

## 5. 技術面からみた臨床プロテオミクスの展望—ポストゲノム時代の新しい臨床蛋白分析

戸田年総<sup>1)</sup>

血清蛋白質の異常(アノマリー)を分析することによって患者の病態を把握しようといういわゆる「臨床蛋白分析」の試みは、1937年にチゼリウス博士が蛋白質の電気泳動法を開発したところからスタートしたといっても過言ではない。この分析法はガラスのU字管に電解液を充填し、これに血清蛋白質を加えて電流を流したときに移動する蛋白質の界面を、シュリーレン像として観察するという当時としては画期的なものであった。かなり大掛かりな装置が必要であり、しかも当初は市販の装置がなかったために、臨床の場において多くの患者の検査法として広く利用されるには至らなかったものの、東京大学や京都大学、山口大学などの研究室が装置を自作し、患者血清を精力的に分析したことによって、炎症性疾患や肝疾患などの急性期に血清蛋白質に異常なパターンが現れることが明らかとなり、「臨床蛋白分析」の有効性を広く知らしめる結果となった。その後澱粉ゲルや寒天ゲルを支持体とするゲル電気泳動が開発されたことによって、病院の検査室でも比較的簡単に蛋白分析が行えるようになり、さらに特異抗体による沈降バンドの観察法を組み合わせたいわゆる「免疫電気泳動」が開発されて、血清蛋白質分析の黄金期を迎えることとなった。この方法は操作が簡単な割には、血清蛋白質の異常を鋭敏に検出できることから、現在でも一部の疾患の解析には欠かせない技術となっている。一方、セルロースアセテート膜を支持体とするいわゆる「セア膜電気泳動法」は、全自動の装置が市販されたということもあり、多くの大学病院等の検査室で日

常的に実施されるようになった。しかしその後、ヒトの全ゲノムDNAの塩基配列の解読によって約3万種の遺伝子の存在が明らかとなり、いよいよゲノム情報に基づいたオーダーメイド医療の時代に突入しようとしている今日、血清蛋白質の5分画パターン異常からすべての疾患の病態を把握しようという考え方はあまりに時代遅れなものとなっている。「臨床蛋白分析」にも最新の技術を取り入れ、「ポストゲノム時代の新しい臨床プロテオミクス」に生まれ変わるべき時期に差しかかってきている。

現在のプロテオミクスは、オリジナルの「①二次元電気泳動と画像解析および質量分析の組み合わせによるもの」以外に、「②二次元クロマトグラフィーと質量分析の組み合わせによるもの」、「③プロテインチップと質量分析を組み合わせたもの(SELDI法)」など、様々なものが実施されているが、新たな疾患マーカーを探索する基礎研究には①と③が向いており、すでに多くの成果が報告されている。しかしこれらは基礎研究には有効であるが、臨床の現場で多数の患者血清の日常検査法として実施するには、設備の面や検査コストの面で現実的ではない。これに対し、将来の検査法として最も有力視されているのは、微小なチップ上で多数の患者検体の検査を多項目にわたって一度に行える、いわゆる「プロテインマイクロアレイ分析」であろうと考えられている。この際、マイクロアレイ上にプローブとして並べられるのは、恐らく各種疾患のマーカー蛋白質に対する特異抗体であると考えられる。しかしこれを実

1) TODA Tosifusa 財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団東京都老人総合研究所  
プロテオーム共同研究グループ・リーダー/TMIG プロテオーム共同研究センター研究統括

現するためには、①チップ上で検出すべき疾患マーカー蛋白質を多数見つけ出し、②それらに対する特異抗体を作製することが必要となる。

基本的には、ヒトの場合約3万2千の遺伝子によってすべての蛋白質はコードされているので、これに対応する3万2千種の特異抗体さえ入手できれば、すべての蛋白質をチップ上で解析することは可能であると考えられるが、実際には、①メッセージレベルのオルターナティブスプライシングによるバリエーションの発生、②翻訳後修飾によるアイソフォームの発生、③プロセッシングによる断片化など様々な理由で、少なくとも10万種以上の異なる蛋白質が作られているものとみられ、これらに対するすべての特異抗体を網羅的に作製することは非現実的である。しかも、仮にこれらの抗体が首尾よく作られたとしても、これら

すべての抗体をプロテインマイクロアレイ上に限らずに並べて、検査を行ったのでは時間もコストも膨大なものとなる。したがって、実際にはいくつかの疾患群ごとにチップを分け、問診や他の生化学検査で疑われた項目に限り、担当医の指示に従って検査を行うことが、本来の臨床蛋白質検査の望ましい姿であると思われる。そのためには、現在すでに多くの研究グループによって行われている「二次元電気泳動と画像解析および質量分析によるディフアレンシャルプロテオミクス」をより幅広く展開し、それによって見つかる疾患マーカー蛋白質を速やかに特許化すると同時に特異抗体を作製し、順次マイクロアレイに並べていくという単純な作業を国家的規模で行うことが、今後の最重要課題となるものと考えられる。

MEDICAL BOOK INFORMATION

医学書院

## 今日の診断指針 第5版

総編集 亀山正邦・高久史磨

デスク判 ● B5 頁2136 2002年  
定価25,200円(本体24,000円+税5%)  
[ISBN4-260-10267-2]

ポケット判 ● B6 頁2136 2002年  
定価18,900円(本体18,000円+税5%)  
[ISBN4-260-10268-0]

全国の臨床医に重宝されている本格的診断マニュアルを5年ぶりに全面改訂。症候編と疾患編の2部構成により、約1万種類の疾患にアプローチ可能。研修医・臨床医が現場で直面する難しい事態、迷いに明確な指針を提示する。非専門領域の疾患でもおよそ80~90%の診断がつけられる。医学生にもBSTの学習で利用価値大。