—報　　文—

血清オートタキシン測定試薬の臨床応用

五十嵐　浩　二
三　苫　惠　民
井　上　益　男

Clinical application of serum autotaxin immunoenzymetric assay reagent

Koji IGARASHI
Yasutami MITOMA
Masuo INOUE

We previously reported the immunoenzymetric assay of autotaxin (ATX) applied to the automated immunoassay analyzers, AIA series. In this paper, we report clinical trial resut using serum specimens from apparently healthy subjects and patients with various diseases. Serum ATX concentration was 30% higher in women than in men. Serum ATX concentration was increased in patients with hematological malignancies, especially in those with follicular lymphoma. Although the ATX concentration was increased in pregnant women, the rate of increase in ATX concentration in pregnancy-induced hyperpressure (PIH) patients remain at low levels as compared with in pregant woman who had a normal delivery. In addition, the ATX concentration was increased in patients with chronic liver diseases. Our results suggested that the present ATX immunoenzymetric assay reagent is useful for diagnosis and monitoing therapeutic efficacy in these diseases.

1. はじめに

オートタキシン（autotaxin、以下ATX）はヒト悪性黒色腫細胞株であるA2058の培養上清より、同細胞の運動促進因子として1992年に単離、同定された分子量125 kDaの糖蛋白質であり[1)]、現在非常に注目されている蛋白質である。そのきっかけは神経新生、血管新生、癌の進行、転移など多くの重要な細胞機能を制御[2~5)]する生理活性リン脂質であるリゾホスファチジン酸（lysophosphatidic acid、以下LPA）の産生酵素であるリゾホスホリパーゼD（lysophospholipase D、以下lysoPLD）が2002年にクローニングされ[6, 7)]、ATXであることが明らかとなったことによるところが大きい。ATXのLPA産生能が明らかになったことにより癌との関連性を中心に生体内での機能解析が急速に進められ、ヒトテラトカルシノーマ[8)]や肺の非小細胞癌[9)]、甲状腺癌[10)]、乳癌[11)]、多型膠芽腫[12, 13)]、前立腺癌[14)]、ホジキンリンパ腫[15)]など多種多様な癌においてATXの関与が報告されている。しかし、これら研究はATX遺伝子発現、ATX酵素活性あるいはウエスタンブロッティングなどによるATX検出によるものであり、血清検体を直接定量可能な方法がなかったことより多検体臨床評価はなされていない。我々は世界に先駆けて2007年自動免疫測定装置による血清ATX測定試薬を開発し[16)]、現在様々な疾患患者の臨床検体を用いた血清ATX濃度測定を開始し興味深い新知見を得ている。本論文では、これまでに明らかになったATX定量法の臨床的有用性について報告する。

2. 臨床評価

本研究を行うに当たっては、研究倫理について東京大学大学院医学研究科倫理委員会での承認のもと、東京大学医学部附属病院にて血清検体の採取および測定

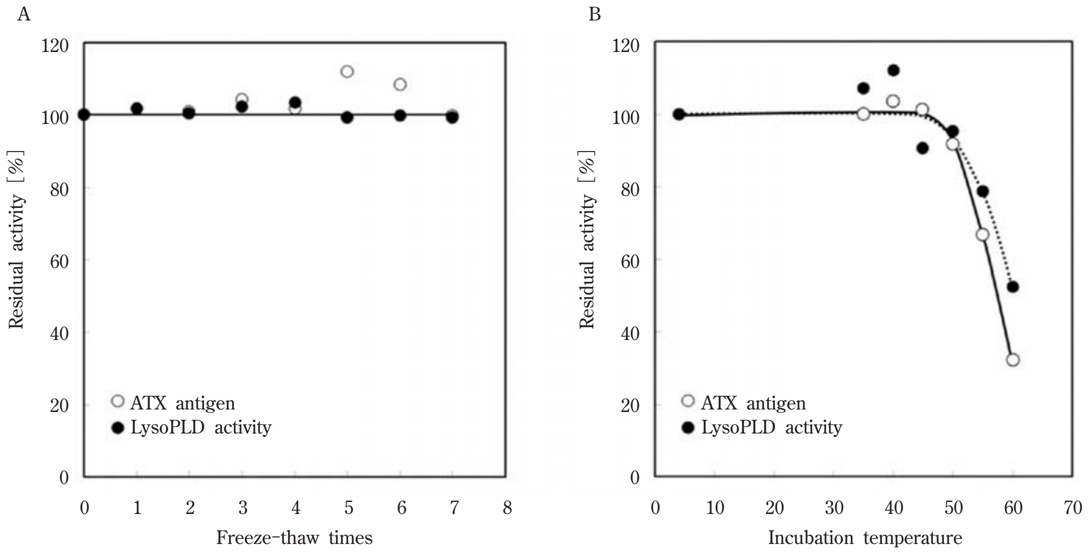


Fig. 1 Stability of ATX in serum

Human serum sample was repeated freeze-thaw cycles (A) and was incubated at various temperatures (B). Based on the value without treatments, percent residual activities of ATX antigen (closed circle) and lysoPLD activity (open circle) were determined

