第 44 回
日本医用マススペクトル学会年会

会　期

2019 年 9 月 12 日 (木)・13 日 (金)

会　場

愛知県産業労働センター　ウインクあいち

愛知県名古屋市中村区名駅 4 丁目 4-38

年会長

浅井清文

名古屋市健康福祉局　医監

名古屋市立大学大学院医学研究科　分子神経生物学　教授

第 44 回日本医用マススペクトル学会年会　事務局

年会長

浅井清文

名古屋市健康福祉局　医監

名古屋市立大学大学院医学研究科　分子神経生物学　教授

事務局長

川口洋平

名古屋市立大学大学院医学研究科　分子神経生物学

プログラム委員

石井　晃　（名古屋大学）

伊藤哲哉　（藤田医科大学）

近藤文雄　（中部大学）

妹尾　洋　（愛知医科大学）

堤内　要　（中部大学）

前田康博　（藤田医科大学）

（五十音順、敬称略）

目 次

開催にあたって 1

会場のご案内 2

年会案内 4

座長・演者の方へ 6

ポスター発表の方へ 7

若手優秀ポスター賞について 9

日程表 10

プログラム 12

講演要旨

特別講演 29

特別セミナー 33

シンポジウム 37

一般演題（ポスター発表） 53

ランチョンセミナー 133

テクノロジーフォーラム 137

第７回「医用質量分析認定士講習会」並びに認定試験のご案内 146

学会賛助会員一覧 148

年会協賛企業一覧 149

展示企業一覧 150

企業広告

次回年会予告・奥付

第 44 回日本医用マススペクトル学会年会
開催にあたって

第 44 回日本医用マススペクトル学会年会長
浅井　清文

第 44 回日本医用マススペクトル学会年会を、2019 年 9 月 12 日（木）13 日（金）に名古屋にて開催させていただきます。多くの皆様に演題応募・参加登録をいただきましたことに感謝申し上げます。まだ、残暑が続く季節と思いますので、カジュアルな服装でご参加ください。

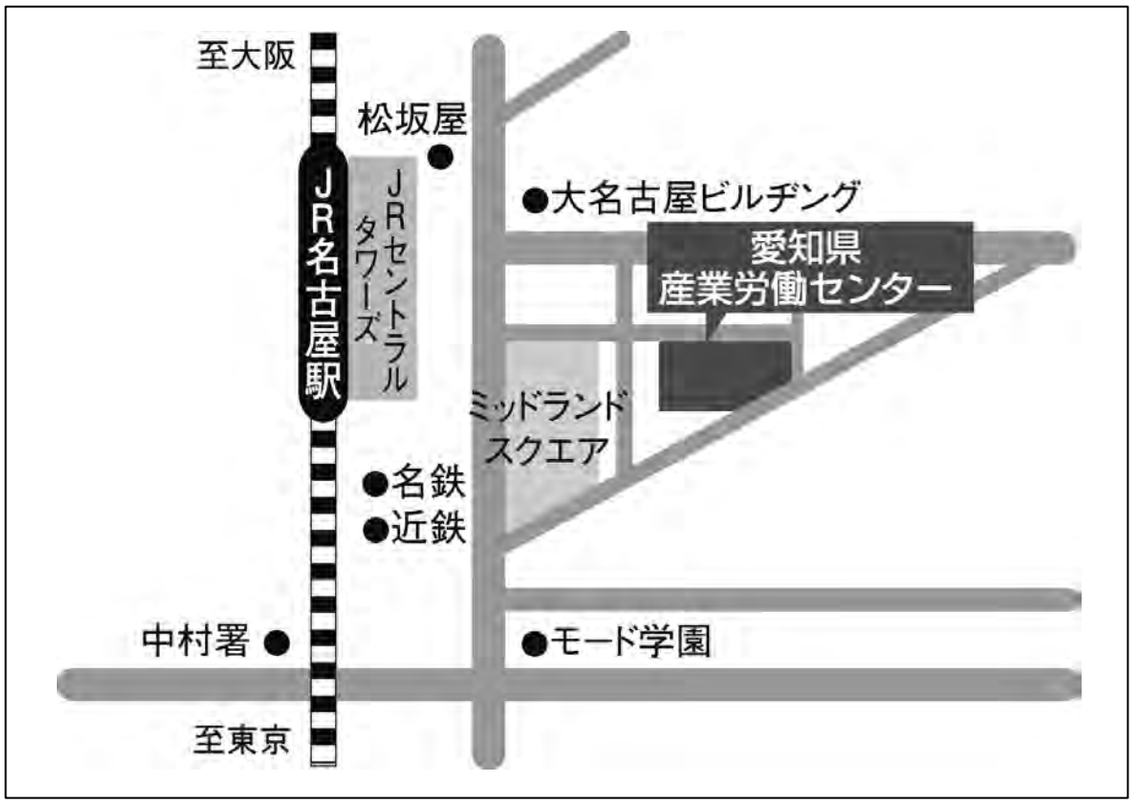
昨年の第 43 回年会初日の早朝に発生した胆振東部地震により被災された皆様に、改めてお見舞い申し上げますとともに、一日も早い完全復旧・復興を祈念しております。第 43 回年会では、地震による電源喪失の中、初日にはポスターセッション、2 日目は口頭発表等が行われ、当初予定されていた多くのプログラムが執り行われました。年会長の千葉仁志先生、事務局長の櫻井俊宏先生をはじめとした年会関係者の皆様の一方ならぬご尽力と年会参加者の熱意によるものと思います。今年も、その熱い気持ちを引き継ぐことが出来るような年会に出来ればと考えています。

本年会では、昨年ご講演がかなわなかった張新栄教授（清華大学）に特別講演をお願いいたしております。また、3 つのシンポジウム、ポスターセッション、選抜演題の口頭発表、テクノロジーフォーラムを企画いたしました。

また、医用質量分析認定士の講習会を、今回も 9 月 14 日（土）に開催します。2017 年 3 月には「質量分析装置」が医療機器として追加され、医用質量分析認定士の活躍の場が飛躍的に広がりつつあり、この認定士制度の重要性が益々高まって行くものと思います。多くの皆様の受講をお願い申し上げます。

最後になりますが、新元号の下、名古屋で新しい時代にむけた熱いディスカッションが繰り広げられることを期待しています。

会場のご案内



愛知県産業労働センター　ウインクあいち

〒450-0002　愛知県名古屋市中村区名駅４丁目 4-38
TEL：052-571-6131
FAX：052-571-6132

アクセス
（JR・地下鉄・名鉄・近鉄）名古屋駅より

- JR 名古屋駅桜通口から：ミッドランドスクエア方面　徒歩５分
- ユニモール地下街 ５番出口から：徒歩２分
- 名駅地下街サンロードから：ミッドランドスクエア、マルケイ観光ビル、名古屋クロスコートタワーを経由　徒歩８分
- JR 新幹線口から　徒歩９分

JR(東海道新幹線)をご利用の場合

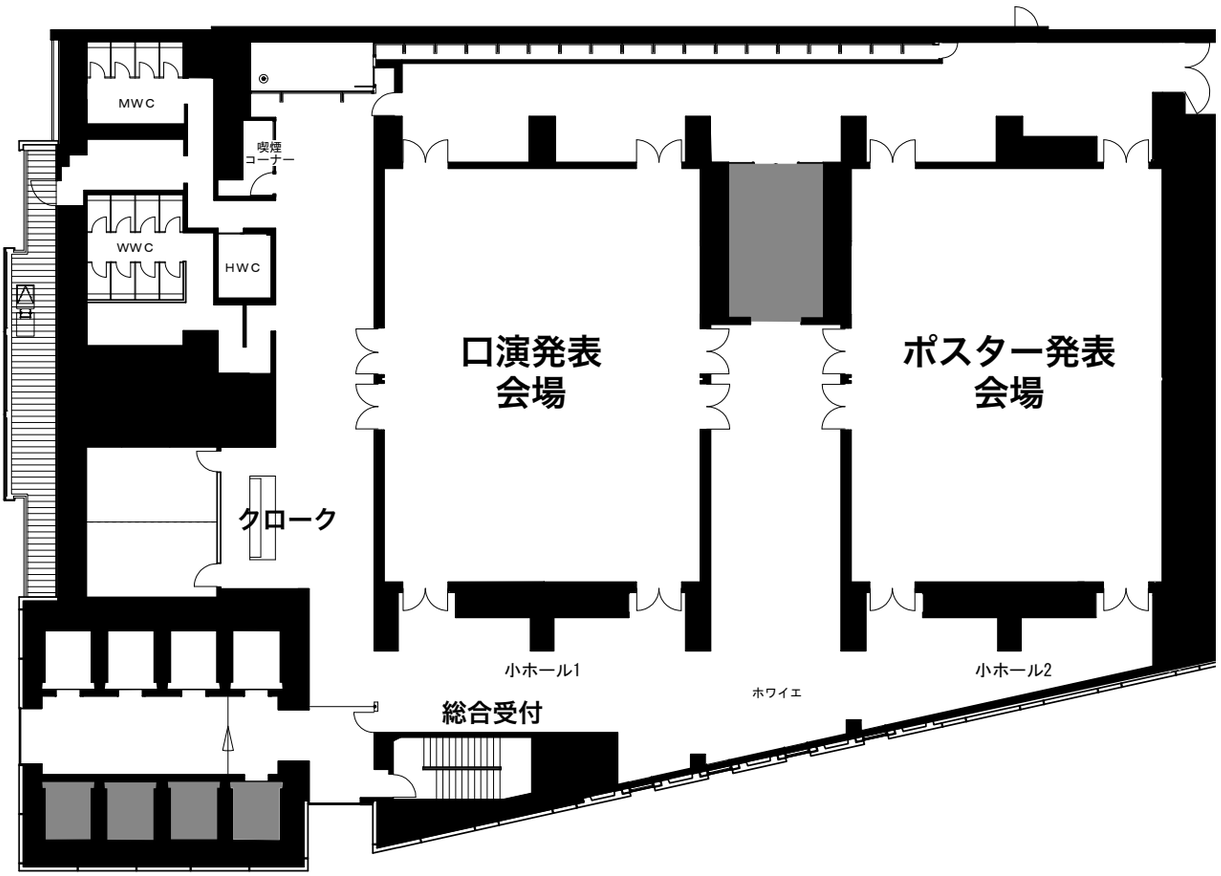
- 東京駅から：約 97 分
- 新大阪駅から：約 51 分

懇親会会場

- La Boca Centro（ボカチェントロ）
- 名古屋市中村区名駅 4-4-25 1F

会場案内図

ウインクあいち５階



年会案内

■会　期

令和元年９月 12 日（木）・13 日（金）
９月 14 日(土)に第７回日本医用マススペクトル学会医用質量分析認定士講習会を開催します。

■年会長

浅井清文（名古屋市健康福祉局　医監 / 名古屋市立大学大学院医学研究科　教授）

■会　場

年　会：愛知県産業労働センター　ウインクあいち　名古屋市中村区名駅４丁目 4-38
懇親会：La Boca Centro (ボカチェントロ)　名古屋市中村区名駅 4-4-25 1F
講習会：名古屋市立大学ミッドタウン名駅サテライト　JP タワー名古屋５階

■事前参加登録参加証　受け取り

事前参加登録された方は、受付にて参加証（領収証付き）をお受け取り下さい。
学生・大学院生は「学生証」をご提示下さい。

■当日参加登録

受付にて参加費・懇親会費（ご希望の方）をお支払いいただき、参加証をお受け取り下さい。参加証にはご自身でお名前と所属をご記入下さい。会期中は常にご着用ください。参加証を身につけていない場合は、スタッフがお声がけする場合がございます。

総合受付：ウインクあいち　５階 ホワイエ
受付時間：９月 12 日（木）9:00 ～
　　９月 13 日（金）8:40 ～

■年会参加費

	会 員				非 会 員			
	一 般		学 生		一 般		学 生	
	事 前	当 日	事 前	当 日	事 前	当 日	事 前	当 日
参加費	6,000 円	7,000 円	2,000 円	3,000 円	10,000 円	12,000 円	3,000 円	3,000 円
懇親会費	6,000 円	8,000 円	5,000 円	6,000 円	6,000 円	8,000 円	5,000 円	6,000 円

学生・大学院生は「学生証」をご提示下さい。
抄録集は会員の皆様には発送済みですが、購入をご希望の方は受付にてお買い求めください。
一冊 5,000 円で販売します。

■ランチョンセミナー

ランチョンセミナーは整理券制です。整理券は当日開催分のみの配布です。
整理券配布時間：９月 12 日（木）9:30 ～ なくなり次第終了
　　９月 13 日（金）8:45 ～ なくなり次第終了（若手対象のセミナーです）

■企業展示

小ホール２（ポスター会場）にて展示を行います。
展示時間：９月 12 日（木）9:00 ～ 13 日（金）14:10　なるべく２日間展示してください。

■懇親会

懇親会の参加を希望される方は、参加受付の際に懇親会費をお支払い下さい。多数のご参加をお待ちしております。
日時：9 月 12 日（木）18:30 ～ 20:30
場所：La Boca Centro（ボカチェントロ）　名古屋市中村区名駅 4-4-25 1F

■ドリンクコーナー

小ホール 2（ポスター会場）にドリンクコーナーを設けます。ご休憩などにご利用下さい。ドリンクは無くなり次第終了します。

■クローク

開設時間：9 月 12 日（木）9:00 ～ 18:15
　　9 月 13 日（金）8:40 ～ 16:30
生鮮品・貴重品はお預かりできません。
クローク終了時間までに必ず荷物をお引き取り下さい。オーバーナイトでのお預かりはお断りいたします。
クローク札を紛失された場合は、身分証明書などお名前・ご連絡先を証明できるものをご提示いただきます。その際に荷物の中身を確認させていただく場合もございますので、予めご了承下さい。

■ 撮影・録音

会場内での撮影・録音は禁止です。ポスターセッションも同様に撮影禁止です。無断の撮影・録音を見かけた場合、スタッフがお声がけする場合があります。
ただし、事務局の公式記録及び事務局が認めた取材等は除きます。記念撮影の場合も周りの事務局スタッフに念のため許可をお取りください。

■その他

会場には、Wi-Fi コーナーは設置されておりません。
おタバコは、所定の喫煙コーナーをご利用下さい。
会場内では携帯電話による通話はお控え下さい。マナーモードにするか、電源をお切り下さい。
会場内に託児スペースは用意しておりませんが、会場近くの託児所を案内しておりますので、年会事務局までお問い合わせ下さい。

座長・演者の方へ

【座長の皆様へ】

当日ご来場の際に、ウインクあいち５階総合受付内の「座長・演者受付」にて受付をお願いいたします。
担当のセッションの開始５分前までに会場前方の「次座長席」にお座りください。
講演時間・質疑時間を厳守し、セッションの時間内に終了するようにお願いいたします。なお会場内にはアナウンスがありませんので、時間になりましたらセッションを始めてください。

【演者の皆様へ（ポスター発表者を除く）】

当日ご来場の際に、ウインクあいち５階総合受付内の「座長・演者受付」にて受付をお願いいたします。
担当の講演の開始５分前までに会場前方の「次演者席」にお座りください。
講演時間・質疑時間を厳守し、持ち時間内に終了するようお願いいたします。

発表データ受付について

基本的にご自身の PC を使用しての発表となります。発表会場にご自身の PC を持参し、会場 PC 係にお声がけ下さい。

発表要領

- プロジェクターへの試写は発表会場の休憩時間に行ってください。受付での試写は行いません。試写は、混雑やトラブル回避のため会場内の PC 係に予めお声がけください。発表会場の休憩時間の確認は、抄録集または第 44 回日本医用マススペクトル学会年会ホームページ（http://conference.wdc-jp.com/jsbms/2019/）をご覧下さい。
- 外部出力端子は VGA（D-sub15pin）及び HDMI が使用できます。変換ケーブルが必要な機種（Macintosh 等）をご使用の場合は、変換ケーブルを必ずご持参ください。
- 発表中にスクリーンセーバーや省電力モードにならぬよう、事前に設定を済ませてください。個々の PC や OS により設定が異なります。
- 画像解像度は XGA（1024x768）を基本とし、一面投影となります。これより大きい場合、スライドの周囲が切れてしまうことがあります。音声の出力は出来ません。
- 各演台には電源コンセントを用意しております。PC 電源ケーブルは各自ご持参ください。バッテリーで発表される場合、電池切れや省電力モードにならぬようご注意ください。
- 万一のトラブルに備え、予備のデータを保存した USB フラッシュメモリを必ずご持参ください。ご自身で USB フラッシュメモリのウイルスチェックを事前にお済ませ願います。ご持参の PC が不調の場合に限り、会場で用意する PC で映写いたします。会場でも USB フラッシュメモリを用意します。必要時は会場 PC 係にお申し出ください。

会場で用意する PC

OS: Windows10、アプリケーション：Microsoft PowerPoint 2019

発表に使用できるデータ

- Microsoft PowerPoint 2007 以降で作成されたファイル。
- 上記以前のバージョンで作成されたものは表示に不具合が発生する可能性があります。
- 使用フォント
  日本語　MS ゴシック、MSP ゴシック、MS 明朝、MSP 明朝
  英　語　Times、Times New Roman、Arial
- 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。

利益相反状態開示のお願い

利益相反の有無に関わらず、筆頭演者及び講演者の皆様に、研究内容に関する利益相反状態開示を行っていただきます。すべての発表者に対して開示をお願いします。
ひな形は年会ホームページからダウンロードしてください。

ポスター発表の方へ

当日ご来場の際に、総合受付にて受付をお願いいたします。

発表要領

- 一般演題の発表は全てポスター発表となります。一般演題選抜に選ばれた方はポスター発表に加えて、口頭発表もございます。
- 発表は自由討論形式です。座長はいません。セッション開始時間にご自身のポスターの前に立ち、研究内容を説明したり、参加者からの質問に答えたり、討論を行ってください。
- 筆頭演者は本学会会員である必要があります。
- 筆頭演者が非会員の場合、発表当日までに入会手続きを完了してください。
- これまでに本学会会員であっても会費未納入者は筆頭演者としての発表資格がありませんので、早急に未納分と本年度の年会費を払い込みください。
- 共同演者および参加者は非会員も可能です。
- 第 44 回年会では「若手優秀ポスター賞」を用意しております。2019 年 4 月 1 日時点で年齢 35 歳以下の若手研究者が筆頭演者として応募される場合は、登録システムでの申込時に（若手優秀ポスター賞へのエントリーを）【希望する】を選択いただきました。この中から、厳正なる審査の上、受賞者を選定します。結果は 9 月 12 日（木）16:00 頃に総合受付付近の掲示板で通知します（予定）。授賞式は懇親会内で執り行います。

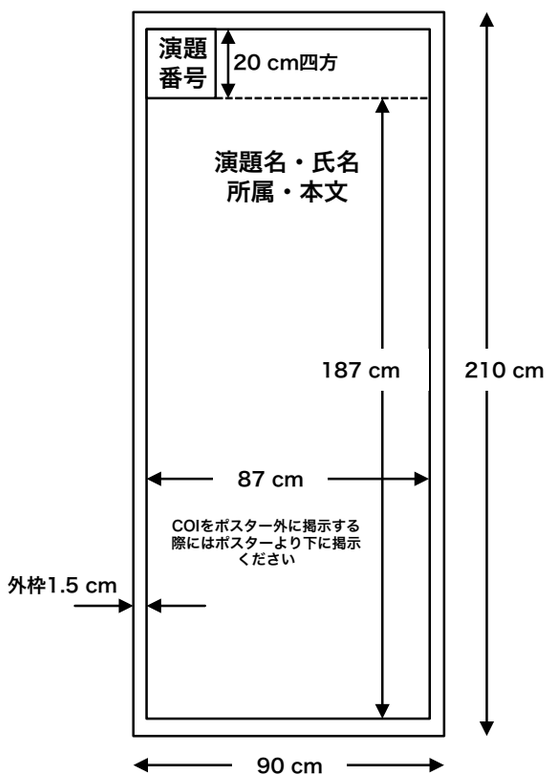
ポスターの作成要領

- ポスターパネル内に収まるようなサイズでポスターを作成ください（詳細は次頁参照）。
- 抄録と同様に、演題名・著者・所属は日本語と英語を併記ください。
- 図表のタイトル、図表内の文字、図表の解説文は全て英語で記載ください。
- その他の文章は日本語あるいは英語で記載ください。
- ポスター内あるいはポスター外に必ず利益相反の開示をお願いします（詳細は次頁）。
- 演者不在時にも閲覧者にわかりやすいよう、構成、表現、色、画質、文字サイズを工夫してください。

利益相反状態開示のお願い

利益相反の有無に関わらず、筆頭演者及び講演者の皆様に、研究内容に関する利益相反状態の開示を行っていただきます。すべての発表者に対して開示をお願いします。ポスター本文内あるいは別紙を用意し、ポスター欄外（ポスター下側）に貼って明示ください。

ポスターの貼付けと撤去　（会期中２日間とも展示をお願いします）



貼付け時間：9 月 12 日（木）9:00 ～
セッション 1：9 月 12 日（木）13:30 ～ 14:30
（演題番号が奇数の方）
セッション 2：9 月 13 日（金）13:10 ～ 14:10
（演題番号が偶数の方）
撤去時間　：9 月 13 日（金）14:10 ～

ポスターパネルのサイズは幅 90cm、高さ 210cm です。
パネル左上に縦 20cm×横 20cm の演題番号がつきます。
ご自身の演題番号を確認し、パネルにポスターを貼ってください。
貼付けに必要なピンは事務局で用意します。
撤去時間を過ぎても残っているポスターは事務局で撤去いたします。

年会へのお問い合わせ先

年会事務局

第 44 回日本医用マススペクトル学会年会事務局
〒467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1
名古屋市立大学大学院医学研究科分子神経生物学分野
Phone: 052-853-8200
FAX: 052-842-3316
E-mail: jsbms44@med.nagoya-cu.ac.jp

年会ホームページ

http://conference.wdc-jp.com/jsbms/2019/

後援

第 24 回日本医学会総会記念医学振興基金

若手優秀ポスター賞について

年会では、優れたポスター発表を行った若手研究者（35 歳以下）に対して「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に応募された方のポスター番号に、年会事務局が目印のリボンを付けます。
- 全ての評議員が審査員を務めます。
- 9 月 12 日（木）のポスター発表終了後、審査員の投票によって審査が行われます。総合受付にて投票用紙を配布しますので、評議員は取りに来てください。
- 総合受付と 9 月 12 日（木）14:40 から行われる会員集会の会場（小ホール 1）入り口付近に投票箱を設置します。評議員は当日 15:10 迄に必ず投票をお願いします。
- ポスター賞受賞者（3 名を予定）が決まり次第、総合受付付近に掲示します（当日 16:00 頃予定）。
- 9 月 12 日（木）の懇親会会場にて表彰式を行います。

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
- 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
- 図表の説明（英語）が理解できるか
- 情報が過多でないか
- 用語が正しく使用されているか
- 発表者の説明が簡明でかつわかりやすく、説明時間が適当か
- 質問に対する回答が簡明かつ的確であるか
- その他、体裁が規定を逸脱していないか

日 程 表

1日目　9月12日（木）

	小ホール1	小ホール2	学会行事 ウインクあいち 903
9:00 -	9:00 受付開始	9:00 -	
	9:45 開会の辞		
10:00 -	9:50 - 11:50		
11:00 -	一般演題（選抜）	ポスター展示	
12:00 -	12:00 - 13:00 ランチョンセミナー 株式会社島津製作所		
13:00 -			13:00 - 13:40 社員総会
		13:30 - 14:30 ポスターセッション１ 奇数番号	13:40 - 14:10 新理事会
14:00 -			
	14:40 - 15:10 会員集会		
15:00 -	15:10 - 17:10		
16:00 -	シンポジウム1 マルチオミクス/トランスオミクスー自動化への取り組みと今後	ポスター展示	
17:00 -	17:10 - 18:10		
18:00 -	特別講演 張新栄　教授		

18:30 - 20:30
懇親会　La Boca Centro

2日目　9月13日（金）

	小ホール1	小ホール2
9:00 -	8:40 受付開始 9:00 - 11:00 シンポジウム2 アンビエントイオン化 質量分析による 生体分析の最先端	9:00 - ポスター展示
10:00 -		
11:00 -	11:10 - 12:00 テクノロジーフォーラム	
12:00 -	12:00 - 13:00 特別セミナー 医用質量分析入門	
13:00 -		13:10 - 14:10 ポスターセッション2 偶数番号
14:00 -	14:20 - 16:20 シンポジウム3 誘導体化反応を利用する LC-MSメタボロミクスの 最前線	
15:00 -		
16:00 -	16:20 閉会の辞	

プログラム

1日目　9月12日（木）

口演会場　小ホール1

9:45 – 9:50　**開会の辞**

9:50 – 11:50　**一般演題　選抜**

オーガナイザー・座長：**伊藤哲哉**（藤田医科大学），**堤内　要**（中部大学）

選抜–1
(P-6)

Dihydropyrimidine dehydrogenase 活性とピリミジン系抗がん剤 5-fluorouracil による副作用発現の関連

前田 康博[1,2]，中島 葉子[3]，三宅 玲香[2]，堀田 祐志[2]，片岡 智哉[4]，木村 和哲[2,4]，伊藤 哲哉[3]
[1]藤田医大・共同利用研究設備サポートセンター，[2]名市大院・薬，[3]藤田医大・小児科，[4]名市大院・医

選抜–2
(P-8)

自動前処理装置「ATLAS-LEXT」を用いたヒト血清からの高等植物由来毒性成分スクリーニング法の構築

谷口 賢[1,2]，石丸 麗子[3]，地中 啓[3]，三木 昭宏[4]，片木 宗弘[4]，土橋 均[2]，石井 晃[2]，宮崎 仁志[1]，財津 桂[2]
[1]名古屋市衛生研究所，[2]名古屋大学大学院医学系研究科 法医生命倫理学，[3]石川県警科捜研，[4]大阪府警科捜研

選抜–3
(P-15)

LC-MS/MS によるステロイドプロファイル測定に関する基礎的検討

近藤 善紀[1,3]，涌井 昌俊[1]，本間 桂子[2]，中川 央充[2]，村田 満[1]
[1]慶大・医，[2]慶大病院・検査科，[3]シノテスト

選抜–4
(P-26)

脂肪酸酸化異常症患者末梢単核細胞を用いた代謝トレーサー研究

重松 陽介[1,2]，湯浅 光織[1]
[1]福井大学医学部小児科，[2]宇治徳洲会病院小児科

選抜–5
(P-59)

***in vivo* マイクロダイアリシス法と PESI/MS/MS を用いたマウス脳内神経伝達物質分析法の構築**

川上 大輔[1,2]，土屋 弥月[1]，村田 匡[2]，財津 桂[1,3]
[1]名古屋大学大学院医学系研究科 法医生命倫理学，[2]株式会社　島津製作所，[3]名古屋大学 高等研究院

選抜–6
(P-68)

MALDI-MSI 分析における導電性粘着フィルムで作製した生体組織切片の有用性について

三枝 大輔[1]，齋藤 律水[1]，川本 孔明[2]，宇留野 晃[1]，可野 邦行[3]，青木 淳賢[3]，山本 雅之[1]，川本 忠文[2]
[1]東北大学東北メディカル・メガバンク機構/大学院医学系研究科，[2]鶴見大学歯学部，[3]東北大学大学院薬学研究科

選抜–7 (P-72)

マトリックスフリーイオン化基板 DIUTHAME の測定プロトコルの検討

大村 孝幸 [1], 小谷 政弘 [1], 田代 晃 [1], 内藤 康秀 [2]
[1] 浜松ホトニクス株式会社, [2] 光産業創成大学院大学

選抜–8 (P-73)

レーザー脱離イオン化イメージング質量分析における DIUTHAME-IMS / FT-ICR の新しい組み合わせにより、高い質量精度と分解能が維持されます。

Md. Mahmudul Hasan[1], Md. Al Mamun[1], Yasuhide Naito[3], Masahiro Kotani[4], Takayuki Ohmura[4], Shumpei Sato[1], Ariful Islam[1], A S M Waliullah[1], Mitsutoshi Setou [1, 2, 5]
[1] 浜松医科大学, [2] 浜松医科大学国際マスイメージングセンター, [3] 光産業創成大学院, [4] 浜松ホトニクス K.K, [5] 最先端の医療用フォトニクス教育研究センターシステム分子解剖学

12:00 – 13:00 ランチョンセミナー 共催：株式会社 島津製作所

LS1

質量分析計を用いた免疫抑制剤の血中濃度測定
～LC-MS/MS 用免疫抑制剤分析キット「DOSIMMUNE（ﾄﾞｽﾞｨﾐｭｰﾝ）」のご紹介～

川上 大輔
株式会社 島津製作所

13:00 – 13:40 社員総会（ウインクあいち 903）
13:30 – 14:30 ポスターセッション 1 奇数番号（小ホール２）
13:40 – 14:10 新理事会（ウインクあいち 903）

14:40 – 15:10 会員集会

15:10 – 17:10　シンポジウム 1

マルチオミクス／トランスオミクス－自動化の取り組みと今後

オーガナイザー・座長：**飯田 順子**（島津製作所），**柚木 克之**（理化学研究所）

S1–1　シンポジウム企画の意図

飯田 順子 [1,2]
[1]（株）島津製作所分析計測事業部　ライフサイエンス事業統括部, [2] 大阪大学大学院工学研究科分析イノベーション共同研究講座

S1–2　多階層オミクスデータ解析の自動化に向けて

柚木 克之 [1,2,3]
[1]理化学研究所生命医科学研究センター, [2]慶應義塾大学先端生命科学研究所, [3]東京大学大学院理学系研究科

S1–3　メタボロームはなぜこれほど再現性がないのか?

杉本 昌弘 [1,2,3]
[1] 東京医科大学低侵襲医療開発総合センター, [2] 慶應義塾大学先端生命科学研究所, [3] 筑波大学プレシジョン・メディスン開発研究センター

S1–4　クロマトグラムデータセットからのロバストなピーク検出

植松 真章 [1,2]，北 芳博 [1,3]，清水 孝雄 [1,2,4]
[1] 東京大学大学院医学系研究科リピドミクス社会連携講座, [2] 国立国際医療研究センター研究所脂質シグナリングプロジェクト, [3]東京大学大学院医学系研究科ライフサイエンス研究機器支援室, [4]微生物科学研究所

S1–5　前処理、測定、データ自動可視化を含むパッケージ化

飯田 順子 [1,2]
[1]（株）島津製作所分析計測事業部　ライフサイエンス事業統括部, [2] 大阪大学大学院工学研究科分析イノベーション共同研究講座

S1–6　漢方システムバイオロジーの構築：漢方薬の成分代謝・生体作用の統合解析に向けて

西 明紀 [1]，大渕 勝也 [1]，串田 浩孝 [1]，下堀 知香 [1]，松本 隆志 [1]，山本 雅浩 [1]，
黒木 春郎 [2]，鍋島 茂樹 [3]，谷内江 綾子 [4]，松岡 由希子 [4]，北野 宏明 [4]
[1]東北大学東北メディカル・メガバンク機構/大学院医学系研究科, [2]鶴見大学歯学部, [3]東北大学大学院薬学研究科

17:10 – 18:10　特別講演

後援：第 24 回日本医学会総会記念医学振興基金

座長：**惠 淑萍**（北海道大学）

Method Development for Single-Cell Metabolic Analysis

Prof. Xinrong Zhang　（張　新栄　教授）
Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China

2日目　9月13日（金）

口演会場　小ホール1

9:00 – 11:00　**シンポジウム 2**

アンビエントイオン化質量分析による生体分析の最先端

オーガナイザー・座長：**財津 桂**（名古屋大学），**関本 奏子**（横浜市立大学）

S2–1　**シンポジウム企画の意図**

財津 桂[1, 2]、関本 奏子[3]

[1] 名古屋大学高等研究院，[2] 名古屋大学大学院医学系研究科，
[3] 横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科

S2–2　**皮膚成分の秒速 MS プロファイリング法の開発と応用**

本山 晃、木原 圭史

資生堂グローバルイノベーションセンター

S2–3　**LDTD 法を用いた血中脂溶性ビタミンの高速一斉分析系構築**

小倉 泰郎、Mikael Levi

島津製作所

S2–4　**iKnife サンプリング機能搭載 REIMS 研究システムによる分子プロファイリング**

寺崎　真樹

日本ウォーターズ株式会社

S2–5　**Probe electrospray ionization/tandem mass spectrometry (PESI/MS/MS) を用いた intact metabolome analysis および in vivo リアルタイム分析法の構築**

財津 桂[1, 2]、林 由美[1,2]、村田 匡[3]

[1] 名古屋大学 高等研究院 in vivo リアルタイム・オミクス研究室，[2] 名古屋大学大学院医学医系研究科，
[3] 島津製作所

11:10 – 12:00　テクノロジーフォーラム

オーガナイザー・座長：**近藤 文雄**（中部大学），**前田 康博**（藤田医科大学）

TF-1　**臨床検体のハイスループットプロテオミクスを可能にするナノ HPLC EVOSEP ONE、及び、臨床検体をダイレクトに MS 解析できる新規高感度大気圧イオン源「SICRIT」のご紹介**
板東 泰彦
エーエムアール株式会社

TF-2　**臨床検査における質量分析装置の役割**
須賀 香屋子
サイエックス　アプリケーション

TF-3　**分析の信頼性確保に不可欠な認証標準物質**
松島 江里香
シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社

TF-4　**島津製作所 分析装置新技術のご紹介**
渡辺 淳
株式会社　島津製作所

TF-5　**安定同位体標識試薬のご紹介**
大陽日酸株式会社

TF-6　**臨床研究分野におけるウォーターズの最新質量分析技術**
寺崎 真樹
日本ウォーターズ株式会社

TF-7　**自動サンプル前処理システム Biotage® Extrahera GLP ソフトウェアのご紹介**
岡部 芙美子
バイオタージ・ジャパン株式会社

12:00 – 13:00　特別セミナー　（ランチョン）

後援：第 24 回日本医学会総会記念医学振興基金

医用質量分析入門
—医用質量分析認定士取得を目指してー

講師　中西豊文（大阪医科大学）

13:10 – 14:10　ポスターセッション２　偶数番号（小ホール２）

14:20 – 16:20　シンポジウム３

アンビエントイオン化質量分析による生体分析の最先端

オーガナイザー・座長：**井之上 浩一**（立命館大学），**水野　初**（静岡県立大学）

S3-1　**イミダゾール生成反応に基づく脂質過酸化アルデヒドの誘導体化 LC-MS/MS 定量法の開発**

岸川直哉[1]，Mahmoud Hamed El-Maghrabey[1,2]，黒田直敬[1]
[1]長崎大学大学院医歯薬学総合研究科，[2]マンスーラ大学

S3-2　**誘導体化 LC-MS/MS を用いたディープラーニング搭載ワイドターゲットメタボロミクスの展開**

六車 宜央[1]，赤津 裕康[2]，井之上 浩一[1]
[1]立命館大学大学院，[2]名古屋市立大学医

S3-3　**誘導体化と質量分析による高感度異性体分離分析法の開発**

水野　初，杉山栄二，豊岡利正，轟木堅一郎
静岡県立大学　薬学部

S3-4　**誘導体化 LC-MS 法による低分子代謝物分析の現在**

高山 卓大[1]，柳 浩由紀[1]，水野 初[2]，豊岡 利正[2]，井之上 浩一[3]，赤津 裕康[4]，轟木 堅一郎[2]
[1]小野薬品工業，[2]静岡県大薬，[3]立命館大薬，[4]名市大医

