

2007年2月19日

独立行政法人 理化学研究所

株式会社ダナフォーム

公立大学法人横浜市立大学

## 血液一滴から30分で薬の効き目を診断：新規遺伝子診断技術「SMAP法」を開発

- 肺がん組織を用いて抗がん剤の診断試薬の臨床試験も開始 -

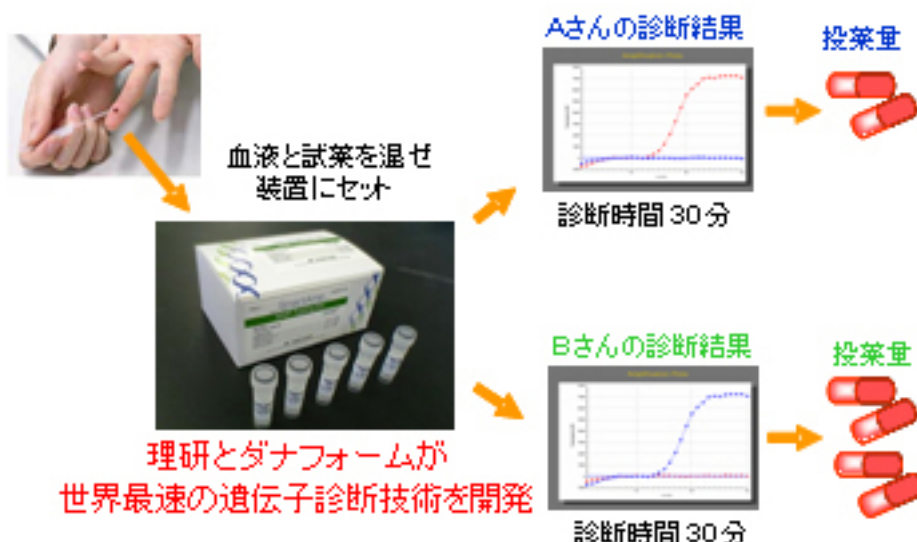
人の体は約30億個の塩基対で構成された遺伝情報に基づいてつくられ、個人ごとに塩基配列が違ってきます。この塩基配列の違いを「遺伝子多型」と呼び、一つの塩基の違いを「SNP」といいます。この違いによって体内でつくられる酵素の働きなどが異なり、病気のかかりやすさや薬の効き方が個人差となって現れます。SNPを臨床の現場で調べることができると、患者の体質に見合った治療を行うことが可能となり、患者に優しいオーダーメイド医療が現実のものとなります。

理研ゲノム科学総合研究センター遺伝子構造・機能研究グループと、理研ベンチャーの株式会社ダナフォームを中心とする共同研究グループは、一滴の血液からわずか30分でSNPを診断する新しい技術「SMAP法」を開発しました。

また、公立大学法人横浜市立大学とダナフォームとの協力で、SMAP法による抗がん剤感受性診断試薬の開発にも成功し、横浜市立大学先端医科学研究センターにて臨床試験を開始します。

SMAP法は血液からDNAを抽出・精製する必要がなく、血液を採取後30分で診断結果が得られる世界最速の診断法となりました。将来は携帯電話サイズの超小型装置で安価な診断も可能となり、薬の効果の診断のほか食品水質安全検査、体質診断など幅広く活用することもできるでしょう。

### 医療現場における遺伝子診断の流れ



2007年12月15日  
独立行政法人 理化学研究所  
株式会社ダナフォーム  
公立大学法人横浜市立大学

## 血液一滴から 30 分で薬の効き目を診断：新規遺伝子診断技術「SMAP 法」を開発

- 肺がん組織を用いて抗がん剤の診断試薬の臨床試験も開始 -

### ◇ポイント◇

- 国産の SNP 検出型超高速等温増幅法の開発成功により、血液一滴から（検体採取後）30 分で薬の効き目を、安価、簡便、迅速、正確に診断が可能。
- 省エネ型技術でもある SMAP 法は、個人診断用の携帯電話接続型マイクロカードにも適用可能
- 横浜市大先端医科学研究センターとの共同研究で臨床試験を開始

