

JSBMS Letters

Vol.40 Supplement, 2015

第 40 回 日本医用マススペクトル学会年会

*The 40th Annual Meeting of the Japanese Society
for Biomedical Mass Spectrometry*

プログラム・抄録集

年会長 濑藤 光利 (浜松医科大学・解剖学講座 細胞生物学分野 教授)
(同・メディカルフォトニクス研究センター 教授)

会 期 2015 年 9 月 17 日(木)・18 日(金)

会 場 アクトシティ浜松 コングレスセンター



Japanese Society for
Biomedical Mass Spectrometry

日本医用マススペクトル学会

目 次

開催にあたって	2
会場案内	3
年会案内	8
日程表	13
プログラム	14
講演要旨	
招待講演	26
松本勇賞受賞講演	28
特別講演	30
シンポジウム 1	33
シンポジウム 2	37
シンポジウム 3	41
シンポジウム 4	45
ポスター発表	49
ランチョン・モーニングセミナー	112
テクノロジーフォーラム	117
学会賛助会員一覧	126
年会協賛企業一覧	127
展示企業一覧	128
年会運営委員一覧	129
企業広告	130
次回年会予告	

第40回日本マススペクトル学会年会開催にあたって

記念すべき第40回の日本医用マススペクトル学会年会は浜松が担当させていただきました。日本医用マススペクトル学会は、質量分析法の医学とその関連領域への応用を目的とし、昭和51年から今日まで着実な発展を遂げて参りました。

第40回年会では、幅広い分野で最新の話題について議論したいと考えております。そこで、招待講演として英国 Imperial College London の Dr. Jeremy K Nicholson 氏、特別講演として九州大学の中山敬一教授をお招きしました。それぞれの先生により、「Systems Medicine in a Changing World: The Challenge of Measuring and Visualising Personal and Public Healthcare Data.」、「次世代プロテオミクスを用いたがん特性の解明」のお話を頂く予定です。また、シンポジウムでは、タンデムマス・スクリーニング、質量イメージング、トランスオミクス、危険ドラッグ、の4つのテーマを企画いたしました。さらに4社によるランチョン・モーニングセミナー、8社の協賛企業によるテクノロジーフォーラム企業講演、さらに機器・商品展示・企業広告においても多数の企業にご協力を頂きました。深く感謝を申し上げる次第です。

一般演題は、おかげさまで合計62題と過去最多の申し込みを頂きました。ポスター演題として2日間にわたり討論を行う予定です。若手優秀ポスター賞を企画しておりますので、評議員の皆様には積極的な投票をお願い申し上げます。懇親会場にて表彰を行います。懇親会は年会初日の18時半から受付開始、19時より会場近くのマイン・シュロスにて開宴いたします。多数のご参加をお待ち申し上げます。

さらには、日本医用マススペクトル学会主催の「医用質量分析認定士制度」の第3回目講習会を年会翌日に予定しています（9月19日（土）アクトシティ浜松コングレスセンター4階）。臨床検査や診療における質量分析技術の普及・標準化のより一層の進展を期待しております。

末筆ながら、本年会の開催に向けてご支援いただきました本学会の役員・会員の皆様、協賛いただきました企業各社に心よりお礼申し上げます。

本年会がご参加いただいた皆様の活発な討論により今後の発展につながることを祈念いたします。

第40回日本医用マススペクトル学会

年会長　瀬藤　光利

浜松医科大学解剖学講座細胞生物学分野　教授
同・メディカルフォトニクス研究センター　教授

会場までのアクセス

【会場】アクティシティ浜松 コングレスセンター

〒430-7790 静岡県浜松市中区板屋町 111-1

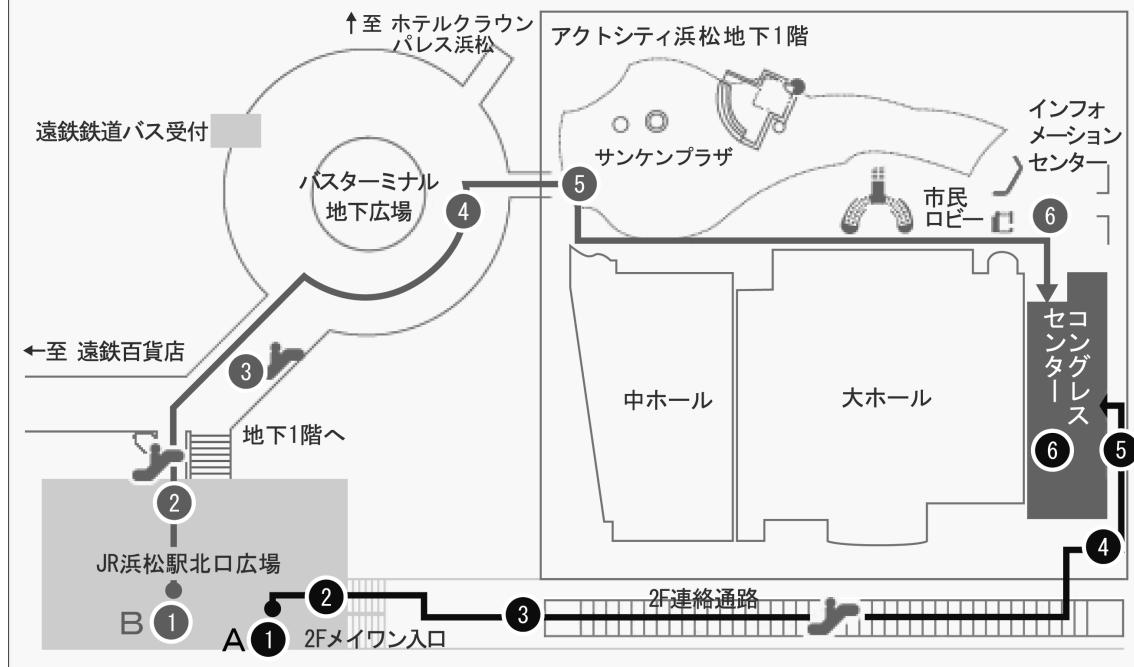


- 名古屋方面から 東名高速浜松西 IC. → 車で 30 - 40 分
- 東京方面から 東名高速浜松 IC. → 車で 30 - 40 分



●→ アクセス方法A ●→ アクセス方法B

コングレスセンターへは、JR浜松駅北口広場から動く歩道でのアクセスが便利です。



(A) JR浜松駅 東海道線改札（メイワン口）から

- ① 東海道線改札（メイワン口）
2階にある東海道線改札（メイワン口）より出て、道なりに直進。（東海道新幹線をご利用の方は、在来線乗換口を通過してください）
- ② 2F連絡通路
建物を出た後も道なりに進み、連絡路の階段スロープを通過。
- ③ 2F連絡通路（動く歩道）
動く歩道に乗り直進してください。
- ④ コングレスセンターエントランスへの階段
動く歩道に2つ乗った後、左後に階段があるので1Fへ下りる。
- ⑤ コングレスセンターエントランス
階段を下り、左の壁沿いに進む。エントランスの自動扉があるので入る。
- ⑥ コングレスセンター1Fエントラントロリー
建物内右手奥にエスカレーター・エレベーターがあるので、目的の会場のある階へ。

(B) JR浜松駅方面から

- ① JR浜松駅
東海道線改札または東海道新幹線改札を出て右手、北口へ。
- ② JR浜松駅北口広場
北口を出た後、正面に地下へ下りるエスカレーター・階段があるので地下1階へ降りる。
- ③ バスターミナルエスカレーター前
地下へ降り直進するとバスターミナルへ行くエスカレーターがあり、その横を通過すると吹き抜けがある広場へ出る。
- ④ バスターミナル地下広場
右壁沿いに進むと青色の看板「B アクトシティ連絡地下道」があり通路を直進。
- ⑤ アクトシティ浜松入口
通路を抜けると右手に自動扉があり、入る。すぐ右手に中ホール入口がある。
- ⑥ 財団事務室前
館内を進むと、インフォメーションが左手に見え、右手に財団事務室がある。財団事務室手前のエスカレーターまたはエレベーターでコングレスセンターへ

● JR浜松駅までの所要時間

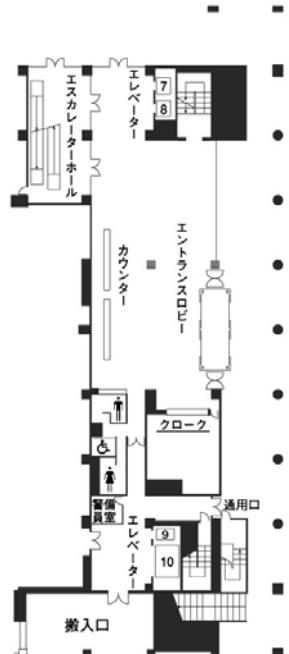
● 東京駅から
新幹線 ひかり 約1時間30分
新幹線 こだま 約2時間

● 名古屋駅から
新幹線 ひかり 約35分
新幹線 こだま 約50分

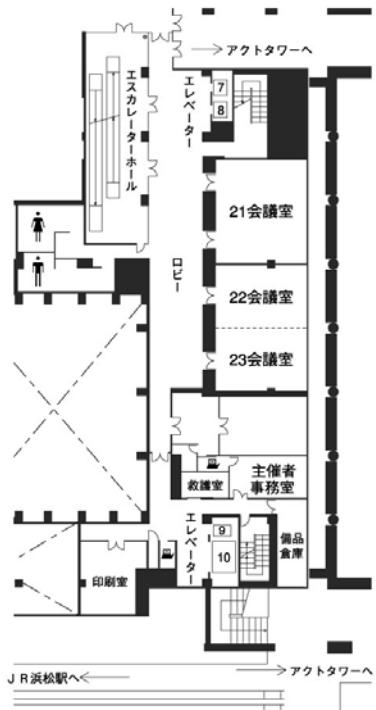
● 大阪駅から
新幹線 ひかり 約1時間30分
新幹線 こだま 約2時間

第40回日本医用マススペクトル学会年会会場見取り図

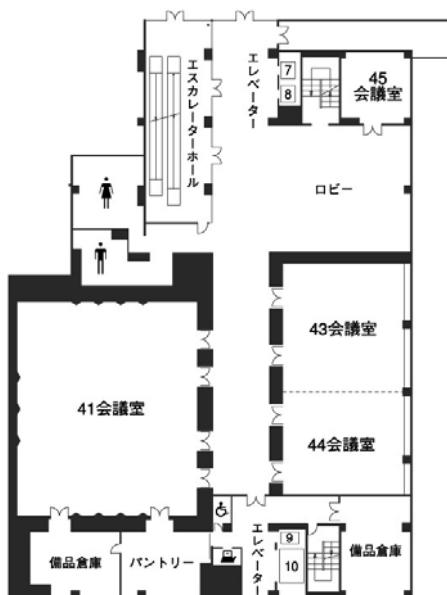
●1F エントランスロビー・搬入口



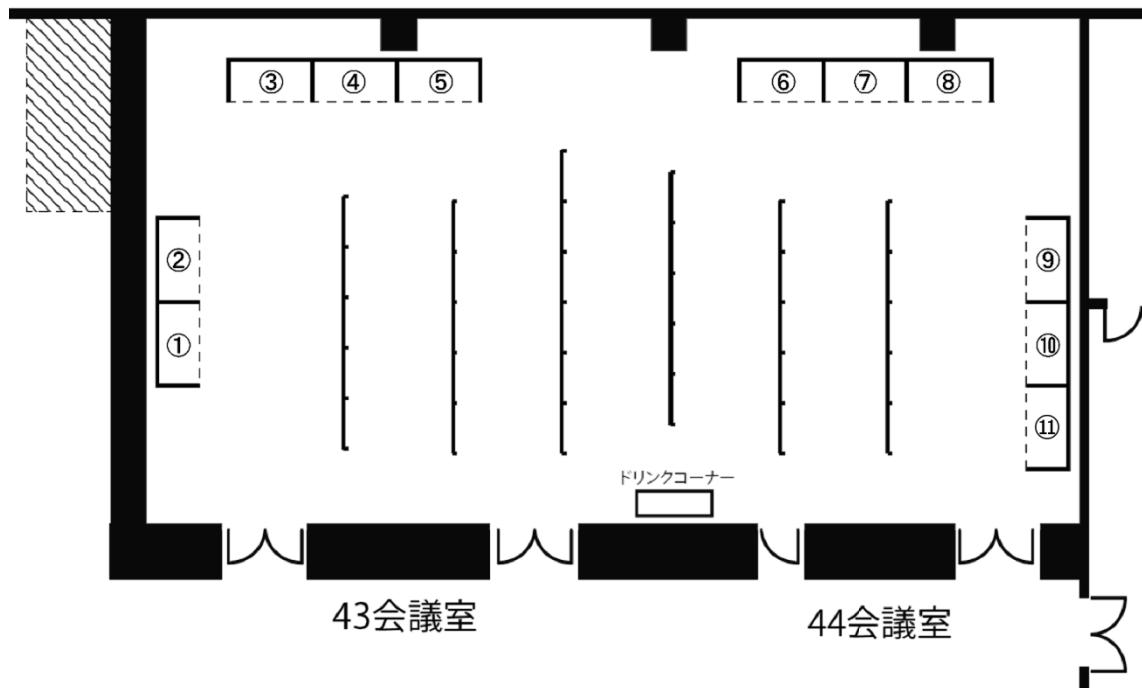
●2F 会議室



●4F 会議室・ランチョンモーニングセミナー・講習会会場



企業展示ブース配置図



- ① 日本ウォーターズ株式会社
- ② アジレント・テクノロジー株式会社
- ③ ブルカーダルトニクス株式会社
- ④ サーモフィッシュシャーサイエンティフィック株式会社
- ⑤ 株式会社エービーサイエックス
- ⑥ ジーエルサイエンス株式会社
- ⑦ シスマックス・ビオメリュー株式会社
- ⑧ シグマアルドリッヂャパン合同会社
- ⑨ 株式会社島津製作所
- ⑩ 大塚製薬株式会社
- ⑪ M S T 一般財団法人 材料科学技術振興財団

懇親会会場のご案内

【日時・場所】9月17日（木）19:00～（18:30～受付開始、19:00開宴）

はままつ地ビール工房 マイン・シュロス

住所：静岡県浜松市中区中央3丁目8-1

電話：053-452-1146



年会案内

【会期】 平成 27 年 9 月 17 日（木）・18 日（金）
(9 月 19 日(土)に医用質量分析認定士講習会開催)

【会場】 年会会場：アクトシティ浜松 コングレスセンター
メイン会場：4 1 会議室
展示会場：4 3 + 4 4 会議室
ランチョンセミナー会場：4 1 会議室、2 2 + 2 3 会議室
モーニングセミナー会場：4 1 会議室

【参加手続きについて】

- 受付：4 F ロビー 時間：17 日（木）9:00～、18 日（金）8:30～
・参加登録済みの方は、受付で名札をお渡しします。
・当日参加の方は、受付にて参加費をお支払いください。
正会員：7,000 円、非会員：12,000 円、学生会員：3,000 円
・年会期間中は必ずネームプレートをご着用ください。

【座長の方へ】

- ・担当時間の 10 分前には、会場内の次座長席にお越しください。

【演者の方へ】

- ・講演時間は、シンポジウムの座長の指示通りにお願いいたします。
・招待講演、特別講演は 60 分、受賞講演は 30 分、シンポジウムはお一人 20～30 分、
テクノロジーフォーラムは一社 15 分の持ち時間となります（すべて質疑応答込）。
・発表時間の厳守をお願いいたします。
・発表スライドに、利益相反（COI）の記載をお願いいたします。学会のホームページ
(<http://www.jsbms.jp/>) または年会のホームページから COI 発表者開示なし（様式
1-A）、または COI 発表者開示あり（様式 1-B）をダウンロードしてご使用ください。

○発表時のご注意とお願い

- ・すべて PC (PowerPoint)による発表となります。
・PC 受付での発表データ受付終了後、発表 10 分前までにご講演会場内の次演者席に
お越しください。
・舞台上にレーザーpointer を用意いたしますので、ご使用ください。

○発表データ受付について

- ・ご発表の 30 分前までに、PC 受付にて発表データの提出をお願いいたします。
・ご発表前に、PC 受付にて発表データの動作確認を行っていただきます。USB フラッ

シュメモリにて、発表データをご持参ください。USB フラッシュメモリは試写終了後、返却いたします。会場での提出は必要ありませんが、念のため会場にはご持参ください。

- ・お預かりした発表データは、発表用パソコンにコピーさせていただきますが、本学会年会プレゼンテーション以外に使用することはありません。年会終了後、年会事務局が責任を持って消去いたします。

○発表データ受付時のご注意

- ・動画や音声をご使用になる場合は、必ずオペレーターに申し出てください。
- ・データをハードディスクにコピーし、試写用パソコンにて動作を確認してください。
- ・PC 受付でのデータの修正、変更はできません。
- ・ウイルス定義データを最新のものに更新した状態のセキュリティソフトにて必ず事前にご自身でウイルスチェックをお願いします。PC 受付で、持ち込まれるメディア全てをウイルスチェックさせていただきます。

○データ（USB フラッシュメモリ）を持参される方へ

- ・お持ち込みいただけるデータは、USB フラッシュメモリのみです。
- ・また、ご自身のパソコン以外で文字化け等がなく、データを読み込めるか必ずご確認ください。
- ・発表時のトラブルを防ぐためにも、持ち込まれるメディアには、発表用のデータ（完成版）以外入れないようにしてください。ファイル名は「演題番号・演者名.ppt」、または「演題番号・演者名.pptx」としてください。
- ・会場でご用意するパソコン

OS : Windows 8 pro

アプリケーション : PowerPoint2013

- ・発表に使用できるデータ

Microsoft PowerPoint2003 以降で作成されたファイル（発表者ツール機能はご使用になれます）

- ・文字のフォント

日本語 : MS ゴシック/MSP ゴシック/MS 明朝/MSP 明朝の 4 種類のみ。

英 語 : Times New Roman/Arial/Arial Black/Arial Narrow/Century/Century Gothic/Courier/Courier New/Georgia/ Symbol の合計 10 種類のみ。

上記以外のフォントを使用された場合は、表示に不具合が発生する可能性があります。

- ・画面の解像度は XGA (1024x768) です。これより大きい場合、スライドの周囲が切れてしまします。また、画面のぎりぎりまで使用すると再現環境の違いにより文字や画像のはみ出し等の原因になることがあります。

- ・動画を使用する場合、スライドファイルと動画データと一緒に保管してください。
なお、動画ファイルは Windows Media Video (WMV ファイル) 形式とし、拡張子 (.wmv) を必ずつけてください。

○パソコンをご持参される方へ

- ・コネクタの形状はアナログVGA（D-Sub15ピン）に限ります。変換ケーブルが必要な機種（Macintosh等）をご使用の場合は、変換ケーブルをご持参ください。
- ・ご自身のパソコンから外部モニターに正しく出力できることを確認してください。個々のパソコンやOSにより設定方法が異なりますので、事前にご確認ください。
- ・画面の解像度はXGA（1024x768）です。これより大きい場合、スライドの周囲が切れてしまいます。
- ・発表中にスクリーンセーバーや省電力モードにならないよう事前に設定をお済ませください。
- ・電源コンセントを用意しておりますので、必ず電源ケーブルをお持ちいただき、バッテリーでのご発表はご遠慮ください。
- ・ご自身のパソコンから試写用プロジェクターに、発表データが正しく出力できることを確認してください。特に動画、画像データは、本体画面には表示されても、外部出力に接続した画面には表示されない場合があります。十分に注意してご確認ください。
- ・万が一のトラブルの場合に備え、予備としてのデータ（USBフラッシュメモリ）を持参頂きますようお願いいたします。

【ポスター発表の方へ】

- ・ポスターボードの大きさは、横120cm×縦180cmです。押しピンは事務局で用意いたします。所定のボードに掲示してください。発表時間中は、ポスター前で質疑応答をお願いいたします。
 - ・発表ポスターに利益相反（COI）の記載をお願いいたします。学会のホームページ（<http://www.jsbms.jp/>）または年会のホームページからCOI発表者開示なし（様式1-A）、またはCOI発表者開示あり（様式1-B）をダウンロードしてご使用ください。
 - ・なお、第40回日本医用マススペクトル学会年会では、若手研究者（35歳以下）の優れたポスターに「若手優秀ポスター賞」を贈ります。詳細は、別に示す通りです。
- ・掲示時間：9月17日（木）9:00～9月18日（金）15:00
(ポスター掲示は9月17日（木）9:00～10:00までの間にお願いいたします。)
- ・発表時間：奇数演題 9月17日（木）13:00～14:00
偶数演題 9月18日（金）13:00～14:00
- ・撤去時間：9月18日（金）15:00～16:00
(時間を過ぎても撤去されていないポスターは事務局にて断りなく処分します。)
- ・表彰式場：9月17日（木）19:00 懇親会会場

【企業展示の方へ】

- ・1展示スペースは、間口200cm×奥行100cm×高さ240cmのブースとなっております。また、ブースの中には机（幅180cm×奥行60cm×高さ70cm）を用意いたします。電源は1ブース500Wまで使用できるように確保しています。

【懇親会】

- ・懇親会は、17日(木)19:00より（18:30受付開始、19:00開宴）、マイン・シュロスにて行います。なお、懇親会場までは、徒歩にての移動をお願いいたします(約5分)。係の者がご案内申し上げます。当日参加者は、年会受付または懇親会場にて懇親会費をお支払いください(7,000円)。

【理事会】

- ・理事会は16日(水)14:30より、21会議室にて行います。
- ・新理事会は16日(水)15:30より、21会議室にて行います。

【社員総会・会員集会】

- ・社員総会は17日(木)12:00～12:30、2F 22+23会議室にて行います。
- ・会員集会は17日(木)15:00～15:30、41会議室にて行います。

【その他】

- ・会議室およびロビーでWi-Fi接続が可能です。
- ・4Fにクローケは設置しておりません。
- ・ポスターセッション中に協賛企業からのドリンクを数量限定でご用意します。
- ・アクティシティ浜松コングレスセンターの駐車場をご利用になれます(有料)。

【問い合わせ先】

第40回日本医用マススペクトル学会年会事務局

(TEL/FAX: 053-435-2092、E-mail: jsbms40.hamamatsu@hama-med.ac.jp)

ポスター発表者各位

年会で若手研究者（35歳以下）の優れたポスターに「若手優秀ポスター賞」を贈ります。

○若手優秀ポスター賞の審査および受賞者の発表方法

若手優秀ポスター賞へ応募された方は、発表者氏名に下線をしてください。

審査は9月17日(木)の発表終了後、投票によって行います。投票用紙は社員総会で配布し、投票箱はポスター会場入り口に設置しますので、評議員（社員）の方は必ず投票をお願いします。9月17日（木）の懇親会にて表彰式を行います。

各ポスター発表者は、下記の条件にご留意ください。

- ポスター発表時間を厳守してください。
- 演題は日本語と英語を併記してください。
- 図中の文字と図のキャプションは必ず英語で記載してください。
- 既定の時間までにポスターを掲示し、また規定の時間より前に撤去しないでください。

審査基準

以下の審査基準をもとに、総合的に判断します。

○研究の質に関する基準項目

- ・研究の有用性
- ・新規性、独創性
- ・実験の組み立ての妥当性。
- ・科学的な錯誤がないか。

○プレゼンテーションに関する基準項目

- ・ポスターを見渡して、説明を聞かなくても要点をすぐに理解することができるかどうか。
- ・文字や図の大きさが適当か。ある程度離れていても解読できるか。
- ・図表の英語説明が理解できるか。
- ・情報が過多ではないか。
- ・用語が正しく使用されているか。
- ・発表者の説明が簡素かつわかりやすく、説明時間が適当か。
- ・質問に対する回答が簡素かつ的確であるかどうか。
- ・その他、体裁が規定を逸脱していないか。

第40回日本医用マススペクトル学会年会事務局

日 程 表

【1日目】9月17日（木）		場 所
9:00～	受付開始	4F ロビー
9:55～ 10:00	開会の辞	41会議室（4F）
10:00～ 12:00	シンポジウム1	//
12:00～ 12:30	社員総会	22+23会議室（2F）
12:00～ 13:00	ランチョンセミナー1、2	41会議室（4F） 22+23会議室（2F）
13:00～ 14:00	ポスター発表（奇数演題）	43+44会議室（4F）
14:00～ 15:00	招待講演	41会議室（4F）
15:00～ 15:30	会員集会	//
15:30～ 16:00	松本勇賞受賞講演	//
16:00～ 17:30	シンポジウム2	//
17:30～ 18:30	特別講演	//
18:30～	懇親会（18:30～受付開始、19:00 開宴）	懇親会場

【2日目】9月18日（金）		場 所
8:30～	受付開始	4F ロビー
9:00～ 10:00	モーニングセミナー	41会議室（4F）
10:00～ 12:00	シンポジウム3	//
12:00～ 13:00	ランチョンセミナー3	//
13:00～ 14:00	ポスター発表（偶数演題）	43+44会議室（4F）
14:00～ 15:30	シンポジウム4	41会議室（4F）
15:30～ 17:30	テクノロジーフォーラム	//
17:30～ 17:35	閉会の辞	//

○ 【講習会】9月19日（土）

日本医用マススペクトル学会主催 第3回医用質量分析認定士講習会をアクティシティ浜松
コングレスセンター4階にて開催いたします。

受講料 5,000円、第40回年会参加者 3,000円（資料代含む）

プログラム

9月17日（木）

9:00 受付（4Fロビー）

9:55～10:00 開会の辞（41会議室）

10:00～12:00

シンポジウム1：「全国自治体で事業化されたタンデムマス・スクリーニングへの対応」
(41会議室)

オーガナイザー：重松陽介（福井大学）

座長：石毛信之（福井大学）

S1-1 「コンサルタント医師が行う陽性例の評価と対応」

窪田 満（国立成育医療研究センター総合診療部）

S1-2 『「全国自治体で事業化されたタンデムマス・スクリーニングへの対応」精密検査への対応の現況』

長谷川有紀（島根大学医学部小児科）

S1-3 「正常検体と患者データ情報収集によるタンデムマススクリーニングの精度管理」

花井潤師¹, 福士 勝², 石毛信之³, 田崎隆二⁴ (¹札幌市衛生研究所, ²札幌イムノダイアグノスティックラボラトリー, ³(公財)東京都予防医学協会, ⁴(一財)化学及血清療法研究所)

S1-4 「LC-MS/MSによる二次検査法の開発」

重松陽介¹, 畠郁江², 中島英規³ (¹福井大学医学部健康科学, ²福井大学医学部小児科学, ³国立成育医療研究センター・マススクリーニング研究室)

12:00～12:30 社員総会（22+23会議室）

12:00～13:00 ランチョンセミナー1（41会議室）

ブルカー・ダルトニクス株式会社

L S-1 「イメージング質量分析における高分解能・高精度ハイスループットの使い分け」
董澤 崇（ブルカー・ダルトニクス株式会社）

12:30～13:00 ランチョンセミナー2（22+23会議室）

株式会社エービー・サイエックス

L S-2 「マルチオミックスなデータ解析、保管、共有を可能にするBaseSpace クラウド」
関 典広（イルミナ株式会社 プロダクトマーケティング部）

13:00～14:00 ポスター発表（奇数演題）（43+44会議室）

P-1 「HILIC-MS/MS法によるヒト体液中 tegafur 及び 5-fluorouracil の高感度分析法」

小渕律子^{1,2}, 李 晓鵬¹, 熊澤武志¹, 廣澤慎子², 長谷川智華³, 入戸野 晋¹, 高橋春男², 佐藤啓造¹ (¹昭和大学医学部法医学講座, ²昭和大学医学部眼科学講座, ³東邦大学医学部法医学講座)

- P-3 「次亜塩素酸により酸化されたホスファチジルコリンの LC/QTOF-MS を用いた分析」
星岡佑美¹, 安部寛子¹, 矢島大介¹, 岩瀬博太郎^{1,2} (¹千葉大学大学院医学研究院 法医学教室, ²東京大学大学院医学系研究科 法医学教室)
- P-5 「HSD10 病の血中アシルカルニチン分析による化学診断」
重松陽介¹, 畠 郁江², 中島英規³, 但馬 剛⁴, 石毛信之⁵ (¹福井大学医学部健康科学, ²福井大学医学部小児科学, ³国立成育医療研究センター・マスクリーニング研究室, ⁴広島大学大学院小児科学研究室, ⁵東京都予防医学協会小児スクリーニング科)
- P-7 「GC/MS 分析によるシトルリン血症患者尿中オルニチン検出の臨床意義」
阮 宗海, 李 奇, 金 明姫, 張 春花 (ミルスインターナショナル 研究開発部)
- P-9 「LC-MS/MS 法によるヒト尿中におけるバニリルマンデル酸、ホモバニリン酸、メタネフリン、ノルメタネフリンおよびクレアチニンの同時定量法の検討」
塩川亮太¹, 細田香織¹, 柴崎浩美², 横川彰朋², 石井和夫¹ (¹杏林大学保健学部, ²東京薬科大学薬学部)
- P-11 「Dried Blood Spot (DBS) と尿中の多糖類デキストラン及びヒドロキシエチルスターチの分析」
小島麻実¹, 岡野雅人¹, 土肥美智子², 陰山信二¹ (¹株式会社 LSI メディエンス アンチドーピングラボラトリ, ²国立スポーツ科学センター メディカルセンター)
- P-13 「大腸癌患者爪中光学異性体代謝物の分析」
西尾優汰, 閔 俊哲, 轟木堅一郎, 水野 初, 豊岡利正 (静岡県立大学薬学部)
- P-15 「インドキシリ硫酸は残存腎機能の低下とともに血中に蓄積しウレミックサルコペニアに関係する」
佐藤恵美子^{1,2}, 森 建文¹, 鈴木亜里沙¹, 菅原真恵¹, 倉澤奈穂¹, 三枝大輔³, 大場郁子¹, 永沼絵理¹, 佐藤 博^{1,2}, 丹羽利充⁴, 伊藤貞嘉¹ (¹東北大学大学院 医学系研究科, ²東北大学大学院 薬学研究科, ³東北メディカル・メガバンク機構, ⁴修文大学健康栄養学部)
- P-17 「探針エレクトロスプレー/タンデム質量分析 (PESI/MS/MS) によるマウス肝臓内のメタボローム直接分析法 (インタクト・メタボローム分析法) の構築」
林 由美^{1,2}, 財津 桂^{1,2}, 村田 匡³, 大原倫美¹, 中切健太¹, 草野麻衣子¹, 那須民江⁴, 中島宏樹³, 石川哲也¹, 土橋 均¹, 石井 晃¹ (¹名古屋大学大学院医学系研究科, ²名古屋大学高等研究院, ³島津製作所, ⁴中部大学生命健康科学部)
- P-19 「蛍光イメージングプローブによるマウス肝臓炎症部における GC-MS/MS 代謝プロファイリング解析」

工藤恭彦, 中西 豪, 川名修一, 坂井健朗, 山口 亮, 竹内 司, 尾島典行
(株式会社 島津製作所)

- P-21 「実測に基づく MS/MS スペクトルライブラリーを用いた酸化リン脂質の包括的メタボローム解析システムの確立」
青柳良平^{1,2}, 池田和貴^{1,2}, 有田 誠^{1,2} (¹理化学研究所統合生命医科学センターメタボローム研究チーム, ²横浜市立大学生命医科学研究科分子エピゲノム科学研究所)
- P-23 「脂肪細胞の脂肪滴における過酸化トリグリセリドの分析」
惠 淑萍, 繁富(栗林)香織, 小林 悠, 千葉仁志(北海道大学 大学院保健科学研究院)
- P-25 「メタボローム解析による妊娠高血圧腎症治療標的分子の探索」
津國由佳子¹, 佐藤恵美子^{1,2}, 伏間智史¹, 佐藤 博^{1,2}, 高橋信行^{1,2}, 三枝大輔^{2,3}
(¹東北大学大学院薬学研究科, ²東北大学大学院医学系研究科, ³東北大学東北メディカル・メガバンク機構)
- P-27 「マイクロフローLC/MS/MS による尿中低分子ペプチド一斉分析法」
大田正規, 佐藤充彦, 陰山信二, 岡野雅人 (株式会社 LSI メディエンス アンチドーピングラボラトリー)
- P-29 「LC-MS/MS 法による大豆イソフラボンおよびエクオールとその抱合代謝物の一斉分析法の検討」
木下瑞貴¹, 細田香織¹, 柴崎浩美², 横川彰朋², 石井和夫¹ (¹杏林大学保健学部, ²東京薬科大学薬学部)
- P-31 「LC/ESI-MS/MS による血漿中 25-hydroxyvitamin D₃ 及びその硫酸抱合体の同時定量法の開発」
後藤彩佳¹, 横田麻衣¹, 小川祥二郎¹, 小松賢司², 杉浦崇浩², 東 達也¹ (¹東京理科大学薬学部, ²静岡済生会総合病院)
- P-33 「重水素化ノビレチンの合成と LC/MS/MS によるノビレチン定量への応用」
平野正悟¹, 米澤貴之², 車 炳允², 禹 浩泰^{1,2,3}, 堤内 要¹ (¹中部大学応用生物学部, ²中部大学生物機能開発研究所, ³株式会社 沖縄リサーチセンター)
- P-35 「2種類の安定同位体標識法を用いた膀胱癌の血中バイオマーカータンパク質の探索」
平田佳也¹, 遠藤克也¹, 斎藤達也^{1,2}, 川島祐介², 南田 論³, 松本和将³, 岩村正嗣³, 小寺義男^{1,2} (¹北里大学理学部生物物理学研究室, ²北里大学理学部附属疾患プロテオミクスセンター, ³北里大学医学部泌尿器科)
- P-37 「安定同位体標識法を用いたストレス障害モデルマウス海馬のプロテオーム変動の解析」
小高頌子¹, 小林千治¹, 加藤利佳^{1,2}, 高橋枝里¹, 斎藤達也^{1,2}, 川島祐介², 板倉 誠³, 山森早織³, 永山博通³, 飯田諭宜⁴, 宮岡 等⁴, 高橋正身³, 小寺義男^{1,2} (¹北里大学理学部生物物理学研究室, ²北里大学理学部附属疾患プロテオミクスセンター, ³北里大学医学部生化学研究室, ⁴北里大学医学部精神科)

- P-39 「H-D 交換反応を用いたハルミンのサロゲート物質合成」
横山裕士¹, 平野正悟¹, 米澤貴之², 車 炳允², 禹 済泰^{1,2,3}, 堤内 要¹ (¹中部大学応用生物学部, ²中部大学生物機能開発研究所, ³株式会社沖縄リサーチセンター)
- P-41 「MALDI-TOF MS による血液培養陽性ボトル培養液を用いた直接同定について」
池ヶ谷佳寿子, 土屋 憲 (静岡市立清水病院 検査技術科)
- P-43 「循環器病関連組織におけるLIMドメインタンパク質複合体解析」
中山寛明¹, 寺田 恵¹, 菊地沙耶子¹, 嶋田崇史², 植田初江³, 飯原弘二⁴, 池川雅哉¹
(¹同志社大学生命医科学部医生命システム学科, ²島津製作所基盤技術研究所, ³国立循環器病研究センター病理部, ⁴九州大学大学院医学研究院脳神経外科)
- P-45 「肺線維化に関連した脂質の網羅解析」
大山吉幸^{1,2}, 正木紀隆², 河野雅人¹, 榎本紀之¹, 中村祐太郎¹, 藤澤朋幸¹, 乾 直輝¹, 須田隆文¹, 瀬藤光利² (¹浜松医科大学 内科学第二講座, ²同 解剖学講座細胞生物学分野)
- P-47 「生体アミン化合物を対象とした新規誘導体化法によるマウス脳の質量分析イメージング」
深野 華¹, 脇 紀彦¹, 武井史郎^{1,2}, 瀬藤光利², 矢尾育子¹ (¹浜松医科大学メディカルフォトニクス研究センター, ²浜松医科大学解剖学講座細胞生物学分野)
- P-49 「質量分析イメージングデータを用いた組織切片のエントロピーイメージング解析」
佐藤駿平, 佐藤智仁, 正木紀隆, 瀬藤光利 (浜松医科大学 解剖学講座 細胞生物学分野)
- P-51 「硫酸アンモニウムはマトリックス添加剤として MALDI-IMS における脳内カルニチン、アセチルカルニチン、グリセロホスホコリン由来のシグナルを 10 倍以上増強する」
杉山栄二, 正木紀隆, 松下祥子, 瀬藤光利 (浜松医科大学医学系研究科解剖学講座細胞生物学分野)
- P-53 「前頭側頭葉変性症患者脳内におけるタウリンの濃度および分布解析」
松下祥子¹, 正木紀隆¹, 近藤豪¹, 武井史郎¹, 赤津裕康^{2,3}, 秋田天平⁴, 杉山栄二¹, 福田敦夫⁴, 矢尾育子⁵, 瀬藤光利¹ (¹浜松医科大学解剖学講座細胞生物学分野, ²福祉村病院長寿医学研究所, ³名古屋市立大学大学院医学研究科地域医療教育学, ⁴浜松医科大学神経生理学講座, ⁵浜松医科大学メディカルフォトニクスセンター光イメージング研究室)
- P-55 「肝切除量に着目したマウス肝切除後肝再生のイメージング質量分析」
井口公太¹, 辻 雄大², 中川祐輝², 中邨智之³, 波多野悦朗¹, 上本伸二¹, 池川雅哉²
(¹京都大学医学研究科肝胆膵移植外科, ²同志社大学生命医科学部医生命システム学科, ³関西医科大学薬理学講座)
- P-57 「S D T ラットの脾臓を対象としたプロテオミック質量イメージング」
益山 慶¹, 岩崎了教², 葛原由貴³, 若園 博¹, 菊澤 崇², 藤ヶ谷浩文¹, 東山真澄¹, 日比大介¹, 柳浩由紀¹, 宿谷真由³, 池川雅哉³ (¹小野薬品工業, ²ブルカーダルトニクス, ³同志社大学生命医科学部医生命システム学科)

P-59 「げっ歯類精巢におけるヌクレオチドのイメージング質量分析」
中西勝之¹, 辻 雄大¹, 中川祐輝¹, 井口公太¹, 角田伸人¹, 中畠智之², 松井喜之³,
市岡健太郎⁴, 小川 修³, 池川雅哉¹ (¹同志社大学生命医科学部医生命システム学科,
²関西医科大学薬理学講座, ³京都大学大学院泌尿器科学, ⁴いちおか泌尿器科クリニック)

P-61 「新鮮凍結乳癌組織切片を用いた MALDI-IMS 解析による乳癌特異タンパク分子候補の同定」
佐藤七夕子^{1,2}, 中西豊文², 岩本充彦¹, 内山和久¹ (¹大阪医科大学附属病院・乳腺内分泌外科, ²大阪医科大学・臨床検査医学教室)

14:00~15:00 招待講演 (41会議室)
座長:瀬藤光利(浜松医科大学)

L-1 「Systems Medicine in a Changing World: The Challenge of Measuring and Visualising Personal and Public Healthcare Data.」
Jeremy K. Nicholson (Department of Surgery and Cancer Imperial College London)

15:00~15:30 会員集会 (41会議室)

15:30~16:00 松本勇賞受賞講演 (41会議室)
座長:丹羽利充(修文大学)

L-2 「質量分析技術の臨床検査応用に関する研究」
野村文夫(千葉大学医学部附属病院マススペクトロメトリー検査診断学)

16:00~17:30 シンポジウム2:「質量イメージング解析—基礎から応用への新展開」
(41会議室)
オーガナイザー・座長:中西豊文(大阪医科大学)

S2-1 「イメージング質量分析における高感度測定のための二段階マトリックス供給法と手法最適化」
新間秀一(大阪大学大学院工学研究科)

S2-2 「イメージング質量分析による植物含有成分の解析」
平 修¹, 端崎里帆¹, 片野 肇¹, 金子大作², 中西豊文³ (¹福井県立大学生物資源学部, ²九州工業大学, ³大阪医科大学)

S2-3 「統合失調症治療薬ハロペリドールによる神経毒性発現機構の解析:質量イメージング手法による脳内ピリジニウム代謝物の可視化」
吉田原規¹, 中西豊文², 杉本香奈³, 五十嵐一雄⁴ (¹近畿大学医学部法医学, ²大阪医科大学臨床検査医学, ³大阪大学大学院医学系研究科法医学, ⁴一般社団法人医薬分析協会)

S2-4 「アルツハイマー病脳研究のための質量イメージング解析」
池川雅哉¹, 宮坂知宏¹, 角田伸人¹, 岩崎了教², 藤澤 崇², 隅藏大幸³, 村山繁雄³,
井原康夫⁴ (¹同志社大学生命医科学部, ²ブルカー・ダルトニクス株, ³東京都健康長寿医療センター研究所高齢者ブレインバンク, ⁴同志社大学脳科学研究科)

- 17:30~18:30 特別講演（41会議室）
座長：瀬藤光利（浜松医科大学）
- L-3 「次世代プロテオミクスを用いたがん特性の解明」
中山敬一（九州大学 生体防御医学研究所 分子医科学分野 ヒトプロテオーム研究センター）
- 19:00~ 懇親会（はままつ地ビール工房 マイン・シュロス 18:30受付、19:00開始）

9月18日（金）

- 8:30 受付（4Fロビー）
- 9:00~10:00 モーニングセミナー（41会議室）
サーモフィッシュ・サイエンティフィック株式会社
- MS-1 「LC/MS/MS の臨床検査応用への取り組み」
佐藤 守（千葉大学医学部附属病院マススペクトロメトリー検査診断学）
- 10:00~12:00
シンポジウム3：「トランスオミクス解析が切り拓く次世代医療におけるバイオマーカー探索」
(41会議室)
オーガナイザー・座長：三枝大輔（東北大学）
座長：松田史生（大阪大学）
- S3-1 「トランスオミクス解析によるインスリン代謝制御ネットワークの再構築」
柚木克之¹, 久保田浩行^{2,3}, 黒田真也^{1,4} (¹東京大学大学院理学系研究科・生物科学専攻, ²九州大学・生体防御医学研究所・トランスオミクス医学研究センター・統合オミクス分野, ³JST さきがけ, ⁴JST CREST)
- S3-2 「脂質クオリティから解き明かす病態・バイオロジー研究」
有田誠^{1,2} (¹理化学研究所統合生命医科学研究センター・メタボローム研究チーム, ²横浜市立大学大学院生命医科学研究科)
- S3-3 「代謝フラックス解析と中心代謝のトランスオミクス」
松田史生, 清水 浩（大阪大学大学院情報科学研究科）
- S3-4 「大規模コホートオミクス解析による疾患予防マーカー探索」
三枝大輔^{1,2} (¹東北大学東北メディカル・メガバンク機構, ²東北大学大学院医学系研究科)

12:00~13:00 ランチョンセミナー3（41会議室）

- アジレント・テクノロジー株式会社
- LS-3 「LC-QTOF を用いた危険ドラッグの分析」
滝埜昌彦（アジレント・テクノロジー株式会社）

13:00~14:00 ポスター発表（偶数演題）(43+44会議室)