16:20　閉会の辞

ポスター会場　小ホール２

ポスター展示期間　９月 12 日（木）9:00 – 13 日（金）14:10

ポスターセッション１　奇数番号　９月 12 日（木）13:30 – 14:30
ポスターセッション２　偶数番号　９月 13 日（金）13:10 – 14:10

P-1　採血後血液処理が血中代謝物レベルに与える影響

西海 信[1], 小林 隆[1], 吉田 優[1,2,3]
[1]神戸大学医学研究科内科学講座消化器内科学分野, [2]神戸大学医学研究科内科系講座病因病態解析学分野, [3]AMED-CREST

P-2　ヒト CYP 分子種によるカチノン系化合物の代謝プロファイル解析

山下 琢矢, 亀井 捷, 松本 周, 安木 彗玲菜, 湯淺 聖望, 初島 智弘, 糟谷 史代
神戸学院大学薬学部

P-3　Dried blood spot を用いた 6β-hydroxycortisol/cortisol 比による CYP3A 活性評価法の確立

平野 良平, 古田 隆, 横川 彰朋, 柴崎 浩美, 降幡 知巳
東京薬科大学薬学部個別化薬物治療学教室

P-4　ヒト肝細胞による合成カンナビノイド BB-22 の代謝

南方 かよ子[1], 鈴木 雅子[2], 北本 卓也[2], 野澤 秀樹[1], 山岸 格[1], 長谷川 弘太郎[1], 鈴木 修[1], 渡部 加奈子[1]
[1]浜松医科大学法医学, [2]浜松医科大学 先進機器共用推進部

P-5　イミプラミンおよびデシプラミンの化学修飾

林 英樹[1], 小川 匡之[2], 妹尾 洋[2], 石垣 友三[1], 小田 三都郎[1]
[1]名市工研, [2]愛知医大・医

P-6　Dihydropyrimidine dehydrogenase 活性とピリミジン系抗がん剤 5-fluorouracil による副作用発現の関連

前田 康博[1,2], 中島 葉子[3], 三宅 玲香[2], 堀田 祐志[2], 片岡 智哉[4], 木村 和哲[2,4], 伊藤 哲哉[3]
[1]藤田医大・共同利用研究設備サポートセンター, [2]名市大院・薬, [3]藤田医大・小児科, [4]名市大院・医

P-7　LC-MS/MS を用いた全血中糖尿病治療薬の同時定量法

鈴木 隆佳[1,2], 小川 匡之[1,2], 上山 純[3], 岩井 雅枝[1,2], 近藤 文雄[1,4], 妹尾 洋[1,2]
[1]愛知医大・医・法医学, [2]愛知医大・薬毒物分析センター, [3]名古屋大学・院・医・病態解析学, [4]中部大・生命健康科学・生命医化学

P-8 自動前処理装置「ATLAS-LEXT」を用いたヒト血清からの高等植物由来毒性成分スクリーニング法の構築

谷口 賢[1,2], 石丸 麗子[3], 地中 啓[3], 三木 昭宏[4], 片木 宗弘[4], 土橋 均[2], 石井 晃[2], 宮崎 仁志[1], 財津 桂[2]
[1]名古屋市衛生研究所, [2]名古屋大学大学院医学系研究科 法医生命倫理学, [3]石川県警科捜研,
[4]大阪府警科捜研

P-9 LC-MS/MS を用いたヒト血清中リコリンおよびガランタミンの定量分析法

佐々木 千寿子[1], 吉村 久仁子[2], 稲垣 泰斗[2], 村上 千香子[1], 入江 渉[1], 寺田 賢[3], 篠塚 達雄[3], 浅利 靖[2], 佐藤 文子[1]
[1]北里大学医学部法医学, [2]北里大学医学部救命救急医学, [3]横浜薬科大学病態生理学

P-10 フッ化水素酸による急性中毒死剖検例の分析

前橋 恭子, 児玉 早, 坂本 圭菜, 室伏 美希, 岸 くみ子, 岩楯 公晴
慈恵医大・法医

P-11 尿中薬物スクリーニングテストでコカインが陽性になった 1 症例

三上 昌章, 清宮 朋子, 嶋村 文彦
千葉県救急医療センター　検査部検査科

P-12 LC-MS/MS による血清コルチゾル・テストステロン・アンドロステンジオン・デヒドロエピアンドロステロンサルフェート（DHEA-S）の同時定量

風見 隆浩[1], 佐藤 守[2], 吉田 俊彦[1], 西村 基[1], 松下 一之[1], 野村 文夫[2]
[1]千葉大学　医学部附属病院　検査部, [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-13 臨床検査試料としての爪の有用性評価: 性差、年齢及び指ごとの爪中テストステロン含量差の解析

小川 祥二郎, 板垣 美咲, 麻生 早希, 東 達也
東京理大・薬

P-14 MALDI-TOF/MS によるステロール化合物の簡易分析法の基礎的検討

五十嵐 一雄[1,2], 中西 豊文[3], 巽 信二[2]
[1]一般社団法人医薬分析協会, [2]近畿大学医学部, [3]大阪医科大学研究支援センター

P-15 LC-MS/MS によるステロイドプロファイル測定に関する基礎的検討

近藤 善紀[1,3], 涌井 昌俊[1], 本間 桂子[2], 中川 央充[2], 村田 満[1]
[1]慶大・医, [2]慶大病院・検査科, [3]シノテスト

P-16 MALDI Biotyper を用いた血液培養陽性ボトル培養液からの直接菌種同定の有益性

里吉 和也[1], 下口 和雄[1], 荒木 秀夫[1], 佐藤 晃[2], 青木 信子[2], 西山 宏幸[2], 中山 智祥[1,2,3]
[1]日本大学病院 臨床検査部, [2]日本大学医学部附属板橋病院 臨床検査部, [3]日本大学医学部病態病理学系臨床検査医学分野

P-17 塩化アンモニウム溶血剤とメンブレンフィルター を用いた MALDI-TOF MS による血液培養ボトルからの細菌迅速同定前処理法の開発

土田 祥央[1], 村田 正太[2], 宮部 安規子[2], 佐藤 守[1], 滝脇 正貴[1], 松下 一之[2,3],
野村 文夫[1,3]
[1]千葉大学医学部附属病院 MS 検査診断学, [2]千葉大学医学部附属病院検査部, [3]千葉大学医学部附属病院遺伝子診療部

P-18 MALDI-TOF MS 法による感染症起因菌迅速同定に関する最近 1 年間の成果

柴田 有理子[1]、舌 智香子[1]、中野 雅巳[1]、野尻 敬子[1]、南 健太[1]、大西 舞[1]、
中西 豊文[2]
[1]中央検査部 大阪医科大学病院、[2]研究支援センター 大阪医科大学

P-19 新生児マススクリーニング対象の有機酸代謝異常症の鑑別を目的とした LC-MS による有機酸分析法の検討

植柳 泰, 門司 宜久, 松本 信也, 瀬戸山 大樹, 堀田 多恵子, 康 東天
九州大学病院 検査部

P-20 GCMS 分析による尿中 2-hydroxyglutarate 上昇の病態検討

張 春花[1], 金 明姫[1], 阮 宗海[1], 王 旭陽[1], 宋 傑[1], 大阪 康宏[2], 笹川 寿之[2]
[1]ミルスインターナショナル研究開発部, [2]金沢医科大学産科婦人科学講座

P-21 尿代謝プロフィル解析で発見した中国人メバロン酸血症 1 例

金 明姫, 張 春花
ミルスインターナショナル研究開発部

P-22 GC/MS 分析による α－ケトアジピン酸尿症と α－アミノアジピン酸尿症の尿代謝プロファル特徴検討

阮 宗海, 張 春花, 王 旭陽, 金 明姫, 唐 剣慈, 万 婷婷, 宋 傑, 王 恬
ミルスインターナショナル

P-23 乾燥濾紙血と LC-MS/MS を利用したレッシュ・ナイハン症候群における HPRT 活性測定法の確立

三宅 玲香[1], 前田 康博[2,3], 中島 葉子[4], 伊藤 哲哉[4], 堀田 祐志[3], 片岡 智哉[5],
木村 和哲[1,3,5]
[1]名市大・薬, [2]藤田医大・共同利用研究設備サポートセンター, [3]名市大院・薬, [4]藤田医大・小児科, [5]名市大院・医

P-24 LC-MS/MS を用いたライソゾーム病原因酵素の同時測定法の検討

真嶋 隆一, 大平 麻里, 奥山 虎之
国立成育医療研究センター

P-25 グローバルメタボロミクスによるニーマンピック病 C 型患者血液に特徴的なピーク探索

前川 正充[1,2], 岩堀 杏南[2], 金光 祥臣[1], 三枝 大輔[1,3], 山口 浩明[1,2,4], 眞野 成康[1,2]
[1]東北大病・薬, [2]東北大・薬, [3]東北大・東北メディカルメガバンク, [4]山形大病・薬

P-26 脂肪酸酸化異常症患者末梢単核細胞を用いた代謝トレーサー研究

重松 陽介[1,2], 湯浅 光織[1]
[1]福井大学医学部小児科, [2]宇治徳洲会病院小児科

P-27 安定同位体培養法を用いた Escherichia coli 由来 ^{13}C 置換一次代謝物の作製

別府 滉大[1], 岡林 瑞希[1], 六車 宜央[1], 原田 修一[2], 井之上 浩一[1]
[1]立命館大学・薬, [2]林純薬工業株式会社

P-28 安定同位体標識内部標準を用いたヒト血清試料のアミノ酸定量分析手順の評価

池田 明夏里[1], 寺内 勉[1], 横山 順[1], 杉浦 悠毅[2]
[1]大陽日酸株式会社, [2]慶応義塾大学

P-29 クロマトグラムデータセットからのロバストなピーク検出に向けたソフトウェア開発

植松 真章[1,2], 北 芳博[1,3], 清水 孝雄[1,2,4]
[1]東大・院・医 リピドミクス社会連携講座, [2]国立国際医療研究センター研究所 脂質シグナリングプロジェクト, [3]東大・院・医 ライフサイエンス研究機器支援室, [4]微生物科学研究所

P-30 誘導体化 LC-MS 法による低分子代謝物分析の現在

高山 卓大[1], 柳 浩由紀[1], 水野 初[2], 豊岡 利正[2], 井之上 浩一[3], 赤津 裕康[4,5], 轟木 堅一郎[2]
[1]小野薬品工業株式会社, [2]静岡県大薬, [3]立命館大薬, [4]名市大医, [5]福祉村病院

P-31 認知症種別の早期鑑別診断を目指した多変量解析を用いる新規バイオマーカー探索

六車 宜央[1], 赤津 裕康[2,3], 井之上 浩一[1]
[1]立命館大院薬, [2]名古屋市立大学医, [3]福祉村病院

P-32 質量分析で明らかになる近赤外光線免疫療法のメカニズム

佐藤 和秀[1,3,2,4], 小川 美香子[5], 西村 雅之[6], 粉川 良平[6], 長谷川 好規[2], 小林 久隆[4]
[1]名古屋大学高等研究院, [2]名古屋大・医・呼吸器内科, [3]最先端イメージング分析センター／医工連携ユニット, [4]米国立がんセンター, [5]北海道大学・薬, [6]島津製作所

P-33 重水素化エクトインを内部標準に用いたエクトインの LC-MS/MS による定量分析

佐藤 龍一[1], 佐々木 雅史[1], 堤内 要[1], 金政 真[1], 岡 尚男[2]
[1]中部大・応用生物, [2]金城学院大・消費生活科学研究所

P-34 カルボニルストレス誘導筋細胞内代謝変化の GC-MS による評価

佐藤 恵美子[1,2], 等々力 崇太[1], 山本 多恵[2], 宮崎 真理子[2], 森 建文[3], 伊藤 貞嘉[2], 佐藤 博[1,2], 髙橋 信行[1,2]
[1]東北大院・薬・臨床薬学, [2]東北大院・医・腎高内, [3]東北医科薬科・腎内

P-35 LC-MS/MS 法による乳酸菌ウオヌマ株の胆汁酸合成系に対する促進効果の評価

中川 沙織[1], 清水（太田） 美穂[1], 不破 史子[1], 西脇 俊和[2], 相原 浩太郎[2], 佐藤 眞治[1]
[1]新潟薬科大学, [2]新潟県農総研食研セ

P-36 Microcystis ラン藻由来の揮発性有機化合物の分析：SPME GC/MS でのみ分析された β-cyclocitral の産生機構

山下 竜司[1], 兼井 啓介[2], 辻 清美[4], 冨田 浩嗣[3], ○原田 健一[1,2]
[1]名城大院・総術, [2]名城大・薬, [3]愛知衛研, [4]神奈川衛研

P-37 LC-Q-TOFMS を用いた腸内細菌代謝物のノンターゲットリピドミクス

岡橋 伸幸[1,2], 安田 柊[1], 上田 政宏[1], 津川 裕司[1], 池田 和貴[3], 有田 誠[1,4,5]
[1]理研・生命医科学研究センター, [2]阪大・情報, [3]かずさ DNA 研, [4]横浜市立大・生命医科学, [5]慶大・薬

P-38 尿中グリセロリン脂質の半自動型解析システムの構築

中嶋 和紀[1], 袴田 知也[2], 堀 秀生[3], 釘田 雅則[1], 松下 祥子[4], 伊藤 辰将[4], 高橋 和男[4,5], 坪井 直毅[4], 長尾 静子[1], 湯澤 由紀夫[4]
[1]藤田医科大・研究支援, [2]藤田医科大院保健学・病態制御, [3]藤田医科大・臨床工学科, [4]藤田医科大・医・腎臓内科学, [5]藤田医科大・医・解剖学 II

P-39 A rapid flow-injection high resolution / accurate mass method for the simultaneous detection of diverse lipid species in human serum

Dayan Goodenowe[1], Yanqiu Jiang[1], Vijitha Senananake[1], Yasuyo Yamazaki[1]
[1] Prodrome Sciences Inc. Saskatoon, Canada

P-40 質量分析による生細胞中の単一脂肪滴の分析

惠 淑萍[1], 趙 瑤瑤[1], 陳 震[1], 呉 玥[1], 高 紫君[1], 張 新栄[2], 千葉 仁志[3]
[1]北大・保健, [2]清華大学化学系, [3]札幌保健医療大学

P-41 鉛誘導した HepG2 細胞によけるプラズマローゲンの保護作用

陳 震[1], Wu Yue[1], Darwish Wageh[1], 寺田 航[1], 千葉 仁志[2], 惠 淑萍[1]
[1]北大・保健, [2]札幌保健医療大学・栄養

P-42 キラルカラムを用いた LC-MS 一斉分析系によるマウス脳スフィンゴ糖脂質の解析

藤原 優子, 濱 弘太郎, 横山 和明
帝京大・薬

P-43 **４種の PAH 混合物暴露下の HepG2 細胞における脂質代謝調節不全**

高 紫君[1,2]
[1]北海道大学保健科学研究院, [2]札幌保健医療大学

P-44 **髄液中リゾホスファチジン酸、リゾホスファチジルコリンは客観的疼痛マーカーである**

蔵野 信[1], 住谷 昌彦[1], 坂井 英里[1], 可野 邦行[2], 青木 淳賢[2], 矢冨 裕[1]
[1]東大・医, [2]東北大・薬

P-45 **高炭水化物食由来脂肪肝マウスの肝臓中 cardiolipin 及び monolysocardiolipin の組成解析**

櫻井 俊宏[1], 陳 震[1], 早坂 孝宏[2], 千葉 仁志[3], 惠 淑萍[1]
[1]北海道大学 大学院 保健科学研究院, [2]北海道大学 医学研究院外科系部門 外科学分野, [3]札幌保健医療大学

P-46 **LC-MS/MS を用いたヒト髄液中スフィンゴシン 1-リン酸（S1P）の測定系の確立と髄膜癌腫症におけるスフィンゴ脂質の解析**

坂井 英里[1], 森田 賢史[1], 蔵野 信[1,2], 矢冨 裕[1,2]
[1]東京大学医学部附属病院検査部, [2]東京大学大学院医学系研究科内科学専攻病態診断医学講座

P-47 **質量分析を用いる肺サーファクタントリン脂質膜に対する環境濃度オゾンの影響に関する研究**

喬 琳[1], 陳 震[1], 高田 俊智[2], 千葉 仁志[3], 叶 深[2], 惠 淑萍[1]
[1]北海道大学 保健科学研究院, [2]東北大学　大学院理学研究科, [3]札幌保健医療大学

P-48 **MALDI-TOF/MS を用いた尿中脂質解析による前立腺がん診断の検討**

中山 憲司[2,1], 李 新[1], 後藤 崇之[1], 赤松 秀輔[1], 清水 公治[3], 小川 修[1], 井上 貴博[1]
[1]京都大学大学院医学研究科 泌尿器科, [2]島津テクノリサーチ 臨床研究開発支援センター, [3]京大病院 先端医療機器開発･臨床研究センター

P-49 **酸化リン脂質受容体 MrgB5 が認識する酸化リン脂質の構造解析**

吉田 美沙紀[1], 岸 貴之[1], 川名 裕己[1,2], 可野 邦行[1,2], 三枝 大輔[2,3,4], 仲川 清隆[5], 青木 淳賢[1,2]
[1]東北大院・薬, [2]AMED-LEAP, [3]東北メディカル・メガバンク機構, [4]東北大医, [5]東北大院・農

P-50 **効率的かつ再現性のよい LC システム Evosep One のプロテオミクス測定での評価**

加納 圭子[1], 碓井 史彦[2], 板東 泰彦[2], 上野 光正[2], 初田 一哉 3, 桑田 啓子[1]
[1]名古屋大・ITbM, [2]エーエムアール株式会社, [3]株式会社ウインクス

P-51 **LC-MS/MS によるヒト血清中アポリポプロテイン E アイソフォーム定量分析法開発**

星野 雅輝, 新田 真一郎, 若林 弘樹, 上田 哲也
株式会社ＬＳＩメディエンス

P-52 FFPE 組織を用いたプロテオミクスによる脂肪肉腫診断マーカーの探索

青山 智志[1,2], 高澤 啓[2], 小野 祐輔[2], 長谷川 匡[1], 小山内 誠[2]
[1]札幌医科大学附属病院病理部, [2]札幌医科大学医学部病理学第二講座

P-53 血清エクソソームのプロテオミクスによる新規胆管癌診断マーカーの同定

吉田 幸布[1], 高野 重紹[2], 吉富 秀幸[2], 小寺 義男[3], 朝長 毅[4], 大塚 将之[2], 曽川 一幸[1]
[1]麻布大・生命環境, [2]千葉大・医, [3]北里大・理, [4]医薬基盤健康栄養研究所

P-54 ラベルフリーシングルショットガン解析によるヒト涙液プロテオームの比較

李 暁鵬[1], 山田 美穂[2], 山中 秀徳[3], 坂牧 寛[3], 藤城 雅也[1], 長谷川 智華[1,4], 恩田 秀寿[1], 熊澤 武志[1,5], 佐藤 啓造[1], 松山 高明[1]
[1]昭和大・医・法医学, [2]昭和大・医・眼科学, [3]化学物質評価研究機構, [4]東邦大・医・法医学, [5]聖隷大

P-55 血清エクソソームのプロテオミクスによる新規膵臓癌診断マーカーの同定

藤代 綾子[1], 高野 重紹[2], 吉富 秀幸[2], 小寺 義男[3], 朝長 毅[4], 大塚 将之[2], 曽川 一幸[1]
[1]麻布大・生命環境, [2]千葉大・医, [3]北里大・理, [4]医薬基盤健康栄養研究所

P-56 プロテオーム解析を用いたストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルラットの角膜における創傷治癒遅延機構の解析

山本 哲志, 蛭子 小春, 三田村 邦子, 長井 紀章, 多賀 淳
近畿大学薬学部

P-57 イムノコンプレキソーム解析法による原発性胆汁性胆管炎患者の血清中免疫複合体解析

相原 希美[1], 大山 要[1], 中村 稔[2], 玉井 慎美[3], 中村 英樹[3], 岸川 直哉[1], 川上 純[3], 塚元 和弘[1], 黒田 直敬[1]
[1]長崎大院・医歯薬, [2]長崎医療センター・臨床研究センター, [3]長崎大病院・リウマチ膠原病内科

P-58 インスリン由来アミロイドーシスの解析

伊藤 喜之[1], 永見 信正[2], 新井 久恵[3], 寺嶋 博[1], 西岡 秀夫[1], 永瀬 晃正[4], 岩屋 啓一[3,4]
[1]日本電子, [2]兵庫県警科捜研, [3]杏雲堂病院, [4]東京医大

P-59 in vivo マイクロダイアリシス法と PESI/MS/MS を用いたマウス脳内神経伝達物質分析法の構築

川上 大輔[1,2], 土屋 弥月[1], 村田 匡[2], 財津 桂[1,3]
[1]名古屋大学大学院医学系研究科 法医生命倫理学, [2]株式会社 島津製作所, [3]名古屋大学 高等研究院

P-60 Survival of motor neuron（SMN）タンパク質の定量

竹内 敦子[1], 都出 千里[1], 西尾 久英[2]
[1]神戸薬科大, [2]神戸学院大・総合リ

P-61 胃がん内視鏡検体の高感度リン酸化プロテオミクスに基づくキナーゼ活性プロファイリング

阿部 雄一[1,2], 平野 秀和[3], 庄司 広和[3], 田口 歩[2], 本田 一文[4], 朴 成和[3], 朝長 毅[1], 足立 淳[1]
[1]医薬基盤健栄研 プロテオーム, [2]愛知がん研 分子診断, [3]国立がん中央病院 消化管内科, [4]国立がん研 早期診断バイオマーカー開発部門

P-62 黄色靭帯肥厚によるタンパク組成変化

長子 晴美[1], 河野 通快[2], 三浦 美樹子[1], 原 伸正[1], 日吉 峰麗[1], 内尾 祐司[2], 土屋 美加子[1]
[1]島根大学・医・生化学, [2]島根大学・医・整形外科学

P-63 ブラックタイガーの新規アレルゲンタンパク質解析

宮谷 千菜津[1], 藤田 雄治[2], 佐藤 守[3], 中野 泰至[2], 下条 直樹[2], 野村 文夫[3], 曽川 一幸[1]
[1]麻布大・生命環境, [2]千葉大・医, [3]千葉大学病院

P-64 肝癌細胞株への新規修飾型D-ドーパクロムトートメラーゼ刺激によるリン酸化プロテオミクスの試み

日吉 峰麗, 長子 晴美, 三浦 美樹子
島根大・医・生化学

P-65 PESI/MS/MS を用いた内因性代謝物 40 成分のリアルタイム・モニタリング法の構築

大原 倫美[1], 深山 雄大[1], 近藤 健太[1], 村田 匠[2], 船津 慎治[2], 土橋 均[1], 石井 晃[1], 緒方 是嗣[2], 財津 桂[1,3]
[1]名古屋大学大学院医学系研究科 法医・生命倫理学, [2]島津製作所, [3]名古屋大学 高等研究院

P-66 自作エミッターチップを用いた DESI-IMS 高感度化の検討

高橋 豊[1,2], 佐藤 駿平[1], Du Chi[1], 堀川 誠[1], 佐藤 智仁[1], 瀬藤 光利[1]
[1]浜松医科大学, [2]株式会社プレッパーズ

P-67 DESI-IMS はヒトの頭蓋内動脈瘤壁の破裂におけるアラキドン酸の関連を明らかにした

Islam Ariful[1], 武田 理々子[2], 佐藤 智仁[1], 栗田 浩樹[3], 瀬藤 光利[1]
[1]浜松医科大学, [2]帝京大学医学部, [3]埼玉医科大学

P-68 MALDI-MSI 分析における導電性粘着フィルムで作製した生体組織切片の有用性について

三枝 大輔[1], 齋藤 律水[1], 川本 孔明[2], 宇留野 晃[1], 可野 邦行[3], 青木 淳賢[3], 山本 雅之[1], 川本 忠文[2]
[1]東北大学東北メディカル・メガバンク機構/大学院医学系研究科, [2]鶴見大学歯学部, [3]東北大学大学院薬学研究科

P-69 DESI-IMS は、ヒト唇の皮膚と比較して、朱色の上皮におけるドコサヘキサエン酸の高い蓄積を明らかにした。

Mamun Md. Al[1], Kahyo Tomoaki[1], Naru Eiji[2], Sakata Osamu[2], Hoshikawa Emi[3], Suzuki Ayako[3], Islam Ariful[1], Sato Shumpei[1], Sato Tomohito[1], Ito Takashi[1], Horikawa Makoto[1], Izumi Kenjii[3], Setou Mitsutoshi[1, 4, 5]

[1]浜松医科大学, [2]コーセー研究所, [3]新潟大学大学院医歯学総合研究科, [4]国際マスイメージングセンター。 浜松, [5]最先端医療フォトニクス教育研究センター浜松市

P-70 医薬品候補化合物のハイスループット・スクリーニングにおける新規イオン化法 DIUTHAME の適用可能性

内藤 康秀 [1], 小谷 政弘 [2], 大村 孝幸 [2]

[1]光産業創成大学院大学, [2]浜松ホトニクス株式会社

P-71 MALDI イメージング質量分析法とショットガンプロテオミクス法を用いたパラフィン包埋腎生検組織の高深度プロテオーム解析

武笠 結天 [1], 梶田 遼 [2], 韮澤 崇 [2], ラヴァン マリオン [3], ジャンポール・ドン・バン・ ファン [3], ブルネバル パトリック [4], 植田 初江 [5], 角田 伸人 [1], 池川 雅哉 [1]

[1]同志社大・生命医科, [2]ブルカー・ジャパン K.K., [3]パリ国立ネッカー小児病院病理部, [4]パリ公立ポンビドゥ・ヨーロッパ病院解剖病理部, [5]国立循環器病研究センター病理部

P-72 マトリックスフリーイオン化基板 DIUTHAME の測定プロトコルの検討

大村 孝幸 [1], 小谷 政弘 [1], 田代 晃 [1], 内藤 康秀 [2]

[1]浜松ホトニクス株式会社, [2]光産業創成大学院大学

P-73 レーザー脱離イオン化イメージング質量分析における DIUTHAME-IMS / FT-ICR の新しい組み合わせにより、高い質量精度と分解能が維持されます。

Md. Mahmudul Hasan[1], Mamun Md. Al[1], Naito Yasuhide[3], Kotani Masahiro[4], Ohmura Takayuki[4], Sato Shumpei[1], Islam Ariful[1], Waliullah A S M[1], Setou Mitsutoshi[1, 2, 5]

[1]浜松医科大学, [2]浜松医科大学国際マスイメージングセンター, [3]光産業創成大学院, [4]浜松ホトニクス K.K, [5]最先端の医療用フォトニクス教育研究センターシステム分子解剖学

P-74 質量顕微鏡法により明らかとなったラウリル硫酸ナトリウムによる皮膚表面のスフィンゴミエリン（d18:0/24:0）の減少

衞藤 史博 [1, 2], 齋藤 祐介 [1], 武井 史郎 [3], 矢尾 育子 [1, 2], 瀬藤 光利 [1]

[1]浜松医科大, [2]関西学院大・理工, [3]中部大・応用生物

P-75 DPH を用いたリゾリン脂質イメージング解析

岩間 大河 [1], 可野 邦行 [1, 4], 三枝 大輔 [2, 3, 4], 青木 淳賢 [1, 4]

[1]東北大院薬・分子細胞生化学, [2]東北メディカルメガバンク機構, [3]東北大医, [4]AMED-LEAP

P-77　全身イメージング質量分析法を用いたマウス母乳成分の消化・吸収・代謝プロセスの可視化

小関 将人[1], 辻 雄大[1], 山本 卓志[2], 山口 真一[2], 藤分 秀司[2], 中邨 智之[3], 角田 伸人[1], 谷 史人[4], 池川 雅哉[1]
同志社大・生命医科, [2]島津製作所, [3]関西医科大・薬理, [4]京都大・農

P-79　イメージング質量分析法を用いたメダカ胆汁酸の網羅的解析

野島 嵩文[1], 辻 雄大[2], 山口 真一[3], 上野 智弘[4], 中邨 智之[5], 池川 雅哉[2], 渡辺 好章[1]
[1]同志社大学超音波医科学研究センター, [2]同志社大学大学院生命医科学研究科, [3]島津製作所, [4]京都大学医学部人間健康学科, [5]関西医科大学薬理学講座

P-81　イメージング質量分析法を用いた薬理量リチウム(Li)の脳内分布の解析

安井 悠生[1], 山本 康太[2], 亀山 大樹[1], 角田 伸人[1], 平田 岳史[2], 池川 雅哉[1]
[1]同志社大学大学院生命医科学研究科医生命機能研究室, [2]東京大学大学院理学系研究科最先端計測化学研究室

講演要旨

特別講演

Method Development for Single-Cell Metabolic Analysis

Professor Xinrong Zhang
Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Characterizing and classifying cells into distinct types is of significance in propelling the studies of cellular network and interactions in organs. Cell typing based on metabolic information provides an immediate and dynamic picture of the functionality of a cell. Herein I introduce the method development in my group in recent years for single cell analysis by mass spectrometry. [1-5] The mass spectra of each cell could be extracted as a fingerprint for classifying cell types. We could differentiate cell types in mixed populations of normal cells and cancer cells, and in subtypes of cancer cell lines. Offering metabolite information and spatial distribution of defined cell types in situ, this strategy may provide significant new insight into cellular network and interactions in tissue physiology and pathology studies.

References

1. Yao, H. et al., Label-free mass cytometry for unveiling cellular metabolic heterogeneity, ***Anal. Chem.,*** 2019, Accepted
2. Zhang, X., et al, Combination of Droplet Extraction and Pico-ESI-MS Allows the Identification of Metabolites from Single Cancer Cells. ***Anal. Chem.*** 2018, 90, 9897.
3. Wang, J., et al., Vacuum Ultraviolet Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Imaging of Single Cells with Submicron Craters. ***Anal. Chem.*** 2018, 90, 10009
4. Wei, Z., High yield accelerated reactions in nonvolatile microthin films: chemical derivatization for analysis of single-cell intracellular fluid. ***Chemical Science,*** 2018, 9, 7779
5. Si, X., et al. Detecting Low-abundance Molecules at Single-cell Level by Repeated Ion Accumulation in Ion Trap Mass Spectrometer. ***Anal. Chem.*** 2017, 89, 2275

講演要旨

特別セミナー

医用質量分析入門
—医用質量分析認定士取得を目指してー

講師　中西豊文 先生

研究支援センター 大阪医科大学

ハードなイオン化が主流であった頃の「質量分析（Mass Spectrometry：MS）」は、主として低分子量物質を対象にその分子内構造解析に限定されていた。しかし、2002 年ノーベル化学賞受賞対象となったエレクトロスプレーイオン化法（ESI）、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法（MALDI）などソフトイオン化法の開発によって、それまで不可能と考えられてきたタンパク質・核酸などの生体高分子の MS 解析が可能になった。ESI および MALDI 法による生体高分子の静的•動的解析の成功は、MS 法が遺伝子解析と共に種々の生命現象／疾病発症の解明など「生命科学」発展の中心的役割を担う解析手段に位置づけられた瞬間であり、これらソフトイオン化 MS 法を用いた「プロテオミクス」が普及していった。更に、MS 法と各種クロマトグラフィー／実体顕微鏡とのコラボレーションによって MS 解析の適用範囲の拡大する一方、解析結果の情報量が格段に増大し、バイオインフォマティックスの重要性が指摘されるに至った。

本セミナーでは、「医用マススペクトル研究会の立ち上げ」から「MS の医学応用に特化した学会／一般社団法人化」更に、「医用質量分析認定制度の立ち上げ」から「医用質量分析認定士の活躍現況」など本研究会／学会の発展の歴史を解説したい。後半は、医用質量分析認定士の認定試験の重要ポイント、「質量分析法」の基礎編及びその応用編について易しく解説させて頂きたいと思います。

講演要旨

シンポジウム

S1　マルチオミクス／トランスオミクス ー自動化の取り組みと今後
オーガナイザー・座長：飯田順子（島津製作所）、柚木克之（理化学研究所）

S2　アンビエントイオン化質量分析による生体分析の最先端
オーガナイザー・座長：財津　桂（名古屋大学）、関本奏子（横浜市立大学）

S3　誘導体化反応を利用する LC-MS メタボロミクスの最前線
オーガナイザー・座長：井之上浩一（立命館大学）、水野　初（静岡県立大学）

S1-1 & S1-5

マルチオミクス／トランスオミクス－自動化の取り組みと今後
[1] シンポジウム企画の意図
[2] 前処理、測定、データ自動可視化を含むパッケージ化

飯田 順子 [1,2]

[1]（株）島津製作所　分析計測事業部　ライフサイエンス事業統括部
[2] 大阪大学大学院工学研究科 分析イノベーション共同研究講座

Multi-Omics/Trans-Omics - Automation, Presence and Future
[1] Symposium Objectives
[2] An example of Manufacturer's Approach

Junko Iida [1,2]

[1] Analytical and Measuring Instruments Division, Shimadzu Corporation
[2] Analytical Innovation Research Laboratory, Graduate School of Engineering, Osaka University

[1] シンポジウム企画の意図

ゲノム、プロテオーム、メタボロームなど個々の階層にまたがるマルチオミクス／トランスオミクスは、バイオマーカー機序解明や毒性研究などの創薬をはじめ幅広い分野で関心が高まっているが、使いこなすには課題が多い。ただ、そのポテンシャルと、インフォマティクスの発展、コンピュータ・分析/計測機器の性能向上から、今がまさに転換期であると考える。その自動化をテーマに、サンプリング・前処理～測定～データ解析に関わる課題解決に取り組む研究者に登壇いただく。

1. コオーガナイザーの柚木先生から、全体を俯瞰
2. 杉本先生から前処理を含めた取り組み
3. 植松先生から、データ後処理の取り組み
4. オーガナイザー飯田からデータ後処理を含むパッケージ化の取り組み
5. 西先生から、マルチオミクスの実際の応用例

[2] 前処理、測定、データ自動可視化を含むパッケージ化

マルチ／トランスオミクスの階層の中で、メタボロミクス／リピドミクスは、プロテオミクスとならび質量分析計（MS）が広く使用される。求める良好な解析結果を得るためには、堅牢で再現性の良い前処理や分析のメソッド開発が重要なポイントの一つであるが、時間がかかり経験も要求される。また、MS の測定速度が早くなり感度が高くなる結果、生産されるデータ量は膨大で、解析結果を得るまでに膨大な時間を要することが多い。

研究者が MS を使う目的である「新規発見」のためのデータ解釈に時間を使えることを目指し、前処理、測定、データ自動可視化を含むパッケージ化を進めている。

現在、一次代謝物、脂質メディエーター、D/L アミノ酸、短鎖脂肪酸、胆汁酸などのアプリケーションで、メソッドを専門の研究者との共同研究として開発しパッケージ化した。これを含む自動化をめざす取り組みについて報告し、議論させていただきたい。

S1-2

多階層オミクスデータ解析の自動化に向けて

柚木 克之 [1,2,3]

[1] 理化学研究所　生命医科学研究センター
[2] 慶應義塾大学　先端生命科学研究所
[3] 東京大学　大学院理学系研究科

Towards automation of trans-omic data analysis

Katsuyuki Yugi[1,2,3]

[1]Center of Integrative Medical Sciences, RIKEN
[2]Institute for Advanced Biosciencees, Keio University
[2]Graduate School of Sciences, University of Tokyo

多階層オミクスデータの統合解析は主として以下３つの段階から成る

1. スペクトル等生データの数値化および表形式データへの変換
2. 表形式データを用いた多階層ネットワークの再構築
3. 多階層ネットワークの視覚化および（分子）生物学的解釈

いずれの段階にも固有の技術的課題が存在し、現状では経験あるスペシャリストたちが研究プロジェクトの実情に即してデータ解析を行っている。しかし、多階層オミクス解析技術にアクセス可能な人数を増やし分野の発展を促すためには、上記３段階の標準化・自動化が必要である。そこで本シンポジウムでは上記３段階の自動化並びにソフトウェア開発の現状について、最前線の研究者を招いて現状および今後の方向性を議論する。

S1-3

メタボロームはなぜこれほど再現性がないのか?

