



BioPhenoMA

実検体ダイナミクスを定量化する
タンパク質動態解析プラットフォーム

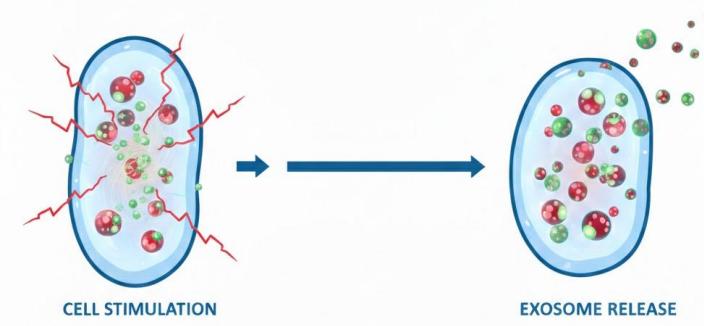
- “Dynamics” “Localization-preserved” “Quantitative” -

生体ダイナミクスへの根源的な問い

生命現象は“静的な濃度”ではなく、
刺激に応じて変化する“ダイナミクス(動態)”によって駆動される。

細胞は

- タンパク質を生成し、
- 局在を変え、
- エクソソームに積み込み、
- 周囲の細胞へ放出し、
- 病態や治療反応性を形づくる。



研究者が本当に知りたいのは、
「どのタンパク質が、いつ、どこから、どれだけ放出されるのか」
という“動き”そのもの。

しかし——

このダイナミクスを“実検体で”定量的に捉える方法は存在しなかった。

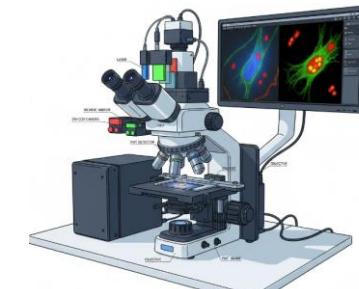
顕微鏡とELISAが示してきた“ダイナミクスの可能性と限界”

顕微鏡(蛍光・共焦点・発光)

生きた細胞の局在・移行・放出をリアルタイムに観察できる。
ダイナミクスを最も直感的に捉えられる手法。

しかし：

- ・サンプル数が取れない
- ・定量性が乏しい
- ・個別現象は見えるが、集団としての変化は測れない



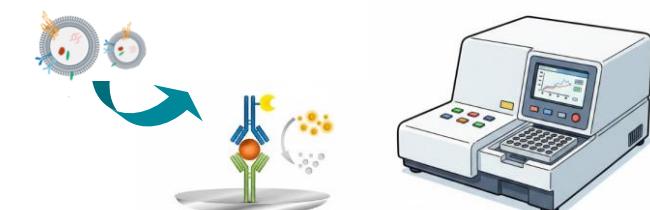
(メリット:動態／デメリット:定量性)

従来ELISA

- ・細胞やデブリを含むサンプルでも測定可能
- ・刺激前後の変化を“比較的自然な状態で”追える

しかし：

- ・感度が足りず、微量タンパク質のダイナミクスは見えない
- ・エクソソーム内腔などの極微量領域は検出限界の外



(メリット:定量性／デメリット:感度)

顕微鏡は“見えるが定量できない”、

ELISAは“定量できるが微量が見えない”。

研究者はずっと、「顕微鏡で見える世界を、多検体・定量で測りたい」と願ってきた。

高感度技術の登場と“ダイナミクスの喪失”

微量タンパク質を測るために、

- ・ 質量分析
- ・ デジタル免疫測定
- ・ 電気化学発光免疫

といった高感度技術が登場した。

これらは確かに 感度は飛躍的に向上 したが、
その代償として “生体としてのダイナミクス(局在情報・動態)”を捨ててしまった。

質量分析

- ・ 抽出・均質化が必須
- ・ 局在情報(膜側／内腔側)も動態も消える
→ “生体のまま”的な情報は残らない



デジタル免疫測定・電気化学発光免疫

- ・ 均質な液体サンプルが前提
- ・ 細胞・膜・エクソソームなど“生体の構造物を含む実検体”は均質測定系を破綻させる
→ “生体の状態”をそのまま測れない



そこで必要だったのは“ELISAの進化形”

研究者が求めていたのは、

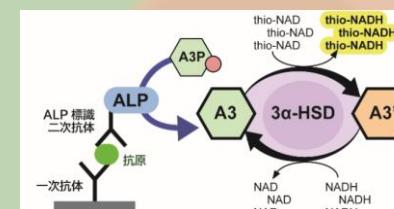
“**ELISAのように生体の状態を保ったまま、高感度技術のように極微量を定量できる**”
まったく新しい測定系。

- 生体由来の局在情報を保持したまま
- エクソソームの膜側／内腔側の局在情報を保持したまま
- 刺激前後の変化を追い
- 微量タンパク質を定量できる

この条件を満たす技術は、これまで存在しなかった。

TN-cyclon™

*ELISA
(Localization-preserved)*



*高感度免疫技術
(Sensitivity)*

生体ダイナミクス解析技術のマップ: どこにも属さなかった領域を埋めるTN-cyclon™

顕微鏡→ELISA→高感度免疫技術

この3つの技術は、それぞれ強みがある一方で、
“ダイナミクス × 局在情報 × 微量定量 × 多検体”
を同時に満たすことはできなかった。

TN-cyclon™は、
ELISAの局在情報保持と、
高感度免疫技術の微量定量性を両立し、
顕微鏡でしか見えなかつたダイナミクスを多検体で
定量化できる唯一の技術。

顕微鏡(Macroscopy)

- ・動態(Dynamics) ○
- ・局在情報(Localization) ○
- ・定量性(Quantitative) ✕
- ・多検体(Throughput) ✕

「局在情報は保てるが微量が見えない」

従来ELISA

- ・動態(Dynamics) △
- ・局在情報(Localization) ○
- ・定量性(Quantitative) ○
- ・感度(Sensitivity) △

「微量は見えるが局在情報が壊れる」

デジタル免疫測定・電気化学発光免疫

- ・動態(Dynamics) ✕
- ・局在情報(Localization) ✕
- ・定量性(Quantitative) ○
- ・感度(Sensitivity) ○

「唯一、ダイナミクス × 局在情報 × 微量 ×
多検体を同時に満たす」

TN-cyclon™(BioPhenoMA)

- ・動態(Dynamics) ○
- ・局在情報(Localization) ○
- ・定量性(Quantitative) ○
- ・感度(Sensitivity) ○
- ・多検体(High throughput) ○

TN-cyclon™ — 生体ダイナミクスを定量化する新しい免疫測定系

TN-cyclon™は、
“生体由来の局在情報を保持したまま極微量を測る”ために設計されたELISAの進化形。

TN-cyclon™の特徴

①生体由来の局在情報を保持したまま測定できる

- ・エクソソーム膜/内腔の局在情報を保持した分画サンプルをそのまま測定可能

② 極微量タンパク質を定量できる(0.1 pg/mLレベル)

- ・酵素サイクリングによる指數関数的増幅

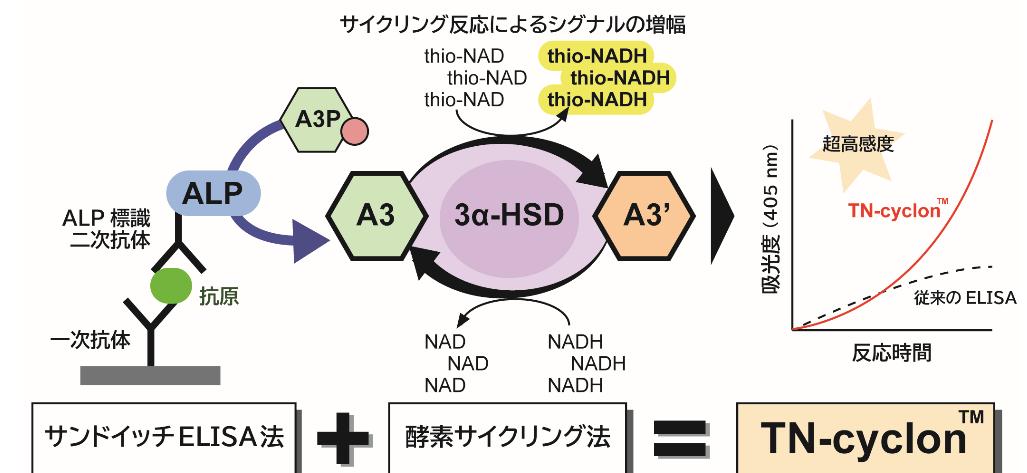
③ 一般ラボ設備で実施可能

- ・特殊装置不要
- ・再現性が高い

④ 多検体処理に適したフォーマット

- ・顕微鏡では不可能だった“n数のあるダイナミクス解析”が可能

“Localization-preserved × High sensitivity × High throughput”



*A3Pは当社独自基質

* 基幹特許取得済

(特許4904298号、5265816号、5500985、6960210号、及び関連の海外特許(US、EU、HK) 他出願中)