を実施した。ATX濃度測定は、自動免疫測定装置AIAシリーズ（東ソー社製）を用い実施した[17]。

［1］血清ATXの安定性

血清検体評価に先立ち、血清中のATXの安定性を検証した。血清の凍結融解、ならびに加熱処理によるATX測定試薬でのATX測定値の変動およびlysoPLD活性[6]の変動を検証した。−80℃での凍結、37℃での融解を繰り返し、未凍結融解時のATX濃度ならびにlysoPLD活性を基準とした時のそれぞれの残存濃度、残存活性を検証した結果、7回まで凍結融解による劣化は認められなかった（**Fig. 1** A）。また、血清サンプルを様々な温度で30分間加熱した後、加熱操作をしない4℃保存血清サンプルのATX濃度ならびにlysoPLD活性を基準とした時のそれぞれの残存濃度、残存活性を検証した結果、45℃以下の温度で30分間加熱してもほとんど劣化は認められず（**Fig. 1** B）、凍結融解の結果とあわせATXは血清中で非常に安定な酵素であり、血清検体評価時は低温保存や、特殊な採血方法などを必要とせず、通常の臨床検査現場での取り扱いが可能であることが明らかとなった。

［2］健 常 者

患者検体測定に先立ち、コントロール群として健常者血清のATX濃度を測定した。血液は採血7日前より投薬のない健常な成人ボランティアからインフォームドコンセントを得た後、肘前中静脈より採血し、室温15分放置後、1500×gにて5分間遠心分離することにより血清を取得した。採血後すぐに測定しない場合は速やかに凍結保存し、測定まで保管した。

男性74名（23〜65歳）、女性46名（21〜60歳）の健常者血清中のATX濃度測定を実施した。120名全員のATX濃度測定値は0.731±0.176 mg/L（算術平均値±標準偏差）であり、95パーセンタイルからなる参考基準範囲は0.468〜1.134mg/Lであった。男性ATX測定値は0.656±0.121mg/L、中央値0.641mg/L、95パーセンタイル参考基準範囲0.438〜0.914mg/Lであった。一方、女性ATX測定値は0.852±0.184mg/L、中央値0.820mg/L、95パーセンタイル参考基準範囲0.625〜

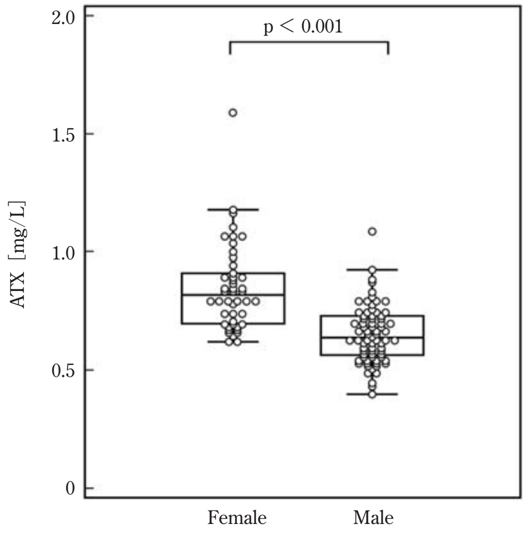


Fig. 2 ATX antigen concentration in sera from apparently healthy subjects

The ATX antigen concentrations were significantly higher in women than in men, as determined using the nonparametric Mann-Whitney U test. Boxes indicate the 25th and 75th percentiles, and the median for each group. Vertical lines indicate the 10th and 90th percentiles for each group.