杉本 昌弘 [1,2,3]

[1] 東京医科大学　低侵襲医療開発総合センター
[2] 慶應義塾大学　先端生命科学研究所
[3] 筑波大学　プレシジョン・メディスン開発研究センター

Reasons for the low reproducibility in metabolomics data

Masahiro Sugimoto[1,2,3]

[1]Research and Development Center for Minimally Invasive Therapies, Tokyo Medical University
[2]Institute for Advanced Biosciences, Keio University
[3]Research and Development Center for Precision Medicine, University of Tsukuba

【目的】メタボロームは生体サンプル中の代謝物の絶対定量値を算出することができる技術である「と言われている」。コホートスタディなど数千〜数万検体を長期的に測定するようなプロジェクトで、品質を一定に保つために様々なクオリティ管理やデータ解析上でのノーマライズが行われているが、それは本質的な対策なのだろうか？そのデータはどのような科学的な価値があるのか？

【方法】血液と唾液検体の検体採取・保存・前処理等が代謝物の定量値に及ぼす影響を調べた。液体クロマトグラフィー・質量分析装置とキャピラリー電気泳動・質量分析装置を用いて、これらの評価を実施した。

【結果】
予想通り、血清等は血液採取から最初の遠心までの保存温度や時間の影響を強く受け、再現性の低いデータが得られることが確認できた。唾液に関しては、本来キャピラリー電気泳動・質量分析装置で構造上検出できるような物質が前処理によっては検出できないなどがわかった。

【考察】
本結果はケーススタディで本来は全物質で複数の前処理や分析方法で様々なバリデーションを実施すべきである。

S1-4

クロマトグラムデータセットからのロバストなピーク検出

植松 真章 [1,2]，北 芳博 [1,3]，清水 孝雄 [1,2,4]

[1]東京大学大学院医学系研究科 リピドミクス社会連携講座
[2]国立国際医療研究センター研究所 脂質シグナリングプロジェクト
[3]東京大学大学院医学系研究科 ライフサイエンス研究機器支援室
[4]微生物科学研究所

A Robust Algorithm for Peak Picking from Multiple Chromatograms

Masaaki Uematsu[1,2], Yoshihiro Kita[1,3], Takao Shimizu[1,2,4]

[1]Department of Lipidomics, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo
[2]Department of Lipid Signaling, National Center for Global Health and Medicine
[3]Life Sciences Core Facility, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo
[4]Institute of Microbial Chemistry

【目的】
近年の質量分析計の高感度・ハイスループット化により大量のデータが得られるようになった。メタボロームデータの一次解析においてはピークピッキングが重要であるが、従来のピーク検出はマニュアル操作が多く客観性やスループット性に欠け、パラメータ設定も煩雑であった。これらの問題を解決するため、本研究では GC-MS スキャンデータなどの大量（百～数百）のマスクロマトグラムを含むデータを対象に、客観的かつロバストな新規ピークピッキングアルゴリズムを開発することを目指した。

【方法】
GC-MS スキャンデータから生成したマスクロマトグラム（RT x intensity）の各々につき、局所的な波形に対して可変幅のモデルピーク（ガウス関数）との相同性指標を算出し、モデルピーク幅とクロマトグラム保持時間全体に渡ってマッピングを行った。これらを m/z の異なる複数のマスクロマトグラムに渡って重ね合わせることで、個々のクロマトグラムからではなくデータ全体を俯瞰的に見てピーク検出を行った。

【結果・考察】
ノイズ除去の強度、検出閾値という 2 つのパラメータのみでピーク検出を行うアルゴリズムを構築できた。実データへの適用の結果、これらのパラメータは濃度・由来が異なるサンプルに対しても適用可能で、本手法がロバストであることが示唆された。またパラメータ変更が必要な場合でも、パラメータ設定後から表示にかかる時間が迅速（～1 秒）であるため、効率的なパラメータ探索が可能である。今後、異なる測定機器のデータに対しても本アルゴリズムが適用可能であるか検討していきたいと考えている。

S1-6

漢方システムバイオロジーの構築：漢方薬の成分代謝・生体作用の統合解析に向けて

西 明紀[1]，大渕 勝也[1]，串田 浩孝[1]，下堀 知香[1]，松本 隆志[1]，山本 雅浩[1]，
黒木 春郎[2]，鍋島 茂樹[3]，谷内江 綾子[4]，松岡 由希子[4]，北野 宏明[4]

[1]株式会社ツムラ ツムラ漢方研究所
[2]医療法人社団 嗣業の会 外房こどもクリニック
[3]福岡大学病院 総合診療部
[4]特定非営利活動法人 システム・バイオロジー研究機構

Kampo Systems Biology: Integrated analysis of compound profile and pharmacological property of traditional Japanese medicine “Kampo”

Akinori Nishi[1], Katsuya Ohbuchi[1], Hirotaka Kushida[1], Chika Shimobori[1], Takashi Matsumoto[1], Masahiro Yamamoto[1], Haruo Kuroki[2], Shigeki Nabeshima[3], Ayako Yachie[4], Yukiko Matsuoka[4], Hiroaki Kitano[4]

[1]Tsumura Kampo Research Laboratories, Tsumura and Co., Ibaraki, Japan
[2]Sotobo Children's Clinic, Medical Corporation Shigyo-no-kai, Chiba, Japan
[3]General Medicine, Fukuoka University Hospital, Fukuoka, Japan
[4]The Systems Biology Institute, Tokyo, Japan

漢方薬は複数生薬で構成される多成分系の薬剤であり、多様な成分と生体因子との複雑な相互作用によって特徴的な作用が発揮されると考えられる。我々は現在、このような漢方薬の作用を統合的に解析するため、メタボロミクスなどのオミクス解析により、漢方薬成分の代謝プロファイルおよび生体作用因子の包括的な解析を実施し、解析基盤の構築を試みている。今回は、インフルエンザ様症状に効果を示す麻黄湯において、動物モデルを用い、包括的に成分・代謝物のプロファイリングおよび薬理学的フェノタイプ・生体メタボローム・トランスクリプトーム解析を実施した取り組みを中心に紹介する。

漢方薬成分は投与後に様々な代謝を受けることが知られている。その変遷を解析するため、麻黄湯投与後のラット血漿について麻黄湯由来成分を対象としたメタボローム解析を実施した。その結果、投与により成分プロファイルが大きく変化する可能性が示唆された。

生体に対する作用について急性炎症ラットモデルを用いた解析により、麻黄湯の疾患症状の改善、炎症性サイトカインの抑制が確認された。さらにメタボローム解析により、麻黄湯は広く脂質メディエーターに影響し、炎症モデルにおける炎症性脂質メディエーターの亢進を抑制した。さらに肺組織のトランスクリプトーム解析により、主要成分と比較して麻黄湯の特徴的な作用を見出した。

このように漢方薬の成分プロファイルおよび作用の包括的な解析に取り組み、漢方薬の多様な成分が生体因子に作用し、多成分系の薬剤として特有の作用を発揮する全体像の一端を明らかにした。

S2-1

アンビエントイオン化質量分析による生体分析の最先端 シンポジウム企画の意図

財津 桂[1,2]、関本 奏子[3]

[1] 名古屋大学高等研究院
[2] 名古屋大学大学院医学系研究科
[3] 横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科

Cutting-edge analytical methods for biological samples using ambient ionization mass spectrometry

Kei Zaitsu[1,2], Kanako Sekimoto[3]

[1] Institute for Advanced Research, Nagoya University
[2] Nagoya University Graduate School of Medicine
[3] Graduate School of Nanobioscience, Yokohama City University

本シンポジウムでは、近年、生命科学分野における応用拡大が急速に広がっている Ambient ionization mass spectrometry（アンビエントイオン化質量分析）について、特に、生体分析への応用に焦点を当て、4 名のシンポジストに発表頂く予定である。また、それに先立ち、アンビエントイオン化質量分析の定義に加え、アンビエントイオン化法の分類や代表的な手法の特徴などについてオーガナイザーより概説し、聴講者の理解に繋げたいと考えている。

S2-2

皮膚成分の秒速 MS プロファイリング法の開発と応用

本山 晃、木原 圭史

資生堂グローバルイノベーションセンター

Rapid Profiling of Skin-derived Small Molecules by Zero-volt Paperspray Ionization Mass Spectrometry

Akira Motoyama, Keishi Kihara

Shiseido Global Innovation Center, Yokohama, Japan

本発表では、皮膚成分（角質層内の天然保湿因子や皮脂等）の高速プロファイリング法として新たに開発した zero-volt Paperspray Ionization Mass Spectrometry (zvPSI-MS)法[1、2]の特徴と皮膚成分計測への応用例を紹介する。

皮膚は外界の刺激等から身体を守る最前線のバリアである。その機能を最大限に発揮するには、皮膚最外層、すなわち外界とのインターフェイスである角質層が適度な疎水性と柔軟性を維持する必要がある。角質層の柔軟性は、高極性の低分子からなる天然保湿因子の保水力に大きく依存する。角質層表面では、皮脂腺から分泌された皮脂が覆い、天然保湿因子の流出や水分の蒸散を抑制する。これらの成分の量や組成の違いが乾燥やニキビなどの肌トラブルに直結するため、迅速な組成把握（プロファイリング）が重要となる.

zvPSI-MS 法は、Dr. Cooks の助言を元に開発したセミアンビエントイオン化 MS 法であり、Paperspray Ionization (PSI)及び Solvent-assisted Inlet Ionization (SAII)の特徴を併せ持つ．試料を 2.5x10mm 角のろ紙にロードし、質量分析計(MS)の真空導入口近傍に設置する。ろ紙後端に数 μL の溶媒を滴下すると、ろ紙先端に達した液が負圧で直ちに MS 内に引き込まれ、数秒で測定が完了する。PSI のようにろ紙に数 kV の電圧をかける必要はなく、加熱キャピラリー内のセミアンビエント圧力下で成分が気相イオンとして取り出される。正負両イオンの検出が可能で，R=7,500 (FWHM、 *m/z* 400、電場型 FT-MS)の高分解能 MS スペクトルも十分な SN・感度で得られる。堅牢性も良好であり、皮膚成分の迅速プロファイリング法として優れた特質を有する。

発表では、感度と導入口温度・溶媒組成の関係からイオン化機構を考察した結果や、ヒト顔面皮脂、角層中の天然保湿因子の計測への応用例を紹介する。溶媒最適化等により、脂肪酸からアミノ酸まで幅広い特性の成分が計測できる。今後の展望も含めて紹介する.

【参考文献】

1) A. Motoyama, *et al.*, *Rapid Commun Mass Spectrom*, 29, 1905 (2015)
2) M. Wleklinski, *et al.*, *Anal Chem*, 87, 6786 (2015)

S2-3

LDTD 法を用いた血中脂溶性ビタミンの高速一斉分析系構築

小倉 泰郎、Mikael Levi

島津製作所

High throughput and simultaneous analysis of fat soluble vitamins in plasma using LDTD technique

Tairo Ogura, Mikael Levi

Shimadzu corporation

液体クロマトグラフィー質量分析法（LC-MS）は、その選択性の高さや感度の高さから、血中成分濃度測定など様々な用途に用いられている測定方法である。その一方、クロマトグラフィーによる成分分離を行うため、多検体の処理においてはそのスループットを高めることが課題となる。そこで、高速サンプリングが可能な直接イオン化技術 Laser Diode Thermal Desorption (LDTD)を組み合わせることによる超ハイスループット分析システムを構築した。ここでは、生体試料中における脂溶性ビタミン類の定量分析法の開発を試みたので報告する。

測定には高速液体クロマトグラフ Nexera シリーズ、トリプル四重極型質量分析系 LCMS-8060 (いずれも島津製作所製)、および LDTD システム (Phytronics 製) を用いた。血しょう(100uL)を固相抽出した試料 2uL を用いて LDTD による測定を行った。また、同じ試料を乾固しメタノールに再溶解した試料を用いて LC-MS 測定を行い、感度や再現性およびスループットなどを比較した。

LDTD を用いた分析メソッドの構築においては、1 サンプルあたりの測定時間を 12 秒での測定が可能であった。LC-MS を用いた測定では 1 サンプルあたりの測定時間は 7 分であり、大幅なスループット改善を達成できた。定量性の比較においては、各測定法に対して同じ濃度範囲の検量線を作成し、どちらの測定法においても高い直線性や再現性を示すことを確認した。

LDTD と LC-MS を用いた 2 つの分析結果は相補的な結果を示し、LDTD を用いたスクリーニングと LC-MS を用いた確認試験が実施可能であることが示された。

S2-4

iKnife サンプリング機能搭載 REIMS 研究システムによる分子プロファイリング

寺崎　真樹

日本ウォーターズ株式会社

Molecular Profiling by REIMS Research System with iKnife Sampling Device

Maki Terasaki

Nihon Waters K. K.

REIMS（Rapid Evaporative Ionization Mass Spectrometry：急速蒸発イオン化質量分析法）は、インペリアル大学の Zoltan Takats 教授によって開発された iKnife と呼ばれるサンプリング機能付きの電気メスなどによりイオンを発生させるアンビエント・イオン化質量分析技術のひとつである。iKnife は医療用として普及している電気メスの原理を応用している。電気メスは高周波電流を流すことによりジュール熱を発生させて表皮を焼き切っているが、その時に発生する煙は、通常、大気中に霧散していた。しかし、その煙はサンプル組織の重要な情報を有しており、質量分析計に接続することで関連する情報を質量情報として取得することができる。

iKnife サンプリング機能搭載 REIMS 研究システムは飛行時間型(Tof)質量分析計と強力で直感的なソフトウェア、アンビエント・イオン化技術を組み合わせることで、前処理が不要で迅速かつ容易な分子プロファイリングを可能とする。iKnife などのハンドヘルドサンプリング装置から生成された蒸気が飛行時間型質量分析計に導入され、ソフトウェアで解析されることで、数秒の間に分子プロファイリングが得ることができる。REIMS は試料表面から直接分子プロファイルを取得する今までにない新しいサンプリング法であり、現在は食品、微生物および組織学などの研究に使用されることを想定しており、化学的あるいは生体システムに対する深い洞察を通して、迅速かつ容易にサンプル間の差異を判別し、さらに高い信頼性でその差異成分を同定することが可能となる。将来的には外科手術に使用することで、手術中に iKnife と接触した組織を瞬時に検査し、その組織にどのような細胞が含まれていたかどうかについての情報を直ちに提供することで、生物学的組織分析を大幅に加速し、手術の実施をサポートするなどの用途も期待される。

本発表では、iKnife サンプリング機能搭載 REIMS 研究システムの原理や食品、微生物および組織学などへの応用例を紹介する。

S2-5

Probe electrospray ionization/tandem mass spectrometry (PESI/MS/MS) を用いた intact metabolome analysis および in vivo リアルタイム分析法の構築

財津 桂[1,2]、林 由美[1,2]、村田 匡[3]

[1]名古屋大学 高等研究院 in vivo リアルタイム・オミクス研究室
[2]名古屋大学大学院医学医系研究科
[3]島津製作所

Intact metabolome analysis and in vivo real-time monitoring of metabolites using PESI/MS/MS

Kei Zaitsu[1,2], Yumi Hayashi[1,2], Tasuku Murata[3]

[1]In Vivo Real-time Omics Laboratory, Institute for Advanced Research, Nagoya University
[2]Nagoya University Graduate School of Medicine
[3]Shimadzu Corporation

Probe electrospray ionization (PESI)[1)]は、先端直径が 700 nm の微細針をサンプリングとイオン化に用いる substrate-based ambient ionization の一種であり、ホモジナイズや抽出といった煩雑な前処理操作を行わずに、生体試料中の生体成分を直接分析することが可能である。
当然、PESI は non-chromatographic な手法であることから、質量分離能の高いタンデム質量分析（MS/MS）と組み合わせることで、より選択性を高めることが出来る。

我々はこれまでに PESI/MS/MS を用いることで、マウス臓器試料からの intact metabolite 分析法の構築を進めてきた[2,3)]。さらに現在、対象成分数を 80 成分まで拡張することで、簡便かつ迅速に臓器中 metabolic profiling が可能な”intact metabolome 分析法”を構築した[4)]。本手法を肝障害モデルマウスに適用した結果、既報と同様の結果を得ることが出来た。

また、PESI で用いる微細針は低侵襲的なサンプリングが可能であることから、生きているマウスの脳および肝臓をターゲットとして、各臓器内における metabolites のリアルタイム分析を達成しており[2,5)]、特に、質量分析計のフロント部に可動型ステージを設置することで、リアルタイム分析システムとして構築した[5)]。

本発表では、PESI のサンプリングとイオン化の基本的な原理の解説に加え、これまでに我々が進めてきた intact metabolome 分析法およびリアルタイム分析について紹介した後、今後の展望について概説する。

【参考文献】

1) K. Hiraoka et al., Rapid Commun Mass Spectrom, 2007, 21:3139-3144.
2) K. Zaitsu et al., Anal Chem, 2016, 88(7): 3556-3561.
3) Y. Hayashi et al., Anal Chim Acta, 2017, 983: 160-165.
4) T. Ohara et al. 67th ASMS Conference, 2019.
5) K. Zaitsu et al., Anal Chem, 2018, 90(7): 4695-4701.

S3-1

イミダゾール生成反応に基づく脂質過酸化アルデヒドの誘導体化 LC-MS/MS 定量法の開発

岸川直哉[1]，Mahmoud Hamed El-Maghrabey[1,2]，黒田直敬[1]

[1]長崎大学大学院医歯薬学総合研究科，[2]マンスーラ大学

LC-MS/MS determination of aldehydes after the derivatization based on imidazole formation reaction

Naoya Kishikawa[1], Mahmoud Hamed El-Maghrabey [1,2], Naotaka Kuroda[1]

[1]Graduate School of Biomedical Science, Nagasaki University, [2]Faculty of Pharmacy, Mansoura University

【目的】生体が酸化ストレスを受けたときに、アルデヒドをはじめとする様々な脂質過酸化物が生成する。反応性が高いアルデヒドはタンパク質や核酸と容易に結合して、これらの生体内機能の変調をもたらすとされており、アルデヒド量の増加と酸化ストレス疾患発症との関連性が示唆されている。このようなことから、生体試料中のアルデヒドの定量はその生体影響評価や酸化ストレス疾患の診断に有用である。一般に、アルデヒドは不安定かつ HPLC 検出に適した構造を持たないことから高感度定量が困難な化合物である。我々は、アルデヒド、酢酸アンモニウム及び α-ジケトンの三成分が縮合して生成するイミダゾール誘導体が ESI-MS において効率的にイオン化することを見出した。そこで、このイミダゾール生成反応を利用するアルデヒドの誘導体化 LC-MS/MS 定量法の開発を行った[1)]。

【方法】誘導体化は、アルデヒドのメタノール溶液に α-ジケトンとして 9,10-フェナンスレンキノンのメタノール溶液及び酢酸アンモニウムの酢酸溶液を添加し、100 ºC で 30 分間加熱して行った。生成する誘導体の分離は分離カラムとして Cosmosil 3C18-AR-II (100 mm × 4.6, 3 μm) を、移動相としてメタノールとギ酸アンモニウム緩衝液の混液を用いて行った。

【結果および考察】複数の α-ジケトンを用いてアルデヒドの誘導体化を試みたところ、9,10-フェナンスレンキノンが最も単純かつ明確なプロダクトイオンを与え、検出感度も良好であったため、これを誘導体化試薬として用いることにした。生成するイミダゾール誘導体はポジティブ ESI モードにおいて効率よくイオン化され、その検出下限は 4.0-100 pM であった。本法により、健常人血清中の脂肪族アルデヒドを選択的に定量可能であった。さらにこのとき、誘導体化試薬の 1 種として用いる酢酸アンモニウムについて、その構造中の窒素 (^{14}N) がその安定同位体 (^{15}N) に置換された化合物を同時に用いることにより、より精度の高い安定同位体誘導体化 LC-MS/MS 定量法へと展開させることができた[2)]。

【文献】 1) J. Chromatogr. A, 1462 (2016) 80-89. 2) Anal. Chem. 90 (2018) 13867-13875.

S3-2

誘導体化 LC-MS/MS を用いたディープラーニング搭載ワイドターゲットメタボロミクスの展開

六車 宜央[1]，赤津 裕康[2]，井之上 浩一[1]

[1]立命館大学大学院，[2]名古屋市立大学医

Development of deep learning-assisted widely targeted metabolomics analysis using liquid chromatography-tandem mass spectrometry after derivatization

Yoshio Muguruma[1], Hiroyasu Akatsu[2], and Koichi Inoue[1]

[1] Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Ritsumeikan University, [2] School of Medical Sciences, Nagoya City University

【目的】遺伝子情報発現過程の最下流に相当する代謝物の体内変動は、遺伝子やタンパク質に比べ表現型に直結した生理機能が反映されており、その内因性代謝物を網羅的に分析するメタボロミクスは病態発症・進行機序の解明、また疾患の診断や予後予測などに有用である生化学的指標の発見に貢献すると期待されている。LC-MS を用いるメタボロミクスでは、感度・分離能力の向上やフラグメンテーションの助長を期待し、誘導体化反応がよく利用されるが、高額な誘導体化試薬や煩雑な反応条件等が LC-MS 測定の障害となる。そこで多検体試料を効率良く解析するには、短時間かつ汎用的に利用できる誘導体化反応が求められる。本研究では、安価な誘導体化試薬を用いて、簡易的に実施できるワイドターゲットメタボロミクス（Widely targeted Metabolomics; W-TMet）を開発し、アルツハイマー型認知症患者（AD）の脳脊髄液（CSF）及び血液に応用した。また、その結果に基づき人工知能（AI）のディープラーニング技術を活用した新たなメタボロミクス展開を説明する。

【方法】本研究では、内因性アミン類を測定対象として、アミノ基（R-NH_2）に特異的に結合する 9-Fluorenylmethyl chloroformate（Fmoc）を用いた官能基特異的な誘導体化法及び混合安定同位体試薬を用いた内部標準法を採用した。前処理として、生体試料をアセトニトリルで除タンパク処理した後、誘導体化を行ない、液体クロマトグラフィー質量分析計（ACQUITY UPLC H-Class/Xevo TQD, Waters）を用いて測定した。

【結果及び考察】Fmoc 試薬は、簡易的条件（室温、10 分）でアミノ基と反応し、プロダクトイオンとして、試薬構造由来（Positive mode, *m/z* 179）のイオンが検出された。また、Fmoc 誘導体化の反応性やイオン化条件などを最適化することで、125 種類以上の内因性アミンを 10 分以内に一斉定量が可能な分析系を構築することが出来た。本定量法では、混合安定同位体を用いた内標準検量線において、相関係数（r^2）＞0.992 と良好な結果が得られ、また CSF 及び血液における添加回収率は 70%以上、相対標準偏差は 15%以内であった。開発した分析法を AD 検体に応用した結果、CSF において、有意に変動する代謝経路（Tryptophan 代謝経路、Arginine 代謝経路、Histidine 代謝経路、Cysteine 代謝経路）を特定することができ、CSF 診断に利用可能な複数のマーカーを捉えることも可能であった。さらに、特定した複数の代謝物は、NMDA 型グルタミン酸受容体アンタゴニスト作用を有する化合物であることも特定でき、病態との関連性を評価することも判断できた。しかし、同様の患者群の血液中代謝物変動を解析した結果、エネルギー代謝に関与する化合物の変動が観察されたが、CSF にて観察された有意な変動は観察されなかった。このことから、患者群のバックグラウンドなど様々な末梢系による影響が示唆され、中枢系特異的な代謝変動を捉える必要があると考えられた。以上から、今後は、その末梢系要因を取り除くことが可能である包括的で検出力の高いデータ解析法の構築を目指すこととする。

S3-3

誘導体化と質量分析による高感度異性体分離分析法の開発

水野　初，杉山栄二，豊岡利正，轟木堅一郎

静岡県立大学　薬学部

Sensitive and selective analysis of isomerized biomolecules by derivatization and mass spectrometry

Hajime Mizuno, Eiji Sugiyama, Toshimasa Toyo'oka, Kenichiro Todoroki

School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka

生体内には d-アミノ酸など様々な代謝物において光学異性体が微量に存在しており、これらが生体機能に重要な役割を持つとともに、疾患におけるバイオマーカーとしての有用性が明らかとなってきている。さらにタンパク質中のアミノ酸が異性化して変性することによって白内障やアルツハイマー型認知症などの加齢性疾患の原因に繋がることが報告されている。我々は、これらの光学異性体を選択的に HPLC で分離し、質量分析計で高感度な検出が可能な誘導体化法の開発を行ってきた。本発表では現在取り組んでいる、キラルプロテオミクスの開発による変性タンパク質中の異性化アスパラギン酸（Asp）残基の分析と、イオンモビリティースペクトロメトリー質量分析計（IMS-MS）を用いた誘導体化キラル代謝物の分離分析法開発について報告する。

１．キラルプロテオミクスの開発

変性タンパク質における微量 Asp 異性化部位の同定と定量を目的とし、簡便で、高感度かつ高精度な分析法を構築するべく、従来のプロテオミクス法とキラル誘導体化法を組み合わせた“キラルプロテオミクス法”の開発を行った。白内障の原因タンパク質である α-crystallin の Asp 残基のみが異性化（l-α-Asp、d-α-Asp、l-β-Asp、d-β-Asp）したトリプシン消化ペプチド 6 種を用いて、キラル誘導体化試薬及び反応条件を検討した結果、アミノ基誘導体化試薬である DMT-(*R*)-Pro-OSu を用いることで、6 種中 5 種において Asp 異性化ペプチドの 4 種全てを完全分離することができた。さらに誘導体化によって約 50 倍の高感度化を実現した。

２．IMS-MS による誘導体化キラル代謝物の分離分析法の開発

キラル代謝物の分析には、これまで GC-MS や LC-MS が用いられており、分析時間の長さがハイスループット化における課題となってきた。本研究では、誘導体化と LC 分離を用いないダイレクトインフュージョンによる IMS-MS を組み合わせることにより、簡便かつ短時間でのキラル代謝物の分離分析法の開発を行った。

これらの新規異性体分析法の開発により、様々な疾患に対する新規バイオマーカー探索や、新たな診断法開発への貢献が期待できる。

S3-4

誘導体化 LC-MS 法による低分子代謝物分析の現在

高山　卓大[1]，柳　浩由紀[1]，水野　初[2]，豊岡　利正[2]，井之上　浩一[3]，赤津　裕康[4]，轟木　堅一郎[2]

[1]小野薬品工業，[2]静岡県大薬，[3]立命館大薬，[4]名市大医

Recent derivatization-liquid chromatography-mass spectrometry method for analysis of small molecular metabolites

Takahiro Takayama[1], Hiroyuki Yanagi[1], Hajime Mizuno[2], Toshimasa Toyo'oka[2], Koichi Inoue[3], Hiroyasu Akatsu[4], Kenichiro Todoroki[2]

[1]ONO Pharm., [2]Univ. of Shizuoka, [3]Ritsumeikan Univ., [4]Nagoya City Univ.

生体内の多種多様な低分子代謝物は、フェノタイプに直接関連して定性・定量的に変動する。従って疾患のバイオマーカー探索や病態解明研究において、その量的変動を正確かつ高感度に捉えることが必要であり、今までに多数の分析法が開発されてきた。その分析技術の一種である誘導体化 LC-MS 法は、分析対象への保持時間・質量分離の選択性付与、イオン化応答の向上に伴う高感度化等の多くの利点を持つ優れた方法である。感度や夾雑成分の妨害効果から代謝物そのままでは MS 測定に問題がある場合、誘導体化により解決するケースもある。また MS 分析では測定成分の安定同位体標識体を内標準として、マトリックス効果を低減して定量する方法が一般的だが、その入手が困難なことも多い。誘導体化法では安定同位体標識誘導体化試薬を併用することで、測定対象の標識体が無くとも高精度な分析が可能である。これらの利点を活用し、不飽和脂肪酸の異性体や、ジアステレオマー化による DL-アミノ酸等のキラル代謝物の分析法等、応用的な方法が報告されている。誘導体化 LC-MS 法以外にも MALDI-MS イメージング分析においては、スライド上で誘導体化を行いマトリックス剤や夾雑成分の影響を回避し、対象を高感度分析する方法も開発されている。

D-セリンや D-乳酸等のキラルな代謝物は、統合失調症や糖尿病において異なる生体挙動・生理活性を示す事が知られて以来、新規バイオマーカー候補として注目されてきたが、分離が困難なことや検出感度、測定精度の問題から非標的探索が試みられてこなかった。そこで、演者は誘導体化 LC-MS 法の利点を活用し、キラル代謝物の疾患等での変動を非標的に比較解析する、キラルメタボロミクスの方法を報告した[Takayama, T. et al., Anal. Chem., 91, 4396-4404 (2019)]。開発した方法では標的を絞らないジアステレオマー誘導体化と安定同位体標識試薬を併用することで MS 測定における問題点を解決しただけでなく、データ解析をフリーで可能なソフトウェアパッケージも提案した。さらに本法を用いてアルツハイマー病患者の脳脊髄液中キラルバイオマーカーを探索することに成功した。

本発表では誘導体化 LC-MS の活用とする事例も議論したい。

講演要旨

一般演題（ポスター）
P-1 ～ P-81

P-1

採血後血液処理が血中代謝物レベルに与える影響

○西海 信[1], 小林 隆[1], 吉田 優[1, 2, 3]

[1]神戸大学医学研究科内科学講座消化器内科学分野, [2]神戸大学医学研究科内科系講座病因病態解析学分野, [3]AMED-CREST

Alterations in blood metabolite levels caused by pre-analytical blood processing procedures

○Shin Nishiumi[1], Takashi Kobayashi[1], Masaru Yoshida[1, 2, 3]

[1]Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine, [2]Division of Metabolomics Research, Department of Internal Related, Kobe University Graduate School of Medicine, [3]AMED-CREST

【目的】近年、医学分野において、質量分析計を用いたメタボローム解析によるヒト血漿やヒト血清を用いたバイオマーカー研究が広く実施されるようになってきた。疾患診断や疾患早期発見などにおける代謝物バイオマーカーの活用実現の可能性は、質量分析における分析面の安定性・堅牢性とともに、血漿・血清収集、採血後血液の遠心分離前血液保存など、分析前の血液処理手順における代謝物の安定性に大きく依存する。そこで本研究では、ヒト血漿と血清の代謝物比較、ならびに、採血後血液における遠心分離前の保存が血漿中代謝物に与える影響の検証を実施した。

【方法】ヒト血清と血漿の代謝物比較に関しては、同一の人から採血を行い、得られた血液から血清、ならびに、血漿を回収して、代謝物分析に供した。血液の遠心分離前の保存が血漿中代謝物に与える影響の検証については、得られた血液を室温下（0 分間、15 分間、30 分間）、あるいは、冷却下（1 時間、4 時間、8 時間）で保存し、その後、遠心分離することで血漿を回収して、代謝物分析に供した。ヒト血漿・血清代謝物の分析は、ガスクロマトグラフ質量分析計、ならびに、液体クロマトグラフ質量分析計を用いて実施し、水溶性代謝物と脂溶性代謝物とを分析対象とした。

【結果】ヒト血清と血漿の代謝物比較に関しては、76 種類の代謝物レベルが、血漿と血清の間で統計学的に有意な差を示した。採血後血液における遠心分離前の保存が血漿中代謝物に与える影響の検証については、45 種類の血漿代謝物レベルが、遠心分離前保存状態の違いにより統計学的に有意な変動を示した。

【考察】本研究の結果は、血清調製に必須な血液凝固反応過程で代謝物レベルが変動する可能性や、血液検体前処理まで冷却保存した場合でもいくつかの代謝物レベルが変動する可能性を示している。このことから、メタボローム解析によるバイオマーカー探索・検証研究において、採血後の血液処理方法を考慮することが非常に重要であると考えられる。

P-2

ヒト CYP 分子種によるカチノン系化合物の代謝プロファイル解析

○山下 琢矢, 亀井 捷, 松本 周, 安木 彗玲菜, 湯淺 聖望, 初島 智弘, 糟谷 史代

神戸学院大学薬学部

Metabolic analysis of synthetic cathinones by human CYP enzymes

○Takuya Yamashita, Shou Kamei, Shu Matsumoto, Erena Yasugi, Satomi Yuasa, Tomohiro Hatsushima, Fumiyo Kasuya.

