid glycoprotein, hemopexin, α -2 macroglobulin を除去後、二次元電気泳動法と MALD-MS 及び LC-MS/MS による検出同定、また、3) IgG をプロテイン A/G カラムを用いて除去・消化したペプチド混合物を強カチオンカラムとキャピラリー C18 カラムにより二次元分画分離の後、三次元 (3-D) イオントラップ質量分析計によりタンデム質量分析 (MS/MS)^{#2} を行い検出同定、最後は 4) アセトニトリル存在下で 30 kDa 以上の分子量カットオフをもつ超遠心膜を用いて高分子量蛋白質を除いた後、アルキル還元してトリプシン消化されたペプチド混合物に対して、3-D イオントラップ質量分析計により MS/MS を行い検出同定するものである。彼らの目的は、古典的プラズマ蛋白質蛋白質のカatalogを作成することにあるが、同様のプロジェクトが、ヒトプロテオーム機構 (HUPO) においてもパイロット研究の段階ではあるが、プラズマ・プロテオーム・プロジェクト (PPP) として進行している¹¹⁾。このような血漿中の蛋白質データベースは性別、生活習慣、一般的な疾患での発現カatalogの作成や技術的な基盤作りに第一の目的を持っている。

筆者らは、臨床スケールに対応できる汎用性のあるハイスループットなプロテオーム解析システムの開発を目指し、強カチオンカラム (SCX) およびキャピラリー逆相 (cRP) カラムを用いた高分解能二次元 LC とナノエレクトロスプレーイオン化 (nano-electrospray ionization: NSI)^{#3} インターフェイスを装備したイオントラップ型質量分析計から構成され、定量を可能とする臨床スケールでの全自動多次元蛋白質プロファイリング (clinical-scale multi-dimensional quantitative protein profiling) システムを構築した (図 2)。多次元 LC システムの基盤となる二次元目以降のシステムは、一次元分離のみの低流速逆相クロマトグラフィーと NSI インターフェイスを装備したイ

オントラップ型質量分析計から構成される。統合されたシステムには、血漿からのヒト・アルブミンや IgG など大量に存在する古典的プラズマ蛋白質除去システム、また膜蛋白質を含む蛋白質の可溶化システム、自動液中消化ロボットが解析ラインに組み込まれている¹²⁾。

患者の血漿試料に対する多次元プロファイリング解析で多数の LC-MS または LC-MS/MS データが産出される。これらを束ねて、ひとつの試料に対してひとつの m/z-retention time-intensity からなる多次元マップデータを作成し、各々が比較可能となるためには、イオン強度に関する規格化や非線形に変動する時間軸に沿ったアライメントを行う必要がある。筆者らは、この困難な課題を *i*-OPAL (internal standard guided optimal profiling alignment の略称) という独自インフォマティクス・アルゴリズム (国際特許出願) により克服し、40,000 分子イオン以上のシグナルの定量的解析から統計的に有意なシグナルを選択し、臨床的に意味のある蛋白質群を探索・同定することを可能とした。主たるプラズマ蛋白質であるアルブミンと IgG をチバクロンブルーゲルとプロテイン A を用いて除去した後、抽出蛋白質 (血漿 1.8 μ l に相当する) をトリプシンで消化してペプチド混合物として、上記の多次元 LC とタンデム質量分析を統合したシステムによる解析から、リーケージ蛋白質を含む non-redundant な血漿中の蛋白質約 1,292 種 (検索エンジン SEQUEST を用いた場合で、閾値として各 MS/MS スペクトルに対して Xcorr: >1.7 (+1 価)、>2.0 (+2 価)、>2.5 (+3 価) と設定した) を同定している¹³⁾。ちなみに、このシステムの検出感度として、牛アルブミンを用いて 50 アットモル (1 attomol は約 623,000 個の分子である) が同定解析できることを確認している。

② 試験のデザイン

臨床プロテオミクス研究を成功裏に実施するには、試験デザインの段階から臨床医との密接な研究体制が必須である。試験デザインは、グループ間比較が基本形であり、その差を鋭敏に検出できるデザインが重要である¹⁴⁾。介入試験としては、最も一般的な治験デザインである並行群間比較 (randomized controlled trial) がある。これは薬剤などの効果を評価するため、被験者を被検薬群と対照薬群に無作為に割り付け、各群を同時並行に指定された期間投与して、比較して薬剤の効果を評価する。観察試験の例としては、症例対