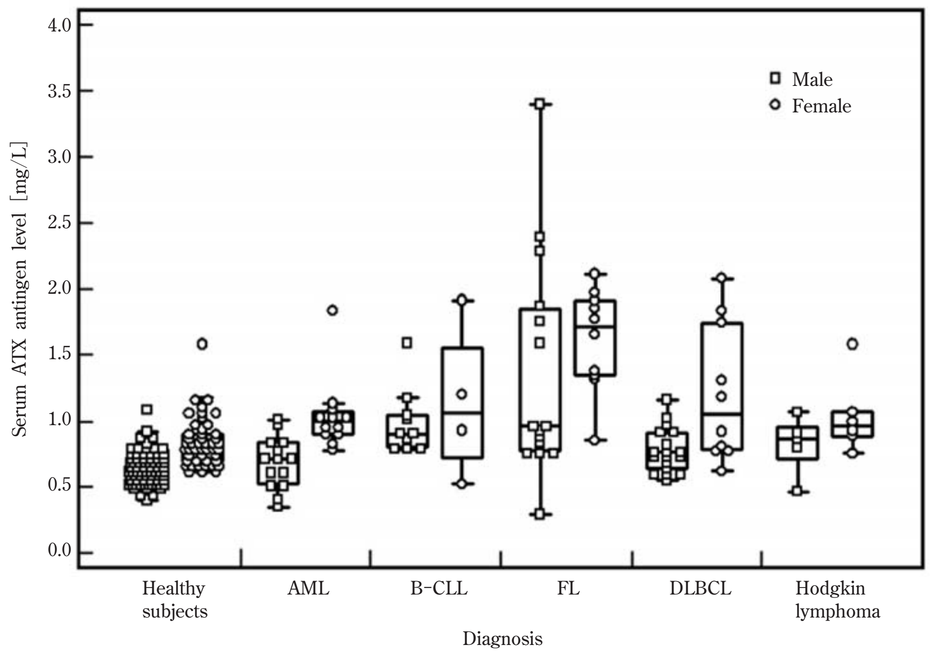
1.323mg/Lであった（**Fig. 2**）。女性血清中のATX濃度は男性に比べ明らかに高濃度であり、Mann-Whitney *U* testでは$p<0.001$の有意差を示した。従って、患者検体を評価する際は、性別を考慮し、それぞれの参考基準範囲を指標とした評価が必要なことが明らかとなった。

［3］造血器腫瘍

161例の各種造血器腫瘍患者の血清ATX濃度を測定した。造血器腫瘍患者分類の中でB細胞腫瘍患者群においてATX濃度の上昇が認められた。造血器腫瘍患者を疾患ごとに分類し、患者数が10名を超えるグループ（測定数が少ないグループは統計解析から除外した）に対してSteel-Dwass Testにより健常者測定値に対する有意差検定を実施した。その結果、濾胞性リンパ腫（FL）にて$p<0.001$、慢性リンパ性白血病（CLL）にて$p<0.001$、大細胞B細胞リンパ腫（DLBCL）にて$p=0.03$、ホジキンリンパ腫にて$p=0.01$と有意な差が認められた（**Fig. 3**）。FL患者25名の各種血液疾患パラメーターとATX濃度の関連を統計解析したところ腫瘍組織量（tumor burden）とATX濃度の間に最も顕著な有意差が認められた（$p=0.008$）。

現在、造血器腫瘍のバイオマーカーとして利用されている可溶性インターロイキン２レセプター（soluble interleukin-2 receptor、以下sIL-2R）、β2-マクログロブリン、乳酸脱水素酵素（lactate dehydrogenase、以下LDH）とATX濃度の関連性を検証した結果、sIL-2R（$r=0.594$, $p<0.001$, $n=115$）、β2-マクログロブリン（$r=0.465$, $p<0.001$, $n=58$）、LDH（$r=0.495$, $p<0.001$, $n=154$）と、いずれのマーカーとも弱い正の相関性が認められた。sIL-2R、β2-マクログロブリン、LDHいずれも造血器腫瘍特異的なバイオマーカーではなく、特にsIL-2R、β2-マクログロブリンにおいては炎症や感染性の状況下で上昇することが知られており、実際sIL-2R、β2-マクログロブリン濃度と炎症マーカーCRP（C-reactive protein）は正の相関性を示した（sIL-2R；$r=0.566$, $p<0.001$, $n=91$、β2-マクログロブリン；$r=0.516$, $p<0.001$, $n=55$）。一方、ATXはCRPと相関性を示さずsIL-2R、β2-マクログロブリンに比較し炎症等の影響を受けない優れた造血器腫瘍マーカーであることが強く示唆された。

4例のFL患者の治療経過をATX、sIL-2R、LDHを用い検証したところ、ATX、sIL-2Rは治療経過に並行して同様の挙動を示し、ATX測定による治療モニターと



	Healthy subjects	AML	B-CLL	FL	DLBCL	Hodgkin lymphoma
No. of patients（M/F）	120（74/46）	26（14/12）	14（10/4）	25（15/10）	28（18/10）	11（5/6）
P（vs control）All		0.08	＜0.001	＜0.001	0.03	0.01
P（vs control）Male		0.95	＜0.001	＜0.001	0.02	0.30
P（vs control）Female		0.03	0.83	＜0.001	0.36	0.31

Fig. 3　Serum ATX antigen levels in patients with hematological malignancies compared with apparently healthy subjects
The Steel-Dwass test, a nonparametric multiple comparison procedure, was performed to compare the levels among groups. P values less than 0.05 suggest significant differences. Samples from men and women are shown as open squares and open circles, respectively.