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）ゲノム科学総合研究センター遺伝子構造・機能研究グループ（林崎良英プロジェクトディレクター）と理研ベンチャーの株式会社ダナフォーム（宇治田日侶史代表取締役社長）を中心とする共同研究グループは、薬効や副作用の度合いなどを、血液一滴から 30 分以内に診断する「SMAP法<sup>\*1</sup>」を開発しました。米国の科学雑誌『*Nature Methods*』オンライン版に 2 月 18 日付け掲載されます。この成果は、個別化医療（オーダーメイド医療）の実用化に革命をもたらす技術として期待されます。SMAP 法は、血液一滴以下（数 $\mu$ L程度）を前処理試薬と混合し加熱処理後、そのまま増幅試薬に添加し、60℃で反応させるという簡便で迅速な国産の SNP<sup>\*2</sup>の診断技術です。この独自開発した技術は、(1)DNA増幅そのものが SNP のシグナルであるという SNP 特異的 DNA 増幅反応が等温（60℃）で進行、(2)独自で開発したきわめて合成能力の高い酵素により増幅反応が 30 分以内に終了、(3)DNA の抽出・精製工程が不要で操作が簡単、(4)高感度定量的で、がん細胞と正常細胞の比を手術中に診断可能という特徴があります。また、既存のリアルタイム PCR 装置<sup>\*3</sup>をそのまま利用でき、なおかつ PCR 法のような温度上下のコントロールが不必要なため、増幅時間の短縮及びエネルギー消費量の削減が可能であり、将来携帯電話の電池で動く携帯電話接続型マイクロカードにも適用できる地球環境にもやさしい技術です。そのため、個人による検査結果を携帯電話で医療センターに送信し適切な医療指導を受ける高度化された個人別地域医療の実現に道が開かれました。さらに、本法は、尿検査テストテープ感覚で簡便に外来 SNP 診断ができ、初診で個別化医療を目指した薬の処方が可能となります。

また、この技術を用い、独立行政法人理化学研究所、公立大学法人横浜市立大学（宝田良一理事長）と株式会社ダナフォームが、平成 16 年 10 月から共同研究をおこない、この度、肺がんの術中診断を可能にする抗がん剤感受性診断試薬の開発にも成功しました。平成 19 年 3 月より横浜市立大学先端医科学研究センターにて臨床試験を開始し、個人別地域医療の実現を目指します。

今後、SMAP 法のすべての商業権をダナフォームが独占実施いたします。

## 1. 背景

人間の遺伝情報は、約 30 億個の塩基対で構成されており、個人ごとにその配列は異なります。この配列の違いを「遺伝子多型 (いでんしたけい)」と呼び、特に、一塩基の違いを「SNP」(Single Nucleotide Polymorphism、一塩基多型：スニップ)と言います。この違いによって体内の酵素の働きなどが異なり、病気のかかりやすさや薬の効き方に個人差があらわれます。SNPを簡便、迅速に臨床現場で調べることができると患者個人の体質に合った治療を行う「オーダーメイド医療<sup>\*4</sup>」が実現でき、副作用の回避が可能になるとともに、数兆円といわれる副作用によって発生する医療費が軽減され、年々増大する医療費を抑制する効果が見込まれます。

通常、SNPを調べるためには、血液からDNAを精製して増幅し、その増幅したDNAを様々な方法で解析することが必要でした。そのため、作業が煩雑で、それぞれの試薬や特別に設計した高価で特殊な装置が必要となり、診断結果を出すまでに1時間半から数日程度かかっていました。そこで研究グループは、術中診断、外来初診診断を可能とする診断時間の短縮(検体採取後30分以内)、操作の簡便化、将来個人別地域医療の実現を視野に入れた携帯電話接続可能マイクロカードを目指した、新規遺伝子診断システムの開発に取り組んできました。

## 2. 研究手法と成果

研究グループは、血液一滴以下(数 $\mu$ L程度)を前処理試薬と混合し加熱処理後、そのまま増幅試薬に添加し、60°Cで反応させて簡便・迅速にSNPを診断する新規技術「SMAP法」を開発し、特許を取得しました。

SMAP法は、標的SNPをゲノム配列上で挟み込む特徴的DNAの配列を持ったプライマーセットと、理研の林崎研究グループが新規開発した極めて強いDNA合成能力を持ち、かつ細胞懸濁液成分による増幅反応阻害を非常に受けにくいDNA合成酵素を用いることにより、DNA精製処理もいらず、検体懸濁液から直接増幅を可能とする特徴を持ちます。さらに一塩基の違いを正確に認識する酵素の存在下で増幅反応を行うことにより、非特異的な増幅を抑制し、SNP診断の精度を完璧なまで向上させることに成功しました。SMAP法は、SNP特異的DNA増幅法の致命的な欠点であるバックグラウンド増幅を完全抑制したことにより、血液からDNAを抽出・精製することが不要で、血液採取後30分以内に診断結果を出すことができる世界でも例のない最速の国産の診断法です。