² イオン化室で生成したイオン種のうち一つを前駆体イオンとして選択し、これを分解させて生じるプロダクトイオンを検出する方法。

³ 試料溶液を供給するキャピラリー先端に数 kV の高電圧を印加して噴霧しイオン化する、エレクトロスプレーを低流速で行い、高感度にイオン化する方法。

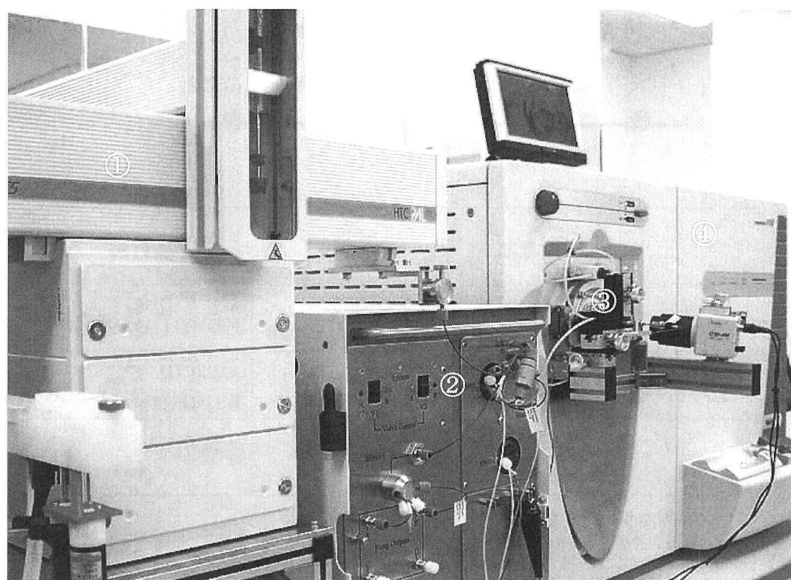


図2 構築された多次元蛋白質プロファイリングシステム ((株)メディカル・プロテオスコープにはこのようなシステムが7台稼働している) の概観。① 試料サンプリング・注入ロボット、② 多次元液体クロマトグラフィー、③ 改良されている NSI インターフェース、④ 二次元 (2-D) イオントラップ型タンデム質量分析。

照試験 (case-control study) やコホート試験 (cohort study) などがある。前者は、後向き研究 (retrospective study) とも呼ばれる。疾病にかかっているヒトを症例 (case) として選び、症例と性別や年齢などの要因が似たヒトを対照 (case) として疾病の原因となる要因を過去にさかのぼって比較する。コホート試験には、前向き (prospective) と後向き (retrospective) がある。前向き研究では、数万人以上の多人数の集団を5-20年と長期間にわたり追跡調査しなければならない。喫煙と肺癌の関連などが典型的である。従って、臨床プロテオミクスでは、現在は短期的に成果が得られる後向き研究が中心である。副作用マーカー検索研究は、後向き試験として行われることが多い。患者の薬剤への暴露を事後的にその状況を調べ、集団の追跡調査を行うことで、副作用の発生を確認し、薬剤投与による副作用のリスク要因を同定する。また、診断基準についてのグループの定義や関連付ける臨床パラメータの選択が重要である。グループ内が単一かつ均一にならない場合はグループ内での層別検討が必要となる。プロテオーム解析では時間変化や時間的前後関係が重要となるため試料サンプリングのスキームを確立しておくことが必要である。臨床医との密接な連携が望まれる所以である。また、統計的に有意な結果を得るための例数の設定も重要である。

図3は、薬物副作用に関する臨床プロテオーム解析における時系列サンプリング及び解析を簡単にひと

つの例として書いたものである。表中の○で囲まれたアルファベットは発現している蛋白質を意味している。血液のサンプリングは、理想的には投与前、投与後安定状態にあるとき、また副作用発症直後の3点である。㊸、①、①は薬物投与によって変動する蛋白質群、㊸は将来副作用を発症することに相関する蛋白質、㊹は薬物投与により将来副作用を発症することと結びついた蛋白質、㊺は副作用発症時に発現する蛋白質である。したがって、㊸、㊹、㊺は副作用発症に特有な蛋白質であり、特に㊸は副作用発症の危険因子蛋白質である。