- P-2 「組織切片中ジフェニジンの MALDI-MS (/MS)による直接分析」
南方かよ子¹, 鈴木雅子², 野澤秀樹¹, 山岸 格¹, 長谷川弘太郎¹, 阿民勿日他¹,
権守邦夫¹, 渡部加奈子¹, 鈴木修¹ (¹浜松医科大学大学法医学, ²浜松医科大学実験実習センター)
- P-4 「法医試料における薬物中毒のバイオマーカー探索 (2)」
安部寛子¹, 星岡佑美¹, 小梶哲雄², 奈良明奈¹, 永澤明佳¹, 矢島大介¹, 岩瀬博太郎^{1,3}
(¹千葉大学大学院医学研究院 法医学教室, ²株式会社エービーサイエックス, ³東京大学大学院医学系研究科 法医学教室)
- P-6 「質量分析による代謝異常症と薬物代謝の鑑別」
張 春花, 李 奇, 趙 寧, 金 明姫, 阮 宗海(ミルスインターナショナル研究開発部)
- P-8 「GCMS による糞便中腐敗産物の測定」
鳥蘭参丹, 福原美代子, 久田貴義 (株式会社テクノスルガ・ラボ)
- P-10 「LC-MS/MS による尿中コルチゾール及びコルチゾンの 6α- / 6β-水酸化代謝物の分離定量法」
横川彰朋¹, 八郷雅弘¹, 平野良平¹, 細田香織², 石井和夫², 古田 隆¹, 柴崎浩美¹
(¹東京薬科大学薬学部, ²杏林大学保健学部)
- P-12 「濾紙血を用いた新生児のクレアチニンクリーニング検査研究」
中野 優¹, 上村 治², 中島葉子³, 伊藤哲哉³, 本田雅敬⁴, 斎藤伸治¹ (¹名古屋市立大学小児科, ²あいち小児保健医療総合センター腎臓科, ³藤田保健衛生大学小児科, ⁴東京都立小児保健医療センター)
- P-14 「UPLC-MS/MS によるピリミジン塩基代謝物の定量によるピリミジン代謝異常症クリーニング」
前田康博¹, 皆川真里¹, 中島葉子², 後藤佳奈¹, 堀田祐志¹, 片岡智哉³, 川出義浩¹,
伊藤哲哉², 木村和哲^{1,3} (¹名古屋市立大学 大学院薬学研究科, ²藤田保健衛生大学 医学部小児科, ³名古屋市立大学 大学院医学研究科)
- P-16 「筋ジストロフィー患者の尿中プロスタグランジン D2 および E2 代謝物の変動」
竹内敦子¹, 裏出良博², 松尾雅文³ (¹神戸薬科大学, ²筑波大学国際統合睡眠医科学研究所, ³神戸学院大学総合リハビリテーション学部)
- P-18 「高脂肪食摂取が引き起こす腸内環境の変化に対するメタボローム解析による評価」
西海 信¹, 吉田 優^{1,2} (¹神戸大学大学院医学研究科, ²国立研究開発法人日本医療研究開発機構, AMED-CREST)
- P-20 「UPLC/MS/MS による日本人プロピオニ酸血症患者のプロピオニル-CoA カルボキシラーゼ活性測定」
後藤佳奈¹, 前田康博¹, 中島葉子², 伊藤哲哉², 前田陽子¹, 堀田祐志¹, 片岡智哉³,

川出義浩¹, 杉山成司⁴, 木村和哲^{1,3} (¹名古屋市立大学大学院薬学研究科, ²藤田保健衛生大学小児科, ³名古屋市立大学大学院医学研究科, ⁴愛知学院大学薬学部)

- P-22 「ステロイド検査試料としての爪の評価:左右の手の爪中ステロイドの含量差」
小川祥二郎¹, 加藤由那¹, 高野 香¹, 中畔勇太郎¹, 山形憲一郎¹, 閔 俊哲², 東 達也¹
(¹東京理科大学薬学部, ²静岡県立大学薬学部)
- P-24 「LC/MS/MS の臨床検査応用 一ビタミンD代謝物測定を基盤に—」
佐藤守¹, 石毛崇之², 小川祥二郎³, 西村基^{2,4}, 松下一之^{2,4}, 東達也³, 野村文夫¹
(¹千葉大学医学部附属病院マススペクトロメトリー検査診断学, ²千葉大学医学部附属病院検査部, ³東京理科大学薬学部臨床分析科学研究室, ⁴千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学)
- P-26 「蛍光イメージングプローブ投与マウス肝組織に対するLC/MSを用いた代謝物一斉分析」
中西 豪, 工藤恭彦, 川名修一, 山口 亮, 竹内 司, 尾島典行 (株式会社 島津製作所)
- P-28 「nano LC/MS/MS を用いたラット肝臓中胆汁酸一斉分析法の構築」
浅野友美^{1,2}, 財津 桂¹, 瀧健太朗¹, 草野麻衣子¹, 北森一哉², 内藤久雄³, 那須民江⁴, 土橋 均¹, 石井 晃¹ (¹名古屋大学大学院医学系研究科, ²金城学院大学生活環境学部, ³藤田保健衛生大学医学部, ⁴中部大学生命健康科学部)
- P-30 「臨床検査を目的とした LC-MS/MS による血清中アシルカルニチンの定量分析法の開発」
小林弘典¹, 山田健治¹, 坊 亮輔¹, 長谷川有紀¹, 山口清次¹, 城下友義², 伊藤利将², 井手野 晃², 大原利成² (¹島根大学医学部小児科, ²積水メディカル株式会社)
- P-32 「LC-MS/MS による血清エストロゲンおよびプログステロンの同時定量」
宮林佑衣¹, 佐藤 守², 滝脇正貴², 西村 基¹, 松下一之¹, 野村文夫² (¹千葉大学大学院 医学研究院 分子病態解析学, ²千葉大学医学部附属病院マススペクトロメトリー検査診断学)
- P-34 「ヒト靭帯におけるグリコサミノグリカンの解析」
長子晴美¹, 原 伸正¹, 日吉峰麗¹, 河野通快², 内尾祐司², 土屋美加子¹ (島根大学医学部 ¹生化学講座, ²整形外科学講座)
- P-36 「Abcd1 ノックアウトマウスの脳のリン脂質解析」
濱弘太郎¹, 藤原優子¹, 守田雅志², 今中常雄², 下澤伸行³, 横山和明¹ (¹帝京大・薬, ²富山大・薬, ³岐阜大・生命科学総合研究支援センター)
- P-38 「Effects of preanalytical variables on serum peptidome profiling for long-term storage using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry」
土田祥央¹, 佐藤守¹, 梅村啓史², 曽川一幸³, 滝脇正貴¹, 別府美奈子⁴, 西村基⁴, 小寺義男⁵, 松下一之⁴, 野村文夫¹ (¹千葉大学医学部付属病院マススペクトロメトリー

検査診断学, ²岡山大学大学院医歯学総合研究科, ³麻布大学生命環境科学部臨床検査技師学科, ⁴千葉大学医学部医学研究院分子病態解析学, ⁵北里大学理学部物理学科)

P-40 「MALDI-TOF MS における *Neisseria meningitidis* の誤同定一例」

大野智子（愛知医科大学病院感染制御部）

P-42 「MALDI mass spectrometry imaging による凍結組織アレイ包埋乳がん組織の低分子代謝産物プロファイリング」

寅田信博¹, 久保 真¹, 三浦大典³, 大内田研宙¹, 宮崎哲之², 藤村由紀³, 早川英介³, 大塚隆生¹, 宮坂義浩¹, 真鍋達也¹, 小田義直², 水元一博⁴, 中村雅史¹ (¹九州大学臨床・腫瘍外科, ²九州大学形態機能病理, ³九州大学先端融合医療レドックスナビ研究拠点, ⁴九州大学病院 がんセンター)

P-44 「ヒト胎盤における終末絨毛と幹絨毛におけるリン脂質分布パターンの特徴と胎盤病理所見の相関について」

山崎香織¹, 正木紀隆², 幸村友季子¹, 早坂孝宏³, 伊東宏晃¹, 金山尚裕¹, 濑藤光利² (¹浜松医科大学産婦人科学講座, ²浜松医科大学解剖学講座細胞生物学分野, ³北海道大学大学院保健科学研究院)

P-46 「トリプルネガティブ乳癌の再発予測因子の質量顕微鏡を用いた探求」

細川優子¹, 正木紀隆², 松下祥子², 杉山栄二², 小倉博之¹, 椎谷紀彦¹, 濑藤光利² (¹浜松医科大学第一外科, ²浜松医科大学解剖学講座 細胞生物学分野)

P-48 「蛍光イメージングプローブ投与マウス肝組織に対する各種イメージング技術の適用」

山口 亮¹, 山本卓志¹, 中川 薫¹, 渡部直樹², 竹内 司¹, 尾島典行¹ (¹株式会社島津製作所, ²レニショ一株式会社)

P-50 「アントシアニンの体内動態解析」

財満信宏¹, 稲葉栞里¹, 藤森隆道¹, 荘巖哲哉², 小林沙織², 森山達哉¹ (¹近畿大学農学部, ²株式会社ワカサ生活)

P-52 「衝突断面積に基づく MALDI イメージング及びMS/MS フラグメントデータの関連付けによる脂質の同定と局在化解析」

寺崎真樹¹, Mark Towers², Emmanuelle Claude², Johannes PC Vissers² (¹日本ウォーターズ株式会社, ²ウォーターズ・ヨーポレーション)

P-54 「質量分析イメージング法を用いたオリゴデンドロサイト分化過程の可視化」

平原幸恵¹, 若林毅俊¹, 森 徹自^{1,2}, 矢尾育子³, 津田雅之⁴, 本家孝一⁵, 小池太郎¹, 後藤仁志⁶, 小野勝彦⁶, 山田久夫¹ (¹関西医大・医・解剖学第一, ²鳥取大学・医・保健学科, ³浜松医大・メディカルフォトニクス研究センター, ⁴高知大学・総研, ⁵高知大学・医・生化学, ⁶京都府医大・生物学)

P-56 「質量顕微鏡によるテストステロン硫酸エステルのマウス精巣における可視化」

熊田アンリオバディア¹, 谷口久哲², 矢尾育子³, 古田享史⁴, 松田公志², 伊藤誠二¹

(¹ 関西医科大学医化学講座, ² 腎泌尿器外科学講座, ³ 浜松医科大学メディカルフォトニクス研究センター, ⁴ 岐阜大学医学系研究科)

- P-58 「神経障害性疼痛モデルマウスにおける脊髄後角の脂質変化」
坂野友啓¹, 正木紀隆¹, 大村威夫¹, 三原唯暉¹, 徐冬閏¹, 松山幸弘¹, 瀬藤光利¹
(¹ 浜松医科大学医学系研究科)
- P-60 「質量イメージング法を用いたハロペリドール由来ピリジニウム代謝物の脳内分布に関する可視化の検討」
吉田原規¹, 中西豊文², 杉本香奈³, 巽 信二¹, 五十嵐一雄⁴(¹ 近畿大学医学部法医学,
² 大阪医科大学臨床検査医学, ³ 大阪大学大学院医学系研究科法医学, ⁴ 一般社団法人医薬分析協会)
- P-62 LC/MS 解析による血中 CRP 複合体についての検討
小倉彩世子^{1,3}, 里村厚司¹, 星野 忠¹, 荒島康友¹, 志方えりさ¹, 藤岡和美¹, 下澤達雄³, 中山智祥¹ (¹ 日本大学医学部 病態病理学系 臨床検査医学分野, ² 日本大学病院 臨床検査医学科, ³ 東京大学医学部付属病院 検査部)

14 : 00～15 : 30 シンポジウム 4 :「危険ドラッグの 質量分析研究の最前線」(41 会議室)
オーガナイザー・座長：鈴木 修（浜松医科大学）

- S 4-1 「現場で採取可能な微量の血液、唾液及び汗からの薬物検査」
桑山健次（科学警察研究所）
- S 4-2 「カチノン系危険ドラッグの代謝－化学構造が代謝に及ぼす影響についてー」
志摩典明¹, 鎌田寛恵¹, 松田駿太朗¹, 掛橋秀直¹, 三木昭宏¹, 片木宗弘¹, 土橋 均²
(¹ 大阪府警科学捜査研究所, ² 名古屋大学大学院医学系研究科)
- S 4-3 「危険ドラッグ流通実態調査における質量分析の役割」
花尻（木倉）瑠理（国立医薬品食品衛生研究所）

15 : 30～17 : 30 テクノロジーフォーラム：質量分析技術関連の機器および企業商品の紹介
(41 会議室)
座長：池上浩司（浜松医科大学）

- TF-1 「最新の質量分析イメージングとイオンモビリティーQToF」
寺崎真樹¹, タナイ パクストン¹ (¹ 日本ウォーターズ株式会社)
- TF-2 「Agilent 6560 Ion Mobility Q-TOF LC/MSC-QTOF の紹介」
滝埜昌彦（アジレント・テクノロジー株式会社）
- TF-3 「イメージング質量分析のボトルネックを解消する rapifleX™ MALDI Tissuetyper™」
前田斉嘉（ブルカー・ダルトニクス株式会社）
- TF-4 「質量分析計を検出器とする体外診断用医療機器 Prelude MD の紹介」
窪田雅之（サーモフィッシュ・サイエンティフィック株式会社）

TF-5 「SWATH® Next-Generation Proteomics と OneOmics™による網羅的なターゲット定量プロテオーム解析」

柴田 猛 (サイエックス アプリケーションサポート)

TF-6 「リン脂質の除去とリン脂質を抽出する前処理製品について」

鈴木健一, 太田茂徳, 由井夕湖 (ジーエルサイエンス株式会社)

TF-7 「Hybrid SPE®-Phospholipid を用いたリン脂質除去による高感度分析」

松島江里香 (シグマアルドリッヂ ジャパン合同会社)

TF-8 「LC-MS/MS による血中医薬品分析のための全自動前処理システム」

尾島典行¹, 稲垣知子¹, 塚本多矩¹, 柴田光^{1,2}, 川上大輔¹ (¹(株)島津製作所分析計測事業部, ²Shimadzu Scientific Instruments Inc.)

17:30~17:35

閉会の辞 (41会議室)

講演要旨

(L-1：招待講演・L-2：松本勇賞受賞講演・L-3：特別講演)

Systems Medicine in a Changing World : The Challenge of Measuring and Visualising Personal and Public Healthcare Data.

Jeremy K. Nicholson
Department of Surgery and Cancer
Imperial College London

Changes in climate and population densities and distribution plus increasing socioeconomic stresses placed on healthcare systems pose a unique series of challenges in 21st Century medicine. A tension exists between the development of new investigative, diagnostic and prognostic technologies and the ability of scientists and healthcare professionals to deliver effective translational solutions. Systems biology tools can be applied at both individual and population levels to understand integrated biochemical function in relation to disease pathogenesis but there are still barriers to the clinical actionability of these modelling tools that present barriers to translation. The complex gene-environment interactions that create individual and population disease risks are also responsible for the expression of metabolic phenotypes in different body compartments and fluids. Thus *metabolic phenotyping* offers an important window on human systemic activity and spectroscopic tools can be employed to help characterize personalised profiles, disease processes and responses to therapy (1). We have developed new scalable and translatable strategies for “*phenotyping the patient journey*” (2) using top-down systems biology tools that capitalize on the use of metabolic datasets (3) for diagnostic and prognostic biomarker generation to aid clinical decision-making at point-of-care. These have been shown to be of value in the development of prognostic marker models for both clinical efficacy and drug toxicity in cancer patients. Such approaches, including those for near real-time applications as in surgery, molecular pathology, oncology and critical-care, can be extremely sensitive for the detection of diagnostic and prognostic biomarkers in a variety conditions (4,5). These methods also provide a powerful adjunct to conventional procedures for disease assessment that are required for future developments in “*precision medicine*” including understanding of the symbiotic influences on patient state (6). Finally, the “*Metabolome Wide Association Study*” (7) concept provides powerful new tool to generate disease risk biomarkers (e.g. for cancer or cardiometabolic diseases) from epidemiological sample collections. Such population risk models can also link to individual patient healthcare models thus closing the personal and public healthcare modelling triangle. The ultimate challenge is to take complex validated data sets and models on human biology and to visualise these in engaging formats and forms that clinically actionable in an ever changing background of human health.

1. Nicholson J.K. and Lindon, J.C. (2008) **Nature** **455** 1054-1056.
2. Nicholson, J.K. et al (2012) **Nature** **491** 384-392.
3. Clayton, T.A. *et al* (2006) **Nature** **440** 1073-1077.
4. Balog, J et al (2013) **Science Translational Medicine** **5** (194) 194ra93.
5. Veselkov, K.A. et al (2014) **PNAS** doi 10.1073/pnas.
6. Mirnezami, R. Nicholson, J.K. and Darzi, A. (2012) **New Eng. J. Med.** **366** (6) 489-491.
7. Holmes, E. *et al* (2008) **Nature** **453** 396-400.

Professor Nicholson obtained his BSc from Liverpool University (1977) and his PhD from London University (1980) in Biochemistry working on the application of analytical electron microscopy and the applications of energy dispersive X-Ray microanalysis in molecular toxicology and inorganic biochemistry. He was appointed Lecturer in Chemistry (Birkbeck College, London University, 1981-83) and Lecturer in Experimental Pathology at The London University School of Pharmacy (1983-85) returning to Birkbeck as a Senior Lecturer in Chemistry, then Reader (1989) and Professor of Biological Chemistry (1992). In 1998 he became Head of Biological Chemistry at Imperial College London then Head of Biomolecular Medicine (2006). Since 2009 he has been Head of the Department of Surgery and Cancer at Imperial where he runs a series of programs in stratified medicine, molecular phenotyping and molecular systems biology. In 2012 he became the Director of world's first National Phenome Centre specialising in large-scale phenotyping. Professor Nicholson is the author of over 600 peer-reviewed scientific papers and many other articles/patents on the development and application of novel spectroscopic and chemometric approaches to the investigation of metabolic systems failure, MWAS studies and pharmaocometabonomics. His research has been recognised by awards such as: the RSC Silver (1992) and Gold (1997) Medals for Analytical Chemistry; the Chromatographic Society Jubilee Silver Medal (1994); the Pfizer Prize for Chemical and Medicinal Technology (2002); the RSC medal for Chemical Biology (2003); the RSC Interdisciplinary Prize (200&) the RSC Theophilus Redwood Lectureship (2008); the Pfizer Global Research Prize for Chemistry (2006); the NIH Stars in Cancer and Nutrition Distinguished Lecturer (2010) and the Semelweiss-Budapest Prize for Biomedicine (2010). Professor Nicholson was also elected as a Fellow of the UK Academy of Medical Sciences in 2010. He was elected Lifetime honorary membership of the US Society of Toxicology (2013), Honorary lifetime membership of the International Metabolomics society (2013). He currently holds honorary professorships at 8 International Universities and in 2014 was Elected an Einstein Professor of the Chinese Academy of Sciences. ISI highly cited researcher (h= 99). He is a consultant to many pharmaceutical/healthcare companies in the UK, Europe and the USA and is a founder director of Metabometrix, an Imperial College spin-off company specializing in molecular phenotyping, clinical diagnostics and toxicological screening via metabonomics and metabolomics.

L-2

質量分析技術の臨床検査応用に関する研究

野村文夫

千葉大学医学部附属病院マススペクトロメトリー検査診断学 特任教授

Applications of mass spectrometry to laboratory medicine

Fumio Nomura

Division of Clinical Mass Spectrometry, Chiba University Hospital

質量分析技術の臨床検査応用には大きく 2 つのアプローチがある。新規バイオマーカー(検査項目)の発見を目的としたプロテオーム解析・メタボローム解析における質量分析法の利用と既存の臨床検査における質量分析法の活用である。比較プロテオーム解析のための質量分析技術の進歩は目覚ましく、多くの診断バイオマーカー候補が見出されているが、実際の臨床応用まで到達しているものは “A drop in the ocean” と表現されるようにきわめて少ない。マーカーの発見から実用化までの道のりは長いが、産学が密に連携することにより、①対象疾患の適切な選択、②臨床情報が付された臨床検体の適切な採取と保存、③知的財産の確保と維持、④体外診断薬の承認申請、などが可能となる。演者らは SELDI-TOF MS を用いて見出した血清中の 5.9kD ペプチドがウイルス性慢性肝障害における鋭敏な線維化マーカーとなる可能性を示した。現在臨床検査診断薬としての承認に向けて、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）で審査中である。また、原発性肝細胞癌 (HCC) 患者の肝切除組織の癌部、非癌部の比較プロテオーム解析の結果、病理診断に有用なマーカーとして clathrin heavy chain と formiminotransferase cyclodeaminase を見出した。癌部で高発現している蛋白質では翻訳後修飾などによる抗原性の変化が想定されるので、これらの蛋白質に対する血中自己抗体測定による HCC の早期診断の可能性を検討している。

一方、現在病院検査室における新たな検査法としての質量分析法の役割が急速に高まりつつある。最も成功しているのは MALDI-TOF MS を用いた菌体のプロテオーム解析による細菌・真菌の迅速同定である。本法は簡便、正確、迅速であり、さらにランニングコストも低く、臨床細菌検査に革命的な変化をもたらしている。我々も 2010 年から本技術を先ず研究室レベルで導入し、2012 年からは病院検査部に専用機器を設置してルーチン検査として実施している。in-house データベースの作成や、菌体構造に合わせた前処理の工夫などにより同定率の向上に努めている。特に血液培養結果や細菌性髄膜炎の起炎菌の迅速報告などにより感染症診療に貢献している。しかし、抗菌薬に対する感受性・耐性の判別がまだ十分できること、複数菌への対応が容易でないこと、など課題も多い。現在、ステロイドホルモンなどの低分子化合物の定量にはイムノアッセイが多用されているが、側鎖構造の微小な違いを抗体のみで測り分けることには限界があり、LC/MS/MS への移行の機運が高まっている、以上のように質量分析技術の臨床検査応用が今後急速に普及することに備えて、本技術の基礎を学ぶと同時に検査法の標準化のための共通基盤を持つことを目標として、2013 年より本学会において医用質量分析認定士制度がスタートし、現時点で 184 名が認定されている。

《略歴》

昭和 50 年 千葉大学医学部卒業、第 1 内科入局
昭和 53 年から 4 年間 アメリカ合衆国ニューヨーク市立大学医学部 Mount Sinai Hospital レジデントおよびアルコールと肝研究所研究員
(Charles S. Lieber 教授)
帰国後 千葉大学医学部第 1 内科において肝疾患の診療と研究に従事
昭和 58 年 千葉大学医学部第 1 内科助手
平成 5 年 筑波大学臨床医学系講師
平成 6 年 同助教授
平成 11 年 10 月 千葉大学医学部臨床検査医学講座
(平成 13 年 4 月より千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学) 教授および附属病院検査部長
平成 18 年 5 月より 附属病院疾患プロテオミクスセンター長兼務
平成 20 年 4 月より 遺伝子診療部長兼務
平成 27 年 3 月 千葉大学教授を定年退任
平成 27 年 4 月～ 千葉大学医学部附属病院マススペクトロメトリー検査診断学寄付
研究部門 特任教授
公益財団法人ちば県民保健予防財団 学術顧問

L-3

次世代プロテオミクスを用いたがん特性の解明

中山敬一

九州大学・生体防御医学研究所・分子医科学分野・ヒトプロテオーム研究センター

Next-generation proteomics unveils a global landscape of cancer

Keiichi Nakayama

Department of Molecular and Cellular Biology, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

ヒトゲノム計画が終了してほぼ 10 年が経とうとしているが、生命の基本作動原理には本質的に未解明の部分が多く残されている。それは細胞活動の実行部隊がタンパク質であるからである。生命というネットワークシステムを理解する上で、タンパク質の時間・空間・量という網羅的情報がない限り、個々のノードが複雑に連結するネットワークを理解することは不可能であろう。そこでわれわれはヒト全タンパク質の絶対定量という夢のプロジェクト（ヒトプロテオーム計画）に挑戦している。また全てのタンパク質を絶対定量することによって、精密な数理科学的な解析の導入を目指している。

われわれは 16 台の質量分析計を導入し、プロテオーム計測の飛躍的なスループット拡大に努めている。同時にヒトの全リコンビナントタンパク質 25,000 種を試験管内で合成し、この情報を基に高速 MRM で短時間に多数のタンパク質の絶対定量を可能にする技術 (in vitro proteome-assisted MRM for Protein Absolute QuanTification: iMPAQ) という方法を発明した（特許第 5468073 号）。この iMPAQ 法は、抗体を使用せずに数万種類のタンパク質を超高感度で絶対定量することが可能である。この iMPAQ 法を用いて多くのタンパク質の絶対定量を行った。特に正常細胞とがん細胞について、その代謝状態の変化をもたらすキー酵素を探査した。

約 90 年前にドイツの生理学者 Otto Warburg によって発見されたがんにおける代謝シフト「ワールブルグ効果」は、がん細胞が好気的条件下においても嫌気的代謝を行うという一見奇妙な振る舞いをする現象であるが、多くのがん細胞がこの戦略を探る理由は現在でも明らかではない。われわれはワールブルグ効果の本質を解明するため、iMPAQ 法によって正常細胞とがん細胞において、全ての代謝酵素（約 1000 種類）および代謝産物を絶対定量し、システム生物学的手法を取り入れながら、ワールブルグ効果のキー酵素を同定した。この結果、がんにおける代謝シフトは、カーボンソース利用をエネルギー產生から高分子化合物合成へリモデリングする適応戦略であることが明らかとなった。今後は iMPAQ 法によって多くの分野の研究を革新的に進歩させると同時に、臨床検査への応用やバイオマーカー探索など、医学生物学に長足の進歩をもたらすことが期待される。

このように正常と疾患におけるネットワーク構造の差異が明らかになれば、疾患ネットワークにおけるハブ分子を突き止め、それを標的とした創薬が可能になる。われわれはこの考え方を「ネットワーク標的創薬」を呼び、従来の分子標的創薬とは一線を画して考えている。ネットワーク標的創薬を可能にするためには、精密な定量計測と高度な情報数理科学の連携が必要であり、現在上記のがんにおける代謝シフトをパイロットケースとして実証研究を進めている。

《略歴》

1980年 3月 : 神奈川県立湘南高等学校 卒業
1980年 4月 : 東京医科歯科大学医学部医学科 入学
1986年 3月 : 同 卒業
1986年 4月 : 順天堂大学大学院医学研究科 入学（免疫学専攻）
1990年 3月 : 同 卒業

1990年 4月 : 理化学研究所 フロンティア研究員
1990年12月 : ワシントン大学医学部 ポストドクトラルフェロー
1992年 3月 : ワシントン大学ハワードヒューズ研究所 博士研究員
1995年 7月 : 日本ロシュ研究所生物学部 主幹研究員
1996年10月 : 九州大学生体防御医学研究所細胞学部門 教授
現在に至る

講演要旨

(S1～S4：シンポジウム)

S1-1

コンサルタント医師が行う陽性例の評価と対応

窪田 満

国立成育医療研究センター総合診療部

How should consultant doctors evaluate and respond to MS/MS positive results?

Mitsuru Kubota

Department of General Pediatrics & Interdisciplinary Medicine, National Center for Child Health and Development

【はじめに】 現在、日本全国で生まれるすべての新生児に対し、タンデムマス・スクリーニング（以下 TMS）が実施されている。しかし、実施主体である 67 都道府県・政令指定都市すべてに TMS を専門としている医師がいるわけではなく、コンサルタント医師が先天性甲状腺機能低下症などの内分泌疾患を専門としており、TMS の専門家ではないことが多い。

【再検査】 再検査の判断は基本的に TMS 担当の技術者が行っている。TMS 事業の一部であり、まだ「医療」ではない。精密検査にするか、再検査にするかの判断は単純なものではなく、児の哺乳状況、抗菌薬使用の有無、周産期の状態なども加味して決定している。TMS 技術者には、正確なデータを日々の業務で出し続けることのみならず、この「判断」が要求され、コンサルタント医師は専門家と共にその指導を行う必要がある。

【精密検査】 ここからがコンサルタント医師が直接担当する「医療」である。TMS によって、約 10,000 人に一人の患者が発見されている。その約 3 倍の人数が TMS 陽性の精査対象者と考えられ、精査医療機関に指定されれば、一定の数の精査を行う必要がでてくる。そのため、専門家でなくても診療できるように、日本先天代謝異常学会は、TMS 対象疾患に関する診療ガイドラインを作成した。しかし、ガイドラインが存在していても、それだけで診療できるわけではない。専門家にコンサルトできるシステムが必要であり、NPO 法人タンデムマス・スクリーニング普及協会では、タンデムマス・スクリーニング・コンサルテーションセンターを設置している。しかし、face to face のコンサルテーションも重要であり、演者は複数の自治体と契約し、コンサルト業務を行っている。また、昨年から関東地区で、「関東タンデムマス・スクリーニング・フォーラム」を開催している。

【医療上の問題点】 前述のシステムで精査方針が決まっても、確定診断のために必要な検査の中で、保険収載されている検査は僅かであることが問題である。「保険医療機関内での検査」という制約がある項目もあり、未だ良い診療体制になっていない。

【まとめ】 何よりも重要なことは、地域のコンサルタント医師を支えるシステムの構築である。TMS の専門家は、医師であっても技術者であっても、積極的にコンサルタント医師に関わり、より良い TMS を実現できるように努力しなければならない。

S1-2

「全国自治体で事業化されたタンデムマス・スクリーニングへの対応」 精密検査への対応の現況

長谷川有紀¹

¹島根大学医学部小児科

Management of second-tier tests in newborn screening using tandem mass spectrometry in Shimane University

Yuki Omura-Hasegawa¹

¹Department of Pediatrics, Shimane University School of Medicine

タンデムマス質量分析計 (MS/MS) を用いた新しい新生児マス・スクリーニング (NBS) は特に脂肪酸・有機酸代謝異常症の診断に有用だが、児の早期治療や障害予防に役立てるためには、精密検査への対応や診断後のフォローといったシステム構築が重要である。確定診断には MS/MS による血中アシルカルニチン分析に加えて、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) を用いた尿中有機酸分析や遺伝子解析、酵素活性測定などの検査が必要だが、これらの二次検査を実施できる施設は限られているのが現状である。

島根大学では 1995 年から尿中有機酸分析を、2003 年からは血中アシルカルニチン分析を開始した。2014 年 12 月までに、NBS を除いたのべ分析検体数は尿中有機酸分析が 23,496 検体、アシルカルニチン分析 20,255 検体、遺伝子解析 532 検体、酵素活性/immunoblotting 884 検体と、国内外から多数のハイリスク児の診断依頼に対応し、経験を重ねてきた。

島根大学で NBS を行った症例については、2005 年 4 月から 2014 年 12 月までの分析数が計 224,352 検体で、うち精密検査となった症例が 199 例 (0.09%)、さらなる検査を行った症例（疑陽性例）は 77 例 (0.03%) で、最終的に代謝異常と診断されたのは 32 例 (0.01%) であった。疾患はフェニルケトン尿症 (PKU) 5 例、軽症を含むプロピオノ酸血症と極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症がそれぞれ 4 例、メチルマロン酸血症、中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症などが 2 例ずつ発見された。先天性疾患以外にもビタミン 12 不足によると思われる一過性のメチルマロン酸血症 12 例、ビオチン欠乏 1 例なども診断した。さらに血清アシルカルニチン分析で軽度の異常が続く症例に対しては、遺伝子解析や酵素活性測定を行い、計 7 例が VLCAD 欠損症や MCAD 欠損症の保因者と診断された。

このように NBS から診断確定までのシステムが確立していれば、精密検査の必要な症例に素早く対応できるだけでなく、症例ごとにデータを詳細に解析でき、精密検査率を一定に保ちながら見逃し例を減らすためのより適切な指標の検討にも役立つ。診断経験を活かし、二次検査施設を持たない自治体でもより迅速な診断ができるよう、NPO 法人タンデムマス普及協会を設立し診断支援の連携を図っており、これらを含めた対応の現状をお話します。

S1-3

正常検体と患者データ情報収集によるタンデムマススクリーニングの精度管理

花井潤師¹, 福士 勝², 石毛信之³, 田崎隆二⁴

¹ 札幌市衛生研究所, ² 札幌イムノダイアグノスティックラボラトリー, ³(公財)東京都予防医学協会, ⁴(一財)化学及血清療法研究所

Quality control utilizing screening data from the normal babies and the patients in newborn screening using tandem mass spectrometry

Junji Hanai¹, Masaru Fukushi², Nobuyuki Ishige³, Ryuji Tasaki⁴

¹Sapporo City Institute of Public Health, ²Sapporo Immuno diagnostic laboratory, ³Tokyo Health Service Association, ⁴The Chemo Sero-Therapeutic Research Institute

【目的】 タンデム質量分析計を用いる新生児代謝異常マススクリーニング(以下、タンデム・マススクリーニング: TMS)は全国の自治体で実施されており、検査施設は38か所となっている。TMSは多指標による多種類の疾患のスクリーニングであることから、各疾患に応じた適切なカットオフ値の設定が必要であり、全国均質な精度の高いスクリーニングを目指す上からも、施設間差の解消は重要な課題である。そこで、スクリーニング精度の改善と施設間差の解消を図るため、TMSの精度向上に成果を上げているアメリカ「The Region 4 Stork collaborative project」(以下、R4S)の解析システムを参考に、各指標の正常値分布とカットオフ値の調査結果に加えて、スクリーニング発見例および偽陽性例の検査データを利用した日本版R4Sを想定したTMS Web解析システムの構築を検討した。

【方法】 平成26年9月から12か月、日本マススクリーニング学会技術部会が作成した内部精度管理ツールを用いて、TMSスクリーニング施設に正常値分布調査を行った。また、厚労科研研究班「マススクリーニング検査精度向上に関する研究」(研究代表者:島根大学医学部小児科教授山口清次)の一環としてTMS発見患者調査を実施し、スクリーニング時のTMSデータを収集した。

【結果】 R4SのAnalyte Comparison解析を参考にEXCELで作成した内部精度管理ツールにより各施設の正常値分布、カットオフ値、患者データなどを箱ひげ図で表示できるようになった。この解析ツールを発展させ、クラウドサーバー上にTMS専用のWeb解析システムを構築することにより、各検査施設では定期的にまたは随時、正常値分布集計結果や患者データを更新し、必要な時に正常値分布の施設間差やカットオフ値の妥当性を検証できる。

【考察】 我が国のTMSは年間検体数が2万件に満たない施設が約半数あり、全国均質なスクリーニング精度の確保が重要な課題であるが、Web解析システムを用いることで、全国の検査施設が、必要な時にいつでも、検査データの施設間差やカットオフ値の妥当性を検証、解析できることから、TMSにおける検査精度のさらなる向上に貢献することが期待される。

S1-4

LC-MS/MS による二次検査法の開発

重松陽介¹, 畑 郁江², 中島英規³

¹福井大学医学部健康科学, ²福井大学医学部小児科学, ³国立成育医療研究センター・マススクリーニング研究室

Development of second-tier tests using LC-MS/MS for newborn screening

Yosuke Shigematsu¹, Ikue Hata², Hideki Nakajima³

¹Department of Health Science, University of Fukui

²Department of Pediatrics, University of Fukui

³Mass screening laboratory, National Research Institute for Child Health and Development

【目的】 新生児マススクリーニングのアシルカルニチン・アミノ酸 flow-injection ESI-MS/MS 分析では、異性体の分別定量が困難であり、スクリーニング指標物質の診断特異性が低いため偽陽性が多く発生する。一方、濾紙血中には通常の指標物質以外に診断特異的な代謝物が含まれているので、その定量を目的とした LC-MS/MS 法を開発した。

【方法】 AB Sciex 社製 API4000 MS/MS system に島津製作所製 LC system を接続して LC-MS/MS 分析を行った。LC カラムは Imtakt 社製マルチモードクロマトグラフィーカラム Scherzo SS-C18 (3.0 x 150 mm) を使用した。

【結果】 アミノ酸とアシルカルニチンはスクリーニング用の抽出液を乾涸し 2% ギ酸に再溶解して分析可能であり、アシルグリシンは安定同位体標識体を別途加えることで、同時に分析可能であったが、高感度で短時間に分析するには、対象疾患ごとの分析メソッドを使用する必要があった。有機酸代謝異常症で診断に利用される有機酸として、メチルマロン酸、3-ヒドロキシプロピオン酸、グルタル酸、3-ヒドロキシグルタル酸、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸、3-ヒドロキシイソ吉草酸が stable-isotope dilution 法で濾紙血 1 パンチを用いて定量出来たが、溶解液や移動相に工夫が必要であった。

【考察】 厳格な母乳栄養主義により重度の飢餓状態に陥っている新生児では異化亢進により対象疾患の偽陽性となることが多々あり、早期の検査で適切に状態評価を行うことは重要である。メープルシロップ尿症は allo-isoleucine の増加で化学診断が可能であり、飢餓による異化亢進状態と区別出来る。メチルマロン酸血症・プロピオニ酸血症の偽陽性も起こりうるが、これもメチルマロン酸濃度定量で化学診断が可能である。中長鎖アシルカルニチンの増加による脂肪酸酸化異常症の偽陽性については、今回の“二次検査”で鑑別するのは難しいので、別のアルゴリズムで対応することになろう。同時に増加する C5-DC カルニチンに対しては 3-ヒドロキシグルタル酸などの有機酸定量が化学診断に有用である。このような LC-MS/MS 法がスクリーニング検査施設にスムーズに導入出来る体制をつくることが求められている。

S2-1

イメージング質量分析における高感度測定のための二段階マトリックス供給法と手法最適化

新間秀一¹

¹大阪大学大学院工学研究科

Methodology of two-step matrix application procedure for imaging mass spectrometry

Shuichi Shimma¹

¹Osaka University Graduate School of Engineering

IMS は、近年、創薬研究における生体内薬物動態の評価や毒性評価のための薬物代謝物イメージングなどに導入されつつある過渡期であるといえる。今後、医薬品の IMS が真に使える技術となるためには多施設での評価が可能な標準手順をはじめとする評価基準が必要であると考えている。しかしながら、現時点での医薬品における IMS では「目的の薬物由来シグナルが見えない」、「医薬品の生体内分布を見るには薬効評価での投与量では感度不十分」といった初步的であるが解決が非常に難しい問題に直面することがある。したがって、汎用的技術として成熟するにはまだ様々な障壁を乗り越える必要がある。

障壁の一つの要因として、薬物を可視化するために行う試料前処理法の不十分さ、不適切さが挙げられる。医薬品の IMS においては、過去に報告されているリン脂質可視化のための前処理法とは全く別の条件設定が必要であるが、どのような戦略で前処理法を開発することが望ましいか明確ではない。

IMS 前処理時におけるパラメーターはマトリックス供給法に限っても数多く存在する。想定されるパラメーターが最終結果にどの程度の影響を与えるか、という情報を保有しているか保有していないかはメソッド開発を行う上で非常に重要であると考えている。本発表では、イメージング質量分析の高感度測定用に開発された二段階マトリックス供給手法の概要について説明し、本手法を実施するにあたり想定される様々なパラメーターについて整理する。また、提示したパラメーターが実際に組織上から得られるマススペクトルに、どのような影響を与えているかについて例をあげて考察したい。

S2-2

イメージング質量分析による植物含有成分の解析

平 修¹, 端崎里帆¹, 片野 肇¹, 金子大作², 中西豊文³
¹福井県立大学生物資源学部、²九州工業大学、³大阪医科大学

Nano-PALDI MS for Plant hormone

Shu TAIRA¹, Riho HASHIZAKI¹, Hajime KATANO¹, Daisaku KANEKO², Toyofumi NAKANISHI²
¹Fukui Prefectural University Department of Bioscience,
²Kyushu Institute of Technology,
³Osaka Medical College, Faculty of Medicine

【目的】

最近は、イメージング MS も医薬以外の分野、農、工分野にも積極的に応用されていると思います。演者は、農学部の立場から食品（植物）に焦点を当てて物質の局在を明らかにしています。今回、

1. トウガラシのカプサイシンの局在（図 1）¹
2. キュウリのビタミン C と使用する農薬の局在²
3. 生薬（大黄）に含まれるセンノシド類の局在

などについてご紹介し、皆様と議論し、皆様の研究の一助となれればと思っております。

【方法】

各サンプルの凍結切片を作成後、イオン化支援剤を塗布し、イメージング質量分析を行った。用いたイオン化支援剤は、CHCA、DHB、ナノ微粒子である。

【結果】

1. カプサイシンは種子に多いとされるが実際は胎座とよばれる芯の表面に局在している。
2. ビタミン C はキュウリの外と芯に局在しており、農薬は時事刻々内部に浸透していた。
3. センノシド類は髓部に局在していた。これは古来より、髓部のみを使用するという修治加工法に科学的根拠を与えた。

【考察】

植物の機能性成分などを可視化することは、生理学的に意義のあることでもあるが、食品として見た場合、品質を証明するデータとして理解しやすい。また、残留農薬の危険性を視覚的に示す事も食品衛生学的に価値のあることである。

【謝辞】

この成果は NEDO 若手グラント (Project ID: 11B16002d) の支援によって得られました。

【参考文献】

1. S. Taira, et al. "Mass spectrometry imaging of the capsaicin localization in the capsicum fruits" *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries* **1**, 61-65 (2012)
2. S. Taira, et al. 'Mass Spectrometry Imaging Analysis of Location of Procymidone in Cucumber Sample' *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**, 6109-6112 (2015)

S2-3

統合失調症治療薬ハロペリドールによる神経毒性発現機構の解析：質量イメージング手法による脳内ピリジニウム代謝物の可視化

吉田原規¹, 中西豊文², 杉本香奈³, 五十嵐一雄⁴

¹近畿大学医学部法医学, ²大阪医科大学臨床検査医学, ³大阪大学大学院医学系研究科法医学,

⁴一般社団法人医薬分析協会

Brain distribution studies of the neurotoxic pyridinium metabolite (HPP^+) of haloperidol with MALDI mass spectrometry imaging

Motonari Yoshida¹, Toyofumi Nakanishi², Kana Sugimoto³, Kazuo Igarashi⁴

¹Department of Legal Medicine, Faculty of Medicine, Kinki University, ²Department of Clinical and Laboratory Medicine, Osaka Medical College, ³Department of Legal Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, ⁴Department of Research Development, Association of Medicinal Analysis

薬物の体内分布研究において、従来の放射性標識体を用いるオートラジオグラフィーとは異なって、質量分析により組織切片上の薬物分布状態を測定できる質量イメージング法の利用した報告が近年少しづつ増加している。この方法は、放射性標識体を必要としないこと、質量分析の特性を利用し、薬物やその代謝物の分布状況を選択的に可視化できる利点を有している。今後、薬物の体内分布研究分野への応用がますます期待される。

統合失調症治療薬であるハロペリドール (HP) は、第一世代の抗精神病薬であるが、統合失調症の中でも幻聴や妄想などの症状改善のために今なお広く用いられている。一方、この治療薬の長期使用により、副作用として薬剤性パーキンソニズムが誘導されることも知られている。この HP による薬剤性パーキンソニズム発現の要因として、HP による神経毒性代謝物ピリジニウム (HPP^+) の関与が報告されている。この代謝物 HPP^+ は化学構造的に、神経毒性誘発物質 MPTP のピリジニウム代謝物 MPP⁺に類似していることから、類似した脳神経毒性を有すると考えられている。次に HP 投与後の体内動態として、まず肝臓 CYP3A によりピリジニウム代謝物 HPP^+ が生成され、脳内に輸送されることが、Igarashi 等 (1998)、Crowley 等 (2013) により報告されている。また Igarashi 等 (2002) は HP 投与動物の脳組織におけるピリジニウム代謝物 HPP^+ 濃度が投与回数に依存して増加する傾向にあることも報告している。

これらの報告より、統合失調症治療薬ハロペリドール HP 投与に由来する薬剤性パーキンソニズム発現機構を解明するために、質量イメージング手法を利用した神経毒性代謝物ピリジニウム (HPP^+) の脳内分布部位に関する可視化を検討した。

S2-4

アルツハイマー病脳研究のための質量イメージング解析

池川雅哉¹, 宮坂知宏¹, 角田伸人¹, 岩崎了教², 菊澤 崇², 隅藏大幸³, 村山繁雄³, 井原康夫⁴

¹ 同志社大学生命医科学部, ² ブルカー・ダルトニクス(株), ³ 東京都健康長寿医療センター研究所高齢者ブレインバンク, ⁴ 同志社大学脳科学研究科

Imaging Mass Spectroscopy for the study of Alzheimer's disease (AD) Brain

Masaya Ikegawa¹, Tomohiro Miyasaka¹, Nobuto Kakuda¹, Noriyuki Iwasaki², Takashi Nirasawa², Hiroyuki Sumikura³, Shigeo Murayama³, Yasuo Ihara⁴

¹Doshisha University Faculty of Life and Medical Sciences

²Bruker Daltonics K.K.

