

〈新技術特集〉

レクチンを利用した新規マーカー：M2BPGiについて

福田 滋弘

M2BPGi (Mac-2 binding protein glycosylation isomer), a lectin-based novel marker

Shigehiro Fukuda

Summary M2BPGi is a novel marker that uses WFA lectin and antibodies. It is a serum marker that reflects the progression of liver fibrosis. It has been approved as an in-vitro diagnostic reagent and is currently used to assist diagnosis of liver fibrosis progression. It has also been shown that the serum level of this marker changes with severity of liver fibrosis caused by hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), nonalcoholic fatty liver diseases (NAFLD), and nonalcoholic steatohepatitis (NASH), as well as that caused by autoimmune hepatitis and biliary atresia. It is a serum test item that can be used to assess fibrosis of the organ, which could be done conventionally only by biopsy. The future development of this marker is awaited with high expectations.

Key words: M2BPGi, WFA, Lectin, Liver fibrosis, Glycan

I. はじめに

抗体は、その特異性の高さと非共有結合でありながら強い結合力を有する蛋白として、多くの生体試料中微量成分の分析に応用されている。抗体自身は、モノクローナル化やファージディスプレイ法等の技術が確立しており、蛋白原料として安定的な入手が可能となっている^{1)~7)}。抗体が認識する物質、主としてタンパク質であるが、蛋白だけでなく、糖鎖や糖と蛋白などを複合的に認識する抗体も知られている。

糖鎖を認識することで臨床的価値を有している検査項目は多くあり、最も広く用いられてい

るのはHbA1c、GA（グリコアルブミン）に代表される血中の糖化蛋白を測定することで得られる糖尿病診断項目である。血中に分泌されたタンパク質は、血中で存在している間に糖付加による糖化を受けていく。糖化の程度はその蛋白の血中での半減期とその時の平均的な血糖値に依存しているため、蛋白の種類によってどの程度の期間の血糖値を反映するかが決まっており、糖尿病の病態把握に非常に有用な検査項目となっている。

HbA1cは現在ではHPLC法、酵素法、イムノアッセイの原理で測定が行われており、イムノアッセイではヘモグロビンのN末に付加した糖を含むペプチドがエピトープとして認識されて

シスメックス株式会社 福田滋弘
〒651-2241 兵庫県神戸市西区室谷1丁目3番地の2
TEL : 078-991-2798
FAX : 078-992-5842
E-mail: Fukuda.Shigehiro@sysmex.com

Sysmex Corporation Shigehiro Fukuda
1-3-2 Murotani , Nishi-ku , Kobe 651-2241, Japan
Tel 81-78-991-2798
Fax 81-78-992-5842

いる。

様々な原理で測定されているHbA1cであるが、現在はIFCCが標準測定法(HPLC-MS)を確立し、SI単位にトレーサブルな検査項目となっており、世界的なハーモナイゼーションが進んできていることはよく知られている⁸⁾⁻¹¹⁾。GAも糖尿病の指標として非常に重要な蛋白であり、現在では酵素法による汎用機での測定が日本を中心に普及し、HbA1cと共に広く利用されている¹²⁾⁻¹³⁾。また、糖鎖抗原としてはCA19-9やCA125のような腫瘍マーカーがよく知られている。歴史的には腫瘍を免疫したマウスから得られたモノクローナル抗体のうち、正常細胞には反応せず、腫瘍細胞に対して特異的に反応するクローンのいくつかは糖鎖を認識していたということが明らかになっており、例えばCA19-9はシアル酸が付加したルイスA抗原をエピトープとして認識している¹⁴⁾⁻¹⁷⁾。CA125も卵巣癌に対するモノクローナル抗体OC-125が認識する抗原として発見され、診断薬として活用されている。OC-125が認識しているエピトープそのものは詳細には明らかになっていないようであるが、ムチンを認識しており、コア蛋白に存在する糖鎖抗原を認識しているとの報告がある¹⁸⁾⁻²¹⁾。

