

アスパラギナーゼ活性および抗アスパラギナーゼ抗体測定系の開発

急性リンパ芽球性白血病の治療薬

アスパラギナーゼ(L-アスパラギナーゼ; L-ASP)は L-アスパラギンをアスパラギン酸へ加水分解する酵素です。L-アスパラギナーゼ製剤であるロイナーゼ(協和発酵キリン)は急性リンパ芽球性白血病(ALL)の抗悪性腫瘍酵素製剤として認可されている治療薬です。L-アスパラギナーゼは血中の L-アスパラギンを分解し、アスパラギン要求性の腫瘍細胞を栄養欠乏状態にすることで、抗悪性瘍効果を発揮します¹⁻³。

日本における唯一の L-アスパラギナーゼ承認薬であるロイナーゼは大腸菌(*E. coli*)由来のものです。このため、L-アスパラギナーゼ投与は異種タンパク質の侵入であり、抗 L-アスパラギナーゼ抗体産生の起因となります。抗アスパラギナーゼ抗体産生はアナフィラキシーなどのアレルギー症状による投薬の中断や中和抗体産生による L-アスパラギナーゼ酵素活性の不活性化を引き起こし、治療効果を減弱させる結果となります。海外ではロイナーゼの代替薬として *Erwinia chrysanthemi* 由来の L-アスパラギナーゼ製剤が使用されています(日本では「アーウィナーゼ」大原薬品工業が承認)。

上記のような治療経過を観察するアスパラギナーゼ活性や抗アスパラギナーゼ抗体の測定は、これまで臨床研究に留まり、臨床検査としての測定法は国内に存在していませんでした。

アスパラギナーゼ酵素活性

BMLでは、Fernandezら⁴の方法を参考に、生化学自動分析機にて測定できる酵素学的測定法を構築しました(図1)。すなわち、L-アスパラギンは L-ASP により L-アスパラギン酸、およびアンモニアに分解される。さらに、生成した L-アスパラギン酸と 2-オキソグルタル酸を L-グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)の存在下で反応させ、オキサロ酢酸、および L-グルタミン酸を生成させます。生成したオキサロ酢酸は還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NADH)とリンゴ酸デヒドロゲナーゼ(MDH)の存在下で反応させ、リンゴ酸および酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD⁺)を生成させます。NADH の酸化による吸光度(波長 340 nm)の変化量から L-ASP 活性値を算出します⁵。

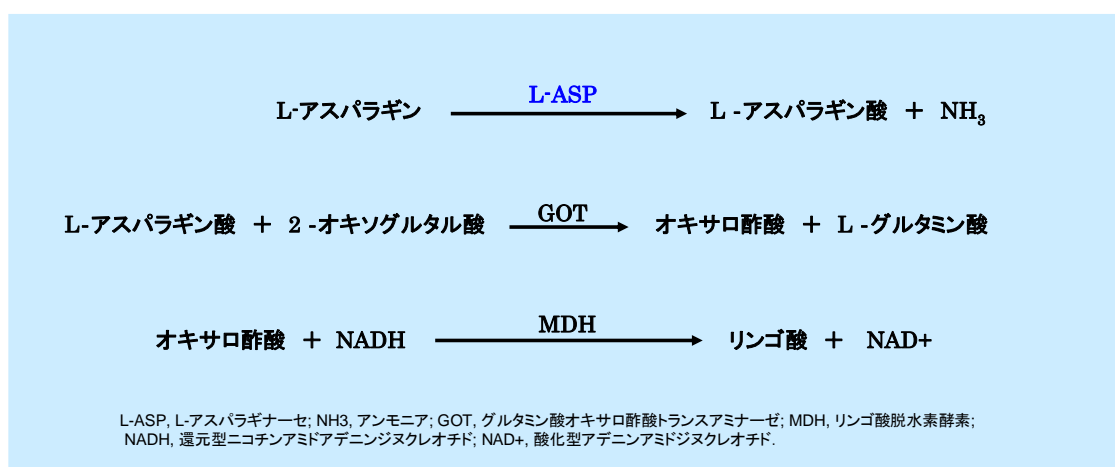


図1 アスパラギナーゼ酵素活性の測定原理

抗アスパラギナーゼ抗体測定

BMLでは蛍光酵素免疫測定法(FEIA)による抗アスパラギナーゼIgG抗体測定法を開発しました。本法の測定原理は、L-ASPを結合した支持体上で検体中の特異的IgG抗体と反応させると、L-ASP-特異的IgG抗体複合体が形成されます。この複合体に酵素標識抗IgG抗体を加えると、特異的IgG抗体と反応し、L-ASP-特異的IgG抗体-酵素標識抗IgG抗体複合体が形成され、さらに基質液を加え、複合体中の酵素量に比例した蛍光物質の蛍光量から特異的IgG抗体量を測定します。

参考文献

1. Silverman LB, Gelber RD, Dalton VK, Asselin BL, Barr RD, Clavell LA, Hurwitz CA, Moghrabi A, Samson Y, Schorin MA, Arkin S, Declerck L, Cohen HJ, Sallan SE. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Consortium Protocol 91-01. *Blood* 2001 Mar1;**97**(5):1211-8.
2. Clavell LA, Kelly KM, Kutok JL, Laverdière C, Lipshultz SE, Michon B, Schorin M, Relling MV, Cohen HJ, Neuberg DS, Sallan SE, Silverman LB. Postinduction dexamethasone and individualized dosing of Escherichia Coli L-asparaginase each improve outcome of children and adolescents with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia: results from a randomized study--Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium Protocol 00-01. *J Clin Oncol*. 2013;**31**(9):1202-10.
3. Panosyan EH, Seibel NL, Martin-Aragon S, Gaynon PS, Avramis IA, Sather H, Franklin J, Nachman J, Ettinger LJ, La M, Steiner P, Cohen LJ, Siegel SE, Avramis VI; Children's Cancer Group Study CCG-1961. Asparaginase antibody and asparaginase activity in children with higher-risk acute lymphoblastic leukemia: Children's Cancer Group Study CCG-1961. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2004 Apr;**26**(4):217-26.
4. Fernandez CA, Cai X, Elozory A, Liu C, Panetta JC, Jeha S, Molinelli AR, Relling MV. High-throughput asparaginase activity assay in serum of children with leukemia. *Int J Clin Exp Med*. 2013;**6**(7):478-487
5. 横須賀とも子, 下之段秀美, 康勝義, 慶野大, 中尾朋平, 坂口公祥, 牛腸義弘, 鯨岡健. O5-1-1 急性リンパ性白血病における L-asparaginase 活性の測定法の構築. 第 57 回日本小児血液・がん学会学術集会抄録集, 2015;**52**(4):p234.

2017.03 作成