

次世代医療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業
糖鎖利用による革新的創薬技術開発事業 中間評価報告書

研究開発課題名	Erexim 法と超臨界流体クロマトグラフ質量分析による高速高分解能糖鎖構造一斉定量法の開発
代表機関名	がん研究会
研究開発代表者名	植田幸嗣
全研究開発機関	平成28年度～平成32年度（予定）

1. 研究開発概要

超臨界流体クロマトグラフィー質量分析計（SFC-MS）と Erexim 法を使用した、標的糖タンパク質上糖鎖構造の高感度精密定量評価法を開発する。具体的には(1)微量多検体組織サンプルの Erexim 分析に特化した試料前処理法の至適化と自動化、(2)SFC-MS を用いた Erexim 分析による超高分解能糖鎖構造バリエーション解析法の構築、(3)開発した SFC-Erexim 質量分析システムによる肺癌組織 PD-L1 上糖鎖構造プロファイリング実証試験、を実施する。分担研究機関と共同で Erexim ソフトウェアの製作、糖鎖構造解析用 SFC-MS ハードウェアの至適化を進め、企業などによる創薬研究実装を目指す。また、開発技術を用いて新たな肺癌免疫学的治療法の開発に繋がる標的の同定、及び他課題から創出されたシーズ糖タンパク質上糖鎖の評価試験を実施する。

2. 研究開発成果

遊離糖鎖の SFC-MS-Erexim 分析法開発について、糖鎖選択的高感度化を達成するための高効率な疎水化ラベル法を開発し、5 分間の分析で検出下限 5 atto mole の超高感度糖鎖分析を実現した。これは従来技術である蛍光 HPLC 分析法と比較して 10^5 倍以上高い感度であり、大幅な技術革新が得られたと言える。実際に抗体医薬品 Bevacizumab に付加した糖鎖の定量プロファイルを実施したところ、126 種類もの糖鎖構造を精密に定量化することに成功した。また、糖ペプチドを試料とする LC-MS-Erexim 分析についても前処理法を含む技術改良を進め、前立腺癌患者血清中の PSA (4-10 ng/ml、 $100 \mu\text{l}$) 上糖鎖構造の定量プロファイリングを行ったところ、存在率 0.3% の大変含有量の少ない糖鎖構造を含む 67 構造が定量化された。過去の報告では PSA 濃度 18,000 ng/ml の血清 $500 \mu\text{l}$ から 24 構造を検出したものが最大であるため、本法は極めて高感度で多検体分析にも使用可能な各種スペックも持っている」と評価できた。

3. 総合評価

本研究開発課題の研究開発達成状況は優れている。

Erexim 法と超臨界流体クロマトグラフ質量分析を組み合わせ、糖蛋白質の糖鎖構造解析技術の構築に成功した。これは、既存の分析法を感度・網羅性で大きく上回るものである。今後は、本事業で同定した薬物標的候補分子についても糖鎖構造解析を実施して標的分子候補の絞り込み等に貢献することを期待する。