副作用発症に関連して変動する因子として1) 因果律的に副作用の要因と考えられる因子、2) 因果律的に副作用発症からの帰結と考えられる因子、また、因果律的には推測できないが、観測上副作用発症群に相関する因子などがある。1)には、薬物による治療の結果生じる因子である蛋白質㊹や、治療とは無関係に存在する因子である蛋白質㊸がある。㊹のように薬剤投与に起因する場合、薬剤の適切な使用という観点からは早期に見出して、投与中止の措置等をとる必要がある。また、投与前に㊸というリスク因子をもっていることが分かれば、別の有効な薬剤治療を考えるべきことになる。2)の副作用発症の結果因子としては㊺がある。特筆すべきは、このような時系列における臨床プロテオーム解析から、投与前及び投与後だけの解析では区別ができない蛋白質㊹が明らかになる

・ 時系列での解析に意義がある



	投与前	投与後	発症時
ケース	A B C D E F G X	A B C D E F G H I J X Y	A B C D E F G H I J X Y Z
コントロール	A B C D E F G	A B C D E F G H I J	A B C D E F G H I J
差	X	X Y	X Y Z

- ① ② ある薬物投与によって動く蛋白質群
- ⊗ 将来SEを発症することに相関する蛋白質
- ③ ある薬物投与により将来SEを発症することに関与した蛋白質
- ⊗ ④ SEを発症に特有な蛋白質
- ⊗ SE発症の危険因子蛋白質

図3 副作用リスク因子蛋白質を検出する臨床プロテオーム解析の試験デザインの例。

点である。

5. 分子標的薬剤と副作用

治療薬が有効に働くためには正確な臨床所見が不可欠である。同じ表現型をとる疾患に対しても、その疾患が発症する要因は複数存在するのが常であり、異なった要因によって発症している疾患も所見上では同一の病名がつけられる。現在、薬剤の有効性が50~60%といわれる原因の一つは、種々の原因で発症している疾患をある病名で一括して診断していることにある。心疾患、糖尿病、脳梗塞などの循環器系疾患、がん、神経系疾患などの生活習慣病は、多くの因子が発症に関与している。ゲノム情報・プロテオーム情報等によって疾患が原因別に正確に分類されるようになると、疾患特異的に有効な薬剤が選択可能になる。その先駆的な薬剤として注目されているのが、分子標的治療薬である。分子標的治療薬は、疾患に関連する細胞だけに作用する機能を持った新しいタイプの治療薬で、従来の治療薬に比べて副作用が少ないとされ、がん治療薬として注目されている。これまでに日本で発売、承認された薬剤には、「グリベック」「ハーセプチン」「リツキシサン」「イレッサ」の4剤がある。グリベックは慢性骨髄性白血病の原因である遺伝子産物 (P210蛋白質) の機能を選択的に抑制する薬剤としてバイオインフォマティクスの手法を駆使して開発され、理論どおりに臨床で有用性が証明されている。投与には、慢性骨髄性白血病の原因遺伝子のひと

つ、チロシンリン酸化酵素の活性を測定し、活性の高い患者にのみ処方することで治療効果を高めている¹⁵⁻¹⁷⁾。乳がん治療薬のハーセプチンは、転移性乳がんの約20~30%で過剰発現しているHER2 (ヒト表皮細胞増殖因子) に特異的に結合する抗体医薬である。投与には、検査薬によってHER2の異常発現を確認し、異常発現による乳がん患者にのみ処方することにより治療効果を高めている^{18,19)}。肺がん治療薬イレッサは他に治療法がない末期肺がんにも有効なことや経口で服用できることから、数万人の患者が服用しているとみられる。予想された副作用とはいえ、日本人において極めて有意に間質性肺炎、急性肺炎の死者が出ている。肺がん治療薬として優れた効果があることから、厚労省が審査期間を短く承認したこともあり、問題となっているが「リスクを上回る効果」を期待されている。現在、副作用を発症する可能性がある患者を特定するために、遺伝子解析 (東大医科学研究所: 中村祐輔教授)、プロテオーム解析 (東京医科大学臨床プロテオームセンター: 西村俊秀教授) が進められており、すでに副作用に結びつく潜在的リスク因子⊗の同定を含め成果を挙げつつある。

6. おわりに

近年、ヒトの疾患に対する分子生物学的知見が飛躍的に拡大してきた。特に腫瘍における分子生物学的多様性は組織学的な多様性と対比することが可能になり、腫瘍の組織学的多様性が多段階発がんの過程や生

