

世界初のLAL試薬を使用しない エンドトキシン検出装置

東北大学大学院環境科学研究科

先端環境創成学専攻

学術研究員 伊藤 隆広

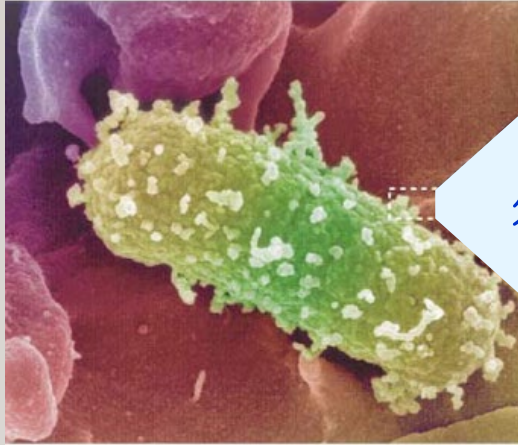
2021年7月27日

従来技術とその問題点

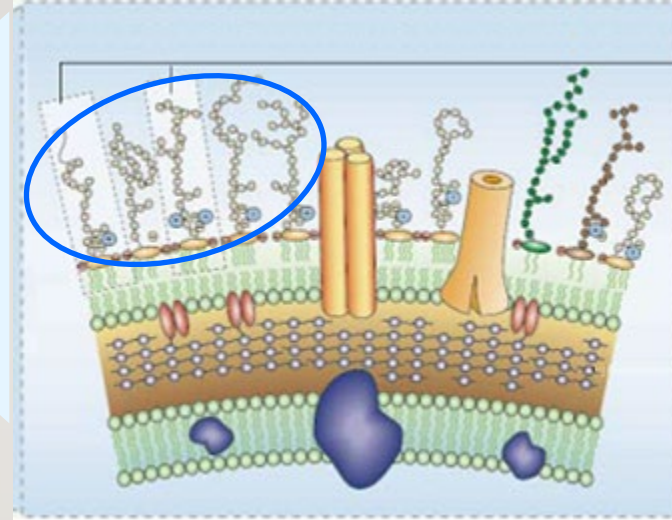
エンドトキシンとは

大腸菌(*E. coli*)

Nature Reviews Immunology 3, 169-176

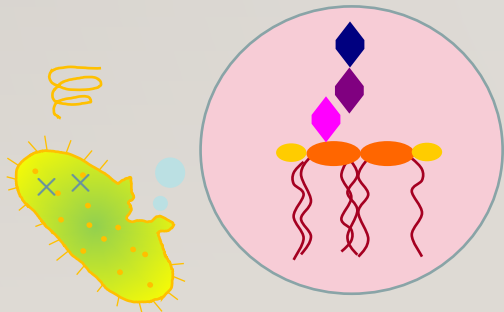


外膜



糖脂質
(エンドトキシン)

菌の死骸から
エンドトキシン放出



これが
問題児!

熱や薬剤にも強い!

ごく微量の血中混入で
体調不良を引き起こす

血圧低下
発熱
悪寒



血液にふれる薬品・器具は厳重な管理が必要

従来技術とその問題点

現場はエンドトキシン管理ツールを待ち望んでいる

一般的な透析液のエンドトキシン管理

透析施設



サンプリング
(週1回程度)

運送



分析センター



Fax / mail



患者ID	患者名	検査項目	結果
001	田中 太郎	エンドトキシン	結果
002	山田 花子	エンドトキシン	結果
003	佐藤 一郎	エンドトキシン	結果
004	鈴木 美咲	エンドトキシン	結果
005	高橋 健太	エンドトキシン	結果

結果が判明したときには当該の透析治療は終わっている。。。。

一般的なエンドトキシン検査法 (リムルス試験法)