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kobegakuin University

【目的】カチノン系化合物はアンフェタミン類のβ-ケト誘導体であり、カテコールアミンの再取り込み阻害や細胞内からのカテコールアミン放出促進等により、中枢神経興奮などの精神作用を示す。化合物はその化学構造の違い及び代謝酵素に対する阻害等により、予期せぬ生体毒性を引き起こす可能性がある。そのため、カチノン系化合物の毒性を評価する上で代謝プロファイルを明らかにすることは非常に重要である。今回はカチノン系化合物の化学構造とヒト CYP 分子種による代謝との関連性を検討した。

【方法】指定薬物である 1-phenyl-2-(pyrrolidin-1-yl)nonan-1-one（α-PNP)と側鎖の長さ（炭素数 3〜9)、複素環の種類（ピロリジン環もしくはピペリジン環)、芳香環の置換基が異なる計 6 種類の化合物を基質に用いた。酵素としてヒトミクロソーム及びヒト CYP 分子種(2B6、2C9、2C19、2D6、3A4)を使用した。*in vitro* で得られた代謝物は LC-ESI-MS/MS によるプロダクトイオンスキャンで同定し、MRM で定量した。

【結果と考察】6 種のカチノン系化合物のヒトミクロソーム代謝の結果、カルボニル基の還元体、側鎖もしくは複素環のカルボニル体と水酸化体がそれぞれ検出された。6 種ともに側鎖の水酸化反応に最も高い活性が見られた。側鎖が長くなると、側鎖の水酸化反応に加えて、側鎖のカルボニル体も増加した。複素環への水酸化活性は低く、ベンゼン環の水酸化は全く観察されなかった。
側鎖への高い水酸化活性に関与する CYP 分子種は、側鎖の炭素数により分子種の寄与割合が異なっていた（炭素数 7 以下、CYP 2D6＞2C19＞2C9；炭素数 8 以上、CYP 2C19＞2C9＞2D6)。また、側鎖のカルボニル体は主に CYP2D6 による代謝で生成することが判明した。複素環の代謝に着目すると CYP2C9 はピロリジン環の水酸化に、CYP2B6 はピペリジン環の水酸化に関与していた。CYP の主分子種である CYP3A4 は複素環のカルボニル化及び水酸化に関わるが、いずれにもその寄与は低いことが示された。一方、カルボニル基の還元体は 6 種ともに CYP 分子種による生成は見られなかった。

以上よりカチノン系化合物の代謝に、遺伝子多型を持つ CYP2D6、CYP2C19 及び CYP2C9 が主に関わっており、毒性発現に個人差があると推察された。今後、複数の化合物が混在した状態の代謝プロファイルや各代謝物の生体毒性を詳細に検討する予定である。

P-3

若手ポスター賞　対象

Dried blood spot を用いた 6β-hydroxycortisol/cortisol 比による CYP3A 活性評価法の確立

○平野 良平, 古田 隆, 横川 彰朋, 柴崎 浩美, 降幡 知巳

東京薬科大学薬学部個別化薬物治療学教室

CYP3A phenotyping by 6β-hydroxycortisol/cortisol ratio using dried blood spot

○Ryohei Hirano, Takashi Furuta, Akitomo Yokokawa, Hiromi Shibasaki, Tomomi Furihata

Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences Clinical Pharmacy and Experimental Therapeutics

【目的】Dried blood spot (DBS) は、手指を穿刺して得られる血液 1 滴をろ紙にスポットした試料である。DBS は、低侵襲性で、室温での保存・輸送が可能なことから、近年、LC-MS/MS 等の高感度機器を用いた薬物血中濃度の測定に応用されはじめている。これまでに我々は、ヒトの薬物血中濃度に大きな影響を与える薬物代謝酵素 CYP3A の in vivo での活性を血漿中 6β-hydroxycortisol/cortisol 比 (6β-OHF/F) で評価できることを明らかとしてきた。この 6β-OHF/F の算出に DBS を用いることができれば、患者が DBS を 1 回採取するだけで in vivo における CYP3A 活性を把握することが可能となり、これは薬物治療の個別化において有用な手法となる。そこで本研究では、DBS による CYP3A 活性評価法を確立することを目的に、DBS の 6β-OHF と F の LC-MS/MS による微量測定法を開発し、DBS と血漿における 6β-OHF/F を比較した。

【方法】健常人 6 名を対象とし、同時刻に DBS および血漿を 1 回採取した。DBS および血漿に内標準物質として 6β-OHF-$^{2}H_{4}$ と F-$^{13}C_{4}$ を添加した。DBS 中の被検化合物は蒸留水で溶出した後、酢酸エチルで抽出し、乾固した。血漿の被検化合物は Sep-Pak C_{18} で抽出した後、乾固した。それぞれを移動相で溶解し、LCMS-8030 で測定した。

【結果・考察】まず、DBS を用いる際の抽出法の確認を行ったところ、6β-OHF および F の抽出率は 105 ± 8%、106 ± 1%と良好であった。そこで、DBS 中の 6β-OHF および F を測定した結果、6β-OHF は 0.096 ± 0.002 ng、F は 7.62 ± 0.20 ng であった。この時の精度・再現性は、相対誤差 5.7%以内、変動係数 5.3%以下と良好であった。また、検出限界は 6β-OHF で 0.2 pg (S/N = 3.6)、F で 0.06 pg (S/N = 5.7) であった。次に、健常人 6 名の DBS と血漿における 6β-OHF/F を算出したところ、DBS では 0.0123 ± 0.0036、 血漿では 0.0087 ± 0.0022 となった。両者を比較すると r = 0.9550 と良好な相関が認められた。以上、本研究では DBS の 6β-OHF および F の高感度かつ高精度の微量測定法を開発した。さらに、DBS と血漿における 6β-OHF/F には高い相関が認められた。したがって、DBS による in vivo CYP3A 活性評価は実現可能であると考えられ、今後、薬物治療の個別化に応用されることが期待される。

P-4

ヒト肝細胞による合成カンナビノイド BB-22 の代謝

○南方 かよ子[1], 鈴木 雅子[2], 北本 卓也[2], 野澤 秀樹[1], 山岸 格[1], 長谷川 弘太郎[1], 鈴木 修[1], 渡部 加奈子[1]

[1]浜松医科大学法医学, [2]浜松医科大学 先進機器共用推進部

Metabolism of a synthetic cannabinoid BB-22 in human hepatocytes

○Kayoko Minakata[1], Masako Suzuki[2], Takuya Kitamoto[2], Hideki Nozawa[1], Itaru Yamagishi[1], Koutaro Hasegawa[1], Osamu Suzuki[1], Kanako Watanabe[2]

[1]Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine, [2]Advanced Research Facilities and Services, Hamamatsu University School of Medicine

【目的】近年、種々の乱用薬物の代謝が研究、報告されている。危険ドラッグで総称される合成カンナビノイドの一種の BB-22 に関しては Carlier et al. [1] によりヒト肝細胞による代謝が報告されているが、それらは BB-22 のエステル分解の代謝物 BB-22 3-carboxyindole (M0) の cyclohexylmethyl 基の OH 体(M3 群)と indole 基の OH 体(M4 群)とそれらのグルクロン酸抱合体のみであった。我々は 2 名の中毒者の尿中代謝物を調べたところ BB-22 の cyclohexylmethyl 基の OH 体(M1 群)と indole 基の OH 体(M2 群)も検出した [2]。これらの違いの生じる原因を探るために、Carlier et al. と同一条件下でヒト肝細胞を用いて代謝物を生成し、尿中代謝物との比較を行った。

【方法】BioreclamationIVT 社から 50-Donor Pooled Cryopreserved Hepatocytes, HT Medium, KHB Buffer を、Cayman Chemical 社から BB-22 を入手した。37℃の CO_2 インキュベーター内で 0, 20, 60, 180 分間代謝物の生成反応をさせ、反応溶液と同量の冷アセトニトリルを添加して反応を停止した。遠心後の上清を希釈して、LC-QTRAP-MS/MS でプロダクトイオン等に基づいて代謝物の構造推定ならびに相対定量をし、LC-Orbitrap-MS/MS で精密質量を測定した。

【結果】Carlier et al. は 180 分後のみの代謝物を解析しており、BB-22 の代謝は 92%であった。我々の場合、180 分後の代謝は 98%であった。更に我々は代謝物の時間変化を観察しており、M0・M3 群・M4 群は時間と共に増加したが、M1 群・M2 群は 20 分後か 60 分後に最大となり、180 分後には最大値の 1～26% に減少した。また M2 群の生成は非常に少なかった。従って M1 群・M2 群は 180 分後の検出が困難であったために Carlier et al. は報告されなかったと思われる。

[1] Carlier J et al. J Pharm Biomed Anal 2018, 157: 27.
[2] Minakata K et al. Forensic Toxicol 2019, 37: 164.

P-5

イミプラミンおよびデシプラミンの化学修飾

○林 英樹[1], 小川 匡之[2], 妹尾 洋[2], 石垣 友三[1], 小田 三都郎[1]

[1]名市工研, [2]愛知医大・医

Chemical modification of imipramine and desipramine

○Hideki Hayashi[1], Tadashi Ogawa[2], Hiroshi Seno[2], Yuzo Ishigaki[1], Mitsuo Oda[1]

[1]Nagoya Muni. Ind. Res. Inst., [2]Aichi Med. Univ. Sch. Med.

【目的】三環系抗うつ薬として知られているイミプラミン (Imip) およびその活性代謝物であるデシプラミン (Desi) は、ジフェニルアミンのベンゼン環同士がエチレンで架橋している化学構造をしているため、医薬関連のみならず、色素などの様々な分野における機能性材料への展開も期待できる。そこで、Imip および Desi の化学修飾による機能性材料への展開を目的として研究を行った。

【方法】まず、N-ブロモこはく酸イミドと Imip および Desi の塩酸塩 (ImipHCl、DesiHCl)のモル比 2：1 の反応によりジブロモ体(BrImipHCl、BrDesiHCl)の合成を行った。また、BrDesi と二炭酸 t-ブチル (Boc2O) との反応により N-Boc 体(BrBocDesi)の合成を行った。つづいて、BrBocDesi の熱およびトリフルオロ酢酸 (TFA) による脱 Boc 化を試みた。さらに、BrImip および BrBocDesi をモノマーとした重合反応を行った。

【結果】BrImipHCl および BrDesiHCl の化学構造は、対応する質量数の位置に、分子量 2 おきに 1：2：1 の強度比でシグナルが観測されたところからも確認できた。また、これらのジブロモ体は塩基との反応によりアミン化合物 (BrImip, BrDesi) へと変換できた。BrDesi から誘導された BrBocDesi は、熱による Boc の脱離は起こらなかったものの、TFA との反応による Boc の脱離が確認できた。BrImip と BrBocDesi は、Ni 錯体との反応により重合反応が進行し、対応するポリマー (PImip, PBocDesi) へと変換できた。また、PBocDesi は、TFA による脱 Boc 化によるポリ(デシプラミン) (PDesi)への変換が可能であった。

【考察】上記のように、Imip や Desi は、ジフェニルアミンユニットの化学構造を生かした様々な化学修飾が可能であった。上記以外にも様々な化学修飾が可能であると考えられ、さらなる機能性材料への展開が期待できる。

P-6

Dihydropyrimidine dehydrogenase 活性とピリミジン系抗がん剤 5-fluorouracil による副作用発現の関連

○前田 康博[1,2], 中島 葉子[3], 三宅 玲香[2], 堀田 祐志[2], 片岡 智哉[4], 木村 和哲[2,4], 伊藤 哲哉[3]

[1]藤田医大・共同利用研究設備サポートセンター, [2]名市大院・薬, [3]藤田医大・小児科, [4]名市大院・医

An association between dihydropyrimidine dehydrogenase activity and side effect by taking pyrimidine anticancer agent 5-fluorouracil

○Yasuhiro Maeda[1,2], Yoko Nakajima[3], Reika Miyake[2], Yuji Hotta[2], Tomoya Kataoka[4], Kazunori Kimura[2,4], Tetsuya Ito[3]

[1]Sup. Cen., Fujita Health Univ., [2]Pharm., Nagoya City Univ., [3]Pediatr., Fujita Health Univ., [4]Med., Nagoya City Univ.

【目的】核酸塩基である uracil、thymine の第一段階の代謝は dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)が担っている。DPD 活性が低下した DPD 欠損症は常染色体劣性遺伝であり、てんかん、精神発達遅滞、小頭症、自閉症など多彩な神経症状を呈する一方で、無症状例も存在する。抗がん剤として用いられる 5-fluorouracil (5-FU)も DPD で代謝されるため、DPD 欠損症患者が服用した場合、重篤な副作用が発現する可能性がある。そこで、LC-MS/MS により、5-FU 投与された患者の DPD 活性を測定し副作用発現の関連を調査した。

【方法】患者 17 名および健常人 9 名の末梢血リンパ球を分離し、MgCl2、dithiothreitol、NADPH、thymine を加え、37 ℃で 4 時間インキュベートした。反応停止後、上清を LC-MS/MS で分析した。生成した dihydrothymine(DHT)を定量し、健常人と患者で生成量を比較し、患者の酵素活性値とした。

【結果】健常人コントロールの DHT 産生平均量は、13.5 ± 2.5 pmol/4h/μg protein であり範囲は 9.3-15.7 pmol/4h/μg protein であった。5-FU 投与患者群では、DHT 生成量は 1.9-17.0 pmol/4h/μg protein となり、DPD 活性は正常平均値の 14.4-126.2%であった。健常人平均値の –2SD（8.5 pmol/4h/μg protein）以下であった患者が 3 名存在し、内 2 名は重篤な副作用は認めなかったが、活性が 14.4%と有意に低値であった 1 例では、5-FU 内服後に Grade 4 以上の副作用を認めた。

【考察】DPD 酵素活性が正常値の 14.4%であった 1 名は 80 歳男性で、胃癌治療のため TS-1 内服を開始し、14 日後に Grade 4 以上の出血性腸炎を認めた症例であった。残り 2 名において重篤な副作用は見られていないため、DPD 活性が 50%程度であれば、重篤な副作用は発現しないと考えるが、症例数が少ないため活性と副作用発現の関連の評価には、引き続き患者データを集める必要がある。

P-7

LC-MS/MS を用いた全血中糖尿病治療薬の同時定量法

○鈴木 隆佳[1,2], 小川 匡之[1,2], 上山 純[3], 岩井 雅枝[1,2], 近藤 文雄[1,4], 妹尾 洋[1,2]

[1]愛知医大・医・法医学, [2]愛知医大・薬毒物分析センター, [3]名古屋大学・院・医・病態解析学, [4]中部大・生命健康科学・生命医化学

A new method for simultaneous quantification of antidiabetic drugs in whole blood by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

○Takayoshi Suzuki[1,2], Tadashi Ogawa[1,2], Jun Ueyama[3], Masae Iwai[1,2], Fumio Kondo[1,4], Hiroshi Seno[1,2]

[1]Department of Legal Medicine, Aichi Medical University School of Medicine, [2]Poison Analysis Center, Aichi Medical University School of Medicine, [3]Department of Pathophysiological Laboratory Sciences, Nagoya University Graduate School of Medicine, [4]Department of Biomedical Sciences, Chubu University College of Life and Health Sciences

【目的】糖尿病治療薬の中には、重篤な低血糖症を起こすものや、乳酸アシドーシスによる死亡例が報告されているものもあり、法医解剖においてもそれらの血中濃度測定が重要である。また、糖尿病治療薬は、複数の薬剤が併用されたり、配合薬が処方されたりすることもあるため、それらを網羅的に分析する必要がある。今回我々は、LC-MS/MS を用いた全血中の糖尿病治療薬の同時定量法を検討した。

【方法】アセトヘキサミド、クロルプロパミド、グリクラジド、グリベンクラミド、グリメピリド、メトホルミン、ブホルミン、ピオグリタゾン、ビルダグリプチン、アログリプチンを測定対象とし、内部標準物質（IS）として、トルブタミド-d9、メトホルミン-d6、ピオグリタゾン-d4、ビルダグリプチン-d3 を使用した。測定対象薬物を添加した全血 100 µL にメタノール 100 µL、アセトニトリル 200 µL 及び IS （メタノール溶液）10 µL を添加して除タンパク処理を行い、得られた上清を乾固した後、初期移動相で溶解したものを分析試料とした。測定機器は ACQUITYTM UPLC-TQD（Waters）を、分離カラムは CAPCELL PAK INERT ADME-HR（2.0×100 mm, 3 µm, 大阪ソーダ）を用いた。移動相は 0.1% ギ酸と 0.1 % ギ酸添加アセトニトリルの 2 種類を用い、検出は ESI ポジティブモードで行った。

【結果】検量線は、アセトヘキサミド 0.01-20 µg/mL、クロルプロパミド 0.01-20 µg/mL、グリクラジド 0.005-10 µg/mL、グリベンクラミド 0.02-2 µg/mL、グリメピリド 0.01-1 µg/mL、メトホルミン 0.005-20 µg/mL、ブホルミン 0.005-5 µg/mL、ピオグリタゾン 0.0002-5 µg/mL、ビルダグリプチン 0.0002-2 µg/mL、アログリプチン 0.01-5 µg/mL の範囲で良好な直線性を示し、相関係数はいずれも 0.99 以上であった。日内及び日差再現性は、真度 98.7-107.8 %、精度 0.6-13.6 % であった。

【考察】検量線の直線性、再現性は良好であり、全血を試料とした同時定量法としての有用性が期待できる。今後さらにバリデーションを進めて測定法の確立を目指す。

P-8

自動前処理装置「ATLAS-LEXT」を用いたヒト血清からの高等植物由来毒性成分スクリーニング法の構築

○谷口 賢[1,2], 石丸 麗子[3], 地中 啓[3], 三木 昭宏[4], 片木 宗弘[4], 土橋 均[2], 石井 晃[2], 宮崎 仁志[1], 財津 桂[2]

[1]名古屋市衛生研究所, [2]名古屋大学大学院医学系研究科 法医生命倫理学, [3]石川県警科捜研, [4]大阪府警科捜研

Application of an automated sample pretreatment apparatus "ATLAS-LEXT" to rapid screening for 26 natural toxins of poisonous-plants in human serum.

○Masaru Taniguchi[1, 2], Reiko Ishimaru[3], Satoshi Chinaka[3], Akihiro Miki[4], Munehiro Katagi[4], Hitoshi Tsuchihashi[2], Akira Ishii[2], Hitoshi Miyazaki[1], Kei Zaitsu[2]

[1]Nagoya City Public Health Research Institute, [2]Dept. of Legal Medicine & Bioethics, Nagoya University Graduate School of Medicine, [3]Forensic Science Laboratory, Ishikawa Prefectural Police Headquarters, [4]Forensic Science Laboratory, Osaka Prefectural Police Headquarters

【目的】厚生労働省の統計によると、高等植物を原因とする食中毒事故が近年多発している。高等植物中の有毒成分は毒性の強いものが多く、誤って摂取した場合には重篤な症状や死に至る場合もある。このような中毒事故に対応するために、本研究ではヒト血清試料を対象とし、自動前処理装置「ATLAS-LEXT」と LC-MS/MS を組み合わせた高等植物由来毒性成分の一斉スクリーニング法の構築を試みた。

【方法】試料前処理：分析対象の毒性成分 26 種を添加したヒト血清試料に対し、島津エンジニアリング製「ATLAS-LEXT」による自動前処理を行った。自動前処理では、試料 0.5 mL を除タンパク法にて処理し、得られた上清 0.6 mL を蒸発乾固した。蒸発乾固後の残渣をマニュアル操作にて 50%メタノール 0.2 mL で再溶解し、遠心分離後に分析に供した。分析装置： NexeraX2 及び LCMS-8060（島津製作所)、分析条件：CAPCELL PAK INERT ADME-HR（2.0×150 mm, 3 µm；大阪ソーダ)、移動相：[A]5 mM ギ酸アンモニウム含有 0.1%ギ酸溶液及び[B]アセトニトリルによるグラジエント分析、流速：0.3 mL/min、イオン化法：ESI 法（positive)、測定モード：SRM

【結果】ATLAS-LEXT による試料前処理を実施した結果、1 検体当たり 30 分未満で自動前処理を完了し、全ての分析対象化合物を添加濃度 1 ng/mL の血清中から検出することが可能であった。分析対象毒性成分 26 種の最終溶媒への移行率は、47.5-108%、相対標準偏差（RSD）は 1.2－11%（n=3）であった。

【考察】自動前処理装置と LC-MS/MS を組み合わせることにより、食中毒事故発生時に迅速な対応が可能となる手法を開発した。今後、定量分析法へ拡張するため、バリデーションを実施する予定である。

P-9

LC-MS/MS を用いたヒト血清中リコリンおよびガランタミンの定量分析法

○佐々木 千寿子[1], 吉村 久仁子[2], 稲垣 泰斗[2], 村上 千香子[1], 入江 渉[1], 寺田 賢[3], 篠塚 達雄[3], 浅利 靖[2], 佐藤 文子[1]

[1]北里大学医学部法医学, [2]北里大学医学部救命救急医学, [3]横浜薬科大学病態生理学

Quantitative analysis of lycorine and galantamine in human serum using LC-MS/MS

○Chizuko Sasaki[1], Kuniko Yoshimura[2], Taito Inagaki[2], Chikako Murakami[1], Wataru Irie[1], Masaru Terada[3], Tatsuo Shinozuka[3], Yasushi Asari[2], Fumiko Satoh[1]

[1]Department of Legal Medicine, Kitasato University School of Medicine, [2]Department of Emergency and Critical Care Medicine, Kitasato University School of Medicine, [3]Department of Pathophysiology, Yokohama College of Pharmacy

【目的】リコリンおよびガランタミンはヒガンバナ科植物に含まれるアルカロイドである。ヒガンバナ科のひとつであるスイセンは、葉がニラと似ているため誤食による中毒が散見されるが、生体試料を用いた分析法の報告は少ない。軽症のケースでは血清中濃度が低く、また患者血清も少量しか得られないことが多いため、血清の高感度分析が求められる。今回、スイセンの誤食で病院搬送された軽症患者の分析を想定し、ヒト血清を用いたリコリンおよびガランタミンの LC-MS/MS 分析法について検討した。

【方法】前処理：NAGINATA 抽出法を一部改変した。血清 0.2 mL に蒸留水 0.4 mL およびステンレスビーズ 4 mm を加え混和後、アセトニトリル 0.6 mL を添加しボルテックスミキサーで撹拌した。QuEChERS AOAC パウダー0.2 g を添加し撹拌後、10,000 回転で 5 分間遠心分離し上清を分取、窒素気流下 60℃で蒸発乾固した。初期移動相 80 μL で再溶解し、15,000 回転で 10 分間遠心分離後、上清を 0.45 μm のフィルターに通し、そのろ液 1 μL を LC-MS/MS に注入した。内部標準物質はコルヒチン-d6 を用いた。装置：1290 LC-6460 Triple Quad（Agilent)、移動相：A 液；0.1%ギ酸 10 mM ギ酸アンモニウム水溶液、B 液；アセトニトリル、5% B-20 min-100% B。流速 0.2 mL/min。カラム：CAPCELL CORE PFP（2.1 mm i.d.×100 mm, 2.7 μm、SHISEIDO)、カラム温度：40℃。イオン化法：ESI。

【結果および考察】リコリン、ガランタミンおよびコルヒチン-d6 の保持時間は 3.4 分、4.1 分、7.3 分であった。検量線の相関係数は 0.01～10 ng/mL の範囲でリコリン 0.9997、ガランタミン 0.9999 で良好な直線性が得られた。PFP カラムを用いることで、C18 カラムでは分離が不良であったリコリンおよびガランタミンのピーク形状が改善された。本法の前処理により低濃度領域の検量線が良好になり、患者試料の分析に有用と考えられた。

P-10

フッ化水素酸による急性中毒死剖検例の分析

○前橋 恭子, 児玉 早, 坂本 圭菜, 室伏 美希, 岸 くみ子, 岩楯 公晴

慈恵医大・法医

Analysis of hydrofluoric acid poisoning death autopsy cases

○Kyoko Maebashi, Saki Kodama, Kana Sakamoto, Miki Murofushi, Kumiko Kishi, Kimiharu Iwadate

Department of Forensic Medicine, The Jikei University School of Medicine

【目的】フッ化水素酸はフッ化水素の水溶液であり、強い腐食作用を持つ強酸の劇物である。金属の洗浄や半導体のエッチング、フッ素樹脂の原料の他にも、衣類の染み抜き剤や鉄さびの除去剤としても利用される。我々はフッ化水素酸を服毒した疑いがある法医解剖を経験した。摂取を証明するために、Gas Chromatography - Mass spectrometry (GC-MS)を用いて、法医学的試料中のフッ化物を分析した。

【方法】解剖中に採取した血液、胃内容物と諸臓器を試料とした。Kage の方法に基づいて前処理を行い、PFBB で誘導体化後、定性分析を行った。フッ化物の定量分析は標準添加法で行った。

【結果】大腿静脈血液からフッ化物が 43.7mg/L 検出され、胃内容物および胃、脾臓、膵臓などの臓器から高濃度のフッ化物が検出された。一方、脂肪と脳からは検出されなかった。フッ化物以外では、Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometer（LC-MS／MS）および GC-MS を用いた薬物スクリーニング検査の結果、大腿静脈血液および胃内容物から認知症治療薬である Donepezil のみ検出された。なお、エタノールおよび青酸化合物は大腿静脈血液および胃内容物から検出されなかった。

【考察】日本ではフッ化水素酸の暴露による中毒例は多く報告されているが、経口摂取によるフッ化水素酸中毒死例は、林らが 1 例報告しているのみである。我々の事例の血液中フッ化物濃度は 43.7mg/L であり、林らの事例より高かった。文献によると経口摂取による中毒死例は 2.6-56.2mg/L の範囲内である。また剖検所見からも口腔内および食道粘膜、胃粘膜にびらんが観察され、噴門部から十二指腸まで黒色に腐食していたことから、死亡者が何らかの毒劇物を摂取したことが確かであった。以上から死因は急性フッ化水素酸中毒と判定した。

【文献】

1) S. Kage, Forensic Toxicol(2008)26:23-26.
2)林ら．法医学の実際と研究(2013)56:139-143.
3) AS. Manoguerra et.al. Am J Emerg Med. (1986)4:362-363

P-11

尿中薬物スクリーニングテストでコカインが陽性になった１症例

○三上 昌章, 清宮 朋子, 嶋村 文彦

千葉県救急医療センター　検査部検査科

A case of cocaine positive in a urine drug screening test

○Masayuki Mikami, Tomoko Seimiya, Humihiko Shimamura

Chiba Emergency Medical Center

【目的】コカインはコカの木に含まれるアルカロイドであり、わが国では「麻薬および向精神薬取締法」で規制されている。他の薬物に比べて使用率は低く、また生体中の代謝速度が速いため尿中薬物スクリーニングテストでコカインが陽性となった報告は少ない。
今回、原因不明の心肺停止患者の尿および血清を質量分析装置で分析したところ、コカインとその代謝物であるベンゾイルエクゴニン、エクゴニンメチルエステルを検出したので報告する。

【方法】尿中薬物スクリーニングテスト：TOX　Drug Screen（シスメックス社）を実施
LC/MS　　：alliance2695/micromassZQ　（Waters 社）
試料　　：尿および血清
前処理　：アセトニトリルと等量混合後遠心分離
分析　　：多成分同時分析法　クロマリンクスによるライブラリー検索を実施
GC/MS　　：GC System7890B/MSD5977A　（Agilent Technologies 社）
試料　　：尿および血清
前処理　：QuEChERS 法
分析　　：多成分同時分析法　NAGINATA によるライブラリー検索を実施

【結果】TOX Drug Screen では COC 陽性の結果を得た。
LC/MS では尿からコカインとベンゾイルエクゴニンが、血清からベンゾイルエクゴニンが検出された。
GC/MS では尿からコカインとメチルエクゴニンが、血清からエクゴニンメチルエステルがそれぞれ検出された。

【考察】原因不明の心肺停止患者の尿および血清からエクゴニンを検出した症例を経験した。
日本法医学会法医中毒学ワーキンググループによればコカインの証明にはベンゾイルエクゴニンとコカイン、あるいはベンゾイルエクゴニンとエクゴニンメチルエステルの検出が望ましいとされている。尿中スクリーニングテストでは偽陽性の可能性も考慮する必要があるが、今回、質量分析を行ったことで偽陽性の可能性は否定され、心肺停止に至った要因として薬物による影響の可能性があることを臨床医へ示すことができた。

P-12

LC-MS/MS による血清コルチゾル・テストステロン・アンドロステンジオン・デヒドロエピアンドロステロンサルフェート（DHEA-S）の同時定量

○風見 隆浩[1], 佐藤 守[2], 吉田 俊彦[1], 西村 基[1], 松下 一之[1], 野村 文夫[2]

[1]千葉大学　医学部附属病院　検査部, [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 cortisol, testosterone, androstenedione and dehydroepiandrosterone sulfate in serum by LC-MS/MS

○Takahiro Kazami[1], Mamoru Satoh[2], Toshihiko Yoshida[1], Motoi Nishimura[1], Kazuyuki Matsushita[1], Fumio Nomura[2]

[1]Division of Laboratory Medicine, Chiba University Hospital, [2]Division of Clinical Mass Spectrometry, Chiba University Hospital

【目的】現在の臨床検査室では、各種ステロイドホルモンなどの低分子化合物の分析には抗体を用いた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。これまでにエストロン・エストラジオールでの免疫学的測定法における問題点は報告している。そこで今回、コルチゾル・テストステロン・アンドロステンジオン・DHEA-S を対象項目として、より高感度でスループットの高い同時測定法の構築を目指し検討を行った。

【方法】千葉大学病院検査部に検査依頼され、2 次利用の同意が得られた患者の残余血清検体を用いた。キャリブレター・QC・血清 100μL を蒸留水で倍希釈し IS 20μL を添加・混和後、SLE (Supported Liquid extraction)にて抽出を行った。SLE は 96well フォーマットの ISOLUTE SLE+ を使用した。抽出溶液を乾固後に 100% メタノール 30μL で十分に溶解し、その後 0.1%ギ酸・蒸留水 70μL 加えて SRM 測定を行った。HPLC・質量分析計は医療機器である Prelude MD・Endura MD (Thermo Fisher Scientific)を用いた。

【結果】NIST SRM 971 を使用した各項目の同時再現性%CV(N=6)は男性で 1.29, 4.62, 3.03, 5.06、女性で 1.28, 3.13, 4.42, 4.86 であった。定量下限は 0.84, 0.07, 0.04, 40.6 ng/mL であった。各項目ともに現行基準範囲の下限値を下回っていた。現在実検体を用いた免疫学的測定法との比較も行っており、これについても報告する。

P-13

臨床検査試料としての爪の有用性評価: 性差、年齢及び指ごとの爪中テストステロン含量差の解析

○小川 祥二郎, 板垣 美咲, 麻生 早希, 東 達也

東京理大・薬

Evaluation of the utility of fingernail clippings as clinical sample for steroid test

○Syojiro Ogawa, Misaki Itagaki, Saki Asoh, Tatsuya Higashi

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science

【目的】爪は無侵襲的に採取可能で、中長期間の平均的内分泌情報を保存しているとされ、特に慢性疾患の検査試料として期待される。しかし、臨床検査試料としての爪の特徴については明らかにすべき点も存在する。先に我々は、疎水性の高いステロイドでは左右の爪中含量に差がないことを明らかにした。そこで本研究では LC/ESI-MS/MS を分析の方法論として、臨床検査試料としての爪の有用性を評価するために男性ホルモンであるテストステロン (T) について、手の指の爪ごとに爪中ステロイド含量に差があるのかを明らかにした。これに引き続き、爪中含量の性差や年齢差などを解析することで爪中 T 含量が体内の T 産生･分泌状態を反映するのかについても吟味した。

【実験】健常成人から採取した爪を 1 mm 角以下に細断し、乾燥 (45℃、3 h) して保存した。爪試料 (10 mg) に内標準物質 (d3-T) を含む 50% EtOH (300 μL) 中に放置 (60℃、2 h) 後、超音波抽出 (15 min) した。上清を Oasis HLB カートリッジにて精製し、LC/ESI-MS/MS (Waters Quattro Premier XE) に付した。

【結果・考察】男性の親指の爪中 T 含量と、人差し指爪中のそれと定量し、比較した結果 (各 n = 20)、これらに正の相関が認められた。しかし、両者に対しウィルコクソン符号付順位検定を行ったところ、統計学的に有意差が認められ ($p < 0.05$)、人差し指の爪中 T 含量が高値を示した。すなわち，爪中含量を定量する際には採取する爪の指を限定する必要があると考えられる。そこで、以降の爪中含量の定量には、試料量の多い左右の親指の爪を合わせて用いて行った。次に男性及び女性から採取した爪中 T 含量を比較したところ (各 n = 10)、男性では 2.23±0.71 ng/g であるのに対し、女性では 0.36±0.11 ng/g と明らかに低値を示し、爪中含量から血中 T レベルと同様の挙動が得られた。さらに 20 代から 80 代の男性について (n = 139)、爪中 T 含量定量し、その爪中含量について年齢別に解析した結果，例えば 20 代男性では爪中含量が 2.37±0.85 ng/g (n = 70) であったのに対し、60 代以上男性のそれでは 1.16±0.34 ng/g (n = 15) を示した。すなわち、爪中 T 含量も加齢に伴い減少していくことが示唆された。以上の結果を総合して、爪中含量は体内のステロイド分泌状態をそのまま反映していると考えられる。

P-14

MALDI-TOF/MS によるステロール化合物の簡易分析法の基礎的検討

○五十嵐 一雄[1,2], 中西 豊文[3], 巽 信二[2]

[1]一般社団法人医薬分析協会, [2]近畿大学医学部, [3]大阪医科大学研究支援センター

Preliminary study for simple analysis of sterols in biological fluids with MALDI-TOF/MS

○Kazuo Igarashi[1,2], Nakanishi Toyofumi[3], Tatusmi Shinji[2]

[1]Association of Medicinal Analysis, [2]Kinki University School of Medicine, [3]Osaka Medical College

【目的】ステロールはステロイドアルコールの総称で、動植物、菌類などに存在する脂質成分の一つである。代表的なものとして，動物由来のコレステロール、植物由来のフィトステロール、菌類由来のエルゴステロールなどがある。これらのステロールは生体膜の重要な構成成分としての役割を持つものと考えられる。また、体液中のステロール関連化合物は、脂質代謝の恒常性維持との関わりにおいて重要な意味をもち、病態診断のバイオマーカーになりうる。体液中の微量ステロール関連化合物の分析は、これまで GC-MS 法が主流であったが、近年ステロール構造部分の水酸基を誘導体化後に測定する LC-MS/MS 法による分析が主流となっている。体液中ステロール関連化合物の日常的検査を目的とした場合、分析手法はできるだけ簡易操作が望まれる。本研究では、誘導体化法と MALDI-TOF/MS 法とを組み合わせた簡易分析法の開発を目的に基礎的検討を行った。

【方法】今回検討に使用したステロールはコレステロール（3-ヒドロキシステロール)、テストステロン（17-ヒドロキシステロール）である。ステロールの誘導体化法として、N－メチルピリジル　エーテル作成法（FMP)、ピコリニル　エステル作成法（PIC）を用いた。誘導体化された各ステロール 1 μg をマトリックス THAD と混和し、ITO ガラスプレート上に塗布後 MALDI-TOF/MS 分析を行った。

【結果および考察】MALDI-TOF/MS 法による体液中ステロールの簡易分析法を開発する目的で、今回、ステロール化合物として、3-ヒドロキシステロールであるコレステロール、17-ヒドロキシステロールであるテストステロンを対象として分析条件の基礎的検討を行った。LC-MS/MS 法による分析に使用されている FMP 誘導体、PIC 誘導体の MALDI-TOF/MS 上のイオン強度を比較した。コレステロールの SRM における強度は、FMP 誘導体で非誘導体に比べ約 22 倍に増加し、PIC 誘導体では約 18 倍に増加した。テストステロンでは、FMP 誘導体で非誘導体に比べ約 8 倍に増加し、PIC 誘導体では約 1/3 に減少した。この結果より、ステロールの誘導体化の比較はコレステロールではイオン強度に大きな変化が見られないが、テストステロンでは誘導体により大きな相違がみられた。このことはステロール水酸基の位置の差を反映しているものと考えられる。今回使用した誘導体化法では、すべてのステロール化学構造を対象とした時、考慮すべき点があると思われた。今後、さらに誘導体化法を検討し、MALDI-TOF/MS 上のイオン強度の高いものを選択し、体液中ステロール分析に応用したい。

P-15

若手ポスター賞　対象

LC-MS/MS によるステロイドプロファイル測定に関する基礎的検討

○近藤 善紀[1,3], 涌井 昌俊[1], 本間 桂子[2], 中川 央充[2], 村田 満[1]

[1]慶大・医, [2]慶大病院・検査科, [3]シノテスト

Fundamental Study for Development of Steroid Profile by LC - MS / MS

○Yoshiki Kondo[1,3], Masatoshi Wakui[1], Keiko Homma[2], Terumichi Nakagawa[2], Mitsuru Murata[1]

[1]Lab. Med., Keio Univ., [2]Clin. Lab., Keio Univ. HP., [3]Shino-test Corp.

