

医薬品開発におけるバイオマーカー測定

バイオ技術センター 丸山 幸直・岡嶋 孝太郎

1 はじめに

FDAは、2004年に新薬の研究開発の活性化の提言として“Innovation or Stagnation”と題する報告書を公表し、2006年にその具体策である“Critical Path Opportunities List”を発行しました。その中では、新薬の研究開発における技術革新の筆頭に、バイオマーカーの積極的利用が挙げられています。新薬開発には、莫大な開発費用と時間を要する一方で、近年開発成功確率が低下しており、いかにスピードを上げて効率的に成功に結びつけるかが課題となっています。その課題解決のツールとして「バイオマーカー」が期待されています。

本稿では、当社で実施している生体試料中のバイオマーカー濃度測定について紹介します。

2 バイオマーカーの定義及び医薬品開発における利用

バイオマーカーに関する定義は、様々なものが提唱されていますが、2001年にFDA及びNIHを含む米国の産学官による「バイオマーカー定義ワーキンググループ」において示された考え方が定着しています。それによると、バイオマーカーは、「生物学的プロセスや病理学的プロセス、あるいは治療に対する薬理的な反応の指標として客観的に測定・評価される項目」と定義されています。血液学的検査値やコレステロール値なども広義のバイオマーカーに含まれますが、近年着目されているバイオマーカーは、早期の疾病診断、医薬品の有効性・安全性予測、患者の選択などにつながる点で大きく異なっています。

バイオマーカーの分子形態は、DNA、mRNA、低分子化合物、タンパク質、糖質など、多様ですが、ここでは特にタンパク質のバイオマーカー測定について述べます。

3 測定方法

当社でのタンパク質バイオマーカーの測定は、測定対象の種類・数、検体数、測定感度、試料量など目的に応じて測定法を選択し実施しております。対応可能な測定方法として、ELISA法やECLイムノアッセイ法、蛍光ビーズアレイ法などのLBA法(Ligand Binding Assay, リガンド結合法)と、LC/MS/MS法(高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法)があります(表1)。

LBA法によるタンパク質バイオマーカーの測定は、測定物質を特異的に認識する分子(抗体、受容体など)と、測定物質との

分子間相互作用を利用した検出系であるため、使用する抗体などの特異的認識分子の特性により、測定系の性能が左右される特徴があります。当社では、ご要望に応じ、適切な特異的認識分子を選定しての測定系構築や、市販キットの選定を行うサービスを提供しております。これらの分析法のバリデーションや検体測定は、GLPや信頼性基準に準拠して実施できる体制を整えております。具体的な測定実績としては、薬剤の有効性や毒性の確認などのための、IL-2やTNF α などのサイトカイン類、腎障害マーカーなどの毒性バイオマーカー、インクレチン類などのホルモン等があります。また、フローサイトメーター(図1)の導入により、蛍光ビーズアレイ法への対応を図り、多検体の複数のバイオマーカーを短時間に測定することが可能となりました。現在、更に本機を活用し、細胞表面抗原や細胞内サイトカイン解析などの測定サービスの準備も進めています。



図1 フローサイトメーター

一方、LC/MS/MS法によるタンパク質バイオマーカーの測定は、特異的認識分子は不要ですが、酵素分解で得られるペプチド断片の標準物質が必要となります。一般的に、LBA法に比べ、高感度に定量可能であり、当社では、MRM(Multiple Reaction Monitoring)によるLC/MS/MS法を用いた測定サービスを受託しております。

4 おわりに

当社ではタンパク質バイオマーカーのほか、ハイブリダイゼーションイムノアッセイ法を利用した核酸定量や、各種オミックス技術を統合的に解析するクロスオミックス解析なども検討中であり、各種バイオマーカーの総合分析サービスの提供を目指しています。

今後も、豊富な経験を生かし、ご希望に応じた適切な方法選択、試験設計によるバイオマーカー測定サービスを提供し、課題解決に貢献いたします。

表1 主な測定法の比較

測定法	同時測定可能な理論最大項目数	概要
ELISA法	1	測定物質に対する抗体による抗原抗体反応を応用したプレートアッセイ法。発光や発色をシグナルに用いて検出する。
ECLイムノアッセイ法	10	ELISA法と同様の原理を用いて前処理を行い、電気化学発光を用いて検出する。
蛍光ビーズアレイ法	100	測定物質に対する抗体が結合した蛍光ビーズと、蛍光標識した抗体を用いて、ELISA法と同様の原理を用いて前処理を行い、フローサイトメーター法により検出する。ビーズの種類により物質を特定し、抗体に標識した蛍光物質の強度により、定量する。
LC/MS/MS法	1,000	酵素消化断片を液体クロマトグラフィーで分離し、MS/MS法により検出する。



丸山 幸直
(まるやま ゆきなお)
バイオ技術センター



岡嶋 孝太郎
(おかじま こうたろう)
バイオ技術センター