一方、レクチンは糖鎖を特異的に認識する物質として知られており、多くのレクチンが分離されているが、診断薬への応用に関してはまだ限定的である。レクチンは「非免疫起源の糖結合性のタンパク質もしくは糖タンパク質で、細胞もしくは複合糖質を凝集沈降させるもの」と定義されており、植物由来のものだけではなく動物由来のものも発見されている²²⁾⁻²⁵⁾。

レクチンを用いたアッセイで体外診断用医薬品として広く用いられているものとして、AFP-L3がある。腫瘍マーカーであるAFPにはL1、L3という糖鎖が付加されており、レンズマメレクチン(LCA)との親和性がより高いL3糖鎖画分を有するAFPが肝癌で多くなるという現象を利用している。LCAが高親和性を示す糖鎖構造はフコシル化二分岐型複合型糖類であることが明らかになっており、体外診断用医薬品として広く用いられている²⁶⁾⁻³²⁾。また、現在は研究段階ではあるが、前立腺癌のマーカーであるPSAも癌化によりその糖鎖構造が変化する

ことが知られており、ノダフジレクチン(WFA)を用いたPSA-Giの測定が前立腺癌により特異的であるとの報告がある³³⁾⁻³⁴⁾。数は少ないながらも、近年こういったレクチンを利用した糖鎖構造の変化を捉える検査項目の開発が進んでおり、その1つの成果がM2BPGi(Mac2 binding Protein Glycan isomer)である。

II. M2BP

M2BP(Mac2 Binding Protein)は分子量約90kDaの分泌糖蛋白として知られており、1993年にはKothsらによってクローニングが行われ、567のアミノ酸から構成されている。1999年にはMullerらによって、一部が環状のオリゴマーとして存在していることが報告され、その電子顕微鏡像も確認できる。またその構造には7カ所の糖鎖結合部位が存在していることが知られている³⁵⁾⁻³⁷⁾。

M2BP自体もNASHや肺癌で血中濃度が有意に上昇することが報告されているが、産業技術総合研究所の成松等が開発したタンデムマス法による糖鎖構造同定技術と、レクチンマイクロアレイによる糖鎖構造プロファイリング技術を用いることにより、M2BPの糖鎖構造の変化を捉えることができ、ノダフジレクチン(WFA)に親和性を有する糖鎖を有したM2BPが、肝臓の線維化進展とよく相関することが見いだされ、M2BPGiとしての有用性が証明された³⁸⁾⁻⁴¹⁾。

III. レクチンの親和性

一般的に抗体の親和性はマイナス10乗からマイナス11乗と言われているが、レクチンの糖鎖に対する親和性はマイナス5乗からマイナス6乗とかなり低いことが知られている³⁹⁾。そのため少量の糖鎖を高感度に検出することは困難と言われているが、M2BPは前述のようにループ構造を形成しており、結合する糖鎖の数は非常に多いため、固相にWFAを高密度で結合させることにより、高感度で検出が可能になったと考えられている。また、血中にはWFAと結合する糖鎖が非常に少ないことから、第1反応にレクチンを用いてもM2BPGiを特異的に結合することが出来る測定系を構築できた。

WFAは分子量68 kDaのタンパクで、通常は2量体で存在する。糖との親和性に関してはN-acetyl-D-galactosamineとの親和性が高いレクチンである。WFAは各種の癌細胞に親和性を有することが報告されており、またPSAの糖鎖異性体の検出にも使用されている。今回はM2BPの糖鎖修飾体として検出することで、肝の線維化の指標となることが明らかになった。