【目的】液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）は、幅広い分子量と極性範囲の有機化合物を直接イオン化できる方法である。ステロイドホルモン研究では、生体試料中の網羅的な分離同定が可能となる手法の開発が求められており、その診断学的検査応用が期待される。ステロイドの生体分子レンジは広く、かつ微量であることから、一斉分析系には高い検出感度が要求される。その達成には、誘導体化や LC 溶離液条件の最適化による高感度化が求められる。本発表では、複数のステロイドの高感度検出を目指して検討した結果を報告するとともに、誘導体化や溶離液条件がイオン化に及ぼす影響について考察する。

【方法】測定対象には副腎皮質ホルモンおよび性ホルモンを含む 25 種類のステロイドを用いた。装置は QTRAP5500 質量分析装置（AB SCIEX）、1260 infinity HPLC 装置（Agilent）を用いた。溶離液には超純水・メタノール（MeOH）・アセトニトリル（MeCN）を用い、各種アンモニウム塩を添加剤に用いた。混合酸無水物法によりピコリン酸を誘導体化した。

【結果】24 種中 18 種のステロイドの誘導体化を確認した。溶離液に用いる有機溶媒に関しては、MeCN に比べ MeOH の方が強い検出シグナルが得られ、誘導体化試料でも同様であった。添加剤に関しては、近年その有用性が注目されているフッ化アンモニウム（NH4F）が、ほとんどのステロイドにおいてギ酸アンモニウム系よりも検出シグナルの増大を呈した。しかし、低感度のステロイドとして知られる Δ5-3β-hydroxysteroid ではシグナルの増大は得られなかった。同様の実験を誘導体化試料へ適用した結果､誘導基を複数持つステロイドは NH4F 系で感度が顕著に減少した。

【考察】NH4F はプロトン親和性の高い誘導基のイオン化を抑制する働きがあると示唆された。用いたすべてのステロイドを誘導体化できないため、誘導体化の有無によって最適な溶離液組成が異なることは一斉分析の高感度化の障害となった。実検体で要求される検出感度を満たす条件を確立するには、グループ分けに立脚した測定系の構築も視野に入れる必要がある。

【謝辞】本研究にあたり御協力いただいた慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学教室の武林亨先生、飯田美穂先生に感謝いたします。

P-16

若手ポスター賞　応募しない[not participate]

MALDI Biotyper を用いた血液培養陽性ボトル培養液からの直接菌種同定の有益性

○里吉 和也[1], 下口 和雄[1], 荒木 秀夫[1], 佐藤 晃[2], 青木 信子[2], 西山 宏幸[2], 中山 智祥[1,2,3]

[1]日本大学病院 臨床検査部, [2]日本大学医学部附属板橋病院 臨床検査部, [3]日本大学医学部病態病理学系臨床検査医学分野

Benefit of the direct identification of bacteria from positive blood culture bottles using MALDI Biotyper

○Kazuya Satoyoshi[1], Kazuo Shimoguchi[1], Hideo Araki[1], Akira Sato[2], Nobuko Aoki[2], Hiroyuki Nishiyama[2], Tomohiro Nakayama[1,2,3]

[1]Clinical Laboratory Center, Nihon University Hospital, [2]Clinical Laboratory Center, Nihon University Itabashi Hospital, [3]Division of Laboratory Medicine, Department of Pathology and Microbiology, Nihon University School of Medicine

【目的】血液培養は菌血症が疑われる患者の診断と治療に大きく影響する重要な検査である。血液培養が陽性の場合、起炎菌の迅速な同定は患者の治療方針の決定に重要であり、適切な抗菌薬治療に結びつく。近年、迅速な菌種同定を可能とする質量分析装置が病院微生物検査室に普及しつつあるが、質量分析装置が導入されている施設においても通常の運用では血液培養陽性後、培養液を培地に塗布し形成したコロニーから同定検査を実施するため半日から 1 日を要しているのが現状である。また、血液培養陽性ボトルの培養液から直接同定できるキットが販売されているが、1 菌種の同定に約 800 円と高コストである。以上のことから、コロニーの発育を待たずに血液培養陽性ボトルの培養液から直接同定を行うための新たな前処理法を考案し性能評価を行ったので報告する。
【方法】日本大学医学部附属板橋病院で血液培養陽性となり、単一菌が検出された 100 検体を無作為に抽出して対象とした。直接同定は、質量分析の同定に影響を与える血球を除去するために HbA1c 測定用自動分析装置に搭載されている溶血・洗浄液 80H-C（アークレイ）を前処理試薬として用いた検体で測定した。また、培地に発育したコロニーをターゲットプレートに直接塗布するセルスメア法で同定を行い、それぞれの結果を比較した。なお、血液培養自動分析装置はバクテック FX（日本 BD）を使用した。
【結果】単一菌が検出された 100 検体のうち、直接法で菌種名が得られたのは 98 検体（98%）であり、Staphylococcus aureus 1 株、Staphylococcus epidermidis 1 株が同定不能であった。また、得られた菌種名は全てセルスメア法と同定が一致した。同定された主要検出菌の同定率は、腸内細菌 100%（36 株）、S. aureus 95.6%（23 株）、CNS 95.8%（24 株）であった。
【考察】血液培養ボトルの培養液から直接同定を行うことは、早期に適切な抗菌薬の選択に繋がる。今回検討した前処理法を使用した直接同定で菌種名を得ることができれば、セルスメア法との一致率は 100%のため、血液培養検査の迅速化と質の向上を図ることができる。溶血・洗浄液 80H-C を前処理試薬として用いた直接同定は、同定性能が優れており有用性が高く、迅速に臨床へ菌種名の報告をすることの有益性は非常に大きいと考える。

P-17

塩化アンモニウム溶血剤とメンブレンフィルター を用いたMALDI-TOF MS による血液培養ボトルからの細菌迅速同定前処理法の開発

○土田 祥央[1], 村田 正太[2], 宮部 安規子[2], 佐藤 守[1], 滝脇 正貴[1], 松下 一之[2,3], 野村 文夫[1,3]

[1]千葉大学医学部附属病院MS検査診断学, [2]千葉大学医学部附属病院検査部, [3]千葉大学医学部附属病院遺伝子診療部

An improved in-house lysis-filtration protocol for bacterial identification from positive blood culture bottles with high identification rates by MALDI-TOF MS.

○Sachio Tsuchida[1], Syota Murata[2], Akiko Miyabe[2], Mamoru Satoh[1], Masaki Takiwaki[1], Kazuyuki Matsushita[1,2,3], Fumio Nomura[1,3]

[1]Clin. MS, Chiba Univ. Hosp., [2]Clin. Lab,Chiba Univ. Hosp., [3]Clin. Genet, Chiba Univ. Hosp.

【目的】血液培養は、血流感染症の診断に欠かせない検査である。細菌迅速同定における必須の手法になりつつあるMALDI–TOF MSを用いた血液培養陽性ボトルからの細菌直接同定は早期診断や治療に貢献できる手法として有用性が高いと報告されている。一般細菌の質量分析計同定能力についての評価はほぼ定まり、抗酸菌や糸状菌の同定への応用が進んでいるが、臨床現場において統一されたMALDI–TOF MSによる血液培養ボトルからの細菌同定前処理法はなく，施設ごとに独自の方法が用いられていることが大きな課題の一つである。また血液培養液にはヘモグロビンを初めとして細菌以外の蛋白質が大量に含まれており、菌体を選択的に回収するための血球分離等の前処理が必須である。今回、ディスポーザブルタイプのろ過デバイスで微生物等の回収に用いられるメンブレンフィルター(37 mm クオリティモニター,日本PALL社)と「塩化アンモニウム溶血剤」を組み合わせた細菌迅速同定前処理法を開発した。

【方法】2016年6月～2018年3月に培養陽性となった117件を対象とした。陽性ボトルをSepsityper® kit法（Bruker Daltonics社）と今回のフィルター法で前処理を行い、MALDI Biotyper（Bruker Daltonics社）で測定を行った。評価は同定スコア≧1.7と≧2.0による両法の同定率を比較した。

【結果】各方法の同定率を示す（フィルター法≧2.0【≧1.7】，Sepsityper® kit法≧2.0【≧1.7】)。グラム陰性菌50株: 98%【100%】，86%【98%】,グラム陽性菌67株: 76 %【98%】, 43%【76%】， 黄色ブドウ球菌19株：89%【100%】，58%【79%】，CNS 26株: 62%【100%】，23%【65%】であった。

【考察】本法のスコア2.0以上とスコア1.7以上における同定成績はSepsityper® kit法より良好であり、臨床的有用性が確認された。本法は主にシリンジ操作によるメンブレンフィルター法であり、細菌をメンブレン上に補足するため遠心することなく簡便な前処理を可能とする。今回の塩化アンモニウム溶血剤とメンブレンフィルター を用いたMALDI–TOF MSによる血液培養ボトルからの細菌同定前処理法は細菌迅速同定に有効な前処理方法として十分に活用できるものと考えられる。

参考文献

1.Tsuchida S et al., J Microbiol Methods.148:40-45 (2018)

P-18

MALDI-TOF MS 法による感染症起因菌迅速同定に関する最近 1 年間の成果

柴田 有理子[1]、舌 智香子[1]、中野 雅巳[1]、野尻 敬子[1]、南 健太[1]、大西 舞[1]、
○中西 豊文[2]

[1]中央検査部 大阪医科大学病院、[2]研究支援センター 大阪医科大学

Assessments of the rapid identifications of microorganism in clinical samples by the MALDI-TOF MS in 2019

[1]Yuriko Shibata, [1]Chikako Zetsu, [1]Masami Nakano, [1]Keiko Nojiri, [1]Kenta Minami, [1]Mai Oonishi, ○[2]Toyofumi Nakanishi

[1]Central Clinical Laboratory, [2]Research and Development Center, Osaka Medical College

【目的】マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法（Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry：MALDI-TOF MS）を用いた微生物同定法は、微生物特有の 16S リボソームタンパク質を主成分とした菌体由来分子のマススペクトルパターンと既知標準菌株ライブラリーと比較照合し、感染起因菌を同定する。本 MS 法は、従来法に比して特異性・迅速性に優れている。我々の検査室では、血液／尿／糞便／喀痰／組織等の臨床サンプルから培養発育した細菌や微生物／培地上の発育コロニーを対象に MALDI-TOF MS による微生物同定を実施している。一方、菌血症・敗血症等の起因菌を検出・同定検出する場合は、培養コロニーではなく血液培養陽性培養液から直接同定する方法も実施している。今回、本 MS 法による最近 1 年間における微生物迅速同定の成績を報告する。

【方法】今回、中央検査部細菌検査室にて同定不能／未確定試料 19 サンプルを解析対象に選んだ。培地上に発育したコロニーを 1μ白金耳等で直接採取し MALDI 用 Plate に載せ、更に CHCA（イオン化試薬）1μL 滴下混合・乾燥後、MALDI-TOF MS 測定を行う方法（スメア法）と 70%ギ酸 1μL を滴下乾燥後、更に CHCA1μL 滴下乾燥後、MS 測定する方法 (抽出法)を用いた。測定装置は AutoflexSpeed、ソフト Biotyper Ver3.0（Bruker Daltonics 社）を用いた。同定成績は、1st 菌名 Score2.0 以上で得られた場合に ”優位菌正解”とした。

【結果及び考察】19 例の内訳は、血液 8 例、血液培養 4 例、ドレーン液 2 例、組織 2 例、その他 3 例であった。優位菌正解は 14 例、5 例は未確定であった。

P-19

若手ポスター賞　対象

新生児マススクリーニング対象の有機酸代謝異常症の鑑別を目的としたLC-MSによる有機酸分析法の検討

○植柳 泰, 門司 宜久, 松本 信也, 瀬戸山 大樹, 堀田 多恵子, 康 東天

九州大学病院 検査部

Development of LC-MS method for the chemical diagnosis of organic acid disorder

○Yasushi Ueyanagi, Norihisa Monji, Shinya Matsumoto, Daiki Setoyama, Taeko Hotta, DongChon Kang

Dept of CCLM, Kyushu univ hosp

【背景および目的】有機酸代謝異常症の診断は血液ガスなどの一般検査だけでは困難であり、診断の確定には有機酸分析検査が不可欠である。当院では有機酸分析検査は外部委託にて実施しており、結果報告までに1〜2週間を要している。しかし、有機酸代謝異常症は急性の経過をとることが少なくなく、結果報告までに多くの日数を要していることは臨床現場が抱える不満となっている。この現状を解決すべく、当院では有機酸分析の院内実施を目的として、液体クロマトグラフィー-質量分析（LC-MS）による有機酸分析法の検討を行った。

【方法】新生児マススクリーニング対象となる有機酸代謝異常症7疾患の鑑別に有用な有機酸11種を測定対象とした。試料はメタノールにて除蛋白後、3-ニトロフェニルヒドラジン（3-NPH）による有機酸の誘導体化を行った。質量分析計測には液体クロマトグラフィー質量分析装置（LCMS-8040，島津製作所）を用いてMRMモードにて測定を行った。

【結果および考察】測定対象となる有機酸11種の同時測定法を立ち上げた。本法によるプロピオン酸血症、メチルマロン酸血症患者の血液試料の分析において、各疾患の診断指標となる有機酸を認めることができ、実際の診断と矛盾しない結果が得られた。この結果は、今回確立した分析法が対象となる有機酸代謝異常症の鑑別に有用である可能性を示している。また、本法は試料の前処理も簡便で測定時間も比較的短い分析法であり、院内で日常的に行う分析法として実用性の高い方法であることが期待される。今後さらに検体数を重ねて本法の有用性を検証し、有機酸分析の院内実施の実現を目指していきたい。

P-20

GCMS 分析による尿中 2-hydroxyglutarate 上昇の病態検討

○張 春花[1], 金 明姫[1], 阮 宗海[1], 王 旭陽[1], 宋 傑[1], 大阪 康宏[2], 笹川 寿之[2]

[1]ミルスインターナショナル研究開発部, [2]金沢医科大学産科婦人科学講座

Pathological study of high level 2-hydroxyglutarate in urine by GCMS analysis

○Chun-hua Zhang[1], Mingji Jin[1], Zonghai Ruan[1], Xuyang Wang[1], Jie Song[1], Yasuhiro Osaka[2], Toshiyoki Sasagawa[2]

[1]MILS International, [2]Kanazawa Medical University

【目的】2-hydroxyglutarate (2HG)は、D と L 光学異性体があり、両方とも TCA サイクルのメンバである 2-oxoglutarate より産生され、エネルギー代謝に直接関与している代謝中間体である。2HG の異常増加は、D-2HG 尿症と L-2HG 尿症及び D/L-2HG 尿症の 3 つの先天性代謝疾患と報告されているが、悪性疾患の神経膠腫などにも上昇すると注目されている。今回過去経験した 3 つの先天性 2HG 尿症患者と女性癌患者の尿中 2HG 排泄量を再検討しましたので、その結果を報告する。

【方法】当施設に代謝異常症の検査依頼してきた患者の尿中 2HG 上昇患者のなか 7 名とメタボローム解析目的とした女性癌患者 31 名、対照者 21 名の尿中 2HG および TCA サイクルメンバー成分を分析した。尿中 2HG および TCA サイクルメンバー成分の測定は既報ウレアーゼ処理法の GCMS 分析法で行った

【結果】L-2HG 5 症例は、いずれも尿中 2HG の著明な上昇を認めたと共に、痙攣と発達遅延及び大脳白質と小脳の変異があった。D-2HG 症例は、尿中 2HG の軽度 3〜4 倍上昇を認めたと共に、発達遅延、痙攣発作あり、てんかんと診断した。D/L 2HGU 症例は、尿中 2HG の極軽度 1.7〜2.6 倍上昇した。1 歳から運動発達遅延に気付け、7 歳時明らかな智能・運動発達障害を認めた。女性癌患者 31 名尿 2HG の平均値 0.124 であり、対照者の 0.070 に比べ増加傾向見られた。TCA サイクルメンバー成分もクエン酸を除いて 2HG と同様な傾向を確認できた。

【考察】尿中 2HG の排泄量より、D-2HG 尿症と L-2HG 尿症及び D/L-2HG 尿症の 3 つの病態解析に可能となる結果が得られた。今後光学異性体測定や遺伝子解析不能場合の病態診断に繋がれる。癌患者の 2HG とクエン酸以外の TCA サイクルメンバーの上昇傾向が、既報癌細胞のエネルギー代謝亢進に伴い、ミトコンドリアクエン酸キャリア機能低下生じたと考え、二次的に細胞質にクエン酸低下と考える。また、癌患者の上昇した 2HG の光学異性体は D と L のどちら優位のかを今後さらに検討進めてゆきたい。

P-21

尿代謝プロフィル解析で発見した中国人メバロン酸血症１例

○金 明姫, 張 春花

ミルスインターナショナル研究開発部

A case of Chinese mevalonic acidemia discovered by urine metabolic profile analysis

○MingJi Jin, ChunHua Zhang

MILS International

【目的】メバロン酸血症はコレステロール生合成経路に関わるメバロン酸キナーゼ（MK）の活性低下により発症する常染色体劣性遺伝形式の代謝疾患である。軽症型は乳幼児期から繰り返し発熱とリンパ節腫脹、肝脾腫、関節炎などの自己炎症性症状を呈し、重症型はさらに成長障害、精神運動発達障害と筋緊張低下など小脳失調症状まで進展し、死に至るケースも報告されている。現在200 例しか報告されてない。尿の GC/MS 分析より、メバロン酸の異常排泄が、診断の有力証拠である。今回、GC/MS を用いた尿代謝プロフィル解析で初めてメバロン酸血症例を経験したので報告する。

【症例と方法】症例：2016 年 4 月生まれ，2 歳 11 ヶ月の中国人女児，今回の受診まで肝脾腫大、発育遅延、発熱等が原因で 7 回入退院を繰り返したが、診断がつかず原因不明だった。2 歳 11 ヶ月現在、上述症状に加え、関節の腫大がひどくなり、両肘と両膝の伸展障害が生じ、当施設に代謝異常症のハイリスクスクリーニングを依頼した。尿代謝プロフィル解析を行った。尿検体は既報ウレアーゼ処理法で前処理した後、GC/MS 分析を行った。GC/MS 分析には JEOL 社の JMS-K9 を使用した。当施設の代謝異常症解析プログラムでデータ解析を行った。

【結果】尿代謝プロフィル解析で、メバロノラクトン（健常者の 1200 倍）の高排泄が認められた。メバロン酸血症と化学診断した。

【考察】今回初めて中国人メバロン酸血症 1 例を当施設の尿代謝プロフィル解析で発見した。臨床所見や病歴情報を合わせ、既に報告されたメバロン酸血症症例と一致し、過去当施設が参加した 2017 と 2018 年ヨーロッパの精度管理検体メバロン酸血症症例も経験の上、本症例は確定診断に至った。GC/MS 分析で尿中メバロノラクトンの検出がメバロン酸血症の化学診断に有効な方法であるが、寛解期症例にメバロノラクトンの検出は難しく、偽陰性の場合もあるので、臨床症状よりメバロン酸血症を疑う症例の化学診断は、発作時または発熱時の尿採取に注意すべきである。

P-22

GC/MS 分析による α－ケトアジピン酸尿症と α－アミノアジピン酸尿症の尿代謝プロファル特徴検討

○阮 宗海, 張 春花, 王 旭陽, 金 明姫, 唐 剣慈, 万 婷婷, 宋 傑, 王 恬

ミルスインターナショナル

A study of characteristics of urinary metabolic profile of α-ketoadipic aciduria and α-aminoadipic aciduria by GC / MS analysis

○Zonghai Ruan, Chunhua Zhang , Xuyang Wang, Mingji Jin, Jianci Tang, Tingting Wan, Jie Song, Tian Wang

MILS International

【目的】α－ケトアジピン酸尿症と α－アミノアジピン酸尿症はトリプトファン、リジン、ヒドロキシリジンの代謝障害に起因する稀な先天代謝異常症である。α－アミノアジピン酸、α－ケトアジピン酸、および α-ヒドロキシアジピン酸の尿中異常排泄により化学診断を行う。今回 GC/MS 分析による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が化学診断に準じる α－ケトアジピン酸 6 例と α－アミノアジピン酸尿症 1 例を発見した。それぞれの尿代謝プロフィルを解析し、その特徴について検討しご報告する。

【方法】過去 5 年間先天性代謝異常症のハイリスクスクリーニングで当施設に依頼してきた中国人患者 70991 人の尿を用いて、既報ウレアーゼ処理法で前処理した後、GC/MS 分析を行った。GC/MS データ解析は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】化学診断に準じる α－ケトアジピン酸尿症は 6 例の尿代謝プロフィルが α－アミノアジピン酸、α－ケトアジピン酸、および α－ヒドロキシアジピン酸の異常排泄と伴にすべての症例がグルタル酸の上昇も認めった。その中 1 例は上記したような異常代謝産物の著明な増加にピペコリン酸の上昇も確認された。また 1 例は楓糖尿症に似た尿代謝プロフィルを伴った。化学診断に準じる α－アミノアジピン酸尿症 1 例の尿中 α－アミノアジピン酸とグルタル酸の上昇が確認できた。

【考察】当施設の代謝異常症解析プログラムより、α－アミノアジピン酸、α－ケトアジピン酸、および α－ヒドロキシアジピン酸の検出状態で α－ケトアジピン酸尿症と α－アミノアジピン酸尿症を有効に化学診断できる。過去の本症患者尿中にグルタル酸の上昇メカニズムは腸内細菌により生産されるとする説と分析過程に生じる人工産物とする説があったが、今回我々の 7 例全症例尿中グルタル酸の上昇があったため、グルタル酸上昇は本疾患の代謝特徴だと考えられる。ピペコリン酸の上昇と楓糖尿症に似た変化を伴う現象は本疾患の代謝経路との関係がまだ不明であるが、代謝産物プロフイルの異常は遺伝子レベルの異常の表すと考え、今後症例数を重ね、酵素活性及び遺伝子解析結果と合わせて更なる α－ケトアジピン酸尿症と α－アミノアジピン酸尿症の代謝プロフイル特徴を解明してゆきたい。

P-23

若手ポスター賞　対象

乾燥濾紙血と LC-MS/MS を利用したレッシュ・ナイハン症候群における HPRT 活性測定法の確立

○三宅 玲香[1], 前田 康博[2,3], 中島 葉子[4], 伊藤 哲哉[4], 堀田 祐志[3], 片岡 智哉[5], 木村 和哲[1,3,5]

[1]名市大・薬, [2]藤田医大・共同利用研究設備サポートセンター, [3]名市大院・薬, [4]藤田医大・小児科, [5]名市大院・医

Development of an assay for HPRT activity using dried blood spots and LC-MS/MS

○Reika Miyake[1], Yasuhiro Maeda[2,3], Yoko Nakajima[4], Tetsuya Ito[4], Yuji Hotta[3], Tomoya Kataoka[5], Kazunori Kimura[1,3,5]

[1]Pharm. Sci., Nagoya City Univ., [2]Spt. Ctr., Fujita Health Univ., [3]Pharm. Sci., Nagoya City Univ., [4]Pediatr., Fujita Health Univ., [5]Med., Nagoya City Univ.

【目的】レッシュ・ナイハン症候群(LNS)は、hypoxanthine を inosine monophosphate (IMP)に変換する hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT)の欠損により発症するプリン代謝異常症であり、高尿酸血症、精神遅滞、自傷行為を呈する X 連鎖性疾患である。我々は LNS の診断および重症度の判定法として乾燥濾紙血(DBS)を用いた酵素反応と、LC-MS/MS を利用した $^{15}N_4$-IMP 定量による HPRT 活性測定法を検討した。

【方法】7mm 径 DBS に Tris-buffer を加えて振とうし、抽出液に $^{15}N_4$-hypoxanthine, phosphoribosyl diphosphate, $MgCl_2$ を加え 37℃で 20 分間インキュベートした。反応停止後 LC-MS/MS で分析した。カラムに COSMOSIL PBr (Nacalai, 2.1 x 150 mm)、移動相に A: 50mmol/L $HCOONH_4$, B: acetonitrile を使用し、B: 0%から 42%のグラジエント分析を行った。検出は MRM モードで行った。健常人 5 名の DBS を用いて室温、4℃、−20℃における保存条件の検討を行い、LNS 患者 6 名の HPRT 活性を測定した。

【結果】上記酵素反応によって $^{15}N_4$-IMP が生成し、LC-MS/MS によって高感度に分析可能であった。健常人の DBS を 4℃および−20℃で保存した場合は採血後 3 ヶ月まで $^{15}N_4$-IMP の生成量に変化無かったが、室温保存では 14 日目以降に生成量が減少した。LNS 患者 6 名の $^{15}N_4$-IMP 生成量は検出限界以下であった。

【考察】Hypoxanthine, IMP は血中に含まれているため、酵素反応に安定同位体でラベルした $^{15}N_4$-hypoxanthine を用いることで正確な HPRT 活性を測定出来た。DBS を 4℃または−20℃で保存することによって、採血から 3 ヶ月後まで HPRT 活性測定が可能であった。また LNS 患者において HPRT 活性を示さなかったことから、この測定方法が LNS の診断に有用であるといえる。

P-24

LC-MS/MS を用いたライソゾーム病原因酵素の同時測定法の検討

○真嶋 隆一, 大平 麻里, 奥山 虎之

国立成育医療研究センター

Measurement of 11 enzyme activities of lysosomal storage disorders using LC-MS/MS

○Ryuichi Mashima, Mari Ohira, Torayuki Okuyama

NCCHD

【目的】近年、質量分析法の特徴である多重反応モニタリング(MRM)を利用したライソゾーム病における原因酵素活性測定法の開発が進んでいる。我々も以前の研究において、質量分析法を用いたライソゾーム病 6 疾患（ポンペ病、ファブリー病、MPS I、ニーマンピック病 A / B 型、ゴーシェ病、クラッベ病）と 3 疾患（MPS II、MPS IVA、MPS VI）それぞれの原因酵素活性同時測定法の検討を行なってきた。本研究ではこれまで検討した 9 疾患に加え、MPS IIIB と MPS VII の原因酵素である α-N-アセチルグルコサミニダーゼ（NAGLU）とグルクロニダーゼ（GUSB）を追加した計 11 疾患の原因酵素活性同時測定法の検討を行ったので報告する。

【方法】測定装置は超高速液体クロマトグラフ Acquity が接続されたタンデム質量分析装置 Quattro Premier XE （Waters）を使用した。酵素活性は 3 mm DBS を酵素源として基質溶液（30μL）を添加し、37 ℃で 20 時間反応させたのち、生成物を定量することにより算出した。NAGLU と GUSB の基質および内部標準物質はワシントン大学の Michael H. Gelb 先生より御供与して頂いた。それ以外の酵素活性測定用基質および QC DBS（正常値および低値の 2 種）はパーキンエルマー社（横浜）より購入した。

【結果】LC-MS/MS を用いて 11 種の酵素反応生成物と内部標準物質が 2 分/検体で分析できる方法を構築した。その後 QC DBS を用いて検量線を作成し良好な直線性を確認した。それぞれの日間誤差は 20 %以下であった。

【考察】本測定方法は迅速な定量が可能であり、今後、臨床検体への応用が期待される。

参考文献

1) Peake RW, Marsden DL, Bodamer OA et al., Clin Chem. (2016) 62(11):1430-1438.
2) Mashima R, Sakai E, Kosuga M et al., Mol Genet Metab Rep. (2016) 9:6-11.
3) Mashima R, Okuyama T. Mol Genet Metab Rep. (2017) 12:110-114.
4) Mashima R, Ohira M, Okuyama T et al., Mol Genet Metab Rep. (2017) 14:36-40.
5) Ohira M, Okuyama T, Mashima R. Mol Genet Metab Rep. (2018) 17:9-15.

P-25

若手ポスター賞　対象

グローバルメタボロミクスによるニーマンピック病C型患者血液に特徴的なピーク探索

○前川 正充[1,2], 岩堀 杏南[2], 金光 祥臣[1], 三枝 大輔[1,3], 山口 浩明[1,2,4], 眞野 成康[1,2]

[1]東北大病・薬, [2]東北大・薬, [3]東北大・東北メディカルメガバンク, [4]山形大病・薬

Discovery of characteristic peaks in Niemann-Pick disease type C by global metabolomics

○Masamitsu Maekawa[1,2], Anna Iwahori[2], Yoshitomi Kanemitsu[1], Daisuke Saigusa[1,3], Hiroaki Yamaguchi[1,2,4], Nariyasu Mano[1,2]

[1]Pharm Sci, Tohoku Univ Hosp, [2]Pharm Sci, Tohoku Univ, [3]ToMMo, Tohoku Univ, [4]Pharm Sci, Yamagata Univ Hosp

【背景・目的】ニーマンピック病C型 (NPC) はコレステロール輸送タンパク質の遺伝子変異に基づく遺伝病であるが、様々な病態発現における分子機構や、関連代謝物の変化は未だ十分に解明されていない。我々は、液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析 (LC/MS/MS) を用いて検体中に含まれる成分を網羅的に検出し、半定量解析するグローバルメタボロミクス (Saigusa, D., et al., PLoS ONE, 2016) を、疾患代謝解析に応用してきた (Sato, T., et el., Int. J. Cancer, 2019)。そこで本研究では、NPC 患者血液中の特徴的な代謝物の探索にグローバルメタボロミクスを適用した。

【方法】高精密質量分析装置 Orbitrap Fusion (Thermo Fisher Scientific) に UHPLC 装置 Vanquish (Thermo Fisher Scientific) を接続し、分析に用いた。分析カラムには InertSustain Bio C18 (2.1 mm i.d.×150 mm, 1.9 μm) を、移動相 A および B にはそれぞれ、5 mM 酢酸アンモニウムを含む、メタノール／アセトニトリル／水 (1:1:8, v/v/v) 混合液とアセトン／イソプロパノール (1:1, v/v) 混合液を用いた。37 例の NPC 患者と 45 例の健常人から得た血清をアセトニトリルで除タンパクし、10 倍希釈した試料につき、正負イオンモードで 1 回ずつ分析した。全測定データを Progenesis QI (Waters) で補正・ピーク抽出後に、SIMCA (Umetrics) で多変量解析に付し、NPC 患者で特徴的に増減するピークを抽出した。

【結果・考察】負イオンモードでは、NPC 患者血清で 10 ピークの増加と、10 ピークの減少が認められた。NPC で増加したピークのうち、2 ピークはリゾリン脂質類と推測されたほか、1 ピークは既報の Lysosphingomyelin-509 (Giese, A. K., et al., Orphanet J Rare Dis., 2015) と一致した。Lysosphingomyelin-509 と増加ピーク同士は強く相関することもわかった。また、減少したものの多くは、植物ステロールやビタミン D 代謝物類と推測されるものが多かった。また、正イオンモードでも、リゾリン脂質類と推測される計 22 ピークの増加と、トリグリセリド類など 40 ピークの減少が認められた。現在、各物質の同定作業を進めている。

P-26

脂肪酸酸化異常症患者末梢単核細胞を用いた代謝トレーサー研究

○重松 陽介[1,2], 湯浅 光織[1]

[1]福井大学医学部小児科, [2]宇治徳洲会病院小児科

In vitro study using stable-isotope-labeled fatty acid and peripheral mononuclear cells of patients with fatty acid oxidation disorder

○Yosuke Shigematsu[1,2], Miori Yuasa[1]

[1]Department of Pediatrics, University of Fukui, [2]Department of Pediatrics, Uji-Tokushukai Medical Center

【目的】先天性脂肪酸酸化異常症の重症度を生化学的に評価するためには、代謝異常部位を適切に理解する必要がある。β 酸化系酵素については親和性の異なる複数の基質が存在するため、培養線維芽細胞や末梢血単核球を用いて酵素活性を測定する場合、どの基質を選択するかで評価が異なる可能性がある。また、基質が複数の酵素で重複していることも考慮する必要がある。特に、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素(VLCAD)欠損症患者で血中に炭素数 14 の不飽和アシルカルニチン(C14:1)が増加することと基質特異性に基づく酵素機能異常との関係は未だ解明されていない。今回、末梢血単核球に安定同位体標識脂肪酸を負荷して細胞内標識アシルカルニチンをモニターし病的酵素の機能評価を試みた。

【方法】単核球はヘパリン加血から Ficall-Paque 液を用いて分取し、洗浄後カルニチンと安定同位体標識脂肪酸（3%fatty acid-free BSA に溶解）を含む Dulbecco's-PBS に浮遊させ、37℃で 2 時間培養した。培養液を遠沈して回収した単核球をメタノールで破砕し、新生児スクリーニング用の内部標準液を加え、アシルカルニチンを測定した。

【結果】d31-パルミチン酸を負荷した場合、VLCAD 欠損症患者単核球では d27-C14 アシルカルニチンが蓄積し、d23-C12 アシルカルニチンが相対的に減少した（対照と比べ d23-C12/ d27-C14 比が有意に低下した)。d33-オレイン酸を負荷した場合、d21-C12:1/ d25-C14:1 比は VLCAD 欠損症と対照とで差が見られず、d19-C10/ d21-C12:1 比が VLCAD 欠損症で低下していた。

【考察】VLCAD は炭素数 18〜12 のアシル CoA に対して基質親和性があるとされており、β 酸化系の最初のステップである脱水素反応を触媒する。VLCAD 欠損症では炭素数 14 から 12 の β 酸化段階での機能障害が強く表現されると考えられおり、VLCAD 活性は C16 アシル CoA を基質とし C16:1 アシル CoA の産生量で評価される。しかしながらこの酵素活性は VLCAD 欠損症患児の種々の病態評価指標（血清中 C14:1 アシルカルニチン濃度上昇など）と必ずしも相関しない。今回の d33-オレイン酸負荷試験結果は、VLCAD 欠損症患者単核球においては VLCAD ではなく isomerase に変調を来していると判断される結果であった。不飽和脂肪酸代謝については不明のことが多く、更に検討が必要と考えられた。

P-27

若手ポスター賞　対象

安定同位体培養法を用いた Escherichia coli 由来 ^{13}C 置換一次代謝物の作製

○別府 滉大[1], 岡林 瑞希[1], 六車 宜央[1], 原田 修一[2], 井之上 浩一[1]

[1]立命館大学・薬, [2]林純薬工業株式会社

Procreation of ^{13}C stable isotope metabolites from Escherichia coli

○Kodai Beppu[1], Mizuki Okabayashi[1], Yoshio Muguruma[1], Shuichi Harada[2], Koichi Inoue[1]

[1]Pharm, Ritsumeikan University, [2]Hayashi Pure Chemical Ind.,Ltd

【目的】近年、ワイドターゲットメタボロミクス（Widely Targeted Metabolomics, W-TMet）という概念のもと、多種代謝物を液体クロマトグラフィータンデム質量分析法（LC-MS/MS）により定量し、多変量解析や代謝マップなどへ展開する技術が注目されている。我々は、アルツハイマー型認知症の脳脊髄液から 97 種類のアミノ代謝物の W-TMet を報告し、その有用性を示すことができた 1)。その一方で、数多くの代謝物の解析を実施するとき、多くの化合物の正確な定量値を LC-MS/MS で算出する必要がある。しかしながら、生体試料の前処理やイオン化などの影響により、再現性のあるデータを得ることが困難である。また、数多くの代謝物の安定同位体標識を入手し、すべてを補正することも現実的ではない。つまり、安定同位体標識された代謝物の混合物を作製し、W-TMet に展開することで本問題の解決となる。
本研究では、Escherichia coli（K12 株）を用いた安定同位体培養法を構築し、W-TMet 用内標準混合物の作製を目的とした。

【方法】W-TMet 対象物質はピルビン酸を含む TCA 回路代謝物である α-ケトグルタル酸、フマル酸、オキサロ酢酸、コハク酸、クエン酸の 6 種類とした。LC-MS/MS 装置は ACQITY UPLC H-Class/Xevo TQD（Waters 社製）を用い、ESI-ポジティブモードとした。カラムは ACQUITY UPLC BEH C18 (1.7 μm, 2.1×100 mm: Waters 社製) を使用し、移動相は 0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸メタノール溶液を用いた。また、O-ベンジルヒドロキシルアミン（O-BHA）誘導体化反応を適用した。

【結果・考察】安定同位体培養法の培養条件を検討した結果、グルコース/リン酸緩衝液/硫酸鉄含有培地において、Escherichia coli から TCA 回路代謝物が産生された。その後、安定同位体炭素（^{13}C-グルコース）源による培養結果から、各産生物質の炭素がすべて ^{13}C に置換された安定同位体が検出された。本方法によって得られた Escherichia coli 代謝物混合物は LC-MS 用内標準物質として利用できるものであった。今後は、更なる代謝物の拡大に伴い W-TMet への応用を目指すこととする。

【引用文献】
1) Muguruma, Y., et al., J. Chromatogr. B, 1091, 53-66 (2018)

P-28

安定同位体標識内部標準を用いたヒト血清試料のアミノ酸定量分析手順の評価

○池田 明夏里[1], 寺内 勉[1], 横山 順[1], 杉浦 悠毅[2]

[1]大陽日酸株式会社, [2]慶応義塾大学

An evaluation of protocols for the quantification of amino acids in human serum using Stable Isotope Labeled Internal Standard (SILIS)

○Akari Ikeda[1], Tsutomu Terauchi[1], Jun Yokoyama[1], Yuki Sugiura[2]

[1]TAIYO NIPPON SANSO CORPORATION, [2]Keio University

【目的】生体内の様々な代謝物を網羅的に解析しようとするメタボローム解析は、生体機能の解明や疾患メカニズム、バイオマーカー探索などに幅広く応用されている。代謝物量を測定する定量メタボロミクスにおいては、対象化合物の安定同位体標識内部標準物質 (SILIS) を用いて定量解析を行うが、少量多品種の内部標準物質を準備するのは手間とコストがかかる。そこで我々は、安定同位体標識アミノ酸 20 種を凍結乾燥品で混合した「質量分析用安定同位体標識アミノ酸(20 種)カクテル」を開発した。そこで、この製品を用いて各濃度域での定量結果への補正効果を評価し、本内部標準をヒト血清試料に応用する際の内部標準の添加方法について検討する。

【方法】L-メチオニンスルホンを添加したメタノール/水/クロロホルム溶液を用いて、疑似血清試料 (アミノ酸 20 種を生理食塩水に溶解) またはヒト血清試料 40 μL からアミノ酸混合物を抽出し、抽出物の一部を乾固させ分析サンプルとした。安定同位体標識アミノ酸(20 種)カクテルは、アミノ酸混合物抽出時 (A) 又は乾固サンプルの再溶解時 (B) に添加した。

【結果】初めに、疑似血清試料の希釈系列を調製し各アミノ酸の直線性を評価した。安定同位体標識アミノ酸(20 種)カクテルの添加タイミングを抽出時 (A) と乾固サンプルの再溶解時 (B) として直線性を比較すると、抽出時 (A) に内部標準を添加した際に、多くのアミノ酸で良好な直線性が得られた。また、溶出時間が近接しているアミノ酸 (アラニン、セリン等) ほど、内部標準による補正効果が確認できた。最も良好な直線性が得られた抽出時 (A) に安定同位体標識アミノ酸(20 種)カクテルを添加する前処理条件で、ヒト血清中アミノ酸を定量したところ、東北大学メディカル・メガバンク機構により構築された日本人多層オミックス参照パネル (jMorp) のヒト血漿中アミノ酸濃度とよく一致する結果が得られた。

【考察】代謝物抽出時 (A) に安定同位体標識アミノ酸(20 種)カクテルを添加すると、多くのアミノ酸で最も良好な直線性が得られた。安定同位体標識アミノ酸(20 種)カクテルを内部標準物質として活用することで、定量精度の向上が期待できる。

P-29

若手ポスター賞　対象

クロマトグラムデータセットからのロバストなピーク検出に向けたソフトウェア開発

○植松 真章[1,2], 北 芳博[1,3], 清水 孝雄[1,2,4]

[1]東大・院・医 リピドミクス社会連携講座, [2]国立国際医療研究センター研究所 脂質シグナリングプロジェクト, [3]東大・院・医 ライフサイエンス研究機器支援室, [4]微生物科学研究所

A Novel Software for Robust Peak Picking from Multiple Chromatograms

○Masaaki Uematsu[1,2], Yoshihiro Kita[1,3], Takao Shimizu[1,2,4]

[1]Dep. of Lipidomics, Grad. Sch. of Med. The Univ. of Tokyo, [2]Dep. of Lipid Signaling, Natl. Ctr. for Global Health and Med., [3]Life Sci. Core Facility, Grad. Sch. of Med., The Univ. of Tokyo, [4]Inst. of Microbial Chem.