試薬調製



反応



検出

● 検査技師が必要



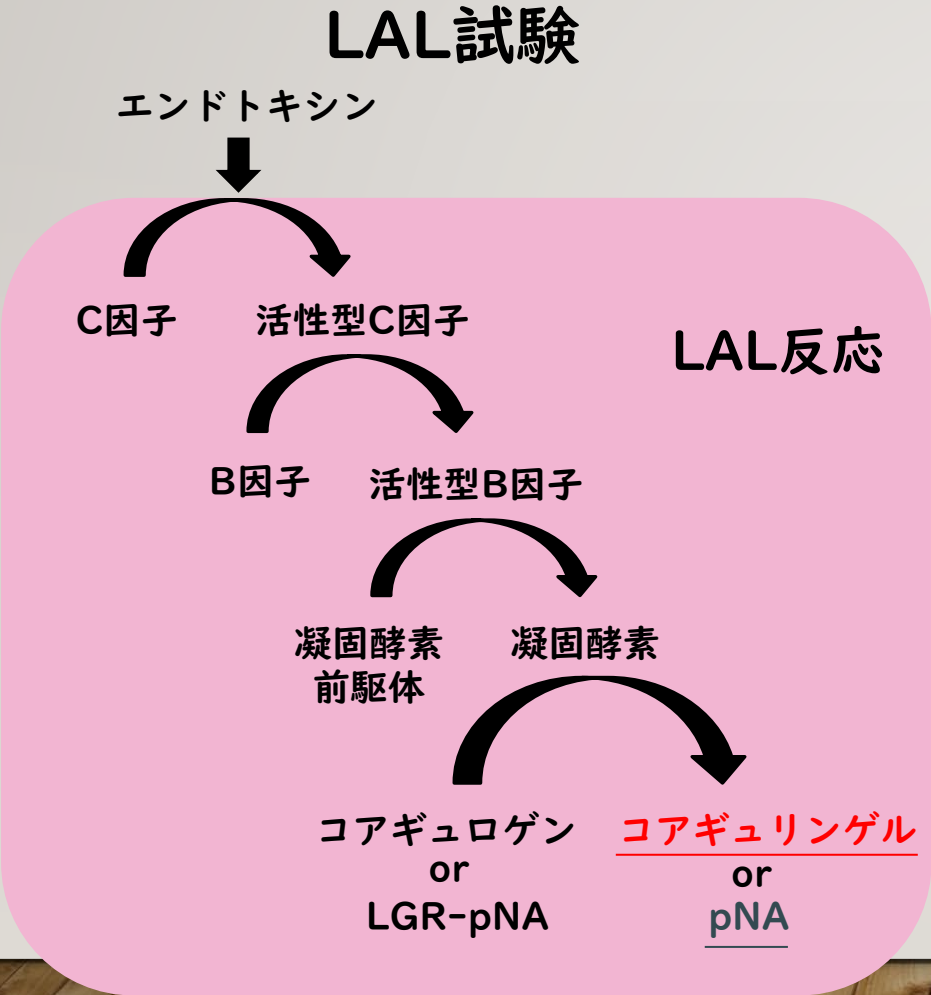
「その場分析」が困難

本当の安全には「その場分析」が必要!!

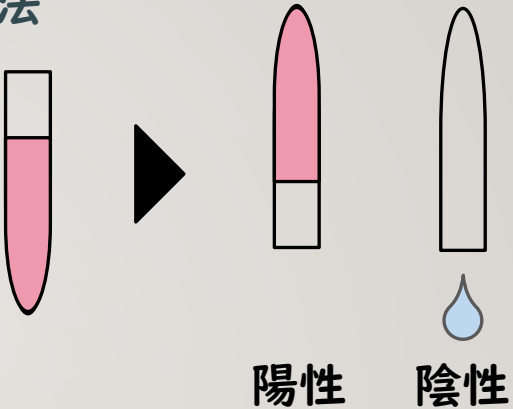
従来技術とその問題点

一般的なエンドトキシン検出法

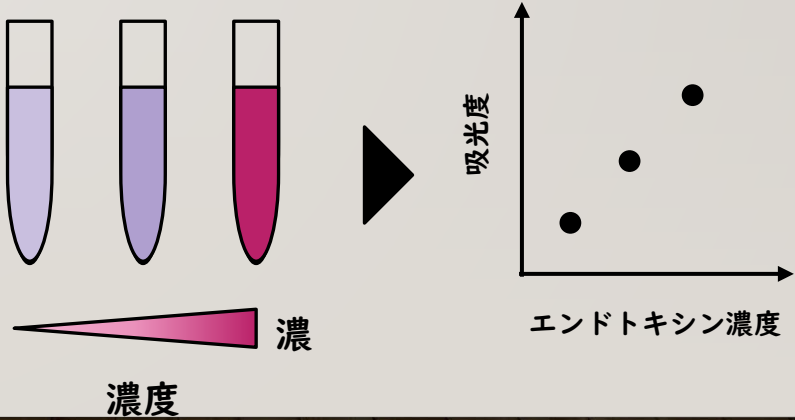
LAL: Limulus ameobocyte lysate
LGR-pNA: Leu-Gly-Arg-p-nitrophenol



ゲル化法



比色法



従来技術とその問題点

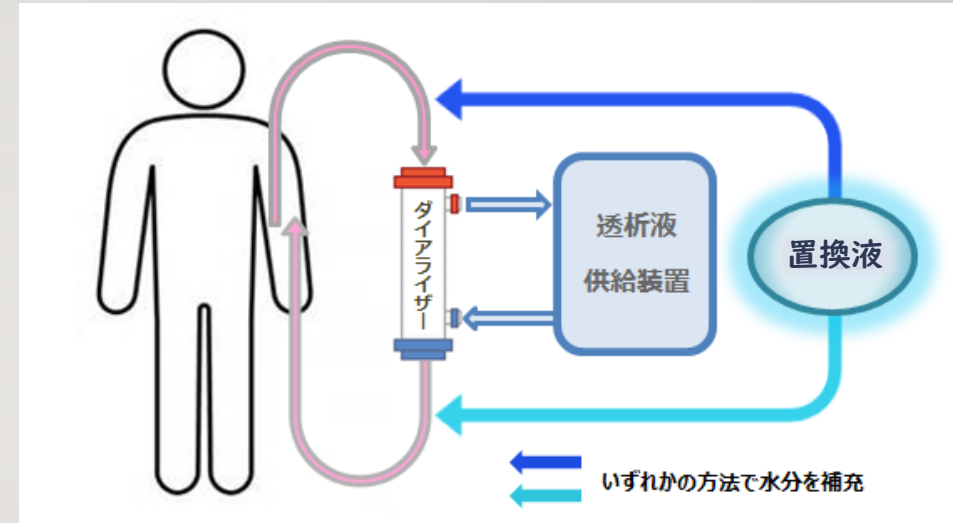
高感度エンドトキシン検出の必要性

患者のQOL向上のために…

オンライン血液濾過透析(OHDF)療法

- 血液透析濾過膜（ヘモダイアフィルタ）を使用
- 使用する透析液は超純水透析液
- 置換液に関してはエンドトキシンで1 EU/L未満
（出典：透析会誌47(11)：663－670. 2014）
- 月1回の検査が必要