BioPhenoMAが提供する“ダイナミクス解析ワークフロー

BioPhenoMAはTN-cyclon™だけでなく、
生体ダイナミクスを測定するための一連のプロセスを提供できる唯一の企業。

ワークフロー

- ・ 検体前処理(尿・血液・喀痰・エクソソーム)
- ・ エクソソーム膜/内腔の分画(局在情報保持)
- ・ TN-cyclon™による極微量定量
- ・ 刺激前後・治療前後のダイナミクス解析
- ・ メカニズム解釈・共同研究設計



“From sample to mechanism”

研究事例①：がん × エクソソーム腫瘍マーカ

胃がん患者血清中エクソソームに含まれる **GRP78** を超高感度に定量し、その存在量が、がん細胞の性質や腫瘍進行作用と関連することを示した研究

【目的】：

- ・ エクソソーム内外の局在と病態進行の関係を明らかにしたい。

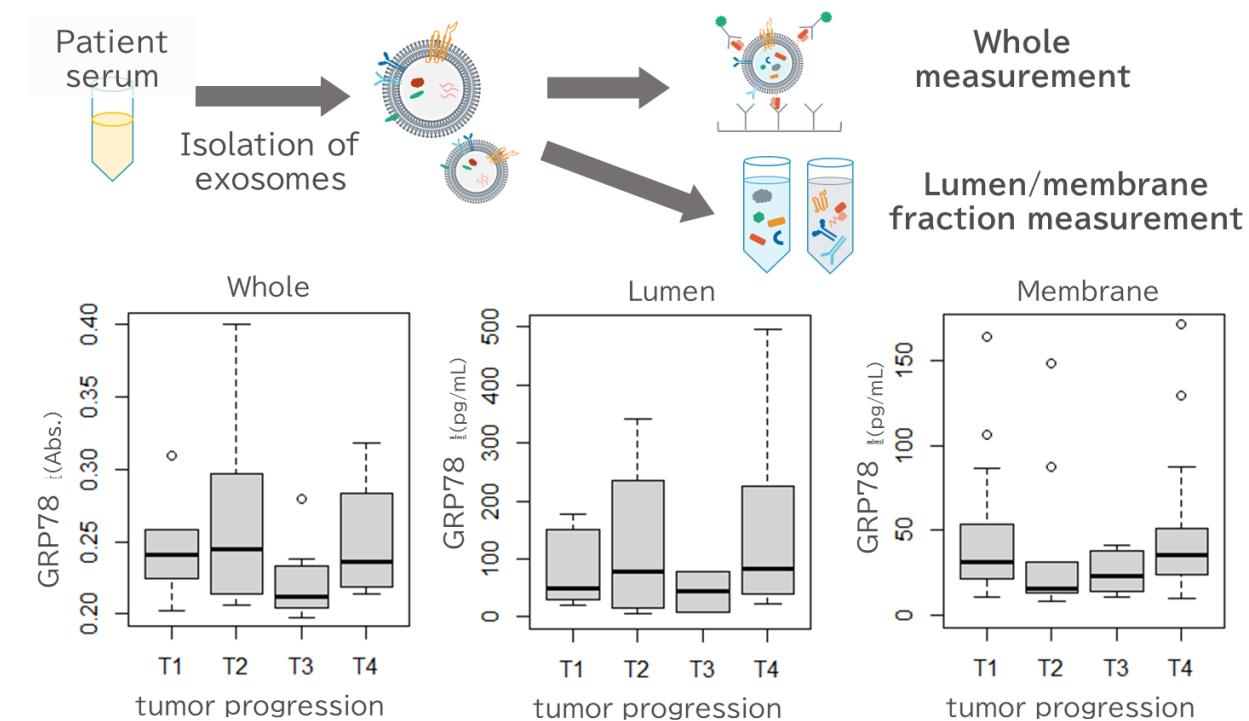
【実施内容】：

- ・ エクソソーム抽出⇒分画(膜/内腔)⇒TN-cyclon™
定量⇒ダイナミクス解析

【知見】：

- ・ エクソソーム内腔GRP78がステージ進行とともに増加
- ・ 抗がん剤投与後、GRP78高含有エクソソームが周囲細胞へ水平伝播
- ・ がん幹細胞化・血管新生を誘導
- ・ 治療抵抗性獲得のメカニズム解明に発展

⇒“エクソソーム膜/内腔の局在情報×微量×動態”を保持したまま解析できる唯一の技術。



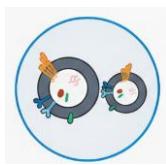
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2022.114831>

BioPhenoMAが選ばれる6つの典型ケース

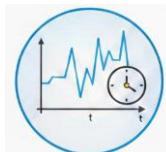
質量分析/高感度免疫で候補は出たが、実検体で再現しない



エクソソームマーカーの膜/内腔どちらが効いているか知りたい



Responder/Non-responderの理由を説明したい



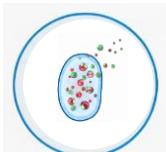
尿・喀痰など“構造物を含む実検体”で微量タンパク質を測りたい



CDx候補を“実検体で早期に”評価したい



エクソソーム× がん/CNSの新規テーマを作りたい



用途ベースのポジショニング

BioPhenoMAは“ダイナミクス × 局在情報保持× 微量”の領域を担う唯一の技術。

目的	顕微鏡	ELISA	高感度免疫	BioPhenoMA
局在観察	◎	×	×	○
動態観察	◎	△	×	○
微量定量	×	△	◎	○
局在情報保持	○	○	×	○
多検体処理	×	◎	◎	○

まとめ

BioPhenoMAは“実検体ダイナミクス解析”を唯一実現できるプラットフォーム

- 生体由来の局在情報を保持したまま極微量を定量
- 局在情報 × 微量 × 動態を同時に評価
- 顕微鏡で見えていた現象を、多検体・定量で捉える
- CDx候補の早期評価
- Responder/Non-responderのメカニズム解明
- エクソソーム×がん/CNSの新規テーマ創出

⇒ 研究者が本当に知りたかった“生体の動き”を、実検体で定量化できる唯一の技術。



誰もがどこでも簡単に「極微量タンパク質検出」を行える革新的プラットフォームを創生し、生物医学分野の更なる進歩に貢献する

<https://www.biophenoma.com/contact>

Appendix

既存技術の原理と限界(Why they fail for dynamics)

既存技術は「均質化」、「抽出」、「表面依存」を前提に設計されているため、膜側/内腔側の局在情報・時間変化が物理的に失われる。

① 質量分析(MS)

原理: 抽出 → 分解 → イオン化 → 質量検出

- ・ 抽出・均質化が必須
- ・ エクソソーム膜/内腔の局在情報は破壊
- ・ 時間変化は“抽出後の濃度差”しか見えない

⇒微量は見えるが、生体の状態は残らない
(Dynamics × / Localization ×)

② デジタル免疫測定

原理: 抗体固定ビーズ1粒ごとに発光をデジタルカウント

- ・ 均質液体サンプルが前提
- ・ 細胞・膜などの“構造物”がビーズ挙動を破綻させる
- ・ 前処理で構造が除去される

⇒微量は見えるが、局在情報は扱えない
(Dynamics × / Localization ×)

③ 電気化学発光免疫

原理: 電極表面で抗体固定 ⇒ 電極表面で発光検出

- ・ 電極表面が反応の舞台
- ・ エクソソーム・膜断片が電極を覆うと電子移動が阻害
- ・ 電極表面依存のため、測定原理が破綻

⇒高感度だが、局在情報は扱えない
(Dynamics × / Localization ×)

④ 一般ELISA

原理: 固相抗体 × 洗浄 × 発色

- ・ 構造物を含むサンプルでも測定可能
- ・ しかし感度が不足(pg/mL以下は困難)
- ・ エクソソーム内腔など極微量領域は検出不可

⇒局在情報保持はできるが、微量が見えない
(Dynamics △ / Sensitivity ×)

既存技術は「微量を測るために局在情報を捨てた」か、「局在情報を保つために微量を捨てた」。
その“ギャップ”を埋める技術が TN-cyclon™。

受託研究サービスの流れ：どの段階で区切っても依頼可能です

Case1：新規マーカ探索

- マッチドペア抗体・抗原、および検体サンプルをご提供下さい(抗体・抗原は当社でも探索可能です)

(例1)：マッチドペア抗体・抗原は持っているので、高感度測定系を組んで欲しい。

(例2)：ターゲットタンパク質は特定できているが、抗体候補はいくつかある。これらを用いて、マッチドペアを見つけ、系を組んで欲しい。

Case2：既存マーカの深掘り

- 検体サンプルをご提供下さい(抗体・抗原をご提供頂く形も対応可能です)