【目的】近年の質量分析計の高感度・ハイスループット化により大量のデータが得られるようになった。メタボロームデータの一次解析においてはピークピッキングが重要であるが、従来のピーク検出はマニュアル操作が多く客観性やスループット性に欠け、パラメータ設定も煩雑であった。これらの問題を解決するため、本研究では GC-MS スキャンデータなどの大量（百〜数百）のマスクロマトグラムを含むデータを対象に、客観的かつロバストな新規ピークピッキングアルゴリズムを開発することを目指した。

【方法】GC-MS スキャンデータから生成したマスクロマトグラム (RT x intensity) の各々につき、局所的な波形に対して可変幅のモデルピーク（ガウス関数）との相同性指標を算出し、モデルピーク幅とクロマトグラム保持時間全体に渡ってマッピングを行った。これらを m/z の異なる複数のマスクロマトグラムに渡って重ね合わせることで、個々のクロマトグラムからではなくデータ全体を俯瞰的に見てピーク検出を行った。

【結果・考察】ノイズ除去の強度、検出閾値という２つのパラメータのみでピーク検出を行うアルゴリズムを構築できた。実データへの適用の結果、これらのパラメータは濃度・由来が異なるサンプルに対しても適用可能で、本手法がロバストであることが示唆された。またパラメータ変更が必要な場合でも、パラメータ設定後から表示にかかる時間が迅速（〜1 秒）であるため、効率的なパラメータ探索が可能である。今後、異なる測定機器のデータに対しても本アルゴリズムが適用可能であるか検討していきたいと考えている。

P-30

誘導体化 LC-MS 法による低分子代謝物分析の現在

○高山 卓大[1], 柳 浩由紀[1], 水野 初[2], 豊岡 利正[2], 井之上 浩一[3], 赤津 裕康[4,5], 轟木 堅一郎[2]

[1]小野薬品工業株式会社, [2]静岡県大薬, [3]立命館大薬, [4]名市大医, [5]福祉村病院

Recent derivatization-liquid chromatography-mass spectrometry method for analysis of small molecular metabolites

○Takahiro Takayama[1], Hiroyuki Yanagi[1], Hajime Mizuno[2], Toshimasa Toyooka[2], Koichi Inoue[3], Hiroyasu Akatsu[4,5], Kenichiro Todoroki[2]

[1]Ono Pharm., [2]Univ. of Shizuoka, [3]Ritsumeikan Univ., [4]Nagoya City Univ., [5]Fukushimura Hosp.

生体内の多種多様な低分子代謝物は、フェノタイプに直接関連して定性・定量的に変動する。従って疾患のバイオマーカー探索や病態解明研究において、その量的変動を正確かつ高感度に捉えることが必要であり、今までに多数の分析法が開発されてきた。その分析技術の一種である誘導体化 LC-MS 法は、分析対象への保持時間・質量分離の選択性付与、イオン化応答の向上に伴う高感度化等の多くの利点を持つ優れた方法である。感度や夾雑成分の妨害効果から代謝物そのままでは MS 測定に問題がある場合、誘導体化により解決するケースもある。また MS 分析では測定成分の安定同位体標識体を内標準として、マトリックス効果を低減して定量する方法が一般的だが、その入手が困難なことも多い。誘導体化法では安定同位体標識誘導体化試薬を併用することで、測定対象の標識体が無くとも高精度な分析が可能である。これらの利点を活用し、不飽和脂肪酸の異性体や、ジアステレオマー化による DL-アミノ酸等のキラル代謝物の分析法等、応用的な方法が報告されている。誘導体化 LC-MS 法以外にも MALDI-MS イメージング分析においては、スライド上で誘導体化を行いマトリックス剤や夾雑成分の影響を回避し、対象を高感度分析する方法も開発されている。

D-セリンや D-乳酸等のキラルな代謝物は、統合失調症や糖尿病において異なる生体挙動・生理活性を示す事が知られて以来、新規バイオマーカー候補として注目されてきたが、分離が困難なことや検出感度、測定精度の問題から非標的探索が試みられてこなかった。そこで、演者は誘導体化 LC-MS 法の利点を活用し、キラル代謝物の疾患等での変動を非標的に比較解析する、キラルメタボロミクスの方法を報告した[Takayama, T. et al., Anal. Chem., 91, 4396-4404 (2019)]。開発した方法では標的を絞らないジアステレオマー誘導体化と安定同位体標識試薬を併用することで MS 測定における問題点を解決しただけでなく、データ解析をフリーで可能なソフトウェアパッケージも提案した。さらに本法を用いてアルツハイマー病患者の脳脊髄液中キラルバイオマーカーを探索することに成功した。本発表では誘導体化 LC-MS 法の活用の一例として本法、その他の誘導体化に関する事例についても議論したい。

P-31

若手ポスター賞　対象

認知症種別の早期鑑別診断を目指した多変量解析を用いる新規バイオマーカー探索

○六車 宜央[1], 赤津 裕康[2,3], 井之上 浩一[1]

[1]立命館大院薬, [2]名古屋市立大学医, [3]福祉村病院

Exploration of novel biomarkers utilizing multivariate analysis approach for early differential diagnosis between dementia types

○Yoshio Muguruma[1], Hiroyasu Akatsu[2,3], Koichi Inoue[1]

[1]Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Ritsumeikan University, [2]School of Medical Sciences, Nagoya City University, [3]Fukushimura Hospital

【目的】認知症は、脳病態により、主にアルツハイマー型（AD）、脳血管性型、前頭側頭型、レビー小体型（DLB）に分類されている。現在、それらの臨床診断法には、認知機能検査や画像診断等が存在するが、早期・軽度の段階における病態生理を正確に把握することは難しく、死後剖検の病理診断結果と異なることも多い。そのため、早期の患者候補に対して、生化学的指標を用いたスクリーニング検査法が必要である。我々は、生体試料中の低分子代謝物に着目し、120 種類以上の内因性化合物の同時分析が可能であるワイドターゲットメタボロミクス（W-TMet）を開発した。本研究では、認知症種別の病理診断に基づく脳脊髄液（CSF）及び血液に W-TMet を応用し、認知症種別の鑑別が可能となるバイオマーカー候補化合物を探索した。

【方法】本研究では、アミノ基に特異的に結合する 9-Fluorenylmethyl chloroformate（Fmoc）を用いた官能基特異的な誘導体化法及び混合安定同位体試薬を用いた内部標準法を採用した。前処理として、生体試料を除タンパクした後、誘導体化を行なった。その後、液体クロマトグラフィー質量分析計を用いて測定した。

【結果・考察】Fmoc 誘導体化の反応性やイオン化などを最適化し、125 種以上の内因性アミンを 10 分以内に一斉定量が可能な分析系を構築した。本定量法では、混合安定同位体を用いた内標準検量線において、相関係数 ＞0.992 と良好な結果が得られた。また、CSF 及び血液における添加回収率は 70%以上、相対標準偏差は 15%以内と良好な精度、真度が得られた。開発した分析法を用いて、病理診断に基づく CSF・血液試料を測定し、代謝パスウェイ解析を実施した結果、特異的に変動する代謝経路を特定することも可能であった。また、認知症種別間で有意に変動する複数のマーカー（マルチバイオマーカー）を用いて、主成分解析を行なった結果、AD 及び DLB を二群に選別することが可能であり、マルチバイオマーカーを利用した鑑別診断への可能性が見出された。このマルチバイオマーカーと多変量解析を組み合わせた判別法は、診断分野のみに留まらず、疾患メカニズム解明や創薬ターゲットの探索などにも利用可能であり、創薬研究の効率化や層別化医療への応用が期待される。

P-32

質量分析で明らかになる近赤外光線免疫療法のメカニズム

○佐藤 和秀[1,3,2,4], 小川 美香子[5], 西村 雅之[6], 粉川 良平[6], 長谷川 好規[2], 小林 久隆[4]

[1]名古屋大学高等研究院, [2]名古屋大・医・呼吸器内科, [3]最先端イメージング分析センター／医工連携ユニット, [4]米国立がんセンター, [5]北海道大学・薬, [6]島津製作所

Mass spectrometry revealed a mechanism of near infrared photoimmunotherapy

○Kazuhide Sato[1, 3, 2, 4], Mikako Ogawa[5], Masayuki Nishimura[6], Ryohei Kokawa[6], Yoshinori Hasegawa[2], Hisataka Kobayashi[4]

[1]Nagoya Univ, IAR, [2]RespMed, Nagoya Univ, [3]AADIC／MEU、IAR, [4]NCI, NIH (USA), [5]Hokkaido Univ, Pharm Science, [6]SHIMADZU

【目的】近赤外光線免疫療法(Near Infrared Photoimmunotherapy: NIR-PIT)は近年開発された、細胞を特異的に標的する抗体に近赤外光線に反応する光感受物質である IR700DX を付加した抗体光感受物質付加物を用いた分子標的光治療である。現在国際第 III 相試験が再発頭頸部扁平上皮がんに対して抗 EGFR 抗体-IR700 付加物を用いて開始されており、近い将来の臨床認可が期待される(LUZERA-301 試験)。
NIR-PIT は革新的ながん治療法として有望な治療と考えられるが、その細胞死メカニズムはこれまで明らかではなかった。本研究では IR700 の光分解を質量分析で明らかにすることで作用開始起点を解明する事を目的とした。

【方法・結果】本研究では近赤外光線により、IR700DX のケイ素フタロシアニンの側鎖である silanol 基が遊離し水溶性を失い、水溶液中で凝集体となり、抗体-IR700 付加物が構造変化を起こす事を見出した。IR700 から、抗体−IR７００複合体からの silanol 基の遊離を LCMS-IT-TOF (SHIMADZU)により検出した。凝集により失った IR700 の蛍光の度合いは、インビトロと生体内での NIR-PIT の細胞死効果と正に相関した。さらに、治療したマウス個体の尿から本光化学反応により生じた IR700DX のケイ素フタロシアニンの側鎖である silanol 基を LCMS にて検出した。

【考察】本研究結果から、近赤外光線による IR700DX のケイ素フタロシアニンの側鎖遊離という光化学反応が NIR-PIT の細胞死の開始起点であると考えられた。

P-33

若手ポスター賞　対象

重水素化エクトインを内部標準に用いたエクトインの LC-MS/MS による定量分析

○佐藤 龍一[1], 佐々木 雅史[1], 堤内 要[1], 金政 真[1], 岡 尚男[2]

[1]中部大・応用生物, [2]金城学院大・消費生活科学研究所

Determination of ectoine by LC-MS/MS with deuterated ectoine as an internal standard

○Ryuichi Sato[1], Masafumi Sasaki[1], Kaname Tsutsumiuchi[1], Shin Kanamasa[1], Hisao Oka[2]

[1]Chubu Univ., [2]Kinjo Gakuin Univ.

【目的】エクトイン(EC)は細菌が高ストレス条件下で生存する際に誘導産生される環状アミノ酸で、タンパク質や核酸等を安定化すると同時に、細胞に蓄積して浸透圧調節をすることで防御機構を発揮する適合溶質である。PCR 酵素等に凍結融解耐性や高温耐性を付与する目的で添加剤として既に実用化されており、化粧品などにも利用が試みられている。今後も様々に利用されると考えられ、その生産や利用の場面における EC の定量分析法の開発が求められている。しかし、EC の高い親水性ゆえに様々な無機成分や親水性有機化合物との分離が困難なため，定量分析の精度が著しく低下する問題を抱えていた。そこで当研究室では、H-D 交換反応 1)を用いた重水素化 EC の合成を行い、LC-MS/MS 測定への応用を検討した。

【方法】重水素化 EC (EC-dn)は既報に基づき調製した 2)。得られた EC-dn を蒸留水 5.0 mL に溶解し、フィルターろ過（PTFE, ϕ0.2 μm ）を行った。ろ液 50 μL を LC-MS の移動相溶媒［0.1 %ギ酸水溶液（FAaq）＋0.1%ギ酸アセトニトリル（FAACN）溶液（FAaq : FAACN = 1 : 9)］ 950 μL で希釈し、測定用試料溶液とした。LC-MS/MS は以下の条件で行った。装置 LC800 (GL Sciences) – API 4000 (AB Sciex); カラム，InertSustain NH2 (ϕ2.1×150 mm) ; 溶媒，A: 0.1%FAaq; B: FAACN; 流速, 0.20 mL/min ; カラム温度, 40℃; グラジエントプログラム, B(%): 90 (0-14 min) → 70 (19-24 min) → 90 (25-39 min); 注入量, 5.0 mL; イオン化, ESI+; 観測イオン, EC: 143.0 > 97.1; EC-d4: 147.0 > 101.1.

【結果と考察】EC の重水素化反応は反応温度を 160℃とすることで良好に進めることができ、EC-dn を 96%の収率で得ることができた。LC-MS や NMR で構造解析を行ったところ、EC 分子の主にメチル基の軽水素が重水素に置換されたことが判明した。また EC-dn を内部標準に用いて、LC-MS/MS による EC の定量分析を検討した結果、夾雑成分として塩が含まれていても、ある程度その影響を補正できることが判明した。

1) H. Sajiki et al., Bull. Chem. Soc. Jpn, 81, 278-286 (2008). 2) 佐々木雅史ら，第 48 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会講演要旨集, 190 (2017).

P-34

カルボニルストレス誘導筋細胞内代謝変化の GC-MS による評価

○佐藤 恵美子[1,2], 等々力 崇太[1], 山本 多恵[2], 宮崎 真理子[2], 森 建文[3], 伊藤 貞嘉[2], 佐藤 博[1,2], 髙橋 信行[1,2]

[1]東北大院・薬・臨床薬学, [2]東北大院・医・腎高内, [3]東北医科薬科・腎内

Evaluation of carbonyl-stress induced metabolic alteration in muscle cells by GC-MS

○Emiko Sato[1,2], Sota Todoriki[1], Tae Yamamoto[2], Mariko Miyazaki[2], Takefumi Mori[3], Sadayoshi Ito[2], Hiroshi Sato[1,2], Nobuyuki Takahashi[1,2]

[1]Tohoku Univ Grad School Pharm, [2]Tohoku Univ Grad School Med, [3]Tohoku Med And Pharm Univ

【目的】腎不全患者における筋萎縮(サルコペニア)は重要な課題である。しかし、明確な発症機序は不明であり、予防法・治療法がないのが現状である。そのため、発症機序を明らかにし、予防法・治療法を確立することが重要な課題である。最終糖化産物（AGEs）の前駆体であるメチルグリオキサール(MG)は、高血糖状態や腎機能低下で体内に蓄積しタンパク質や核酸を糖化し、カルボニルストレスを引き起こす。近年、メチルグリオキサールのサルコペニアへの関与が示唆されている。しかしカルボニルストレスが与える筋細胞への影響は不明である。本研究では、MG による筋細胞内代謝へ与える影響を評価し、サルコペニアとの関連について検討した。

【方法】マウス骨格筋由来筋芽細胞株 C2C12 の筋芽細胞および筋管細胞を対象とし、生存能、炎症応答、筋萎縮関連因子に与える影響について評価を行った。さらに筋芽細胞・筋管細胞の筋細胞内代謝について、Smart Metabolites Database を用いてガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)で評価した。

【結果】200 μM MG 存在下で筋芽細胞の生存能が低下し、MG により炎症応答(Il6, Tnfa)及び筋萎縮関連因子(MuRF1, Atrogin-1)の遺伝子発現が上昇した。一方、筋管細胞では MG による上記応答を認めなかった。さらに筋芽細胞でのみ抗酸化応答因子である NRF2 と Hmox1 の発現が MG により上昇した。GC-MS メタボロミクスから、筋芽細胞でのみ MG により解糖系の代謝物が有意に高値を示した。さらに解糖系の酵素グリセルアルデヒド 3 リン酸デヒドロゲナーゼの発現も上昇し、解糖系が亢進していた。

【考察】MG は筋芽細胞にのみ毒性を示し、また筋芽細胞において酸化ストレス・炎症応答を介した ATP 依存性ユビキチンプロテアソームシステムの亢進させることが示唆された。また GC-MS メタボロミクスから、MG が筋細胞内でグルコース代謝変調等のサルコペニアに関する細胞応答を誘導することを明らかにした。

P-35

LC-MS/MS 法による乳酸菌ウオヌマ株の胆汁酸合成系に対する促進効果の評価

○中川 沙織[1], 清水（太田） 美穂[1], 不破 史子[1], 西脇 俊和[2], 相原 浩太郎[2], 佐藤 眞治[1]

[1]新潟薬科大学, [2]新潟県農総研食研セ

Evaluation of promotive effects of Lactobacillus sakei UONUMA on bile acids synthetic system by LC-MS/MS methods

○Saori Nakagawa[1], Miho Shimizu-Ohta[1], Fumiko Fuwa[1], Toshikazu Nishiwaki[2], Kotaro Aihara[2], Shinji Sato[1]

[1]NUPALS, [2]Niigata Agricultural Research Institute Food Research Center

【目的】動脈硬化や脳梗塞を引き起こす高コレステロール血症の治療薬は、コレステロール合成抑制や食餌由来コレステロールの小腸からの吸収抑制が主であり、コレステロールの最終代謝物である胆汁酸合成の促進を促す薬物は少ない。そこで本研究では、LC-MS/MS を用いた胆汁酸一斉定量法により、ヒト肝腫瘍由来 HepaRG 細胞を用いて雪室から新たに発見された乳酸菌ウオヌマ株（Lactobacillus sakei UONUMA）の胆汁酸合成に対する作用を検討した。

【方法】乳酸菌ウオヌマ株（菌株 1～3）について凍結乾燥したものを PBS に溶解した。この溶解液を、ヒト肝腫瘍由来 HepaRG 細胞に添加（終濃度として、0.03, 0.1, 0.3 mg/mL）あるいは無添加で、72 時間培養した後、細胞培養液中の胆汁酸｛コール酸（CA）、デオキシコール酸（CDCA）、グリココール酸（GCA）、グリコケノデオキシコール酸（GCDCA）、タウロコール酸（TCA）、タウロデオキシコール酸（TCDCA）｝を一斉定量した。細胞培養液の前処理方法は、固相抽出（OASIS WAX）し溶出液を窒素乾固した後、2% NH3-MeOH で再溶解し、コール酸およびケノデオキシコール酸の重水素体を内標準物質に用いて、LC-MS/MS を用いて高感度定量した。

【結果】菌株 1 および 2 の添加培養において、CA、GCDCA および TCDCA の有意な増加が認められ（$p < 0.05$, student t-test）、菌株 3 においては、CA は増加傾向を示し、GCDCA および TCDCA においては、有意な増加が認められた（$p < 0.05$, student t-test）。

【考察】乳酸菌ウオヌマ株（菌株 1～3）の PBS の溶解液を添加培養することで、CA、CDCA、GCDCA および TCDCA の増加が認められたことから、胆汁酸増加作用が推察された。今後は、胆汁酸の前駆体物質およびコレステロールを定量することで、胆汁酸合成に対する促進作用について詳細に検討する予定である。

P-36

Microcystis ラン藻由来の揮発性有機化合物の分析：SPME GC/MS でのみ分析された β-cyclocitral の産生機構

山下 竜司[1], 兼井 啓介[2], 辻 清美[4], 冨田 浩嗣[3], ○原田 健一[1,2]

[1]名城大院・総術, [2]名城大・薬, [3]愛知衛研, [4]神奈川衛研

How is β-cyclocitral produced in SPME GC/MS from Microcystis Cyanobacterium

Ryuji Yamashita[1], Keisuke Kanei[2], Kiyomi Tsuji[4], Koji Tomita[3], ○Ken-ichi Harada[1,2]

[1]School of Human and Environmental Science, Meijo Univ., [2]Faculty of Pharmacy, Meijo Univ., Nagoya, [3]Aichi Pref. Inst. of Public Health, [4]Kanagawa Pref. Inst. of Public Health

【目的】未だ有効な対策法が確立されておらず、世界的に被害が拡大しつつあるアオコ現象に対して、化学生態学的観点から解決を目指す。演者らはラン藻自身が産生する化合物を用いて生物学的制御法を立案することを最終目標としてラン藻類の生活環解明を試みている。アオコの主要構成種である Microcystis が特異的に産生する溶藻活性化合物 β-cyclocitral は、溶藻活性を有し青色化を伴う溶藻現象を引き起こすことから、秋季の細胞数減少に関与する生活環関連物質であると位置づけている。β-Cyclocitral は SPMEGC/MS を用いたときのみ検出されており、CCD (carotenoid cleavage dioxygenase) により β-carotene の酸化的開裂から生成されると推定されているが詳細な検討はなされていない。本研究の目的は、分析上の条件が β-cyclocitral の産生に寄与するかどうかを検証することである。

【方法】Microcystis aeruginosa NIES-843 を MA 培地で培養し、SPME GC/MS において抽出条件を変更して分析を行った。また、培養液に加熱刺激を加え MTBE で抽出後、GC/MS で分析を行った。さらに、抽出過程における酸添加条件・加熱条件について検討を行った。

【結果と考察】通常の GC/MS では M. aeruginosa NIES-843 の培養液から β-cyclocitral は検出されないが、熱または酸の刺激を付与することで検出された。このことから熱や酸の刺激が β-cyclocitral の形成に関与すると推察され、本化合物は酸化開裂を受けた後、中間体として細胞内に蓄積されている可能性が示唆された。また CCD について遺伝子検索を行ったところ、近縁種と比較して M. aeruginosa に特異的な酸化開裂遺伝子と予想される配列を新たに発見した。

P-37

若手ポスター賞　対象

LC-Q-TOFMS を用いた腸内細菌代謝物のノンターゲットリピドミクス

○岡橋 伸幸[1,2], 安田 柊[1], 上田 政宏[1], 津川 裕司[1], 池田 和貴[3], 有田 誠[1,4,5]

[1]理研・生命医科学研究センター, [2]阪大・情報, [3]かずさ DNA 研, [4]横浜市立大・生命医科学, [5]慶大・薬

Untargeted lipidomics of gut microbial metabolites using LC-Q-TOFMS

○Nobuyuki Okahashi[1,2], Shu Yasuda[1], Masahiro Ueda[1], Hiroshi Tsugawa[1], Kazutaka Ikeda[3], Makoto Arita[1,4,5]

[1]Riken, [2]Osaka Univ., [3]Kazusa DNA Res. Inst., [4]Yokohama City Univ., [5]Keio Univ.

【目的】腸内細菌が産生する代謝物が宿主の生体恒常性の維持や疾患に関与することが示唆されている。しかし、腸内細菌代謝物のリファレンスとなるマススペクトル情報が乏しいことが、包括的な解析を困難としていた。そこで本研究では、抗生物質投与マウスの糞便や嫌気培養した腸内細菌株中の脂質のノンターゲットリピドミクスを行い、化合物の構造的特徴を表すフラグメントイオンの類似性に基づくネットワーク解析に供することで、腸内細菌が産生しうる脂質代謝物の構造推定を行った。

【方法】SPF 環境下で飼育したマウスの糞便や嫌気環境下で培養したヒト腸内細菌株から一層抽出した総脂質を、液体クロマトグラフィー (LC; Waters UPLC, I class, Peptide BEH C18, 50 mm×2.1 mm×1.7μm) -飛行時間型タンデム質量分析装置 (Q-TOF/MS, ABsciex, TripleTOF 6600) を用いて、Data dependent acquisition モードで分析した。データ解析には MS-DIAL を用いた。

【結果・考察】抗生物質カクテルで腸内細菌を死滅させた野生型マウスの糞便中脂質を LC-QTOF/MS で分析し、コントロール群の脂質プロファイルと比較した。抗生物質投与群で 214 ピーク、コントロール群で 493 ピークが観測され、これらのうち抗生物質投与群で面積値がコントロールの 10 倍以上に増えたピークは 40 個、10 分の 1 以下に減少したピークは 153 個であった。続いて、観測されたピークのマススペクトルを比較することでピークを分類したところ、マススペクトルの類似性が高く、抗生物質投与で一様に減少傾向を示すピーク群が見出された。マススペクトルから代謝物の構造を推定したところ、胆汁酸や脂肪酸、水酸化脂肪酸含有セラミド、イノシトールリン酸やエタノールアミンリン酸を極性頭部に持つセラミド、エーテル結合を有する Monogalactosyl diacylglycerol であることが示唆された。これらの脂質を産生する菌種を推定するために、代表的な腸内細菌株を嫌気チャンバー内で培養し、産生される脂質を調べたところ、それぞれの代謝物の産生に関与する細菌属が浮かび上がった。

P-38

尿中グリセロリン脂質の半自動型解析システムの構築

○中嶋 和紀[1], 袴田 知也[2], 堀 秀生[3], 釘田 雅則[1], 松下 祥子[4], 伊藤 辰将[4], 高橋 和男[4,5], 坪井 直毅[4], 長尾 静子[1], 湯澤 由紀夫[4]

[1]藤田医科大・研究支援, [2]藤田医科大院保健学・病態制御, [3]藤田医科大・臨床工学科, [4]藤田医科大・医・腎臓内科学, [5]藤田医科大・医・解剖学 II

Semi-automatic workflow for urinary phospholipid profiling

○Kazuki Nakajima[1], Tomoya Hakamata[2], Hideo Hori[3], Masanori Kugita[1], Shoko Matsushita[4], Yoshimasa Ito[4], Kazuo Takahashi[4, 5], Naotake Tsuboi[4], Shizuko Nagao[1], Yukio Yuzawa[4]

[1]Research Promotion and Support Headquarters, Fujita Health University, [2]Department of Disease Control and Prevention, [3]Facility of Clinical Engineering, [4]Department of Nephrology, [5]Department of Anatomy II, Fujita Health University

【目的】　尿検体は侵襲性の低さから実臨床応用がしやすく、腎疾患のバイオマーカー探索によく利用される。しかし特に尿の上清に含まれる脂質は含有量が極めて少なく、そのリピドミクスを実施することは困難である。本研究は尿上清に含まれる脂質組成の病態変化を効率よく捉えるため、病態モデルマウスと臨床検体の解析プラットフォームを構築することを目指している。具体的には、煩雑な実験作業を自動化、さらに高感度なリン脂質解析メソッドを用いることにより、尿細管障害と糸球体障害の脂質変化への影響を明らかにする。

【方法】　リン脂質の前処理はブタノールーメタノール：BUME 法(Sci. Report, 2012）を採用して、前処理ロボット（PAL-RTC 社）のプログラムを構築して行った。測定はリン脂質メソッドパッケージ（島津製作所製）を用いて解析した。得られた定量値は尿中クレアチニン値と尿蛋白量で補正した。尿細管障害のモデルマウスは多発性嚢胞腎モデルマウス(Pcy マウス、Pck ラット)、糸球体障害モデルにはアドリアマイシン投与ラット、臨床検体は IgA 腎症、腎硬化症、微小変化型ネフローゼ症候群、膜性腎症患者の尿を解析した。

【結果・考察】　脂質抽出条件を最適化した後、自動化プログラムを構築した。メソッドの測定誤差は、ロボットでは手動作業に比べて小さかった。多発性嚢胞腎モデルマウス(100μl)から 70 成分の脂質を同定した。一方ネフローゼ症候群のモデルラットの尿を解析したところ、血中リポタンパク質が混入したことによるリゾホスファチジルコリン(LPC)の上昇、ならびに糸球体障害にともなうホスファチジルエタノールミンの減少が観察された。臨床検体の解析ではタンパク尿と LPC の発現量に差が認められた。微小変化型ネフローゼ症候群と膜性腎症患者に置いて興味深い差異が認められている。今後、本法が種々の腎疾患バイオマーカー探索に利用されることが期待される。

P-39

A rapid flow-injection high resolution / accurate mass method for the simultaneous detection of diverse lipid species in human serum

○Dayan Goodenowe[1], Yanqiu Jiang[1], Vijitha Senananake[1], Yasuyo Yamazaki[1]

[1] Prodrome Sciences Inc. Saskatoon, Canada

【Objectives】Abnormal serum levels of serum lipids such as fatty acids (EPA, DHA, etc.) ultra-long chain fatty acids, plasmalogens, phosphatidylethanolamines, ceramides, sphingomyelins, phosphatidylcholines, choline plasmalogens, cholesterol, diacylglycerols and triacylglycerols are associated with various diseases. Due to the diverse polarity and acid/base characteristics of these metabolites, multiple analytical methods are typically used to independently measure groups of these species. An analysis method using a single sample preparation procedure and a single mass spectrometer injection analysis was investigated.

【Methods】Human serum (10 ul) was sequentially extracted three times using acidic aqueous buffer and ethyl acetate. The combined ethyl acetate extract was then analyzed by direct flow injection using a Thermo Orbitrap-XL mass spectrometer equipped with an ESI probe. The mass spectrometer was operated in the selected ion monitoring mode at 100,000 resolution. Three mass windows were measured in both negative and positive ionization modes covering the mass range of 100-1000 AMU. The complete injection cycle was 3.0 minutes per sample and injection to injection carry-over was <1%. The data was processed using proprietary software which performed a scan by scan analysis and then stored the accurate mass and intensity values in an indexed rapid retrieval file format.

【Results】Over 5000 accurate mass species were reliably detected in human serum using the described method. The method reliably and simultaneously measured diverse classes of metabolites including very non-polar neutrals (e.g. triacylglycerols, diacylglycerols, and cholesterol), non-polar acids (e.g. fatty acids, ultra-long chain fatty acids, phosphatidylglycerols, bile acids), non-polar and polar bases (e.g. Sphingosine, amines), non-polar and polar zwitterions (e.g. phosphorylcholine phosphatidylethanolamines, phosphatidylcholines), and even very polar metabolites like glucose..

【Discussion】A simple, high-throughput, reproducible method for the simultaneous measurement of diverse metabolomic species in human serum has been developed, validated and applied to over 3000 patient samples. The simplicity and robustness of the method makes comprehensive metabolomic analyses of large patient populations economically viable. In addition, the complete mass list can be used for the discovery of new biomarkers and biomarker combinations for detecting disease and disease risk.

