

## 血清蛋白質異常症の プロテオーム解析法

とだとしふさ  
戸田年総\*

### はじめに

血清蛋白質異常症の検査法として最初に実用化されたのは、Tiselius(チゼリウス)博士によって開発されたU字管式の電気泳動装置<sup>1,2)</sup>である。わが国においても1950年に創立された日本電気泳動学会で最初に取り上げられた研究テーマの一つが「チゼリウス電気泳動装置による血清蛋白質の分析」に関するものであった。当時は血清蛋白質を解析する有効な手段が他になかったため、悪性腫瘍などに伴う血清蛋白質異常症の検査法<sup>3)</sup>として注目され、多くの臨床研究が報告されたが、デリケートな光学装置が必要なことや、取り扱いに高度の技術が必要であったこと、多くの検体を検査することが困難であったことなどから、臨床検査法として広く普及するには至らなかった。しかし、チゼリウスの電気泳動装置によって得られた臨床研究の成果が、濾紙やアガロースゲル、セルロースアセテート膜などの支持体を用いた血清蛋白質検査法の開発を促し、全自動セルロースアセテート膜電気泳動装置の開発と普及へとつながった。

セルロースアセテート膜電気泳動法は、血清蛋白質異常症の検査法として今日まで利用されてきたが、血清中に含まれている数百種以上の蛋白質の変化をわずか5分画のパターンの異常性によって分析することには限界があり、多くの診断マーカーでELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)法やレーザーフェロメトリー法などによる個別分析が実用化されるようになったことなどから、セルロースアセテート膜電気泳動法の重要性は次第に低下してきている。このような状況のなかでヒトの全ゲノム塩基配列の解読が終了し、ポストゲノム時代の新しい蛋白質解析技術として、プロテオーム解析法(プロテオミクス)が登場した。

### ■ プロテオーム解析法とはどのような技術なのか

1995年にELECTROPHORESIS誌に最初に紹介されたプロテオーム解析法<sup>4)</sup>は、血清や組織抽出液中の蛋白質を二次元電気泳動法によって分離し、展開された蛋白質スポットを画像解析することによって蛋白質の異常性を分析。さらに特定のスポットを切り出し、トリプシン消化によって得られたペプチドの質量を分析することによって、蛋白質を同定しようというものであった(図-a)。最初の論文ではあまり強調されてはいなかったが、この方法の最大の特徴は、二次元電気泳動後の画像解析によって蛋白質の量的な変動のみならず、糖鎖やリン酸化などの翻訳後修飾の異常性も同時に検出することができることにある。さら

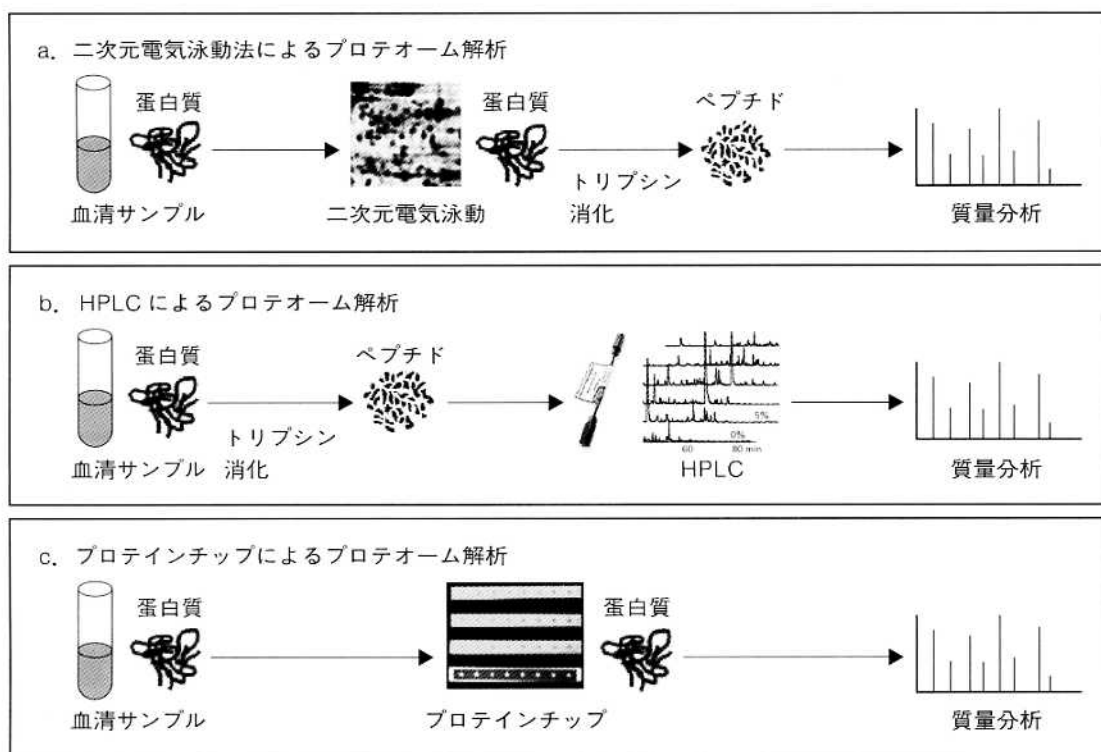


図 プロテオーム解析の各手法

に、トリプシン消化後の質量分析の段階において、蛋白質の同定に加え、糖鎖やリン酸化などの翻訳後修飾の様子を改めて確認することができる。そのため二次元電気泳動法によるプロテオーム解析は、疾患マーカーの探索や疾患病態の把握を目的とした血清蛋白質異常症の解析法として大変優れており、既に数多くの研究成果が報告されている<sup>5,6)</sup>。