IV. 各種肝疾患における M2BPGi の変動

平成26年12月24日にM2BPGiが保険収載された。主な測定目的としては、肝臓の線維化進展の診断の補助である。留意事項としては

- (1) M2BPGi (Mac-2結合蛋白糖鎖修飾異性体) は、2ステップサンドイッチ法を用いた化学発酵素免疫測定法により、慢性肝炎又は肝硬変の患者(疑われる患者を含む)に対して、肝臓の線維化進展の診断補助を目的に実施した場合に算定する。
- (2) 本検査と区分番号「D007」血液化学検査「38」のプロコラーゲン-Ⅲ-ペプチド若しくはIV型コラーゲン、同区分「40」のIV型コラーゲン・7S、同区分「43」のヒアルロン酸又は同区分「51」のプロリルヒドロキシラーゼを併せて実施した場合は、主たるもののみ算定する。

という2項目が設定された。その後様々な研究が行われ、各種肝疾患での診断感度・特異性が調べられている。ここでは疾患別にいくつかの研究を紹介する。

文献上は、WFAレクチンと結合するM2BP蛋白ということで、WFA+M2BPと表記されている場合が多く、これはM2BPGiと同じ蛋白と考えて良い。

【C型肝炎】

C型肝炎は日本で最も多いウイルス型肝炎であり、日本での肝硬変、肝癌の最も大きな原因疾患である。肝細胞癌の約70%がC型肝炎を原因疾患としていと考えられている。しかしながら、近年最も治療法が進歩した肝疾患であり、最新の薬剤を用いれば全ての遺伝子型で95%以上のSVR(ウイルス学的著効)得られるとの報告もある。肝臓学会のガイドラインも頻りにアップデートされており、2019年12月現在では

2019年の6月に作成された第7版が最新版となっている⁴²⁾。

HCV患者における肝線維化とM2BPGiの関係は開発当初から数多くの検討がなされている。Tamakiらは多施設での検討として肝臓の生検結果で得られた肝線維化進展とM2BPGiの測定値の間に良好な相関があることを報告している⁴³⁾。またYamazakiらの多施設検討でも、肝臓の生検結果で線維化進展がわかっている集団(707名)の血清のM2BPGiを測定し、生検での肝線維化の各ステージ:F0/F1(n=155)、F2(n=242)、F3(n=86)、F4(n=32)とM2BPGiの値:1未満、1~2、2~4、4~8、8以上の間に良好な一致率があったことを報告している⁴⁴⁾。F4患者ではその78.1%がM2BPGi8以上を示し、F0/F1患者ではM2BPGiが8以上を示した患者はわずか1.3%であったと報告している。近年は海外での研究も行われており、中国での研究では患者680名と健常者164名の血清を用いて、M2BPGi、APRI、FIB4、GPRの血中線維化マーカーとFibro Scanを使用して分類したF0~F4の線維化進展度と比較検討した結果が報告されている。F2以上とF4以上で各項目の感度、特異度を算出しており、M2BPGiは感度、特異度とも他の線維化マーカーと同等以上の性能を有している結果となっている⁴⁵⁾。

【B型肝炎】

B型肝炎の線維化進展に関してもいくつかの研究が行われているが、有意差はあるものの全体的に見るとC型肝炎より値の変動は小さい傾向が認められている。Nishikawaらでの検討では、B型肝炎患者で線維化ステージとM2BPGi、APRI、FIB-4を比較した研究が報告されているがF4患者でもM2BPGiのC.O.I.は10以下となっている⁴⁶⁾。その中でもF0-1とF2、F3、F4の各ステージは1%以上の有意差を持って弁別可能という結果であった。海外での評価に関しては、B型肝炎では韓国から報告が出ている。B型肝炎患者151名に関して、線維化ステージとの関係を各マーカーで調べており、F2以上とF3の診断に関して、AUC、感度、特異度などを算出している⁴⁷⁾。M2BPGiは線維化ステージ2以上でのAUCは0.664、3ではAUC0.721という結果となっている。

【NAFLD、NASH】

C型肝炎が経口投与薬（DAA）のみで治療が可能な時代になり、B型肝炎もユニバーサルワクチン接種の時代になり、献血の検査も高感度に行われるようになったことから、今後のウイルス性肝炎の新規患者は、性感染症としてのB型肝炎以外は非常に発生率が低下するものと考えられており、その中でクロズアップされているのが非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）である。

