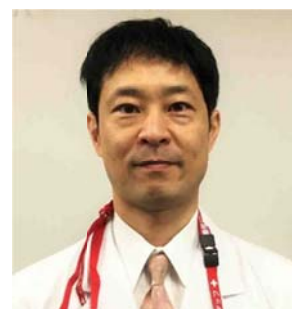


研究課題 非アルコール性脂肪性肝炎診断に有用な画期的新規抗体の開発

研究代表者 鎌田佳宏 大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学 准教授

研究分担者 三善英知 大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学 教授



非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）は非進行性の単純性脂肪肝（NAFL）と、進行性で肝硬変・肝がんへと進展しうる非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）に分類される。日本には約 1000 万人の NAFLD 患者が存在し、NAFLD の 20～30%が NASH と考えられている。両者の鑑別には現時点では肝生検による肝組織像の病理学的な評価が必要である。NASH の病理学的な所見として肝細胞の膨化した風船様肝細胞と肝臓線維化は 2 つの重要な所見である。NAFLD 患者全員に侵襲性のある肝生検を行うことは倫理的・医療経済的に不可能である。NASH 診断のため、病態進展評価のための有用性の高い血液バイオマーカーが待望されている。しかし、複雑で多面的な NAFLD の病態を解明するためには単純なマーカーでは不十分であり、複合的な機序で変化する糖鎖修飾に着目することは合理的である。中でもフコシル化は炎症性疾患でその増強が注目されている糖鎖修飾である。“フコシル化”は単糖の一つであるフコースが N 型糖鎖に結合する糖鎖修飾であり、古くよりフコシル化は“がん化”と関連の深い糖鎖修飾であることが知られている。有名なものとして肝がんの腫瘍マーカーである α フェトプロテイン（AFP）のフコシル化されたものが AFP-L3 分画として実臨床に用いられている。

近年、炎症性疾患においてこのフコシル化が亢進していることが着目されている。申請者らはフコシル化標的蛋白として既知の分泌糖蛋白である Mac-2bp を同定した。Mac-2bp は N 型糖鎖結合部位を 7 カ所持つ糖蛋白である。Mac-2bp は正常肝臓ではほとんど発現していないものの、C 型慢性肝炎患者においては線維化進展に伴い血中濃度、肝細胞での蛋白発現が増加することが報告されている。NAFLD 患者でも肝臓線維化進展に伴い、Mac-2bp が上昇するのではないかと考え測定したところたしかに NASH 患者で血中 Mac-2bp は上昇しており、線維化進展予測に有用な NASH バイオマーカーとなることを報告した (Proteomics Clin Appl 2013)。一方、申請者らは肝細胞においてフコシル化された蛋白質は極性輸送され、胆管側へと分泌されること、がん細胞のような極性破壊を受けた細胞では血管側へフコシル化蛋

白質が分泌されることを最近見いだした (J Proteome Res 2012)。NASH の肝臓では、細胞骨格の破壊に伴い細胞極性が破壊された“風船様肝細胞”が増加しており、フコシル化タンパクが NASH 患者血清で上昇しているとの仮説を立てた。実際、申請者らの開発したフコシル化ハプトグロビン ELISA キットを用い、NAFLD 患者の血中フコシル化ハプトグロビンを測定すると NASH 患者で上昇しており、風船様肝細胞の存在予測に有用な NASH バイオマーカーとなることを報告した (PLoS One 2013)。これら 2 つの新規糖鎖関連 NASH バイオマーカーはいずれも従来 NASH 鑑別に有用性が報告されている cytokerin 18 断片である M30 より優れたバイオマーカーであった。そしてそれぞれが肝臓線維化、風船様肝細胞の存在という NASH 病理診断に極めて重要な所見を予測できるこれら 2 つを組み合わせたところさらに有用性が高い NASH 鑑別法となることを日本全国の共同研究で集めた 506 例の NAFLD 患者で証明した (Hepatology 2015)。この糖鎖マーカーの組合せは一般臨床で用いられている肝線維化マーカーであるヒアルロン酸、血小板とフコシル化ハプトグロビンの組合せより NASH 鑑別能が高かった (図 1)。また独立した他集団での検討でも糖鎖マーカー組合せは NASH 鑑別能が高く、この鑑別能はこれまでに報告されているスコアリングシステム (FIB4 index、BARD score、NAFLD fibrosis score) に比べ極めてもより、優れた結果であった (図 2)。このようにフコシル化ハプトグロビン、Mac-2bp はそれぞれ有用な NASH バイオマーカーであるがフコシル化 Mac-2bp を測定できれば単一 NASH バイオマーカーとなることが考えられる。申請者らは独創的な系を用いて、フコシル化ハプトグロビンに対するモノクローナル抗体の樹立に成功した。特許の関係で新規抗体の開発研究については詳細を公表することができず、大変申し訳ない。

最後になりましたが、本研究を遂行するにあたり、日本臨床検査医学会学術推進プロジェクトより助成金を賜りましたことを厚く御礼申し上げます。また研究のご指導をいただきました三善英知先生に心より感謝申し上げます。

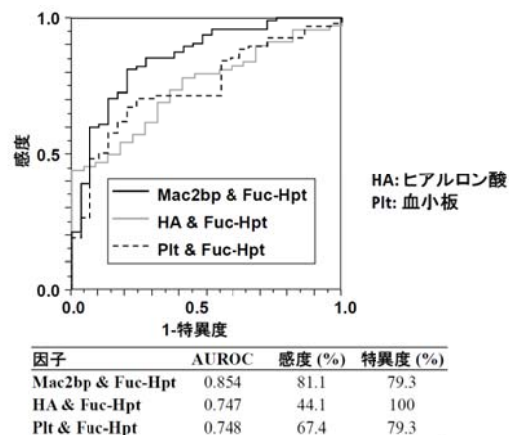


図1 糖鎖バイオマーカー組み合わせによるNASH診断能の比較 (training cohort)

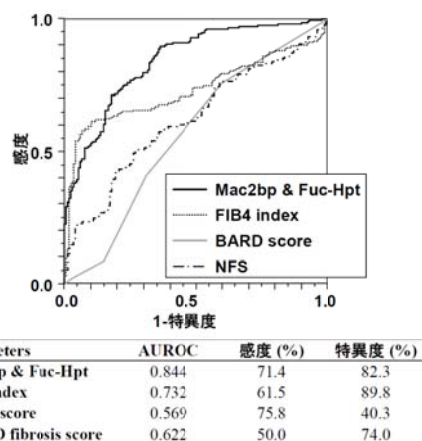


図2 糖鎖バイオマーカー組み合わせによるNASH診断能の比較 (validation cohort)