³The Brain Bank for Aging Research, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital and Institute of Gerontology

⁴Doshisha University, Graduate School of Brain Science

アルツハイマー病の患者脳では、老人斑と呼ばれるアミロイド β (A β)を主成分とする異常構造物の沈着が病態の中心的役割を果たすと考えられている。この構造物の構成成分は、これまで質量数 4000 から 5000 の A β ペプチド群で、アミロイド前駆体タンパク質 (amyloid precursor protein: APP) に由来することが明らかとされている。一方、認知症脳において神経原線維変化として知られる細胞内凝集体の構成成分であるタウタンパク質は、その凝集過程でシナプス消失、神経細胞死によって脳機能低下を引き起こすとされ、アルツハイマー病脳の研究に脳タンパク質老化の観点からおこなうプロテオーム解析の果たす役割は大きいと期待されている。本研究では、AD マウスモデルとして確立されている APP23 トランジェニックマウス脳を対象として MALDI-TOF MS や FT-MS を用いたプロテオームレベルの質量イメージング解析を試みた。このモデルは、APP 遺伝子にスウェーデン型変異を入れたトランジェニックマウスで、顕著なplaques蓄積が免疫組織学的方法によって確認されている。その結果、週齢を合わせたコントロールマウスには認められない A β ペプチド群の脳内分布があきらかになった。さらに、ヒト AD 脳を対象とした臨床病理学的解析への応用についても質量イメージング解析の現状と課題について若干の考察を試みた。

S3-1

トランスオミクス解析によるインスリン代謝制御ネットワークの再構築

柚木克之¹, 久保田浩行^{2,3}, 黒田真也^{1,4}

¹東京大学大学院理学系研究科・生物科学専攻, ²九州大学・生体防御医学研究所・トランスオミクス医学研究センター・統合オミクス分野, ³JST さきがけ, ⁴JST CREST

Reconstruction of insulin signal flow in global phosphorylation and metabolic network

Katsuyuki Yugi¹, Hiroyuki Kubota^{2,3}, Shinya Kuroda^{1,4}

¹University of Tokyo, ²Kyushu University, ³JST PRESTO, ⁴JST CREST

【目的】

インスリン作用の分子ネットワークは複数のオミクス階層にまたがることが知られているが、その全貌は未だ明らかになっていない。

【方法】

我々は、リン酸化プロテオームとメタボロームの2つのオミクス階層にまたがるネットワークを再構築する方法論「トランスオミクス解析」を確立し、インスリン作用に応用した。本解析の最大の特色は、刺激に応答して濃度が有意に変動した代謝物を起点に、その変動の根本的原因である刺激へとシグナルの通り道をさかのぼることで多階層代謝制御ネットワークを再構築するところにある。

【結果】

同一条件下で調製したラット肝がん由来 Fao 細胞から得られたオミクスデータから、インスリン刺激後 60 分以内に応答する多階層代謝制御ネットワークを再構築することに成功した[1, 右図]。

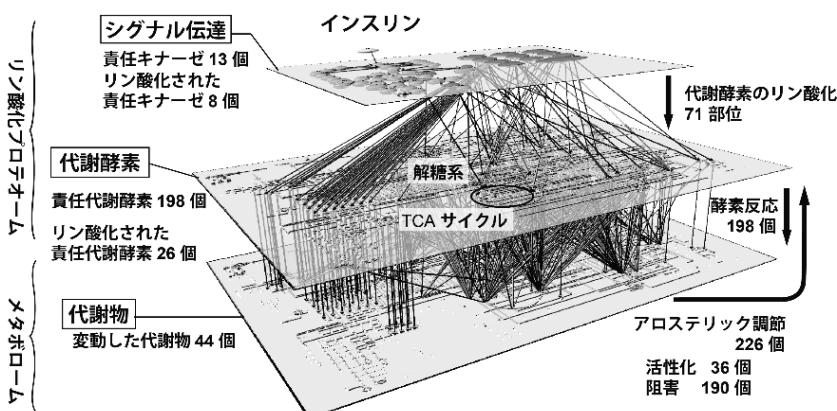


図 「トランスオミクス解析」により再構築したインスリンによる多階層代謝制御ネットワーク [1]。

【考察】

再構築されたインスリン作用のネットワークは、個別分子解析のパッチワークとして知られていた経路以外にも多数の新規経路を含み、インスリンシグナルが従来知られているよりもはるかに広い範囲に伝達されていることを示唆する。

Reference

- Yugi *et al.* *Cell Reports* 8, 1171–1183 (2014).

S3-2

脂質クオリティから解き明かす病態・バイオロジー研究

有田 誠^{1,2}

¹理化学研究所統合生命医科学研究センター・メタボローム研究チーム

²横浜市立大学大学院生命医科学研究科

Quality of lipids in health and disease

Makoto Arita^{1,2}

¹Laboratory for Metabolomics, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences

²Graduate School of Medical Life Science, Yokohama City University

従来の生命科学における脂質研究は、脂質の「量」を重視して行われてきたが、脂質には多くの種類、すなわち「質」の違いが存在する。生体内には多様な脂肪酸分子種が存在し、その質の違いや代謝バランスの変化が、様々な炎症・代謝性疾患に関わることが示唆されている。これら脂質分子の構造的な特質を「脂質クオリティ」と捉え、脂質クオリティの多様性が果たす生物学的意義について考える必要がある。しかしながら、脂質クオリティを網羅的かつ明確に区別する解析技術は未だ発展途上にあり、また脂質クオリティを制御・識別する分子機構やその生物学的意義に関する理解は萌芽的な段階にある。

脂質クオリティの変化がもたらす様々な表現型について、その理解を進める上で重要なものの一つが、脂質分子の構造的な特質を広範囲かつ明確に区別できるメタボローム解析システムである。我々はこれまでに、脂肪酸代謝物を包括的に解析するためのメタボローム解析システムを確立し、炎症の制御において脂肪酸代謝の質的変化が関与する可能性を見いだしてきた。さらに、特定の脂質分子種を選択的に測定する従来型のターゲット解析に加え、分子種を特定しないノンターゲット解析を実現することで、先入観のない探索範囲の拡大および解析データの質の向上を目指している。我々は、各種脂肪酸の合成・代謝酵素の遺伝子改変動物、あるいは異なる脂肪酸を含む栄養要因によって脂肪酸代謝バランスが変化した状況を造り出し、これらのメタボローム解析や遺伝子発現解析などを組み合わせることにより、様々な生命現象に関わる分子メカニズムを脂肪酸代謝の質の違いという観点から明らかにし、さらに脂質クオリティの違いを機能的に反映する生理活性脂質の同定を目指している。

S3-3

代謝フラックス解析と中心代謝のトランスオミクス

松田史生¹, 清水 浩¹

¹大阪大学大学院情報科学研究科

Trans-omics analysis of central metabolism using metabolic flux information

Fumio Matsuda¹, Hiroshi Shimizu¹

¹Graduate school of information science and technologies, Osaka University

細胞内代謝経路を流れる化合物流量（代謝フラックス）は直接計測することができない。そこで¹³C 代謝フラックス解析 (¹³C-MFA)と呼ばれる計測法が微生物代謝工学分野で発展してきた。計測対象の細胞株を¹³C 標識炭素源 ([1-¹³C]グルコース、[1-¹³C]グルタミンなど) を含有する培地で標識培養する。細胞内代謝物質の同位体標識パターンには、通過してきた代謝経路の情報が反映する。これを質量分析装置で測定し、データ解析を行なうことで、代謝フラックス分布を測定する。われわれは¹³C-MFA 専用データ解析ソフトウェア OpenMebiusを開発し (<http://www-shimizu.ist.osaka-u.ac.jp/>)、真核モデル生物の出芽酵母から動物培養細胞まで解析対象の拡大を行なってきた。¹³C-MFA からは、NAD(P)H や ATP の收支を見積もることができるために、細胞内の酸化還元、エネルギー状態が推定できる。また、がん特異的な代謝の活性を直接推定したり、ある代謝経路の活性変化を調べるマーカーとして利用できる。さらに代謝フラックス情報は、代謝制御機構のシステム生物学的解析において重要な役割を果たすと期待されており、疾患とバイオマーカーとの因果関係の解析にも有用である。質量分析技術の発展により、代謝中間体の濃度や酵素タンパクの一斉定量が可能となり、トランスオミクスデータをもとに代謝制御を定量的に理解する素地が整いつつある。そこで、¹³C 代謝フラックス解析法の概要を紹介し、さらに酵母中心代謝のトランスオミクス解析から見えてきた代謝制御機構について議論したい。

S3-4

大規模コホートオミクス解析による疾患予防マーカー探索

三枝大輔^{1,2}

¹東北大学東北メディカル・メガバンク機構, ²東北大学大学院医学系研究科

Researching Predictive Biomarker in a Large Scale Cohort Study

Daisuke Saigusa¹

¹Tohoku Medical Megabank Organization, Tohoku University

²School of Medicine, Tohoku University

次世代医療では、個別化された疾患リスク判定に基づく予防医療が求められており、新たな疾患バイオマーカーの発見とその臨床応用が期待されている。バイオマーカー探索においては、ゲノム、トランск립トーム、プロテオーム及びメタボロームを多階層的に解析する手法、「トランスオミクス解析」が有効な手段と考えられている。特に、メタボローム解析は、ゲノムと環境要因とにより形成される個人の表現型を量的形質として記述・定義しうると考えられている。近年、質量分析計（MS）を用いるメタボローム解析技術が大きく進歩し、一次及び二次代謝物を標的とした Targeted Metabolomics (TMet) が、疾患バイオマーカー探索及び発症メカニズムの解明に一定の成果をもたらしている。しかしながら、標的を絞らずに代謝物解析を行う Global Metabolomics (GMet) は、未知の疾患バイオマーカー同定における有用性は評価されているものの、検体前処理のハイスループット化、MS 測定の再現性、化合物の同定精度、データ解析の煩雑さに課題が指摘されている。さらに、臨床領域におけるトランスオミクス解析は、ゲノムや臨床情報等のビックデータによる相関解析を実施することが必要である為、得られた解析結果から有意義な因子を抽出することが困難であると考えられている。従って、これらの課題を解決する基盤技術及びインフォマティクス解析基盤の構築が求められている。

我々は、始めに臨床検体のハイスループットな全自動前処理システムを構築し、UPLC-Q-TOF/MS 及び LC-Q-FT/MS による GMet 解析プロトコルを構築した。また、LC-MS/MS を用いて 300 化合物程度の測定を可能とする TMet 測定手法を構築した。次に、構築した GMet 及び TMet 解析手法による臨床検体の小規模解析及び住民コホート検体（500 人）の解析を実施した。現在、得られた解析結果を用いるトランスオミクス解析を実施しており、バイオインフォマティクス解析を駆使した新規疾患バイオマーカー候補化合物の抽出を試みている。

S4-1

現場で採取可能な微量の血液、唾液及び汗からの薬物検査

桑山健次
科学警察研究所

Drug test using blood, saliva, and sweat collected on site

Kenji Kuwayama
National Research Institute of Police Science

【研究の背景】危険ドラッグ対策の強化のため、指定薬物の使用が規制されたことに伴い、摂取薬物の特定がますます重要となっている。薬物摂取の証明には尿が一般的に用いられるが、速やかに代謝され、尿から未変化体が検出されない薬物が存在する。また、類似構造物が共通の代謝物を生成する可能性があるため、摂取薬物の特定が困難な場合がある。薬物摂取から数時間以内に血液を採取できれば、未変化体を検出できる可能性が高まるが、被疑者等を確保した現場で捜査員が強制的に血液を採取することはできない。裁判の証拠になり得る資料の適正な採取のため、法的な手続きや医務室への移動等に時間がかかり、その間にも体内の薬物は代謝・排泄される。現場で血液を採取するには、被疑者等からの同意を得た上で、医療用穿刺器を用いて被疑者等が自らの体に傷を付けて微量の血液を提供するしかない。一方、摂取した薬物の一部が唾液や汗にも分泌されることが知られており、唾液や汗は血液に比べて、特別な技術や施設を必要とせずに採取できるため、代替資料として有効であると考えられる。いずれにしても、現場で生体資料を採取するには、被疑者等から資料提供の同意を得なければならないが、このような制約があってもなお、生体資料を迅速に採取することが摂取した薬物の特定に重要であると考えられる。

【現場での生体資料採取法】資料提供者、資料採取者、薬物検査者それぞれの立場、採取や分析前処理の簡便性、迅速性、経済性等を考慮し、各資料の採取法を選定した。また、その方法で採取した血液及び唾液から危険ドラッグ等を検出するために必要な薬物濃度を見積もった。現場で採取できる血液は微量であるため、比較的高濃度の薬物でなければ、その検出が困難である。唾液は大量に採取できるため、血液中よりも低い濃度の薬物を検出できるが、綿棒等の採取器具に吸着しやすい薬物があるため、採取法や抽出法に注意が必要である。

【各生体資料の有用性】薬物投与後、尿、血液、唾液及び汗を採取し、薬物検査における各資料の有用性を評価した。採取の容易さ、採取量、薬物濃度、薬物の検出可能な期間等を比較すると、いずれの資料にも有用な点があった。尿を用いた薬物検査を基本として、尿の採取前に現場でこれらの生体資料も採取できれば、摂取薬物の特定の可能性が高まると考えられる。

カチノン系危険ドラッグの代謝　—化学構造が代謝に及ぼす影響について—

志摩典明¹, 鎌田寛恵¹, 松田駿太朗¹, 掛橋秀直¹, 三木昭宏¹, 片木宗弘¹, 土橋 均²
¹大阪府警科学捜査研究所, ²名古屋大学大学院医学系研究科

Metabolism of cathinone-derived drugs of abuse—Influences of the chemical structures on the metabolism—

Noriaki Shima¹, Hiroe Kamata¹, Shuntaro Matsuta¹, Hidenao Kakehashi¹, Akihiro Miki¹, Munehiro Katagi¹, Hitoshi Tsuchihashi²

¹Forensic Science Laboratory, Osaka Prefectural Police Headquarters, Osaka

²Nagoya University Graduate School of Medicine

「危険ドラッグ」として流通するカチノン系薬物は、合成カンナビノイド系薬物と共にその流通は際立って多く、摂取証明が求められる事例が全国的に多発している。2015年5月には第三回包括規制（カチノン類が対象）が施行され、1300種以上のカチノン系薬物が、麻薬あるいは医薬品医療機器等法（旧薬事法）の指定薬物として規制されているのが現状である。カチノン系薬物は、覚醒剤等と比較して代謝が速いことが示唆されており、生体試料を対象とした分析では、未変化体と共に代謝物を探索することが重要となる。

カチノン系薬物の代謝は、その共通の骨格であるカルボニル基の還元が基本となる。多くの薬物においてその還元体（ジアステレオマー）が確認されており¹⁻³⁾、摂取証明の指標として有用な代謝物となる。一方、カルボニル還元以外の代謝経路に関しては、アミノ基、ベンゼン環上の置換基あるいはアルキル鎖（主鎖）の長さによって異なり、主要となる代謝経路もその構造に依存することが示唆されている。すなわち、N-アルキルアミノ基を有する化合物ではN-脱アルキル化が進む一方、ピロリジン環を有するα-PVPやα-PBP等は、ピロリジン環の酸化によりオキソ体へと代謝されることが示されている^{1,2)}。また、ベンゼン環のメトキシ基置換体では、O-脱メチル化される経路が主となり、アルキル鎖（主鎖）の長い化合物では、ω-1位及びω位の酸化が主代謝経路になることが示唆されている³⁾。このような代謝経路の予測は、新規薬物を対象とした分析では必要不可欠となる。

本発表では、ピロリジン環を有するカチノン系薬物を中心に、質量分析による未変化体及び代謝物の構造推定例を示すと共に、アルキル鎖（主鎖）の長さやベンゼン環置換基等、構造の違いが代謝経路に及ぼす影響について紹介する。

【参考文献】 -----

1. Shima, N., et al., *Forensic Toxicol.*, 32, 59-67 (2014).
2. Matsuta, S., et al., *Forensic Sci. Int.*, 249, 181-188 (2015).
3. Shima, N., et al., *Forensic Toxicol.*, 33, 279-294 (2015).

S4-3

危険ドラッグ流通実態調査における質量分析の役割

花尻（木倉）瑠理
国立医薬品食品衛生研究所

Mass spectrometry for a survey of the prevalence of new psychoactive substances in Japan

Ruri Kikura-Hanajiri
National Institute of Health Sciences

危険ドラッグは、麻薬や覚せい剤のように法規制されていないが、それらと類似の有害性を有することが疑われる化合物であり、乱用目的で製造、販売されるものを示す。これら化合物を含む製品の流通は、平成10年頃より顕在化し、固体、粉末、液体、カプセル等、様々な形態で販売された。平成18年に、薬事法（現医薬品医療機器等法）が改正され、指定薬物制度が導入された後は、一時期、その販売数が減少した。しかし、平成24年前後から、カンナビノイド受容体に強い活性を示す化合物群（合成カンナビノイド類）を乾燥植物細片に混合した「脱法ハーブ」や、「アロマリキッド」（液体）等として販売される興奮性アミン類（カチノン類）含有製品による健康被害が急増し、深刻な社会問題となった。

国立衛研では危険ドラッグ製品の流通実態変化を把握することを目的とし、平成14年度より危険ドラッグ製品の含有成分調査を実施している。平成26年度までに国立衛研が調査した危険ドラッグ製品は約3500種類にもおよぶ。危険ドラッグ製品分析では、GC-MS、LC-PDA-MS、DART-Orbitrap等によりスクリーニング分析を行い、新規流通化合物が検出された場合は、LC-QTOF及びNMR分析により構造を同定している。一方、危険ドラッグが関与した救急搬送・死亡事例等においては、LC-QTOF及びLC-MS/MSの両手法を用いて、血液、尿、毛髪等の生体試料中薬物のスクリーニング分析・定量分析を行っている。なお、次から次へと新規流通化合物が出現する危険ドラッグにおいては、国内外の研究機関間における情報の共有化が重要となる。国立衛研では、平成26年3月から「違法ドラッグデータ閲覧システム」(<http://npsdb.nihs.go.jp/Search/>)において、危険ドラッグに関する測定データ等の情報を公開している。平成27年3月末時点での、656化合物、1980製品の情報が収載されており、国連等の国際機関を含む約310機関（部署）が登録をしている。

平成26年度後半以降、危険ドラッグに対する規制及び取締り強化が実施され、平成27年7月には販売店舗数はついにゼロになった。しかし、危険ドラッグから逃れられない乱用者も未だ多数存在していることが推測され、予断を許さない状況下にある。本シンポジウムでは、危険ドラッグについて、この10年間の流通の変化を解説すると共に、危険ドラッグ流通実態調査（生体試料中薬物分析を含む）における質量分析の役割について論じる。

講演要旨

(P1～P62：ホスター発表)

HILIC-MS/MS 法によるヒト体液中 tegafur 及び 5-fluorouracil の高感度分析法

小渕律子^{1,2}, 李 晓鵬¹, 熊澤武志¹, 廣澤楨子², 長谷川智華³, 入戸野晋¹, 高橋春男², 佐藤啓造¹

¹ 昭和大学医学部法医学講座

² 昭和大学医学部眼科学講座

³ 東邦大学医学部法医学講座

High sensitive analysis of tegafur and 5-fluorouracil in human body fluids by HILIC-MS/MS

Ritsuko Obuchi^{1,2}, Xiao-Pen Lee¹, Takeshi Kumazawa¹, Makiko Hirosawa², Chika Hasegawa³, Sumsu Nittono¹, Haruo Takahashi², Keizo Sato¹

¹ Department of Legal Medicine, Showa University School of Medicine

² Department of Ophthalmology, Showa University School of Medicine

³ Department of Legal Medicine, Toho University School of Medicine

【目的】 経口抗がん剤ティーエスワン®は、主成分がテガフル：5-fluoro-1-[(2RS)- tetrahydrofuran-2-yl] uracil (FT)であり、5-fluorouracil (5-FU) は FT の代謝体である。FT および 5-FU は、ティーエスワン®投与患者の角膜障害、涙道障害など眼合併症への関与が指摘されている。今回我々は、順相カラムを用いた超高速液体クロマトグラフィー (UFLC) - タンデム質量分析 (MS/MS) によるヒト涙液および血漿中 FT と 5-FU の簡便かつ高感度な分析条件を設定したので報告する。

【方法】 本分析システムには Prominence UFLC 装置（島津製作所）およびトリプル四重極とリニアイオントラップ機能を搭載した API4000 Q Trap MS/MS 装置 (AB SCIEX) を用いた。また、市販点眼薬ティアーレ W® (オフテクス製) を人工涙液として用いた。薬物添加涙液は、ヒト涙液または人工涙液 10 μL に FT、5-FU および 5-chlorouracil (IS) を添加した後、2M 酢酸アンモニウム溶液 40 μL、2% ギ酸アセトニトリル 250 μL を加えて調製した。試料液は、遠心分離した後、その上清 15 μL を分析システムにアプライした。また、薬物添加ヒト血漿は、20 μL に各薬物を添加した後、2M 酢酸アンモニウム溶液 80 μL、2% ギ酸アセトニトリル 500 μL を加えて調製した。試料液は、遠心分離した後、その上清 15 μL を分析システムにアプライした。HILIC-MS/MS 分析の分離カラムには Imtakt 社製の順相カラム UK-Amino (長さ 50 mm、内径 3 mm、粒径 3 μm) を使用し、移動相はアセトニトリルをベースにした 10 mM 酢酸アンモニウム溶液のリニアグラジェントを用いた。

【結果】 大気圧化学イオン化法 (APCI) を用いた SRM 測定により、FT および 5-FU は、涙液および血漿から 1 分以内に感度よく検出された。また、FT と 5-FU の回収率は涙液で 87-104 %、血漿で 94-106 % であった。検量線は涙液で 0.08~4.0 μg/mL、血漿で 0.1~4.0 μg/mL の範囲で両者ともに良好な直線性が得られた。検出限界 (LOD) は涙液が 0.04 μg/mL、血漿が 0.02-0.04 μg/mL であった。

【考察】 本研究では、10 μL 涙液または 20 μL 血漿という微量の生体試料から FT および 5-FU を簡便かつ高感度に分析できた。本法は微量な生体試料における微量の薬物成分を対象とする高感度ハイスクローピット分析に有用であり、眼科領域を始めとする臨床領域および法医学領域における薬物および代謝物の微量分析に威力を発揮するものと思われる。

組織切片中ジフェニジンの MALDI-MS (/MS)による直接分析

南方かよ子¹, 鈴木雅子², 野澤秀樹¹, 山岸 格¹, 長谷川弘太郎¹, 阿民勿日他¹, 権守邦夫¹, 渡部加奈子¹, 鈴木 修¹

¹浜松医科大学大学法医学, ²浜松医科大学実験実習センター

Direct MALDI mass spectrometric analysis of diphenidine in several tissues

Kayoko Minakata¹, Masako Suzuki², Hideki Nozawa¹, Itaru Yamagishi¹, Koutaro Hasegawa¹, Amin Wurita¹, Kunio Gonmori¹, Kanako Watanabe¹, Osamu Suzuki¹

¹Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

²Research Equipment Center, Hamamatsu University School of Medicine

【目的】近年、合成カンナビノイド類やカチノン類の危険ドラッグが蔓延したため、それらは包括規制された。そのためかそれらに属さない薬物が検出され始めた。ジフェニジンもそうした薬物の1つであり、2014年から報告され始め、当教室でもジフェニジン中毒と考えられる解剖例に遭遇した。組織切片を用いたジフェニジンの MALDI-M(/MS)による直接分析についての報告はまだなされていない。今回はジフェニジン測定の最適条件の検討を行い、今後の組織切片からの他の薬物検出への適用を目的とする。

【方法】解剖時に摘出された種々の組織から径 5mm 程度の組織塊を採取し、-80 度で凍結保存した。MS 測定に際し、その塊から 20 μm 厚の凍結切片を作成し、MALDI-MS 測定用のステンレスプレート上に 20 枚程のせ、接着させた。それをシリカゲル入りのパックに密閉し、室温に 1 晩放置した。内部標準(imipramine) は組織切片をのせる前にプレート上に添付した。次に組織表面に matrix 溶液をエアブラシで塗布した。乾燥後 reflector type-TOF-MS, QSTAR Eliet Hybrid (AB SCIEX) にて MS と MS/MS を測定した。装置の mass resolution は 15,000, mass accuracy は 5 ppm である。355-nm Nd:YAG laser を power level 10.6 μJ, 1000 Hz, 20 cycle で照射した。司法解剖に伴った組織中の薬物検出は公的に要請されている。

【結果】薬物検出の場合、組織切片の径はそれほど大きい必要はないが、径 3mm 以下では切片をプレート上へ移動させるのが困難であったので、径は 5mm 程度とした。matrix 劑として α-cyano-4-hydroxy cinnamic acid (CHCA)を用いた場合、CHCA 10mg をアセトニトリル：水 (1 ml : 0.2 ml) に溶解した溶液が適当であった。脂肪中のジフェニジンは他臓器よりも非常に高濃度であった。

【考察】組織による ion suppression は大きく、また組織（部位）によって異なるので、本法による精密な定量は困難と思われる。しかし薬物濃度がオーダー的に正しく測定可能であれば中毒や致死の判断材料となり得るので、法医学分野における薬毒物の迅速な判別に利用できる有力な方法であると思われる。

P-3

次亜塩素酸により酸化されたホスファチジルコリンのLC/QTOF-MSを用いた分析

星岡佑美¹, 安部寛子¹, 矢島大介¹, 岩瀬博太郎^{1,2}

¹千葉大学大学院医学研究院 法医学教室, ²東京大学大学院医学系研究科 法医学教室

Analysis of hypochlorite-oxidized phosphatidylcholines using LC/QTOF-MS

Yumi Hoshioka¹, Hiroko Abe¹, Daisuke Yajima¹, Hirotaro Iwase^{1,2}

¹Department of Legal Medicine, Graduate School of Medicine, Chiba University

²Department of Forensic Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

【背景・目的】好中球内の酵素の一つであるミエロペルオキシダーゼ(MPO)は、細菌等の異物貪食をきっかけに產生された過酸化水素から次亜塩素酸を產生する反応を触媒するところである。產生された次亜塩素酸は、貪食された細菌等の脂質や蛋白質、DNA 等を酸化傷害し殺菌に関与すると言われている。この作用は、心筋梗塞巣など異物処理が行われる壊死巣や、炎症・修復のメカニズムが関与すると考えられている動脈硬化巣においても働いていると考えられる。本研究は、好中球 MPO による異物処理のメカニズムのうち生体膜の脂質酸化に注目し、その分析を行うことで生体膜における脂質酸化の実態解明を目的とする。今回は、ホスファチジルコリン(PC)標準品に次亜塩素酸を加え、反応した PC を LC/QTOF-MS で分析し、どのような PC 酸化物が產生されるか検討した。

【方法】 PC 標準品を 0.14mol/l NaCl リン酸緩衝液(pH 6.9)を用いて調整し、これに次亜塩素酸ナトリウム(NaOCl)水溶液を添加した。37°Cで反応後、クロロホルム/メタノール(2:1, v/v)を加えて反応を停止させ、クロロホルム層を分取した。分取溶液を試料として LC (Nexera system : 島津製作所) / QTOF-MS (TripleTOF5600+ : AB SCIEX)で分析した。カラムは Acquity HSS T3 C18 (1.8μm, 2.1mm×100mm) (Waters)を使用し、移動相は A 液 : 10mM 酢酸アンモニウム, 0.2%酢酸, 50%メタノール水溶液、B 液 : 2-プロパノール:アセトン=1:1、流速 0.35μl/min とした。添加する NaOCl の濃度及び反応時間を変化させ検討した。

【結果・考察】 不飽和脂肪酸基をもつ PC においては、モノクロロヒドリン体(+OH+Cl)、塩素置換体(+Cl-H)、酸素付加体(+O, +2O)等が產生された。不飽和脂肪酸基をもたない PC においてはこれらの産生物は認めなかった。次亜塩素酸の濃度が高くなるにつれ、モノクロロヒドリン体及び塩素置換体の量は増加したが、+O についてはプラトーとなり、+2O については低濃度域で一度増加した後減少した。PC+2O から PC+O への反応が存在する可能性が示唆された。その他詳細は当日報告する。

今後は法医解剖において得られる、心筋梗塞巣等ヒト由来の試料から脂質を抽出し、検討を進める予定である。

法医試料における薬物中毒のバイオマーカー探索（2）

安部寛子¹, 星岡佑美¹, 小梶哲雄², 奈良明奈¹, 永澤明佳¹, 矢島大介¹, 岩瀬博太郎^{1,3}

¹千葉大学大学院医学研究院 法医学教室, ²株式会社エービーサイエックス

³東京大学大学院医学系研究科 法医学教室

Search for biomarkers of drug intoxication cases of postmortem (2)

Hiroko Abe¹, Yumi Hoshioka¹, Tetsuo Kokaji², Akina Nara¹, Sayaka Nagasawa¹, Daisuke Yajima¹, Hirotaro Iwase^{1,3}

¹Department of Legal Medicine, Graduate School of Medicine, Chiba University

²AB SCIEX

³Department of Forensic Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

【目的】 法医分野において、薬物関連死の見極めのためにも薬物分析は必須の分析である。しかし、法医試料は腐敗の影響や薬物の死後再分布といった影響を強く受けていることから、薬物血中濃度は参考値程度にしかならない。そこで、我々は血中濃度に加えて腐敗や死後再分布の影響を受けない薬物中毒指標物質の探索を進めている。第39回医用マススペクトル学会年会においては、覚せい剤成分に焦点を絞り、覚せい剤が検出された試料中に覚せい剤成分以外のマーカーとなりうる特徴的な物質が検出される旨報告したが、その物質の同定までには至らなかった。今回、同様の症例において、更に脂質も分析対象として評価を行ったので報告する。

【方法】 千葉大学法医学教室において、過去覚せい剤が検出された血液試料（MP群）、対照群として医薬品（主に向精神薬）が検出された血液試料（PC群）、薬物スクリーニング検査によって薬物が検出されなかった血液試料（NG群）を用いた。またある種の薬物では高ミオグロビン血症を発症することが知られており、探索マーカーがミオグロビン由来であるか否かを判断するため、薬物と関連せずミオグロビンが高値を示した血液試料（HG群）も今回対照試料として追加した。Bligh & Dyer法にて各血液中の成分を抽出し、クロロホルム層を分取。それらを分析試料とし LC（Nexera system：島津製作所）/QTOF-MS（TripleTOF5600+：AB SCIEX）で分析し、多変量解析（MarkerView：AB SCIEX）を行った。

【結果・考察】 PCA解析の結果、MP群、HG群、PC群+NG群の3群に分離され、それぞれの群に特徴的な物質が存在した。化合物同定の結果、これらの物質は薬剤成分および薬剤成分代謝物由来ではないと考えられ、生体内代謝産物である可能性が示唆された。特にHG群とMP群が分離したことから、MP群に特徴的な物質はミオグロビン由来ではない可能性が示唆された。今後これら物質の同定を進めていき、特定の薬物中毒に特異的な物質であるか否か、検討を進める。

HSD10 病の血中アシルカルニチン分析による化学診断

重松陽介¹, 畑 郁江², 中島英規³, 但馬 剛⁴, 石毛信之⁵

¹福井大学医学部健康科学, ²福井大学医学部小児科学, ³国立成育医療研究センター・マスククリーニング研究室, ⁴広島大学大学院小児科学研究室, ⁵東京都予防医学協会小児スクリーニング科

Chemical diagnosis of HSD10 disease by LC-MS/MS analysis of acylcarnitines in blood

Yosuke Shigematsu¹, Ikue Hata², Hideki Nakajima³, Go Tajima⁴, Nobuyuki Ishige⁵

¹Department of Health Science, University of Fukui

²Department of Pediatrics, University of Fukui

³Mass screening laboratory, National Research Institute for Child Health and Development

⁴Department of Pediatrics, Hiroshima University

⁵Tokyo Health Service Association

【目的】HSD10 病と β ケトチオラーゼ欠損症の酵素異常部位は近接しており、その鑑別診断は通常 GC/MS 尿有機酸分析でメチルアセト酢酸が異常排泄されているか否かにより行われる。尿中メチルアセト酢酸は保存により検出されにくくなることや、尿が採取されておらず血液濾紙が唯一の検査材料であることもあるため、LC-MS/MS による血中アシルカルニチン分析を試みた。

【方法】HSD10 病および β ケトチオラーゼ欠損症と遺伝子解析で確定診断された患者の濾紙血あるいは血清（冷凍庫保存）を分析した。AB Sciex 社製 API4000 MS/MS system に島津製作所製 LC system を接続して LC-MS/MS 分析を行った。LC カラムは Imtakt 社製マルチモードクロマトグラフィーカラム Scherzo SS-C18 (3.0 x 150 mm) を使用した。定量のための内部標準物質として d_9 -3-hydroxyisovaleryl carnitine を使用した。

【結果】 2-methyl-3-hydroxybutyrylcarnitine (MHBC) および 2-methylacetoyl-3-carnitine (MAAC) の標品は入手出来なかつたが、[M+H]⁺ 及びその product ion の分析からこれらと推定されるアシルカルニチンを検出できた。これらを [M+H]⁺ > 85 のトランジションを用いて MRM 分析したところ、 β ケトチオラーゼ欠損症では MHBC と MAAC が増加しており、HSD10 病では MHBC のみ増加していた。

【考察】 血中アシルカルニチン濃度は極めて低いものの、特徴的な CID product ion m/z 85 が共通してみられるので、dioylcarnitine でなければ、標品が入手出来ないアシルカルニチンでも MRM 分析で現実的な濃度評価が可能である。両疾患とも重症度の幅が大きく、軽症例での MAAC は、特に無症状の間欠期には、対象者の濃度域に低下することがあるので、その有用性については更に検討が必要である。一方血中の有機酸については、アシルカルニチンと異なり CID product ion が一定していないので、標品が得られないメチルアセト酢酸の分析は困難であった。

P-6

質量分析による代謝異常症と薬物代謝の鑑別

張 春花, 李 奇, 趙 寧, 金 明姫, 阮 宗海
ミルスインターナショナル 研究開発部

Distinguishing of metabolic disorder or drug metabolism by mass spectrometry analysis

Chunhua Zhang, Qi Li, Ning Zhao, Mingji Jin and Zonghai Ruan
Department of research & development of MILS International

【目的】質量分析による代謝プロファイル解析は、リアルに検体採取時の体内代謝動態を反映し、病態解析ツールとして代謝異常症の化学診断にも関わらず、薬物代謝、酸化ストレス評価、癌検診にも応用されている。われわれは、代謝異常症を疑う患者の代謝病態解析を実施しているなか、幾つかの医源性薬物の使用による代謝プロファイルの変化は代謝異常症と誤認する可能性や典型的な代謝異常症の特徴的な変化を見えなく疾患の診断を見落とす恐れもしばしば遭遇し、真の先天性代謝異常症の病態解析に惑わせることが多かった。今回これらの薬物由来代謝プロファイルの特徴を分析し、幾つか混乱しやすい疾患の解析に配慮すべき点が見つけた。この経験を生かした新しい投薬情報と臨床病態を配慮した代謝異常症のプロファイル解析を提唱する。

【方法】過去代謝異常症の受託検査してきた患者の代謝病態解析のうち、典型的な代謝異常症プロファイルを乖離した変化を呈した症例の臨床情報と合わせて再検討した。下記 4 種の薬物関与する代謝プロファイルの変化を再解析し、その特徴を纏めた。①臨床診断のためのアルギニン負荷患者と治療のためのアルギニン投与したシトルリン血症患者の尿と血液；②尿酸値を下げるためのアロプリノール投薬患者の尿と血液；③くる病予防治療するための魚肝油使用中患者の尿と血液；④長期にトリメチルグリシン投与中のメチルマロン酸血症患者の尿。

【結果】アルギニン投与によるオルニチンと環状化シトルリン類似成分の尿中排泄増加、アロプリノール投薬によるキサンチン尿症様代謝変化、魚肝油使用による血中長鎖ヒドロキシアシル-CoA 脱水素酵素欠損症様アシルカルニチンの変化、トリメチルグリシン投与によるメチルマロン酸血症患者の尿中ザルコシンの上昇などを判明した。

【考察】既報したエチレングリコール誤飲による高蔥酸尿症様代謝プロファイルの出現に、上記 4 種の薬物投与時の代謝変化はそれぞれ相応する種の代謝異常症に類似することを明らかにした。これらの経験を活かしてさらにさまざまな薬品投与による代謝プロファイルの変化を検証し、より詳細な且つ正確な病態解析に繋がれ、検体採取時の投薬や臨床病態を配慮した今後の代謝プロファイル解析の臨床応用へ進めてゆきたい。

GC/MS 分析によるシトルリン血症患者尿中オルニチン検出の臨床意義

阮 宗海, 李 奇, 金 明姫, 張 春花
ミルスインターナショナル 研究開発部

Study on clinical significance of urinary ornithine in citrullinemia patients by GC/MS

Zonghai Ruan, Qi Li, Mingji Jin and Chunhua Zhang
Department of research & development of MILS International

【目的】 GC/MS 分析による尿中ウラシルとオロット酸の異常高排泄が尿素回路系異常の化学診断のバイオマーカーとして古くから使われている。われわれは、尿素回路メンバーアミノ酸のオルニチンやアルギニン熱分解産物の同時検出により、更に尿素回路系異常の詳細診断に貢献できる研究結果を 2000 年の本学会で報告した。今回尿中の環状化シトルリン成分の検出状況を加え、シトルリン血症患者の尿中オルニチン検出の意義を再検討したので報告する。

【方法】 先天性代謝異常症のスクリーニングで当施設に依頼してきた中国人患者 7 名（男児 2 例、女児 5 例）の尿と濾紙血について分析した。尿検体について、既報のウレアーゼ処理法による前処理した後、GC/MS 分析を行った。GC/MS 分析は、JEOL 社の JMS-K9 で行った。濾紙血検体について、タンデムマス分析より血中アミノ酸とアシルカルニチンを分析した。タンデムマスは島津社の LCMS-8040 を使用した。尿と濾紙血の分析結果を合わせて、当施設の代謝異常症解析プログラムで病態解析した。

【結果】 上記 7 例いずれも尿中ウラシルとオロット酸の異常増加を認めた。そのうち 6 例尿中オルニチンも検出されました。同時にオルニチン検出された患者のうちの 3 例が環状化シトルリン成分も検出された。但し、うち 1 例の再検時に尿中オリニチンのピークが消失し、代りに環状化シトルリン成分を大きく検出された奇妙な現象が見られた。血中のアミノ酸分析ではすべての症例のシトルリンの上昇を確認できたので、尿素回路系異常のシトルリン血症と化学診断しました。

【総括】 上述の結果より、尿中ウラシルとオロット酸の増加に伴い、オルニチンの高排泄を認めた代謝プロファイルは、シトルリン血症の化学診断の特徴であるのは以前の報告と一致した。環状化シトルリン成分が、一部分のシトルリン血症患者から検出された。この成分の化学構造はまだ不明が、オリニチンの消失に出現する現象から、オルニチンの分解産物ではないかと推測する。これまで環状化シトルリン成分がシトルリン血症とアルギニンコハク酸血症の診断マーカーとして報告されていたが、環状化シトルリン成分の検出は不安定であり、オルニチンとの相関性があるため、尿中オルニチンの検出が尿素回路系異常の詳細診断に信頼できるマーカーとして再認識した。今後環状化シトルリン成分とオルニチンの相関性についてさらに研究進めてゆきたい。

GCMSによる糞便中腐敗産物の測定

烏蘭参丹, 福原美代子, 久田貴義
株式会社テクノスルガ・ラボ

Determination of phenols and indoles in feces using GCMS

Olansandan, Miyoko Fukuhara, Takayoshi Hisada
TechnoSruga Laboratory Co.,Ltd.