(例1)：プロテオミクス解析により複数の既存バイオマーカが疾患に関わっていると考えられる。これらの挙動を解析して欲しい。

(例2)：エクソソーム中に含まれる複数のバイオマーカが測定できる系(前処理～測定系)を組んで欲しい。その後、検体測定をして欲しい。

*受託研究サービスのフロー：どの段階で区切るかは柔軟に対応いたします。 ■お客様よりご提供、 ■当社で検討・実施 の内容となります



お客様自身でTN-cyclon™を試してみたいという場合は、研究用試薬キットを提供しておりますので、ご利用ください。

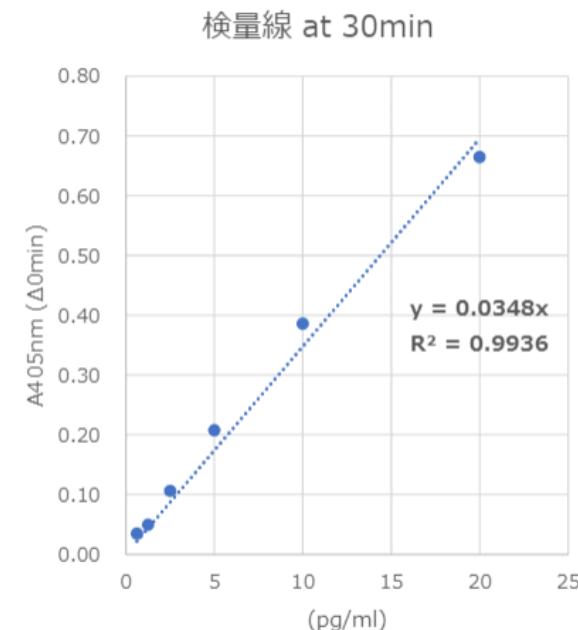
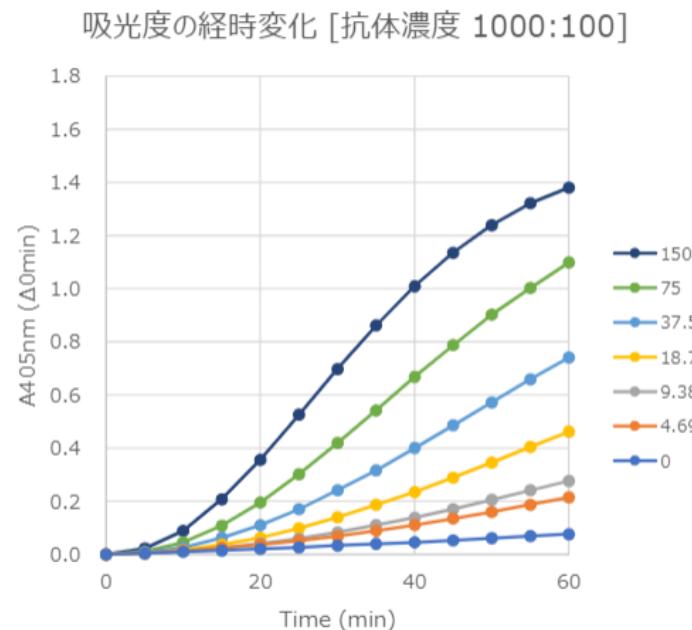
- PD-L1 TN-cyclon™ ELISAキット
- TN-cyclon™ ELISA 開発キット



TN-cyclon™ の測定例

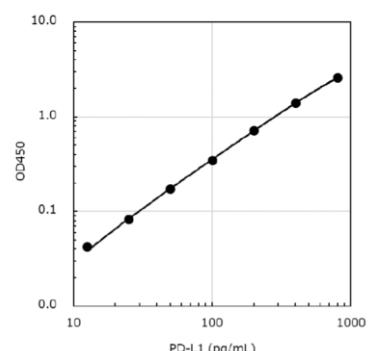
《PD-L1(免疫チェックポイント分子)の測定例》: 一般ラボ設備で0.1 pg/mLレベルの微量タンパク質を定量できます

- ・ブランクと十分なS/Nが取れていることを確認
- ・同一抗体を用いたHRP系ELISAと比較した際に**2桁以上の高感度化**を実現



抗体濃度 [1000:100]

時間 [分]	30
傾き	0.0348
決定係数	0.9936
blank_SD	0.0007
感度 [pg/mL]	0.041
検出限界 [pg/mL]	0.061
定量限界 [pg/mL]	0.203



(参考)
同一抗体を用いた
HRP系ELISAの検量線
【検出感度】:50 pg/mL
【検出限界】:1 pg/mL

Team



CSO (Chief Scientific Officer)
Co-Founder
伊藤 悅朗 Etsuro Ito

基幹技術である酵素サイクリング改良法の発明者の一人。
早稲田大学(物理学及応用物理学専攻、理学博士)を修了後、NIH(アメリカ国立衛生研究所)Visiting Fellow、北海道大学助教授、徳島文理大学教授を経て、早稲田大学 教育・総合科学学術院 教授(現職)。
株式会社BioPhenoMA CSOに就任。
日本動物学会・学会賞受賞(2017年)、日本比較生理化学会・学会賞受賞(2022年)



代表取締役社長
丹羽 大介 Daisuke Niwa

臨床検査、医療機器、医薬品領域等での研究開発・製品化の経験を持ち、ヘルスケア領域に強みを有する。早稲田大学大学院博士後期課程を修了後、早稲田大学 先端科学・健康医療融合研究機構 助手・講師、ローム株式会社、帝人ファーマ株式会社を経て、2022年より早稲田大学ベンチャーズ株式会社のパートナーに就任。現在、ヘルスケアほか数社の取締役・監査役を兼任。



Chief Scientist
志賀 葉月 Hatsuki Shiga

国プロなどの経験をもち、酵素サイクリング改良法に明るい試薬系のサイエンティスト。
北海道大学大学院(理学研究科生物科学専攻、博士(理学)を修了後、JBIC(一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム)嘱託研究員&特別研究員、福島県立医大助教、JBIC特別研究員を経て、BioPhenoMA Chief Scientistに就任。



Team Leader
山本のりこ Noriko Yamamoto

様々な業務を経験してきた薬剤師

調剤薬局、医薬品/医療機器等の代理店、化粧品/医薬部外品の総括を経験した後、BioPhenoMAへ入社。
これまでに培った幅広い分野での経験を活かし、現在は専門性をさらに深めています。



Technical Adviser
吉村 昭毅 Teruyuki Yoshimura

基幹技術である酵素サイクリング改良法の発明者の一人。

北海道大学大学院(薬学博士)を修了後東日本学園大学、ニューヨーク大学 メディカルセンター・客員研究員、北海道医療大学 准教授を経て、同大学教授(現職)