またSMAP法は、PCR装置のような既存の装置で実施可能であり、さらに、等温増幅法であることから、エネルギーを消費する冷却装置が要らない省エネ型技術です。そのため、SMAP法は、将来的には個人診断用の携帯電話接続型マイクロカード作成も可能となると考えられます。

さらに、理化学研究所と株式会社ダナフォームと横浜市立大学医学部の3者はSMAP法を用い、がん抑制効果の切れ味のよさとともに、間質性肺炎という副作用が社会問題となった抗がん剤(ゲフィチニブ<sup>\*5</sup>)について、効果及び副作用の出現を診断するために上皮成長因子受容体(EGFR)遺伝子内の変異の検出キット開発を試みました。特に、手術検体の直接迅速診断による検出試薬を開発することに成功したので、その薬効評価検討を横浜市立大学先端医科学研究センターが中心となり、3月1日から開始する予定です。このEGFR微量変異検出試薬は、抗がん剤(ゲ

フィチニブ) の効果予測診断に有望です。さらに、がん特異的DNA変異をマーカーにして、リンパ節転移の有無のみならず、正常細胞中のがん細胞の含有比率まで計測するポテンシャルを有しています。個数組織をすりつぶして前処理試薬に加え、加熱処理した検体を用いた場合、30分程度で正常細胞：がん細胞比が、99：1程度(がん細胞率1%)の検出が可能です。

なお、本研究成果には、理化学研究所「産業界連携プロジェクト」の一環から得られたものが一部含まれています。

SMAP法は理化学研究所と株式会社ダナフォームと湧永製薬株式会社(草井由博代表取締役社長)の3者で、平成14年9月から共同研究を開始しましたが、SMAP法のすべての商業権をダナフォームが独占実施することになり、製品販売を開始します。

### ◇SMAP 試薬の特徴◇

#### 1) 短時間で診断

SNP増幅型直接DNA増幅法の致命的な欠点であるバックグラウンド増幅を完全抑制したことによりDNA増幅そのものがSNPのシグナルであるという基本原理の採用が可能となりました。このため、世界最高速のDNA診断が実現。しかも、独自で開発した新型酵素が細胞懸濁液に阻害効果を受けないため、DNAを精製する必要も無く、さらに、極めてDNA合成能力が高いため、採血後30分以内という短時間で診断結果が出ます。従来は血液からDNAを精製して増幅後、DNAを検出するような複数の作業工程を経る必要があり、診断時間として半日以上必要でした。

#### 2) さまざまな遺伝子診断にも応用可能

プライマーを変えるだけで、ゲノムDNA上のすべてのSNPの検出が可能。

#### 3) 省エネ型技術

等温増幅法であることから、エネルギーを消費する冷却装置が要らない省エネ型技術です。そのため、SMAP法は、将来的には個人診断用の携帯電話接続型マイクロカード作成も可能となると考えられます。

#### 4) 操作が簡便

血液からDNAを精製することなく、直接2種類の試薬を混ぜるだけの簡便な操作です。

#### 5) 精度が高い

複数の酵素を利用し、一塩基の違いを正確に判定しています。

#### 6) サンプルは微量

診断に必要な血液の量は一滴以下(数 $\mu$ L程度)と微量です。

#### 7) 研究支援

プライマー設計ソフトを無料公開していますので、研究目的のために、自由に利用することが可能です。

#### 8) 将来性

きわめて少量の反応液で結果が出るため、将来は携帯電話もしくは携帯電話サイズの超小型で安価な装置で診断が可能になります。

#### 9) SMAP 法 解説ビデオ

SMAP 法 解説ビデオをご覧になるには

WindowsMediaPlayer、RealPlayer など WMV が再生可能なプレイヤーが必要です。

### 3. 今後の期待

SMAP 法検査は、PCR サーマルサイクラーのようなエネルギーを消費する冷却装置が要らない等温増幅法であることから、省エネ型技術です。極めて少量の検体で結果がでることから、将来的には個人診断用の携帯電話接続型マイクロカード作成などによる超小型化、さらに、検査結果データの通信をかねて携帯電話接続型も可能となると考えられます。したがって、専門的な大病院のみならず、小さな診療所などでも手軽に行うことができます。また、診断時間が短いため、がん手術中にがんの転移の有無や抗がん剤（ゲフィチニブ）の感受性などの診断結果の提供、外来患者の短い診察時間においても薬の効き目や副作用の可能性を迅速に判定できるなど、幅広い利用が期待されます。また、病院だけでなく、遺伝子組み換え食物、食品水質安全検査、個人同定・法医学・科学捜査用途、個人による体質診断、さらには SNP 診断のみならず、バクテリアやウイルスなどの感染症診断などさまざまな用途が考えられます。