日本肝臓学会のガイドラインでは、NAFLDを「肝細胞に中性脂肪が沈着して、肝障害をきたす疾患の総称である」と定義している。NAFLDは予後良好な単純性脂肪肝と進行性の非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）に分かれると考えられており、NASHになると5～10年で5～25%の患者が肝硬変へ進行すると考えられている。NASHの予後は線維化の進行度で決まると考えられており、線維化の進展を知ることが重要な要素となっている⁴⁸⁾。NAFLD、NASHにおける線維化進展に関しても、M2BPGiで検討がなされている。Tamakiらは、NAFLD患者352名の線維化進展度をMRE（Magnet Resonance Elastography）で測定、各血中マーカーとの関連を検討している⁴⁹⁾。Stage3-4の線維化が進展している患者に関して、各血液マーカーのAUC、感度、特異度を算出した結果、M2BPGiではカットオフ値を1.08とした場合に最大のAUC0.897を示し、その時の感度は84.2%、特異度は84.0%であった。また、Abeらは多施設共同研究で289名のNAFLD患者に対して、肝生検の結果とM2BPGiの結果を比較した報告を行っている。各線維化ステージとM2BPGiの測定値には良好な関係があり、線維化の進展によりM2BPGiの値は有意差をもって上昇していることが示されている⁵⁰⁾。

【その他の肝疾患】

肝臓の線維化が進展する疾患としては、前述したようにウイルス性肝炎、アルコール性肝炎、非アルコール性脂肪性肝疾患が主なものと考えられているが、それ以外にも線維化が進展する肝疾患が存在する。そのような疾患におけるM2BPGiの動きも報告されている。

Nishikawaらの報告では、自己免疫性肝炎の患者での肝線維化進展とM2BPGiの関係を調べて

いる⁵¹⁾。84例の患者に関して、肝の線維化進展とM2BPGiのカットオフインデックスの関係を調べており、自己免疫性肝疾患における線維化の進展に従ってM2BPGiが有意差を持って値が上昇していることが示されている。また、他の線維化マーカー（APRI、FIB-4index、AST to ALT ratio、Platelet count、Hyaluronic acid）との比較においても、同等以上の感度、特異度を有していた。

Yamadaらの検討では胆道閉塞患者とM2BPGiの変動について検討している⁵²⁾。64例の患者で、他の線維化マーカー（HA、P-III-P、タイプIVコラーゲン7S、APRI）と比較して同等以上の変化が生じている。

これらの研究により、M2BPGiは原因を問わず、肝臓の線維化が進展するに従って血中の濃度が上昇する蛋白であることが示されている。しかしながら、全ての疾患において同程度の線維化進展が同じ血中濃度を示すわけではなく、疾患毎に変化の度合いは異なっており、また線維化が進展していても血中のM2BPGiの上昇が認められない例、M2BPGiが高値でも肝臓の線維化進展が認められない例もあり、補助診断としては非常に優れたマーカーではあるものの、M2BPGiのみで肝臓の線維化を全て診断できるわけではない。

V. 今後の展望

従来、肝疾患に関しては、脂肪肝から肝硬変へ移行し、その後一定の頻度で肝癌が発生すると考えられてきていた。C型肝炎患者では多くの患者がDAA治療を受けることにより、ウイルスが排除されてSVRを達成している。ウイルスを排除できても肝臓が受けたダメージは完全には除去できず、その時点での肝疾患の進行度によって、その後の肝癌リスクは個々の患者毎に存在することになる。現在C型肝炎患者の治療はSVR後の肝保護と、肝癌進展抑制が大きな課題となっている。一方、従来はある程度線維化が進展した肝臓はもう元には戻らないと考えられていたが、近年肝臓の線維化を治療可能な薬剤の開発が進んでいるとの情報がある。