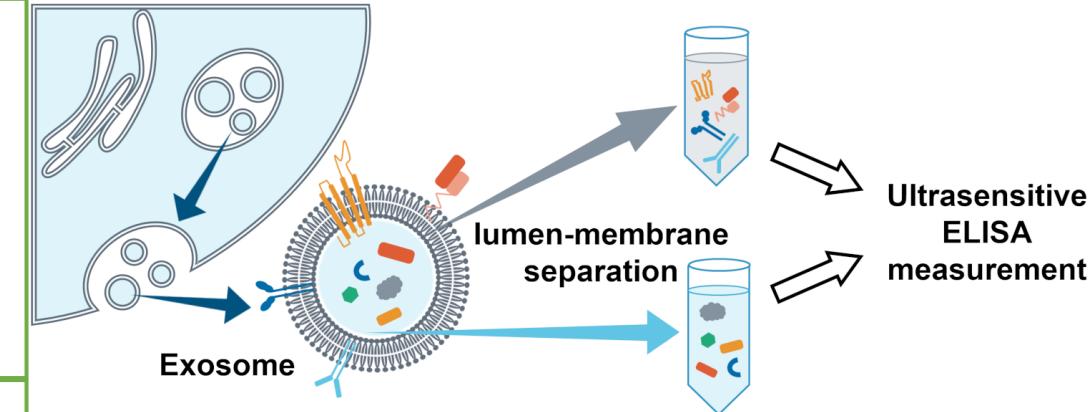
Appendix

エクソソーム×がん

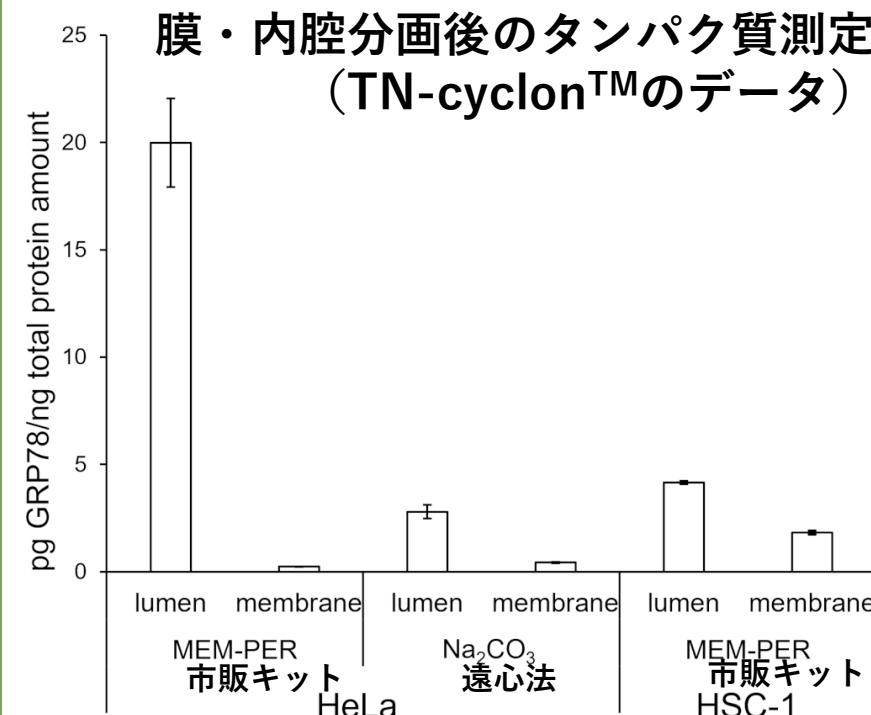
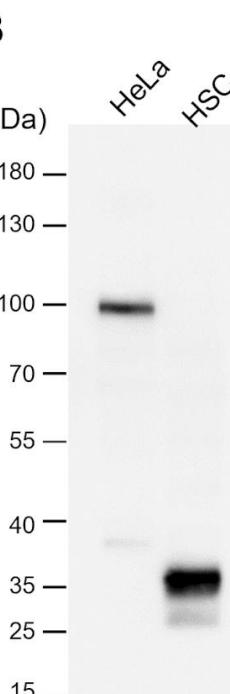
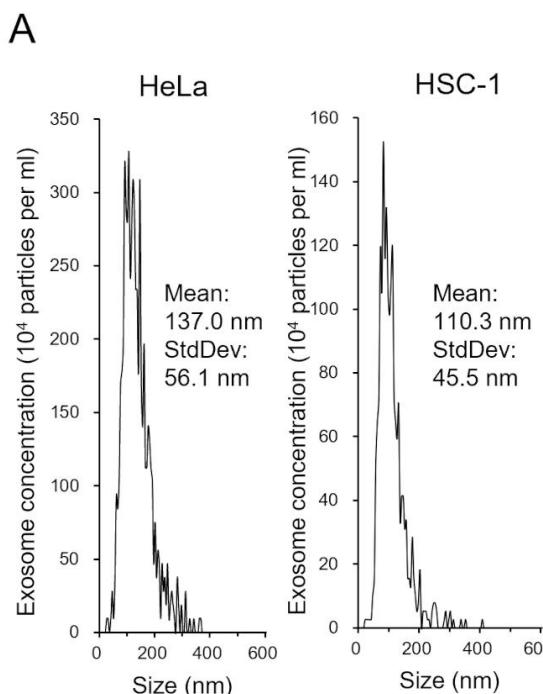
◆ エクソソームを膜・内腔分画してタンパク質の測定

(1) **エクソソーム回収**: 超遠心機利用による回収は、世界的に見た場合マイナー。かつ、収量が悪すぎる。我々は、市販キットを用いてエクソソームを回収している。エクソソームのサイズは別途確認する。仮にエクソソームの純度が低くてもELISAにおいて抗体を用いているので、標的タンパク質の特異性は確保できている。

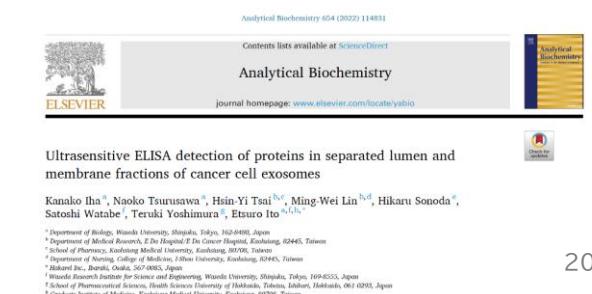
(2) **膜・内腔分画**: 細胞用の膜・内腔分画キットを用いて、膜のタンパク質と内腔のタンパク質を別々に分けて測定している。



エクソソームの回収



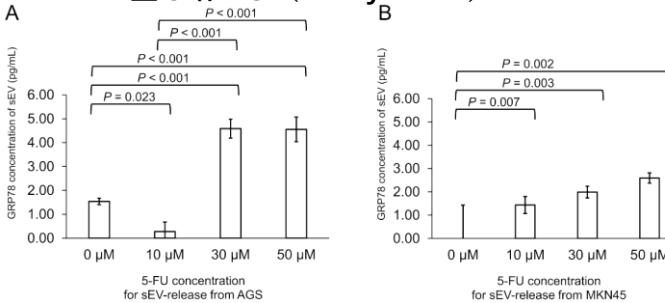
神経変性疾患（パーキンソン病やアルツハイマー病）の機構解明においても、現在エクソソームの役割に注目が集まっており、我々は国内外の企業から患者検体を用いた受託研究を受け、エクソソームでかつ分画して測定している。



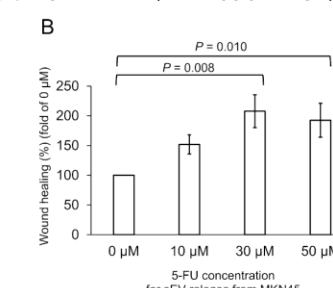
◆ 抗がん剤は増がん剤か？

- (1) エクソソームによる情報の水平伝播: 胃がん細胞に抗がん剤（5-FU）を投与すると、GRP78というタンパク質を多く含んだエクソソームが分泌される。周囲のがん細胞はこのエクソソームを受容する。
- (2) がん幹細胞化: GRP78を多く含むエクソソームを受容したがん細胞は、がん幹細胞化するようになる。すなわち、抗がん剤への耐性とともに、がんの悪化が確認される。
- (3) 血管新生: GRP78を多く含むエクソソームを受容した血管内皮細胞は血管を申請するようになる。すなわち、がん微小環境に血管を呼び込み始める。
- (4) 阻害剤の検討: GRP78ががんの悪化と関連することが明らかとなつて來たので、現在、その阻害剤を探索している。

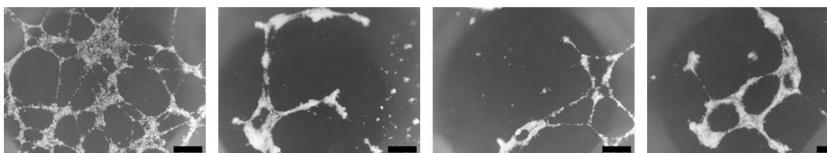
抗がん剤の投与量が増えるとエクソソームに含まれるGRP78の量も増える (TN-cyclon™)



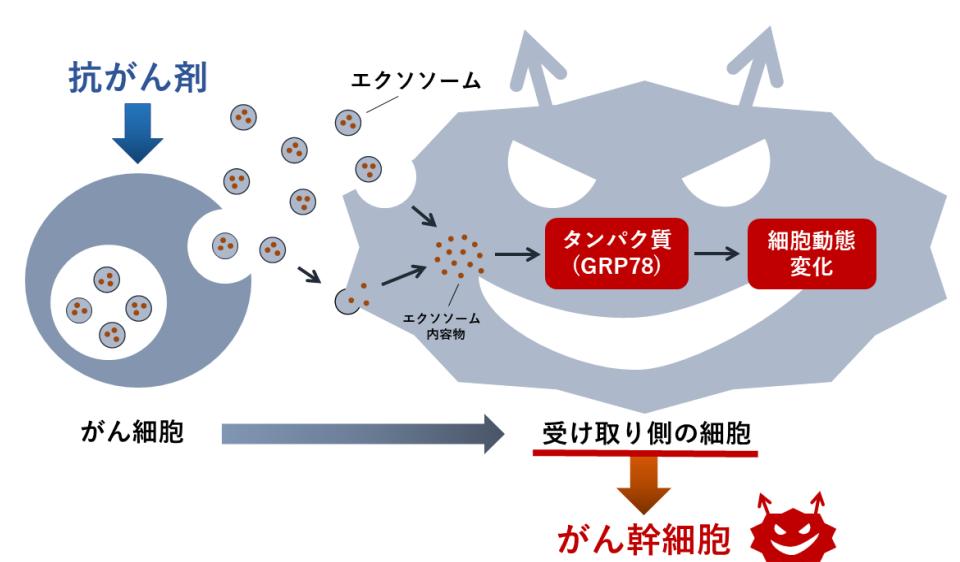
高投与量の抗がん剤で得られたエクソソームを他の細胞に投与すると、細胞の移動度が高まる (がん幹細胞化)



A OE KD Mock Vehicle



GRP78を多く含むエクソソームを血管内皮細胞に投与すると（一番左がGRP78を多く含んでいる）、血管新生が認められる。



Citation: Tsurusawa, N.; Iha, K.; Sato, A.; Tsai, H.-Y.; Sonoda, H.; Watabe, S.; Yoshimura, T.; Wu, D.-C.; Lin, M.-W.; Ito, E. Ultrasensitive Detection of GRP78 in Exosomes and Observation of Migration and Proliferation of Cancer Cells by Application of GRP78-Containing Exosomes. *Cancers* 2022, 14, 3887. <https://doi.org/10.3390/cancers14163887>

cancers



Article
Ultrasensitive Detection of GRP78 in Exosomes and Observation of Migration and Proliferation of Cancer Cells by Application of GRP78-Containing Exosomes