OHDF療法



NOVARTIS HPから改変

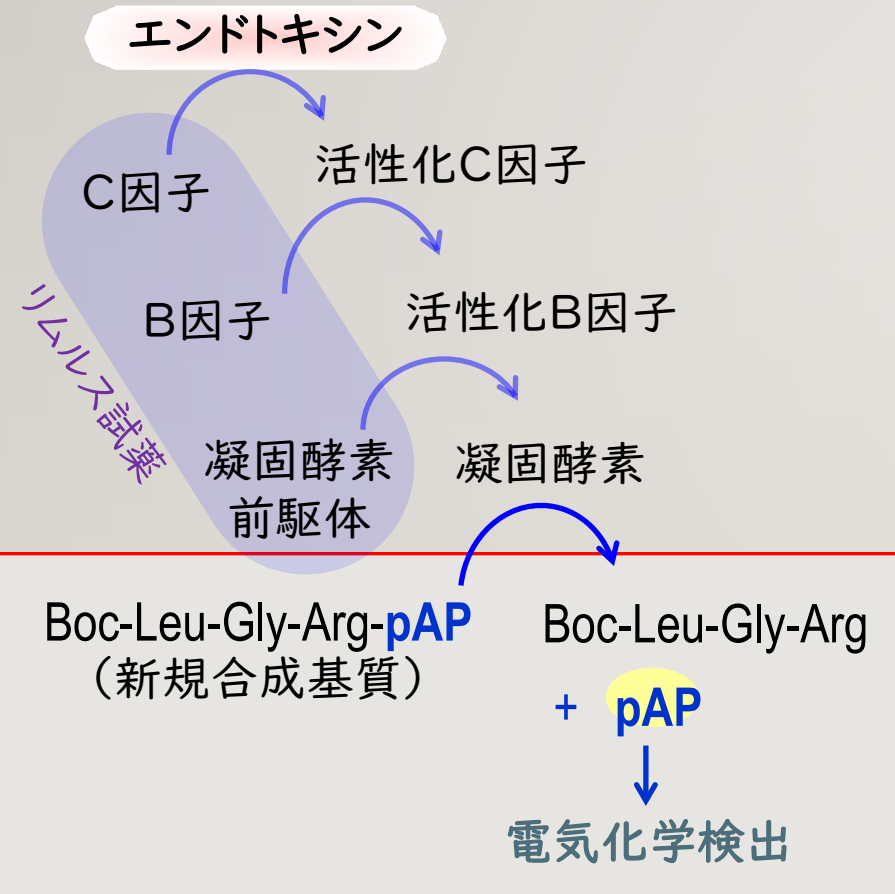
従来の下限値(5EU/L)
よりも
高感度な検出が必要

東北大病院・透析クリニックへの
ヒアリングの結果からも
その場で簡単に測定できる装置が
望まれてる

独自技術を用いた測定チップ開発

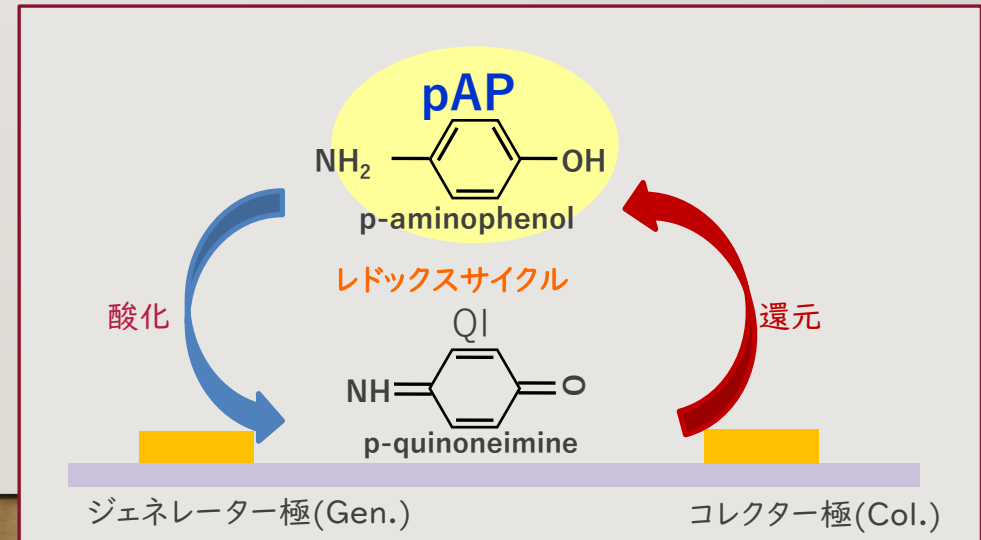
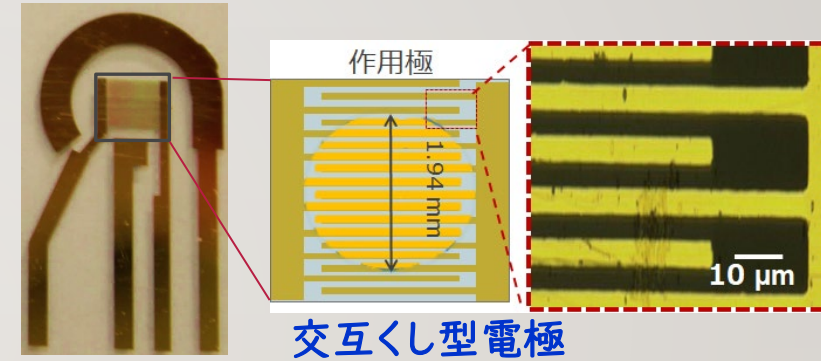
①電極反応しないエンドトキシンを電極で検出する工夫

Analyst. 138 (2013) 6523-6531.



