

氏名(本籍)	よしむらと 吉村徹(東京都)
学位の種類	博士(生物工学)
学位記番号	博甲第5392号
学位授与年月日	平成22年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	Development and Improvement of Tumor Marker Immunoassay with Automated Assay System (全自動免疫学的測定法を用いた血中癌マーカーの測定法の開発及び改良研究)
主査	筑波大学教授 農学博士 深水昭吉
副査	筑波大学准教授 博士(薬学) 木村圭志
副査	筑波大学准教授 博士(農学) 谷本啓司
副査	筑波大学講師 博士(学術) 加香孝一郎

論文の内容の要旨

肺がんは先進国において第一位の癌死亡原因である。肺癌は組織学的に小細胞肺癌と非小細胞肺癌に分けられ、進行速度、治療方法が異なる点より両者の鑑別診断が必要である。小細胞肺癌は進行速度が速くまた化学・放射線療法に感受性であることから、その生命予後の改善のためには早期の診断が重要である。ガストリン放出ペプチド前駆体(ProGRP)は小細胞肺癌の血清癌マーカー(腫瘍マーカー)として、診断補助、治療モニタリング、再発の早期発見等のために用いられている。ProGRPは10年以上にわたって本邦で臨床応用されているが、下記の2点の改良が必要とされている:(1)血中ProGRP安定性不良の改善、(2)モノクローナル抗体を用いた全自動アッセイシステムに適応する測定試薬の開発。著者は、この問題点を解決するため研究に取り組んだ。

ProGRPは採血直後においてより急速に濃度低下(分解)が生じ、採血直後の血清検体を用いたProGRPの濃度は、2時間の室温保存で6~28%の低下、冷蔵保存においても24時間で8~32%の低下が生じることが認められた。著者は、この急速な濃度低下が、血清検体で生じ、緩衝液中では生じないという知見を得て、血清中に存在する活性化血液凝固因子の作用が関与しているのではないかと考え検討を行った。そして、ProGRPの血清中安定性不良の原因は、血液凝固過程において生成するセリンプロテアーゼ・活性化血液凝固第Ⅱ因子トロンビンによる作用であることを明らかにした。さらに、トロンビン活性を阻害するインヒビターの添加により、また、すでに臨床で使用されている血液凝固因子の活性化を阻害する抗凝固剤の存在下に採血される血漿を測定検体として使用することにより、ProGRPの血中保存安定性が飛躍的に改善することを明らかにした。以上の結果より、第二章において、血清中に存在するトロンビンがProGRP安定性不良の原因であること、またProGRPを安定に保存できることから、より正確に血中濃度を反映することができ、検体の保存時間の影響を受けない検査方法として、血漿の使用が推奨されることが明らかになった。

血中ProGRPの測定は、既に本邦において臨床の場で使用されている。しかし、全世界における実用化のためには、モノクローナル抗体を使用した全自動アッセイシステムに適応する高感度かつ高精度測定試薬の

開発が必要である。第三章において、著者は2種のモノクローナル抗体を磁性粒子に固相化し、1種のモノクローナル抗体に化学発光物質アクリジニウムエステルを標識した化学発光全自動免疫学的 ProGRP 測定試薬を開発しその性能を評価した。そして、著者の開発した ProGRP 測定試薬は、すでに多くの国で臨床使用されている測定装置に搭載可能で、全自動で短時間（29分）に測定が終了し、高速処理（200テスト/時間）、血清・血漿の両サンプル種が使用可能、広範囲な測定レンジを持ち（0-50,000pg/mL）既存の測定法に比べ高感度（0.39 pg/mL）かつ高精度であるなどの性能を有することを示された。以上の結果から、筆者は全自動血中 ProGRP 測定試薬の開発に成功し、また、その開発された試薬は、病院や検査室における臨床使用に十分な優れた性能を有することが明らかになった。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究において、第二章で見出された知見は、血清中の活性化血液凝固因子トロンビンが癌マーカー ProGRP の分解にかかわっているという事実を示しただけでなく、すぐにでも臨床応用可能な血漿の使用という ProGRP 血中安定性不良の解決策を導き出した点において、生体分子の動態を利用した腫瘍マーカー研究に止まらず、診断・臨床検査などの薬学医学分野においても非常に有用であると思われる。さらに、血清濃度 = 血中濃度と思われがちな現状を持つ血液診断分野において、正確な血中濃度測定のためには血液が体外に出ることにより活性化した血液凝固因子の関与についても考慮する必要があるとの知見は、今後より正確な血中分子測定を行うための、重要な知見を示したといえる。また、第三章では、全世界における実用化を見据えた優れた性能を持つ臨床診断薬の開発に成功し、ともに今後の臨床への適応が期待される。

以上のように、著者は癌マーカー ProGRP の臨床使用における問題点を解決した独創的な研究を行い、かつ、癌診断分野における臨床使用にすぐにでも応用可能な知見を開拓したと判断される。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。