しての有用性はsIL-2Rと同等と判断できる（data not shown）。今回検証した4例のFL患者では炎症などの併発がなかったためATXが炎症等の影響を受けないより優れた造血器腫瘍マーカーであることの証明には至っておらず、今後さらに有用性を検証していく予定である。

FL患者において血清ATX濃度が腫瘍組織量と比例すること、抗ATX抗体を用いたflow cytometry実験よりFL患者末梢血中の腫瘍細胞にATXが発現していること[18] を考慮すると、血中ATX濃度上昇の由来がFL腫瘍細胞であることが示唆され、直接の病態を反映する特異的マーカーと位置づけられる。

［4］妊娠高血圧症候群

40例の正常妊娠経過をたどり分娩に至った被験者（正常群）検体および23例の妊娠高血圧症候群患者検体の血清ATX濃度を測定した。各検体は妊娠から採血時までの経過時期により分類を行ない、妊娠第一期（first trimester；妊娠から14週間）、第二期（second trimester；妊娠15～28週）、第三期（third trimester；妊娠29～40週）、出産後（after delivery）の四期に分類し、非妊娠検体（non-pregnant subjects）に対する妊娠各期のATX測定値の比較を行った。非妊娠群に対し、正常分娩群血清中のATX濃度は妊娠からの経過日数間に相関係数0.829（n＝79）と高い正の相関性を示し上昇していた。また、非妊娠群に対して妊娠第一期、第二期、第三期において各々p＝0.0001、p＜0.0001、p＜0.0001（Mann-Whitney U test）と有意差が認められた（**Fig. 4**）。さらに、出産後数日で速やかに血清ATX濃度の低下が確認された。妊娠高血圧症候群患者血清中のATX濃度も同様に妊娠経過とともに上昇し、非妊娠群に対し妊娠第一期、第二期、第三期において各々p＝0.0009、p＝0.0349、p＜0.0001と有意差が認められた（**Fig. 5**）。ATX濃度と妊娠からの経過日数間には、相関係数0.769（n＝68）と正の相関性が認められ、出産後も正常分娩群と同様に速やかに血清ATX濃度の低下が確認された。

正常分娩群と妊娠高血圧症候群でのATX濃度はいずれも妊娠経過に伴い上昇するものの、血清ATX濃度上昇率において両者に違いが認められた。ATX濃度を妊娠からの経過日数で除したATX/day 値で比較した時、正常分娩群に比較し第一期および第三期（第二期は測定数が少なく統計解析できない）において、妊娠高血圧症候群では正常群に比較し明らかな低値を示し、経過日数に伴ったATX濃度上昇が低い（**Fig. 6**）。また、正常分娩群および妊娠高血圧症候群それぞれ5例の同一個人での第一期から第三期へのATX濃度変化を検証したところ妊娠高血圧症候群全5例において正常群（1例で濃度上昇が低い例が認められた）と比較し明らかに濃度上昇が低いものであった（**Fig. 7**）。

妊娠とATXの関連は妊娠により血清中のlysoPLD活性が上昇することを示す報告がある[19] が、ATX抗原濃度に関する報告、特に定量的な報告はない。妊娠高血圧症候群においてATX濃度の上昇率が低い原因としては、絨毛外栄養膜細胞（extravillous trophoblast；EVT）の発育不良に起因することが推測される。ATX抗体を用い胎盤の免疫組織染色を行ったところ絨毛性栄養細胞（villous trophoblast）ならびにEVT細胞での染色像によりATXの発現を確認したことからも裏付けられる[20]。EVT は母体の子宮内膜に浸潤していく細

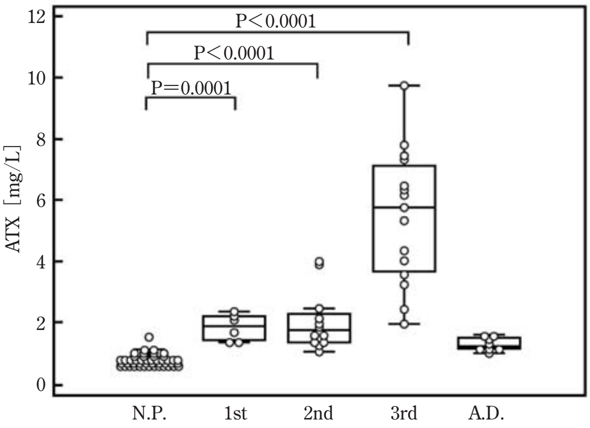


Fig. 4 Variation of ATX concentration during the course of normal pregnancy

The ATX antigen concentrations were elevated in proportion to trimester of pregnancy. ATX concentration even at 1st trimester (1st) was significantly higher than that from non-pregnant subjects (N.P.). ATX concentration after delivery (A.D.) is dramatically decreased.