肝臓は人体最大の臓器、また最も重要な臓器の1つであることは明らかであり、様々な原因

で障害を受けた肝臓を保護し、その機能の維持と発癌抑制は肝臓治療の大きな目標となっている。C型肝炎は飲み薬でウイルスの排除が可能となり、B型肝炎もウイルスの排除は出来ないながらも、ウイルスの活動を抑制することで、一般人と変わらない生活が可能で患者が増えている現代において、肝保護治療の効果判定や、肝障害の経過観察に肝の線維化を調べるといったことは非常に重要である。画像診断の発達や血中のマーカーの開発が行われているが、M2BPGiは、その簡便さ（血清で測定可能）、迅速さ（装置の反応時間が約17分）、処理能力（全自動測定で時間当たり200テストが測定可能）といった点に関して、非常に有用性の高い検査と言える。

レクチンと抗体を組み合わせることで、微量な蛋白の糖鎖構造変異を捉える技術は、今後も様々な疾患のマーカー検出技術の一つとしての発展が期待されている。

文献

- 1) 井上國世：モノクローナル抗体の利用の現状。化学と生物, 34: 240-253, 1996.
- 2) 笹浪哲雄：ヒト肝癌細胞に対するモノクローナル抗体の作成とその応用。札幌医誌, 53: 223-241, 1984.
- 3) 河野修興：ヒト肺癌に対するモノクローナル抗体の作製と臨床診断への応用に関する研究。広島大学医学雑誌, 33: 971-997, 1985.
- 4) 伊東祐二、坂元孝太郎、前田政敏、村岡 賢、杉村和久：ファージディスプレイによる分子デザイン—抗体から低分子ペプチドまで—。生物物理, 48: 294-298, 2008.
- 5) 橋口周平、宮原隆二、岸本 聡、伊東祐二：分子標的素子デザインにおけるファージライブラリー法。生物工学会誌, 93: 289-292, 2015.
- 6) 村岡 賢、田原栄俊：プロテオミクスにおけるファージディスプレイ技術の役割。Proteome Letters, 1: 45-56, 2016.
- 7) Hennie R Hoogenboom: Selecting and screening recombinant antibody libraries. Nat Biotechnol, 23: 1105-1116, 2005.
- 8) Patricia Kaiser, Theodorus Akerboom, Petra Molnar, Hans Reinauer: Modified HPLC-Electrospray Ionization / Mass Spectrometry Method for HbA1c Based on IFCC Reference Measurement Procedure. Clin Chem, 54: 1018-1022, 2008.
- 9) Andrea Geistanger, Sabine Arends, Christoph Berding, Tadao Hoshino, Jan-Olo Jeppsson, Randie Little, Carla Siebelder, Cas Weykamp: Statistical Methods for Monitoring the Relationship between the IFCC Reference Measurement Procedure for Hemoglobin A1c and the Designated Comparison Methods in the United States, Japan, and Sweden. Clin Chem, 54: 1379-1385, 2008.
- 10) Randie R. Little, Curt Rohlfing, David B. Sacks: The NGSP: Over 20 Years of Improving HbA1c Measurement. Clin Chem, 65: 839-848, 2018.
- 11) The EurA1c Trial Group: The Europeba HbA1c Trial to Investigate the Performance of HbA1c Assays in 2166 Laboratories across 17 Countries and 24 Manufacturers by Use of the IFCC Model for Quality Targets. Clin Chem, 64: 1183-1192, 2018.
- 12) Koga M, Kasayama S: Clinical impact of glycosylated albumin as another glycemic control marker. Endocr J, 57: 751-762, 2010.
- 13) Kim KJ, Lee BW: The roles of glycosylated albumin as intermediate glycation index and pathogenic protein. Diabetes Metab J, 36: 98-107, 2012.
- 14) Herlyn M, Steplewski Z, Herlyn D, Koprowski H: Colorectal carcinoma-specific antigen: Detection by means of monoclonal antibodies. Proc Natl Acad Sci U S A, 76: 1438-1442, 1979.
- 15) Del Villano BC, Brennan S, Brock P, Bucher C, Liu V, McClure M, Rake B, Space S, Westrick B, Schoemaker H, Zurawski VR Jr.: Radioimmunoassay for a Monoclonal Antibody-Defined Tumor Marker, CA19-9. Clin Chem, 29: 549-552, 1983.
- 16) Jalanko H, Kuusela P, Roberts P, Sipponen P, Haglund CA, Mäkelä O: Comparison of a new tumour marker, CA 19-9, with alpha-fetoprotein and carcinoembryonic antigen in patients with upper gastrointestinal diseases. J Clin Pathol, 37: 218-222, 1984.
- 17) 石黒厚至：CA19-9 検査編。臨床検査, 59: 632-637, 2015.
- 18) Bast RC Jr, Feeney M, Lazarus H, Nadler LM, Colvin RB, Knapp RC.: Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. J Clin Invest, 68: 1331-1337, 1981.
- 19) Davis HM, Zurawski VR Jr, Bast RC Jr, Klug TL: Characterization of the CA 125 antigen associated with human epithelial ovarian carcinomas. Cancer Res, 46: 6143-6148, 1986.
- 20) 保田仁介、奥村次郎、山下 元、花田芳郎、山根慶子、村上 旭：卵巣癌に対する新しい腫瘍マーカー CA-125。産婦進歩, 36: 611-613, 1984.
- 21) 日本臨床検査医学会包括医療検討委員会, 厚生労働省編; 大川二郎：第3章 検査編 4.腫瘍マーカー