【目的】近年、腸内細菌の様々な代謝物が宿主の健康に影響を及ぼすことが報告されている。それらの関係を詳細に検討する上で、腸内細菌叢の解析が広く行われている。また、腸内細菌代謝物との総合的な解析も非常に重要であり、代謝物を精度よく、かつ迅速に定量できる分析法の構築が求められている。本研究では、腸内環境悪化を評価する指標として知られている糞便中フェノール類やインドール、スカトールなど腐敗産物に関するGCMSを用いた分析法を確立することを目的とした。サンプルの保存に関しても検討したので併せて報告する。

【方法】検体の前処理は、混練したサンプルより約 0.2 g を秤量し、内部標準含有リン酸バファーで懸濁し、85°Cにて 15 分間熱処理した。冷却後アセトニトリルを用いて抽出を行い、PSA-30により精製して GCMS に供した。健常人 4 名の一回の糞便をそれぞれ採集混練して、4 個に小分して -30°C で凍結保存し、0 日、14 日、28 日(n=3)において測定を行った。

【結果】健常人 4 名の糞便からフェノール 0.89~2.2 µg/g、p-クレゾール 4.2~143 µg/g、インドール 2.0~56 µg/g、スカトール 0.16~20 µg/g および 4-エチルフェノール 0.63~4.6 µg/g の範囲で検出され、個人差が大きかった。本法によるヒト糞便への混合標準液添加回収率実験では、低濃度(0.04 µg/g)で 74.1~115%、高濃度(1.0 µg/g)では 86.1~122%であった。実試料における繰り返し測定(n=7)した時の相対標準偏差(RSDr)は 0.26~4.3%と良好な精度が確認された。本法の定量下限は 0.05 µg/g であった。

【総括】本法は、ヒトの糞便だけではなくラット、マウス、ウマ、ヒツジ、イヌなどの糞便中腐敗産物の分析法としての利用も期待できる。

LC-MS/MS 法によるヒト尿中におけるバニリルマンデル酸、ホモバニリン酸、メタネフリン、ノルメタネフリンおよびクリアチニンの同時定量法の検討

塩川亮太¹, 細田香織¹, 柴崎浩美², 横川彰朋², 石井和夫¹

¹杏林大学保健学部, ²東京薬科大学薬学部

Simultaneous determination of vanillylmandelic acid, homovanillic acid, metanephrene, normetanephrene and creatinine in human urine

Ryota Shiokawa¹, Kaori Hosoda¹, Hiromi Shibasaki², Akitomo Yokokawa², Kazuo Ishii¹

¹Kyorin University Faculty of Health Sciences

²Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences School of Pharmacy

【目的】神経芽細胞腫は白血病に次いで小児に多いがんである。この疾患では、患者の尿中にカテコールアミンの最終代謝産物であるバニリルマンデル酸 (VMA) とホモバニリン酸 (HVA) が多く排泄される。そのため、スクリーニング検査にはクリアチニン (Cr) 補正した尿中 VMA、HVA 値が用いられていたが、良性腫瘍との区別が困難であることから現在休止されている。一方、褐色細胞腫もカテコールアミン産生腫瘍であり、スクリーニング検査には Cr 補正した尿中メタネフリン (MN) 値とノルメタネフリン (NMN) 値を利用する。VMA、HVA、Cr のみならず MN と NMN も同時に測定することにより、神経芽細胞腫スクリーニングの診断の精度の向上や、詳細な褐色細胞腫の検査の一助になることが期待される。さらに、2 腫瘍の合併症例がある点からも 5 種を同時に分析することは非常に有用である。本研究では、化学的性質が大きく異なる VMA、HVA、MN、NMN と Cr の LC-MS/MS による短時間同時分析法を検討した。

【方法】カラムは YMC Triart-C18 (150 × 2.0 mm, 3 µm; YMC)、移動相に 10 mM 酢酸アンモニウム溶液とアセトニトリル (グラジエント法) を用いた。尿 10 ml に対し 6N 塩酸を 100 µl 加えたものを 10 倍希釈し、全量を 100 µl に調製した後、2 µl を測定した。なお、内標準物質は重水素で標識された VMA-d₃、HVA-d₃、MN-d₃、NMN-d₃ および Cr-d₃ を用いた。

【結果・考察】 VMA、HVA、MN、NMN、Cr および内標準物質は 7 分以内に分析可能であった。健常人尿における基準値の範囲において検量線を作成したところ、相関係数 0.9951 ~0.9997 の良好な直線性が得られた。検量線の範囲内 3 濃度において添加回収試験を行った結果、Cr はいずれも CV 3.6% 以下であったが、他の 4 種は十分な精度が得られなかつたため、引き続き分析法の検討を加える。LC-MS/MS 法による 5 種の同時分析は、検体検査の短時間化の観点から有用と考える。現在、簡便な固相抽出法も視野に入れ検討を進めており、精度再現性の高い分析法を確立する予定である。

LC-MS/MS による尿中コルチゾール及びコルチゾンの 6α - / 6β -水酸化代謝物の分離定量法

横川彰朋¹, 八郷雅弘¹, 平野良平¹, 細田香織², 石井和夫², 古田 隆¹, 柴崎浩美¹

¹ 東京薬科大学薬学部, ² 杏林大学保健学部

Separation and quantitative determination of 6α - and 6β -hydroxylated metabolites of cortisol and cortisone in human urine by LC-MS/MS

Akitomo Yokokawa¹, Masahiro Hachigo¹, Ryohei Hirano¹, Kaori Hosoda², Kazuo Ishii², Takashi Furuta¹, and Hiromi Shibasaki¹

¹School of Pharmacy, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

²Faculty of Health Sciences, Kyorin University

【目的】 コルチゾールは、CYP3A により 6β -ヒドロキシコルチゾール (6β -OHF) と立体異性体 6α -OHF に代謝される。患者らは、血中コルチゾール濃度・時間曲線下面積と尿中 6β -OHF 排泄量から算出されるコルチゾール 6β -水酸化代謝クリアランス ($CL_{m(6\beta)F}$) を指標とした CYP3A 活性評価法を開発した。さらに、HPLC-UV で 6β -OHF と 6α -OHF を分離定量し、 $CL_{m(6\alpha)F}$ が $CL_{m(6\beta)F}$ の約 1/10 であることを明らかとした。一方、コルチゾールは 11 β -HSD によりコルチゾンと相互変換するため、CYP3A 活性評価には 6β -ヒドロキシコルチゾン (6β -OHE) も考慮すべきとの報告があるが、 6α -OHE への言及はない。本研究では、コルチゾール 6 位水酸化代謝に基づく CYP3A 活性評価への各 6 位水酸化代謝物の寄与の検討を目的に、LC-MS/MS による尿中 6α -OHF, 6β -OHF, 6α -OHE, 6β -OHE の分離分析法の開発を行った。

【方法】 LC-MS/MS は TSQ Quantum Ultra (Thermo Fisher Scientific) を用いた。カラムは Kinetex C8 (phenomenex; 75×3.0 mm I.D., 2.6 μ m) とし、内標準物質には 6β -OHF- 2 H₄ と 6α -OHF- 2 H₄ を用いた。移動相には 0.2% ギ酸+10 mM 酢酸アンモニウム水溶液とメタノールを用い、グラジェント法で測定した。ESI (negative-ion mode) 法では、 6β -OHF と 6α -OHF の precursor ion と product ion (ギ酸付加体) として m/z 423 と m/z 347 を設定し、 6β -OHE と 6α -OHE では m/z 421 と m/z 345 を設定した。尿の抽出には Sep-Pak C18 Plus を用いた。

【結果・考察】 グラジェント法によるコアシェルカラム C8 で立体異性体を分離した。 6β -OHF と 6α -OHF の保持時間は 4.1, 4.7 min (Rs=2.5)、 6β -OHE と 6α -OHE では 6.4, 7.1 min (Rs=3.1) であった。これまで尿中 6α -OHE 分析の報告はないが、立体異性体 6β -OHE の 1/10 程度に相当するピークを確認した。本法の精度・再現性は、 6β -OHF、 6α -OHF では相対誤差が 7.3% 以内、変動係数が 2.0% 以内と良好であった。 6β -OHF- 2 H₄ を内標準物質とした、 6β -OHE と 6α -OHE の定量では相対誤差が大きく、現在、対応する安定同位体標識体を合成中である。

Dried Blood Spot(DBS)と尿中の多糖類デキストラン及びヒドロキシエチル starch の分析

小島麻実¹, 岡野雅人¹, 土肥美智子², 陰山信二¹

¹株式会社 LSI メディエンス アンチドーピングラボラトリー

²国立スポーツ科学センター メディカルセンター

Analysis of polysaccharides dextran and hydroxyethylstarch in dried blood spot and urine

Asami Kojima¹, Masato Okano¹, Michiko Dohi², Shinji Kageyama¹

¹Anti-Doping Laboratory, LSI Medience Corporation

²Medical Centre, Japan Institute of Sports Sciences

【目的】近年、持久力向上を意図にエリスロポエチンの使用や輸血により赤血球を増加させるドーピングが競技スポーツにおいて大きな問題となっている。このような血液ドーピングに対して、競技者個人のヘモグロビン量などの血液パラメーターを継続的に測定し、その変化からドーピングを検知する手法: Athlete Biological Passport (ABP) 検査が実施されている。また、血圧の維持や浮腫の治療に使用される血漿増量剤であるヒドロキシエチル starch (HES) 及びデキストラン(DEX)は、血液の希釈効果があるため、血液ドーピングの隠蔽剤として禁止薬物に指定されている。現在、これらの血漿増量剤は、尿試料によるドーピング検査により検出しているが、ABP 検査においては、採尿を伴わないことが多い。そのため、血液試料からも血漿増量剤が検出できことが望まれる。昨年、我々は、乾燥血液スポット (Dried Blood Spot: DBS) の利用が興奮剤のドーピング検査において有用であると報告した。そこで今回は、HES 及び DEX においても DBS を使用した分析法を適用する事を検討した。本発表では、各薬剤の投与が ABP に与える影響についても報告する。

【方法】DBS: 血液 20 μL を DMPK-C IND カードにスポットし、室温乾固後、マイクロパンチで抜き取り、内部標準溶液 (β -cyclodextrin) 200 μL を添加し、攪拌した。その後、超音波抽出を行った。尿検体: 尿検体 10 μL に、内部標準溶液 190 μL を添加し、攪拌した。いずれのサンプルも超遠心分離を行い、上清 2 μL を UPLC/MS/MS (Waters) に注入した。

【結果・考察】DBS を用いた血液試料による、HES 及び DEX の分析方法を確立した。尿試料と比較しても分析精度・検出感度も良好であった。投与試験で採取した血液試料からは投与後 48 時間までの検出が可能であり、血液パラメーターに影響を及ぼす時間帯において良好に検出が可能であった。今後、採尿を実施しない ABP 検査においても、血液試料 (DBS) をパラメーター変動の隠蔽を目的とした血漿増量剤の検出に適用することが可能となる。

濾紙血を用いた新生児のクレアチニスクリーニング検査研究

中野 優¹, 上村 治², 中島葉子³, 伊藤哲哉³, 本田雅敬⁴, 斎藤伸治¹

¹名古屋市立大学小児科, ²あいち小児保健医療総合センター腎臓科, ³藤田保健衛生大学小児科, ⁴東京都立小児保健医療センター

Newborn mass screening using liquid chromatography-tandem mass spectrometry for congenital abnormalities of kidney and urinary tract.

Masaru Nakano¹, Osamu Uemura², Yoko Nakajima³, Tetsuya Ito³, Masataka Honda⁴, Shinji Saitoh¹,

¹Department of Neonatology and Pediatrics, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

²Pediatric Nephrology Aichi Children's Health and Medical Center

³Department of pediatrics, Fujita Health University

⁴Tokyo Metropolitan Children's Medical Center

【目的】先天性腎尿路疾患(congenital anomalies of kidney and urinary tract:以下 CAKUT)は全妊娠の 0.5%に認められ、小児慢性腎不全の原因として最も多い。しかし CAKUT では高位尿細管における再吸収障害による希釈尿を呈するが多く、現在行われているテープ法での発見は困難である。今回我々はタンデムマス法を用いた新生児マススクリーニングと同じ手法で濾紙血からクレアチニン(Cr)を定量し、新生児における濾紙血 Cr 値の基準値作成を行うこととした。

【方法】ろ紙からの抽出など測定に関わる手技は新生児タンデムマススクリーニングに準じて設定した。濾紙血からの Cr 値(濾紙血 Cr 値)と通常の血清 Cr 値との相関を見るため、小児 100 人の検体で濾紙血 Cr 値と血清 Cr 値とを比較した。この相関を確認した後、実際に新生児検体 177 検体(男児 92 検体、女児 85 検体)での測定を行った。本研究は名古屋市立大学倫理委員会で承認を受けている。

【結果】小児 100 人の検体で濾紙血 Cr 値と血清 Cr 値とを比較したところ、濾紙血 Cr 値 = 0.56 × 血清 Cr 値 ($R^2 = 0.87$) と良い相関が得られた。新生児濾紙血 Cr 値を測定したところ非正規分布で中央値 0.221mg/dL (0.191, 0.268) であった。男女差は認めなかった。

【考察】濾紙血の Cr スクリーニングは新生児期に CAKUT を発見するスクリーニング方法として使用可能であると考えた。さらに検体数を重ね統計学的検討を加える事で、精度の高いカットオフ値を作成して、スクリーニング導入を検討したい。

大腸癌患者爪中光学異性体代謝物の分析

西尾優汰, 閔 俊哲, 藤木堅一郎, 水野 初, 豊岡利正
静岡県立大学薬学部

Analysis of the chiral metabolites in fingernail of colorectal cancer patients

Yuta Nishio, Jun Zhe Min, Kenichiro Todoroki, Hajime Mizuno, Toshimasa Toyo'oka
School of pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka

【目的】 大腸癌は、早期発見による生存率が極めて高く、発症前の早期発見及びその診断法が強く求められている。しかし、従来の大腸癌のバイオマーカーは早期診断が困難であることが問題視されている。一方、近年ヒト血中メタボローム解析から大腸癌に早期反応を示す新規バイオマーカー候補物として 2-Hydroxy butyrate (α -HB)、Aspartic acid (Asp)、Kynurenine (Kyn)、Cystamine (Cys)が発見され、その有用性が示唆された^[1]。これらの新規バイオマーカー候補物はキラル中心を持つ化合物もあるが、その光学異性体の有用性についてはまだ不明である。そこで我々は、これらのキラル中心を持つ新規バイオマーカー候補物に着目した。今回用いるヒト爪は、汎用の血液や尿と異なり、非侵襲的に採取及び保存が容易であり、長期間の生体情報を反映することができ、慢性疾患診断用の新規生体試料として注目されている^[2]。そこで我々は LC-ESI-MS/MS を用いて、大腸癌患者爪中のキラル代謝物の一斉分析を試みた。

【方法】 誘導体化試薬として (S)-DBD-Pro-COCl を用い、 α -HB、Asp、Kyn、Cys を標識し、LC-ESI-MS/MS で一斉分析を行った。採取したヒト爪は、洗浄後粉碎秤量し、代謝物を抽出し、誘導体化を行った。LC 装置には島津製作所製の Nexera X2 を用い、カラムは Imtakt 社製の Cadenza CD-C18 HT (3 μ m, 150 \times 3 mm I.D.) 、移動相は 10 mM HCOONH₄ 含有 H₂O 及び 0.1% HCOOH 含有 CH₃CN を用いた。質量分析計には、島津製作所製の LCMS-8040 を用い、イオン化法は ESI⁺イオン化法で、MRM モードにて測定を行った。

【結果・考察】 4 種の代謝物を (S)-DBD-Pro-COCl を用い、最適な誘導体化反応温度、反応時間で誘導体化を行うことでキラル中心を有する α -HB、Asp、Kyn をジアステレオマートリニティに形成させ、C18 カラムで光学異性体を 20 min 以内に良好な分離 (Rs>1.57)を達成することができた。抽出溶媒としてメタノール、トリエチルアミン混合溶液を用い、爪中から初めて Asp と α -HB の光学異性体を抽出することができた。日内及び日間変動は 4.54%以下であり、添加回収率は 81.12-113.84%であった。健常人 20 人、大腸癌患者 23 人の爪を分析したところ、大腸癌患者の Asp、 α -HB の定量値、ピーク面積の D/L 比は共に上昇傾向が示された。その有意差についても今回報告する予定である。

【参考文献】

-
- [1] Shin Nishiumi et al., *PLoS ONE*, (2012) 7, e40459.
 - [2] J.Z. Min et al., *J. Chromatogr. B*, (2011) 879, 3220-3228.

UPLC-MS/MS によるピリミジン塩基代謝物の定量によるピリミジン代謝異常症スクリーニング

前田康博¹, 皆川真里¹, 中島葉子², 後藤佳奈¹, 堀田祐志¹, 片岡智哉³, 川出義浩¹, 伊藤哲哉², 木村和哲^{1,3}

¹名古屋市立大学 大学院薬学研究科, ²藤田保健衛生大学 医学部 小児科

³名古屋市立大学 大学院医学研究科

Determination of pyrimidine metabolites for inborn error of pirimidine metabolism by UPLC-MS/MS

Yasuhiro Maeda¹, Mari Minagawa¹, Yoko Nakajima², Kana Gotoh¹, Yuji Hotta¹, Tomoya Kataoka³, Yoshihiro Kawade¹, Tetsuya Ito², Kazunori Kimura^{1,3}

¹Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, ²School of medicine, Fujita Health University, ³Graduate School of Medical Sciences, Nagoya City University

【目的】核酸塩基である uracil および thymine は dihydropyrimidine dehydrogenase (DPDase), dihydropirimidinase (DHPase), ureidopropionase (UPase)の各酵素により 3段階に異化代謝され, β-Alanine (BAL) および β-Aminoisobutyrate (BAIB)を生成する。各酵素の欠損症のスクリーニングのため、指標となる酵素の基質を UPLC-MS/MS で分析する手法を確立し、尿中代謝物を分析した。

【方法】コントロールおよび UPase 欠損症患者の尿を、内部標準物質を含む水で 50%に希釈後、UPLC-MS/MS (Waters)に導入し、uracil とその代謝物である dihydrouracil (DHU), β-ureidopropionate (UP), BAL および thymine とその代謝物である dihydrothymine (DHT), β-ureidoisobutyrate (UIB), BAIB を一斉に定量した。さらに、尿中代謝産物濃度の基準となる creatinine (cre)を同時に測定した。UPLC カラムに Acquity UPLC HSS T3 (2.0 × 150 mm, Waters) を用い、移動相を 0.1%ギ酸水溶液 100% からアセトニトリルで gradient 分析した。

【結果】コントロール (n = 50) においては uracil, DHU, UP, BAL は $4.8-8.5 \pm 5.5-7.1$ (ave, ± SD) $\mu\text{mol}/\text{mmol}\cdot\text{cre}$, thymine, DHT, UIB は $1.1-1.3 \pm 1.3-2.7$ $\mu\text{mol}/\text{mmol}\cdot\text{cre}$ であったが、BAIB 418 ± 620 $\mu\text{mol}/\text{mmol}\cdot\text{cre}$, と個人差が非常に大きかった。UPase 欠損症患者 (n = 3)の尿からは、UPase の基質である UP と UIB がコントロールの 200 倍以上検出された。一方 UPase の代謝物である BAL はコントロールと差は見られなかった。BAIB については $1.0-3.0$ $\mu\text{mol}/\text{mmol}\cdot\text{cre}$ と低下傾向であった。

【考察】UPLC-MS/MS によるピリミジン代謝異常症のスクリーニングは、検体の尿を煩雑な前処理をせず、容易に行うことが可能である。UPase 欠損症では基質である UP, UIB が高濃度で検出され診断に有用であった。また、生成物の BAIB が低下傾向であることが神経症状を呈する一因である可能性が示唆された。

インドキシル硫酸は残存腎機能の低下とともに血中に蓄積しウレミックサルコペニアに関係する

佐藤恵美子^{1,2}, 森 建文¹, 鈴木亜里沙¹, 菅原真恵¹, 倉澤奈穂¹, 三枝大輔³, 大場郁子¹, 永沼絵理¹, 佐藤 博^{1,2}, 丹羽利充⁴, 伊藤貞嘉¹

¹東北大学大学院 医学系研究科, ²東北大学大学院 薬学研究科, ³東北メディカル・メガバンク機構, ⁴修文大学健康栄養学部

Indoxyl sulfate accumulates in blood as residual renal function decreases, and is related to uremic sarcopenia

Emiko Sato^{1,2}, Takefumi Mori¹, Arisa Suzuki¹, Sanae Sugawara¹, Nao Kurasawa¹, Daisuke Saigusa³, Ikuko Oba¹, Eri Naganuma¹, Hiroshi Sato^{1,2}, Toshimitsu Niwa⁴, Sadayoshi Ito¹

¹Division of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Graduate School of Pharmaceutical Science, Tohoku University, ²Division of Nephrology, endocrinology and Vascular Medicine, Graduate School of Medicine, Tohoku University, ³Tohoku Medical Megabank Organization, Tohoku University, ⁴Faculty of Health and Nutrition, Shubun University

【目的】慢性腎臓病において(chronic kidney disease; CKD)において、腎機能の低下に伴い体内に蓄積した尿毒症物質が原因となり、筋減弱症（サルコペニア）を発症するウレミックサルコペニアが着目されている。CKDにおいてサルコペニアは生存率に強い影響を与えることから予防が重要であり、その発症機序を解明することが必須である。本研究は MS を用いてウレミックサルコペニア発症機序を解明することを目的としている。

【方法】腹膜透析患者を対象とし腹膜平衡試験時の血漿と腹膜透析排液を回収し、16種類の尿毒症物質のターゲットメタボロミクスを行い、臨床パラメータ・体成分分析装置データとの関連および尿毒症物質の腹膜透過性の検討を行った。さらに筋芽細胞株 C2C12 を用い、尿毒症物質の骨格筋に対する影響をメタボロミクスの視点から検討を行った。

【結果】ターッゲットとした尿毒症物質のうち、4種類の尿毒症物質が有意に血液中で増加していた。これらの物質のうちインドキシル硫酸、メチルグアニジン、グアニジノコハク酸が残存機能の低下に伴い体内に蓄積していた。このうち血中インドキシル硫酸およびメチルグアニジン濃度に体内の骨格筋量との関連があることが認められた。C2C12 を用いた細胞増殖試験の結果から、インドキシル硫酸のみ増殖抑制作用が認められた。さらにインドキシル硫酸存在下における C2C12 のメタボロミクスを行った結果、インドキシル硫酸の C2C12 内への取り込みが確認され、さらにエネルギー産生に関連するアミノ酸の有意な減少が認められた。

【考察】本研究は MS を用いたメタボロミクスで、インドキシル硫酸が骨格筋におけるエネルギー産生に影響を与えウレミックサルコペニアを引き起こすことを示唆し、インドキシル硫酸の新たな一面を見出した。

筋ジストロフィー患者の尿中プロスタグランジン D2 および E2 代謝物の変動

竹内敦子¹, 裏出良博², 松尾雅文³

¹ 神戸薬科大学, ² 筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構, ³ 神戸学院大学総合リハビリテーション学部

Fluctuations of urinary prostaglandin D2 and E2 metabolites in Duchenne muscular dystrophy patients

Atsuko Takeuchi¹, Yoshihiro Urade², Masafumi Matsuo³

¹Kobe Pharmaceutical University

²Tsukuba University, International Institute for Integrative Sleep Medicine

³Kobe Gakuin University, The Faculty of Rehabilitation

【目的】Duchenne 型筋ジストロフィー(Duchennne muscular dystrophy : DMD)は進行性の筋萎縮を呈し、極めて重篤な遺伝性疾患である。本疾患は、原因遺伝子であるジストロフィン遺伝子のエクソン欠失および重複等の変異により、筋の細胞膜形成に関するジストロフィンタンパク質が欠損する遺伝性筋疾患である。人種に関係なく出生男子約 3,500 人に 1 人の割合で発症する。我々は以前に、DMD 患者の筋肉では炎症やアレルギーなどに関するプロスタグランジン D2 合成酵素の発現が亢進しており、DMD の病状診断に PGD2 の尿中代謝物 (PGDM) 濃度が有効であることを報告した。今回は、PGD2 と同様の COX の作用および PGE2 合成酵素により生成する PGE 2 に注目し、DMD 患者の尿中 PGDM と共に PGE2 代謝物 (PGEM) を定量し、変動を調べた。

【方法】DMD 患者および健常者の尿 0.4ml に PGDM-d6、PGEM-d6 を加え、固相抽出カラムを用いて PG 代謝物を抽出し、抽出液を濃縮乾固・再溶解して測定用試料とした。標準試料・測定用試料を API3000 LC-MS/MS system に適用し、最適条件のプリカーサーおよびプロダクトイオンを選び、SRM (Selected Reaction Monitoring) 法で測定した。PGDM または PGEM とそれとの内標準物質とのピーク面積比を用いて定量値を算出した。また、クレアチニンを定量し、補正した。

【結果/考察】LC-MS/MS により、PGDM および PGEM は同時分離定量が可能であった。検量線も良好な直線性を示し、信頼性の高い定量ができたと考えられた。尿中 PGDM 濃度および尿中 PGEM 濃度を DMD 患者と健常者で比較したとき、DMD 患者の方がともに数値が高かった。しかしながら、尿中 PGDM 濃度とは異なり、尿中 PGEM 濃度は DMD の診断に有効であると断定することは難しく、今後も検討していく必要があると考えられた。

探針エレクトロスプレー/タンデム質量分析(PESI/MS/MS)によるマウス肝臓内のメタボローム直接分析法（インタクト・メタボローム分析法）の構築

林 由美^{1,2}, 財津 桂^{1,2}, 村田 匠³, 大原倫美¹, 中切健太¹, 草野麻衣子¹, 那須民江⁴, 中島宏樹³, 石川哲也¹, 土橋 均¹, 石井 晃¹

¹名古屋大学大学院医学系研究科, ²名古屋大学高等研究院, ³島津製作所, ⁴中部大学生命健康科学部

Development of an intact metabolome analytical method of mouse hepatic tissue by probe electrospray ionization-tandem mass spectrometry (PESI/MS/MS)

Yumi Hayashi^{1,2}, Kei Zaitsu^{1,2}, Tasuku Murata³, Tomomi Ohara¹, Kenta Nakagiri¹, Maiko Kusano¹, Tamie Nakajima⁴, Hiroki Nakajima³, Tetsuya Ishikawa¹, Hitoshi Tsuchihashi¹, Akira Ishii¹

¹Nagoya University Graduate School of Medicine, ²Institute for Advanced Research, Nagoya University, ³Shimadzu Corporation, ⁴College of Life and Health Sciences, Chubu University

【目的】内因性代謝物（メタボローム）解析においては、前処理やサンプリング時におけるバイアスを完全に除外することは難しく、生体内のメタボロームの変動を正確に補足するためには、メタボロームの直接分析法の構築が不可欠である。新規イオン化法である探針エレクトロスプレーイオン化法(PESI)は、サンプルの前処理が「不要」であり、生体試料中のメタボロームの直接分析が可能である。そこで本研究では、PESI/MS/MS による生体組織中メタボロームの直接分析法（インタクト・メタボローム分析法）を構築した。さらに本法を「CCl₄ 誘導性急性肝障害モデルマウス」のメタボローム解析に応用し、有用性を検証した。

【方法】動物実験: 6 週齢 C57/BL6J マウスに CCl₄ オリーブオイル溶液(0.5 ml/kg)またはオリーブオイルを腹腔内投与した(n=5)。24 時間の絶食後、肝臓を採取し、急速凍結した。装置：島津製作所製 PESI イオン源および LCMS-8040 タンデム型質量分析計を用いた。試料調製：約 3 mm 角の肝臓切片に 50% EtOH 水溶液を適量添加し、サンプルプレートにセットした。分析条件: プロダクトイオンスキャンおよび SRM モードで測定を行った。得られた結果は SIMCA-P+による多変量解析および R による有意差検定を行った。測定法の検証: GC/MS/MS (装置:島津製作所製 GCMS-TQ8040) を用いてメタボローム解析を行い、結果を検証した。

【結果および考察】 PESI/MS/MS により 27 種の代謝物を同定した。SRM トランジションおよび測定時間等を最適化した後、肝障害モデルおよびコントロール群について肝臓試料のインタクト・メタボローム解析を行った。PCA スコアプロットにおいて 2 群は良好に分離し、特定の成分において有意な変動が認められた。GC/MS/MS を用いて本結果を検証したところ、PESI/MS/MS で得られた結果と有意な相関が認められた。以上の結果、本法はインタクト・メタボローム解析を可能とする新規分析法として有用であることが示された。

高脂肪食摂取が引き起こす腸内環境の変化に対するメタボローム解析による評価

西海 信¹, 吉田 優^{1,2}

¹神戸大学大学院医学研究科, ²国立研究開発法人日本医療研究開発機構, AMED-CREST

Evaluation of high-fat diet-induced alterations in the intestinal environment by metabolome analysis

Shin Nishiumi¹, Masaru Yoshida^{1,2}

¹Kobe University Graduate School of Medicine

²AMED-CREST, Japan Agency for Medical Research and Development

【目的】 腸管疾患である大腸がんは、その発症要因のひとつが環境因子の変化とされている。日本でも、近年、高脂肪食や高カロリー食といった食生活の欧米化が進んでおり、その結果として、大腸がんの患者数が増加してきた可能性が疑われている。また、最近では、脂肪含量の多い食事の摂取が、腸内細菌叢に影響を与えることを示す報告がなされている。本研究では、大腸がんマウスモデルを用いて、メタボローム解析により、高脂肪食摂取による腸内環境の変化を、低分子代謝物レベルで評価した。

【方法】 本研究は、大腸がんモデルとして広く使用されている APC^{min/+}マウスを用いて実験を実施した。APC^{min/+}マウスに、高脂肪食、あるいは、対照通常食を摂取させ、続けて、腸管ポリープ発生数を計測した。また、大腸内容物中の低分子代謝物を、ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて分析した。

【結果】 APC^{min/+}マウスに高脂肪食を摂取させることで、通常食摂取と比較して、腸管ポリープが多く発生することが確認できた。また、高脂肪食摂取により、大腸内における低分子代謝物プロファイルが異なる、すなわち、低分子代謝物に基づいた腸内環境が変化することが明らかとなった。

【考察】 本研究を実施することで、高脂肪食摂取を継続的に摂取することが、低分子代謝物に基づいた腸内環境の変化につながるということを確認できた。高脂肪食摂取により、腸管ポリープ数の増加も確認できたことから、高脂肪摂取に基づく腸内環境の変化が、腸管ポリープ数増加に起因する可能性が示唆された。今後、どのような腸内環境が、すなわち、どのような代謝物が、腸管ポリープ、さらには、大腸がんの発生に関係しているのかを明らかにしていく必要があると考えられる。

蛍光イメージングプローブによるマウス肝臓炎症部における GC-MS/MS 代謝プロファイリング解析

工藤恭彦, 中西 豪, 川名修一, 坂井健朗, 山口 亮, 竹内 司, 尾島典行
株式会社島津製作所

GC-MS/MS metabolic profiling analysis of the inflamed mouse liver by dosing fluorescent imaging probe

Yukihiko Kudo, Takeshi Nakanishi, Shuichi Kawana, Takero Sakai, Ryo Yamaguchi, Tsukasa Takeuchi,
Noriyuki Ojima
Shimadzu Corporation

【目的】自家蛍光の影響や光散乱が少なく高精細度の画像が得られることから、従来用いられている近赤外蛍光波長よりも更に長いNIR-II(1000nm以上)領域の波長を用いたin vivo近赤外蛍光イメージングシステムを開発している。本イメージングプローブは、高精細な画像が得られる反面、肝臓への顕著な集積と炎症が見られるため、この点を改善していく必要がある。本研究では、蛍光イメージングプローブの肝臓への集積がマウスにどのような影響を及ぼしているかを確認するために、肝臓における代謝物変動を高分離、高感度な分析が可能なGC-MS/MSを用いてScan分析、MRM分析により評価した。

【方法】 Scan 及び MRM は GCMS-TQ8040(株島津製作所)、分離カラムは BPX-5 30m × 0.25mm I.D. df=0.25 μ m(SGE)で行った。Smart Metabolites Database (株島津製作所)に搭載された分析メソッドを使用し、分析時間 23 分で 475TMS 誘導体化代謝物を対象に測定を行った。コントロールマウス、および蛍光イメージングプローブ 100 μ L(100mg/mL)を尾静脈投与して 48 時間後に深麻酔下で安楽死させたマウスの肝臓を凍結粉碎し、除タンパク処理後の上清を真空乾燥・再溶解後にメトキシム-TMS 誘導体化を行い分析試料とした。

【結果】コントロール及びプローブ投与したマウス肝臓から得られた試料を Scan 及び MRM で測定した結果、Scan ではコントロール:101 成分、投与有:113 成分、MRM ではコントロール:198 成分、投与有:230 成分の代謝物が検出できた。プローブ投与の有無による肝臓の代謝物を OPLS-DA 解析した結果、Scan ではプローブ投与による炎症を反映すると推定されるバイオマーカー候補 47 成分、MRM では 94 成分を抽出した。MRM で抽出された成分には TCA サイクル(Citric acid、cis-Aconitic acid 等)、ピリミジンヌクレオチド分解(Uridine、Dihydouracil 等)等の代謝経路に関連する成分が含まれる。

【考察】 MRM を用いてマウス肝臓の代謝物を測定することにより、妨害成分が除去され実質的な感度が向上した結果、Scan より多くの代謝物が検出できた。このことは、MRM は Scan より多くのバイオマーカー候補が検出できることを示唆し、マーカー探索において有用であることを表している。また、バイオマーカー候補の多くが炎症により増加したことから、広範な代謝経路に対して過剰な代謝反応などの異常が生じていることが示唆される。

UPLC/MS/MSによる日本人プロピオン酸血症患者のプロピオニル-CoAカルボキシラーゼ活性測定

後藤佳奈¹, 前田康博¹, 中島葉子², 伊藤哲哉², 前田陽子¹, 堀田祐志¹, 片岡智哉³, 川出義浩¹, 杉山成司⁴, 木村和哲^{1,3}

¹名古屋市立大学大学院薬学研究科, ²藤田保健衛生大学小児科, ³名古屋市立大学大学院医学研究科, ⁴愛知学院大学薬学部

An assay of propionyl-CoA carboxylase activity by UPLC/MS/MS in patients with propionic acidemia in Japan

Kana Gotoh¹, Yasuhiro Maeda¹, Yoko Nakajima², Tetsuya Ito², Yoko Maeda¹, Yuji Hotta¹, Tomoya Kataoka³, Yoshihiro Kawade¹, Naruji Sugiyama⁴, Kazunori Kimura^{1,3}

¹Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, ²Department of Pediatrics, Fujita Health University, ³Graduate School of Medical Sciences, Nagoya City University, ⁴School of Pharmacy, Aichi-Gakuin University

【目的】プロピオン酸血症(PA)は、プロピオニル-CoA カルボキシラーゼ(PCC)欠損を原因とする遺伝性代謝疾患である。その臨床症状は、新生児期に発症する重篤なものから、新生児スクリーニングで検出される無症状のものまで様々である。PCC 活性を知ることは、疾患の程度を予測する上で重要な手がかりとなる。我々は、PA 患者のリンパ球を用いた酵素反応を行い、UPLC/MS/MS により PCC 活性を測定する方法を開発した。

【方法】PA 患者または健常人のリンパ球を超音波で破壊し懸濁液とした。これにプロピオニル-CoA、ATP、MgCl₂ を加え、この混合懸濁液を 37 °C で 30 分インキュベートした。この反応で生成したメチルマロニル-CoA を UPLC/MS/MS を用いて定量した。UPLC/MS/MS による測定には、Acquity UPLC BEH C18 column (2.0×150 mm)を用い、移動相に 400 mmol/L HCOONH₄ (pH 7.4)とアセトニトリルを使用した。

【結果】重症の PA 患者ではメチルマロニル-CoA は生成せず PCC 活性はゼロであった。一方、軽症または無症状の PA 患者では健常人と比較して 2-20%のメチルマロニル-CoA が生成した。

【考察】我々の酵素活性測定法では、軽症・無症状 PA 患者での PCC 残存活性を正確に測定することができ、PA 患者における疾患の程度を判断することが可能となった。軽症 PA 患者の多くは PCCB 遺伝子に Y435C 変異を持っており、日本ではコモン変異として知られている。本研究では、Y435C 変異を持つ PA 患者の PCC 活性は健常人の約 10%であった。Phenotype と酵素活性との関係を明らかにするため、更なる研究が必要だと考えられる。

実測に基づく MS/MS スペクトルライブラリーを用いた酸化リン脂質の包括的メタボローム解析システムの確立

青柳良平^{1,2}, 池田和貴^{1,2}, 有田 誠^{1,2}

¹理化学研究所統合生命医科学センター・メタボローム研究チーム

²横浜市立大学生命医科学研究科分子エピゲノム科学研究室

Comprehensive metabolomics of oxidized phospholipids using a measured MS/MS spectra library

Ryohei Aoyagi^{1,2}, Kazutaka Ikeda^{1,2}, Makoto Arita^{1,2}

¹Laboratory for Metabolomics, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences (IMS)

²Cellular and Molecular Epigenetics Laboratory, Graduate School of Medical Life Science, Yokohama City University

【目的】 酸化リン脂質は、リン脂質の脂肪酸鎖が活性酸素種や代謝酵素で酸化されることなどにより生成する。これら酸化リン脂質は、動脈硬化をはじめとする様々な疾患の発症や進行に関わっている可能性が指摘されているが、生体内における分布や動態、代謝制御、および生理機能については未だ不明な点が多い。その理由の一つとして、入手可能な標準物質が限られており、包括的なメタボローム解析システムが確立出来ていないことが挙げられる。そこで本研究では、培養細胞に酸化脂肪酸を添加することにより生成する酸化リン脂質を用いることで実測に基づく MS/MS スペクトルの収集を行い、この情報を用いた酸化リン脂質の包括的メタボローム解析システムの構築を目指した。

【方法】 HEK293 細胞に酸化脂肪酸を添加し、その結果生成した酸化リン脂質を固相抽出 (Monospin C18: GL science) で調製した。次に UPLC/Triple TOF-MS (Waters/SCIEX) を用いて Information dependent acquisition (IDA) モードでノンターゲット解析を行い、MS/MS スペクトルによる酸化リン脂質の包括的な同定および構造解析を行った。

【結果と考察】 酸化脂肪酸の添加により生成した酸化リン脂質の構造解析により、これまでに約 300 種類の酸化リン脂質分子種の MS/MS スペクトルを収集することができた。これらの情報をもとに、三連四重極型 MS を用いたターゲット解析から高感度かつ定量的な測定系を構築した。生体試料を用いた酸化リン脂質の検出および定量分析に応用した例についても紹介したい。

ステロイド検査試料としての爪の評価：左右の手の爪中ステロイドの含量差

小川祥二郎¹, 加藤由那¹, 高野 香¹, 中畔勇太郎¹, 山形憲一郎¹, 閔 俊哲², 東 達也¹
¹東京理科大学薬学部, ²静岡県立大学薬学部

Evaluation of the utility of fingernail clipping as sample for steroid test: Differences in fingernail steroid contents between right and left hands

Shoujiro Ogawa¹, Yuina Kato¹, Kaori Takano¹, Yutaro Nakaaze¹, Kenichiro Yamagata¹, Jun Zhe Min²,
Tatsuya Higashi¹

¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

²School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka

【目的】 爪は無痛、無侵襲的に採取可能であることに加え、中長期間の生体情報を保存していることから、慢性疾患の新しい検査試料として期待されている。しかし、現時点ではステロイドを指標とする内分泌検査に対し、試料としての爪に関する情報は極めて乏しい。例えば左右の手の爪中ステロイドの含量差などは不明である。そこで本研究ではLC/ESI-MS/MSによる爪中testosterone (T) とcortisol (F) の同時定量法、glycochenodeoxycholic acid (GCDCA) とtaurochenodeoxycholic acid (TCDCA) の同時定量法、及びdehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) 定量法を開発し、検査試料としての爪の評価の一つとして、これら5種のステロイドの左右の手の爪中含量差を解析した。

【実験】 健常ボランティア (男女各n = 10) から採取した爪 (第1指及び第2指) を1 mm角以下に細断し、乾燥 (45°C、3 h) して保存した。爪試料 (10 mg) は内標準物質 (各ステロイドの²H標識体) を含む50% EtOHあるいは70% MeOH (300 μL) 中に放置 (60°C、2 h) 後、超音波処理 (15 min) した。上清を固相抽出カートリッジで精製し、LC/ESI-MS/MSに付した。

【結果】 各ステロイドについて左右の手の爪中ステロイド含量 (*L*及び*R*) の比 (*L/R*) を算出したところ、GCDCAで0.40–2.03、TCDCAで0.82–2.10、DHEASで0.44–2.13となり、これらのステロイドでは*R*と*L*のどちらの結果を用いるかによって、産生・分泌状態の評価が大きく異なることが示唆された。一方、T及びFでは*L/R*がそれぞれ0.84–1.24及び0.83–1.27であった。化合物のlogDとケラチンに対する親和性には正の相関があることが報告されており、TやFなどの疎水性の高いステロイドは爪マトリクスに取り込まれた後、日常活動 (手洗い、入浴など) における溶出が少なく、*L*と*R*に差が生じにくいものと推察された。また、爪中T含量に明らかな性差 (男性 : 2.07 ± 0.64 ng/g, 女性 : 0.58 ± 0.33 ng/g) が観察される一方で、F含量 (男性 : 5.23 ± 1.62 ng/g, 女性 : 4.49 ± 1.38 ng/g) にはそれが認められなかった。以上を総合すると、爪を用いて各個人のTやFの産生・分泌状態が評価できるものと考えられた。

脂肪細胞の脂肪滴における過酸化トリグリセリドの分析

惠 淑萍¹, 繁富(栗林)香織¹, 小林 悠¹, 千葉仁志¹

¹北海道大学 大学院保健科学研究院

Analysis of triglyceride hydroperoxides in lipid droplets from adipocyte

Shu-Ping Hui¹, Kaori Kurabayashi-Shigetomi¹, Yu kobayashi¹, Hitoshi Chiba¹,

¹Faculty of health science, Hokkaido University

【背景・目的】肥満・糖尿病・高血圧・動脈硬化をはじめとした生活習慣病の発症は、内臓脂肪の過剰蓄積が主要因だと言われている。しかしながら、どのようなメカニズムで内臓脂肪蓄積を引き起こすのか、また、蓄積された脂肪はどのような成分なのかなど未だに不明な点が多い。近年、ガラスキャビラリーを用いて生体組織や細胞内の低分子に関する質量分析法の研究が報告された (Nakajima K., et al Analy Sci. 2003; Mizuno H., et al, J Mass Spectrom, 2008 ; Tsuyama N., et al, Anal Sci, 2008) . 本研究室で確立された一細胞内脂肪滴の酸化評価系(質量分析法)を用いて、脂肪細胞に蓄えられている脂肪滴のみを選択的に採取し、トリグリセリド(TG)及び過酸化トリグリセリド(TG-OOH)を分析した。

【方法】細胞は、人の内臓脂肪組織に一番近いと言われているラットの腸間膜脂肪細胞より採取した stromal-vascular cells (SVCs) を使用した (Visceral Adipocyte Culture Kit V-1; Cosmo Bio Co. Ltd., Japan)。本細胞は、一過性の誘導刺激の際に一般的に用いられるデキサイメタゾン及びイソブチルメチルキサンチンを使用することなく、一週間ほどで脂肪細胞へと分化することが可能である (Shimizu, Cell Biol Int, 2006)。脂肪細胞から脂肪滴を採取する前に、培地を吸引し、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)ですすぐ。脂肪細胞における脂肪滴は、顕微鏡(IX71, オリンパス)の下で、金でコーティングされた自家製キャビラリー(針)およびマイクロインジェクター(IM-11-2、ナリシゲ)を用いて吸引した。次いで、針に有機溶媒を添加し、そのまま ESI-Orbitrap 質量分析計に導入し、定性分析を行った。なお、定性分析に必要なトリオレイン(TG 18:1/18:1/18:1)及び過酸化トリグリセリド(TG-OOH 16:0/18:2/16:0)は標品として化学合成された。(Hui SP, et al. Lipids 2003, 38; Hui SP, et al. Anal Bioanal Chem 2013, 405)

【結果・考察】合成された TG 18:1/18:1/18:1 及び TG-OOH 16:0/18:2/16:0 は両方とも MS スペクトルでは $[M+Na]^+$ として観察された。また、それらの MS2 スペクトルが得られた。生きた脂肪細胞から採取した脂肪滴からも同じく TG 18:1/18:1/18:1 及び TG-OOH 16:0/18:2/16:0 が $[M+Na]^+$ として観察され、MS2 スペクトルも得られた。よって、脂肪滴に TG 18:1/18:1/18:1 及び TG-OOH 16:0/18:2/16:0 が存在したことを確認した。本研究では、TG 18:1/18:1/18:1 及び TG-OOH 16:0/18:2/16:0 を含め、20種類の TG 及び 15種類の TG-OOH を検出した。脂肪細胞内の脂肪滴は、酸化されていることが明らかになった。

LC/MS/MS の臨床検査応用 —ビタミン D 代謝物測定を基盤に—

佐藤 守¹, 石毛崇之², 小川祥二郎³, 西村 基^{2,4}, 松下一之^{2,4}, 東 達也³, 野村文夫¹

¹千葉大学医学部附属病院マススペクトロメトリー検査診断学, ²千葉大学医学部附属病院検査部, ³東京理科大学薬学部臨床分析科学研究室, ⁴千葉大学大学院医学研究院分子病態解析学

Clinical application of LC/MS/MS -focusing on vitamin D metabolites testing-

Mamoru Satoh¹, Takayuki Ishige², Shoujiro Ogawa³, Motoi Nishimura^{2,4}, Kazuyuki Matsushita^{2,4}, Tatsuya Higashi³, Fumio Nomura¹

¹Division of Clinical Mass Spectrometry, Chiba University Hospital

²Clinical Laboratory, Chiba University Hospital

³Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

⁴Department of Molecular Diagnosis, Graduate School of Medicine, Chiba University

【背景と目的】現在の臨床検査室では、各種ステロイドホルモン・ビタミンD代謝物などの低分子化合物の分析には抗体による免疫学的測定法が主に用いられている。免疫学的測定法は検体処理能力が高く、臨床検査において必須である一方、交差反応の存在やキット間差・施設間差の問題が指摘されている。低分子化合物は側鎖構造などの微小な違いにより生物学的活性が大きく異なるため、精密な代謝動態の評価には、微小構造差を弁別することのできるLC/MS/MSでの測定が非常に有用である。本発表では、LC/MS/MSの臨床検査室導入の1例として、ビタミンD代謝物の分析を紹介する。ビタミンDはカルシウムの代謝調節に必要な脂溶性ビタミンとして知られており、近年ではビタミンDの不足が多くの疾患の発症リスクを高めることが報告され注目されている。血中の主たるビタミンD代謝物の1つである25(OH)ビタミンDはビタミンDの栄養状態の評価を主とした目的で測定されている。また最近、新生児において25(OH)Dの異性体である3-epi-25(OH)D3が25(OH)Dの8~60%と比較的に高濃度で存在することも報告されている。3-epi-25(OH)D3は生理活性を持たないが、これが新生児の25(OH)D測定値を誤って高値にしている可能性があり、個々のビタミンD代謝物を正確に定量できることが求められている。そこで今回我々は、活性型ビタミンDと密接な関係にある不活性型ビタミンD(24,25(OH)2D3)も含めた4種のビタミンD代謝物について検査応用を目的として、臨床検査を行う際に絶対に求められる正確度・再現性・安定性・最小定量感度・マトリクスの干渉・採血管種の影響・従来法との相関について詳細に検討を行った。

【方法】インフォームドコンセントの得られた健常人血清検体を用いた。血清20μLとISをスペイクした抽出液280μLを混和し、SLE(Supported Liquid extraction)を行った。抽出溶液を乾固後にDAPTAD誘導体化を室温で1時間行いSRM測定を行った。HPLCはNanoSpace SI-2を用い、イオン化法はESI、質量分析計には三連四重極質量分析計 TSQ vantageを用いた。

【結果・考察】LOQは希釈直線性とCV10%以下のクライテリアから0.0905 ng/mL、0.0202 ng/mL、0.0241 ng/mL、0.0127 ng/mL(各25(OH)D₃、3-epi-25(OH)D₃、24,25(OH)₂D₃、25(OH)D₂)であった。健常人血清を用いた精度は同時再現性がそれぞれCV 0.9%、CV 3.0%、CV 3.8%、CV 4.4%で20日間の日差再現性がCV 2.2%、CV 3.4%、CV 7.8%、CV 4.4%(各25(OH)D₃、3-epi-25(OH)D₃、24,25(OH)₂D₃、25(OH)D₂)であった。NIST SRM972aを使用した正確度はLevel2血清で100.5%、96.1%、99.3%(各25(OH)D₃、3-epi-25(OH)D₃、25(OH)D₂)であり、NISTの指定した範囲に収まっており、日常検査として十分に使用できると考えている。

メタボローム解析による妊娠高血圧腎症治療標的分子の探索

津國由佳子¹, 佐藤恵美子^{1,2}, 伏間智史¹, 佐藤 博^{1,2}, 高橋信行^{1,2}, 三枝大輔^{2,3}

¹東北大学大学院薬学研究科, ²東北大学大学院医学系研究科, ³東北大学東北メディカル・メガバンク機構

Metabolomic screening for biomarkers of preeclampsia

Yukako Tsunokuni¹, Emiko Sato^{1,2}, Tomofumi Fukushima^{1,2}, Hiroshi Sato^{1,2}, Nobuyuki Takahashi^{1,2}, Daisuke Saigusa^{2,3}

¹Graduate School of Pharmaceutical Science, Tohoku University

²School of Medicine, Tohoku University

³Tohoku Medical Megabank Organization, Tohoku University

【目的】妊娠高血圧腎症 (Preeclampsia : PE) は、妊娠 20 週以降に高血圧と蛋白尿を呈する病態であり、重症化することで母体若しくは子に影響を与える恐れがある疾患である。現在までに、PE の診断には血圧及びタンパク尿が用いられているが、明確な病態の変化による診断基準が定義されていない。従って、PE の病態を解明し、早期発見を可能とする新規診断マーカー分子の同定が求められている。本研究では、PE の病態解明をすることを目的とし、モデルマウスを用いる治療ターゲット分子及び診断マーカーの探索を実施した。

【方法】初めに、ICR マウス (妊娠 8 週齢) に、可溶型 VEGF 受容体 1 (sFlt-1) を過剰発現させるアデノウィルスを投与し、PE モデルマウスを作成した⁽¹⁾。次に、モデルマウスから血漿を採取し、global metabolomics (GMet) 解析を実施した。分析基盤は、LC に四重極-フーリエ変換型質量分析計を接続した LC-Q-FT/MS を用い、positive (pos) 及び negative (neg) 両イオンモードにて測定を実施した。また、分析カラムに ZIC-pHILIC を選択し、10 mmol/L 重炭酸アンモニウム溶液 (pH 9.2) 及びアセトニトリルを用いるグラジエント溶出にて化合物を溶出した。得られたデータは、Progenesis QI 及び SIMCA-P を用いることによる化合物同定及び多変量解析を実施し、モデルマウスにおいて特異的に変動する化合物を抽出した。また、化合物は LC-MS/MS を用いる targeted metabolomics (TMet) により、定量評価した。

【結果及び考察】 GMet により得られた 1011 種 (pos) 及び 986 種 (neg) の化合物を用いる OPLS-DA 解析の結果、PE 群において、血漿中のアセチルカルニチン及び長鎖アシルカルニチンが sFlt-1 非投与マウスと比較して有意に低値となった ($P < 0.05$)。また、各化合物は、TMet の結果においても同様に低値であることが示された。アセチルカルニチンは、ミトコンドリアの脂肪酸酸化に関わることから、今後 PE におけるアセチルカルニチンの動態と脂肪酸酸化の関連を解明し、ターゲット分子の有用性を評価する予定である。

(1) Lu F et al. Am J Obstet Gynecol. 2007 Apr;196(4):396.