Naoko Tsurusawa ¹, Kanako Iha ¹, Akane Sato ¹, Hsin-Yi Tsai ^{2,3}, Hikaru Sonoda ⁴, Satoshi Watabe ⁵, Teruki Yoshimura ⁶, Deng-Chyang Wu ^{2,3}, Ming-Wei Lin ^{2,3,*} and Etsuro Ito ^{1,3,6,*}

current issues in molecular biology



Article
Gastric Cancer Cell-Derived Exosomal GRP78 Enhances Angiogenesis upon Stimulation of Vascular Endothelial Cells

Kanako Iha ¹, Akane Sato ¹, Hsin-Yi Tsai ^{2,3}, Hikaru Sonoda ⁴, Satoshi Watabe ⁵, Teruki Yoshimura ⁶, Ming-Wei Lin ^{2,7,8,*} and Etsuro Ito ^{1,5,9,*}

Citation: Iha, K.; Sato, A.; Tsai, H.-Y.; Sonoda, H.; Watabe, S.; Yoshimura, T.; Lin, M.-W.; Ito, E. Gastric Cancer Cell-Derived Exosomal GRP78 Enhances Angiogenesis upon Stimulation of Vascular Endothelial Cells. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2022, 44, 6145–6157. <https://doi.org/10.3390/cimb44120419>

Appendix

感染症

研究事例②：感染症(結核)（前処理法開発×タンパク質マーカ）

生菌由来タンパク質による迅速な治療効果判定を示した研究

【目的】：

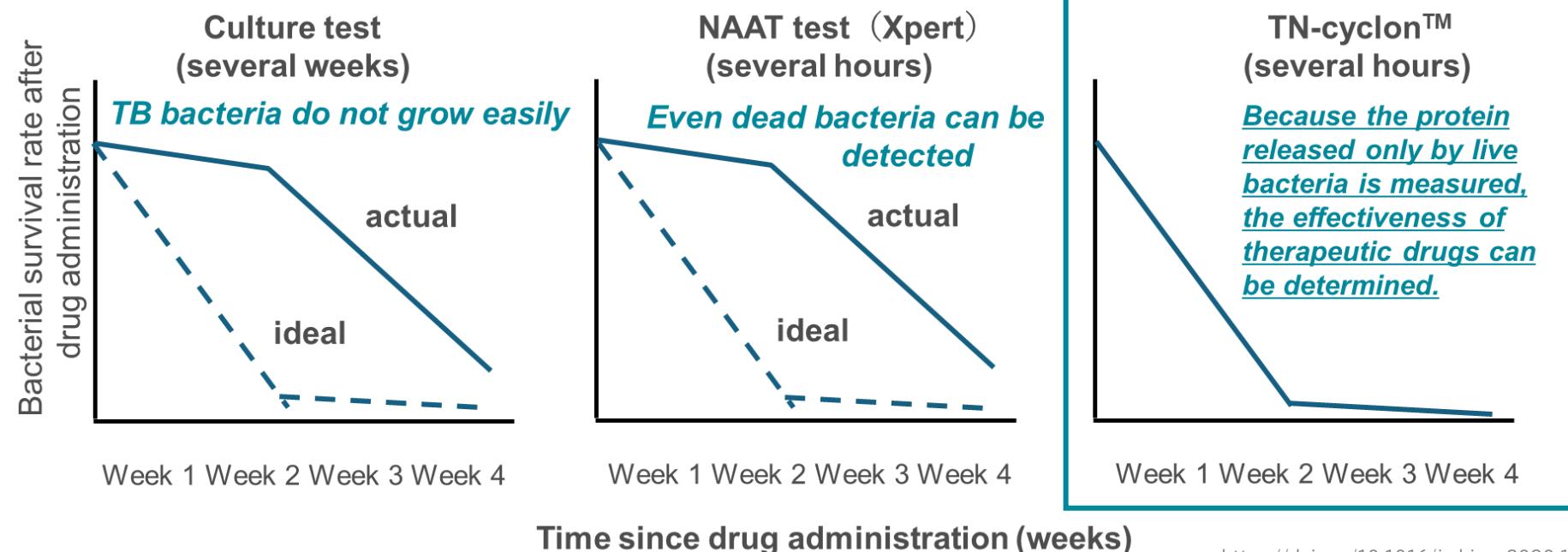
- 生菌の治療応答(結核菌が死滅したか)を迅速に判定したい。

【実施内容】：

- 前処理法の開発⇒微量タンパク質検出

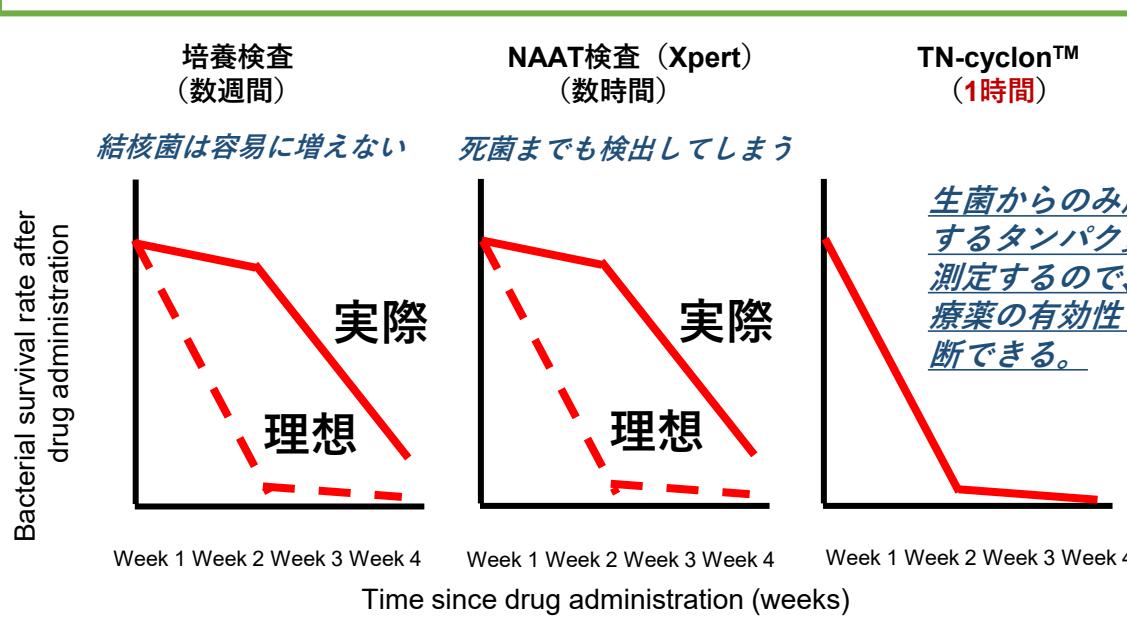
【知見】：

- 生菌由来タンパク質で治療効果を数時間で判定。



◆ 結核：TN-cyclon™による結核(TB)検査

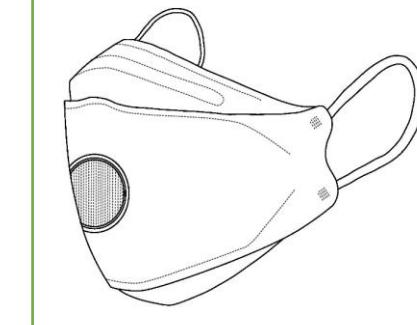
- (1) **培養検査**: 信頼性は高いが、診断には **10日から6週間**という長い期間を要する。現在でも**確定診断**。
- (2) **塗抹検査**: 即日検査として有用である。しかし、**感度や特異度が十分ではない**ため、スクリーニング検査として使用すべきである。
- (3) **NAAT検査**: 即日検査として有用である。しかし、高価な装置と複雑なプロトコールが必要、エアコンが効いた部屋も必要。さらに、培養検査よりも感度が低いため、PCR検査では陽性患者が見つからないリスクがある。さらには、死菌も検出してしまう。
- (4) **TN-cyclon™**: タンパク質MPT-64をターゲットとして測定。1時間で培養検査と同じ感度での測定可能。タンパク質の測定なので**生菌のみを検出**。



TN-cyclon™によるMPT-64の1時間測定の結果

blank	0.0703			
SD	0.0005			
3 SD	0.0014	10SD	0.005	
検出限界 (pg/mL)	0.058	定量限界 (pg/mL)	0.194	
検出限界 (moles/assay)	2.33×10^{-19}	定量限界 (moles/assay)	7.78×10^{-19}	

水溶性フィルターをマスクに付け、そこに呼気エアロゾルに含まれる結核菌を吸着させる。



水溶性フィルターを超音波破碎し、遠心で結核菌を集める。

何分間、患者さんがマスクを装着しなければならないかは今後の課題。

EBioMedicine 62 (2020) 101117

Contents lists available at ScienceDirect
EBioMedicine
journal homepage: www.elsevier.com/locate/ebiom