今後は、SMAP 法の実用化を目的とし、株式会社ダナフォームが研究用試薬を大学病院や診療所などに提供し、臨床現場で使用できる試薬の開発及び事業化を行います。そしてこの日本独自の迅速遺伝子診断技術が世界に広まることにより、オーダーメイド医療の実現に寄与することが出来ると考えられます。

### 4. 会社概要

#### 1) 独立行政法人理化学研究所 ([http://www.riken.jp/index\\_j.html](http://www.riken.jp/index_j.html))

独立行政法人理化学研究所は、科学技術（人文科学のみに係るものを除く）に関する試験及び研究等の業務を総合的に行うことにより、科学技術の水準の向上を図ることを目的とし、日本で唯一の自然科学の総合研究所として、物理学、工学、化学、生物学、医科学などにおよぶ広い分野で研究を進めています。研究成果を社会に普及させるため、大学や企業との連携による共同研究、受託研究等を実施しているほか、知的財産権等の産業界への技術移転を積極的にすすめています。

#### 2) 株式会社ダナフォーム (<http://www.dnaform.jp/>)

株式会社ダナフォームは、理化学研究所初のベンチャー企業であり、理化学研究

所で開発された特許技術の実用を目指しています。また完全長 cDNAライブラリーの受託製造、理研マウスFANTOM®クローンの頒布、DNABook®の頒布、研究用試薬・キットの販売など、あらゆる遺伝子の機能研究をサポートしています。さらには、新規開発したSMAP法を用いた遺伝子診断技術を提供し、研究開発から創薬研究開発までをトータルサポート致します。

3) 公立大学法人横浜市立大学 (<http://www.yokohama-cu.ac.jp/>)

公立大学法人横浜市立大学は、国家プロジェクトの獲得や産業界・外部研究機関との共同研究を促進するため、学部コースや大学院の専攻の壁を越えた領域横断研究への取り組みを積極的に進め、7つの戦略的研究分野（先端医療、ライフサイエンス他）を定めて戦略的に研究を行っています。昨年10月には、優れた基礎医学の研究成果を予防・診断・治療法などの臨床の現場で実践できるようにするトランスレーショナルリサーチ体制の確立を目的として先端医科学研究センターを開設しました。

(問い合わせ先)

1. 技術内容、研究開発、共同研究、臨床応用について

独立行政法人 理化学研究所

ゲノム科学総合研究センター 遺伝子構造・機能研究グループ

プロジェクトディレクター 林崎 良英 (はやしざき よしひで)

Tel : 045-503-9222 / Fax : 045-503-9216

2. 企業化、実用化、ライセンスについて

株式会社ダナフォーム

代表取締役社長 宇治田 日侶史 (うじた ひろふみ)

Tel : 045-510-0607 / Fax : 045-510-0608

3. 横浜市立大学先端医科学研究センターにおける臨床試験について

公立大学法人 横浜市立大学

医学部消化器・腫瘍外科学 教授 嶋田 紘 (しまだ ひろし)

Tel : 045-787-2648 / Fax : 045-782-9161

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

## <補足説明>

### ※1 SMAP 法 (SMart Amplification Process)

理化学研究所で開発された等温 DNA 増幅法であり、新規な国産技術。複数の酵素を組み合わせて、一塩基の違い（SNP）を正確に識別しながら DNA 増幅させる。血液などの臨床検体からでも DNA を精製することなく、30 分以内と短時間で正確に増幅させることができる。

## ※2 SNP(Single Nucleotide Polymorphism、一塩基多型):スニップ

約 1000 塩基に 1 か所の頻度でゲノム全体に分布している DNA 配列の違い。その違いはタンパク質の機能や遺伝子発現に変化をもたらすと考えられ、疾患に対する感受性や薬剤に対する反応に違いが生じると推測されている。

## ※3 リアルタイム PCR 装置

短時間で DNA を増幅する「PCR 法」を応用した技術。増幅反応の過程で増幅量をリアルタイムで計測することができるため、標的 DNA を即時に定量することが可能。

## ※4 オーダーメイド医療

同じ薬でも、体質によって、効く人、効かない人、副作用が出てしまう人など、いろいろ効き方が異なることがある。その個々人の体質差に合わせて、最も効果的な治療・投薬を目指した医療のこと。