②交互くし型電極と組み合わせた高感度検出

池川未歩 東北大学修士論文(2015)



センスチップ株式会社の設立

発起人	井上 久美	准教授
代表取締役	伊藤 隆広	学術研究員
取締役	末永 智一	特任教授
	井上 久美	准教授
監査	稲穂 健市	特任准教授

会社概要

・製造・販売

東北大学大学院環境科学研究科 井上久美准教授の研究成果を基に、電気化学測定に使用する高感度くし型電極の製造・販売を行います。

・受託業務

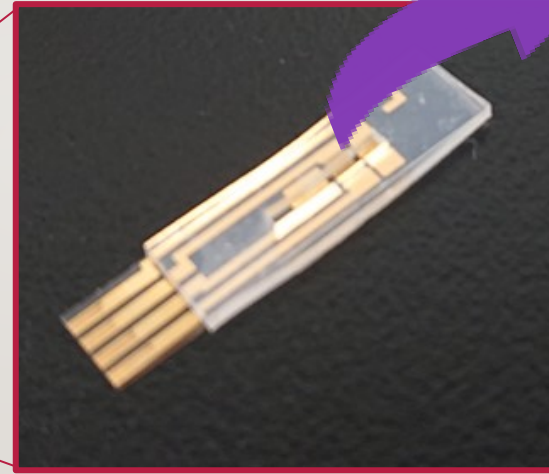
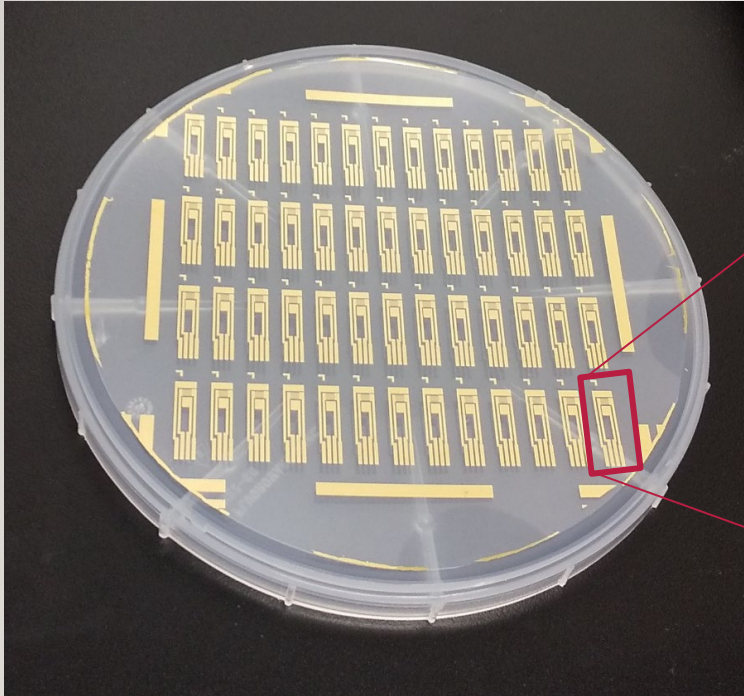
アカデミアの「研究」を、メーカーの「開発」に繋げる。研究から開発への『架け橋』となること、それがセンスチップ株式会社のミッションです。弊社の持つノウハウやネットワークを生かし、企業やアカデミアにおける研究開発のサポートを行います。

経営方針

高感度なセンサチップを提供することで、電気化学計測をより身近なものとし、計測技術の更なる革新に貢献していきます。

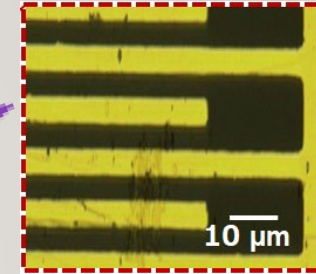
製造・販売

- ◆ 西澤センターにて電極チップ製造
- ◆ 電極ホルダーの製造
- ◆ Web上で販売



電極チップ

くし型電極



電気化学エンドトキシセンサー

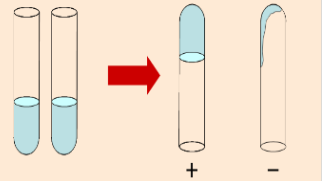
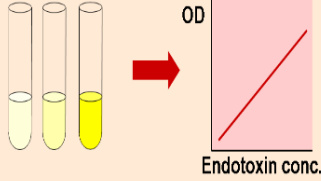
電気化学検出型のエンドトキシセンサーのイメージ