EBioMedicine 62 (2020) 101117
Contents lists available at ScienceDirect
EBioMedicine
journal homepage: www.elsevier.com/locate/ebiom

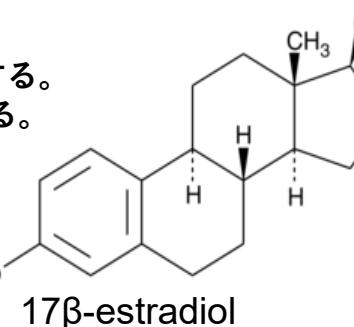
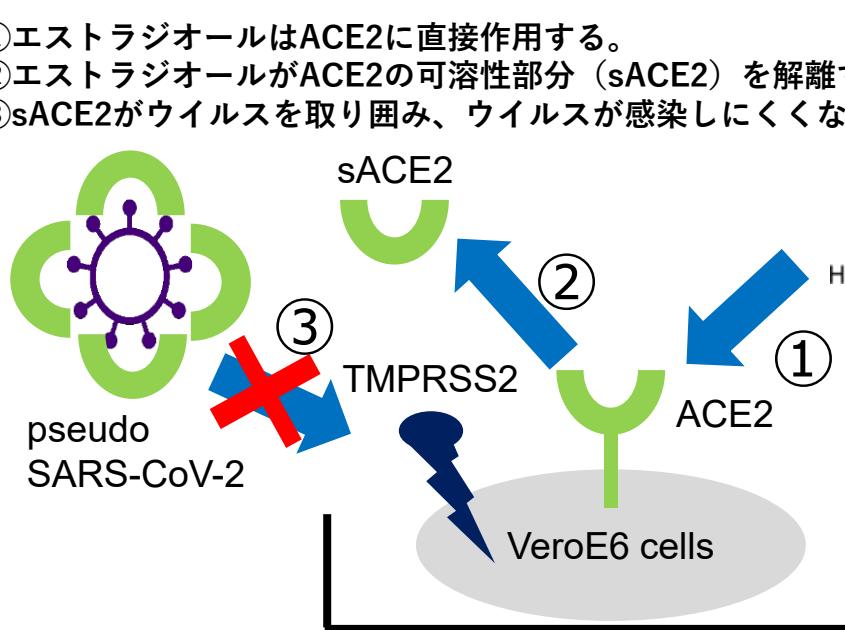
Commentary
Culture-free proof of *Mycobacterium tuberculosis* - a new assay for viable bacteria
Jan Heyckendorf^{1,2}, Stephen H. Gillespie³, Morten Ruhwald⁴
¹ Department of Clinical Microbiology, University Center Borstel, Borstel, Germany
² German Center for Infection Research (GCRI), Germany
³ School of Medicine, University of St Andrews, St Andrews UK
⁴ Foundations of Innovative new diagnostics, Geneva, CH Switzerland

Wen-Hung Wang^{a,1}, Rikiya Takeuchi^{b,1}, Shu-Huei Jain^c, Yong-Huang Jiang^d,
Sonoko Watanuki^e, Yoko Kuroki Ohtaki^f, Kazunari Nakaiishi^g, Satoshi Watabe^{g,f},
Po-Liang Lu^{a,h,i}, Etsuro Ito^{a,j}
^a Department of Internal Medicine, Division of General Internal Medicine, Kaohsiung Medical University Hospital, 100 TzuYi 1st Rd, Kaohsiung 80756, Taiwan
^b Bio-Diagnostics, DAUN Laboratories, Inc., 761-1 Kamishirane, Izumi-machi, Miyazaki 880-2225, Japan
^c Division of Clinical Microbiology, Department of Pathology, Kaohsiung Medical University Hospital, 100 TzuYi 1st Rd, Kaohsiung 80756, Taiwan
^d College of Medicine, Kaohsiung Medical University, 100 Tzu-Yi 1st Rd, Kaohsiung 80756, Taiwan
^e Graduate Institute of Medicine, Kaohsiung Medical University, 100 Tzu-Yi 1st Rd, Kaohsiung 80756, Taiwan
^f Department of Biology, Nipissui University, 2-2 Ushimado, Shinjuku, Tokyo 162-8480, Japan

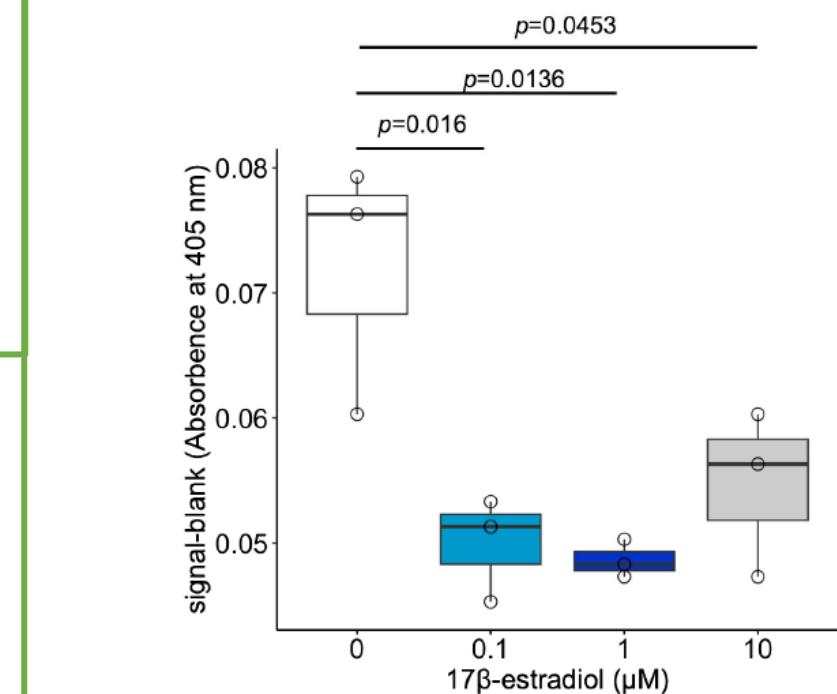
◆ なぜ女性は新型コロナに対する罹患率が低いのか？

- (1) **どの人種でも女性の方が罹患率が低い**: アメリカの調査結果では、アジア系でも黒人でも白人でも、女性が新型コロナに罹患する確率は男性に比べて低かった。
- (2) **女性ホルモンの影響**: 食べ物や喫煙などいろいろな因子が考えられるが、我々は女性ホルモン（エストラジオール）の作用に着目した。
- (3) **ACE2の可溶性部位をエストラジオールが解離**: 新型コロナウイルスはそのスパイクタンパク質がACE2に結合することで、感染を引き起こす。TN-cyclon™を用いて研究を重ねた結果、エストラジオールがACE2の可溶性部位（sACE2）を解離させ、かつ解離したsACE2がウイルスのスパイクタンパク質に結合することで、感染しにくくなることが判明した。

- ①エストラジオールはACE2に直接作用する。
- ②エストラジオールがACE2の可溶性部分（sACE2）を解離する。
- ③sACE2がウイルスを取り囲み、ウイルスが感染しにくくなる。



エストラジオールの作用により、sACE2が解離してウイルスを取り囲み、結果、スパイクタンパク質の量が減少している。（TN-cyclon™による測定）



1842

Biol. Pharm. Bull. **46**, 1842–1845 (2023)

Vol. 46, No. 12

Note

Removal of Soluble ACE2 in VeroE6 Cells by 17 β -Estradiol Reduces SARS-CoV-2 Infectivity

Yuta Kyosei,^a Teruki Yoshimura,^b and Etsuro Ito^{*a,c}

^aDepartment of Biology, Waseda University, 2-2 Wakamatsu-cho, Shinjuku, Tokyo 162-8480, Japan; ^bSchool of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido, 1757 Kanazawa, Tobetsu-cho, Ishikari-gun, Hokkaido 061-0293, Japan; and ^cGraduate Institute of Medicine, Kaohsiung Medical University, No. 100, Shih-Chuan 1st Rd., Sanmin, Kaohsiung 80708, Taiwan.