## ※5 ゲフィチニブと EGFR(Epidermal Growth Factor Receptor)

2004 年に抗がん剤の一種のゲフィチニブの有効性と EGFR（上皮成長因子受容体）の遺伝子の変異が関連しているという論文が報告された。

## 医療現場における遺伝子診断の流れ

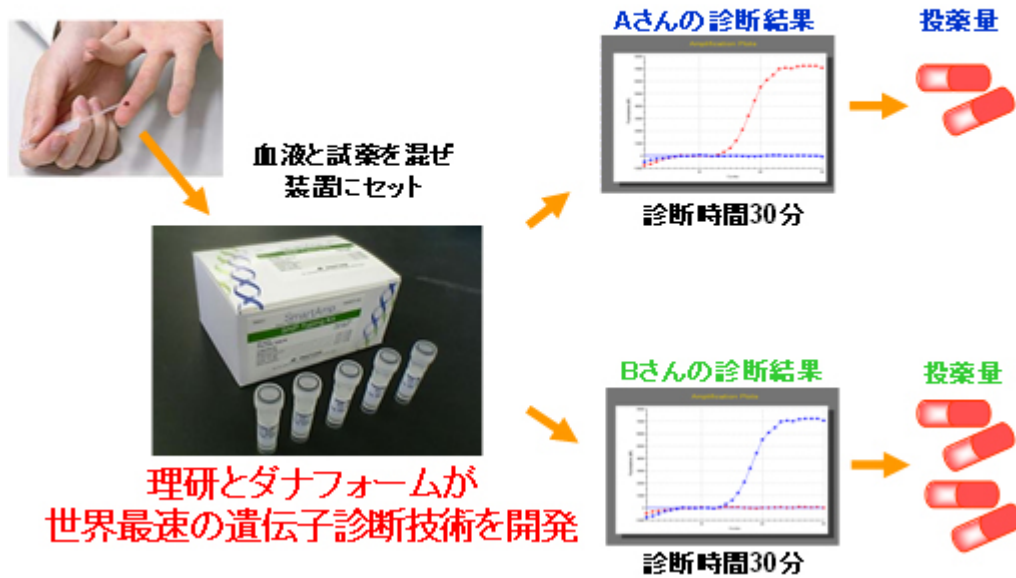


図1 医療現場における SNP 診断の流れ

血液を数  $\mu\text{L}$  採取し、SMAP 法の SNP 診断試薬と混ぜ装置にセットすれば、30 分以内に遺伝子診断結果が判明し、その情報をもとに個人に最適な薬剤を提供することが可能。

## EGFR 遺伝子の変異とゲフィチニブの効果

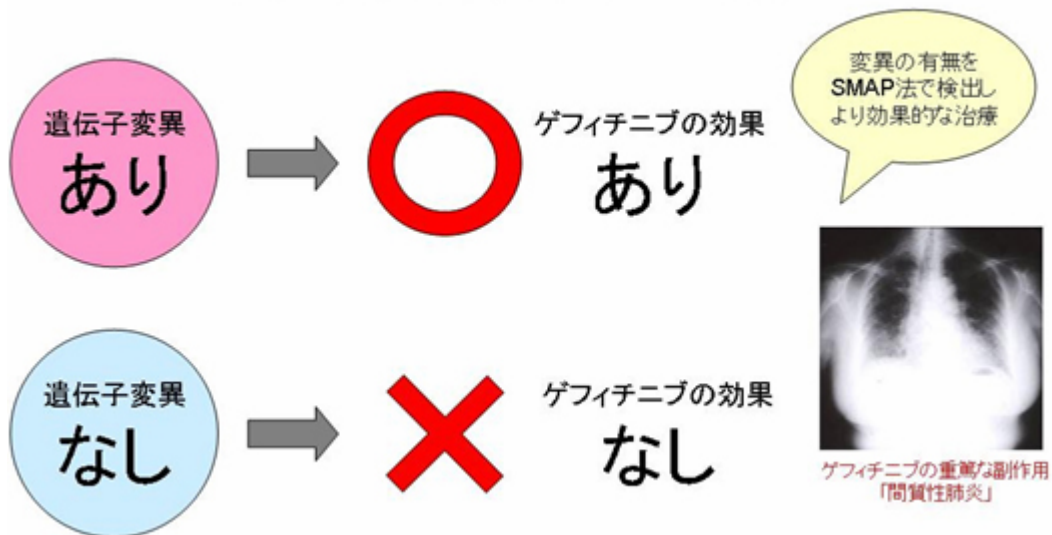


図2 ゲフィチニブの奏効率と EGFR 遺伝子変異

ゲフィチニブは治療効果が高い抗がん剤だが、副作用を生じるケースもある。近年、EGFR 遺伝子に変異をもつかどうかを診断し、患者への投薬を決めることで副作用を回避できる報告が多くある。