「その場分析」に求められる条件

- 誰でも使える「簡単操作」
- 必要な時に必要な回数分析できる「安価な価格」
- どこでも使える「コンパクトな装置」

本事業の競合装置

	一般的な方法(リムルス試験法)		既存小型装置
	ゲル化法	比濁法・比色法	Endosafe® nexgen-PTS™
方法			
分析場所	× 分析室	× 分析室	○ オンサイト
初期投資	○ 安い	× 100万円以上	× 160万円/台
ランニングコスト	△ 1000円/検体	△ 1000円/検体	× 6200円/検体
感度	× 50 EU/L	△ 1-5 EU/L	△ 5 EU/L
時間	× 60分	× 60分	○ 15-60分
操作性	× 煩雑	× 煩雑	△ やや煩雑

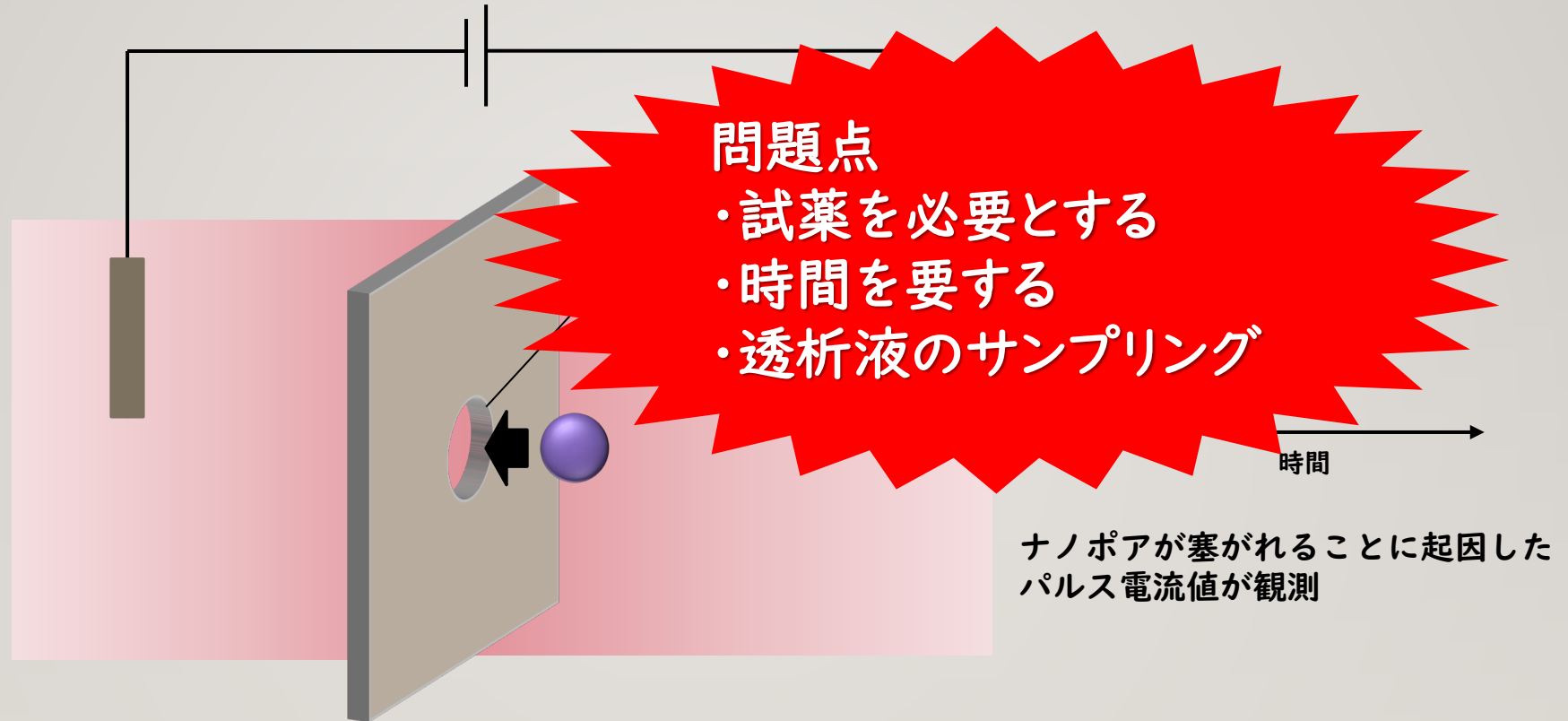
問題点

- ・試薬を必要とする
- ・時間を要する
- ・透析液のサンプリング

現在使用されているリムルス試薬は、カブトガニの血液を用いて製造されている。他の検査試薬としても血液利用が拡大しており、カブトガニの保護の観点からも、問題視されるようになってきている。