- の見方. 臨床検査のガイドライン2005/2006, 298-306, 日本臨床検査医学会, 東京 (2005).
- 22) 2005/2006, 298-306, 日本臨床検査医学会, 東京 (2005). Holthöfer H, Virtanen I: Glycosylation of Developing Human Glomeruli: Lectin Binding Sites During Cell Induction and Maturation. *J Histochem Cytochem*, 35: 33-37, 1987.
 - 23) Puzstai A, Bardocz S: Biological Effects of Plant Lectins on the Gastrointestinal Tract: Metabolic Consequences and Applications. *Trends Glycosci, Glycotechnol*, 8: 149-165, 1996.
 - 24) 佐藤友美: がっちりつかんで離さない. *生物工学*, 91: 472, 2013.
 - 25) 長江真倫, 山口芳樹: 糖鎖の多様性に対応するレクチンの認識システムとシグナリング. *生化学*, 90: 651-663, 2018.
 - 26) Taketa K, Endo Y, Sekiya C, Tanikawa K, Koji T, Taga H, Satomura S, Matsuura S, Kawai T, Hirai H: A Collaborative Study for the Evaluation of Lectin-Reactive α -Fetoproteins in Early Detection of Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Res*, 53: 5419-5423, 1993.
 - 27) Sato Y, Nakata K, Kato Y, Shima M, Ishii N, Koji T, Taketa K, Endo Y, Nagataki S: Early Recognition of Hepatocellular Carcinoma based on Altered Profiles of Alpha-Fetoprotein. *N Engl J Med*, 328: 1802-1806, 1993.
 - 28) Shiraki K, Takase K, Tameda Y, Hamada M, Kosaka Y, Nakano T: A Clinical Study of Lectin-Reactive Alpha-Fetoprotein as an Early Indicator of Hepatocellular Carcinoma in the Follow-Up of Cirrhotic Patients. *Hepatology*, 22: 802-807, 1995.
 - 29) Katoh H, Nakamura K, Tanaka T, Satomura S, Matsuura S: Automatic and Simultaneous Analysis of Lens culinaris Agglutinin-Reactive α -Fetoprotein Ratio and Total α -Fetoprotein Concentration. *Anal Chem*, 70: 2110-2114, 1998.
 - 30) Toyoda H, Kumada T, Tada T, Kaneoka Y, Maeda A, Kanke F, Satomura S: Clinical utility of highly sensitive Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma patients with alpha-fetoprotein <20ng/mL. *Cancer Sci*, 102: 1025-1031, 2011.
 - 31) Hiraoka A, Nakahara H, Kawasaki H, Shimizu Y, Hidaka S, Imai Y, Utsunomiya H, Tatsukawa H, Tazuya N, Yamago H, Yorimitsu N, Tanihira T, Hasebe A, Miyamoto Y, Ninomiya T, Abe M, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M, Michitaka K: Huge Pancreatic Acinar Cell Carcinoma with High Levels of AFP and Fucosylated AFP (AFP-L3). *Intern Med*, 51: 1341-1349, 2012.