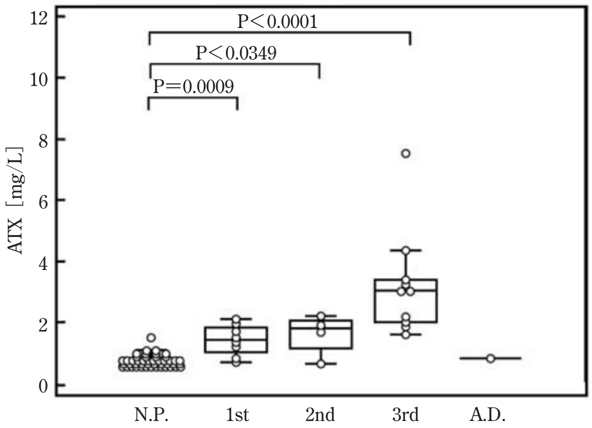


Fig. 5 Variation of ATX concentration during the course of PIH pregnancy

The ATX antigen concentrations were elevated in proportion to trimester of pregnancy in PIH (Pregnancy Induced Hypertension) patients.

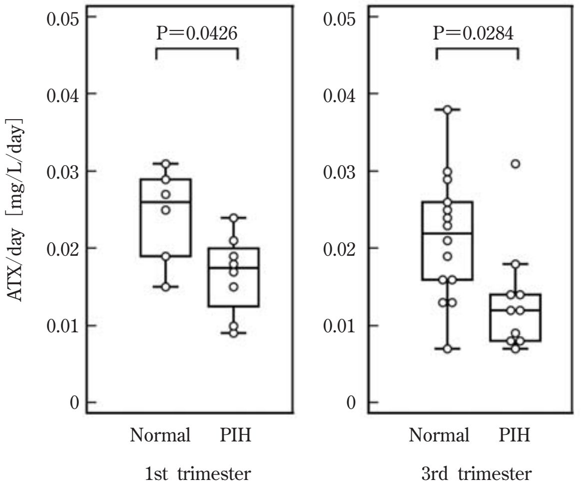


Fig. 6　Difference of ATX/day value between normal pregnancy and PIH subjects

ATX/day value of PIH patients is significantly lower than that from normal pregnancy subjects at both 1st and 3rd trimester.

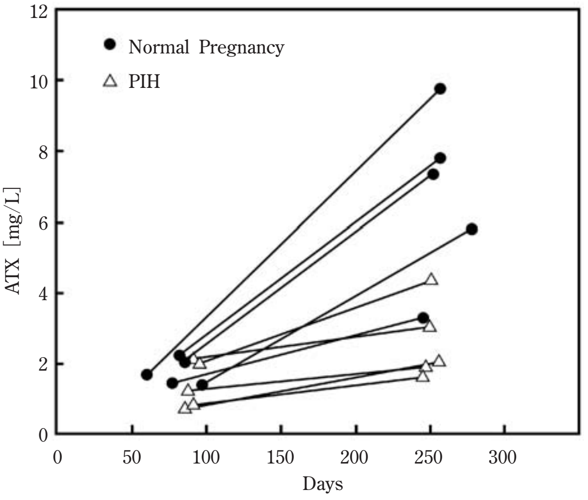


Fig. 7　Variation of ATX concentration from 1st to 3rd trimester of each sample from normal pregnancy and PIH subjects

Variation of ATX concentration of samples from five normal pregnancy individuals (closed circles) and five PIH individuals (open triangles) was shown. Slopes of normal pregnancy subjects were steeper than those of PIH.

胞であり、この浸潤機構の障害が妊娠高血圧症候群などの周産期疾患の発症に深く関わっていると考えられている。すなわち、ATXを発現しているEVTの発育不良が妊娠高血圧症候群の原因のひとつであり、その結果として血清中のATX濃度の上昇率が低いことが示唆される[21, 22]。

今回の結果は妊娠の際、血清ATX濃度の変動をモニターすることにより妊娠高血圧症候群を早期診断予測できる可能性を示唆するものである。

［5］慢性肝疾患

慢性肝疾患24症例の血清ATX濃度測定を実施した。慢性肝疾患におけるATX濃度は1.985±1.333 mg/Lと健常者と比較し高濃度を示し、Student t-testによる健常者、慢性肝疾患群間の比較では $p<0.001$ の有意差を示した（**Fig. 8**）。肝臓機能のマーカーである血清アルブミン濃度ならびにプロトロンビン時間（アルブミン、プロトロンビンは肝臓で合成されるため肝臓疾患でそれぞれ低値、時間延長を示す）とATX濃度の相関性を検証したところ、それぞれに対し $r=-0.467$、$r=-0.602$ と弱い負の相関性が認められた（data not shown）。慢性肝疾患においては、lysoPLD活性が上昇すること、アルブミン濃度と負の相関性を示すことが報告されており[23]、この結果を再現するものであった。