新技術の特徴・従来技術との比較

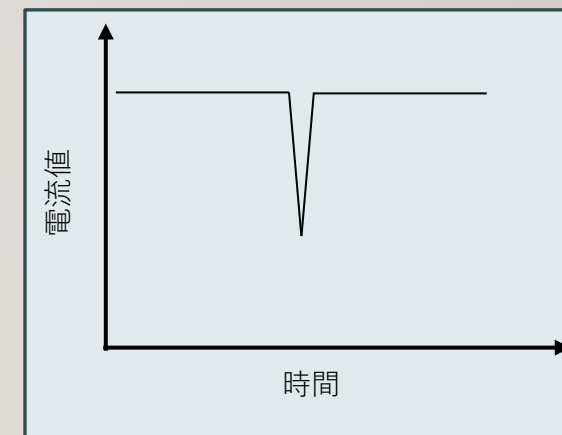
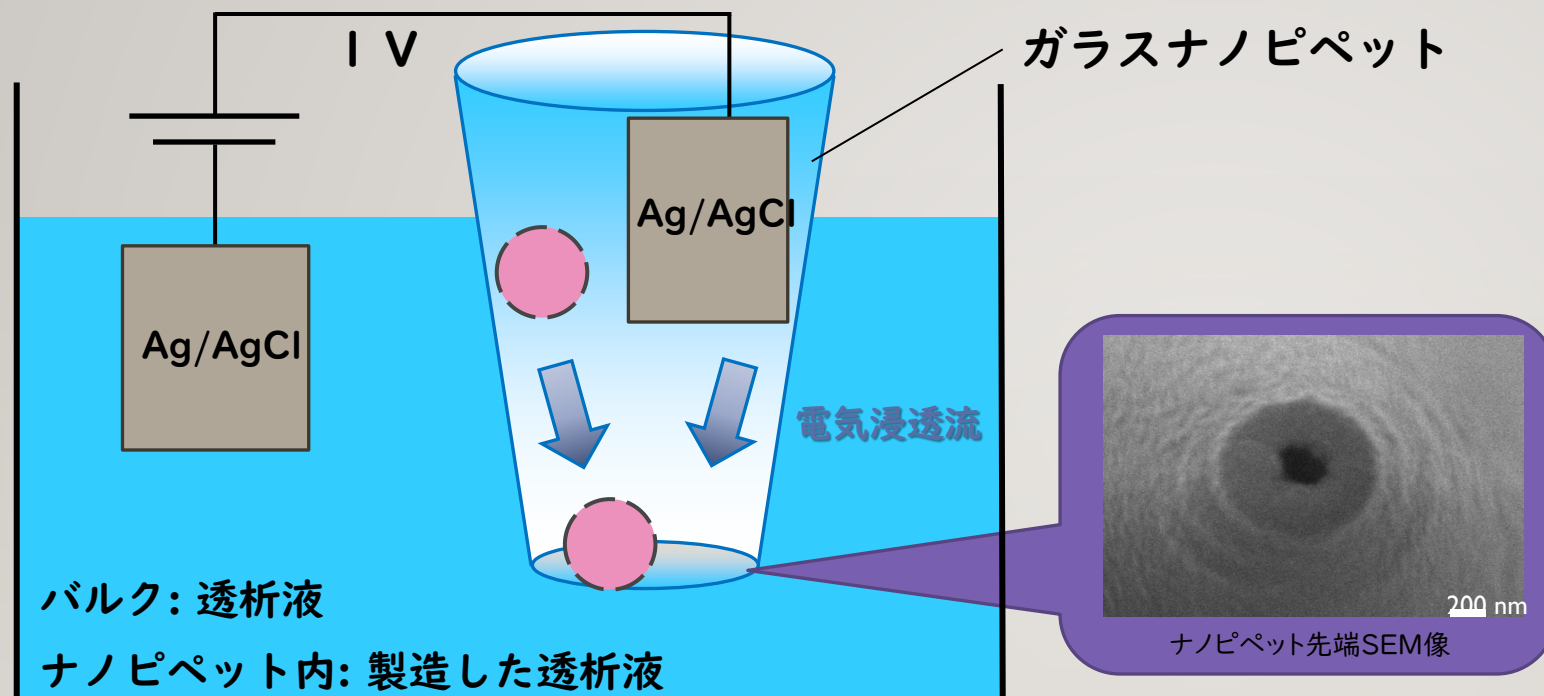
本手法の原理、目的



エンドトキシンは水中でミセルを形成するため粒子状
パルスの現れる頻度からエンドトキシン濃度を定量

迅速、シンプルなエンドトキシンセンサの開発を目指す

本発明の概要



ナノポアが塞がれることに起因したパルス電流値が観測

電極間に1Vの電位をかけ、電極間に流れる電流を継続的に計測する。製造された透析液のうちほんの少量がピペットに到着し、ナノポアを通過してバルクに排出される。万が一、エンドトキシンが含有されていた場合、エンドトキシンのミセルがナノポアを通過する際に電流の変化として検出される。

本技術は、従来のリムルス試薬を使用しない、画期的な発明である。また、恒常的にエンドトキシンのモニタリングができることから、糖尿病患者のQOL向上にも貢献する。

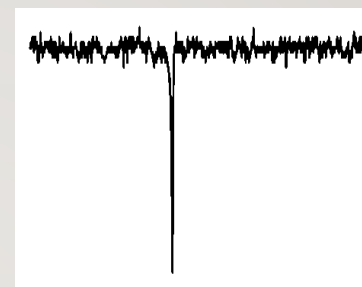
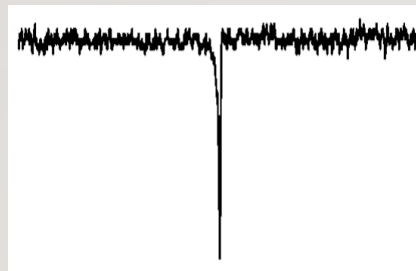
【実施例Ⅰ】エンドトキシン測定Ⅰ