Received August 22, 2023; accepted October 17, 2023; advance publication released online October 21, 2023

Appendix

非侵襲測定

研究事例③：代謝(尿中アディポネクチン)（尿検体×健常者の閾値決定）

尿中アディポネクチンを測定し、その濃度が糖尿病性腎症によるCKDの進行度と強く相関する新しい診断指標になり得ることを示した研究

【目的】：

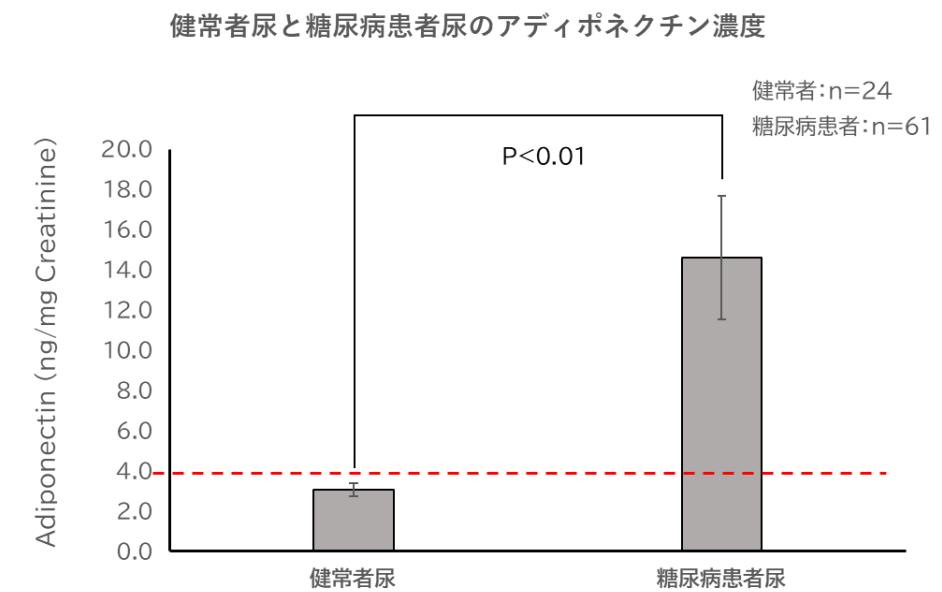
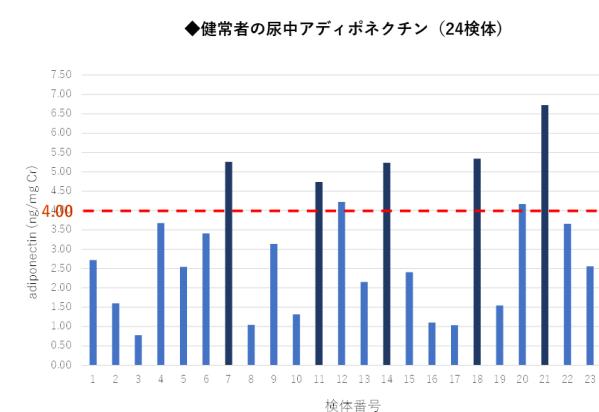
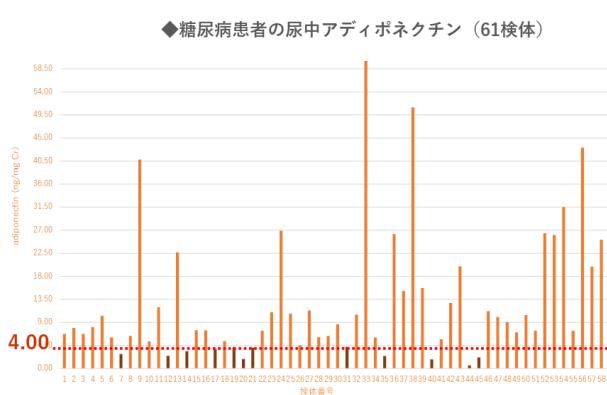
- 尿中微量タンパク質の臨床的意義を評価したい。

【実施内容】：

- 高感度定量→閾値設定

【知見】：

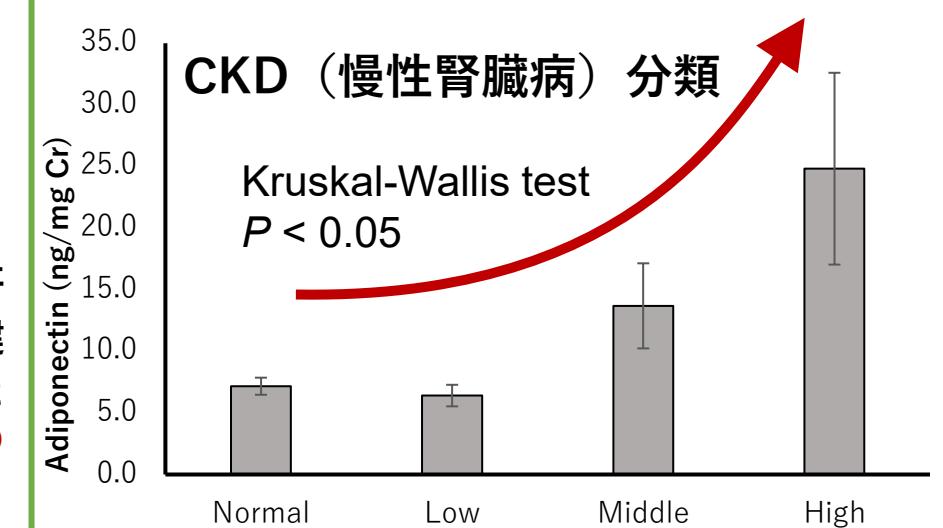
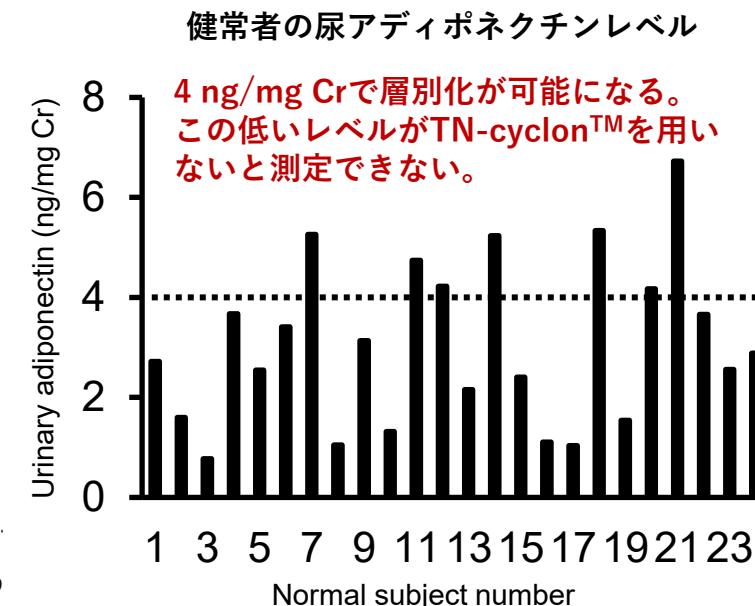
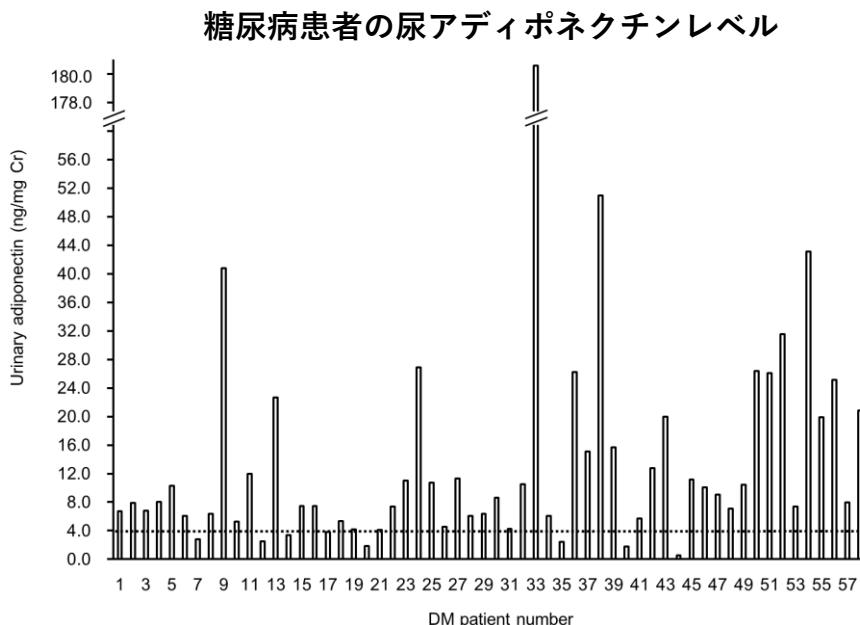
- 尿中アディポネクチンがCKD進行度と強く相関。



◆ アディポネクチン：測れなかったものを測る

(1) **超高感度測定は何をもたらすのか:** 病気が進んでから、特定のタンパク質レベルが上がっているのを確認できても遅い。超高感度測定(TN-cyclon™)は健常者の低いレベルを測定可能にする。

(2) **尿中アディポネクチンの挙動:** 血中のアディポネクチンは善玉ホルモンと呼ばれ、健常者ではそのレベルが高く、肥満・糖尿病になると下がる。すなわち生活習慣病の良いマーカーである。一方、伊藤らの研究によると、尿中のアディポネクチンは逆の挙動を示す。すなわち、健常者では極めて低く、糖尿病による腎障害が進行すると上昇する。したがって、尿中のアディポネクチン・レベルを測定すると、**生活習慣病の悪化**が分かることになる。