慢性肝疾患において、ATXにより生成されるLPAが生体内で肝線維化に関与する可能性が報告されている[24, 25]。慢性肝疾患は放置しておくと肝硬変へと移行するアルコール性肝炎と慢性肝疾患の大半を占めるウイルス性肝炎が知られている。ウイルス性肝炎では肝細胞の繊維化を伴う肝硬変を経て肝細胞癌へと進行するため、肝細胞の繊維化の進展度をモニターし病状を把握することは治療方針決定の上で非常に重要であり、生検検査を必要とせず非侵襲的に肝臓繊維化の程度を血清ATX濃度で診断できることが期待でき現在検証中である。

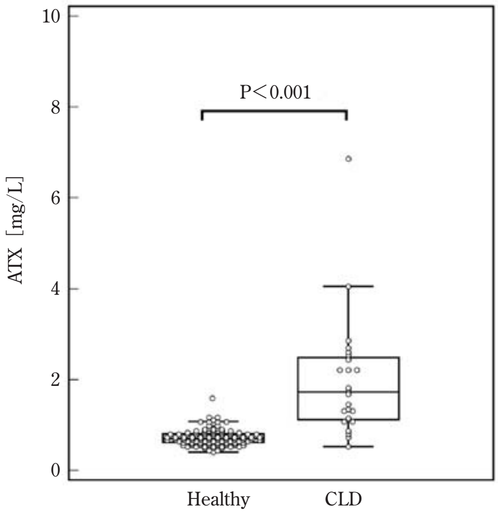


Fig. 8　ATX antigen concentrations in the sera of patients with chronic liver diseases (CLD)

The serum ATX concentrations were significantly higher in patients with CLD than in apparently healthy subjects, as determined using an unpaired Student t-test (p < 0.001).

3. 考　察

血清中のATXはそのlysoPLD活性、免疫測定試薬での抗原濃度値いずれも極めて安定な測定値を示し、血清中で安定な酵素であることが明らかとなった。ATXはLPA産生酵素として注目され細胞機能への関与や、その作用機序などの解析が盛んに行われており、当然ながらLPA量の定量も試みられている[26, 27]。血清検体中においてLPAは採血後、血清を放置するだけで血清中のATXと血清中に豊富に存在する基質であるリゾホスファチジルコリンから生成されてしまう。そのため安定したLPA測定値を得るためには血清検体を低温維持する必要があるなど、その取り扱いは容易ではなく臨床検査現場での測定には向かない。一方、ATX濃度は血清LPA濃度と良好な相関性を示すこと[17]、血清ATXは極めて安定であることより臨床現場での取り扱いも容易であり、LPA測定で予測される各種疾患の診断への適用も期待される。

健常者血清中のATX濃度測定値において、女性健常者のATX濃度が、男性に比較し高値を示すことが明らかとなった。この要因は明らかでないがATXが血管の安定化や発生時の血管形成に必須であること[28, 29]から、女性の生殖生物学的な男性との違い、あるいは脂肪細胞からのATX発現の報告があることより体脂肪率の違いを反映しているかもしれない。

ATXと癌の関連は前述の通り多くの報告がある。しかし今回、前立腺癌、卵巣癌、乳癌、肺癌、消化器系癌などにおいて癌患者血清中のATX濃度測定を実施した結果、一部の癌検体でATX濃度が高値を示す症例もあったが、現状ATX測定による癌の診断や治療効果モニターへの臨床的有効性は見出せていない。lysoPLD活性測定により最近報告されている卵巣癌患者血清評価において健常者と患者間で差が認められない報告[30]、前立腺癌患者血清で差が認められない報告[31]と一致しており、ATXと癌との因果関係が注目される中、癌と血清ATXの関連の報告は未だなかった。今回、初めてATX測定試薬を用い、造血器腫瘍、特に濾胞性リンパ腫において血清ATX濃度が高値を示すことが明らかとなった。濾胞性リンパ腫における抹消血中のFL腫瘍細胞からの血液中へのATXの直接の放出、あるいは妊娠時の非常に組織量が豊富な胎盤でのEVTからのATX産生により、血清ATX濃度は上昇したことが示唆される。一方、今回他の癌患者血清においては明確な血清中のATX濃度上昇は見出せなかった。その理由は、血清濃度を上昇させるほどの癌細胞からのATX産生が認められないことによるかもしれない。早期癌、進行癌、末期癌、あるいは転移性の高い癌など詳細な癌の分類、あるいは癌特異的なATX分子種の解析などが今後の課題である。