蛍光イメージングプローブ投与マウス肝組織に対する LC/MS を用いた代謝物一斉分析

中西 豪¹, 工藤恭彦¹, 川名修一¹, 山口 亮¹, 竹内 司¹, 尾島典行¹

¹島津製作所

Simultaneous of primary metabolites by LC/MS for liver tissue from a mouse dosed with fluorescent probes

Tsuyoshi Nakanishi¹, Yukihiko Kudo¹, Shuichi Kawana¹, Ryo Yamaguchi¹, Tsukasa Takeuchi¹,

Noriyuki Ojima¹

¹Shimadzu Corporation

【目的】近赤外蛍光波長よりも長いNIR-II (>1000 nm) 領域の波長を用いた *in vivo* 近赤外蛍光イメージングシステムを島津製作所では開発しているが、本技術による高精細なイメージング画像が得られる反面、現状のプローブは肝臓への顕著な集積が認められるため、この点を改善していく必要がある。ここでは、蛍光イメージングプローブの肝臓への集積がマウスにどのような影響を及ぼしているかを確認するために、肝臓における代謝物変動をトリプル四重極型LC/MSを使って評価した。

【方法】蛍光イメージングプローブを $100 \mu\text{g}/100\text{ mg/ml}$ を尾静脈投与したBALB/c-*nu* マウスを投与48時間後に、深麻酔下で安樂死させ肝組織を摘出した。摘出した肝組織は速やかに凍結後、メタノール中で破碎した。クロロホルム・メタノール抽出法による脂質・タンパク質の除去、5kDa cutoff フィルターによる濾過を行った。次に遠心エバポレータによる濃縮後、超純水で溶解して適宜希釈した後、LC/MSによる代謝物の一斉分析を行った。LC/MS分析では、イオンペア試薬としてトリプチルアミンを移動相に加えたイオンペア法による一斉分析と、PFPPカラムを用いた通常の逆相系での分析を行った。各代謝物のピーク面積を内部標準物質の面積値を基準とした面積比を比較することで、蛍光イメージングプローブ投与による代謝物の変動を比較した。

【結果】イオンペア法による一斉分析結果からは解糖系を中心とした糖リン酸やヌクレオチドに代表される代謝物を検出することができた。またPFPPカラムを用いた非イオンペア法では、TCA回路における有機酸やTranssulfuration経路代謝物、アミノ酸、ヌクレオシドなどを検出した。蛍光イメージングプローブの未投与／投与間における代謝物変動としては、投与群においてTCA回路の有機酸・アミノ酸をはじめとする代謝物において著しい増大、胆汁酸・ATPの低下が認められた。

【考察】投与された蛍光イメージングプローブが肝組織に蓄積することで生じる肝障害、ミトコンドリアの機能障害や胆汁酸合成能の低下に由来する代謝物変動が、トリプル四重極型質量分析装置(LC/MS)を用いた一斉分析によって示唆された。

マイクロフローLC/MS/MSによる尿中低分子ペプチド一斉分析法

大田正規, 佐藤充彦, 隠山信二, 岡野雅人
株式会社 LSI メディエンス アンチドーピングラボラトリー

Doping control analysis of small peptides in human urine by microfluidic chromatography/tandem mass spectrometry

Masanori Ohta, Mitsuhiro Sato, Shinji Kageyama, Masato Okano,
Anti-Doping Laboratory, LSI Medience Corporation

【目的】近年、競技スポーツにおいて成長ホルモン分泌刺激物質（GHS）をはじめとする低分子ペプチドを用いたドーピングが大きな問題となっている。これら低分子ペプチドの分析では、尿中濃度で数十 pg/mL から数百 pg/mL と低濃度での検出が可能な高感度分析が必要である。通例、低濃度物質の高感度分析にはナノフローでの ESI イオン化による高感度 LC/MS/MS 法が用いられるが、ナノフロー分析はスプレーヤーの調整など取扱いが難しく、また分析時間も長くスループットが低いことが難点である。Waters 社の IonKey モジュールを用いたマイクロフローイオン化では、ナノフローに比べ流速が速く、また分析カラムとスプレーヤーが一体となっておりスプレーヤーの調整が不要であるため、スループットおよび汎用性の高い高感度分析が可能である。そこで、我々はこのマイクロフローLC/MS/MS により尿中の低分子ペプチドの高感度迅速一斉分析法の開発を行った。

【方法】尿 1mL に内部標準溶液および 0.8 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) を添加し、逆相ミックスモード弱陽イオン交換型カラム (Oasis WCX、Waters) による固相抽出を行った。抽出液を 45°C、減圧下で遠心濃縮し、残さを 0.1% HCOOH で再溶解し、サンプル溶液とした。このサンプル溶液をマイクロフローLC/MS/MS を用いて分析・測定した。装置は nanoACQUITY UPLC/Xevo TQ-S/ion Key (Waters)、トラップカラムには M-Class Trap Symmetry C18 100Å (5 µm 300 µm × 50 mm、Waters)、分析カラムには BEH C18 130Å iKey (1.7 µm 150 µm × 100 mm、Waters)を使用した。移動相には 0.1% HCOOH および 0.1% HCOOH in CH₃CN を用い、グラジエント溶出した。イオン化は ESI (+) とし、1 成分あたり 2 つの mass transition による MRM 測定を行った。

【結果・考察】マイクロフローLC/MS/MS による尿中低分子ペプチドの 31 成分一斉分析法を確立した。検出感度はナノフロー分析と概ね同程度の高感度分析が可能であり、分析時間も 1 検体 15 分と高いスループット分析を可能とした。本法のドーピング検査への適用性を確認するために、GHS 製剤の一つである GHRP-2 の服用者の尿試料を本法により分析したところ良好な検出が可能であった。本法は、ドーピング検査でも試料として使われ始めた血清試料中の低分子ペプチド分析への適用も可能となることが期待される。

nano LC/MS/MS を用いたラット肝臓中胆汁酸一斉分析法の構築

浅野友美^{1,2}, 財津 桂¹, 瀧健太朗¹, 草野麻衣子¹, 北森一哉², 内藤久雄³,
那須民江⁴, 土橋 均¹, 石井 晃¹

¹名古屋大学大学院医学系研究科, ²金城学院大学生活環境学部, ³藤田保健衛生大学医学部,
⁴中部大学生命健康科学部

Development of a simultaneous analytical method of bile acids in rat liver by nano LC/MS/MS

Tomomi Asano^{1,2}, Kei Zaitsu¹, Kentaro Taki¹, Maiko Kusano¹, Kazuya Kitamori², Hisao Naito³, Tamie Nasu⁴, Hitoshi Tsuchihashi¹, Akira Ishii¹

¹Nagoya University Graduate School of Medicine, ²College of Human Life and Environment, Kinjo Gakuin University, ³Fujita Health University School of Medicine, ⁴College of Life and Health Sciences, Chubu University

【目的】胆汁酸（BA）は哺乳類の胆汁に存在するステロイド誘導体の総称である。我々はこれまでに生体試料中 BA の一斉分析法として、UPLC/MS/MS を用いた手法を構築してきた。本法は多検体をハイスループットで処理することを目的とした分析法であるが、一般に BA には多くの異性体が存在するため、より分離性能の高い分析法も不可欠である。そこで本研究では、nano LC を用いた胆汁酸一斉分析法の構築を試みた。さらに、ラット肝臓からの BA 抽出条件についても検討し、ラット肝臓試料からの胆汁酸一斉分析法を検討した。

【方法】 BA (28 種) は市販標準品を購入した。また、内部標準として 4 種類の BA 安定同位体標識化合物を使用した。装置は nano LC システム DiNa-2A (KYA Tech) および 4000 QTRAP (AB Sciex) を使用した。分析条件の検討：0.1 ng/mL または 1 ng/mL に調整した BA 標準品混合液分離条件を用いて、SRM 条件の最適化および装置感度の確認を行った。また、移動相に酢酸アンモニウム水溶液、メタノール (MeOH) あるいはアセトニトリル (ACN) を用いて分離条件を検討した。ホモジナイス条件の検討：50% MeOH、MeOH、ACN あるいは MeOH・ACN 混液 (1:1, v/v) でラット肝試料をそれぞれホモジナイスした。遠心分離後の上清を濃縮乾固し、移動相に再溶解したものを分析試料とした。

【結果および考察】 移動相に ACN を用いた場合、一部のピークが共溶出し、分離が困難であったが、MeOH を用いた場合は各ピークを良好に分離できた。標準品を用いた装置感度として、概ね 0.1 ng/mL (SRM モード) の検出が可能であった。また、既報に従って肝試料を 50% MeOH でホモジナイスした場合、その後の脱塩および除タンパク操作が煩雑であることから、有機溶媒を用いたホモジナイス法について検討した。その結果、MeOH・ACN 混液を用いたホモジナイス法では、比較的良好な回収率が得られ、肝試料中の簡易 BA 抽出が可能となった。

LC-MS/MS 法による大豆イソフラボンおよびエクオールとその抱合代謝物の一斉分析法の検討

木下瑞貴¹, 細田香織¹, 柴崎浩美², 横川彰朋², 石井和夫¹

¹杏林大学保健学部, ²東京薬科大学薬学部

Simultaneous analysis of daidzein, genistein, equol and their metabolites in humans by liquid chromatography tandem mass spectrometry

Mizuki Kinoshita¹, Kaori Hosoda¹, Hiromi Shibasaki², Akitomo Yokokawa², Kazuo Ishii¹

¹Kyorin University Faculty of Health Sciences

²Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences School of Pharmacy

【目的】ダイゼインやゲニステインに代表される大豆イソフラボンは、エストロゲン作用を有するため、ホルモン依存性疾患の予防に有効である。一方、エクオールは、腸内細菌によりダイゼインから生成され、より強力なエストロゲン作用を持つために更年期症状の緩和を期待した食品成分としても注目を集めている。エストロゲン作用をはじめとする大豆イソフラボンの生体作用を正確に評価するためには、血中および尿中のダイゼインやゲニステインのみならずエクオールの代謝・体内動態の網羅的な把握が必要である。我々は既に HPLC を用いたダイゼインとゲニステインの抱合代謝物一斉分析法を報告した。しかし、エクオールに関しては、抱合代謝物を含む一斉分析法がない。そこで LC-MS/MS 法を用いるダイゼイン、ゲニステインおよびエクオールとその抱合代謝物の一斉分析法を検討した。

【方法】LC-MS/MS は TSQ Quantum Ultra (Thermo Fisher Scientific) を用いた。ダイゼイン、ゲニステイン、エクオールとそれらの抱合代謝物全 24 種を分析対象とした。各抱合体の標品は化学合成し、LC-MS と NMR にて構造を決定した。カラムに YMC-Triart C18 (100×2.0 mm I.D., 3 μm; YMC)、移動相に酢酸アンモニウム溶液とアセトニトリル (グラジエント法) を用いて LC 分離した後、標品を用いて最適化した SRM 検出条件下にて 24 種を分析した。

【結果・考察】すでに確立している HPLC によるダイゼインとゲニステインの抱合代謝物の一斉分析条件を適用したところ、24 種は 35 分以内に全て溶離された。ダイゼインとゲニステインとその抱合代謝物 14 種およびエクオールとその二重抱合体 3 種については良好にピーク分離した。しかし、エクオールのグルクロロン酸および硫酸の抱合位置異性体 4 種は完全に分離できず、LC 分離条件の検討を進めている。分離条件の確立後は、きな粉 (10 g) を摂取した被験者における血漿中ダイゼイン、ゲニステインおよびエクオールとその抱合代謝物の測定を行う予定である。大豆イソフラボンとその抱合代謝物の代謝・体内動態研究は、大豆イソフラボンの生体作用の正確な評価に有用な情報を提供するものと考える。

臨床検査を目的としたLC-MS/MSによる血清中アシルカルニチンの定量分析法の開発

小林弘典¹, 山田健治¹, 坊 亮輔¹, 長谷川有紀¹, 山口清次¹, 城下友義², 伊藤利将², 井手野 晃², 大原利成²

¹島根大学医学部小児科, ²積水メディカル株式会社

Development of method for acylcarnitines in serum using LC-MS/MS

Hironori Kobayashi¹, Kenji Yamada¹, Ryousuke Bo¹, Yuki Hasegawa¹, Seiji Yamaguchi¹, Tomoyoshi Shiroshita², Toshimasa Ito², Akira Ideno², Toshinari Oh-hara²

¹Department of pediatrics, Shimane University Faculty of Medicine

²SEKISUI MEDICAL Co., LTD.

【目的】 LC-MS/MS を用いる新生児マススクリーニング (NBS) の普及に伴い、一般臨床における血清中アシルカルニチン (AC) 分析の需要が高まってきた。NBS で行われる分析は血液ろ紙を用い、既知濃度の内部標準と目的物質、両者のイオン強度を比較し、定量されている。この方法は低コストで大量分析を行うには優れているが、分析機器間で定量値の差違が生じる、定量性が十分でないなど、臨床検査として使用には課題もある。そこで我々は臨床検査での使用を念頭に、血清中の AC 定量法を構築し、バリデーション試験を実施した。

【方法】 透析処理したヒト血清に、想定される AC 濃度をカバーするように 5 濃度に調製した 15 種の AC を含む混合標準溶液 (1% ギ酸を含むエタノール溶液) を添加し、精度管理用途 (QC 血清) を兼ねた検量線作成用の標準血清 5 種類を調製した。調製した QC 血清及び標準血清 (合計 7 濃度) に、各 AC の安定同位体を含む内部標準溶液を添加後、エタノールを加えて溶液部分を回収した。得られた溶液を窒素気流下で乾固し、乾固した試料に再溶解溶媒を加えて再溶解し、遠心分離後の上清を測定用サンプルとした。

なお、分析には LC-MS/MS (LC-20A : 島津製作所及び API2000 : AB Sciex) を用いて HILIC モードの分析カラムで測定を行った。構築した各 AC の定量分析法について、検量線の直線性、並びに、QC 血清測定時の日内及び日間での再現性及び正確性について、それぞれ評価した。

【結果および考察】 構築したヒト血清中 AC の濃度測定法は、それぞれ、C0 (2.0~200 μmol/L)、C2 (1.0~100 μmol/L、以下単位省略)、C3 (0.24~24)、C4 (0.1~10)、C5 (0.06~6)、C5-OH (0.1~10)、C5-DC (0.05~5)、C6 (0.05~5)、C8 (0.05~5)、C10 (0.05~5)、C12 (0.05~5)、C14 (0.06~6)、C14:1 (0.06~6)、C16 (0.24~2.4) 及び C18 (0.1~10) の定量範囲で良好な直線性が得られ、それらの検量線の相関係数 (*r*) は 0.9942~0.9998 であった。

また、標準血清と同時に測定した QC 血清の日内での再現性 (CV%) 及び正確性 (RE%) は、全ての AC に関して、CV% = 1.0~12.3% 及び RE% = -13.6~10.0% の範囲であり、良好な結果が得られた。また、3 日間の再現性及び正確性を評価したところ、それぞれ CV% = 2.4~10.2% 及び RE% = -11.5~8.1% と良好であった。今回確立した分析方法では精度管理用検体を検量線作成用検体として使用できる精度にあげる事で従来は別々に行われていた工程を単純化した。この分析法により LC-MS/MS による血清 AC 分析法の標準化が可能であり、精密検査やフォローアップ時の分析に貢献する事が期待される。本発表では、本測定法により一般検体を測定した結果についても報告を行う予定である。

LC/ESI-MS/MSによる血漿中25-hydroxyvitamin D₃及びその硫酸抱合体の同時定量法の開発

後藤彩佳¹, 横田麻衣¹, 小川祥二郎¹, 小松賢司², 杉浦崇浩², 東 達也¹

¹東京理科大学薬学部, ²静岡済生会総合病院

Development of a method for simultaneous determination of plasma 25-hydroxyvitamin D₃ and its 3-sulfate by LC/ESI-MS/MS

Ayaka Goto¹, Mai Yokota¹, Shoujiro Ogawa¹, Kenji Komatsu², Takahiro Sugiura², Tatsuya Higashi¹

¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

²Shizuoka Saiseikai General Hospital

【目的】 最近、小児におけるビタミンD不足がくる病などの骨疾患のみならず、将来の糖尿病や多発性硬化症などの危険因子ともなることが報告され、注目されている。現在、ビタミンDの供給状態は血中25-hydroxyvitamin D₃ [25(OH)D₃]濃度に基づいて評価されているが、先に我々は血漿中25(OH)D₃ 3-sulfate [25(OH)D₃S]のLC/ESI-MS/MS定量法を開発するとともに、乳児では25(OH)D₃Sが25(OH)D₃よりも高濃度で存在すること、また、そのレベルは正期産児よりも早産児で低いことを明らかとした¹⁾。25(OH)D₃Sは貯蔵型ビタミンDとして働いているとも考えられ、乳児のビタミンD供給状態をより正確に評価するには、血中25(OH)D₃とともに25(OH)D₃Sを同時に定量することが重要と考えられる。従来の方法は25(OH)D₃と25(OH)D₃Sを別々に定量(それぞれ正イオン及び負イオン検出)するものであったが、今回、スループットの向上を目指し、両ビタミンD代謝物の同時定量法の開発を試みた。

【実験】 血漿(20 μL)を²H₃-25(OH)D₃及び²H₆-25(OH)D₃S(内標準物質)を含むMeCNで除蛋白後、Oasis HLB カートリッジにて精製し、DAPTADによる誘導体化反応に付した。これを以下の条件のLC/ESI-MS/MSに付した[装置:Waters LC-2695をWaters Quattro Premier XEに接続;カラム:YMC-Pack Pro C18 RS(3 μm, 150 × 2.0 mm i.d.);移動相:グラジエント溶出, MeOH-0.05% HCOOH含有10 mM HCOONH₄(4:1, v/v) → MeCN-0.05% HCOOH含有10 mM HCOONH₄(9:1, v/v);流速:0.2 mL/min;検出:SRM]。

【結果】 DAPTAD誘導体化により、正イオンESI-MS/MSによる25(OH)D₃と25(OH)D₃Sの同時定量が可能となるとともに、25(OH)D₃と3-epi-25(OH)D₃(不活性代謝物)の分離も達成された。検量線は25(OH)D₃では1.0–50 ng/mL、25(OH)D₃Sでは2.5–50 ng/mLの範囲で $r^2 \geq 0.994$ の直線性が得られ、乳児プール血漿を用いた再現性試験(RSD:4.5%以下)の結果も良好であった。現在、早産児を含む乳児(生後10日以内)の血漿中両代謝物の定量を進めしており、この結果についても発表する予定である。

【参考文献】-----

J. Chromatogr. B, 969, 230–234 (2014).

LC-MS/MS による血清エストロゲンおよびプロゲステロンの同時定量

宮林佑衣¹, 佐藤 守², 滝脇正貴², 西村 基¹, 松下一之¹, 野村文夫²

¹千葉大学大学院 医学研究院 分子病態解析学

²千葉大学医学部附属病院マススペクトロメトリー検査診断学

Simultaneous measurement of estrogens and progesterone in serum by LC-MS/MS

Yui Miyabayashi¹, Mamoru Satoh², Masaki Takiwaki², Motoi Nishimura¹, Kazuyuki Matsushita¹, Fumio Nomura²

¹Department of Molecular Diagnosis, Graduate School of Medicine, Chiba University

²Division of Clinical Mass Spectrometry, Chiba University Hospital

【目的】現在臨床検査室では血中の 17β エストラジオール(E2)・プロゲステロン(P)の測定に免疫学的測定法を用いている。免疫学的測定法はハイスループットであり検体検査において必須の技術であるが、使用抗体の交差反応により構造異性体や代謝産物の測り込みが指摘されている。また、E2 は閉経後の女性や小児の検体では測定感度以下となり、病態把握に必要な測定値が得られていないのが現状である。LC/MS/MS を用いた測定では微細な構造変化を弁別して測定できることに加え、同時多項目の測定が可能となる。実際に臨床サイドから検査室にオーダーされる項目として E2 と P はセットで出されることが多い。そこで今回、より高感度でスループットの高いエストロゲンとプロゲステロンの同時測定法の構築を目指し検討を行った。

【方法】血清はインフォームドコンセントの得られた健常人女性を使用。純品または血清 $100\mu\text{l}$ を蒸留水で倍に希釈し、IS $20\mu\text{l}$ を添加・混和後 SLE (Supported Liquid extraction)を行った。SLE は 96well フォーマットの ISOLUTE SLE+を使用した。抽出液は乾燥後に Dansyl Chloride による誘導体化を 60°C で 5 分間行い SRM 測定を行った。分離には UPLC(Bruker)を用い、イオン化法は ESI 法、質量分析計は三連四重極質量分析計 EVOQ Elite (Bruker)用いた。

【結果】純品を使用した同時再現性%CV($n=5$)は E1 5.84%、E2 6.42%、P 5.6%であった。また純品での LOQ(SN=10)は E1 5pg/ml、E2 5pg/ml、P 50pg/ml であった。SLE を用いた前処理での回収率($n=5$)は E1 92.7%、E2 91.2%、P 83.8%と良好な結果であった。

【考察】検討検体数が十分ではないが、従来病院検査室で使われている方法と同等の定量感度を得ることができた。今後、NIST、BCR を用いた正確度、精度の検討を進める。また、現在千葉大学病院では診察前検査を行っており、検体を受理してから測定結果を臨床に報告するまでの時間は 1 時間以内である。今回の測定方法では前処理を簡便な SLE を使用することで測定結果が出るまでの時間は 30 分である。今後前処理の自動化を行うことさらなる高速化、安定化を図りたいと考えている。

重水素化ノビレチンの合成と LC/MS/MS によるノビレチン定量への応用

平野正悟¹, 米澤貴之², 車 炳允², 禹 浩泰^{1,2,3}, 堤内 要¹

¹中部大学応用生物学部, ²中部大学生物機能開発研究所, ³株式会社 沖縄リサーチセンター

Synthesis and application of deuterated nobiletin for determination of nobiletin by LC/MS/MS

Shogo Hirano¹, Takayuki Yonezawa², Byung-Yoon cha², Je-Tae Woo^{1,2,3}, Kaname Tsutsumiuchi¹

¹College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University

²Research Institute for Biological Function, Chubu University

³Okinawa research center Co., Ltd

【目的】岐阜薬科大学の佐治木らは、白金炭素(Pt/C)及びパラジウム炭素(Pd/C)を重水中水素雰囲気下で用いることにより芳香環あるいはアルキル基上で H-D 交換反応が進行することを見出した¹⁾。当研究室では LC/MS/MS 測定などによる安定同位体試料の有用性に着目し、この H-D 交換反応を用いて生理活性物質のサロゲート物質を合成し、生体試料中の高感度分析へ利用してきた²⁾。本研究では、この反応による重水素化物の合成とその利用の一例として、近年抗肥満作用やインスリン抵抗性の改善など様々な効能が発見され注目されるノビレチン(NOB)³⁾の重水素化とそれを内部標準に用いた LC/MS/MS 分析の検討を行った。

【方法】NOB の重水素化反応はミニバキュームチューブに NOB 10 mg (25 mmol) 、5%Pt/C 2.5 mg、D₂O 2.0 mL を加え、水素雰囲気下 180°C で 24 時間反応を行った。得られた重水素化ノビレチン(NOB-d)の構造は NMR 及び LC/MS で評価した。重水素化反応により得られた NOB-d をマウス血清 10 μL に一定量添加した後、メタノール+クロロホルム混合溶媒[1:1 (v/v)]を 0.50 mL 加えて攪拌、遠心分離し上澄みを乾燥させた。その後 10 mmol/L ギ酸水溶液+アセトニトリル[1:1 (v:v)]混合溶媒 200 μL で再溶解し、LC/MS/MS を用いた添加回収実験を行った。クロマトグラムにおける NOB と NOB-d とのピーク面積比を比較することによってマウス血清に含まれている NOB の定量を行った。

【結果と考察】H-D 交換反応では重水素が 3 個置換した NOB-d (m/z 406)を得た。また、重水素化反応の過程において 24 時間の反応後、D₂O と Pt/C を入れ替え再度反応させることによって未反応の NOB に由来する m/z 403 のピークが大幅に減少することを見出した。血清サンプルを用いて、添加回収実験を行った結果、NOB (m/z 403→373)のピーク面積値で絶対検量線を作成した場合と NOB-d (m/z 406→376)とのピーク面積比で検量線を作成した場合の回収率を比較したところ、ピーク面積値で求めた場合の回収率は 90%だったが面積比で求めた場合は 95%であり、5%の改善が見られた。

1) H. Sajiki *et al.*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **81**, 278-286 (2008).

2) S. Hirano *et al.*, *JSBMS letters*, **39**, 110 (2014).

3) B.-Y. Cha *et al.*, *J. Nutr. Biochem.*, **24**, 156–162 (2013).

ヒト靭帯におけるグリコサミノグリカンの解析

長子晴美¹, 原 伸正¹, 日吉峰麗¹, 河野通快², 内尾祐司², 土屋美加子¹
島根大学 医学部 ¹生化学講座, ²整形外科学講座

Analysis of GAG in human ligament

Harumi Osago¹, Nobumasa Hara¹, Mineyoshi Hiyoshi¹, Michihaya Kono², Yuji Uchio²,
Mikako Tsuchiya¹

¹Department of Biochemistry, Shimane University, Faculty of Medicine

²Department of Orthopedic Surgery, Shimane University, Faculty of Medicine

【目的】 グリコサミノグリカン (GAG) は二糖が繰り返す基本骨格に種々な程度の硫酸化が起こっている糖鎖であり、コンドロイチン/デルマタン硫酸、ヒアルロン酸、ヘパラン硫酸およびケラタン硫酸の4クラスに分類される。GAG は関節軟骨、靭帯、皮膚などの細胞外基質に多く含まれるが、その組成の違いがそれぞれの組織の機能に関係していると考えられている。GAG の詳細な解析を行うために、われわれは質量分析による高感度、特異的かつ網羅的解析法を開発し、ブタの軟骨と靭帯における GAG 組成の違いを明らかにした。

ヒトでは靭帯の変性・肥厚に軟骨組織の増生（軟骨化成）が伴うことが報告されており、GAG の質的・量的变化が予想される。これを実証するためには微量のヒト靭帯からの GAG 解析が必要になる。今回われわれの開発した方法で正常ヒト靭帯からの GAG 解析が可能であるかを検討した。

【方法】 正常ヒト靭帯から抽出、二糖化した GAG を、多孔性グラファイトカーボンカラム (Hypercarb, Thermo Scientific 社) 上で分離した後、ESI-QqQ (Shimadzu, 8030) によって、負イオンモードで測定する。

【結果】 重量 4~8 mg のヒト靭帯組織より、2~5 µg の GAG が得られた。40~80 ng の GAG を用いて質量分析による解析を行った結果、ヒアルロン酸はコンドロイチン硫酸のおよそ 5 分の 1 にも達し、コンドロイチン硫酸の中では 1 硫酸体が 8 割を占め、非硫酸体より 2 硫酸体の方が多いことが明らかになった。

【考察】 質量分析により mg 単位のヒト正常靭帯を用いて GAG の詳細解析が可能であること、ヒトの靭帯はブタのそれと似た組成を示すことがわかった。今後この方法を用いてヒトの変性・肥厚した靭帯組織を同様に解析し、GAG の質的・量的な変化を明らかにすることは、病態の解明や治療法の開発に寄与すると考えられる。

2種類の安定同位体標識法を用いた膀胱癌の血中バイオマーカータンパク質の探索

平田佳也¹, 遠藤克也¹, 斎藤達也^{1,2}, 川島祐介², 南田 論³, 松本和将³, 岩村正嗣³, 小寺義男^{1,2}

¹ 北里大学理学部生物物理学研究室, ² 北里大学理学部附属疾患プロテオミクスセンター,

³ 北里大学医学部泌尿器科

Discovery of biomarker proteins in plasma of bladder cancer patients using two types of stable-isotope labeling methods

Yoshiya Hirata¹, Katsuya Endo¹, Tatsuya Saito^{1,2}, Yusuke Kawashima², Satoru Minamida³, Kazumasa Matsumoto³, Masatsugu Iwamura³, Yoshio Kodera^{1,2}

¹Laboratory of Biophysics, Department of Physics, Kitasato University School of Science

²Center for Disease Proteomics, Kitasato University School of Science

³Department of Urology, Kitasato University School of Medicine

【目的】 血液は疾患や健康状態を反映する情報を含み、採取も容易なため、重要な臨床検体である。しかし、詳細なプロテオーム解析は、組織や細胞に比べて困難な点が多く、臨床応用可能なバイオマーカーの探索例は極めて少ない。そこで本研究では、2種類の安定同位体標識法を用いることで、膀胱癌診断マーカー候補タンパク質の探索及び検証を行った。

【方法】 試料調製は、独自の血清・血漿タンパク質分画法 Serum/plasma fraction 法(SF 法)と高存在量タンパク質 12 種類除去カラムを組み合わせて行った。探索のための比較分析は、MS/MS 分析によって未同定成分をも比較分析できる Tandem Mass Tag 試薬 (TMT 6 plex, Thermo Fisher Scientific) を用いた。また、こうして探索したマーカー候補タンパク質の検証はジメチル標識法を用いて行った。測定には低流速 nano flow LC Easy-nLC 1000 (Thermo Fisher Scientific) とベンチトップ型フーリエ変換質量分析計 LC-MS/MS Q-Exactive (Thermo Fisher Scientific) 組み合わせた LC-MS を使用した。測定データの解析には同定解析用ソフトウェア Proteome Discoverer 1.4 (Thermo Fisher Scientific) を用いた。

【結果・考察】 膀胱癌患者血漿 4 検体ずつの混合血漿 6 試料 (手術前 3 試料、手術後 3 試料) を対象とした探索実験において、269 種類のタンパク質に由来する酵素消化ペプチド 2,046 種類を含む約 20,000 種類の酵素消化ペプチド (未同定ペプチドを含む) の高精度な比較分析を実現した。その結果、約 30 種類のタンパク質に由来する約 80 ペプチドにおいて手術に伴う有意な増減が確認された。さらに、未同定ペプチドにおいても手術前後のどちらか一方にしか観測されないペプチドを含む約 80 種類のマーカー候補ペプチドの検出に成功した。発表では、検証実験の結果とともに報告する。

Abcd1 ノックアウトマウスの脳のリン脂質解析

濱弘太郎¹, 藤原優子¹, 守田雅志², 今中常雄², 下澤伸行³, 横山和明¹
¹帝京大・薬, ²富山大・薬, ³岐阜大・生命科学総合研究支援センター

Phospholipid profile of *Abcd1* knockout mouse brain

Kotaro Hama¹, Yuko Fujiwara¹, Masashi Morita², Tsuneo Imanaka², Nobuyuki Shimozawa³, Kazuaki Yokoyama¹

¹Teikyo University Faculty of Pharmaceutical Sciences

²University of Toyama Graduate School of Medicine & Pharmaceutical Sciences

³Gifu University Life Science Research Center

【目的】副腎白質ジストロフィー (X-ALD) は、主に炭素数 24 以上の極長鎖脂肪酸をペルオキシソーム内へ輸送する ABCD1 蛋白質の異常を原因とする進行性の脱髓疾患である。X-ALD 患者体内では極長鎖脂肪酸の蓄積が顕著であるが、極長鎖脂肪酸が体内でどのような脂質として存在するかは明らかでない。また現在までに血漿あるいは培養線維芽細胞における脂質解析が行われているが、臓器レベルでの極長鎖脂肪酸含有脂質プロファイルは不明である。しかしながら極長鎖脂肪酸含有脂質は元々生体に微量しかないため、網羅的な解析はこれまで困難であった。そこで本研究では、ABCD1 の機能異常にともなう多種の極長鎖脂肪酸含有リン脂質の変動を把握することを目的として、X-ALD モデル動物である *Abcd1* KO マウスの脳中のリン脂質について、多段階 MRM モードを用いた高感度定量分析により変動脂質を効率良く見出し、それらの構造を定性分析により明らかにした。

【方法】マウス全脳から Bligh & Dyer 法にて脂質画分を抽出し、逆相カラムを用いて LC/ESI-MS により脂質を測定した。アシル鎖 2 本分の炭素数が 32 から 54、不飽和度が 0 から 12 までの各種リン脂質について MRM モードにて定量測定し、野生型マウスと *Abcd1* KO マウス間で有意差の見られた脂質分子種について、フラグメント解析により分子構造を決定した。

【結果】炭素数 24 以上の極長鎖脂肪酸はホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミンおよびスフィンゴミエリンに検出された。最大鎖長は 34、不飽和度は 0 から 6 であった。フラグメントトイオン解析において、リン脂質のリゾ体に相当するフラグメントトイオンは不飽和度が 0 あるいは 1 であったことから、不飽和度が 0 あるいは 1 の極長鎖脂肪酸はリン脂質のグリセロール骨格の sn-1 位に結合すると推定された。また炭素数 16 から 22 までの長鎖脂肪酸から構成されるホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトールおよびホスファチジルグリセロールの各分子種のうち、一部の分子種について、野生型に比べて *Abcd1* KO マウスで減少する傾向が見られた。

【考察】本研究によりグリセロール骨格の sn-1 位を認識する機構が存在すること、および *Abcd1* 蛋白質の異常により、極長鎖脂肪酸のみならず長鎖脂肪酸代謝も影響を受けることが示唆された。

安定同位体標識法を用いたストレス障害モデルマウス海馬のプロテオーム変動の解析

小高頌子¹, 小林千治¹, 加藤利佳^{1,2}, 高橋枝里¹, 斎藤達也^{1,2}, 川島祐介², 板倉 誠³, 山森早織³, 永山博通³, 飯田諭宜⁴, 宮岡 等⁴, 高橋正身³, 小寺義男^{1,2}

¹ 北里大学理学部物理学科生物物理学研究室, ² 北里大学理学部附属疾患プロテオミクスセンター, ³ 北里大学医学部生化学研究室, ⁴ 北里大学医学部精神科

Hippocampus proteome analysis of stress disorder model mouse using stable isotope labeling method

Shoko Odaka¹, Chiharu Kobayashi¹, Rika Kato^{1,2}, Eri Takahashi¹, Tatsuya Saito^{1,2}, Yusuke Kawashima², Makoto Itakura³, Saori Yamamori³, Hiromichi Nagayama³, Yuuki Iida⁴, Hitoshi Miyaoka⁴, Masami Takahashi³, Yoshio Kodera^{1,2}

¹Laboratory of Biophysics, Department of Physics, Kitasato University School of Science

²Center for Disease Proteomics, Kitasato University School of Science

³Department of Biochemistry, Kitasato University School of Medicine

⁴Department of Psychiatry, Kitasato University School of Medicine

【目的】ストレス社会と言われる現代において、様々なストレス関連障害が報告されている。しかし、その発症機序ならびに客観的な診断法は確立されていない。そこで我々は、ヒトのストレス関連障害の病態を血液成分から推測することを目的として、各種ストレス障害モデルマウスを対象に脳組織と血液の両面から研究を進めている。本研究ではその一環として、ピロカルピン投与によって可逆的な不安様行動を示すモデルマウス海馬のプロテオーム変動の解析を行った。

【方法】コントロールマウス（3匹）と、ピロカルピンを投与し可逆的な不安様行動を起こさせたマウス（8匹）の海馬を対象とし、可溶性成分と難溶性成分を抽出した。これらの酵素消化物に安定同位体標識試薬（Isobaric Tag 試薬；TMT 6plex, Thermo Fisher Scientific）を標識し、nano-LC と四重極フーリエ変換ハイブリッド質量分析計（Q-Exactive, Thermo Fisher Scientific）を組み合わせた LC-MS/MS を用いて網羅性の高い高精度比較分析法を確立し、応用した。

【結果と考察】11匹のモデルマウス海馬中のタンパク質を分析した結果、シナプス関連タンパク質や受容体、チャンネルタンパク質、グリア細胞のマーカー等を含む約 4,000 種類のタンパク質が同定された。初步的な解析として約 1,600 種類のタンパク質に由来する約 8,600 種類の酵素消化ペプチドを対象に比較解析を行った。その結果、Heat shock protein や DNA damage-binding protein、Synaptotagmin-1 等のタンパク質が不安様行動の指標（移動距離や明所存在比率）に相関して変動していた。

Effects of preanalytical variables on serum peptidome profiling for long-term storage using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry

土田祥央¹, 佐藤 守¹, 梅村啓史², 曽川一幸³, 滝脇正貴¹, 別府美奈子⁴, 西村 基⁴, 小寺義男⁵, 松下一之⁴, 野村文夫¹

¹千葉大学医学部付属病院マススペクトロメトリー検査診断学, ²岡山大学大学院医歯学総合研究科, ³麻布大学生命環境科学部臨床検査技師学科, ⁴千葉大学医学部医学研究院分子病態解析学, ⁵北里大学理学部物理学科

Sachio Tsuchida¹, Mamoru Satoh¹, Hiroshi Umemura², Kazuyuki Sogawa³, Masaki Takiwaki¹, Minako Beppu⁴, Motoi Nishimura⁴, Yoshio Kodera⁵, Kazuyuki Matsushita⁴, Fumio Nomura¹

¹Division of Clinical Mass Spectrometry, Chiba University Hospital

²Departments of Dermatology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

³Department of Biochemistry, School of Life and Environmental Science, Azabu University

⁴Department of Molecular Diagnosis, Graduate School of Medicine, Chiba University

⁵Laboratory of Biomolecular Dynamics, Department of physics, School of Science, Kitasato University

The peptidome profiling of human serum is a promising tool for identifying novel disease-associated biomarkers. However, care must be taken while collecting samples and handling procedures that could have a profound impact on serum peptidome patterns. The effects of preanalytical variables on serum peptidome profiles for long-term storage have not yet been fully clarified. In the present study, we tested the effects of preanalytical variables, including different freezing temperatures and methods to thaw specimens, on MALDI-TOF MS-based serum peptidome patterns for long-term storage.