P-40

質量分析による生細胞中の単一脂肪滴の分析

○惠 淑萍[1], 趙 瑤瑤[1], 陳 震[1], 呉 玥[1], 高 紫君[1], 張 新栄[2], 千葉 仁志[3]

[1]北大・保健, [2]清華大学化学系, [3]札幌保健医療大学

Analysis of a single lipid droplet in living cell by mass spectrometry

○Shuping Hui[1], Yaoyao Zhao[1], Zhen Chen[1], Yue Wu[1], Zijun Gao[1], Xirong Zhang[2], Hitoshi Chiba[3]

[1]Faculty of Health Sciences, Hokkaido University, [2]Department of Chemistry, Tsinghua University, [3]Sapporo University of Health Sciences

【目的】 肥満・糖尿病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、蓄積された脂肪滴（LD）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、ガラスキャピ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（Mizuno H, et al, J Mass Spectrom, 2008； Tsuyama N, et al, Anal Sci, 2008）。質量分析による LD の分析は依然として挑戦的な課題である。本研究室で確立された生細胞内 1 脂肪滴の質量分析法を用いて、HepG2 生細胞内の単一の LD を選択的に採取し、ホスファチジルコリン（PC）とトリグリセリド（TG）を分析した (Zhao Y, et al, Anal Chem, 2019)。

【方法】 我々は HepG2 生細胞内の単一脂肪滴の PC と TG の分離とプロファイリングのため、チップ内溶媒ミクロ抽出質量分析という新技術を開発した。 HepG2 細胞を長鎖脂肪酸（オレイン酸およびパルミチン酸）と共にインキュベートして LD を生成した。HepG2 における脂肪滴は、顕微鏡(IX71, オリンパス)の下で、自家製ガラスキャピラリー（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。

【結果・考察】 単一の LD から 15 種類の TG と 8 種類の PC 分子種を陽イオンモードで検出した。 脂質分子の構造は MS/MS 解析により決定した。 PC が TG よりも早く検出されたが、これは PC が TG より水溶性が大きいためと思われる。直径が 7 μm の LD において、PC は TG の 0.1%～0.2%の量しか存在せず、チップ内溶媒ミクロ分離がない場合、PC を TG と同時に MS で検出することはできない。 この新規分析法は、基礎的および医学的な脂質代謝研究の進展を助ける可能性がある。

P-41

若手ポスター賞　対象

鉛誘導したHepG2細胞によけるプラズマローゲンの保護作用

○陳 震[1], Wu Yue[1], Darwish Wageh[1], 寺田 航[1], 千葉 仁志[2], 恵 淑萍[1]

[1]北大・保健, [2]札幌保健医療大学・栄養

Plasmalogen species protect HepG2 cells from lead-induced cytotoxicity and lipid oxidation

○Shin Chin[1], Yue Wu[1], Wageh Sobhy Darwish[1], Koh Terada[1], Hitoshi Chiba[2], Shu-Ping Hui[1]

[1]Hokkaido Univ., [2]Sapporo Univ. of Health Sci.

【目的】食事性リン脂質由来のプラズマローゲンは酸化関連障害に対する潜在的な防御物質であると考えられているが、鉛（Pb）は環境汚染物質であり、世界中の多くの死因となっている、酸化ストレスを誘発することが知られています。 しかし、Pb損傷に対する個々のプラスマローゲン分子種の保護的および抗脂質酸化的効果はほとんど注目されていない。この研究では、鉛誘導したHepG2 細胞における６つのプラズマローゲン種（頭部基としてコリンまたはエタノールアミンのいずれか、および側鎖としてp16:0/18:1、p16:0/18:2、またはp16:0/20:5）抗脂質酸化的効果を評価した。

【方法】本実験ではHepG2 細胞を用いた。細胞生存率をCCK-8 アッセイによって試験し、ROS産生を蛍光プローブによって測定し、抗酸化酵素のmRNAレベルをリアルタイムPCRによって行った。プラズマローゲン標準物質を本研究室で合成し、LC-MS/MSで細胞内プラズマローゲンを測定し、LC/HR-MSを用いて細胞脂質プロファイリングの変化を調べた。

【結果と考察】プラズマローゲン分子種は、細胞生存率の著しい回復ならびにPbによって誘発される活性酸素種の排除を示し、過酸化ホスファチジルコリン（PCOOH）と過酸化ホスファチジルエタノールアミン（PEOOH）蓄積の抑制した。さらに、プラズマローゲンは、Nrf-2 依存性経路を介して調節される一連の抗酸化酵素の遺伝子発現レベルを有意にアップレギュレートした。本研究は、コリンおよびエタノールアミンプラズマローゲンがHepG2 細胞におけるPb誘導性細胞傷害性および脂質酸化を防ぐことができることを示唆した。

P-42

キラルカラムを用いた LC-MS 一斉分析系によるマウス脳スフィンゴ糖脂質の解析

○藤原 優子, 濱 弘太郎, 横山 和明

帝京大・薬

Comprehensive analysis of glycosphingolipids in mouse brain by a chiral column and LC-MS

○Yuko Fujiwara, Kotaro Hama, Kazuaki Yokoyama

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University

【目的】スフィンゴ糖脂質はスフィンゴイド長鎖塩基のアミノ基に脂肪酸が結合した疎水性セラミドに糖鎖が結合した構造を持つ。哺乳類では細胞膜の外側に分布することから、細胞間コミュニケーションにおける役割が示唆され、スフィンゴ糖脂質が体内に蓄積するスフィンゴピドーシスと言われる一連のリソソーム病が知られており、糖脂質代謝はこれらの機構を解明する上で重要である。しかしながら、複雑な糖鎖構造とセラミド構造からなる極めて多様なスフィンゴ糖脂質の分子種一つ一つを有効に高感度に定量できる網羅的解析系が存在しなかったため、セラミド構造に注目した解析はほとんど行われてきていない。我々は、LC-MS によりスフィンゴ糖脂質を糖鎖別かつ、分子種別に定量して構造決定できる解析系を確立することを目標とし、本学会でこれまでに、網羅的定量解析系の構築について報告してきた。今回は、確立した測定系を用いて、生体サンプルから抽出した総脂質画分中の中性および酸性スフィンゴ糖脂質の網羅的な分子種解析を行った。

【方法】カラムは ChiralPak IF-3（Daicel Corporation）を使用した。試料として、マウス脳よりメタノール抽出した総脂質画分を用い、LC-MS によりセラミド由来のプロダクトイオンを用いた multiple reaction monitoring(MRM)法で測定し、MultiQuant Software(SCIEX)で定量解析した。

【結果】マウス脳から抽出した総脂質画分を用いたところ、多量のリン脂質共存下における中性、および酸性のスフィンゴ糖脂質の検出が可能であった。また各種スフィンゴ糖脂質の脂肪酸プロファイルを解析したところ、糖脂質系列によりセラミド部分の比率が異なっていることが示唆された。

【考察】 多段階 MRM を組み、網羅的に測定することで、未知の分子種に対して分子種レベルでの代謝変動を解析することが可能となることがわかった。今後は、各種ライソソーム病原因遺伝子欠損細胞やスフィンゴリピドーシスモデルマウスの臓器を用いて、発現しているスフィンゴ糖脂質分子種の解析を行っていきたい。

P-43

若手ポスター賞　対象

４種の PAH 混合物暴露下の HepG2 細胞における脂質代謝調節不全

○高 紫君 [1,2]

[1] 北海道大学保健科学研究院, [2] 札幌保健医療大学

Dysregulation of lipid metabolism in HepG2 cells exposed to a mixture of 4 kinds of PAHs

○Shikun Kou

[1]Laboratory for Advanced Lipid Analysis, Faculty of Health Sciences, Hokkaido University, Japan, [2]Department of Nutrition, Sapporo University of Health Sciences, Japan

[Introduction] Polycyclic aromatic hydrocarons (PAHs) are lipophilic molecules, however, their binary effects on the lipid metabolism in human HepG2 cells have received little attention. HepG2 cells were considered as a good tool to study nonalcoholic steatohepatitis (NASH). Therefore, this study aimed at investigation of the constitutive effects of a mixture of 4-PAHs on lipid metabolizing enzymes. Furthermore, a comprehensive quantitative estimation for the lipidomic profile of HepG2 cells was assayed using LC/MS. The relationship between human exposure to PAHs and NASH was further discussed.

[Method] HepG2 cells were exposed to a mixture of 4-PAH for 24 h. Cell viability was determined using CCK8 assay. Intra-cellular reactive oxygen species (ROS) was measured using 2',7'-dichlorofluorescin diacetate as a substrate. mRNA expression levels of the lipid sensing, and lipolysis targets were determined using quantitative real-time PCR (qRT-PCR). A comprehensive lipidomic analysis for cells exposed to 4-PAHs was conducted on a Shimadzu Prominence HPLC system connected to an LTQ Orbitrap mass spectrometer.

[Results] In vitro exposure of HepG2 cells to total 4-PAHs had clear cytotoxicity and oxidative damage accompanied with production of lipid hydroperoxides. Furthermore, HepG2 cells exposed to 4-PAHs had a clear induction of the lipid sensing genes including SREBP-1 (Sterol regulatory element-binding protein 1), and FAS (Fatty acid synthase). Furthermore, a clear modulation in the lipidomic profile of HepG2 cells exposed to 4-PAHs was recorded.

[Conclusions] Induction of oxidative stress and modulation of the dysregulation of the lipid metabolism in HepG2 cells give a clear evidence of the positive contribution of human exposure to PAHs and the incidence of NASH.

P-44

髄液中リゾホスファチジン酸、リゾホスファチジルコリンは客観的疼痛マーカーである

○蔵野 信[1], 住谷 昌彦[1], 坂井 英里[1], 可野 邦行[2], 青木 淳賢[2], 矢冨 裕[1]

[1]東大・医, [2]東北大・薬

Lysophosphatidic acids and lysophosphatidylcholine in cerebrospinal fluids are objective biomarkers for neuropathic pain

○Makoto Kurano[1], Masahiko Sumitani[1], Eri Sakai[1], Kuniyuki Kano[2], Junken Aoki[2], Yutaka Yatomi[1]

[1]Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, [2]Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University

【目的】神経障害性疼痛は患者の健康関連 QOL を多大に低下させる疾患である。しかしながら、神経障害性疼痛の重症度判定法が、患者の訴えと乖離することの多い画像診断および主観的な指標である質問紙法しかない。また、脊柱管狭窄症による疼痛なのか、それ以外の疼痛なのかによって治療法が異なるが、その成因診断が困難な例も多い。さて、近年、基礎研究より、リゾホスファチジン酸（LPA）およびその前駆体であるリゾホスファチジルコリン（LPC）が疼痛関連物質であることが報告されている。このような背景より、本研究では、ヒトにおいて髄液中 LPA、LPC の、神経障害性疼痛の客観的バイオマーカーとしての有用性を明らかにすることを目的とした。

【方法】対照群（泌尿器科手術の脊椎麻酔時に採取)、脊柱管狭窄症群、非脊柱管狭窄症神経障害性疼痛群の髄液中 LPA、LPC を高速液体クロマトグラフ-質量分析計にて測定した。

【結果】①髄液中 LPA、LPC は、脊柱管狭窄症群＞非脊柱管狭窄症神経障害性疼痛群＞対照群の順で高値であった。また、脊柱管狭窄症群内で髄液中の LPA と相同する分子種の LPC の間には良い正の相関がみられた。
②髄液中 LPA、LPC は判別分析を行うと、感度 100 %, 特異度 94.7%で対照群から脊柱管狭窄症群を弁別することができた。
③脊柱管狭窄症群の髄液中 LPA、LPC は、画像診断による脊柱管狭窄症の重症度、質問紙法による脊柱管狭窄症の重症度と正の関連がみられた。
④髄液中の LPC、あるいは LPA/LPC は、それぞれ感度 94.4 %、特異度 100 %、感度 94.2 %　特異度 96.2 %にて脊柱管狭窄症群と非脊柱管狭窄症神経障害性疼痛群とを弁別することができた。

【考察】基礎研究にて提唱されている LPA および LPC と疼痛の関連は、ヒトにおいても存在することが示唆された。また、髄液中 LPA、LPC は、神経障害性疼痛の客観的バイオマーカーとして、重症度判定および成因分析に有用であり、今後の臨床検査への導入が期待される。

P-45

若手ポスター賞　対象

高炭水化物食由来脂肪肝マウスの肝臓中 cardiolipin 及び monolysocardiolipin の組成解析

○櫻井 俊宏[1], 陳 震[1], 早坂 孝宏[2], 千葉 仁志[3], 惠 淑萍[1]

[1]北海道大学 大学院 保健科学研究院, [2]北海道大学 医学研究院外科系部門 外科学分野, [3]札幌保健医療大学

Cardiolipin and monolysocardiolipin analysis in liver of high-carbohydrate-induced fatty liver mice

○Toshihiro Sakurai[1], Zhen Chen[1], Takahiro Hayasaka[2], Hitoshi Chiba[3], Shu-Ping Hui[1]

[1]Hokkaido University, [2]Hokkaido University, [3]Sap. Univ. of Health Sciences

【目的】Cardiolipin（CL）は 4 種類の脂肪酸を持ち、ミトコンドリア内膜に特異的に局在する脂質である。CL が持つ脂肪酸組成の変化や monolysocardiolipin（MLCL）の増加はミトコンドリア機能に負の影響を与えると推測されるが、その詳細は不明である。当研究室の先行研究で作製した高炭水化物食由来脂肪肝モデルマウスでは、肝障害マーカーの増加及び脂肪肝が観察され、またミトコンドリアの機能低下を示唆するミトコンドリア関連タンパク質の変動が確認された（Sakurai T, Hayasaka T, et al., J Sci Food Agric, 99:1675–81, 2019）。そこで本研究では、その高炭水化物食由来脂肪肝マウスの肝臓中 CL 及び MLCL の組成を調査することを目的とした。

【方法】7 週齢雄の ddY マウスに 2 日間絶食させた後、38%スクロース含有高炭水化物食（high carbohydrate diet、HCD）（n = 6）を 5 日間与えた。同年齢の、通常食を与えたマウスを対照群とした（normal chow diet、NCD）（n = 3）。屠殺後、肝臓を得た。既報の測定条件に従って（Chen Z, et al., Anal Bioanal Chem, 409:5735-45, 2017）、ビーズによる肝臓のホモジナイズを行い、その後脂質を抽出し、CL 及び MLCL を分析した。LC/MS には LTQ Orbitrap XL（Thermo Scientific）を用いた。

【結果】32 種類の CL 種及び 9 種類の MLCL が検出された。NCD 群に比較して、HCD 群では肝臓中の総 CL 量は 22%の減少が見られた（$P < 0.05$）。また、最も多く検出される CL 種は NCD 群では CL72:8 であったが、HCD 群の CL72:8 は 93.4%の顕著な減少が見られ（$P < 0.001$）、それ以外の CL 種が増加した。一方、肝臓中の総 MLCL は HCD 群で 2.4 倍高値であった（$P < 0.05$）。最も多く検出される MLCL 種は、NCD 群では MLCL54:6 であったのに対して、HCD 群では MLCL54:4 であった。

【考察】この脂肪肝モデルマウスにおける肝臓中の総 CL の減少、総 MLCL の増加及びそれらの組成変化は、ミトコンドリア代謝異常を示唆するものと考えられた。詳細なメカニズムの解明のために、さらなる解析の必要性があると考えられた。

P-46

LC-MS/MS を用いたヒト髄液中スフィンゴシン 1-リン酸（S1P）の測定系の確立と髄膜癌腫症におけるスフィンゴ脂質の解析

○坂井 英里[1], 森田 賢史[1], 蔵野 信[1,2], 矢冨 裕[1,2]

[1]東京大学医学部附属病院検査部, [2]東京大学大学院医学系研究科内科学専攻病態診断医学講座

Establishment of S1P measurement system in cerebrospinal fluids with LC-MS/MS and analysis of sphingolipids in carcinomatous meningitis

○Eri Sakai[1], Yoshifumi Morita[1], Makoto Kurano[1,2], Yutaka Yatomi[1,2]

[1]Department of Clinical Laboratory, The University of Tokyo Hospital, [2]Department of Clinical Laboratory Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo Hospital

【目的】スフィンゴシン 1-リン酸（S1P）は抗アポトーシス作用などの強力な生理学的特性があり、ヒト検体による S1P のヒト臨床への関与の解明が求められている。しかしながら、血液サンプル中の S1P 濃度は血小板の活性化や赤血球からの放出のため、サンプリング中および後に上昇しやすく、正確な濃度の測定は困難である。そこで本研究では、①血球がほとんど存在しないヒト脊髄サンプル中の S1P に注目して、LC-MS / MS を用いた新規 S1P 測定法を開発し、有用性を検証すること、②以前開発したスフィンゴシン（Sph）およびセラミド一斉測定法についても髄液サンプルを用いて測定系の検証を行うこと、③基礎研究から S1P、セラミドが関与すると考えられている癌について、髄膜癌腫症の髄液サンプルを用いて、ヒト臨床でも確認することを目的とした。

【方法】①ヒト髄液中の S1P の測定系を確立し、検証をおこなった。②以前開発したスフィンゴシン、セラミド 6 分子種（Cer d18:1/16:0，Cer d18:1/18:0，Cer d18:1/18:1，Cer d18:1/20:0，Cer d18:1/22:0，Cer d18:1/24:0）の測定系についてもヒト髄液を測定し検証した。LC-MS/MS 装置は LCMS8060（島津製作所）、LC カラムは InertSustain Swift C8 PEEK Column (GL Sciences) を用い、ESI-ポジティブイオンモードとした。③また、検証した S1P,セラミド測定系を用いて髄膜癌腫症の髄液サンプル、対象サンプル中の S1P,セラミドを測定した。

【結果・考察】測定法の併行精度および日間精密度は CV 20%以下であった。定量下限は S1P、Sph およびセラミド各分子種はそれぞれ 0.01 ng/mL であった。髄液中のスフィンゴ脂質は、血中と比較して低濃度であるが、確立した測定系は良好な感度および精密度を有し、臨床検体の測定に有用と考えられた。また、髄膜癌腫症の髄液サンプルでは、S1P/セラミド比が上昇しており、基礎研究から提唱されている S1P-セラミドレオスタット仮説と合致していた。

P-47

若手ポスター賞　対象

質量分析を用いる肺サーファクタントリン脂質膜に対する環境濃度オゾンの影響に関する研究

○喬 琳[1], 陳 震[1], 高田 俊智[2], 千葉 仁志[3], 叶 深[2], 惠 淑萍[1]

[1]北海道大学 保健科学研究院, [2]東北大学　大学院理学研究科, [3]札幌保健医療大学

Study on the Lipid Monolayer of Lung Surfactant in Low-level Ozone by LC/MS

○Lin Qiao[1], Zhen Chen[1], Chunji Takada[2], Hitoshi Chiba[3], Shen Ye[2], Shu-Ping Hui[1]

[1]Faculty of health science, Hokkaido university, [2]Department of Chemistry, Graduate School of Science, Tohoku University, [3]Sapporo University of Health Sciences

【Aim】As the major components of the lung surfactant, the unsaturated lipids play essential biofunctions, such as helping the spreading of the lung surfactant on the surface of alveoli. There are many oxidants in the air, such as ozone, which is a universal air pollutant with high oxidation reactivity. In our daily life, the influence of ozone is often ignored since its concentration in the air is extremely low, only a few tens of ppb. In the present study, the oxidative degradation of the unsaturated phospholipid, 1-palmitoyl-2-oleoyl -sn-glycero-3-phosphocholine POPC, in low-level ozone (20-40ppb) is studied at a molecular level by a combination of various methods.

【Methods】POPC monolayer was made by LB method on the water surface (22°C) in the air contained the ozone of 20-40ppb. The phase states, molecular structure and surface morphology of these monolayers were characterized by pressure-area (p-A) isotherms and in-situ sum frequency generation (SFG) vibrational spectroscopy respectively. The oxidation products of POPC were further identified and quantified by high-resolution Orbitrap LC-MS/MS system.

【Results and Discussion】POPC monolayers are stable in the nitrogen environment. However, when a small amount of ozone (20-40 ppb) is introduced into the chamber, POPC monolayer becomes quite unstable. SFG observations demonstrated C=C bond in unsaturated lipid is attacked by ozone. The results of LC-MS show several kinds of oxidized lipids are generated after ozone exposure, and the amount of them are strongly related to surface pressure and exposure time. The present study provides important information for understanding the properties and stabilities of the lung surfactant in the ambient environment.

P-48

MALDI-TOF/MS を用いた尿中脂質解析による前立腺がん診断の検討

○中山 憲司[2,1], 李 新[1], 後藤 崇之[1], 赤松 秀輔[1], 清水 公治[3], 小川 修[1], 井上 貴博[1]

[1]京都大学大学院医学研究科 泌尿器科, [2]島津テクノリサーチ 臨床研究開発支援センター, [3]京大病院 先端医療機器開発・臨床研究センター

Comparative evaluation of the extraction and analysis of urinary phospholipids and lysophospholipids using MALDI-TOF/MS for a clinical application to prostate cancer

○Kenji Nakayama[2,1], Xin Li[1], Takayuki Goto[1], Shusuke Akamatsu[1], Koji Shimidu[3], Osamu Ogawa[1], Takahiro Inoue[1]

[1]Department of Urology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, [2]Support Center for Precision Medicine, Shimadzu Techno-Research, Inc., [3]Clinical Research Center for Medical Equipment Development, Kyoto University Hospital

【Objectives】 The altered phospholipids (PLs) and lysophospholipids (LPLs) in prostate tissues have been reported as one of the potential biomarkers for prostate cancer (PCa) diagnosis or prognosis after surgical treatment in our previous studies. Urinary lipidomics has a great potential in clinical diagnostics and prognostics for PCa. MALDI-TOF/MS is considered as an effective technique for studying lipids. Therefore, a urinary lipidomic screening using MALDI-TOF/MS was performed in order to search for new biomarker candidates in a non-invasive way.

【Methods】 The procedures for the MALDI-TOF/MS analysis of urine samples were compared and optimized from the clinical perspective. An optimal MALDI matrix and lipid extraction method were identified using an internal standard (STD) mixture of 13 lipids spiked into human urine samples along with 2 ionization STDs for the peak-normalization. Lipids were extracted from the digital rectal examination (DRE) urine which contains many kinds of lipids secreted from the prostatic microenvironment. The lipidomic screening was performed by MALDI-TOF/MS in the urine samples collected from 30 PCa and 30 benign prostatic hyperplasia (BPH) patients after DRE.

【Results and Discussion】 Lysophosphatidylcholine (LPC) and phosphatidylcholine (PC) species detected in a reflectron positive mode were relatively abundant and with good reproducibility in the DRE urine samples. The compositions of LPC and PC in the urine samples were statistically significant differences between the PCa and BPH groups. The altered PC and LPC compositions in the DRE urine determined by MALDI-TOF/MS may be used as a simple and non-invasive biomarker for the PCa. Our comparative screening of PL and LPL biomarkers enables the DRE urine samples to be applied for PCa diagnosis.

P-49

若手ポスター賞　対象

酸化リン脂質受容体 MrgB5 が認識する酸化リン脂質の構造解析

○吉田 美沙紀[1], 岸 貴之[1], 川名 裕己[1,2], 可野 邦行[1,2], 三枝 大輔[2,3,4], 仲川 清隆[5], 青木 淳賢[1,2]

[1]東北大院・薬, [2]AMED-LEAP, [3]東北メディカル・メガバンク機構, [4]東北大医, [5]東北大院・農

Structural Analysis of Oxidized Phospholipids recognized by Oxidized Phospholipids Receptor, MrgB5.

○Misaki Yoshida[1], Takayuki Kishi[1], Hiroki Kawana[1, 2], Kuniyuki Kano[1, 2], Daisuke Saigusa[2, 3, 4], Kiyotaka Nakagawa[5], Junken Aoki[1, 2]

[1]Grad.Sch. Pharm., Tohoku Univ., [2]AMED-LEAP, [3]Tohoku Med. Megabank Org., [4]Tohoku Univ. Scool of Med., [5]Grad.Sch. Agric., Tohoku Univ.

【目的】我々は脂質応答性オーファン GPCR スクリーニングの過程で、酸化リン脂質特異的に応答する受容体、MrgB5 を同定した。MrgB5 は酸化リン脂質の中でも、リノール酸（LA）を 2 本有するホスファチジルグリセロールの空気酸化物（oxDLPG）に強く応答した。本研究では、多種存在すると想定される oxDLPG 分子種の中で MrgB5 が認識する oxDLPG の構造解析を試みた。

【方法】空気酸化により調製した oxDLPG を逆相系 HPLC で分離し、得られた各画分の MrgB5 活性化能を TGFα 切断アッセイにより評価した。MrgB5 活性画分を質量分析（MS）によるフルスキャンモードで解析し、検出された分子種をプロダクトイオンスキャン解析することで各分子種の構造を推定した。

【結果】未酸化 DLPG が溶出される直前の画分に強い MrgB5 活性を検出した。この活性画分に含まれ、MrgB5 活性と相関して検出された分子種は、未酸化 DLPG（m/z 769.5）と比較し、それぞれ+14、＋16、+32 の m/z を示す m/z 783.5, 785.5, 801.5 であった。また、m/z 783.5 からは 279 と 293、m/z 785.5 からは 279 と 295、m/z 801.5 からは 279 と 293 というプロダクトイオンが検出された。

【考察】m/z 279 は未酸化 LA に由来すると考えられる。m/z 293 は未酸化 LA との m/z の差からカルボニル基（C=O）付加体、m/z 295 はヒドロキシ基（-OH）、エポキシ基付加体 oxLA であると予測された。一方、m/z 801.5 は未酸化 DLPG の m/z よりも酸素原子 2 個分だけ大きいため、ヒドロペルオキシド基（-OOH）を有すると予想されたが、実際は m/z 801.5 からヒドロペルオキシド基付加体 oxLA イオンは検出されなかった。一般に、ヒドロペルオキシド基は MS 内で脱水し、カルボニル基に変換される。従って、m/z 801.5 から生じた m/z 293 は、ヒドロペルオキシド基が変換され生じたカルボニル基付加体 oxLA であると考えられた。以上より、oxDLPG 中の MrgB5 活性本体はカルボニル基、ヒドロキシ基、エポキシ基、あるいはヒドロペルオキシド基のいずれかを含む oxLA、及び未酸化 LA を 1 本ずつ有する構造であると考えられた。oxLA のグリセロール骨格内の位置や oxLA 中の酸化修飾位置に応じて活性本体にはさらに複数の構造が想定される。今後は、同定された活性本体が実際に生体内に存在するか、存在する場合どのような構造なのかについて解析を進めたい。

P-50

効率的かつ再現性のよいLCシステムEvosep Oneのプロテオミクス測定での評価

○加納 圭子[1], 碓井 史彦[2], 板東 泰彦[2], 上野 光正[2], 初田 一哉[3], 桑田 啓子[1]

[1]名古屋大・ITbM, [2]エーエムアール株式会社, [3]株式会社ウインクス

Evaluation of the efficient and reproducible LC system Evosep One in proteomics measurement

○Keiko Kano[1], Fumihiko Usui[2], Yasuhiko Bando[2], Mitsumasa Ueno[2], Kazuya Hatsuda[3], Keiko Kuwata[1]

[1]ITbM, Nagoya University, [2]AMR Inc., [3]WINX CO.,LTD.

【目的】臨床プロテオミクス用に開発されたEvosep One (EVOSEP, デンマーク)はEvotipと呼ばれるC18樹脂を充填したチップにサンプルをロードして測定を行うユニークなシステムである。予め脱塩・洗浄を行った後、酵素消化されたペプチドをロードしたEvotipをセットし、オートサンプラーがEvotipをインジェクターの注入口に直接注入する仕組みである。Evotipは使い捨てのため、コンタミネーションを防ぐことができる。次にEvotipからサンプルをグラジエント溶出させ、storage loop中にグラジエントを作成する。これにより、分析カラムでは再現性の良いハイスループットな分離を実現させる。血液など臨床プロテオミクスサンプルは、混在する脂質などが原因で装置を汚染することが懸念される。Evosep OneはEvotipからサンプルだけを溶出する勾配までしか上げない事で、汚染物質を分析カラムやMSに送り込ませない為、他のナノLCシステムよりキャリーオーバーのない強力な堅牢性を実現することも特徴としている。我々はこのシステムを臨床プロテオミクスサンプルとともに、免疫沈降溶出液などの微量サンプルにも活用できると考え評価を行った。

【方法】複数種類のサンプルについて、ゲル内消化や溶液消化したペプチド溶出液を２分し、一方を従来法（Dionex U3000 + PAL, 5-40% B in 100min)、もう１方をEvosep One（5-35% B in 45 min）で測定した。

【結果】Evosep One使用により、複雑性の高いサンプルでは同定数が下がったが、複雑性の低いサンプルなど同定数の向上が認められたものもあった。また、Evotip使用によりサンプル由来の夾雑物のカラムやMSへの持ち込みを大幅に減少できていることが確認できた。

【考察】Evosep Oneの分析時間が最長45分であることから、複雑性の高いサンプルでは同定数においてEvosep Oneが不利になる傾向があった。しかしながら、サンプル間のLC洗浄省略による大幅な分析時間の短縮と、夾雑物の多いサンプルでも安定な連続測定を可能にできることは大きな魅力であった。発表では、臨床サンプルや微量免疫沈降サンプルなど異なる性質のサンプルを用いて測定法を比較し、Evosep Oneの効果的な活用法について考察したい。

P-51

LC-MS/MS によるヒト血清中アポリポプロテイン E アイソフォーム定量分析法開発

○星野 雅輝, 新田 真一郎, 若林 弘樹, 上田 哲也

株式会社ＬＳＩメディエンス

Method Development of an LC-MS/MS Method to Determine Apolipoprotein E Isoforms in Human Serum

○Masaki Hoshino, Shin-ichiro Nitta, Hiroki Wakabayashi, Tetsuya Ueda

LSI Medience Corporation

【目的】APOE 遺伝子の ε4 アレルはアルツハイマー病の危険因子とされている。既に遺伝子検査が一般的に行われているが、定量的な評価は難しい。今回、生体試料中でのタンパク質濃度としての LC-MS/MS によるアポリポプロテイン E（ApoE）の主要な 3 アイソフォーム（ApoE2, ApoE3, ApoE4）の分離定量が可能な分析法の構築を目的とし検討を行った。頑健な分析法とするため、汎用試薬の使用と分析時間についても留意した。

【方法】既報 1)をもとに主要アレル箇所を含むタンパク質のトリプシン消化後の 4 ペプチド断片と各アイソフォームに共通の 1 ペプチド断片を測定する手法とした。酵素反応条件、LC-MS/MS 条件の最適化により分析条件を確立した。また、リコンビナントタンパク質を標準物質として検量線を作成するために代替マトリックスの検討を行った。現在分析能の評価および市販のヒト血清の測定による評価を実施中である。

1): J. Proteome Res. 2014, 13, 1077−1087

【結果】我々が今回開発した分析法は 1 分析当たりヒト血清の使用量は 10 μL、汎用試薬のみで実施可能で、1 サンプルあたりの分析時間は 12 分、各アイソフォームの定量範囲は 1 - 200 μg/mL である。現在、抗体医薬品の LC-MS/MS による分析法に対して文献 2)で提案されている基準を用いて分析法バリデーションを実施中である。また、市販のヒト血清を用いた連続測定におけるバッチ耐久性評価も合わせて実施中である。

2): Chromatography 2018, 39, 7-19

【考察】我々は、リコンビナントタンパク質を標準品に使用したヒト血清中のアポリポプロテイン E の各アイソフォームの分離定量可能な分析法を開発した。本分析法はペプチド断片を標準品とした場合と比べて酵素消化の影響についても補正が可能となる利点がある。また、濃度既知血清を標準品として使用する場合と比べて安定して標準品を入手できる利点がある。今後、アルツハイマー病研究における長期の経時的な ApoE 濃度評価などの応用に期待したい。

P-52

FFPE 組織を用いたプロテオミクスによる脂肪肉腫診断マーカーの探索

○青山 智志[1,2], 高澤 啓[2], 小野 祐輔[2], 長谷川 匡[1], 小山内 誠[2]

[1]札幌医科大学附属病院病理部, [2]札幌医科大学医学部病理学第二講座

Exploring the diagnostic markers for Liposarcoma based on proteomics analysis using FFPE tissue

○Tomoyuki Aoyama[1,2], Akira Takasawa[2], Yusuke Ono[2], Tadashi Hasegawa[1], Makoto Osanai[2]

[1]Sapporo Med. Univ., Sch. Med, [2]Sapporo Med. Univ., Sch. Med

【背景】ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE) は最も一般的な組織保存法だが、タンパク質の変性や修飾のため、プロテオミクスの試料として積極的に用いられてこなかった。FFPE 組織を用いたプロテオミクスが可能となれば、あらゆる疾患で病理組織診断や治療ターゲットとなるバイオマーカーの探索が可能となる。

【目的】本研究は、脂肪肉腫の診断・治療に有効かつ、免疫組織化学法(IHC)で検出できる新たなバイオマーカーの探索を目的とした。

【方法】脂肪腫および高分化型脂肪肉腫(ALT/WDL)各 4 症例の FFPE 組織からタンパク質を抽出し、分析可能なペプチド断片として質量分析に供した。バイオマーカーの評価は、脂肪腫、ALT/WDL および脱分化型脂肪肉腫(DDL)の手術材料、脂肪肉腫由来細胞株を用いて行った。

【結果】質量分析により、脂肪腫から 227 種、ALT/WDL から 266 種のタンパク質が検出された。ALT/WDL のみから検出されたタンパク質は 181 種であった。ALT/WDL のみから検出されたタンパク質について、質量分析の信頼性、生物学的妥当性を考慮してバイオマーカー候補を選定した。これらのバイオマーカー候補を検証し、脂肪肉腫手術材料の IHC で高発現し、脂肪肉腫由来細胞株の増殖に関与する分子が同定された。

P-53

若手ポスター賞 対象

血清エクソソームのプロテオミクスによる新規胆管癌診断マーカーの同定

○吉田 幸布[1], 高野 重紹[2], 吉富 秀幸[2], 小寺 義男[3], 朝長 毅[4], 大塚 将之[2], 曽川 一幸[1]

[1]麻布大・生命環境, [2]千葉大・医, [3]北里大・理, [4]医薬基盤健康栄養研究所

Proteomic profiling of serum exosomes to identify novel clinical biomarker for Cholangiocarcinoma

○Sachiho Yoshida[1], Shigetsugu Takano[2], Hideyuki Yoshitomi[2], Yoshio Kodera[3], Takesi Tomonaga[4], Masayuki Otsuka[2], Kazuyuki Sogawa[1]

[1]Azabu Univ., [2]Medicine,Chiba Univ., [3]Science,Kitasato Univ., [4]NIBIOHN

【目的】胆管癌は様々な悪性腫瘍の中でも予後不良の癌である。その主な理由として早期発見が困難なことから切除率が低く、有効な補助療法が確立されていない事が挙げられる。従って、胆管癌を早期に発見・診断し外科的切除および分子標的治療薬を含む化学療法等での集学的治療をいち早く行うことにより治療成績の向上を図ることが急務である。エクソソームはリピッドラフトなど細胞膜の一部が陥入する過程から生合成が開始され、初期エンドソームとして細胞質内に遊離し、集積、融合して多胞体を形成する。多胞体内でソートを受けた細胞内構成成分は、再び小胞輸送によってリソソームに移行して分解され、また一部はエクソソームとして細胞外へ放出される。この過程で、オリジナルとなる細胞が持つ核酸、タンパク質、脂質などあらゆる生体分子がエクソソームに包含される。我々は癌細胞の情報が詰まっているエクソソームに注目し、新規胆管癌診断マーカーの探索を行った。

【方法】千葉大学病院肝胆膵外科に入院した胆管癌患者 3 名の手術前後の血清検体を用いた。全ての患者から同意を得た上で行った。エクソソーム精製法は超遠心沈降法で行い、12,000 × g 以下の低速遠心で細胞デブリなどを除去した後、100,000 × g でエクソソームを沈殿させ精製する。精製したサンプルを安定同位体標識試薬 Tandem Mass Tag（TMT；Thermo Fisher Scientific 社）で標識した。標識したサンプルを混合しトリプシン消化を行い、酵素消化したサンプルは LC-MS/MS 測定を行い、データベースサーチによりタンパク質同定と比較定量を同時に行った。

【結果】胆管癌患者において、エクソソーム抽出後、TMT 標識し、トリプシン消化、LC-MS/MS 解析を行った結果、108 タンパク質を同定した。そのうち 1 症例でも術前と術後の比率（術前/ 術後）が 2.0 以上のものは 22 タンパク質が同定され、特に 3 症例すべてにおいて術前と術後の比率が 2.0 以上のものは Dynamin-1 であった。