慢性肝疾患におけるATX濃度上昇は、推論の域を出ないがラットの肝障害での検討結果から，少なくとも肝臓で産生されたATXによる血清濃度上昇ではなく、肝臓でのATXの代謝ないし分解障害によるATXの蓄積の可能性が考えられる[32]。

今回の血清ATX測定結果より、造血器腫瘍、妊娠高血圧症候群、慢性肝疾患において血清ATXを測定することによる臨床的有用性を見い出した。今後、これら疾患の診断あるいは治療経過モニターへの有効性確認のため、多施設、多検体評価が必要でありさらに評価を進める予定である。

5. 謝　辞

今回の報告にあたり、データ取得と多くの助言を頂いた東京大学大学院医学系研究科臨床病態検査医学・矢冨裕教授、東北大学大学院薬学研究科分子細胞生化学・青木淳賢教授に感謝いたします。また、実験サポートをして頂いた中川亜矢、西口朋子両氏に感謝いたします。

6. 略　号

Autotaxin, ATX； lysophosphatidic acid, LPA; lysophospholipase D, lysoPLD; follicular lymphoma, FL；chronic lymphocytic leukemia, CLL；diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL；soluble interleukin-2 receptor, sIL-2R；lactate dehydrogenase, LDH；C-reactive protein, CRP；extravillous trophoblast, EVT；pregnancy-induced hypertension, PIH；chronic liver disease, CLD

参考文献

１）M. L. Stracke，H. C. Krutzsch，E. J. Unsworth，A. Arestad，V. Cioce，E. Schiffmann，L. A.Liotta，*J. Biol. Chem.*，**267**，2524（1992）
２）G. B. Mills，W. H. Moolenaar，*Nat. Rev .Cancer*，**3**，582（2003）
３）J. H. Hecht，J. A. Weiner，S. R. Post，J. Chun，*J. Cell Biol .*，**135**，1071（1996）