We applied automation and robotics to the ClinProt™ system (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) and evaluated the effects of selected parameters on the MS patterns of serum peptides for long-term storage (12 months). We evaluated the effects of different freezing temperatures; that is, we froze serum samples from 8 subjects at either -20°C or -80°C in freezers for long-term storage (12 months). The same experimental protocols as described above were also applied to serum proteome analysis using SDS-PAGE with densitometry.

Our results showed that the intensities of 5900 m/z, 7762 m/z, and 9283 m/z peaks were decreased. On the other hand, the intensity of 2016 m/z peak was increased. Different freezing temperatures dramatically affected the serum peptidome profiling. However, gel-based protein profiling was not apparently altered by the two different freezing temperatures. The effects of preanalytical variables on both gel-based and gel-free serum proteome and peptidome patterns as evaluated in detail in the present study will enable us to standardize blood sampling and long-term storage conditions for interlaboratory and multicenter studies for the validation of biomarker candidates.

H-D 交換反応を用いたハルミンのサロゲート物質合成

横山裕士¹, 平野正悟¹, 米澤貴之², 車 炳允², 禹 浩泰^{1,2,3}, 堤内 要¹

¹中部大学応用生物学部, ²中部大学生物機能開発研究所, ³株式会社沖縄リサーチセンター

Synthesis of Surrogate Compounds of Harmine by H-D Exchange Reaction

Yuji Yokoyama¹, Shogo Hirano¹, Takayuki Yonezawa², Byung-Yoon cha², Je-Tae Woo^{1,2,3}, Kaname Tsutsumiuchi¹

¹College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University

²Research Institute for Biological Function, Chubu University

³Okinawa research center Co., Ltd

【目的】当研究室ではこれまでに、LC/MS/MSなどを用いた定量分析において内部標準物質としての安定同位体試料(サロゲート物質)の重要性に着目し、岐阜薬科大学の佐治木らが開発した不均一系白金族触媒による重水素標識化反応¹⁾を用いた生理活性物質のH-D交換反応とそれらを用いた生体試料中の定量分析を報告してきた²⁾。近年、我々は時計草から抽出されるハルミンに注目し、この化合物が骨芽細胞分化に必要な転写因子の増加を伴いながら骨芽細胞分化とミネラル化を促進することを発見、骨粗鬆症や歯周病治療への応用を検討している³⁾。ゆえに本研究ではH-D交換反応を用いたハルミンの重水素化を検討した。

【方法】ミニバキュームチューブにハルミン（東京化成工業社製）を 5.0 mg (24 μmol)、5% Pt/C を 2.0 mg 量り取り、重水 2.0 mL を加えて分散させた。容器内を水素ガスに置換し、120°Cで 24 時間反応させた後、反応液に約 10 mL のアセトニトリルを加えてろ過し、Pt/C を除去、ろ液を濃縮乾燥して白色粉末状の重水素化ハルミンを得た。

【結果と考察】得られた重水素化ハルミンを LC/MS で確認したところ、原料のハルミンとほぼ同じ UV および全イオンクロマトグラムを示した。また、溶出ピークの MS スペクトルでは原料のハルミンではプロトン付加体の m/z 213 のピークのみが大きく観測されたが、重水素化ハルミンでは m/z 220 を最大強度とする複数のピークが m/z 213-221 にわたり観測された。Pt/C 触媒は芳香環における C-H を C-D へと変換させることが報告されているためハルミンでは軽水素が重水素に置換されるは最大 5 つまでと予想されていた。しかし、実際には最大 8 個の重水素置換が起こっていたため、二重結合の還元反応や炭素一炭素結合の切断などが懸念されたが、¹H-NMR で解析した結果、白金炭素が触媒するベンゼン環の水素以外にメチル基においても重水素化反応が進行していることが判明した。

1) H. Sajiki *et al.*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **81**, 278-286 (2008).

2) S. Hirano *et al.*, *JSBMS letters*, **39**, 110 (2014).

3) T. Yonezawa *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **409**, 260–265 (2011).

P-40

MALDI-TOF MS における *Neisseria meningitidis* の誤同定一例

大野智子
愛知医科大学病院感染制御部

Example of misidentification of *Neisseria meningitidis* in MALDI-TOF MS

Tomoko Ohno
Aichi Medical University Hospital Infection Control Team

【はじめに】 MALDI-TOF MS を用いた微生物同定が利用されるようになり、迅速同定を行うことができるようになった。当院の血液培養は MALDI-TOF MS を使用し迅速同定を行っている。そこで血液培養から *Neisseria meningitidis* と MALDI-TOF MS で同定、5 類感染症の侵襲性髄膜炎菌感染症で届け出が必要である結果となつたが、最終的に *Neisseria cinerea* と同定された一例を報告する。

【症例】 30 歳代男性、Burkitt リンパ腫診断で入院 4 日目より化学療法実施中、血液培養 2 セットが陽性となり、MALDI-TOF MS (Burker Daltnics 社)において、*N. meningitidis* (best match:Score Value 2.024, second best math:Score Value 1.966) と同定された。そこで血液培養液沈渣を用い PASTREX メニンジャイティスを行ったところ、非特異的反応による凝集を認めた。さらに平板培地のコロニーで ID テスト HN-20 ラピッド ニッスイ(日水製薬株式会社)を行ったところ、*Neisseria* 2 (60%) , *N. gonorrhoeae* (30%) , *Neisseria* 3 (7%) と同定された。コロニー形状は *N. meningitidis* とは異なり粘性でコロニーも小さく、感受性検査は耐性傾向を示した。*Neisseria* 2 に該当する菌種は *N. cinerea*, *N. flavescens* が含まれている。最終的には 16S rRNA 領域遺伝子 BLAST 解析では *N. cinerea* (100%) と同定された。

【考察】今回我々は MALDI-TOF MS で *N. meningitidis* と同定された *N. cinerea* を経験した。検出頻度の高くない菌名が同定された場合、Score Value 数値の確認、コロニーの生化学的性状なども踏まえ同定を行わなければならない症例であった。

学会外協力者：末松寛之 山岸由佳 三鴨廣繁

MALDI-TOF MS による血液培養陽性ボトル培養液を用いた直接同定について

池ヶ谷佳寿子, 土屋 憲
静岡市立清水病院 検査技術科

Direct identification of bacteria in positive blood culture bottles by MALDI-TOF MS

Kazuko Ikegaya, Ken Tsuchiya
Department of Clinical Laboratory, Shizuoka City Shimizu Hospital

【目的】 MALDI-TOF MS は微生物同定の医療機器として国内での利用が拡大している。従来の微生物同定は、様々な手法を用いて数日かけて特徴を導き出し、データベースと照合して菌名を決定していた。しかし、MALDI-TOF MS を用いた微生物同定では数十分で結果が得られる。今回、臨床的に重要な血液培養に焦点をあて、MALDI-TOF MS による血液培養陽性ボトル培養液を用いた直接同定の有用性について検討した。

【方法】 2013 年 9 月～2014 年 12 月までに提出され、陽性となった血液培養 466 検体のうち、単独菌が検出された 407 検体を対象とした。血液培養装置で陽性シグナルが出たボトル培養液を抜き取り、細菌回収の前処理を行った処理済み検体を MALDI-TOF MS で測定した（直接同定）。同時にグラム染色および平板培地へサブカルチャーを実施し、翌日発育コロニーを MALDI-TOF MS で測定した（コロニー同定）。コロニー同定を正として、それぞれの結果を比較した。なお、質量分析計は VITEK MS v2（シスメックス）を使用した。

【結果】 単独菌が検出された 407 検体のうち、直接同定で菌名が得られたのは 351 検体 (86.2%) であり、直接同定菌名とコロニー同定が一致したのは 343 検体 (97.7%) であった。直接同定により菌名が得られ、かつコロニー同定と一致する割合は 84.3% であった。菌名不一致の 8 検体のうち、6 検体はボトル培養液のグラム染色形態と直接同定で得られた菌名の菌形態が不一致であった。

【考察】 MALDI-TOF MS による直接同定は、結果に影響を与えると思われる培養液内の菌以外の成分を如何にして除去し、菌液に近い状態に前処理できるかがポイントである。また、直接同定を臨床に活かすためにはコロニー同定との高い一致率が求められる。現行の前処理方法は、ボトル取り出しから 45 分以内で 86% 程度の同定率が得られている。直接同定で菌名を得ることができれば、コロニー同定との一致率は 97.7% と高い。ボトル培養液のグラム染色結果と併せることで、さらに精度高く臨床に報告することが可能である。血液培養の直接同定を行うことは早期に、より適切な抗菌薬の選択に繋がるものと考える。

MALDI mass spectrometry imagingによる凍結組織アレイ包埋乳がん組織の低分子代謝産物プロファイリング

寅田信博¹, 久保 真¹, 三浦大典³, 大内田研宙¹, 宮崎哲之², 藤村由紀³, 早川英介³, 大塚隆生¹, 宮坂義浩¹, 真鍋達也¹, 小田義直², 水元一博⁴, 中村雅史¹

¹九州大学臨床・腫瘍外科, ²九州大学形態機能病理, ³九州大学先端融合医療レドックスナビ研究拠点, ⁴九州大学病院 がんセンター

MALDI mass spectrometry imaging profiling of low molecular metabolites with frozen tissue microarray embedded breast cancer tissues.

N.Torata¹, M.Kubo¹, D.Miura³, K.Ohuchida¹, T.Miyazaki², Y.Fujimura³, E.Hayakawa¹, T.Otsuka¹, Y.Miyasaka¹, T.Manabe¹, Y.Oda², K.Mizumoto⁴, M.Nakamura¹

¹Department of Surgery and Oncology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University,

²Departments of Anatomic Pathology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University,

³Innovation Center for Medical Redox Navigation, Kyushu University, ⁴Kyushu University Hospital Cancer Center

【目的】ヒト由来組織を用いた質量分析法では、パラフィンブロック化や抽出の影響により、損なわれてしまう情報がある。そこで独自技術を用いて、乳癌組織の凍結組織アレイ(fTMA)を構築し、MALDI mass spectrometry imaging (MALDI-MSI)による低分子代謝産物のマッピングを行った。この方法により、複数サンプルの癌関連代謝産物を効率よく分析することができたので腫瘍、正常部におけるプロファイル結果の比較とともに報告する。

【方法】99症例から採取した乳腺組織 119サンプル(腫瘍 84、正常 35)を用いて、fTMAブロックを作製し、9-アミノアクリジンおよびAXIMA Confidence(島津製作所)を用いたMADLI-MSIを行った(m/z range : 50~1000、陰イオンモード)。分析後のプレパラートにて、腫瘍・非腫瘍部を確認し、両部の m/z シグナル分布をBioMapにて抽出・比較を行った。

【結果】検出できた 1915 個のピークのうち、60%以上のサンプルで共通に検出され、高いシグナルを示す 185 ピークを解析対象とした。対応する代謝物が推定できた m/z 種は 18 で、多くは ATP などエネルギー代謝に関するものであった。腫瘍、正常の Energy Charge(EC)および ATP+ADP+AMP 総和量(AXP)の比較で、いずれも腫瘍部において有意に高値を示したが (EC; T : N = 0.56 : 0.35、AXP; 17453 : 2066, $p < 0.0001$)、1 個以上のリンパ節転移有無および組織型、腫瘍径とは明らかな相関は無かった。

【考察】fTMA と MADLI-MSI を組み合わせることにより、メタボリックマッピングを効率よく行いことができ、乳腺組織腫瘍部で、正常よりも高い EC 値を認めた。現時点の検討では新規のバイオマーカー候補となる代謝物は同定できなかったが、サンプル中の化合物のより詳細な構造解析を進めることで、より多くの情報が得られることが期待される。

循環器病関連組織におけるLIMドメインタンパク質複合体解析

中山寛明¹, 寺田 恵¹, 菊地沙耶子¹, 嶋田崇史², 植田初江³, 飯原弘二⁴, 池川雅哉¹
¹同志社大学生命医科学部医生命システム学科, ²島津製作所基盤技術研究所, ³国立循環器
病研究センター病理部, ⁴九州大学大学院医学研究院脳神経外科

Multiple protein complex analysis of LIM domain proteins in the cardiovascular systems

Hiroaki Yamanaka¹, Megumi Terada², Sayako Kikuchi², Takashi Shimada¹, Hatsue Ueda², Koji Iihara¹, Masaya Ikegawa³

¹Department of Life and Medical Systems, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University

²Life Science Research Center, Shimadzu Corporation

³Department of Pathology, National Cerebral and Cardiovascular Center

⁴Department of Neurosurgery, Postgraduate school of Medicine, Kyushu University

近年、心臓、血管、肺といった循環器病関連組織のプロテオーム解析に注目が集まっている。われわれは、これまで循環器病関連組織を対象に Blue Native PAGE 法を用いたタンパク質複合体解析を行ってきた。本研究では、そのなかから LIM ドメインを持つタンパク質ファミリーに注目した。LIM ドメインは、遺伝子発現、細胞接着、細胞運動、およびシグナル伝達の調節因子として、機能的に多様な役割を持つ。なかでも、four and a half LIM (FHL) ファミリーに分類され心臓血管系での発現の認められる FHL-1 (Kyo-T 1) は、skeletal muscle LIM 1 (SLIM1) としても知られ、主にマウス疾患モデルやヒトゲノム解析の結果から肥大型心筋症や肺高血圧症などの循環器病との関連が示唆されている。今回の解析の結果、FHL-1 はマウス肺において顕著なタンパク質発現のあること、比較対象として心室、心房、大動脈各部における組織プロテオームと比較することにより複合体形成の異なることが示唆された。本研究では、循環器病関連組織のプロテオーム解析の手法として、Blue Native PAGE 法に加え、抗体を用いた affinity purification の後の網羅的複合体解析を導入することで組織の代謝や機能、その破綻としての疾患との関連付けを探索できるか、若干の考察を行った。

ヒト胎盤における終末絨毛と幹絨毛におけるリン脂質分布パターンの特徴と胎盤病理所見の相関について

山崎香織¹, 正木紀隆², 幸村友季子¹, 早坂孝宏³, 伊東宏晃¹, 金山尚裕¹, 濑藤光利²

¹浜松医科大学産婦人科学講座, ²浜松医科大学解剖学講座細胞生物学分野, ³北海道大学大学院保健科学研究院

Imaging Mass Spectrometry Analysis of Differential Expression Patterns of Phospholipid Molecular Species in Terminal and Stem Villi associated with Pathological Findings in the Human Term Placentas

Kaori Yamazaki¹, Noritaka Masaki², Yukiko Kohmura-Kobayashi¹, Takahiro Hayasaka³, Hiroaki Itoh¹, Naohiro Kanayama¹, Mitsutoshi Setou²

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Hamamatsu University School of Medicine

²Department of Cell Biology and Anatomy, Hamamatsu University School of Medicine

³Department of Health Science, School of Medicine, Hokkaido University

【目的】我々は、これまで、イメージング質量分析(IMS)を用いて胎盤絨毛組織を評価し、終末絨毛では phosphatidylcholine (PC) (16:0/20:4) が、幹絨毛では sphingomyelin (SM) (d18:1/16:0) の発現が亢進していることを明らかにした。病理所見との関連性を調べるため、今回、妊娠高血圧症候群(PIH)または胎児発育不全(FGR)合併妊娠の胎盤を解析した。

【方法】倫理委員会の了承の下、妊娠末期の FGR を伴わない PIH 症例 4 例(PIH 群)、PIH を伴わない FGR 症例 5 例(FGR 群)の胎盤から凍結切片を作成した。マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析イメージング法(MALDI-IMS)により、切片上 25 μm 四方の領域を解析した。連続切片の HE 染色像との比較により絨毛組織におけるリン脂質発現パターンを評価し、胎盤の病理組織学的所見(villitis of unknown etiology, thrombus, atherosclerosis, chorioamnionitis immature terminal villi, multiply branched terminal villi) の発現との関係を調べた。

【結果】6 個の胎盤病理所見のうち 3 個以上の所見があった 2 例では、終末絨毛における PC (16:0/20:4) の発現、幹絨毛における SM (d18:1/16:0) の発現がともに低下していた。病理所見が 2 個以下のものについては、終末絨毛において PC (16:0/20:4) のみが発現していたものが 4 例、終末絨毛における PC (16:0/20:4) の発現、幹絨毛における SM (d18:1/16:0) の発現がともにみられたものが 3 例であった。

【考察】合併症妊娠では、胎盤の病理所見に従い絨毛組織におけるリン脂質組成に変化がみられた。特に病理所見の発現数が多いものほど、絨毛組織特有のリン脂質の発現が低下することがわかった。

肺線維化に関連した脂質の網羅解析

大山吉幸^{1,2}, 正木紀隆², 河野雅人¹, 榎本紀之¹, 中村祐太郎¹, 藤澤朋幸¹, 乾直輝¹, 須田隆文¹, 瀬藤光利²

¹浜松医科大学 内科学第二講座, ²同 解剖学講座細胞生物学分野

Comprehensive analysis of lipids related with pulmonary fibrosis

Yoshiyuki Oyama^{1,2}, Noritaka Masaki², Masato Kono¹, Noriyuki Enomoto¹, Yutaro Nakamura¹, Tomoyuki Fujisawa¹, Naoki Inui¹, Takafumi Suda¹, Mitsutoshi Setou²

¹Second Division, Department of Internal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

²Department of Cell Biology and Anatomy, Hamamatsu University School of Medicine,

【背景】肺の線維化において、肺サーファクタントの主要成分であるリン脂質の組成が変化することが気管支肺胞洗浄液（BALF）を用いた検討で示唆されているが、実際に線維化した部位におけるリン脂質組成を調べた報告は未だない。

質量顕微鏡法（MALDI-IMS）は、組織内局在に従う分子組成及びその発現量の可視化を可能とする。様々な分子種を解析することが可能であり、特に脂肪酸組成の異なる脂質の区別が可能であることから脂質解析にその威力を発揮し、疾病診断マーカーの検出およびその病態解析に寄与して来た。

【目的】質量顕微鏡法を用いて動物モデルの肺局所における肺線維化に関連した脂質の変化を明らかにする。

【方法】胸郭から取り出した肺はそのままでは虚脱しているため肺胞領域の構造が失われてしまう。そのため質量顕微鏡法の質量分析スペクトルに与える影響が少ない 2% carboxymethyl cellulose を気管内より注入し、肺を inflation した後に凍結し、切片を作成した。

試料として正常マウスとブレオマイシン（BLM）肺線維症モデルマウスの連続切片を作成し、質量顕微鏡法により解析した。また連続切片に対してヘマトキシリソ・エオジン（HE）染色による形態観察を行った。

【結果】正常マウス、BLM モデルマウスの正常部位及び線維化部位を比較すると、線維化が進行するにつれ、肺サーファクタントの主要構成成分である PC(16:0/16:0)が減少していた。

【結語】BALF 解析では全体的な変化としてしか捉えられていなかった PC(16:0/16:0)の減少が、質量顕微鏡を用いた直接観察により正常部位における減少と、線維化部位におけるより著しい減少の二種類の変化によるものであることが示された。

トリプルネガティブ乳癌の再発予測因子の質量顕微鏡を用いた探求

細川優子¹, 正木紀隆², 松下祥子², 杉山栄二², 小倉博之¹, 椎谷紀彦¹, 瀬藤光利²

¹浜松医科大学第一外科, ²浜松医科大学解剖学講座 細胞生物学分野

Investigation of predictive factor of recurrence in triple negative breast cancer using mass microscope

Yuko Hosokawa¹, Noritaka Masaki², Shoko Matsushita², Eiji Sugiyama², Hiroyuki Ogura¹, Norihiko Shiuya¹, Mitsutoshi Setou²

¹Hamamatsu University School of Medicine Department of 1st Surgery

²Hamamatsu University School of Medicine Department of Cell Biology and Anatomy

【目的】 乳癌は世界的に女性の癌による死亡の主な要因である。乳癌はホルモン受容体やHER2受容体の有無, Ki67の高低で5つのサブタイプに分類される。中でもホルモン受容体であるエストロゲン受容体とプログesterone受容体陰性, HER2受容体陰性のトリプルネガティブ乳癌は全体の10-15%を占め、早期に再発し予後が悪いことが知られている。

一方でトリプルネガティブ乳癌の中にも予後の良い症例も存在するが、病期のように明確な予後因子はわかっていない。また乳癌組織中では正常組織と比較して脂質組成が異なることが知られており、脂質代謝が腫瘍の進展に関係しているとの報告もあることから、再発にも影響していると考えられる。本研究では質量顕微鏡を用いてトリプルネガティブ乳癌における脂質組成を解析し、再発に関する因子を探求する。

【方法】 手術時に採取後凍結保存されたトリプルネガティブ乳癌の検体9例を用いて質量顕微鏡（mass microscope, 島津製作所）で網羅的に解析を行った。観察期間の中央値は34か月で、再発例は3例であった。マトリックスは125mMの硫酸アンモニウムを加えた2,5-ジヒドロキシアセトフェノンを使用した。質量範囲がm/z700から900の陽イオンとm/z650から950の陰イオンをそれぞれ解析した。データの解析は専用ソフト(Imaging MS Solution, 島津製作所)で行った。また計測結果より得られたシグナルに対応する脂質化合物の検索にはHMDB(<http://www.hmdb.ca/spectra/ms/search>)を用いた。

【結果】 非再発群と再発群を比較したところ、陽イオンモードの解析ではm/z706.5のシグナルが再発群で有意に増加していた。HMDBとの比較からこのシグナルはリン脂質の一つであるフォスファチジルコリン(phosphatidylcholine, PC) (30:0)と推定された。陰イオンモードの解析では二群間に有意な差は認められなかった。

【考察】 従来トリプルネガティブとして分類された乳癌試料を質量顕微鏡解析することにより、再発群と非再発群では細胞膜の主要な構成成分であるPCの組成が異なることが示された。本研究によってPC(30:0)はトリプルネガティブ乳癌の再発予測因子として見いだされ、腫瘍の進展にかかわっていると考えられた。

生体アミン化合物を対象とした新規誘導体化法によるマウス脳の質量分析イメージング

深野 華¹, 脇 紀彦¹, 武井史郎^{1,2}, 濑藤光利², 矢尾育子¹

¹浜松医科大学メディカルフォトニクス研究センター, ²浜松医科大学解剖学講座細胞生物学分野

Imaging mass spectrometry of mouse brain tissues using a new derivatization method targeting biogenic amines

Hana Fukano¹, Michihiko Waki¹, Shiro Takei^{1,2}, Mitsutoshi Setou², Ikuko Yao¹

¹Medical Photonics Center, Hamamatsu University School of Medicine

²Department of Cell Biology and Anatomy, Hamamatsu University School of Medicine

【目的】質量分析イメージング(IMS)は、組織切片中の生体分子の局在を観察する手法として注目を集めている。これまで脂質や蛋白質等が可視化され、測定対象となる分子種は増え続けている。今回我々は、アミノ酸やモノアミン系神経伝達物質を含む生体アミン化合物の効率的な検出を目指し、質量分析イメージングのためのアミノ基の化学的誘導体化法の確立を試みた。

【方法】誘導体化試薬として、succinimidyl 4-[3,5-Dimethyl-4-(4-nitrobenzyloxy) phenyl]-4-oxobutyrate(S0808)を使用した。マウス脳切片を10μmの厚さにスライスし、導電性スライドガラスに接着した。作成した試料上に、アセトニトリルを溶媒とした5.5mMのS0808をスプレーを用いて均一に噴霧した。測定には島津製作所の iMScope prototype を使用し、解析には Imaging MS SolutionTMを使用した。

【結果】誘導体化処理を施したマウス脳切片の測定から、アラニン、GABA、セリン、システイン、タウリン、グルタミン酸、ドーパミン、セロトニンの8つの特異的なピークが観測された。一方、誘導体化試薬をスライドガラスに噴霧しなかったマウス脳切片では、ピークが観測されなかった。これらのピークの質量電荷比(m/z)は、アミノ酸やモノアミン系神経伝達物質の分子量から計算した誘導体化物の m/z と一致した。さらにこれらの中でシグナル強度の強かったグルタミン酸、タウリン、セロトニンに関して、誘導体化物のマウス脳切片における分布を可視化し、異なる分布を示すことを明らかにした。

【考察】今回、マウス脳切片において誘導体化処理を行い、生体アミン化合物をIMSで同時に検出し、可視化することができた。生体アミン化合物をIMSで観測する手法は、神経精神疾患の病態解析に応用できると期待される。

蛍光イメージングプローブ投与マウス肝組織に対する各種イメージング技術の適用

山口 亮¹, 山本卓志¹, 中川 薫¹, 渡部直樹², 竹内 司¹, 尾島典行¹

¹株式会社 島津製作所, ²レニショ一株式会社

Multiple Imaging analysis using MSI and Raman technique in inflamed mouse liver dozed with fluorescent imaging probe

Ryo Yamaguchi¹, Takushi Yamamoto¹, Kaoru Nakagawa¹, Naoki Watabe², Tsukasa Takeuchi¹, Noriyuki Ojima¹

¹Shimadzu Corporation

²Renishaw

【目的】島津製作所では従来用いられている近赤外蛍光波長よりも更に長いNIR-II (1000nm以上) 領域の波長を用いた *in vivo* 近赤外蛍光イメージングシステムを開発している。蛍光イメージングに必要なイメージングプローブを共同研究者と開発しているが、高精細な画像が得られる反面、現状のプローブは肝臓への顕著な集積が見られるため、これを改善していく必要がある。本検討では、蛍光イメージングプローブの肝臓への集積がイメージングに供するマウスにどのような影響を及ぼしているか、様々な角度から検討を行った。今回は、質量分析イメージングでの解析に加え、蛍光イメージング並びにラマン分光法によるイメージングデータもあわせて報告する。

【方法】蛍光イメージングプローブを $100 \mu\text{l}$ (100mg/ml) を尾静脈投与した BALB/c-nu マウスを投与 48 時間後に、深麻酔下で安樂死させ肝組織を摘出した。摘出した肝組織を 10μm 厚に薄切り、導電性スライドグラスに搭載した。マトリクスとしては 9-AA を使用したのち、イメージング質量分析を実施した。また、連続切片を使用してラマン分光法での解析を実施した。

【結果】低分子代謝物としての ATP・ADP・AMP に加え、胆汁酸の分布画像が取得された。各種イメージングプローブの投与あり/なしにて、顕著な分布変化は見いだせなかつたものの、各測定データに対しての相対強度比較により存在量の増減を検出できた。一方、ラマン分光法による可視化では薬剤そのものの可視化にも成功しており、別途取得した染色画像と比較することで、肝障害との関連性が示唆された。

【考察】本例では、同一サンプルに対して異なった原理のイメージング技術を利用することで、代謝物の分布可視化と、薬剤そのものの可視化に成功した。このように蛍光イメージング、質量分析イメージング、ラマンイメージングの併用は、薬剤の作用機序解明・毒性メカニズム解明に有効であると考えられる。

質量分析イメージングデータを用いた組織切片のエントロピーイメージング解析

佐藤駿平, 佐藤智仁, 正木紀隆, 瀬藤光利
浜松医科大学 解剖学講座 細胞生物学分野

Entropy Imaging of Tissue Sections from Mass Spectrometry Imaging Data.

Shumpei Sato, Tomohito Sato, Noritaka Masaki, Mitsutoshi Setou
Department of Cell Biology and Anatomy, Hamamatsu University School of Medicine

【目的】 質量分析イメージング法は組織切片に対してレーザーを走査することで空間情報を含めた質量分析を行う方法である。一般的な解析では、目的の分子の m/z だけに注目し、その分布を解析する。一方、生物は多様な分子を内包し、老化や疾患などによる分子への影響は非常に多岐に渡る。このような膨大な分子の変動を俯瞰して捉えるために、我々は質量分析データを用いてシャノンエントロピーを算出し、質量分析イメージングの各点毎のシャノンエントロピーを組織上に描出することを試みた。これにより膨大な分子からなる各点の質量分析スペクトルの特徴を組織上で比較することを目的とした。

【方法】 生物試料においてシャノンエントロピーをイメージングする試みは本研究が初めてであるため、まずはマウス肝臓を用いて適切な条件を検討した。マウス臓器は頸椎脱臼後、素早く取り出されてドライアイスにより凍結された。肝臓はクライオスタットで $10\text{ }\mu\text{m}$ 厚に薄切され、ITO コートスライドに貼り付けられた。このスライドはマトリクス(9AA)を蒸着され、質量分析イメージング装置(ultraflexII, Bruker Daltonics)により測定された。測定されたデータは SIMentorpy (島津製作所)ソフトウェアによって変換され、シャノンエントロピー像として組織上に描出された。条件検討では測定パラメーターを変更し、シャノンエントロピー像における値の平均や分散などを基に適切な条件を決定した。測定条件の決定後、マウスの肝臓、脳、腎臓のシャノンエントロピー像を週齢毎に比較し、生物試料においてシャノンエントロピーが加齢によりどう変化するのかを調べた。

【結果】 測定条件検討として、測定 m/z 範囲、測定イオンモード、レーザー照射回数、レーザー強度、測定点間隔、ランダムウォークの有無について検討した。各条件を変化させたときのシャノンエントロピーの平均及び分散に対して測定間のばらつきが少ない条件を決定した。決定された条件を用いてマウスの脳、肝臓、腎臓を 1, 2, 4, 8, 16 週齢で比較した結果、シャノンエントロピーの強度と分布の変化が週齢と関係していることが明らかとなった。また、マウス脳の構造がシャノンエントロピーの変化で捉えられることが分かった。

【考察】 今回の条件検討により、質量分析イメージングのデータからシャノンエントロピーを組織上でイメージングできるようになった。本手法はシャノンエントロピーにより脳の組織構造を反映するレベルで質量分析スペクトルの特徴を比較することができる。また、組織の週齢に伴った変化も捉えることができたため、今後、他の解析へと応用して行きたい。

アントシアニンの体内動態解析

財満信宏¹, 稲葉栞里¹, 藤森隆道¹, 荘巣哲哉², 小林沙織², 森山達哉¹

¹近畿大学農学部

²株式会社ワカサ生活

Pharmacokinetic analysis of anthocyanins in mouse

Nobuhiro Zaima¹, Shiori Inaba¹, Takamichi Fujimori¹, Tetsuya Sogon², Saori Kobayashi², Tatsuya Moriyama¹

¹Kinki University

²Wakasa Seikatsu Corporation

【目的】アントシアニンは植物において広く存在する色素である。抗酸化性を有することから、機能性食品素材などとしても着目され、その生理活性に関する研究が多く行われている。アントシアニンの生理活性を理解する上で、アントシアニンの体内動態を解析することが重要であるが、これに関しては不明な点が多い。本研究では、質量分析イメージング法 (matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI)-Imaging mass spectrometry (IMS)を用いて、アントシアニンを可視化することによって、体内動態を明らかにすることを目的とした。

【方法】動物実験は近畿大学動物実験規程に従って行った。ddy マウス（オス、6 週齢）は 22±2°C、12 時間の明暗サイクルの環境下で飼育した。馴化後、ビルベリーより抽出したアントシアニン混合物を経口及び腹腔内投与した。灌流後に眼を採取し、液体窒素で凍結した後、クライオスタット (Leica Microsystems) で 10μm の切片とした。作成した切片にマトリックスとして DHB (2,5-Dihydroxybenzoic acid) 溶液を塗布し、質量分析装置 (MALDI LTQ-XL (ThermoFisher Scientific)) に供した。ペラリンの動態の可視化には、Image Quest(ThermoFisher Scientific)を用いた。

【結果】ビルベリーに存在する主なアントシアニン分子種の一つである Cyanidin 3-glucoside (m/z 449 → m/z 287) を測定した結果、経口投与群では明瞭なピークは検出されなかった。腹腔内投与群においては、網膜外層の筋層周辺にピークが観察された。本研究の結果から、腹腔内投与されたアントシアニンは眼組織まで移行することが示された。経口投与されたアントシアニンは、本研究条件では観察されなかつたため、今後さらに検討を進める予定である。

P-51

硫酸アンモニウムはマトリックス添加剤として MALDI-IMS における脳内カルニチン、アセチルカルニチン、グリセロホスホコリン由来のシグナルを 10 倍以上増強する

杉山栄二，正木紀隆，松下祥子，瀬藤光利
浜松医科大学医学系研究科解剖学講座細胞生物学分野

Ammonium sulfate improves signal intensities of carnitine, acetylcarnitine, and glycerophocholine more than ten times higher in matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry as a matrix additive

Eiji Sugiyama, Noritaka Masaki, Shoko Matsushita, Mitsutoshi Setou
Department of Cell Biology and Anatomy, Hamamatsu University School of Medicine

【目的】マトリックス支援レーザー脱離イオン化イメージング質量分析法は複数の分子の分布を一斉に解析できる手法であり、さらに多くの分子を検出するために手法の開発、改良が盛んに行われている。硫酸アンモニウム(AmS)はマトリックス添加剤の一つであり、アルカリ金属イオンの干渉を妨げるほか高い塩析効果等をもたらすことでペプチドや糖脂質のイオン化を顕著に促進することが報告されている。しかし、AmS のイオン化促進効果についての基礎的な検討は十分行われておらず、その利用対象は限られている。そこで本研究では、AmS によりイオン化が改善する低分子を探索し、イメージングへの応用を試みた。

【方法】8 週齢の C57BL/6J マウス脳を採取し解析した。まず、ホモジネート(100 mg tissue/mL)を AmS(0, 16, 31, 63, 125, and 250 mM)を含むマトリックス溶液(DHB 50 mg/mL in 50% methanol)と等量混合した後、導電性スライドガラス上に滴下し測定した。着目したピークは多段階質量分析(MS/MS)により同定した。続いて、-20°C の庫内で厚さ 10 μm とした矢状切片を導電性スライドガラスに貼付した後、マトリックス溶液(DHB 50 mg/mL in 50% methanol with/without 250 mM AmS)を手動スプレー法にて塗布し測定した。

【結果】AmS 250 mM の添加により、脳ホモジネート中のカルニチン(Car)、アセチルカルニチン(AcCar)およびグリセロホスホコリン(GPC)由来の平均シグナル強度がそれぞれ約 300, 700, 2500 倍増強した。このイオン化促進効果は 63 mM 以上の濃度で顕著に現れた。さらに、AmS 250 mM の添加により組織切片中の Car, AcCar, GPC 由来の平均シグナル強度はそれぞれ約 10, 20, 40 倍増強し、いずれの組織内分布も明瞭に可視化された。

【考察】Car, AcCar, GPC はいずれも分子内に安定した正電荷を持つ第四級アンモニウム化合物でありイオン化されやすいため、AmS 添加の恩恵を大きく受けたと考えられる。AmS は他のマトリックスや高感度化手法と容易に組み合わせることが可能であり、AmS を様々な分析条件に応用することにより多くの分子の解析が可能になることが期待される。

衝突断面積に基づく MALDI イメージング及び MS/MS フラグメントデータの関連付けによる脂質の同定と局在化解析

寺崎真樹¹, Mark Towers², Emmanuelle Claude² Johannes PC Vissers²

¹日本ウォーターズ株式会社, ²ウォーターズ・コーポレーション

LIPID VISUALISATION AND IDENTIFICATION THROUGH COLLISION CROSS SECTION AIDED CORRELATION OF MALDI IMAGING AND MS/MS FRAGMENTATION DATA SETS

Maki Terasaki¹, Mark Towers², Emmanuelle Claude², Johannes PC Vissers²

¹Nihon Waters K.K., ²Waters Corporation

[INTRODUCTION] Mass spectrometry imaging (MSI) is rapidly becoming an established technique within lipidomics research. Using MSI, a broad range and number of species can be visualised within a tissue section. However, subsequent identification can be challenging due to the large number of isobaric or near isobaric species. Lipids can be identified by subsequently extracting them from the same, or a consecutive, tissue section and performing MS/MS. However, when correlating the datasets, identifications can become obfuscated due to lack of certainty that the lipids extracted and identified, relate to the *m/z* peaks seen in the imaging data, especially when relying on accurate mass alone as the identification is not being performed *in-situ*. Here, we demonstrate the use of ion mobility to differentiate ions and calculate collision cross sections (CCS). This is utilised along with accurate mass to add confidence to the correlation between the MALDI imaging and extracted lipids datasets and the subsequent identifications by MS/MS.

[Methods] A thin section of a rat brain section was produced using a cryotome. 9-Aminoacridine (9-AA) matrix was applied evenly to the sample in several coats using a SunCollect™ sprayer. Lipids were extracted from consecutive tissue sections. Droplets were placed on to the tissue section using a pipette then drawn off and pooled prior to spotting on a target plate. The same 9-AA matrix solution was mixed on target with the extract samples. Data were acquired using a SYNAPT HDMS G2-Si mass spectrometer in HDMS mode.

[Results] After peak picking the imaging data set with an ion intensity cut off of 50, 7,598 peaks were detected in the range of *m/z* 400-1150. Matching the peaks using accurate mass against a subset of the lipid maps structural database, resulted in 195 matching peaks (+/-3ppm). Plotting the matching peaks as *m/z* vs CCS area, a general lipid trend line can be observed as well as several CCS outliers. By estimating the CCS area trend line, a broad based filter can be applied to remove the outliers. After CCS filtering, 165 lipid candidates remained.