物学的特性を規定する分子機構を反映することが明らかになってきた。プロテオミクス技術の進展は質量分析計の高性能化とともに急速であり、前処理技術、検出感度、定量性、同定能力、解析速度、簡便性について大きく前進しつつある。疾患における遺伝子解析及びプロテオーム解析等の基礎研究の今後の進展により、疾患の発症・悪化のメカニズムを正確に解明し、疾患特異的あるいは原因特異的であって副作用が少ない薬剤が開発されることが期待される。薬剤の副作用に関するリスク因子を臨床プロテオミクス研究により明らかにし、薬剤と患者の奏効・副作用に関する分類研究を基礎にして、疾患の原因特異的な薬剤を個々の患者に投与することにより真のテーラーメイド医療・個別化医療が実現される。

謝 辞

本稿を執筆するにあたり東京医科大学臨床プロテオームセンターの荻原淳助教授、(株)メディカル・プロテオスコープの吉井富美子女史には多くの助言を頂き、感謝申し上げます。

文 献

- 1) Anderson NL, Anderson NG : The human plasma proteome: history, character, and diagnostics prospects. *Mol. Cell. Proteomics* **1** : 845-867, 2002
- 2) Liotta LA, Ferrari M, Petricoin E : Clinical proteomics: Written in blood. *Nature* **425** : 905-906, 2003
- 3) O'Farrel PH : High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* **250** : 4007-4021, 1975
- 4) 西村俊秀、川上隆雄、安養寺久栄 : II-2 発現プロファイリングの基本技術: タンパク質の分離と同定。生命科学のための最新マスマススペクトロメトリー (ゲノム創薬をめざして) (原田健一・田口良・橋本豊編) 講談社サイエンティフィック、講談社、pp. 79-100, 2002
- 5) Giddings JC : Concepts and comparisons in multidimensional chromatography. *J. High Res. Chromatogr.* **10** : 319-323, 1987
- 6) Wall DB, Kachman MT, Gong S, Hinderer R, Parus S, Misek DE, Hanash SM, and Lubman DM : Isoelectric Focusing Nonporous RP HPLC: A Two-Dimensional Liquid-Phase Separation Method for Mapping of Cellular Proteins with Identification Using MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **72** : 1099-1111, 2000
- 7) Petricoin EF, Ardekani AM, Hitt BA et al : Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet* **359** : 572-577, 2002
- 8) Petricoin EF, Ornstein DK, Paweletz C et al : Serum proteome patterns for prostate cancer. *J. Natl Cancer Inst* **94** : 1576-1578, 2002
- 9) Anderson NL, et al : The human plasma proteome: a non-redundant list developed by combination of four separate sources. *Mol. Cell. Proteomics* **3** : 311-326, 2004
- 10) Hanash SM et al : HIPO initiatives relevant to clinical proteomics. *Mol. Cell. Proteomics*, in press. 2004
- 11) Fujii K, Nakano T, Kawamura T, Usui F, Bando Y, Nishimura T : A multi-dimensional protein profiling technology and its application to human plasma proteome. *J. Proteome Res.* **3** : 712-718, 2004
- 12) Kawakami T, Nishimura T : Aiming to Establish Clinical Proteomics. *Tecan Journal Edition 3- November*, pp. 6-8, 2003
- 13) 未公開データ
- 14) Rothman, K.J. and Greenland, S., *Modern Epidemiology*, 2nd Edition, Lippincott Williams & Wilkins, A Wolters Kluwer Company, Philadelphia, 1998
- 15) Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E et al : Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med* **2** : 561-566, 1996
- 16) Heinrich MC, Silvey KV, Stone S et al. : Post-translational cell cycle-dependent regulation of human FANCC expression. *Blood*, **95** : 3970-3977, 2000
- 17) Tuveson DA, Willis NA, Jacks T et al : STI571 inactivation of the gastrointestinal stromal tumor c-KIT oncoprotein : biological and clinical implication. *Oncogene* **20** : 5054-5058, 2001
- 18) Pietras RJ, Pegram MD, Finn RS et al : Remission of human breast cancer xenografts on therapy with humanized monoclonal antibody to HER-2 receptor and DNA-reactive drugs. *Oncogene* **7** : 2235-2249, 1998
- 19) Baselga J, Norton L, Albanell J et al : Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts. *Cancer Res* **58** : 2825-2831, 1998