4）K. Hama，J. Aoki，M. Fukaya，Y. Kishi，T. Sakai，R. Suzuki，H. Ohta，T. Yamori，M. Watanabe，J. Chun，H. Arai，*J. Biol. Chem.*，**279**，17634（2004）
5）W. H. Moolenaar，*Trends Cell Biol.*，**4**，213（1994）
6）M. Umezu-Goto，Y. Kishi，A. Taira，K. Hama，N. Dohmae，K. Takio，T. Yamori，G. B. Mills，K. Inoue，J. Aoki，H. Arai，*J. Cell Biol.*，**158**，227（2002）
7）A. Tokumura，E. Majima，Y. Kariya，K. Tominaga，K. Kogure，K. Yasuda，K. Fukuzawa，*J. Biol. Chem.*，**277**，39436（2002）
8）H. Y. Lee，J. Murata，T. Clair，M. H. Polymeropoulos，R. Torres，R. E. Manrow，L. A. Liotta，M. L. Stracke，*Biochem. Biophys. Res. Commun.*，**218**，714（1996）
9）Y. Yang，L. Mou，N. Liu，M. S. Tsao，*Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*，**21**，216（1999）
10）A. Kehlen，N. Englert，A. Seifert，T. Klonisch，H. Dralle，J. Langner，C. Hoang-Vu，*Int. J. Cancer*，**109**，833（2004）
11）S. Y .Yang，J. Lee，C. G. Park，S. Kim，S. Hong，H. C. Chung，S. K. Min，J. W. Han，H. W.Lee，H. Y. Lee，*Clin. Exp. Metastasis*，**19**，603（2002）
12）D. B. Hoelzinger，L. Mariani，J. Weis，T. Woyke，T. J. Berens，W. S. McDonough，A. Sloan，S. W. Coons，M. E. Berens，*Neoplasia*，**7**，7（2005）
13）Y. Kishi，S. Okudaira，M. Tanaka，K. Hama，D. Shida，J. Kitayama，T. Yamori，J. Aoki，T. Fujimaki，H. Arai，*J. Biol. Chem.*，**281**，17492（2006）
14）H. Zhao，C. Ramos，J. Brooks，D. Peehl，*J. Cell Physiol.*，**210**，111（2007）
15）K. R. Baumforth，J. R. Flavell，G. M. Reynolds，G. Davies，T. R. Pettit，W. Wei，S. Morgan，T. Stankovic，Y. Kishi，H. Arai，M. Nowakova，G. Pratt, J. Aoki，M. J. Wakelam，L. S. Young，P. G. Murray，*Blood*，**106**，2138（2005）
16）K. Igarashi，K. Ide，Y. Mitoma，M. Inoue，東ソー研究・技術報告，**37**（2007）
17）K. Nakamura，K. Igarashi，K. Ide，R. Ohkawa，S. Okubo，H. Yokota，A. Masuda，N. Oshima，T. Takeuchi，M. Nangaku，S. Okudaira，H. Arai，H. Ikeda，J. Aoki，Y. Yatomi，*Clin. Chim. Acta*，**388**，51（2008）
18）A. Masuda，K. Nakamura，K. Izutsu，K. Igarashi，R. Ohkawa，M. Jona，K. Higashi，H. Yokota，S. Okudaira，T. Kishimoto，T. Watanabe，Y. Koike，H. Ikeda，Y. Kozai，M. Kurokawa，J. Aoki，Y. Yatomi，*Br. J. Haemat.*，**143**，60（2008）
19）A. Tokumura，S. Yamano，T. Aono，K. Fukuzawa，*Ann. N. Y. Acad. Sci.*，**905**，347（2000）
20）Y.Iwasawa，T. Fujii，T. Nagamatsu，K. Kawana，S. Okudaira，S. Miura，J. Matsumoto，A. Tomio，H. Hyodo，T. Yamashita，K. Oda，S. Kozuma，J. Aoki，Y. Yatomi，Y. Taketani，*Am. J.Reprod. Immunol.* **62**，90（2009）
21）H. Ochi，日本産科婦人科学会雑誌，**55**(9)，N265（2003）
22）日本産科婦人科学会雑誌，**58**(5)，N59（2006）
23）N. Watanabe，H. Ikeda，K. Nakamura，R. Ohkawa，Y. Kume，J. Aoki，K. Hama，S. Okudaira，M. Tanaka，T. Tomiya，M. Yanase，K. Tejima，T. Nishikawa，M. Arai，H. Arai，M. Omata，K. Fujiwara，Y. Yatomi，*J. Clin. Gastroenterol.*，**41**，616（2007）
24）H. Ikeda，Y. Yatomi，M. Yanase，H. Satoh，A. Nishihara，M. Kawabata，K. Fujiwara，*Biochem. Biophys. Res. Commun.*，**248**，436（1998）
25）M. Yanase，H. Ikeda，A. Matsui，H. Maekawa，E. Noiri，T. Tomiya，M. Arai，T. Yano，M. Shibata，M. Ikebe，K. Fujiwara，M. Rojkind，I. Ogata，*Biochern. Biophys. Res. Commim.*，**277**，72（2000）
26）T. Kishimoto，T. Matsuoka，S. Imamura，K. Mizuno，*Clin. Chim. Acta*，**333**，59（2003）
27）M. Scherer，G. Schmitz，G. Liebisch，*Clin. Chem.*，**55**，1218（2009）
28）M. Tanaka，S. Okudaira，Y. Kishi，R. Ohkawa，S. Iseki，M. Ota，S. Noji，Y. Yatomi，J. Aoki，H. Arai，*J. Biol. Chem.*，**281**，25822（2006）
29）L. A. van Meeteren，P. Ruurs，C. Stortelers，P. Bouwman，M. A. van Rooijen，J. P. Pradere，T. R. Pettit，M. J. Wakelam，J. S. Saulnier-Blache，C. L. Mummery，W. H. Moolenaar，J. Jonkers，*Mol. Cell Biol.*，**26**，5015（2006）
30）A. Tokumura，T. Kume，K. Fukuzawa，M. Tahara，K. Tasaka，J. Aoki，H. Arai，

K. Yasuda, H. Kanzaki, *Life Sci.*, **80**, 1641 (2007)

31）K. Nakamura, T. Takeuchi, R. Ohkawa, S. Okubo, H. Yokota, M. Tozuka, J. Aoki, H. Arai, H. Ikeda, N. Ohshima, T. Kitamura, Y. Yatomi, *Ann. Clin. Biochem.*, **44**, 549（2007）

32）N. Watanabe, H. Ikeda, K. Nakamura, R. Ohkawa, Y. Kume, T. Tomiya, K. Tejima, T. Nishikawa, M. Arai, M. Yanase, J. Aoki, H. Arai, M. Omata, K. Fujiwara, Y. Yatomi, *Life Sci.*, **81**, 1009（2007）

33）K. Nakamura, K. Igarashi, R. Ohkawa, S. Okubo, H. Yokota, H. Ikeda, Y. Yatomi, K. Ide, T. Kishimoto, A. Masuda, T. Yamamoto, S. Tsuji, N. Saito, M. Kurokawa, S. Okudaira, J. Aoki, *Clin. Chim. Acta*, **405**, 160（2009）

著　　者

氏名　**五十嵐　浩　二**
Koji IGARASHI
所属　バイオサイエンス事業部
開発部
技術開発グループ
新規マーカー探索チーム
チームリーダー

氏名　**三　苫　恵　民**
Yasutami MITOMA
所属　バイオサイエンス事業部
技術部
遺伝子グループ
グループリーダー

氏名　**井　上　益　男**
Masuo INOUE
所属　バイオサイエンス事業部
開発部
開発部長