前頭側頭葉変性症患者脳内におけるタウリンの濃度および分布解析

松下祥子¹, 正木紀隆¹, 近藤 豪¹, 武井史郎¹, 赤津裕康^{2,3}, 秋田天平⁴, 杉山栄二¹, 福田敦夫⁴, 矢尾育子⁵, 濑藤光利¹

¹浜松医科大学解剖学講座細胞生物学分野, ²福祉村病院長寿医学研究所, ³名古屋市立大学大学院医学研究科地域医療教育学, ⁴浜松医科大学神経生理学講座, ⁵浜松医科大学メディカルフォトニクスセンター光イメージング研究室

Taurine concentration and distribution in brain of frontotemporal lobar degeneration patients

Shoko Matsushita¹, Noritaka Masaki¹, Takeshi Kondo¹, Shiro Takei¹, Hiroyasu Akatsu^{2,3}, Tenpei Akita⁴, Eiji Sugiyama¹, Atsuo Fukuda⁴, Ikuko Yao⁵, Mitsutoshi Setou¹

¹Department of Cell Biology and Anatomy, Hamamatsu University School of Medicine, ²Choju Medical Institute, Fukushima Hospital, ³Department of Medicine for Aging in Place and Community-Based Medical Education, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, ⁴Department of Neurophysiology, Hamamatsu University School of Medicine,

⁵Department of Optical Imaging, Medical Photonics Research Center, Hamamatsu University School of Medicine

【目的】前頭側頭葉変性症(FTLD)は前頭葉・側頭葉が顕著に萎縮する神経変性疾患であり、酸化ストレス等により異常リン酸化されたタウやTDP-43などのタンパク質の蓄積が見られる。抗酸化作用を持つタウリンは酸化ストレスを減らすことで神経保護作用を示すことが知られているが、FTLDとの関係性は不明である。そこで、LC-ESI-MSによる定量解析、MALDI-IMSによる分布解析を行い、FTLDにおけるタウリンの変化に注目し、解析した。

【方法】FTLDおよび対照群のヒト死後脳9症例を用い、各症例の前頭葉・後頭葉を解析した。LC-ESI-MSでは凍結破碎後、メタノール抽出した試料を測定した。MALDI-IMSでは10 μmの厚さに脳組織を薄切り、9-アミノアクリジンをスプレー法にて塗布後、測定した。

【結果】脳内のタウリン濃度は、FTLD群の前頭葉で $1.7 \pm 1.1 \text{ } \mu\text{mol/g} \pm \text{SD}$ 、後頭葉で $1.4 \pm 0.6 \text{ } \mu\text{mol/g} \pm \text{SD}$ であり、対照群の前頭葉で $1.5 \pm 0.5 \text{ } \mu\text{mol/g} \pm \text{SD}$ 、後頭葉で $1.5 \pm 0.6 \text{ } \mu\text{mol/g} \pm \text{SD}$ であった。タウリンは白質に比較的多く分布しているという知見が得られた。FTLD群の前頭葉において、タウリン濃度が $3.1 \text{ } \mu\text{mol/g}$ および $4.0 \text{ } \mu\text{mol/g}$ と他より有意に高値を示した症例を認め、いずれもリン酸化TDP-43が陽性であった。

【考察】白質には血液脳関門を形成する線維性アストロサイトが多く存在することが知られており、タウリンの流入に関わるトランスポーターの関与が予想された。タウリンの濃度上昇がみられたのは顕著な脳の萎縮がみられる前頭葉であり、リン酸化TDP-43との関連性が示唆された。

質量分析イメージング法を用いたオリゴデンドロサイト分化過程の可視化

平原幸恵¹, 若林毅俊¹, 森 徹自^{1, 2}, 矢尾育子³, 津田雅之⁴, 本家孝一⁵, 小池太郎¹, 後藤仁志⁶, 小野勝彦⁶, 山田久夫¹

¹ 関西医大・医・解剖学第一, ² 鳥取大学・医・保健学科, ³ 浜松医大・メディカルフォトニクス研究センター, ⁴ 高知大学・総研, ⁵ 高知大学・医・生化学, ⁶ 京都府医大・生物学

Visualization of oligodendrocyte differentiation processes by using imaging mass spectrometry

Yukie HIRAHARA¹, Taketoshi WAKABAYAHSI¹, Tetuji MORI^{1, 2}, Ikuko Yao³, Masayuki TSUDA⁴, Koichi HONKE⁵, Taro KOIKE¹, Hitoshi Gotoh⁶, Katsuhiko ONO⁶, Hisao YAMADA¹

¹ Department of Anatomy and Cell Science, Kansai Medical University, ² Faculty of Medicine, Tottori University, ³ Medical Photonics Research Center, Hamamatsu University School of Medicine, ⁴ Science Research Center, ⁵ Department of Biochemistry, Kochi University Medical School, ⁶ Department of Biology, Kyoto Prefectural University of Medicine

ミエリン形成細胞オリゴデンドロサイト (OL) は、脂質に富む細胞であり、分化マーカーに糖脂質が使われている。04 モノクローナル抗体は、胎生期 OL 前駆体細胞から生後の髓鞘形成に至るまでの OL 分化・成熟過程を認識する分化マーカーとして、世界中で使われている。04 抗体の認識部位に関しては、硫酸化糖脂質、スルファチドであると決定されているが、胎生期の脊髄腹側部から発生する OL 系譜決定臨界点を示す 04 陽性前駆細胞では、スルファチド合成が確認されていなかった。従って、胎生期 04 認識抗原は、スルファチド以外のものである可能性が考えられてきた。そこで、組織標本中の脂質分布密度を高い画像度で検出できる質量分析イメージング法を使い、この胎生期に出現する 04 認識エピトープの実態を検証した。ウシ脳由来の様々な脂肪酸をもった 12 種類のスルファチドのスペクトルを同定した後、04 陽性 OL 前駆細胞発現領域として報告されているニワトリ胚 8 日目脊髄組織に対して、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法による質量分析をおこなった。測定データから含有分子のイオン分布を画像化し、スルファチド分布の比較を行った結果、脊髄組織全体に広がって分布するホスファチジルイノシトールに対して、脊髄腹側部特異的に脂肪酸の短い C16 スルファチドと C18 スルファチドのシグナルを認めた。これらは、ミエリン鞘に豊富に存在する C24 スルファチドとは異なるものであった。一方で、質量分析イメージング法において、成獣ミエリン鞘では、様々な長さの脂肪酸をもったスルファチドが検出可能であるが、スルファチドを合成する酵素、セレブロシド硫酸基転移酵素 (CST) を欠損するマウス脳では、髓鞘に含まれるすべてのスルファチドは消滅していた。CST 欠損マウスは、生化学的解析においてもスルファチドは合成されないと共に 04 陽性細胞も出現しない。従って、質量分析イメージング法で示すスルファチドの値が信頼性の高いものであるといえる。さらに、マウス胎生期の OL 前駆体細胞発生母地では、C18-OH が優位に検出され、これらは、脊髄中心管近傍から延髄、橋へと OL 発生に伴って局在する様子が捉えられた。スルファチドは、胎生期の OL 系譜決定臨界点からミエリン鞘構築に至るまでの OL 分化過程を通じて合成されていることが明らかとなった。

肝切除量に着目したマウス肝切除後肝再生のイメージング質量分析

井口公太¹, 辻 雄大², 中川祐輝², 中畠智之³, 波多野悦朗¹, 上本伸二¹, 池川雅哉²

¹京都大学医学研究科肝胆膵移植外科, ²同志社大学生命医科学部医生命システム学科,

³関西医科大学薬理学講座

Imaging mass spectrometry of liver regeneration after partial hepatectomy in mice, focusing on the resected liver volume

Kohta Iguchi¹, Yudai Tsuji², Yuki Nakagawa², Tomoyuki Nakamura³, Etsuro Hatano¹, Shinji Uemoto¹, Masaya Ikegawa²

¹Department of Surgery, Graduate School of Medicine, Kyoto University

²Department of Life and Medical Systems, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University

³Department of Pharmacology, Kansai Medical University

肝切除術は、肝細胞癌、転移性肝癌に対して根治の期待出来る中心的治療法である。一方、術後肝不全(Posthepatectomy liver failure; PHLF)は主に大量肝切除に伴う過小残肝の再生不十分に起因する致死的合併症であり、患者個々の肝機能に応じた肝切除量が PHLF 発症と深く関連する。しかし、実際に臨床応用可能な PHLF 発症をモニターする鋭敏なマーカーや治療薬は存在せず、今後の確立が期待される。肝再生に関する研究には薬物誘導性肝傷害モデルや 70%部分肝切除 (70%PHx) モデルが知られている。我々は過去に、マウス四塩化炭素肝傷害モデルにおいて、血清胆汁酸のバイオマーカーとしての有用性を、定量性、肝組織上の分布の側面から報告した (Shimada, J Proteome Res, 2010)。今回、マウス PHx モデルを使用し、イメージング質量分析による残存肝内の代謝物の時間・空間的变化を解析した。本実験では、データ測定、解析は MALDI 型質量顕微鏡 (iMScope, 島津製作所) を使用し、9-アミノアクリジンをマトリックスとした陰イオンモードにて 300–900 m/z の分子を測定した。通常の肝再生過程を検討するのに頻用される 70%PHx モデルにおいては、肝細胞内的一次胆汁酸ならびに脈管内 ATP (アデノシン 3 リン酸) に特徴的な強度・分布変化のあることが明らかとなった。一方、肝切除量を増減したモデル、即ち 30%PHx は肝細胞の分裂を伴わない肝肥大モデル、90%PHx は通常肝再生から逸脱した致死的 PHLF モデルと考えられている。我々はマウス 30%、90%PHx モデルと、70%PHx モデルの比較検討を行うことによって、一次胆汁酸、脈管内 ATP を含めた、肝再生・PHLF のマーカーとなり得る分子を時間・空間的に検討し、報告する。

質量顕微鏡によるテストステロン硫酸エステルのマウス精巣における可視化

熊田アンリオバディア¹, 谷口久哲², 矢尾育子³, 古田享史⁴, 松田公志², 伊藤誠二¹

¹関西医科大学医化学講座, ²腎泌尿器外科学講座, ³浜松医科大学メディカルフォトニクス研究センター, ⁴岐阜大学医学系研究科

Visualization of testosterone sulfate ester on mouse testis with imaging mass spectrometry

Henri-Obadja Kumada¹, Hisanori Taniguchi², Ikuko Yao³, Kyoji Furuta⁴, Tadashi Matsuda², Seiji Ito¹

¹Departments of Medical Chemistry and ²Urology and Andrology of Kansai Medical University,

³Medical Photonics Research Center, Hamamatsu University School of Medicine, ⁴Gifu University Graduate School of Medicine

【目的】 テストステロン(以下、Ts)は精巣の Leydig 細胞にてコレステロールを出発物質として合成される男性ホルモンのひとつである。生成されると速やかに血中に放出され、標的臓器に作用する。Ts は血中濃度を ELISA によって測定できるが、精巣から放出されることから、精巣での検出は困難とされていた。そこで、本研究では質量顕微鏡を使いマウス精巣切片上にて Ts を可視化することを目的とした。

【方法】 Ts は単体ではイオン化されにくいが、水酸基をもつたため、三酸化硫黄ピリジン錯体(以下、SO₃Py)を加えて 55°C 2 時間加温してテストステロン硫酸エステル(以下、TsS)に誘導体化した。これに matrix として α-シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸(以下、CHCA)を加え、質量顕微鏡はプロトタイプ機(島津製作所)を用いた。マウス精巣は無処理のものとゴナトロピン(hCG)2000 単位/20μl をマウスに皮下注射して Ts の生成を誘導し 1 時間後に摘出した精巣の両者を供した。凍結組織包埋剤は質量分析に干渉しないカルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)を用いた。これらのマウス精巣の組織切片にも SO₃Py を噴射し、55°C 2 時間加温ののち CHCA を噴射して質量顕微鏡で測定した。測定条件は負イオン、検出器電圧 2.1kV 、顕微鏡倍率 20 倍で、MS の場合は照射径 0、レーザー強度 80%(100%の時のレーザーエネルギー : 0.010μJ)、MS/MS では照射径 4、レーザー強度 80%であった。画像化には Imaging Mass Solution (Ver.1.01.02)のイメージ機能を用いた。

【結果】 TsS 標準品では MS ($m/z=367.15$, TsS C₁₉H₂₇O₅S), MS/MS ($m/z=96.96$, fragment HSO₄)両方にピークを認めた。無処理のマウス精巣ではこれらのピークが認められなかつたが、hCG で処理した精巣ではいずれのピークも検出され、組織切片上では MS のピークを示す黄色の斑点が一面に認められた。また MS/MS も組織切片上にピークを示す黄色の斑点が MS と一致して広い範囲で認められた。

【考察】 MS のほかに MS/MS でもピークが検出された部位の画像を描出できたので、硫酸エステル化された Ts の精巣での検出が質量分析ではじめて可能となつた。

SDT ラットの胰臓を対象としたプロテオミック質量イメージング

益山 慶¹, 岩崎了教², 葛原由貴³, 若園 博¹, 菊澤 崇², 藤ヶ谷浩文¹, 東山真澄¹,
日比大介¹, 柳浩由紀¹, 宿谷真由³, 池川雅哉³

¹小野薬品工業, ²ブルカーダルトニクス, ³同志社大学生命医科学部医生命システム学科

Proteomic Mass Imaging of Pancreas from SDT Rat Model

Kei Masuyama¹, Noriyuki Iwasaki², Yuki Kuzuhara², Hiroshi Wakazono¹, Takashi Nirasawa²,
Hiroyuki Fujigaya¹, Masumi Higashiyama¹, Daisuke Hibi¹, Hiroyuki Yanagi¹, Mayu Shukutani³,
Masaya Ikegawa³

¹Ono Pharmaceutical Co., Ltd.

²Bruker Daltonics K.K.

³Department of Life and Medical Systems, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University

現在、糖尿病患者数は我が国のみならず世界で年々増加している。糖尿病は全身病であり、病気の進行とともにインスリン感受性や耐糖能に変化が表れ、やがて高血糖、高脂質血症、ひいては胰臓のβ細胞のインスリン分泌低下によりインスリン不足が引き起こされる。糖尿病の発症機序や病気の進行を解析する上で胰臓ランゲルハンス島の病理学的变化やその分子基盤について解析することは最も重要である。本研究では、日本人に多く見られる肥満を伴わない2型糖尿病のモデル動物として Spontaneously Diabetic Torii (SDT) ラットを用いた。対照群 (SD ラット 9 週齢) 及び 9、16、20 週齢の SDT ラットの胰臓切片を用いてタンパク質レベルのイメージングマススペクトロメトリー (Imaging Mass Spectrometry : IMS) を実施した。IMS には MALDI-TOF MS : ultraflextreme (Bruker Daltonics) を用い、50 μm の空間分解能で測定を行った。組織は、on tissue でトリプシン処理を行い、さらに LC-MALDI-MS 及び LC-ESI-MS の二つの手法で網羅的タンパク質同定を実施した。その結果、組織ごとに約 200 個のタンパク質が同定された。本モデルにおける胰島の初期病変として血管拡張や出血が認められているが、糖尿病の進行に伴い、インスリン、グルカゴンの分布を指標に胰島および胰島周辺に分布するタンパク質を探査した。特徴的な分布として、糖尿病の初期状態である 9 週齢の SDT ラットの病変部のみで強く発現するタンパク質が確認された。また、対照群のみで発現しているタンパク質や、糖尿病の進行に伴いシグナルが増強したタンパク質も抽出された。本研究により得られた胰島プロテオームの実験的、臨床的検証の必要性が示唆された。

神経障害性疼痛モデルマウスにおける脊髄後角の脂質変化

坂野友啓¹, 正木紀隆¹, 大村威夫¹, 三原唯暉¹, 徐冬闇¹, 松山幸弘¹, 瀬藤光利¹

¹浜松医科大学医学系研究科

Analysis of lipid distribution in dorsal horn using matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry in neuropathic pain model mice

Tomohiro Banno¹, Noritaka Masaki¹, Takao Omura¹, Yuuki Mihara¹, Dongmin Xu¹, Yukihiro Matsuyama¹, Mitsutoshi Setou¹

¹Hamamatsu University School of Medicine

【目的】近年、神経障害性疼痛において脂質の果たす役割が注目を集めている。イメージング質量分析法（MALDI-IMS）は組織内における脂質の局在を脂肪酸組成レベルで区別し、同定することが可能な手法である。本研究の目的は、MALDI-IMS を用いて神経障害性モデルマウスの脊髄後角におけるリン脂質分布の変化を解析することで、神経障害性疼痛に対する脂質の役割を解明することである。

【方法】C57BL6J 雄 8 週齢マウスを用いた。末梢神経障害性疼痛モデルとして spared nerve injury (SNI) model を作成し、比較対象として sham model を用いた。疼痛評価として von Frey test を行った。術後 3、7、21 日に L5 レベルの脊髄を摘出し、新鮮凍結切片を作成した。マトリクスとして DHB を用い、陽イオンモードの MALDI-IMS でリン脂質の 1 つであるフォスファチジルコリン (PC) の脊髄内における分布を解析した。また、アストロサイトやマイクログリアの局在と比較するため GFAP、Iba1 による連続切片の免疫染色も行った。

【結果】von Frey test では SNI 群において損傷直後から有意に疼痛閾値が低下し 21 日まで持続していた。MALDI-IMS による PC の解析では損傷後 7 日の時点で SNI 群においてアラキドン酸含有リン脂質 (AA-PC) の 1 つである PC(diacyl-16:0/20:4)が脊髄後角で増加していた。一方で、損傷後 3 日、21 日の時点では各種 PC に有意な変化はみられなかった。免疫染色像でも SNI 群において全観察期間でマイクログリアの増加が脊髄後角でみられ、PC(diacyl-16:0/20:4)と同様に損傷後 7 日の時点で最も集積が多かった。

【考察】神経障害性疼痛モデルマウスにおいて損傷後 7 日で脊髄後角において AA-PC が上昇していた。発現の分布はマイクログリアの集積と類似していたため、PC(diacyl-16:0/20:4) の変化はマイクログリアの集積とそれに伴う炎症に関与していると考えられる。

げっ歯類精巣におけるヌクレオチドのイメージング質量分析

中西勝之¹, 辻 雄大¹, 中川祐輝¹, 井口公太¹, 角田伸人¹, 中邨智之², 松井喜之³, 市岡健太郎⁴, 小川 修³, 池川雅哉¹

¹同志社大学生命医科学部医生命システム学科, ²関西医科大学薬理学講座, ³京都大学大学院泌尿器科学, ⁴いちおか泌尿器科クリニック

Imaging Mass Spectrometry of rodent testis focusing on nucleotides

Katsuyuki Nakanishi¹, Yudai Tsuji², Yuki Nakagawa², Kohta Iguchi¹, Nobuto Kakuda¹, Tomoyuki Nakamura², Yoshiyuki Matsui¹, Kentaro Ichioka⁴, Osamu Ogawa³, Masaya Ikegawa¹

¹Department of Life and Medical Systems, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University

²Department of Pharmacology, Kansai Medical University

³Department of Urology, Graduate School of Medicine, Kyoto University

⁴Ichioka Urological Clinic

男性不妊症の診断に精巣組織の生検は非常に重要である。本研究では、将来的に精巣組織の病理診断に供するため、大気圧 MALDI 顕微質量計を用いて、マウスおよびラット精巣におけるヌクレオチドのイメージングを試みた。解析には 5 週齢 ICR マウスおよび 5 週齢 Wistar ラット精巣を用いた。頸椎脱臼後、30 秒以内にすばやく精巣を取り出し、液体窒素で急速冷凍した。凍結組織からクリオスタットで厚さ 10 μm の薄切片を作り、透明導電性スライドグラス (ITO) に融解接着した。マトリックスには 9-アミノアクリジンを用い negative mode にて解析を行った。両側精巣の内、一方には死後変化を抑制する目的で熱処理を加え、その効果を比較検討した。顕微質量計には、iMScope (島津製作所) を用い DHB (2, 5-dihydroxybenzoic acid) でキャリブレーションをおこなった。データは、Imaging MS Solution (島津製作所) を用いて解析した。m/z の値から代謝物の特定には、METLIN を参照した。その結果、これまで報告のあった Seminolipids の分布にくわえ ATP, ADP, AMP などのヌクレオチドの分布を観察することができた。今後は、精子形成や不妊症との関連において精巣のヌクレオチドを対象としたイメージングを行い、検証を行う。

質量イメージング法を用いたハロペリドール由来ピリジニウム代謝物の脳内分布に関する可視化の検討

吉田原規¹, 中西豊文², 杉本香奈³, 巽 信二¹, 五十嵐一雄⁴

¹近畿大学医学部法医学, ²大阪医科大学臨床検査医学, ³大阪大学大学院医学系研究科法医学,

⁴一般社団法人医薬分析協会

MALDI mass spectrometry imaging for direct measurement of the neurotoxic pyridinium metabolite (HPP^+) of haloperidol in mouse brain tissue

Motonari Yoshida¹, Toyofumi Nakanishi², Kana Sugimoto³, Shinji Tatsumi¹, Kazuo Igarashi⁴

¹Department of Legal Medicine, Faculty of Medicine, Kinki University, ²Department of Clinical and Laboratory Medicine, Osaka Medical College, ³Department of Legal Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, ⁴Department of Research Development, Association of Medicinal Analysis

【目的】統合失調症治療薬ハロペリドール(HP)は、第一世代の抗精神病薬であるが、統合失調症の中でも幻聴や妄想などの症状改善のために広く用いられている。一方、この治療薬の長期使用により、副作用として薬剤性パーキンソンズムが誘導されることも知られている。このHPによる薬剤性パーキンソンズム発現の要因として、Igarashi等はHPによる神経毒性代謝物ピリジニウム(HPP^+)の関与を報告している。この代謝物 HPP^+ は神経毒性誘発物質MPTPのピリジニウム代謝物MPP⁺に化学構造的に類似していることから、類似した脳神経毒性を有すると考えられる。また、HP投与後の動態として、LC/MS分析により脳内ピリジニウム代謝物 HPP^+ の存在が報告されている。今回は、このピリジニウム代謝物 HPP^+ の脳内分布について、質量イメージング手法による可視化を検討した。

【方法】投与動物として、ICR系マウス(8週令、雄)を使用した。HP投与量は脳内分布を明瞭にするために、通常用量より高用量を使用した。HP溶液を20mg/kg腹腔内注射し、投与後1時間に脳を摘出した。摘出脳は直ちに16μm厚の凍結切片を作成した。イオン化試薬にHCCA-Matrixを使用し、MALDI-TOF-MS装置(Bruker Daltonics Autoflex III-OM)による質量イメージングを行った。代謝物 HPP^+ 測定に、m/z 354.1をプリカーサーイオンとして、m/z 165.4をドーターイオンとして用いた。分析ソフトにはFlex Imaging V3.0を使用した。

【結果および考察】HP投与マウスにおける神経毒性ピリジニウム代謝物 HPP^+ の脳内分布を、質量イメージング法を用いて可視化を検討した。脳切片上の特定部位に、代謝物 HPP^+ 固有の質量を可視化することが出来た。この部位について、脳神経細胞、特にドバミン神経細胞等の確定を、免疫組織学染色等により検討中である。

新鮮凍結乳癌組織切片を用いた MALDI-IMS 解析による乳癌特異タンパク分子候補の同定

佐藤七夕子^{1,2}, 中西豊文², 岩本充彦¹, 内山和久¹

¹大阪医科大学附属病院乳腺内分泌外科, ²大阪医科大学臨床検査医学教室

Identifications of candidate breast cancer-specific biomarkers in fresh frozen breast tissue sections by the MALDI-imaging coupled with *on-tissue* digestion

Nayuko Sato^{1,2}, Toyofumi Nakanishi², Mitsuhiro Iwamoto¹, Kazuhisa Uchiyama¹

¹Department of Breast and Endocrine Surgery, Osaka Medical College Hospital,

²Department of Clinical and Laboratory Medicine, Osaka Medical College

【目的】近年、ソフトイオノ化質量分析法の登場により、解析対象が低分子から生体高分子へと広がり、生命現象を司るタンパク質の同定が可能となった。更に、質量イメージング手法により、質量分析で得られた分子内構造情報と同時にその組織内局在を可視化することで、従来の病理組織像に類似するマスイメージ(Heat map)が得られるようになった。

今回、乳癌切除新鮮組織切片を解析対象に、マトリックス支援レーザー脱離飛行時間型質量分析イメージング(以下 MALDI-IMS)法を用い、組織切片上で直接トリプシン消化を行う、*on-tissue* digestionを用いて乳癌組織に特徴的なタンパク質を複数同定したので、文献的考察を加えて報告する。

【方法】乳癌手術に際して摘出した新鮮凍結乳癌組織20例を、*on-tissue* digestion後 MALDI-IMS (Autoflex speed : Bruker Daltonics社製) 解析し、可視化されたHeat mapをHE染色像と比較し、癌部、正常組織に関心領域(ROI :Region of interests)を設定し、タンパク質プロファイルを可視化した。それぞれのROIで分類し、両者で異なる分子イオンを選出し、コンピューター解析により有意差のある分子イオンを見出した。それらに対して、*on-tissue* 酵素消化/レーザーイオン化四重極イオントラップ飛行時間型質量分析(MALDI-QIT-TOFMS :島津製作所製)法にて、両者間で発現の異なるタンパク質を同定した。

【結果】トリプシン消化物からいくつつかの乳癌特異ペプチド(MH^+)が見出され、MSMS解析の結果、それらのペプチドは Peptidylprolyl isomerase A. (PPIA)、I型 Collagen α -2(COL1A2)、Histone4 (H4)、Histone2A (H2A1A)と同定された。

【総括】乳癌の悪性度との関与を示すと考えられるタンパク質を数種類同定することができた。今後、特異抗体を用いた免疫組織化学染色にて質量分析で得られた結果を検証し、ELISA法でタンパク質の定量を行い、新規悪性度関連タンパクとなるか否かを見極め、実際の標的タンパク分子候補としたい。

LC/MS 解析による血中 CRP 複合体についての検討

小倉彩世子^{1,3}、里村厚司¹、星野 忠¹、荒島康友¹、志方えりさ¹、藤岡和美¹、下澤達雄³、中山智祥¹

¹ 日本大学医学部 病態病理学系 臨床検査医学分野、² 日本大学病院 臨床検査医学科、
³ 東京大学医学部付属病院 検査部

Proteome analysis of CPR binding protein

Sayoko Ogura^{1,3}, Atsushi Satomura¹, Tadashi Hoshino¹, Yasutomo Arashima¹, Erisa Shikata¹, Kazumi Fujioka¹, Tatsuo Shimosawa³, Tomohiro Nakayama¹

Division of Laboratory Medicine, Department of Pathology and Microbiology, Faculty of Medicine, Nihon University School of Medicine

【背景・目的】

C-reactive protein(CRP)は肝臓で産生され、炎症などの刺激によって数百倍にも産生が増加し、血清中の CRP 濃度は感染症の重症度や組織傷害の有無の判定に広く用いられている。CRP は多糖体やリン酸などと結合しており、複合体を形成していることが報告されている。これらの CRP の複合体についてはいくつか測定の報告があるが、臨床的意義および病態との関連については不明なことが多い。

【方法・検討項目】

CRP に結合している複合体および、CRP との結合している complex を免疫沈降法で検出し CRP 正常、および高値の血清で比較した。血清は 2012 年から 2014 年に日本大学病院を受診した外来・入院患者残血清（倫理委員会承認済）を凍結し、Tranditional および Magnet を用いた免疫沈降法で抗 CRP 抗体 (Thermo) と Negative control (mouse IgG) をおよび Cross link Magnet(Pearce)を結合させ、その後血清とともに 1 時間培養した。結合した蛋白を 2 次元電気泳動(pH3–10)にて泳動し、Gel spot を画像解析ウェア (SameSpots) にて解析し、発現量の違いの認められるスポットを切り出し、LC/MS 解析を行った。

【結果】

抗 CRP 抗体で免疫沈降したものと Negative control (mouse IgG)で免疫沈降したもので発現量の異なるスポットは大きく 3 つあった。そのうち最も差のあるものを LC/MS の解析にて VitaminD binding protein が同定された。

【考察・結語】

今回の結果から CRP 複合体として Vitamin D binding protein が新たに同定された。Vitamin D binding protein はビタミンDと結合し、血中での VitaminD の濃度や Vitamin D binding protein の濃度は冠動脈疾患と相関があるとの報告がある。今後は CRP 複合体としての VitaminD binding protein 量を測定し、臨床的意義を検討する。

講演要旨

(LS : ランチョンセミナー・MS : モーニングセミナー)

LS-1

イメージング質量分析における高分解能・高精度ハイスループットの使い分け

蘿澤 崇¹

¹ブルカー・ダルトニクス株式会社

How to choose the high resolution or high throughput instrument for Imaging applications.

Takashi Nirasawa¹

¹ Bruker Daltonics K.K.

昨今、“イメージング質量分析”に関する報告を目にする機会が増えてきました。医療で用いられている CT（コンピュータ断層撮影）、MRI（核磁気共鳴画像法）や PET（ポジトロン断層法）などの非破壊での可視化法とは異なり、イメージング質量分析は破壊分析の一つですが、物質固有の質量を用いて可視化するため、その物質の詳細な局在を捉えることが期待できます。

生体組織切片をはじめとする 2 次元・平面状サンプルについて、スキャンするように微小領域の質量分析を数千～数万回行います。それによって、サンプル内のある特定の物質の局在を精密に可視化することができるようになります。

近年、様々なイオン化法および分離分析法を組み合わせた質量分析装置による可視化が試みられていますが、その中でも MALDI-TOF 型質量分析装置によるタンパク質・脂質の可視化や、FT-ICR 型質量分析装置を用いた薬物・代謝物の可視化が、イメージングの代表例として挙げられます。

本講演では、広い領域の可視化を行う最新・高速 MALDI-TOF 型質量分析装置：rapiflex と、超高質量分解・高質量精度を備えた FT-ICR 型質量分析装置：solariX-XR を用いた、最新のイメージング質量分析をご紹介致します。

【小型バーチャルスライドスキャナ NanoZoomer-SQ について】

MALDI-TOF システムのみで行うイメージング分析の難点は、組織を測定した分析データと高解像度な組織画像を組み合わせて観察するが困難な状況でした。その課題を解決するのが、浜松ホトニクス社製 小型バーチャルスライドスキャナ NanoZoomer-SQ とブルカー・ダルトニクス社様の MALDI-TOF システムとを組み合わせた運用です。このシステムの組み合わせにより、タンパク質や代謝物等の対象物と組織形態とを照らし合わせながらの観察が可能となります、NanoZoomer-SQ は小型・低価格に対象組織のバーチャルスライドを作成する装置であり、簡単な操作でバーチャルスライドの取得が可能です。（【バーチャルスライド】とは、プレパラート化された組織や細胞などのサンプル全体を高解像度にデジタル化した画像データを指します）

LS-2

マルチオミックスなデータ解析、保管、共有を可能にする BaseSpace クラウド

関 典広¹

¹イルミナ株式会社 プロダクトマーケティング部 プロダクトマネージャー

The BaseSpace Cloud enabled multi-omics data analysis, storage and sharing

Norihiro Seki¹

¹Product Marketing Manager, Regional Marketing, Illumina K.K. Japan

BaseSpace クラウドデータ解析サービスを提供するイルミナは、次世代シーケンサーを始めとするゲノム解析に必要な製品を「Sample to Answer」というコンセプトの元に一貫したソリューションを提供しています。主力の次世代シーケンサーは、これまでに、様々な国際ゲノムプロジェクトで採用され、数多くの新たな発見に貢献してきました。現在では、1 度に最大 16 人分の全ゲノム解析に必要なデータをサンプルあたり 1000 ドルで産出することが可能になりました。一方で、次世代シーケンサーは新たな問題を生み出しました。それは、日々増大するゲノムデータを効率よく解析および保管する環境を整える必要があるということです。

これらの問題を解決するために、イルミナは BaseSpace クラウドデータ解析サービスの提供を開始しました。これにより、これまで多くのユーザーの頭を悩ましていた、煩雑な操作を必要とするデータ解析、大量データの保管および共同研究者との解析結果の共有という問題を一度に解決することが可能になりました。この BaseSpace クラウドはゲノム解析に特化したものではなく、自由度の高いプラットフォームとして設計されているので、ゲノム以外のデータを解析することも可能です。

特に、マススペクトルのデータの解析は、それぞれの測定結果を単独で解析するだけでなく、ゲノムや遺伝子発現解析の結果と組合せたオミックス解析を行うことで新たな発見につながることが期待されます。ここでは、BaseSpace クラウドを利用するメリットおよび海外での利用例について紹介します。

LS-3

LC-QTOF を用いた危険ドラッグの分析

滝埜昌彦¹

¹アジレント・テクノロジー株式会社

Analysis of designer drugs by LC-QTOF

Masahiko Takino¹

¹ Agilent Technologies Japan, Ltd.

麻薬と同様の作用および危険性を持った危険ドラッグが、大きな社会問題となっている。これら危険ドラッグは規制薬物の分子構造の一部を変えた合成薬物であり、標準品の迅速な入手が困難な場合が多い。主な危険ドラッグの成分は、合成カチノン類や合成カンナビノイド類であるが、最近ではフェネチルアミン類、合成オピオイド、ベンゾフラン類、アミノインダン類など様々な危険ドラッグが報告されている。したがって、危険ドラッグの分析では定性分析から始まる。さらに、合成カンナビノイド類は血液や尿などの生体試料からは未変化体の濃度が極めて低く、代謝物の探索は使用した危険ドラッグの推定に重要な要素である。しかし、危険ドラッグは新規化合物が多いことから生体内での代謝に関する報告は極めて少ない。これまで演者らは、四重極-飛行時間型質量分析計を用いた LC-QTOF を用いて危険ドラッグを含めた様々な薬物の分析手法を開発してきた。LC-QTOF は高分解能で精密質量測定が可能したことから、危険ドラッグ分析には非常に有効な装置である。しかし、LC-QTOF は様々な測定手法、データ解析手法が報告されており、これら測定手法や解析手法の特徴を十分に理解する必要がある。そこで本セミナーでは危険ドラッグ分析に用いられる LC/QTOF の測定手法やデータ解析手法について解説する。さらに、MetaboliteID ソフトウェアによる危険ドラッグの代謝物分析例やイオンモビリティー技術を備えた LC-QTOF による危険ドラッグ分析についても紹介する。

MS-1

LC/MS/MS の臨床検査応用への取り組み

佐藤 守¹ 先生

¹千葉大学医学部附属病院マススペクトロメトリー検査診断学

Clinical application of LC/MS/MS - focusing on vitamin D metabolites testing -

Mamoru Sato¹

¹Divisions of Clinical Mass Spectrometry and Clinical Genetics, Chiba University Hospital

サーモフィッシュ・サイエンティフィック株式会社は2015年5月に質量分析計を検出器とする高速液体クロマトグラフ分析装置を医療機器（登録番号：14B3X00012000030）として日本国内で登録しました。ハイスループットで、かつ安定したシステムが要求される診断機器として、2チャンネルの2次元LC構成となっています。1次元目で質量分析計や分析カラムの汚れを軽減するための除タンパク質処理を行い、2次元目で通常のLC分離を行います。また、分析時間を短縮するために2チャンネル構成とし、一方がLC-MS分析を行っている間にもう一方が1次元目の前処理や2次元目のカラムの平衡化を行えるようになっています。各チャンネルの流路、移動相ボトルは独立しており、複数のアッセイを1台のシステムに組み込んでおくことも可能で、アッセイごとに移動相やカラムを交換する必要はありません。

本セミナーでは、同システムを使用されている千葉大学付属病院の佐藤先生にLC-MSの臨床検査応用についてご講演いただきます。

【ご講演要旨】

現在の臨床検査室では、各種ステロイドホルモン・ビタミンD代謝物などの低分子化合物の分析には抗体による免疫学的測定法が主に用いられている。免疫学的測定法は検体処理能力が高く、臨床検査において必須である一方、交差反応の存在やキット間差・施設間差の問題が指摘されている。低分子化合物は側鎖構造などの微小な違いにより生物学的活性が大きく異なるため、精密な代謝動態の評価には、微小構造差を弁別することのできるLC/MS/MSでの測定が非常に有用である。本発表では、LC/MS/MSの臨床検査室導入の1例として、ビタミンD代謝物の分析を紹介する。我々は、活性型ビタミンDと密接な関係にある不活性型ビタミンD(24,25(OH)2D3)も含めた4種のビタミンD代謝物について検査応用を目的として、臨床検査を行う際に絶対に求められる正確度・再現性・安定性・最低定量感度・マトリクスの干渉・採血管種の影響・従来法との相関について詳細に検討を行った。

講 演 要 旨

(TF : テクノロジーフォーラム)

TF-1

最新の質量分析イメージングとイオンモビリティーQToF

寺崎真樹¹, タナイ パクストン¹

¹日本ウォーターズ株式会社

Waters Full Spectrum molecular imaging and Ion mobility Mass Spectromerty QToF – Vion IMS QToF

Maki Terasaki¹, Thanai Paxton¹

LC/MS 分析に必要な試薬から、前処理製品、液体クロマトグラフ、分離カラム、質量分析計、解析ソフト、サポートサービスまで、トータルに製品をご提供するウォーターズより、最新の質量分析イメージングとイオンモビリティーQToF をご紹介します。

【フルスペクトル分子イメージング】プロテオミクス、メタボロミクス、細胞生物学や組織生物学、病理研究および組織学といった分野においてあらゆる個別のイメージング技術を超える詳細と分子情報の取得を実現するために、MALDI（マトリクス支援レーザー脱離イオン化）、DESI（脱離エレクトロスプレーイオン化）、イオンモビリティ分離を統合した Waters フルスペクトル分子イメージングプラットホームを Pittcon 2015 で発表し、Editor's Award 銀賞を受賞しました。フルスペクトル分子イメージングシステムは、特定のタイプの分子（ペプチド、脂質、低分子代謝物、糖類など）を分析するのに非常に適した質量分析技術の組み合わせです。これらの技術は、質量分析イメージングで得られる情報を最大限包括的なものとするためにお互いに補完し合うものです。

【Vion IMS QToF 質量分析計】ベンチトップ型装置として四重極飛行時間型質量分析とイオンモビリティ分離の利点を組み合わせた Vion IMS QToF 質量分析計により、明瞭で信頼性のあるルーチン分析を行うことができるようになります。

イオンモビリティーでは、イオンをそれぞれの形、質量、および電荷により互いに分離することで、分離においてもう 1 つ別の次元が得られます。イオンモビリティーの選択性によりスペクトル干渉が除去され、サンプルイオンはクロマトグラフィーで共溶出される化合物やバックグラウンド干渉から区別されるため、すべてのスペクトルが明瞭になり、確信できる化合物の特性解析を行うことができます。さらにすべてのイオンについて衝突断面積 (CCS) 値が生成されるため、従来の LC-MS 実験より多くの情報を得ることができます。

TF-2

Agilent 6560 Ion Mobility Q-TOF LC/MS-QTOF の紹介

滝埜昌彦¹

¹アジレント・テクノロジー株式会社

Agilent 6560 Ion Mobility Q-TOF LC/MS-QTOF

Masahiko Takino¹

¹ Agilent Technologies Japan, Ltd.

Ion Mobility Spectrometry (IMS)は、1950 年代に開発されたイオンの移動度によりイオンを分離する技術であり、可搬型の現場での爆発物分析などに用いられてきた。この分離技術は LC-MS などと組み合わせると第 3 の分離技術であり、クロマトグラフィーや質量分析計では不可能な質量が同一の妨害イオンの分離や、イオンの立体構造解析を可能とし、より特異的で詳細な情報を得ることが可能である Agilent 6560 Ion Mobility Q-TOF LC/MS システムは、この新たな分離技術である IMS を備え新たな分析を提供する質量分析計である。本ワークショップでは IMS による構造異性体の分離、ドリフトスペクトルを利用した選択性の改善、All Ions MSMS 法と IMS の組み合わせによるフラグメントイオンの関連付けなどの手法について紹介する。

TF-3

イメージング質量分析のボトルネックを解消する rapifleX™ MALDI Tissuetyper™

前田 齊嘉¹

¹ブルカー・ダルトニクス株式会社

High Speed Scan instrument, rapifleX™ MALDI Tissuetyper™ break though MS imaging bottleneck

Masahiro Maeda¹

¹ Bruker Daltonics K.K.

質量分析による組織イメージング技術の進歩は新しい研究分野を開拓し、特に病理分野で多くの実績を上げている。初期の段階では組織上から直接質量分析を行うことが研究テーマであったが、現在は多くの情報をできる限り組織上から得て、有意な情報として得ることがテーマの一つになっている。多くの情報を一回の測定で得る為にはいくつかのポイントで技術の改善が求められている。そのうちのいくつかを上げてみると、レーザーを微細に照射する技術、組織上に局在化するターゲット物質の効率のよいイオン化、イオン化した物質の精度のよい分析、感度の改善、測定スピードの改善などである。それぞれの改良は質量分析装置の各機能の改良により達成されると期待される。

今回紹介する rapifleX™ MALDI Tissuetyper™ はレーザー照射のメカニズムを改良し、従来の組織切片に照射するスピードを 10 倍以上改善している。イオン化された物質は飛行時間により分離され、データとして蓄積される。収集した莫大な情報は MALDI Tissuetyper 用の専用ソフト (flexImaging, SCLS Lab, SCLS Lab 3D) にて質量分析データを可視化される。

最新のイメージング質量分析システム rapifleX™ MALDI Tissuetyper™ によって得られる結果やその機能について解説する。

質量分析計を検出器とする体外診断用医療機器 Prelude MD の紹介

窪田 雅之¹

¹サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

Prelude MD liquid chromatograph equipped with mass spectrometer for clinical diagnostics

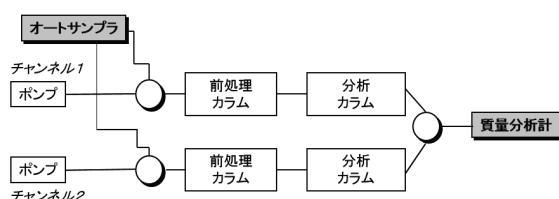
Masayuki Kubota¹

¹ Thermo Fisher Scientific K.K.

近年、欧米では液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS）の診断医療応用の範囲が広がりつつあり、日本でも最先端診断技術のひとつとして注目されています。サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社は2015年5月に質量分析計を検出器とする高速液体クロマトグラフ分析装置を医療機器（登録番号：14B3X00012000030）として日本国内で登録しました。LC-MSは複数の分析対象を同時に検出でき、LCの分析条件が同じであれば複数の検査項目を一度で検査できるのが大きなメリットです。しかし、実際にはLCの条件をひとつに統一することは困難で、複数の条件をセットアップできることが検査室の自動化、省力化、そして分析時間の短縮に重要となります。また、サンプルの前処理の自動化も重要です。

ここでご紹介する Thermo Scientific™ Prelude MD™は、ハイスループットで、かつ安定性が要求される診断機器として、2チャンネルの2次元LC構成となっています。2次元LCの1次元目で質量分析計や分析カラムの汚れを軽減するための除タンパク質処理を行い、2次元目で通常のLC分離を行います。また、分析時間を短縮するために前述の2次元LCを2チャンネル構成とし、一方がLC-MS分析を行っている間にもう一方が1次元目の前処理や2次元目のカラムの平衡化を行えるようになっています。各チャンネルの流路、移動相ボトルは独立しており、複数のアッセイを1台のシステムに組み込んでおくことも可能で、アッセイごとに移動相やカラムを交換する必要はありません。

本講演では、Prelude MDのシステム概要についてご紹介します。



TF-5

SWATH® Next-Generation Proteomics と OneOmics™による網羅的なターゲット定量プロテオーム解析

柴田 猛¹

¹サイエックス アプリケーションサポート

Comprehensive Targeted Quantitative Proteomics using SWATH® Next-Generation Proteomics and OneOmics

Takeshi Sibata¹

¹ K.K. SCIEX Application Support

生体内のタンパク質の変動を定量的に解析する事は生命現象の理解のために重要です。質量分析技術を中心としたプロテオーム解析技術の発展に伴い、数千のタンパク質の同定が可能となり、また定量技術も進展しつつあります。従来のタンパク質定量法では感度や特異性、ダイナミックレンジやスループットなどいくつかの問題点が指摘されていましたが、大規模なディファレンシャル解析への応用として、一度の測定で Data independent に全てのイオンを取得可能な手法である SWATH® Next-Generation Proteomics が開発されました。これにより、一度に非常に多くのタンパク質の定量情報を網羅的に取得することが可能となりました。一方では、膨大なプロテオミクスの効率的なデータ解析、管理などの新たな課題に直面しています。

最近、イルミナ社による BaseSpace®上のアプリケーションとして開発された OneOmics™ は、クラウドコンピューティングを利用した質量分析データの定量解析ばかりではなく、データの統計処理とパスウェイ解析といった生物学的な意味付けのある解析や、イルミナ社の次世代シークエンサーをはじめとするゲノム情報との統合解析を Web 上の簡便なインターフェイスを用いて可能となりました。

今回は、SWATH®により得られたシグナル伝達ネットワークの網羅的なリン酸化プロテオミクスデータを OneOmics™ にて活用した例を紹介させていただきます。シグナル伝達系におけるキナーゼネットワークや複数のシグナル伝達系との比較を行うことができ、シグナル伝達系全体のシステムとしての理解に有効であることが示されました。BaseSpace®上の各種ゲノムツールや OneOmics™の活用により、どんな遺伝子が発現しているか(ゲノミクス)、また、どのようなタンパク質が働いているか(プロテオミクス)などのオミックス (Omics) 情報を駆使し、バイオマーカーの発見や、がんなどの各種疾患の創薬研究への活用が期待されます。

TF-6

リン脂質の除去とリン脂質を抽出する前処理製品について

鈴木健一, 太田茂徳, 由井夕湖
ジーエルサイエンス株式会社

The introduction for products of phospholipids removal and phospholipids enrichment

Kenichi Suzuki, Shigenori Ota, Yuko Yui
GL Sciences Inc.

【要旨本文】近年、LC/MS/MS の感度向上に伴い生体試料の前処理も簡便な除タンパク処理が幅広く用いられている。しかし、除タンパク質処理では、リン脂質などが試料に残存しており、イオンサプレッションの要因になっている。また、残存しているリン脂質の量は、試料ごとに違い、イオンサプレッションの状況も試料により異なるため、これが測定結果のバラつきにつながることが解かっている。これを改善する方法として、昨年の本学会において、96WellPlate フォーマットの除タンパクプレートにチタニアとジルコニアを充填したリン脂質除去機能を持たせたフィルタープレートを紹介した。チタニアとジルコニアは、含リン酸化合物に対して、化学的なアフィニティーにも似た結合特性を持っているため、より選択的なリン脂質の除去が可能になる。今回は、フィルトレーション法を用いない場合に、処理した試料中のリン脂質の除去するためのツールを開発したので紹介する。

また、近年は、メタボロミクス研究などで、リン脂質自体をターゲットとする研究が増えしており、試料中のリン脂質を選択的に抽出する方法が求められてきている。前述のリン脂質を除去する製品に使用している充填剤は、リン脂質との化学的結合が強く脱着が悪い傾向があり、前処理用充填剤としては、最適ではない。

微少試料対応のスピンドカラム型固相抽出カラムである MonoSpin にチタニアとジルコニアをコーティングさせたカラムがリン脂質の選択的吸着能は維持したまま、脱着効率に優れており、リン脂質用固相抽出カラムとして最適化することができた。また、従来のスピンドカラムだけではなく、デッドボリュームが少なく相対的に少量溶出が可能な特性を維持したままに、10mLまでの試料に適応するための MonoSpin L も上市している。このリン脂質処理用のカラムも L 型を準備したのでここで併せて紹介する。

TF-7

Hybrid SPE[®]-Phospholipid を用いたリン脂質除去による高感度分析

松島江里香¹

¹ シグマアルドリッヂ ジャパン合同会社

High sensitive analysis by the removal of phospholipids using “Hybrid SPE-Phospholipid”

Erika Matsushima¹

¹ Sigma-Aldrich Japan

血漿や血清などの生体試料中の化合物や代謝物の LC-MS の分析において、複雑なサンプルマトリックスからの干渉にあうことが多くあり、その原因の一つとしてリン脂質妨害が知られている。

本発表では、リン脂質除去及び濃縮が可能な前処理用固相抽出管 Hybrid SPE-Phospholipid を用いたリン脂質の除去を中心に、生体試料中の化合物の同定と定量に関し、迅速かつ高い信頼性を実現する、HPLC 用カラムから認証標準物質(CRM)まで測定に使用する一連のツールを紹介する。

TF-8

LC-MS/MS による血中医薬品分析のための全自动前処理システム

尾島典行¹, 稲垣知子¹, 塚本多矩¹, 柴田 光^{1,2}, 川上大輔¹

¹(株)島津製作所 分析計測事業部、²Shimadzu Scientific Instruments Inc.

Clinical laboratory automated modules for the extraction of medical drugs from blood prior to LC-MS/MS analysis

Noriyuki Ojima¹, Tomoko Inagaki¹, Taku Tsukamoto¹, Hikaru Shibata^{1,2}, Daisuke Kawakami¹

¹Shimadzu Corporation, Analytical & Measuring Instruments Division

²Shimadzu Scientific Instruments Inc.