 - 32) Kumada T, Toyoda H, Tada T, Kiriya S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, Tanaka J, Kagebayashi C, Satomura S: High-sensitivity Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein assay predicts early detection of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol*, 49: 555-563, 2014.
 - 33) 金子智典, 彼谷高敏, 小島 駿, 中村幸登, 須田美彦: 表面プラズモン励起増強蛍光分光 (SPFS) を用いた糖鎖マーカー定量による前立腺癌診断法の開発. *KONICA MINOLTA TSCHNOLOGY REPORT*, 13: 73-78, 2016.
 - 34) Hagiwara K, Tobisawa Y, Kaya T, Kaneko T, Hatakeyama S, Mori K, Hashimoto Y, Koie T, Suda Y, Ohyama C, Yoneyama T: Wisteria floribunda Agglutinin and Its reactive-Glycan-Carrying Prostate-Specific Antigen as a Novel Diagnostic and Prognostic Marker of Prostate Cancer. *Int J Mol Sci*, 18: 1-16, 2017.
 - 35) Kothe K, Taylor E, Halenbeck R, Caspit C, Wang A: Cloning and Characterization of a Human Mac-2-binding Protein, a New Member of the Superfamily Defined by the Macrophage Scavenger Receptor Cysteine-rich Domain. *J Biol Chem*, 268: 14245-14249, 1993.
 - 36) Müller SA, Sasaki T, Bork P, Wolpensinger B, Schulthess T, Timpl R, Engel A, Engel J: Domain organization of Mac-2 binding protein and its oligomerization to linear and ring-like structures. *J Mol Biol*, 291: 801-813, 1999.
 - 37) Hellstern S, Sasaki T, Fauser C, Lustig A, Timpl R, Engel J: Functional Studies on Recombinant Domains of Mac-2-binding Protein. *J Biol Chem*, 277: 15690-15696, 2002.
 - 38) 藤井宏修, 鎌田佳宏, 小野正文, 兵庫秀幸, 藤井英樹, 角田圭雄, 高松真二, 三善英和: Mac-2 binding protein (Mac2bp) は汎用性を有する新規 NASH バイオマーカーである. *日本分子腫瘍マーカー研究会誌*, 31: 38-39, 2015.
 - 39) 市田隆文, 成松 久, 溝上雅史, 上野義之: 肝疾患の病態と糖鎖化学の意義. *肝胆膵*, 70: 63-79, 2015.
 - 40) 湯浅 愛, 鎌田佳宏, 西田真由, 内藤有紀子, 北 康平, 松野衣里子, 飛鳥達也, 小山万葉, 橋本紗弥, 松本 陸, 高松真二, 三善英和: NAFLD 病態における血中 Mac-2-binding protein (Mac-2bp) 値測定の意義. *日本分子腫瘍マーカー研究会誌*, 35: 3-5, 2019.
 - 41) 成松 久: 肝線維化診断薬 M2BPgi の開発 - 糖鎖科学基盤技術の開発から診断薬の実用化まで -. *肝胆膵*, 70: 9-20, 2015.
 - 42) 日本肝臓学会肝炎診療ガイドライン作成委員会