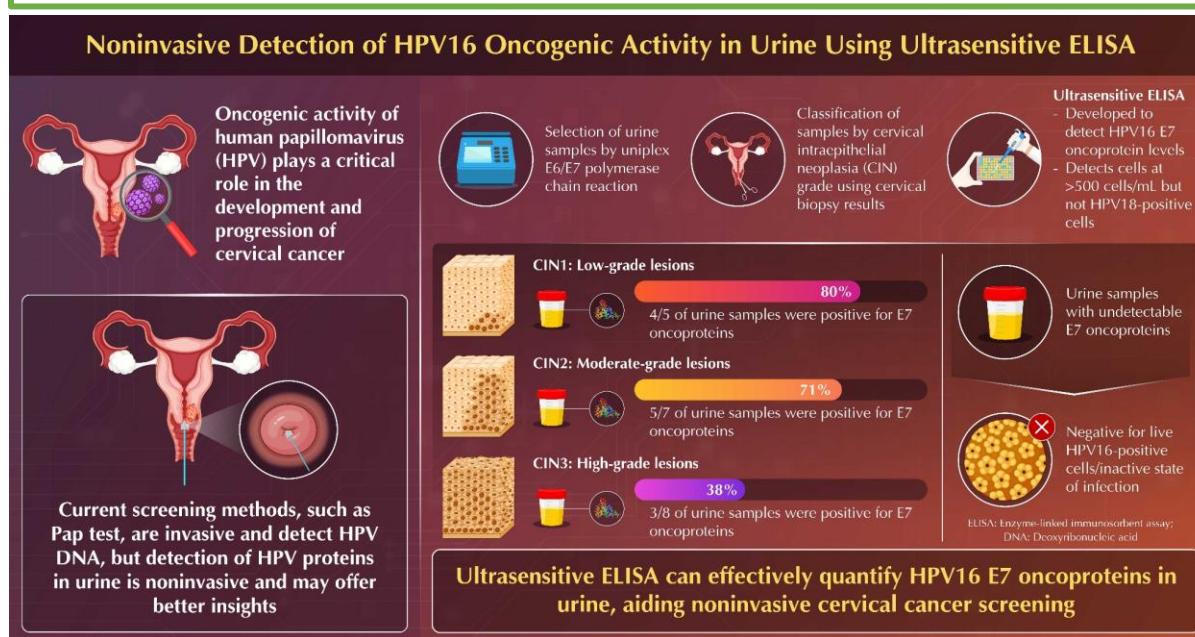
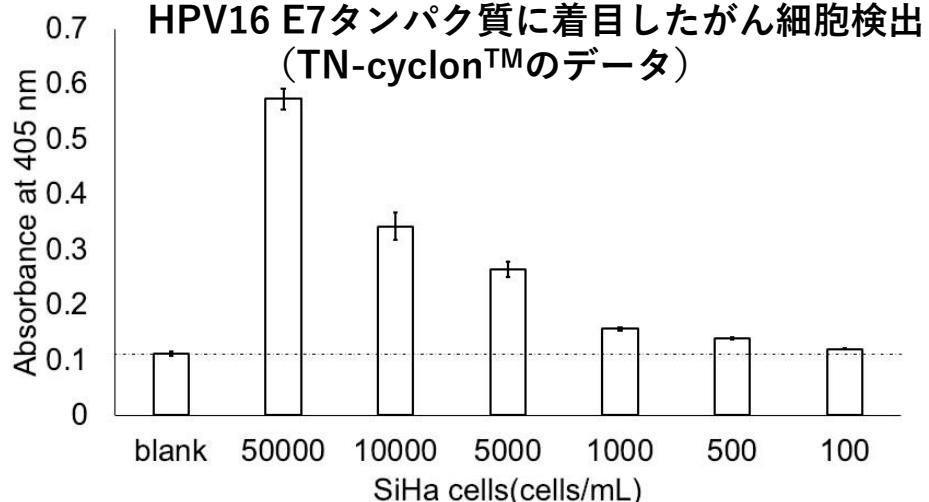
		尿中ALB (mg/g Cr)	A1	A2	A3
GFR区分 (ml/分 /1.73m ²)	G1	≥90	Normal	Low	High
	G2	60～89			
	G3a	45～59			
	G3b	30～44			
	G4	15～29			
	G5	<15			

To cite: Yamakado S, Cho H, Inada M, et al. Urinary adiponectin as a new diagnostic index for chronic kidney disease due to diabetic nephropathy. *BMJ Open Diab Res Care* 2019;7:e000661. doi:10.1136/bmjdrc-2019-000661

Shinrousu Yamakado,¹ Hiroki Cho,¹ Mikio Inada,¹ Mika Morikawa,² Yong-Huang Jiang,² Kenji Saito,² Kazunari Nakashita,² Satoshi Watabe,² Hitomi Takagi,² Mugihito Kaneda,³ Akira Nakatsuwa,³ Masaki Ninomiya,³ Hitomi Imachi,⁴ Takeshi Arai,⁴ Takuji Yoshimoto,⁴ Koji Murase,⁴ Jyun-Han Chang,⁵ Shih-Min Chen,⁶ Yi-Chen Shih,⁶ Min-Jing Zeng,⁶ Liang-Yin Ke,⁶ Chu-Huang Chen,⁶ Teruki Yoshimura,⁷ Toshiaki Miura,⁷ Etsuro Ito^{1,8}

◆ 尿で子宮頸がんを検診

- (1) **子宮頸がん:** 子宮頸がんは「がん」であると同時に「感染症」でもあり、グローバルヘルスでも撲滅が叫ばれている。
- (2) **高いハードル:** ワクチンと検診で子宮頸がんを予防できるとされているが、未婚の女性にとって、婦人科での検診はハードルが高く、どうにかその低減を考えなければならない。
- (3) **尿検査:** 少量の ori ものは常に尿に混じる。そこで、子宮頸部のがん細胞も尿に混じることが予想され、尿を検査することで、子宮頸がんの検診が可能になる可能性に着目した。
- (4) **HPVの高リスクタイプ:** 子宮頸がんの主因はHPV感染であり、中でも高リスクタイプのHPV 16型に着目した。



- HPV16陽性で前がん状態が初期のCIN1患者の尿検体では80%で、CIN2患者の尿検体では71%で、およびCIN3患者の尿検体では38%で確認できた。
- 病院に行って医師に診てもらう検診よりも、自分で尿を採取し提出することのほうが抵抗は少なく、検診のハードルが下がれば、子宮頸がん撲滅の糸口となる。



Article Quantification of HPV16 E7 Oncoproteins in Urine Specimens from Women with Cervical Intraepithelial Neoplasia

Daiki Makioka ^{1,4}, Mikio Inada ^{1,4}, Masayuki Awano ¹, Ema Saito ¹, Takuya Shinoda ¹, Satoko Abe ¹, Teruki Yoshimura ², Martin Müller ³, Toshiyuki Sasagawa ^{4,*} and Etsuro Ito ^{1,5,*}

Citation: Makioka, D.; Inada, M.; Awano, M.; Saito, E.; Shinoda, T.; Abe, S.; Yoshimura, T.; Müller, M.; Sasagawa, T.; Ito, E. Quantification of HPV16 E7 Oncoproteins in Urine Specimens from Women with Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Microorganisms* **2024**, *12*, 1205. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12061205>

Appendix

論文リスト

研究実績(論文): 実検体でのメカニズム解析に特化した多数の実績があります

【マラリア】

Ultrasensitive ELISA for Accurate Detection of Plasmodium falciparum Infection
Open Forum Infectious Diseases, Volume 12, Issue 12, 2025, ofaf711, <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaf711>

【がん及び感染症(GRP78)】

GRP78: A Multifaceted Role in Cancer Progression and Infectious Disease Transmission
Journal of Cellular Immunology 2025, 7(1), 9-13, <https://doi.org/10.3369/immunology.7.217>

【呼吸器感染症(インフルエンザ等)】

Ultrasensitive protein-level detection for respiratory infectious viruses.
Frontiers in Immunology 2024, 15(12), 1445771., <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1445771>

【子宮頸がん】

Quantification of HPV16 E7 Oncoproteins in Urine Specimens from Women with Cervical Intraepithelial Neoplasia,
Microorganisms 2024, 12(6), 1205, <https://www.mdpi.com/2076-2607/12/6/1205>

【デング熱】

Advanced detection method for dengue NS1 protein using ultrasensitive ELISA with thio-NAD cycling.
Viruses, 2023, 15(9), 1894., <https://doi.org/10.3390/v15091894>

【胃がん(EV)】

Gastric cancer cell-derived exosomal GRP78 enhances angiogenesis upon stimulation of vascular endothelial cells.
Current Issues in Molecular Biology, 2022, 44(12), 6145-6157., <https://doi.org/10.3390/cimb44120419>

【SARS-CoV-2スパイクタンパク質】

Ultrasensitive detection of SARS-CoV-2 spike proteins using the thio-NAD cycling reaction: A preliminary study before clinical trials.
Microorganisms, 2021, 9(11), 2214., <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112214>

【結核】

A novel, rapid (within hours) culture-free diagnostic method for detecting live Mycobacterium tuberculosis with high sensitivity.
EBioMedicine, 2020, 60, 103007. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.103007>

【アディポネクチン】

Urinary adiponectin as a new diagnostic index for chronic kidney disease due to diabetic nephropathy.
BMJ Open Diabetes Research & Care, 2019, 7(1), e000661. <https://doi.org/10.1136/bmjdrc-2019-000661>