質量分析技術の発達による分析の高感度化は要求される試料の量を減らし、微量成分の検出を容易にしてきました。さらにここ数年の分析の高速化は結果がでるまでの時間を大幅に短縮し、質量分析計の本格的な臨床現場での応用を現実的に行ってます。しかしながら、質量分析計が高速になればなるほど、その前段の手作業での前処理操作がボトルネックとなってきています。

そこで、当社は長年培ってきた血液凝固分析装置の技術を採用し、採血管などをセットするだけで血液など液体生体試料を分析するための前処理から LCMS 分析までを全自动で行うシステムを開発しました。このシステムにより人手を省けるだけでなく、前処理の手技によるミスやバラツキを低減し再现性の高い分析を行うことができます。1 検体ごとの逐次並列処理を行えるために、処理中でも新たな検体試料を追加することも可能になっています。

本ワークショップではこの全自动 LC-MS/MS 検体分析装置を用いた全自动分析の一例として血液中の医薬品の濃度分析の実例を示しながら、試薬、コントロール試料、装置保守の管理機能など臨床分析に必要な精度管理機能を含んだソリューション例をご紹介します。

治療薬物モニタリングへの応用だけでなく、現在開発中の分析法の全自动化のための選択肢の一つに加えていただければ幸いです。

日本医用マススペクトル学会 医用質量分析認定士 第3回講習会

日時：2015年9月19日（土）（第40回日本医用マススペクトル学会年会翌日）
場所：アクシティコングレスセンター4階（<http://www.actcity.jp/>）

10:00～10:05		開会の辞		丹羽利充（日本医用マススペクトル学会理事長）	5W	10W	22W
10:10～11:00	講義1	質量分析の基礎 (用語説明、原理、機種など)		中西豊文 (大阪医科大学)	Control		
11:00～11:50	講義2	薬毒物の質量分析		鈴木 修 (浜松医科大学)	5W	10W	22W
12:00～13:00		ランチョンセミナー (株式会社島津製作所) 薬毒物分析におけるデータベースの利用		土橋 均 (名古屋大学)	5W	10W	22W
13:10～14:00	講義3	臨床細菌学分野における質量分析 技術の活用と今後の課題		大楠清文 (東京医科大学)	5W	10W	22W
14:10～14:20		医用質量分析認定士制度の概要説明			Control	Control	Control
14:20～14:40	試験				5W	10W	22W
14:40	閉会				5W	10W	22W

◆受講料 5,000円（資料代を含む）

（9月17日、18日開催本医用マススペクトル学会年会登録者は3,000円）

年会ホームページ (<http://www2.hama-med.ac.jp/w3a/photon/gakkai/>)

に関する情報を掲載します。



認定要件

1. 日本医用マススペクトル学会会員であること

2. 日本医用マススペクトル学会主催の医用質量分析認定士講習会に参加し、

筆記試験に合格すること。筆記試験は講習会における講義内容から出題する。「医用質量分析ガイドブック」

（2013年12月発刊 診断と治療社）

参考図書

年会・講習会事務局

静岡県浜松市東区半田山一丁目20番地1号

TEL/FAX : 053-435-2092

E-mail : jsbms40.hamamatsu@hama-med.ac.jp



主催
後援

日本医用マススペクトル学会
日本臨床衛生検査技師会

学会賛助会員一覧 (平成 27 年度)

株式会社島津製作所

日本電子株式会社

株式会社資生堂

サーモフィッシュャーサイエンティフィック株式会社

株式会社エスアールエル

株式会社エービー・サイエックス

日本ウォーターズ株式会社

ブルカー・ダルトニクス株式会社

丸石製薬株式会社

(9 社)

年会協賛企業一覧

この度の年会開催にあたり、企業・団体の皆様から協賛金、展示、広告掲載、その他のご協力をいただきました。ここに企業名を掲載し、深く感謝申し上げます。

(2015年8月14日)

アサヒグループホールディングス株式会社	シグマアルドリッヂジャパン合同会社
アジレント・テクノロジー株式会社	システムズ・ビオメリュー株式会社
M S T 一般財団法人 材料科学技術振興財団	シュプリンガー・ジャパン株式会社
大塚製薬株式会社	積水メディカル株式会社
株式会社伊藤園	ニットーボーメディカル株式会社
株式会社エービー・サイエックス	日本ウォーターズ株式会社
株式会社カーケ	日本電子株式会社
株式会社資生堂	バイオタージ・ジャパン株式会社
株式会社島津製作所	浜松ホトニクス株式会社
株式会社ツムラ	ブルカー・ダルトニクス株式会社
株式会社羊土社	マトリックスサイエンス株式会社
キリン株式会社	マルハニチロ株式会社
サーモフィッシュャーサイエンティフィック株式会社	三井情報株式会社
サッポロビール株式会社	ライオン株式会社
ジーエルサイエンス株式会社	理研株式会社

(30社、五十音順、敬称略)

展示企業一覧

アジレント・テクノロジー株式会社

M S T 一般財団法人 材料科学技術振興財団

大塚製薬株式会社

株式会社エービー・サイエックス

株式会社島津製作所

サーモフィッシュャーサイエンティフィック株式会社

ジーエルサイエンス株式会社

シグマアルドリッヂジャパン合同会社

シスメックス・ビオメリュー株式会社

日本ウォーターズ株式会社

ブルカー・ダルトニクス株式会社

(11 社、五十音順、敬称略)

年会運営委員一覧

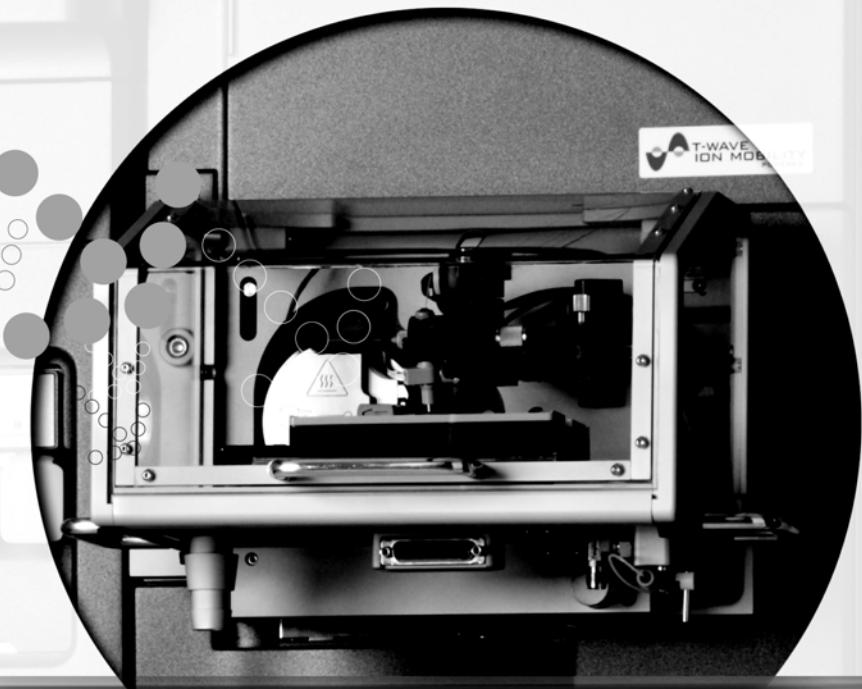
年会長

瀬藤 光利 浜松医科大学解剖学講座

運営委員スタッフ（五十音順）

有信 哲哉	愛知医科大学医学部化学教室
猪飼 誉友	愛知県衛生研究所
池上 浩司	浜松医科大学解剖学講座
石井 晃	名古屋大学大学院医学系研究科法医・生命倫理学
小川 匠之	愛知医科大学医学部法医学講座
木村 芳滋	神奈川県立保健福祉大学人間総合・専門基礎
近藤 豪	浜松医科大学解剖学講座
近藤 文雄	愛知医科大学医学部薬理学講座
紺野 在	浜松医科大学メディカルフォトニクス研究センター
三枝 大輔	東北大学東北メディカル・メガバンク機構
佐藤 駿平	浜松医科大学解剖学講座
佐藤 智仁	浜松医科大学解剖学講座
重松 陽介	福井大学医学部健康科学
杉山 栄二	浜松医科大学解剖学講座
鈴木 修	浜松医科大学理事
妹尾 洋	愛知医科大学医学部法医学講座
武井 史郎	浜松医科大学解剖学講座
堤内 要	中部大学応用生物学部応用生物化学科
中西 豊文	大阪医科大学総合医学講座臨床検査医学教室
丹羽 利充	修文大学健康栄養学部管理栄養学科
比企 能之	藤田保健衛生大学腎臓内科
前田 康博	名古屋市立大学大学院薬学研究科病院薬剤学分野
前川 真人	浜松医科大学臨床検査医学講座
正木 紀隆	浜松医科大学解剖学講座
松下 祥子	浜松医科大学解剖学講座
宮城 摩里子	浜松医科大学解剖学講座
宮嶋 裕明	浜松医科大学内科学第一講座
矢尾 育子	浜松医科大学メディカルフォトニクス研究センター
山崎 文義	浜松医科大学解剖学講座

Pittcon 2015 Editor's Award 銀賞受賞



フルスペクトル分子イメージング 分子分布の完全な可視化

あらゆる個別のイメージング技術を超えた
包括的かつ詳細な分子情報を提供

- 単一のシステムに MALDI、DESI、イオンモビリティ質量分析を統合
- 標準的な ESI-TOF 機器として使用することも可能

MALDI

- 優れた空間分解能



DESI

- 最小限の前処理（マトリックス塗布が不要）
- 同一サンプルで複数回の測定およびHE染色などが可能

詳細はこちらから

イオンモビリティ質量分析

- 分子量が近接した分子間の干渉の除去

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.com

東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12 第5小池ビル TEL 03-3471-7119(代表) FAX 03-3471-7118

大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 新大阪トヨタビル11F TEL 06-6304-8888(代表) FAX 06-6300-1734

ショールーム 東京 大阪

サービス拠点 東京 大阪 札幌 福島 静岡 富山 名古屋 徳島 福岡

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

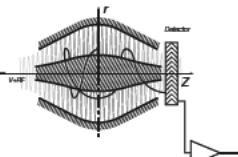
Happy 10.000th

質量分析計としての第一歩から10周年。

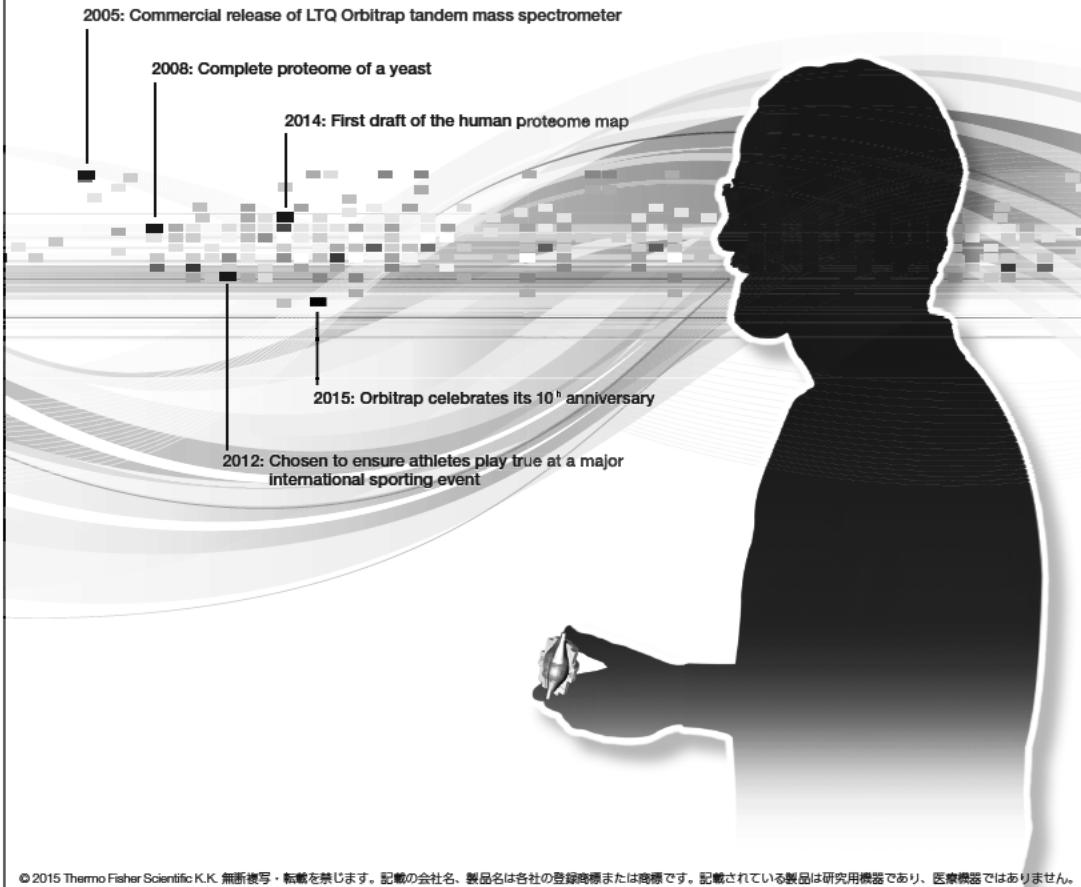
Orbitrapは未知を照らし続けます。

Transform your science.

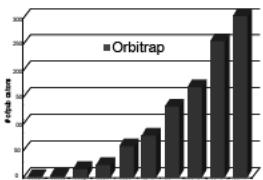
<http://www.thermoscientific.jp/products/mass-spectrometry.html>



10年前、高性能なOrbitrapが
産声をあげました。



Thermo Scientific™ Orbitrap™
Q Exactive™ 質量分析計
4年前、定量・定性分析を同時に
実現できるようになりました。



Nature誌・Science誌での
Orbitrapの引用数
Orbitrapは多くの研究者に
見守られながら成長を続けます。

© 2015 Thermo Fisher Scientific K.K. 無断複写・転載を禁じます。記載の会社名、製品名は各社の登録商標または商標です。記載されている製品は研究用機器であり、医療機器ではありません。

高感度質量分析装置の性能を最大限に活かすUHPLCの扉、開けてみませんか？

NANOSPACE NASCA2

- ・高感度質量分析装置の性能を最大限発揮するUHPLC
- ・世界初！切換バルブを介さないインジェクション機構を搭載
- ・最小なシステムデッドボリュームであるため、サンプルの拡散を極限まで抑え、これまでにないシャープなピークを実現
- ・かつてないほどに、キャリーオーバーの低減を実現

CAPCELL PAK C₁₈ MGIII

- ・LC/MS 1st チョイスカラム
- ・カラムブリードを徹底的に低減、
高感度分析、安定性を追求したカラム

CAPCELL PAK ADME

CAPCELL CORE ADME

- ・C₁₈カラムで測定が困難な高極性化合物の保持、分離が可能な逆相カラム

感度が低い、保持分離が困難などの課題、
私たちと解決しませんか？

真っ先に頼られる
オンリーワンHPLCメーカーに

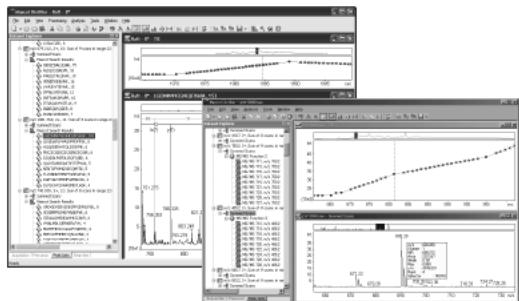
株式会社 資生堂
フロンティアサイエンス事業部
TEL : 03-6253-1412

資生堂 HPLC

検索

ピークリスト作成ソフトウェア

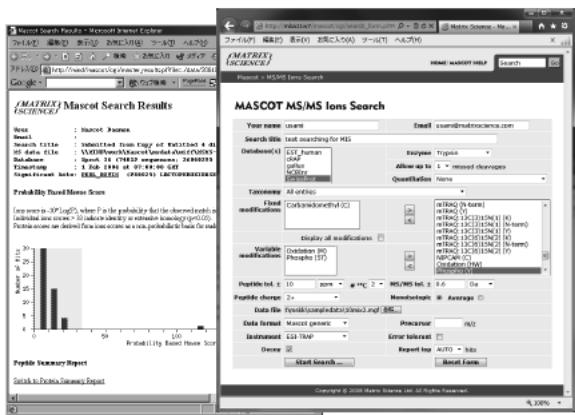
MASCOT Distiller



- ◆各社質量分析装置からのRAWピークデータに対し、理論ピークフィッティングを行い最適なモノアイソトピック・ピークリストを作成し、MASCOT検索に最適のピーククエリを生成します。
- ◆MASCOT Daemonとの組み合わせにより、ピークリストから蛋白同定までを連続自動化するデータ処理が可能となります。
- ◆オプションモジュール：Search toolboxにより DeNovo シーケンシング、シーケンスクエリ作成が可能です。
- ◆オプションモジュール：Quantitation Toolboxにより、Silac 法、ICAT 法、¹⁸O 法の各定量解析が可能となります。

蛋白質同定 Web システム

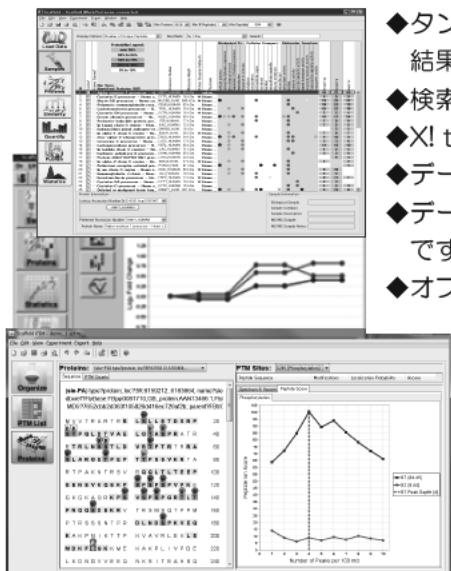
MASCOT Server



- ◆質量分析(MS,MS/MS)データから核酸・蛋白質データベース検索を行い、試料蛋白質を同定します。
- ◆ペプチドマスフィンガープリント法、シーケンスクエリー法 MS/MS イオンサーチ法、検索手法に対応。
- ◆規定・独自翻訳後修飾を加味した検索パラメータの設計可能。
- ◆MASCOT Daemonにより検索の自動化が行えます。
- ◆MASCOT Clusterへのアップグレードにより、検索負荷をスケーラブルに解消できます。
- ◆主要質量分析メーカーファイルフォーマットに対応。
- ◆MudPIT(多次元蛋白質同定技術)対応。
- ◆各種定量解析：emPAI 法、iTRAQ 法に対応、Distillerとの組合せでは、Silac 法、ICAT 法、¹⁸O 法に対応します。

検索結果解析・表示ソフトウェア

Scaffold



- ◆タンパク検索同定ソフトウェア MASCOT をはじめ他の検索エンジンの検索同定結果をサンプル毎に整理、統合、検証します。
- ◆検索同定結果のベイズ統計解析により、擬陽性判定解析を行う事が可能です。
- ◆X! tandem 検索エンジンを搭載し、同定結果の検証をサポート。
- ◆データ入力時のフィルタ機能により、解析不要なデータの削除が可能です。
- ◆データはフラットファイル形式で保存され、Xls ファイル形式でアウトプット可能です。
- ◆オプションモジュール：Scaffold Q+により iTRAQ、TMT 定量解析可能です。

Scaffold PTM

- ◆MS/MS による蛋白同定解析において、翻訳後修飾部位の解析を支援するソフトウェアです。
- ◆Ascore から派生したパラメータを用いたアルゴリズムを用いてアミノ酸残基の修飾確率を計算します。

プロテオミクスとともに……

Springerの電子ブックコレクション



シュプリンガー・イーブックス

Springer eBooks

Biomedical and Life Sciences

研究にも
教育にも

- 生物医学、生命科学分野の書籍を網羅的に収録したリサーチ・コレクション
- 教育、基礎研究、応用研究などを支える貴重な学術基礎資料
- 同時に何人でもアクセスでき、教材に最適。学生の教材費軽減に貢献
- ダウンロードしたファイルは持ち運び自由。課題図書、副読本、反転授業への利用に最適
- 研究費などで購入しやすい買い切り商品

カバーする分野:

生物医学、生命科学分野を網羅すべく、神経科学、ガン研究、薬学、分子医学、免疫学、細胞生物学、生化学、生物物理学、遺伝学、ゲノム学、微生物学、植物科学、畜産学、生態学、農学

Biomedical and Life Sciences コレクション: 発行年別収録タイトル数(2015年5月現在)

~2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015予定
7,833	251	341	336	333	403	355	427	483	567	546	590

(発行年ごとのパッケージでご提供)

詳しいタイトルリストはこちらから

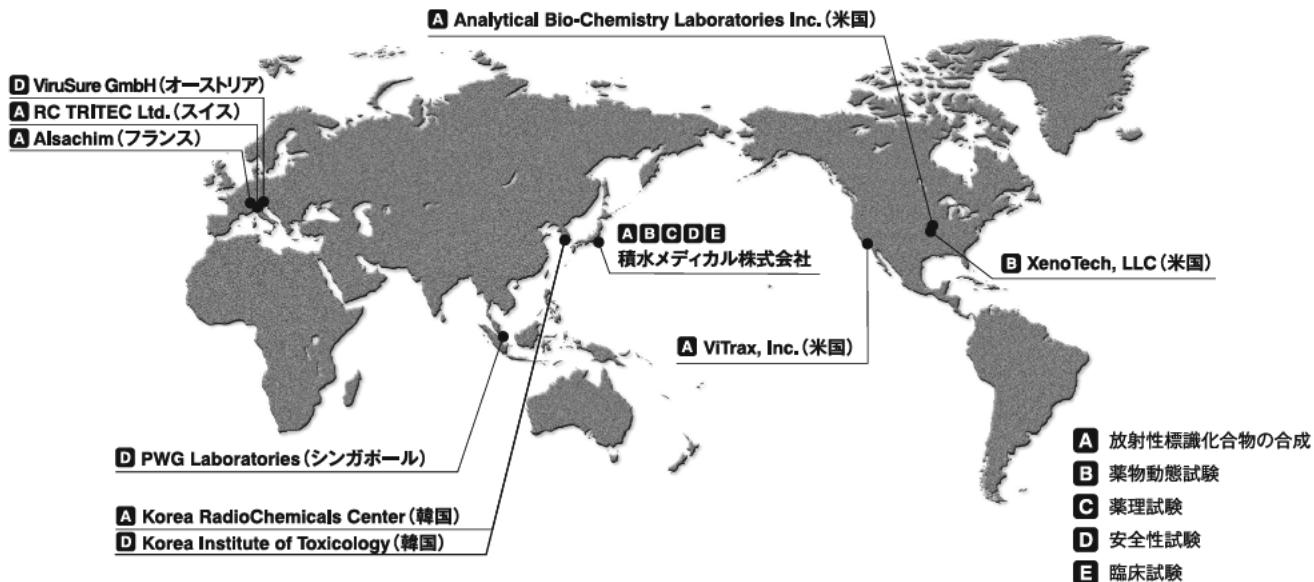
bit.ly/SpringerBiomedLifeScience



学生向けのレファレンス、
基礎資料に!
院生、専門家、研究者必携の
研究を支える資料に!

医薬品開発のための研究支援

世界に広がる積水メディカルのグローバルネットワーク



A 標識化合物の合成

- 放射性標識化合物

¹⁴C, ³H, ¹²⁵I 等の合成
¹⁴C標識原薬(治験薬)のcGMP製造

- 安定同位体標識化合物

C 薬理試験

- 効力を裏づける試験

Binding Assay, Functional Assay
Cell Base Assay, Enzyme Inhibition Assay

- 副次的薬理試験

Binding Assay, Functional Assay

E 臨床試験

- 臨床濃度測定

薬物濃度測定、バイオマーカー測定
抗薬物抗体測定(ADA)、中和活性測定

- ¹⁴C標識原薬(治験薬)を用いたヒト薬物動態試験

原薬(治験薬)製造
標識原薬及び非標識原薬を用いたマイクロドーズ臨床試験
マスバランス試験
代謝物プロファイリング
代謝物構造解析試験
Absolute Bioavailability試験

B 薬物動態試験

- in vivo 試験

吸收、分布、代謝、排泄試験
(マウス、ラット、イヌ、サル等)
代謝物プロファイリング
代謝物構造解析試験

- in vitro 試験

血漿タンパク結合、血球移行
CYP分子種の推定・阻害
ransporter試験
比較代謝試験、酵素誘導試験

D 安全性試験

- トキシコキネティクス試験

定量分析系の開発と検体測定

- 遺伝子発現解析試験

幅広いニーズに合わせた解析

- バイオマーカーの測定

免疫学的手法、遺伝子解析手法による
解析系の構築と検体測定

- 毒性試験

一般/特殊毒性試験
(マウス、ラット、イヌ、サル、ミニブタ等)

- ウィルス安全性試験

ウィルス安全性試験
ウィルスクリアランス試験
特定ウィルス試験

幸せは、名もない一日につまっています。
どんなさりげない一日にも、心を澄ませば
感じる幸せが、いっぱいつまっています。
小鳥の声でめざめる幸せ。洗いたてのシャツに
腕を通す幸せ。炊きたてのご飯を
噛みしめる幸せ。雲ひとつない青空を
仰ぎ見る幸せ。「行ってらっしゃい」と
家族に送り出される幸せ。誕生日や、
結婚記念日や、クリスマスも大切だけれど、
人生の大半を占める、そんなふつうの
一日一日がどれほど大切か。ライオンは、
そのことを誰よりも知っています。
なぜなら、そこにライオンがいるからです。
そこに、ライオンの仕事の場があるからです。
いつも人のそばにいて、めぐり来る
すべての一日の、人の清潔、人の健康、
人の快適、そして人の環境を守りつづけること。
それこそが、私たちライオンの変わることのない
使命であり、誇りでもある。そう考えています。
幸せは、毎日生まれる。
人のからだやくらしが求める、
希望に満ちた新しい未来を、日本ばかりでなく、
広く世界にも届けられることを大きな
よろこびとしたい、私たちライオンです。

今日を愛する。

LION

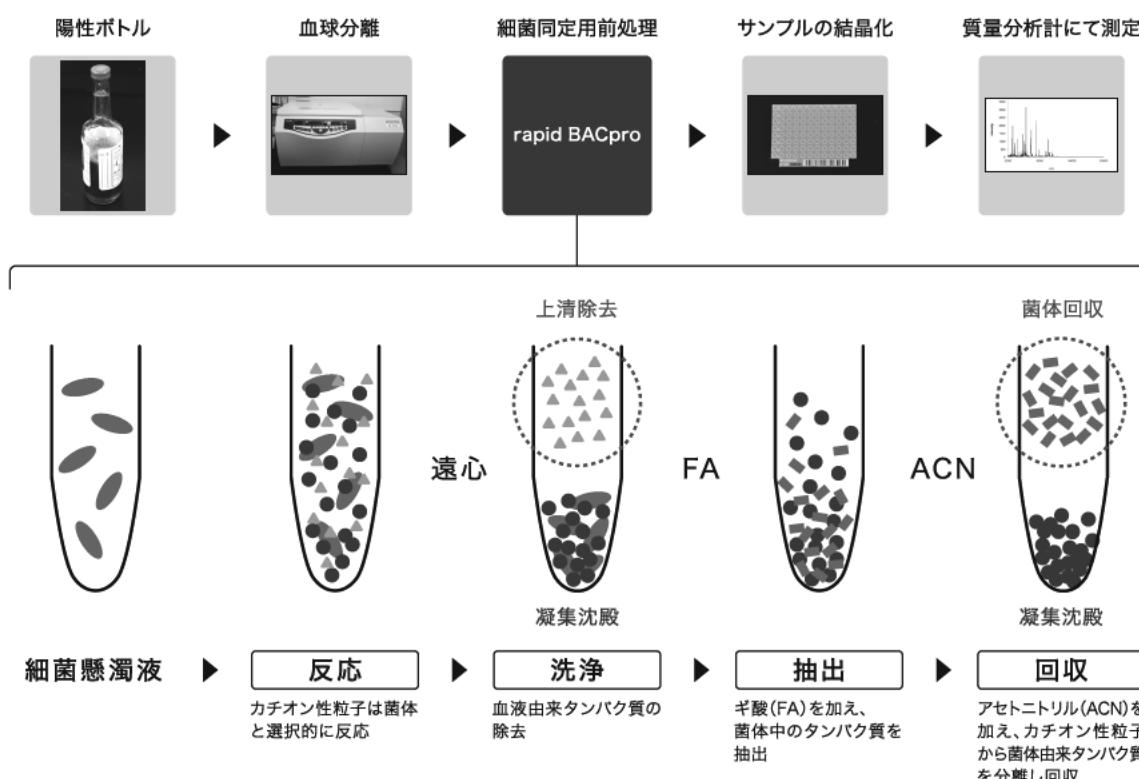


- LION web サイト <http://www.lion.co.jp>
- 今日を愛する。ツナガルサイト <http://kyouai.lion.co.jp>



rapid BACpro

本品は血液培養陽性ボトルから採血管による血球分離後の菌体を、質量分析計での測定用に分離・濃縮します。



特長

- ・卓上簡易遠心機を用いた簡便・迅速な操作が可能
- ・凝集物が見やすく、回収ロスを軽減
- ・作業効率を向上し、作業時間を短縮
- ・溶血Hbの影響を軽減

バイオサイエンスと医学の最先端総合誌

実験医学

バイオサイエンス・医学とともに
歩み続けて30余年

月刊

毎日1発行 B5判
定価(本体 2,000円+税)

増刊

年8回発行 B5判
定価(本体 5,400円+税)

定期購読のご案内

■月刊のみ(12冊/年) ⇒ 24,000円+税
■月刊+増刊(12冊+8冊/年) ⇒ 67,200円+税

学会
関連

- 注目テーマをより早く、より深くお届けします!
- 実験プロトコール、研究生活に役立つ内容の連載も充実
- 実験医学onlineでは今すぐ読めるコンテンツが更新中!

www.yodosha.co.jp/jikkenigaku/

月刊 トランスオミクス (2014年5月号)

黒田真也、中山敬一/企画

増刊 驚愕の代謝システム

末松 誠、杉浦悠毅/編



◎羊土社 好評書籍のご案内

あなたと私はどうして違う? 体質と遺伝子の サイエンス

99.9%同じ設計図から
個性や病気が生じる秘密

中尾光善/著

■定価(本体 1,800円+税) ■四六判
■222頁 ■ISBN 978-4-7581-2057-9

新刊



みなか先生といっしょに 統計学の王国を 歩いてみよう

情報の海と推論の山を越える
翼をアナタに!

三中信宏/著

■定価(本体 2,300円+税) ■A5判
■191頁 ■ISBN 978-4-7581-2058-6

新刊



膨大なデータを徹底整理する サイトカイン・ 増殖因子 キーワード事典

宮園浩平、秋山 徹,
宮島 篤、宮澤恵二/編

■定価(本体 7,200円+税) ■B5判
■422頁 ■ISBN 978-4-7581-2055-5

新刊



バイオ 画像解析 手とり足とりガイド

バイオイメージングデータを定量して
生命の形態や動態を理解する!

小林徹也、青木一洋/編

■定価(本体 5,000円+税) ■A4変型判
■221頁 ■ISBN 978-4-7581-0815-7



理系英会話アクティブラーニング1・2 [A5判]

Kyoto Ko, Simon Gillett/著,
近藤科江, 山口雄輝/監

テツヤ、
国際学会いってらっしゃい
■定価(本体 2,400円+税)

テツヤ、
ディスカッションしようか
■定価(本体 2,200円+税)

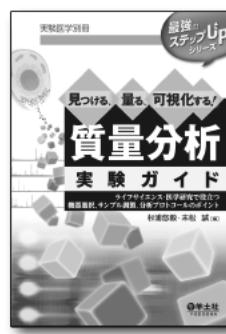


見つける、量る、可視化する! 質量分析 実験ガイド

ライフサイエンス・医学研究で役立つ
機器選択、サンプル調製、
分析プロトコールのポイント

杉浦悠毅、末松 誠/編

■定価(本体 5,700円+税) ■B5判
■239頁 ■ISBN 978-4-7581-0186-8



発行 羊土社
YODOSHA

〒101-0052 東京都千代田区神田小川町2-5-1 TEL 03(5282)1211 FAX 03(5282)1212

E-mail : eigyo@yodosha.co.jp

URL : <http://www.yodosha.co.jp/>

ご注文は最寄りの書店、または小社営業部まで

サンプル前処理には 振らない液液抽出 !!

液液抽出用珪藻土 **ISOLUTE SLE+**



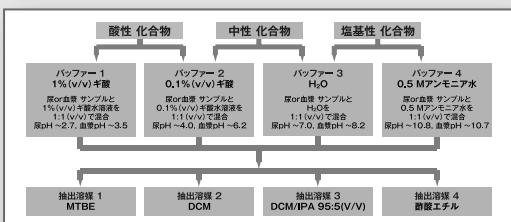
簡単 !!

・使い方が簡単



3ステップで簡単に抽出できます。

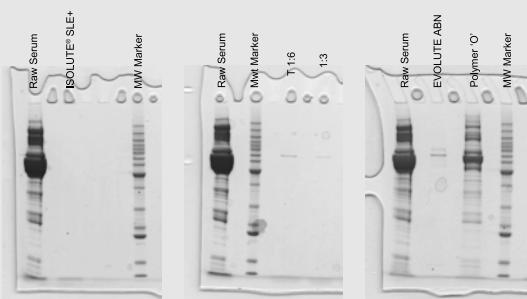
・メソッド開発が簡単



固相抽出より簡単にメソッド開発ができます。

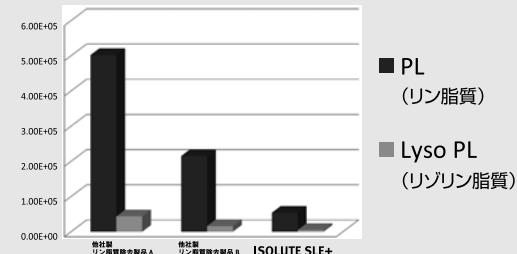
クリーン !!

・除タンパク



他方法より除タンパクがクリーンに行えます。

・リン脂質除去



他製品よりリン脂質除去もクリーンに行えます。

評価用のサンプル提供いたします！ぜひご依頼ください !!

バイオタージ・ジャパン株式会社

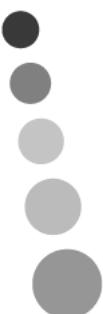
本社: 〒136-0071 東京都江東区亀戸1-14-4, 6F
TEL 03-5627-3123 FAX 03-5627-3121
URL: <http://www.biotage.co.jp/>
E-mail: Japan_info@biotage.com

世界においしいしあわせを



MARUHA NICHIRO

私たちは誠実を旨とし、本物・安心・健康な
『食』の提供を通じて、人々の豊かなくらしと
しあわせに貢献します。



マルハニチロ株式会社
<http://www.maruha-nichiro.co.jp>

HAMAMATSU

PHOTON IS OUR BUSINESS



「光」をとおし、未知未踏に挑む

人類がこれまで目にしたことのない世界。そこに分け入るツールとして
「光」への期待は高まるばかりです。

浜松ホトニクスは、光の本質に迫る研究とその産業応用に様々な視点から
取り組み、分野を問わず幅広い貢献をしていきます。

浜松ホトニクス株式会社

〒430-8587 浜松市中区砂山町325 番地の6 日本生命浜松駅前ビル
TEL 053-452-2141(代表) FAX 053-456-7889 www.hamamatsu.com

Focus on the Science

理科研グループは、研究用試薬・理化学機器の販売を通じて、生命科学に貢献する会社です

◎ 理科研株式会社

- 本 社 〒463-8528 名古屋市守山区元郷二丁目107番地
TEL: (052)798-6151代 Email: honsha@rikaken.co.jp
- 三 重 支 店 〒514-0103 三重県津市栗真中山町43番地1
TEL: (059)236-5511 Email: mie@rikaken.co.jp
- 岐 阜 営 業 所 〒500-8225 岐阜県岐阜市岩地二丁目25番2号
TEL: (058)240-0721 Email: gifu@rikaken.co.jp
- 東 京 支 社 〒113-0033 東京都文京区本郷三丁目44番2号
TEL: (03)3815-8951代 Email: tokyo@rikaken.co.jp
- 目 黒 支 店 〒153-0042 東京都目黒区青葉台三丁目12番6号
TEL: (03)3477-7251 Email: meguro@rikaken.co.jp
- 多 摂 営 業 所 〒187-0022 東京都小平市上水本町2丁目18番20号
TEL: (042)329-8651 Email: tamra@rikaken.co.jp
- つ く ば 支 店 〒305-0074 茨城県つくば市高野台3丁目16-2
TEL: (029)839-1251 Email: tsukuba@rikaken.co.jp
- 柏 営 業 所 〒277-0871 千葉県柏市若柴197番地17
TEL: (04)7135-6651 Email: kashiwa@rikaken.co.jp
- 千 葉 営 業 所 〒260-0842 千葉市中央区南町3丁目2番1号 青木ビル1階
TEL: (043)305-1751 Email: chiba@rikaken.co.jp

グループ会社一覧

並木薬品株式会社

■ 〒930-0834 富山県富山市問屋町三丁目1番33号 TEL(076)451-4545代

取扱品目：ライフサイエンス関連機器・試薬／分析機器・試薬／臨床検査薬・機器／RI 関連機器
輸入試薬・特殊試薬・特注試薬／各種研究用設備／動物飼育関連機器・飼料／DNA 合成受託

株式会社 片 岡

■ 〒920-1158 石川県金沢市朝霧台二丁目27番地 TEL(076)263-2011代

三井情報が自信をもってお薦めする 「国産」解析ソフトウェアのご紹介です。



ハイスループット脂質同定システム

LipidSearch

既知・未知の脂質を短時間で大量同定します。
医薬品、食品、環境分野で着目されています。

- 質量分析機器から出力される生データファイルを直接読み込み、
- ピーク抽出処理から脂質同定までをシームレスに実行します
- 脂質データベースは150万種以上の既知、未知の脂質構造を管理でき、カスタマイズも容易です
- 測定タイプに応じた高精度な脂質同定アルゴリズムを実装しています
- 定量機能により、複数サンプル間の定量値の変動を比較解析できます

・大手製薬系企業に導入多数
・国外からも多数引き合い
・ASMSでも大好評！

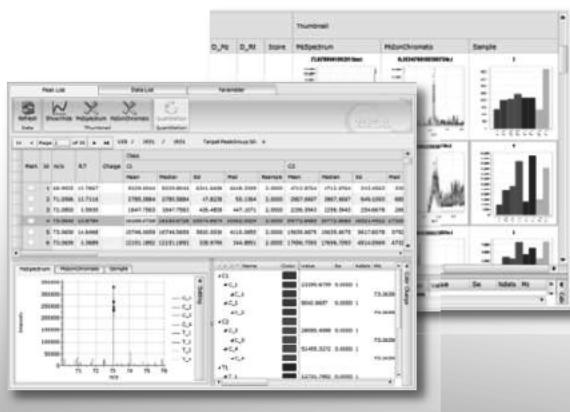


多検体サンプル解析&マーカー探索ソフト

2DICAL

LC-MSデータの多数サンプル間定量比較を簡単、迅速に実現します。
グラフィカルな出力結果はそのまま成果発表に使用できます。

ペプチド、低分子化合物の比較解析は
2DICALにお任せ！



- LC-MSの計測データを2DICALシステム上で一元的に管理できます
- 同位体標識不要で正確なピーク対応＆定量を実現します
- 多数検体に対して、ピーク検出、比較＆マーカー探索、物質同定を一括で行います
- 質量電荷比、保持時間とともに高い再現性を保証し、高精度の検体比較が可能です
- 多数検体の解析結果は数値とグラフの一覧で確認でき、詳細表示をスピーディに展開します

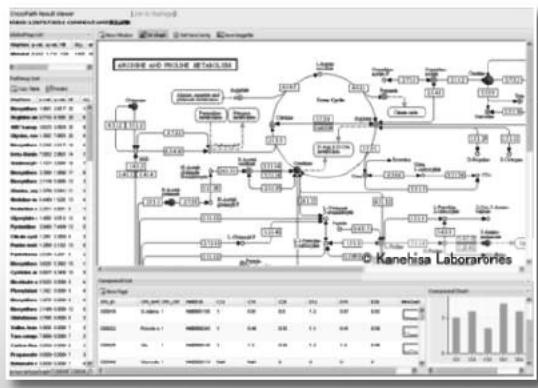
メタボロミクス研究のための代謝経路解析システム

CrossPath

代謝物の変動を代謝パスウェイ上で直感的に俯瞰できます。
メタボローム研究者の視点による優れた画面機能を備えています。

・簡単！軽い！速い！
・プレゼン資料に最適

- ・プロテオームでご利用になりたい場合はご相談ください。
- ・KEGG Pathway を利用する場合は、KEGG FTPライセンス（アカデミック/コマーシャル）が必要となります。
- ・詳細は下記までお問い合わせ下さい。



三井情報株式会社
MITSUI KNOWLEDGE INDUSTRY

IT基盤サービス事業本部 クラウドサービス部 バイオメディカル室

〒105-6215 東京都港区愛宕2-5-1 愛宕グリーンヒルズMORIタワー
TEL : 03-6376-1291 FAX : 03-3435-0522
E-Mail : bio-webinfo@ml.mki.co.jp URL : http://www.mki.co.jp/

※上記商品についての詳細はお問い合わせください

<http://www.mki.co.jp/biz/solution/bio/index.html>

- 記載の会社名、製品名は、それぞれ各社の商標および登録商標です。
- 本広告に記載の内容は予告なしに変更する場合があります。
- 本広告に掲載の記事、写真、図表の無断転載を禁じます。

研究開発支援企業として、 「産・学・官・医」を支えています。

株式会社カーグは、「創造と努力」「誠実と感謝」の企業理念のもと、試薬、分析機器、検査薬、工業薬品などの販売を通して社会に貢献しています。研究開発支援企業としてあらゆるニーズにお応えいたします。



株式会社 カーグ

〒460-0002 名古屋市中区丸の内 3-8-5 TEL.052-971-6533(代)

営業第一部 TEL.052-971-6771 営業第二部 TEL.052-971-6551

営業第三部 TEL.052-624-5821 愛知東営業所 TEL.0564-66-1580

浜松営業所 TEL.053-431-6801 岐阜営業所 TEL.058-268-8151

三重営業所 TEL.059-236-2531 東京営業所 TEL.03-3868-3951

<http://www.cahc.co.jp>

検索

第41回 日本医用マススペクトル学会年会のお知らせ

年会長：妹尾 洋（愛知医科大学法医学講座）

会期：平成28年9月15日（木）、16日（金）
(9月17日：医用質量分析認定士 第4回講習会開催予定)

場所：ウインクあいち

一般社団法人 日本医用マススペクトル学会 JSBMS Letters Vol.40 Supplement, 2015

第40回 日本医用マススペクトル学会年会 プログラム・抄録集

発行日：平成27年8月20日

編集者：第40回日本医用マススペクトル学会年会
(年会長)瀬藤光利

発行責任者：丹羽利充

編集委員会：(委員長)瀬藤光利／浅井清文／有田 誠／五十嵐一雄／伊藤哲哉／
妹尾 洋／谷口寿章／中西豊文

発行所：一般社団法人 日本医用マススペクトル学会事務局
〒491-0938 愛知県一宮市日光町6

修文大学 健康栄養学部内

E-mail : jsbms.office@gmail.com

ホームページ : <http://www.jsbms.jp/>

印刷所：オオゼキ写真印刷株式会社
〒433-8111 静岡県浜松市中区葵西2-5-20
TEL／053-436-1956 FAX／053-437-6095