EU: Endotoxin Unit, エンドトキシン活性単位

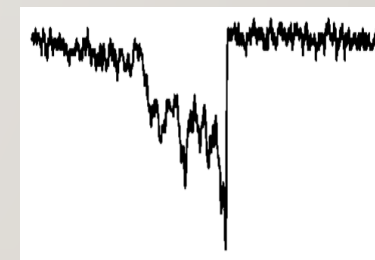
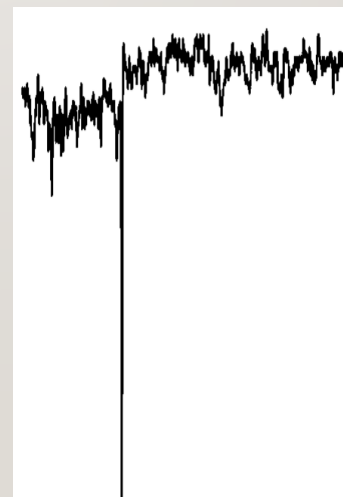
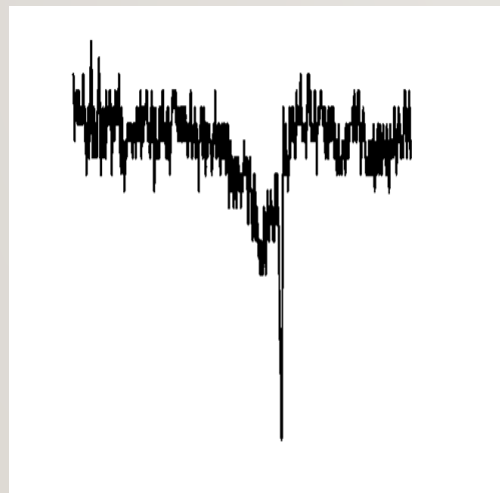
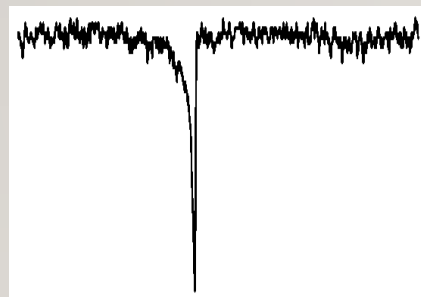
500 EU/L



1,000 EU/L



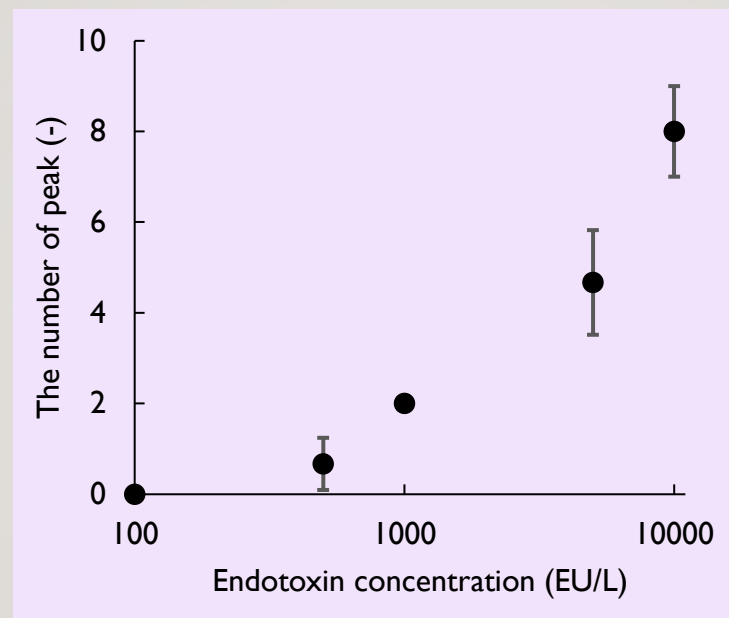
5,000 EU/L



50 pA
50 ms

【実施例Ⅰ】PBSで測定_エンドトキシン検量線

下図は、4分間のイオン電流測定中に
現れた50 pA以上のパルス数をエンドトキシン濃度に対してプロットした検量線



500 EU/Lから10000 EU/Lの範囲で、エンドトキシン濃度の上昇とともに、パルスの現れる頻度が上昇した。これは、エンドトキシン濃度が増加するとともに、単位時間あたりにナノポアを通過するエンドトキシンのミセルの個数が増加することを示している。