- 編；朝比奈靖浩 他：C型肝炎治療ガイドライン(第7版). 日本肝臓学会 (2019)
- 43) Tamaki N, Kurosaki M, Kuno A, Korenaga M, Togayachi A, Gotoh M, Nakakuki N, Takada H, Matsuda S, Hattori N, Yasui Y, Suzuki S, Hosokawa T, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Mizokami M, Narimatsu H, Izumi N: Wisteria floribunda agglutinin positive human Mac-2-binding protein as a predictor of hepatocellular carcinoma development in chronic hepatitis C patients. *Hepato Res*, 45: E82-E88, 2015.
 - 44) Yamasaki K, Tateyama M, Abiru S, Komori A, Nagao S, Saeki A, Hashimoto S, Sasaki R, Bekki S, Kugiyama Y, Miyazoe Y, Kuno A, Korenaga M, Togayachi A, Ocho M, Mizokami M, Narimatsu H, Yatsuhashi H: Elevated serum levels of Wisteria floribunda agglutinin-positive human Mac-2 binding protein predict the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients. *Hepatology*, 60: 1563-1570, 2014.
 - 45) Xu H, Kong W, Liu L, Chi X, Wang X, Wu R, Gao X, Wang H, Qu L, Qi Y, Pan Y, Niu J: Accuracy of M2B-PGi, compared with Fibro Scan[®], in analysis of liver fibrosis in patients with hepatitis C. *BMC Gastroenterol*, 17:62, 2017.
 - 46) Nishikawa H, Hasegawa K, Ishii A, Takata R, Enomoto H, Yoh K, Kishino K, Shimono Y, Iwata Y, Nakano C, Nishimura T, Aizawa N, Sakai Y, Ikeda N, Takashima T, Iijima H, Nishiguchi S: A proposed predictive model for advanced fibrosis in patients with chronic hepatitis B and its validation. *Medicine (Baltimore)*, 95: 1-9, 2016.
 - 47) Jekarl DW, Choi H, Lee S, Kwon JH, Lee SW, Yu H, Kim M, Kim Y, Sung PS, Yoon SK: Diagnosis of Liver Fibrosis With Wisteria floribunda Agglutinin-Positive Mac-2 Binding Protein (WFA-M2BP) Among Chronic Hepatitis B Patients. *Ann Lab Med*, 38: 348-354, 2018.
 - 48) 日本肝臓学会編著: NASH・NAFLDの診療ガイド 2010. 文光堂, 東京 (2014).
 - 49) Tamaki N, Higuchi M, Kurosaki M, Kirino S, Osawa L, Watakabe K, Wang W, Okada M, Shimizu T, Takaura K, Takada H, Kaneko S, Yasui Y, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Enomoto N, Izumi N: Wisteria floribunda agglutinin-positive mac-2 binding protein as an age-independent fibrosis marker in nonalcoholic fatty liver disease. *Sci Rep*, 9: 1-8, 2019.
 - 50) Abe M, Miyake T, Kuno A, Imai Y, Sawai Y, Hino K, Hara Y, Hige S, Sakamoto M, Yamada G, Kage M, Korenaga M, Hiasa Y, Mizokami M, Narimatsu H: Association between Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein and the fibrosis stage of non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol*, 50: 778-784, 2015.
 - 51) Nishikawa H, Enomoto H, Iwata Y, Kishino K, Shimono Y, Hasegawa K, Nakano C, Takata R, Yoh K, Nishimura T, Aizawa N, Sakai Y, Ikeda N, Takashima T, Ishii A, Iijima H, Nakamura H, Nishiguchi S: Clinical significance of serum Wisteria floribunda agglutinin positive Mac-2-binding protein level in non-alcoholic steatohepatitis. *Hepato Res*, 46: 613-621, 2016.
 - 52) Yamada N, Mizuta K: Advanced assessment of serum Mac-2 binding protein glycosylation isomer in patients with biliary atresia. *J Gastroenterol*, 54: 204-205, 2019.