#### ■ 二次元電気泳動法以外のプロテオーム解析法

その後、二次元電気泳動法に代わる方法として、二次元高速液体クロマトグラフィー (high-performance liquid chromatography, HPLC) によるプロテオーム解析法(図-b)や、プロテインチップを用いる方法(図-c)なども開発され、これらも血清蛋白質異常症を解析する手段として利用されている。

二次元 HPLC によるプロテオーム解析法(いわゆるショットガン法)は自動化が可能であることから、多数の患者検体を連続的に解析し、疾患に伴い変動する蛋白質を探索する目的に適しているが、最初にトリプシン消化を行いペプチドに断片化して解析を行う方法であるため、翻訳後修飾の分析にはあまり適さない。これに対し SELDI (surface-enhanced laser desorption/ionization) 法に代表されるプロテインチップ法は、操作が簡単で、短時間で解析結果が得られることなどから、疾患マーカーの探索といった基礎的研究のみならず、臨床の現場における検査法としても利用可能な方法である<sup>7)</sup>。ただしプロテインチップ法では、蛋白質の異常性は容易に検出できるものの、現状では蛋白質の同定が難しいことや、高分子量の蛋白質の解析には適さないなどの問題点も残されている。

#### ■ 今後の展望

プロテオーム解析法は従来の方法に比べ、蛋白質の分離分析性能が格段に高くなっており、血清蛋白質に出現する異常性を高感度かつ高精度で検出することが可能な技術であり、今後これらの技術を活用して新たな疾患マーカーが数多く発見されるものと期待されている。しかしその一方で、二次元電気泳動法や二次元 HPLC 法によるプロテオーム解析には時間や労力がかかり過ぎるという難点があり、医療の現場における臨床検査法としてこれらの技術をそのまま利用することは現実的でない。

これらの網羅的なプロテオーム解析法が最も威力を発揮できる分野は、新たな疾患マーカーの探索研究である。血清蛋白質のプロテオーム解析によって発見され、診断マーカーとしての有効性が確認された蛋白質に対してはできるだけ速やかに特異抗体を作成し、さらにこれを抗体親和型のプロテインチップに固定化す

ることによって、簡便で迅速なベッドサイドの血清プロテオミクス検査が実現されるものと考えられる。

抗体プロテインチップ法によるプロテオーム解析法が、これまでの ELISA 法と大きく異なる点は、プロテインチップ上に捕捉された蛋白質の検出と同定および構造分析を質量分析計によって行うというところにある。複数の異なる蛋白質が捕捉された場合にも、個々の蛋白質の同定と翻訳後修飾の分析を正確に行うことができるため、標的蛋白質以外の類似の成分とも交差反応性を示すような ELISA 法ではとても利用できない性能の抗体でも、抗体プロテインチップ法によるプロテオーム解析においては十分に利用できるようになるというメリットがある。その結果、今後プロテオーム検査の対象となる血清蛋白質異常症の幅が広がっていくものと期待される。

#### 文 献

- 1) Tiselius A : Electrophoresis of serum globulin. *Biochem J* 31 : 313-317, 1937
- 2) Tiselius A : Electrophoresis of serum globulin : Electrophoretic analysis of normal and immune sera. *Biochem J* 31 : 1464-1477, 1937
- 3) Kato K : On the plasma protein pattern of patients with malignancy, using electrophoresis of Tiselius. *Nagoya J Med Sci* 28 : 273-292, 1966
- 4) Wasinger VC, Cordwell SJ, Cerpa-Poljak A, et al : Progress with gene-product mapping of the Mollicutes : *Mycoplasma genitalium*. *Electrophoresis* 16 : 1090-1094, 1995
- 5) Aivado M, Spentzos D, Germing U, et al : Serum proteome profiling detects myelodysplastic syndromes and identifies CXC chemokine ligands 4 and 7 as markers for advanced disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 : 1307-1312, 2007
- 6) Hye A, Lynham S, Thambisetty M, et al : Proteome-based plasma biomarkers for Alzheimer's disease. *Brain* 129 : 3042-3050, 2006
- 7) Oh JH, Gao J, Nandi A, et al : Diagnosis of early relapse in ovarian cancer using serum proteomic profiling. *Genome Inform* 16 : 195-204, 2005

( \* 東京都老人総合研究所老化ゲノムバイオマーカー研究チーム・研究副部長  
〒173-0015 東京都板橋区栄町 35-2 )

## 血糖値を下げる蛋白質 TFE3

なかがわ よしみ しまの ひとし  
中川 嘉\*1・島野 仁\*2

#### はじめに

肝臓におけるインスリン感受性は、メタボリックシ