迅速（4分）、簡単にエンドトキシン測定ができることを確認

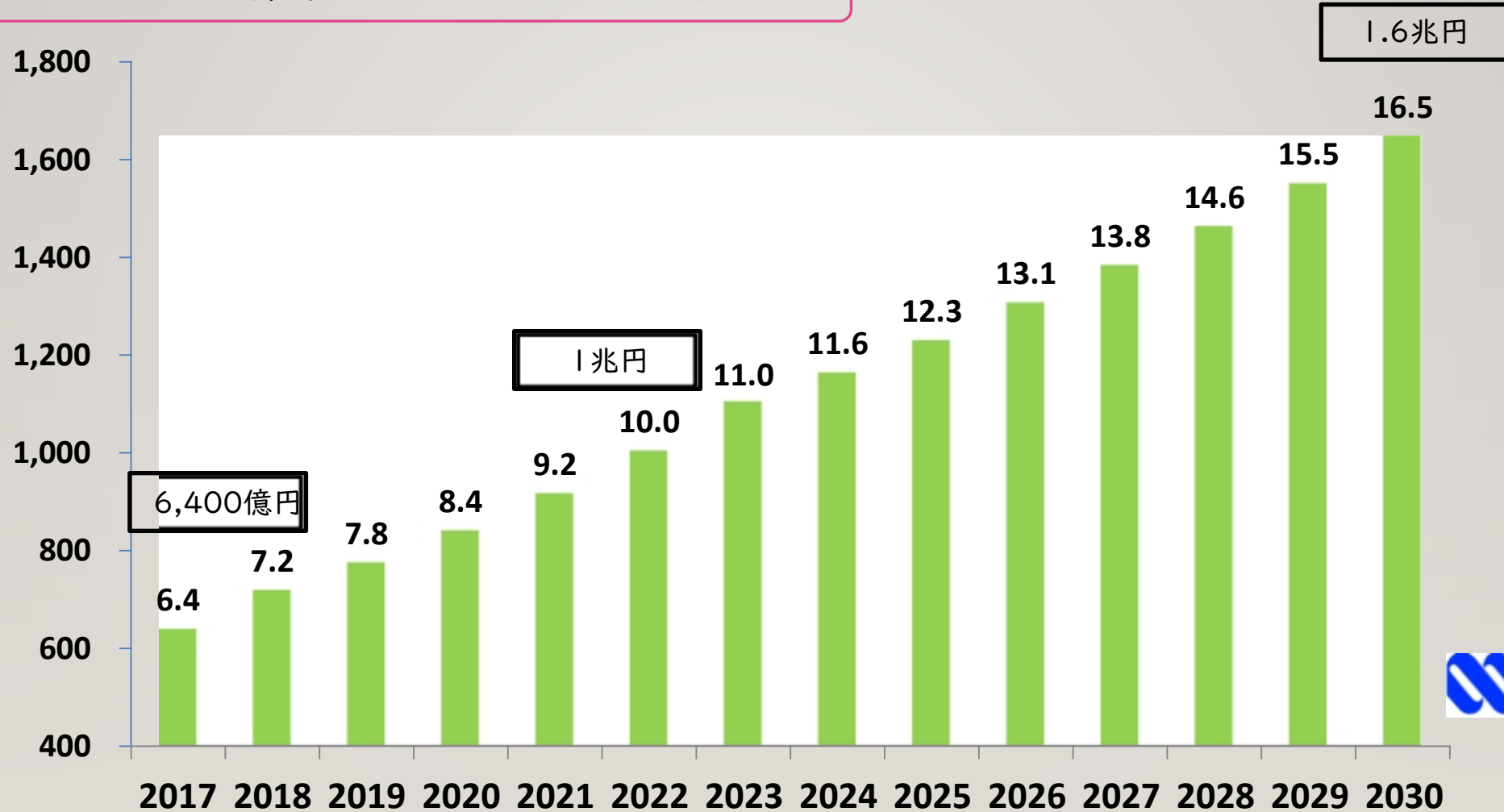
広い事業ニーズ・大きな市場規模



世界の糖尿病人口(2015/2040年)
(IDF Diabetes Atlas 7th Edition 2015に基づく世界糖尿病デー実行委員会資料)

透析市場は高成長分野 (単位: 1000億円)

市場規模についてニプロから引用【国際事業戦略グローバル経営の推進】



ダイアライザ・血液回路・AVF・透析装置・透析液 (A/B) の市場規模予測

(※当社予想)

想定事業規模

想定事業規模

5年後

項目	億円
市場規模 (TAM)	12,300
売上	15.0
売上総利益	4.5
マージン (%)	30
経常利益	1.8
人員	10

【算出根拠】

- ・サポイン事業で行った市場調査に基づく
- ・施設数・工場数・利用頻度を元に算出
- ・TAMはニプロ資料を参考

想定必要資金

令和4-5年累計

項目	億円
研究開発費	0.5
設備投資	1.0
営業投資	0.3
合計	1.8

【算出根拠】

- ・起業後, 最も必要なのは研究開発費
→ 試作・改良・新規市場開拓のための開発
医療機器販売を行うためのデータ取得
- ・営業投資は広告・宣伝のほか, アフターサービスにかかる人件費

企業への期待

- 現状は基礎研究のみであるため、今後実用化へ向けた研究を進めていきたい。
- 透析装置製作に興味を持つ、企業との共同研究を希望。
- また、培養液を開発中の企業、造水分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : エンドトキシン検出装置、及びエンドトキシンの検出方法
- 特許登録番号 : 特許第6795245号
- 米国出願番号 : US 17/275013
- 欧州公開番号 : EP3835755
- 中国出願番号 : CN202080005025.4
- 出願人 : 東北大学
- 発明者 : 伊藤 隆広、井上 久美、伊藤 健太郎、珠玖 仁、末永 智一

特許権の特許請求の範囲の記載

【請求項 1】

人工透析液又は注射液である電解液を含む領域部と、
前記領域部を2つの区画に分画し、前記2つの区画をナノポアで連通する分画部材と、
第一の区画に設けられた第一の電極と、
第二の区画に設けられ、前記第一の電極と電氣的に接続された第二の電極と、
前記第一の区画の電解液を、前記ナノポアを通して前記第二の区画へ移動させる電解液流発生手段と、
前記第一の電極と、前記第二の電極との間に電圧を印加する印加手段と、
前記ナノポアに流れるイオン電流をモニタリングするモニタリング手段と、を備えることを特徴とする、
L A L 試薬を使用しないエンドトキシン検出装置。

問い合わせ先

東北大学

産学連携機構 総合連携推進部

Website

<https://www.rpip.tohoku.ac.jp/jp/>

TEL 022-795-5274

FAX 022-795-5286

E-mail souren@grp.tohoku.ac.jp



我々の技術を世界に展開し、社会に貢献します