【考察】新規胆管癌診断マーカー候補タンパク質として、Dynamin-1 を見出した。今後、検体数を増やして臨床応用可能かどうか検証していく。

P-54

ラベルフリーシングルショットガン解析によるヒト涙液プロテオームの比較

○李 暁鵬[1], 山田 美穂[2], 山中 秀徳[3], 坂牧 寛[3], 藤城 雅也[1], 長谷川 智華[1,4], 恩田 秀寿[1], 熊澤 武志[1,5], 佐藤 啓造[1], 松山 高明[1]

[1]昭和大・医・法医学, [2]昭和大・医・眼科学, [3]化学物質評価研究機構, [4]東邦大・医・法医学, [5]聖隷大

Comparison of proteome in human tear using a label-free shotgun analysis

○Xiao-Pen Lee[1], Miho Yamada[2], Hidenori Yamanaka[3], Hiroshi Sakamaki[3], Masaya Fujishiro[1], Chika Hasegawa[1,4], Hidetoshi Onda[1], Takeshi Kumazawa[1,5], Keizo Sato[1], Takaaki Matsuyama[1]

[1]Legal Med, Showa Univ., [2]Ophthalmology, Showa Univ., [3]CERI, [4]Legal Med, Toho Univ., [5]Seirei Christopher University

【目的】涙液は、眼に酸素や栄養を補給する役割を始め、感染および乾燥を防ぐなど眼が正常に機能する重要な役割を担っている。また、涙液中には脂質、タンパク質など多くの成分が存在していることから、涙液は薬物の体内動態の解析だけでなく早期診断バイオマーカーの探索にも有用と考える。しかも、涙液は血液試料と違って非侵襲採集が可能などの利点もある。今回我々は、TS-1®服用による涙道障害が惹起された臨床患者と健常人の涙液について、ラベルフリーシングルショットガン解析を用いた涙液中プロテオームの比較検討を行ったので報告する。

【方法】本分析にはUltiMate® 3000 nano LCおよびQ Exactive plus (ThermoFisher)を用いて測定を行った。試料調製としては、ヒト涙液10 μLを還元、アルキル化後、トリプシン処理を行った。カラムは化学物質評価研究機構製 L-column micro を用いた。データ解析は、MASCOT（Matrix Science）を用いた UNIPROT データベースを検索した結果について、Protein FDR = 0.1%、Peptide FDR = 0.6%の条件下でScaffold（Proteome Science）による比較解析を実施した。

【結果】Scaffoldを用いた比較解析により疾患群（がん患者AおよびB計2名）の涙液にのみ含まれるタンパク質として、7種類（Talin-1、Mucin-5AC、Neutrophil elastase、Protein S100-A8、Cathelicidin antimicrobial peptides、Myeloid cell nuclear differentiation antigen および Leukotriene A-4 hydrolase）が特定された。対照群（健常人1名）では、上記がん患者が示した13種類タンパク質は検出されず、対照群でのみ発現する4種類のタンパク質（Proline-rich protein 4、Polycomb group RING finger protein 3、Retroviral-like aspartic protease 1 および Desmoglein-1）が特定された。

【考察】本研究で涙液から検出されたTalin-1、Olfactomedin-4およびMatrix metalloproteinase-9は、既に消化器系腫瘍の血清マーカーとして用いられている。今後、涙液と血清との比較等を検討する必要があるものの、涙液が検査試料として利用可能であることが示された。さらに、対照群でのみ検出されたPolycomb group RING finger protein 3は腫瘍抑制に関与するタンパク質であり、有効なバイオマーカーとなる可能性も示唆された。

P-55

血清エクソソームのプロテオミクスによる新規膵臓癌診断マーカーの同定

○藤代 綾子[1], 高野 重紹[2], 吉富 秀幸[2], 小寺 義男[3], 朝長 毅[4], 大塚 将之[2], 曽川 一幸[1]

[1]麻布大・生命環境, [2]千葉大・医, [3]北里大・理, [4]医薬基盤健康栄養研究所

Proteomic profiling of serum exosomes to identify novel clinical biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma

○Ayako Fujishiro[1], Shigetsugu Takano[2], Hideyuki Yoshitomi[2], Yoshio Kodera[3], Takeshi Tomonaga[4], Masayuki Otsuka[2], Kazuyuki Sogawa[1]

[1]Azabu Univ., [2]Medicine, Chiba Univ., [3]Science, Kitasato Univ., [4]NIBIOHN

【目的】膵臓癌は様々な悪性腫瘍の中でも予後不良の癌である。その主な理由として早期発見が困難なことから切除率が低く、有効な補助療法が確立されていない事が挙げられる。従って、膵臓癌を早期に発見・診断し外科的切除および分子標的治療薬を含む化学療法等での集学的治療をいち早く行うことにより治療成績の向上を図ることが急務である。
エクソソームはリピッドラフトなど細胞膜の一部が陥入する過程から生合成が開始され、初期エンドソームとして細胞質内に遊離し、集積、融合して多胞体を形成する。多胞体内でソートを受けた細胞内構成成分は、再び小胞輸送によってリソソームに移行して分解され、また一部はエクソソームとして細胞外へ放出される。この過程で、オリジナルとなる細胞が持つ核酸、タンパク質、脂質などあらゆる生体分子がエクソソームに包含される。
我々は癌細胞の情報が詰まっているエクソソームに注目し、新規膵臓癌診断マーカーの探索を行った。
【方法】千葉大学病院肝胆膵外科に入院した膵臓癌患者 3 名の手術前後の血清検体を用いた。全ての患者から同意を得た上で行った。
エクソソーム精製法は超遠心沈降法で行い、4,000 × g 以下の低速遠心で細胞デブリなどを除去した後、100,000 × g でエクソソームを沈殿させ精製する。精製したサンプルを安定同位体標識試薬 Tandem Mass Tag（TMT；Thermo Fisher Scientific 社）で標識した。標識したサンプルを混合しトリプシン消化を行い、酵素消化したサンプルは LC-MS/MS 測定を行い、データベースサーチによりタンパク質同定と比較定量を同時に行った。
【結果】膵臓癌患者において、エクソソーム抽出後、TMT 標識し、トリプシン消化、LC-MS/MS 解析を行った結果、126 タンパク質を同定した。そのうち 1 症例でも術前と術後の比率（術前 / 術後）が 2.0 以上のものは 10 タンパク質が同定され、特に 3 症例すべてにおいて術前と術後の比率が 2.0 以上のものは Guanylate-binding protein 3 であった。
【結語】新規膵臓癌診断マーカー候補タンパク質として、Guanylate-binding protein 3 を見出した。今後、検体数を増やして臨床応用可能かどうか検証していく。

P-56

プロテオーム解析を用いたストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルラットの角膜における創傷治癒遅延機構の解析

○山本 哲志, 蛭子 小春, 三田村 邦子, 長井 紀章, 多賀 淳

近畿大学薬学部

Proteomic analysis of corneal to examine the mechanisms of delayed wound healing in a Streptozotocin-Induced Diabetic Rat.

○Tetsushi Yamamoto, Koharu Ebisu, Kuniko Mitamura, Noriaki Nagai, Atsushi Taga

Kindai University

【目的】糖尿病の合併症の一つである糖尿病角膜症は、角膜に障害を受けた時の創傷治癒が遅延することが知られている。創傷治癒遅延には細胞外基質タンパク質の発現変化などが関与していることが示唆されているが、その詳細なメカニズムについては十分に解明されていない。そこで今回、糖尿病角膜症における角膜上皮の創傷治癒が遅延する機構を調べるため、ストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルラットの角膜を用いたプロテオミクスを行った。

【方法】正常ラットと糖尿病ラットの角膜よりタンパク質を抽出した。これらをトリプシン消化した後、LC/MS で測定し、タンパク質の同定を行った。次に、スペクトラルカウント法を用いた比較定量を行い、正常部と比べて発現量が変動していたタンパク質を同定し、GO 解析を行った。また、正常ラットと糖尿病ラットの角膜における lumican の発現を確認した。最後に、in vivo におけるラットの角膜創傷治癒実験を行い、lumican の発現と HE 染色による組織像の観察を行った。

【結果】プロテオーム解析及びスペクトラルカウントの結果、糖尿病ラットの角膜で発現が 2 倍以上変動している 188 種類のタンパク質が同定された。GO 解析を行った結果、細胞外基質タンパク質の発現が変動しており、その中には角膜の創傷治癒過程に重要な役割を果たしている lumican が含まれていた。そこで、角膜における lumican の発現を確認した所、糖尿病ラットで過剰に発現していることが明らかになった。また、角膜の創傷治癒過程における lumican の発現を確認した所、正常ラットでは時間経過とともに lumican の発現が上昇し、治癒完了時には創傷前と同等レベルに発現量が戻ったのに対し、糖尿病ラットでは、時間経過とともに上昇した lumican の発現が治癒完了時にも高いままであった。また、その時の組織像を確認すると糖尿病ラットの角膜では、基底細胞とボーマン膜の接着不全が確認された。

【考察】過剰に角膜に発現した lumican は、糖尿病ラットの角膜の接着不全を誘導することが示唆された。そのため、角膜における lumican の発現を制御することは、糖尿病角膜症における創傷治癒遅延の改善に重要な役割を果たすことが示唆された。

P-57

若手ポスター賞　対象

イムノコンプレキソーム解析法による原発性胆汁性胆管炎患者の血清中免疫複合体解析

○相原 希美[1], 大山 要[1], 中村 稔[2], 玉井 慎美[3], 中村 英樹[3], 岸川 直哉[1], 川上 純[3], 塚元 和弘[1], 黒田 直敬[1]

[1]長崎大院・医歯薬, [2]長崎医療センター・臨床研究センター, [3]長崎大病院・リウマチ膠原病内科

Serum immune complexome analysis of primary biliary cholangitis

○Nozomi Aibara[1], Kaname Ohyama[1], Minoru Nakamura[2], Mami Tamai[3], Hideki Nakamura[3], Naoya Kishikawa[1], Atsushi Kawakami[3], Kazuhiro Tsukamoto[1], Naotaka Kuroda[1]

[1]Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University, [2]National Hospital Organization Nagasaki Medical Center, [3]Department of Immunology and Rheumatology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

【目的】 原発性胆汁性胆管炎（PBC）は、小葉間胆管が選択的に破壊される原因不明の自己免疫疾患で、抗ミトコンドリア抗体（AMA）と胆管炎の有無により診断される。AMA の対応抗原はリジン残基に結合するリポ酸をもつ PDC-E2、BCOADC-E2、OGDC-E2、E3BP などの 2-オキソ酸脱水素酵素である。しかし、AMA 抗原は検査学的な意義が認められるものの、AMA 量と胆管破壊が相関しないため、AMA 抗原が PBC の病態に関与するかどうかは不明である。つまり現時点で PBC の pathogenic な抗原は見つかっていない。我々は、体内の免疫反応で形成される免疫複合体に含まれる抗原を nano-LC-MS/MS で一斉に同定する「イムノコンプレキソーム解析法」を開発し、様々な疾患の免疫複合体抗原を特定してきた。本研究では、PBC の病態形成に繋がる抗原の有無を血清イムノコンプレキソーム解析で探索した。

【方法】イムノコンプレキソーム解析法：Protein G および Protein A 固定化磁気ビーズを用いて、各患者の血清から免疫複合体を捕集し、パパイン消化によって抗体 (Fab) と抗原をビーズから溶出させた。溶出液を還元アルキル化、トリプシン消化して得られたペプチドの nano-LC-MS/MS 分析とデータベース検索で抗原タンパク質を同定した。翻訳後修飾としてリポイル化を考慮した。サンプル：PBC 患者 16 名、対照疾患として、シェーグレン症候群 10 名、全身性エリテマトーデス 7 名、強皮症 6 名、関節リウマチ 14 名の計 53 名 (全て女性) の血清試料を用いた。(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会: 承認番号 34)

【結果及び考察】AMA 抗原のうち、OGDC-E2、E3BP が PBC 患者の 25%（16 名中 4 名）、38%（16 名中 6 名）で検出され、血液中で免疫複合体を形成していることがわかった。しかし、これらの抗原は関節リウマチ患者や強皮症患者でも検出されており、PBC への特異性が高い抗原であるとはいえなかった。一方で、AMA 抗原以外に PBC 患者の 2 例以上で PBC 特異的に検出された抗原が十数種類見つかった。多くの自己免疫疾患において、免疫複合体の形成や臓器への沈着、それにともなう補体活性化などの炎症の惹起が組織破壊の重要な機序であるとされている。よって今回新たに見つかったタンパク質の抗原性獲得の過程がわかれば、PBC の病態解明や治療研究に発展する可能性がある。

P-58

インスリン由来アミロイドーシスの解析

○伊藤 喜之[1], 永見 信正[2], 新井 久恵[3], 寺嶋 博[1], 西岡 秀夫[1], 永瀬 晃正[4], 岩屋 啓一[3,4]

[1]日本電子, [2]兵庫県警科捜研, [3]杏雲堂病院, [4]東京医大

Evaluation for insulin-derived amyloidosis

○Yoshiyuki Itoh[1], Nobumasa Nagami[2], Hisae Arai[3], Hiroshi Terashima[1], Hideo Nishioka[1], Terumasa Nagase[4], Keiichi Iwaya[3,4]

[1]JEOL, [2]Hyogo Pref.Police H.Q., [3]Kyoundo Hospital, [4]Tokyo Medical University

【目的】糖尿病患者における皮膚の合併症として知られる「インスリン由来アミロイドーシス」は、血糖コントロールの悪影響などが懸念され、より迅速かつ精密な診断方法が期待される。本研究は、インスリン由来アミロイドーシスについて、発症メカニズムの解明と診断をサポートするデータの取得を目指した機器分析法の技術開発である。

【方法】機器分析の実験に用いた組織切片は、組織をホルマリン固定後にパラフィン包埋し（ＦＦＰＥ）、薄切切片として調製した。病理組織染色では、抗インスリン抗体を用いて免疫染色し、アミロイド構造をコンゴーレッド染色にて、それぞれを観察した。MALDI-TOFMS を用いたインスリンの検出では、切片の一部を削り取り、溶媒抽出した試料を分析した。アミロイド様構造の観察には、顕微ラマン分光装置（ラマン）と透過電子顕微鏡（TEM）を用いた。
更に、アミノ酸組成や質量は同一だが、配列の異なるインスリン製剤であっても識別・同定できるように、MALDI-TOFMS の in source decay(ISD)法で製剤溶液を分析した。

【結果】組織切片の分析において、病理組織染色の分布と機器分析の結果に良い相関が得られた。MALDI-TOFMS では、ホルマリンが付加したインスリン成分も同時に検出し、製剤の種類に対応する質量情報が得られたので、検出と同時に識別できた。インスリンが検出された部位のラマンと TEM を用いた分析結果は、β 構造を持つ細繊維の存在を示唆した。インスリン製剤の MALDI-ISD 法による分析では、ヒト型のインスリンに対してアミノ酸の順番が 1 ヶ所入れ替わっただけのインスリンリスプロを含め、B 鎖 C 末端付近のフラグメントイオンを観測することで、7 種類の製剤を識別することができた。

【考察】インスリン由来アミロイドーシスは、病院において MRI 等の画像診断や生体組織採取による病理検査などで、総合的に診断されており、質量分析を主軸とする機器分析においても、診断の結果を支持するデータが得られた。製剤の識別に有効な MALDI-ISD 法は、病理検体にも応用できると考えており、発症メカニズム解明への貢献が期待できる。本法は、FFPE を試料とするため、保存された過去の検体にも適応可能な分析方法である。

P-59

in vivo マイクロダイアリシス法と PESI/MS/MS を用いたマウス脳内神経伝達物質分析法の構築

○川上 大輔[1,2], 土屋 弥月[1], 村田 匡[2], 財津 桂[1,3]

[1]名古屋大学大学院医学系研究科 法医生命倫理学, [2]株式会社 島津製作所, [3]名古屋大学 高等研究院

Quantitative analysis of extracellular neurotransmitters in mouse brain by combinational use of *in vivo* microdialysis and PESI/MS/MS

○Daisuke Kawakami[1,2], Mitsuki Tsuchiya[1], Tasuku Murata[2], Kei Zaitsu[1,3]

[1]Nagoya Univ. Grad.School, [2]Shimadzu Corporation, [3]Nagoya Univ.

【目的】微小透析プローブの半透膜を介して、in vivo 条件下における脳内の細胞外成分を回収する方法としてマイクロダイアリシス（MD）法が知られている。これまで MD による回収液の分析法として、質量分離により特異性の高い同定が期待できる LC/MS や GC/MS が用いられているが、十分なサンプル量の確保とそれに伴う時間分解の低下に加え、煩雑な前処理が必要となる。そこで本研究では、簡便な操作で対象成分を直接かつ選択的に測定することができる探針エレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析（PESI/MS/MS）を用いて、MD で回収した脳内の神経伝達物質（グルタミン酸および γ-アミノ酪酸（GABA））の分析を行い、その有用性を検証した。

【方法】ICR 雄性マウスの線条体に MD プローブを留置し、高濃度のカリウムイオン(100mM KCl)を含む人工脳脊髄液（aCSF 液）による脱分極刺激を行い、神経伝達物質を含む細胞外液を連続的に回収した。内部標準法を用いて検量線を作成し、PESI/MS/MS を用いて回収した潅流液の定量分析を行った。

【結果および考察】L-グルタミン酸および GABA について検量線を作成した結果、それぞれ 500～10,000 ng/mL、10~100 ng/mL の範囲で良好な直線性が得られた。脱分極刺激では、ベースライン（2.68 mM KCl aCSF）に対して、L-グルタミン酸の濃度が最大で約 2 倍（193%）に増加し、その後、やや遅れて GABA の濃度が最大で約 3 倍（267%）まで増加した（n=2）。この結果は、高濃度カリウムイオンによる脱分極の結果、シナプス前終末より L-グルタミン酸および GABA の放出が促進されたものと考えられた。以上の結果より、PESI/MS/MS と MD 法を組み合わせることで、極めて簡便に神経伝達物資をモニタリングすることが可能となった。特に線条体は報酬系や運動制御と強く関連していることから、本法は薬物依存やパーキンソン病の分子機序解明のツールとなることが強く期待される。

P-60

Survival of motor neuron（SMN）タンパク質の定量

○竹内 敦子[1], 都出 千里[1], 西尾 久英[2]

[1]神戸薬科大, [2]神戸学院大・総合リ

Determination of survival of motor neuron (SMN) protein

○Atsuko Takeuchi[1], Chisato Tode[1], Hisahide Nishio[2]

[1]Kobe Pharm. Univ., [2]Kobe Gakuin Univ.

【目的】脊髄性筋萎縮症（SMA）とは、脊髄運動神経細胞の変性・脱落に伴い、進行性の筋緊張低下・萎縮を生じる常染色体劣性神経筋疾患である。発生頻度は高く 1 万人に 1 人の割合で発生し、保因者は 50 人に 1 人と言われている。SMA の原因の多くは SMN1 遺伝子の欠失による SMN タンパク質の発現不足と考えられている。SMA の根治療法はまだ見つかっていないが、現在は主に SMN タンパク質を増やす治療法が提案されている。そこで、SMN タンパク質を定量できれば SMA 治療効果判定ができると考え、SMN タンパク質測定法の確立を目指した。

【方法】Total＆完全長型（FL）-SMN タンパク質の分別定量： SMN タンパク質は完全長型 SNM（FL-SMN）と exon7 領域が欠失した短縮形 SMN（Δ7-SMN）がある。Δ7-SMN タンパク質は機能不全タンパク質であるため、より精密な治療効果判定には FL-SMN タンパク質のみの定量が必要となる。HeLa 細胞中のタンパク質を Buffer で可溶後、Trypsin または Lys-C でペプチドに分解した。Total-SMN タンパク質は FL-SMN と Δ7-SMN の共通配列のペプチドを、FL-SMN タンパク質は exon7 配列ペプチドをターゲットにした。LC-MS/MS［AB Sciex］を用いて、Total-SMN タンパク質と FL-SMN タンパク質を分別定量した。

【結果および考察】LC-MS/MS 法により、Total-SMN タンパク質および FL-SMN タンパク質由来のペプチドピークは、それぞれの標準ペプチドと同じ保持時間に単一ピークを示した。標準ペプチドを用いる検量線により、Total-SMN タンパク質および FL-SMN タンパク質の分別定量が可能となった。FL-SMN タンパク質が機能タンパク質であるので、Total-SMN タンパク質だけでなく FL-SMN タンパク質量を測定する方がより治療効果の判定に適していると考える。

P-61

若手ポスター賞　対象

胃がん内視鏡検体の高感度リン酸化プロテオミクスに基づくキナーゼ活性プロファイリング

○阿部 雄一[1,2], 平野 秀和[3], 庄司 広和[3], 田口 歩[2], 本田 一文[4], 朴 成和[3], 朝長 毅[1], 足立 淳[1]

[1]医薬基盤健栄研 プロテオーム, [2]愛知がん研 分子診断, [3]国立がん中央病院 消化管内科, [4]国立がん研 早期診断バイオマーカー開発部門

Comprehensive characterization of the phosphoproteome of gastric cancer from endoscopic biopsy specimens

○Yuichi Abe[1,2], Hidekazu Hirano[3], Hirokazu Shoji[3], Ayumu Taguchi[2], Kazufumi Honda[4], Narikazu Boku[3], Takeshi Tomonaga[1], Jun Adachi[1]

[1]Lab of Proteome Res, NIBIOHN, [2]Div of Mol Diagnostics, ACC, [3]Nat Cancer Center Hospital, [4]Nat Cancer Center Res Inst

【目的】がん組織リン酸化プロテオミクス解析は、バイパス経路のようながん特異的リン酸化シグナル異常の解明に応用されつつあり、リン酸化修飾酵素（キナーゼ）を標的とする治療の最適化に大きく貢献すると考えられる。しかし、がん組織検体は術中の阻血による影響を受けており、そのリン酸化修飾状態が完全に生理状態を反映しないという欠点も明らかとなった。そのため本研究では、採取後の迅速な凍結保存が可能である内視鏡検体を対象とし、高感度リン酸化プロテオミクス解析の構築を試みた。

【方法】約２㎜立方の胃がん内視鏡検体を凍結保存後、解析に供した。内視鏡検体から得られるタンパク質量は、一般的なリン酸化プロテオミクス解析には不十分であるため、内視鏡検体専用の高感度測定系を構築した。具体的には、C18-Stagetip によるリン酸化ペプチド濃縮と、C18/SCX-stagetip によるリン酸化ペプチド分画法を組み合わせ、TMT10plex ラベルサンプルを Q Exactive Plus により解析した。リン酸化部位の同定には MaxQuant を使用し、得られた定量データによるキナーゼ活性プロファイリングを実施した。

【結果】胃がん・正常粘膜の内視鏡検体（約 300ug タンパク質/サンプル）から、14687 個（うち Class1 部位 10162 個）のリン酸化部位を同定した。このうち 1346 部位はデータベース（PhosphositePlus）にも未登録の新規リン酸化部位であった。胃がん・正常粘膜間のキナーゼ活性プロファイリングから、既知の胃がん分子標的である Her2 や、DNA 損傷シグナル関連キナーゼのがん部位特異的な活性化が確認された。さらに、FDA 認証済み阻害剤を持つキナーゼ 20 種以上の活性情報も測定できた。

【考察】本成果によって、内視鏡検体による低侵襲かつ経時的ながんキナーゼ活性モニタリングへの一旦が開拓されたといえる。内視鏡検体リン酸化プロテオミクスデータは、キナーゼの「活性」を指標とした、キナーゼ阻害剤の感受性予測・ドラッグリポジショニングへの応用が可能であり、プレシジョンメディシンへの多大な貢献が期待される。

P-62

黄色靭帯肥厚によるタンパク組成変化

○長子 晴美[1], 河野 通快[2], 三浦 美樹子[1], 原 伸正[1], 日吉 峰麗[1], 内尾 祐司[2], 土屋 美加子[1]

[1]島根大学・医・生化学, [2]島根大学・医・整形外科学

Alteration of protein contents in hypertrophied ligamentum flavum

○Harumi Osago[1], Michihaya Kono[2], Mikiko Kobayashi-Miura[1], Nobumasa Hara[1], Mineyoshi Hiyoshi[1], Yuji Uchio[1], Mikako Tsuchiya[2]

[1]Department of Biochemistry, Shimane University, Faculty of Medicine, [2]Department of Orthopedic Surgery, Shimane University, Faculty of Medicine

【目的】腰部脊柱管狭窄の主たる要因の一つに黄色靭帯の肥厚を伴う変性がある。この靭帯は他の靭帯と異なり、コラーゲンよりエラスチンを多く含むが、変性が進むとコラーゲンが増加し、エラスチンが減少することが組織染色の結果から推測されている。エラスチンはデスモシン、コラーゲンはピリジノリンとデオキシピリジノリンというそれぞれに特徴的なクロスリンクを形成するが、これらを質量分析により同時測定する方法を第 42 回本学会年会で報告した。今回、未変性および変性靭帯を用い、デスモシン、ピリジノリン、デオキシピリジノリン、および水酸化プロリン量を測定した結果を報告する。

【方法】腰椎椎間板ヘルニアと腰部脊柱管狭窄の手術時に摘出された、未変性（n=5）および変性（n=10）黄色靭帯の断片より 3〜6 検体を採取する。それぞれの検体の乾燥重量測定、可溶化、酸加水分解を行った後、デスモシン、ピリジノリン、デオキシピリジノリンおよび、水酸化プロリン量を測定する。術前の MRI 画像により、黄色靭帯の肥厚度を計測する。

【結果】変性黄色靭帯の肥厚度増加に伴ってピリジノリン、デオキシピリジノリン、および水酸化プロリンは増加するが、デスモシンはわずかに減少した。

【考察】変性黄色靭帯では特徴的なクロスリンクを測定することによって、コラーゲンが増加しエラスチンが減少することが示された。変性前後の特徴的成分の組成変化を詳細に検討することにより腰部脊柱管狭窄の発生機序、病態の解明や新規治療法の開発につながる可能性がある。

P-63

若手ポスター賞　対象

ブラックタイガーの新規アレルゲンタンパク質解析

○宮谷 千菜津[1], 藤田 雄治[2], 佐藤 守[3], 中野 泰至[2], 下条 直樹[2], 野村 文夫[3], 曽川 一幸[1]

[1]麻布大・生命環境, [2]千葉大・医, [3]千葉大学病院

Search for novel allergen of Penaeus monodon (Black tiger shrimp) allergy using IgE-immunoblotting assay

○Chinatsu Miyatani[1], Yuji Fujita[2], Mamoru Satoh[3], Yasushi Nakano[2], Naoki Shimojo[2], Fumio Nomura[3], Kazuyuki Sogawa[1]

[1]Azabu Univ., [2]Medicine, Chiba Univ., [3]Chiba Univ. Hp.

【目的】近年、食物アレルギー患者の割合が増加しており、甲殻類アレルギーは平成 27 年度消費者政策調査（消費者庁）によると全体の 2%に現れ、食物の中では 4 番にアレルギーの発症例が高い食物である。特に 7 歳以上では 1 番発症例が高い食物である。ブラッタイガーの主要なアレルゲンは tropomyosin (Pen m 1)、arginine kinase (Pen m 2)、Myosin light chain 2 (Pen m 3)、Sarcoplasmic calcium binding protein (Pen m 4)、Troponin C (Pen m 5)である。
今回我々は、患者血清を用いてブラックタイガーアレルギーにおける新規アレルゲンタンパク質の探索・同定を行った。

【方法】千葉大学医学部附属病院小児科に受診したエビアレルギー患者 24 名の血清検体を用いた。全ての患者及び保護者から同意を得た上で行った。
アレルゲンタンパク質の検出はウエルタンブロット法で行った。エビはブラックタイガーを使用した。ブラックタイガーの身を 50m g チューブに取り、Sample buffer を 400μL 加え、超音波破砕を行う。遠心分離（21130×g、30 分、4℃）を行い、その上清をタンパク質抽出液とした。抽出液を SDS-PAGE、メンブレンに転写後、ブロッキングをした。一次抗体はブロッキングバッファーで 50 倍希釈したエビアレルギー患者血清、二次抗体は Mouse Anti human IgE 抗体(1000 倍希釈)、三次抗体は Mouse Immnoglobulins/HRP(1000 倍希釈)を用い、検出は Light-Capture II (Cooled CCD Camera System)を用いた。ウエスタンブロット法で検出したタンパク質は SDS-PAGE 後 CBB 染色を行い、バンドを切り出し、トリプシン消化後、LC-MS/MS により同定した。

【結果】ウエスタンブロット法にてエビアレルギー患者 14 名でバンドが検出され、Tropomyosin（Pen m 1)、Arginine kinase（Pen m 2)、Myosin light chain (Fragments)（Pen m 3）の既報のアレルゲンが同定され、Penaeus vannamei（バナメイエビ）のタンパクであるが Calcium-transporting ATPase が同定された。

【結語】Calcium-transporting ATPase との交差反応性が考えられるため、リコンビナントタンパクを作成中である。今後、Calcium-transporting ATPase が検出されたエビアレルギー患者血清で検証する予定である。

P-64

肝癌細胞株への新規修飾型 D-ドーパクロムトートメラーゼ刺激によるリン酸化プロテオミクスの試み

○日吉 峰麗, 長子 晴美, 三浦 美樹子

島根大・医・生化学

Phospho-proteomic analysis of hepatoma cell line stimulated by novel modified D-dopachrome tautomerase

○Mineyoshi Hiyoshi, Harumi Osago, Mikiko Kobayashi-Miura

Department of Biochemistry, Shimane University, Faculty of Medicine

【目的】D-ドーパクロムトートメラーゼ (DDT)は、マクロファージ遊走阻止因子 (MIF) とアミノ酸配列および立体構造に高い相同性がある。DDT は MIF と同様に、細胞表面に存在する CD74 を介してリン酸化シグナルを誘発することが知られている。
DDT は肝臓においての発現量が特に多く、ラット肝を用いたプロテオーム解析により容易に検出されるが、演者らは四塩化炭素を用いたラット傷害肝のプロテオーム解析の過程で、これまでに報告の無い新規の修飾が DDT に起こっていることを明らかにしている。今後、DDT への新規修飾がリン酸化シグナルに対しどのような影響をもたらすか明らかにすることを目指し、ラット正常肝および傷害肝から精製した DDT を用いたリン酸化プロテオミクスへの展開を計画している。本年会では、DDT 刺激後の培養細胞に含まれるリン酸化タンパク質の解析条件の検討を目的とする。

【方法】8 週齢のオス Wistar ラットに 1 mL/kg body weight の四塩化炭素（対照ラットにはコーン油）を腹腔内に投与後、24 時間で肝を摘出し、6 倍量の緩衝液でタンパク質の抽出を行い、各種クロマトグラフィーを用いて DDT の精製を進める。高純度に精製された DDT を培養細胞に添加し、一定時間の培養後に脱リン酸化酵素阻害剤およびタンパク質分解酵素阻害剤を含む緩衝液によりタンパク質を抽出する。リン酸化されたタンパク質を特異的に回収する Phos-tag アガロースを用いてリン酸化タンパク質を濃縮し、質量分析の条件検討を進める。

【結果】ラット正常肝および傷害肝から高純度の DDT の精製に成功した。また、Phos-tag アガロースを用いてリン酸化タンパク質を濃縮できることも確認できた。

【考察】新規修飾を含むことが DDT によるリン酸化シグナルへどのような影響をもたらすか明らかにすることで、傷害肝へのより正確な関与を明らかにできる可能性がある。

P-65

PESI/MS/MS を用いた内因性代謝物 40 成分のリアルタイム・モニタリング法の構築

○大原 倫美[1], 深山 雄大[1], 近藤 健太[1], 村田 匠[2], 船津 慎治[2], 土橋 均[1], 石井 晃[1], 緒方 是嗣[2], 財津 桂[1,3]

[1]名古屋大学大学院医学系研究科 法医・生命倫理学, [2]島津製作所, [3]名古屋大学 高等研究院

In vivo real-time monitoring system for 40 metabolites in a living mouse liver using probe electrospray ionization/tandem mass spectrometry (PESI/MS/MS)

○Tomomi Ohara[1], Yudai Miyama[1], Kenta Kondo[1], Tasuku Murata[2], Shinji Funatsu[2], Hitoshi Tsuchihashi[1], Akira Ishii[1], Koretsugu Ogata[2], Kei Zaitsu[1,3]

[1]Dept. of Legal Med. & Bioethics, Nagoya Univ. Grad. School of Med., [2]Shimadzu Corporation, [3]Institute for Advanced Research, Nagoya Univ.

【目的】探針エレクトロスプレーイオン化法（PESI）は、極細針を上下に駆動させ、サンプリングと対象成分のイオン化を交互に行う。本手法は特に、生体試料においても抽出操作を必要とせず、直接イオン化が可能なため、迅速かつ簡便な分析を達成できる。さらに、先端直径が 700 nm の探針を用いることから、低侵襲性を有しており、これまでに我々のグループでは、本法を生きているマウスのリアルタイム分析等に応用してきた[1-3]。しかし、既報においては対象成分数が少ないことから、本手法をリアルタイム・メタボローム分析へ応用するためには、対象成分数の拡張が不可欠である。そこで本研究では、Scheduled-SRM 法を応用し、リアルタイム分析における対象成分数の拡張を試みた。

【方法】装置：島津製作所製 LCMS-8040 および PESI イオン源を用いた。イオン化は PESI ポジティブまたはネガティブモードで行い、Scheduled-SRM 法により、解糖系、クエン酸回路、尿素回路およびペントースリン酸経路を構成する 40 成分を対象とした。また、PESI の上下駆動周期と MS の取り込み時間を最適化した。既報に従い[1]、イソフルラン麻酔下において、ICR 雄性マウスの肝臓を露出した後、特殊溶媒カップを生体用接着剤で固定した。分析時は特殊溶媒カップに、ヘパリン含有 50%EtOH 水溶液を添加した。

【結果】まず、オフライン条件下で駆動周期および MS の取り込み時間を最適化した結果、全てのセグメントで問題なくピークを検出することが出来た。最適化した条件を用いて、生きているマウスの肝臓についてリアルタイム分析を行った結果、40 成分のメタボライトの変動を 20 分間観測することに成功した。

【考察】上記のリアルタイム測定におけるメタボライトの変動は、マウスの恒常的な代謝変動を捉えていると考えられた。今後、病態モデルなどに応用することで、内因性代謝物のダイナミクスを観察できるものと期待される。

【参考文献】1. K. Zaitsu et al., Anal. Chem., 2016, 2. Y. Hayashi et al., Anal. Chim. Acta., 2017, 3. K. Zaitsu et al., Anal. Chem., 2018.

P-66

自作エミッターチップを用いた DESI-IMS 高感度化の検討

○高橋 豊[1,2], 佐藤 駿平[1], Du Chi[1], 堀川 誠[1], 佐藤 智仁[1], 瀬藤 光利[1]

[1]浜松医科大学, [2]株式会社プレッパーズ

Study of DESI-IMS high sensitivity using hand-made emitter chip

○Yutaka Takahashi[1,2], Shunpei Sato[1], Chi Huu Du[1], Makoto Horikawa[1], Tomohito Sato[1], Mitsutoshi Seto[1]

[1]Hamamatsu University School of Medicine, [2]Preppers Co. Ltd.

【目的】脱離エレクトロスプレーイオン化（Desorption Electrospray Ionization：DESI）は、試料に帯電した微小液滴を噴霧することで分子の抽出、脱離、イオン化を行う方法であり、DESI-MS によるイメージング質量分析は、ソフトなイオン化法である事、マトリックス塗布が不要である事など、MALDI-MS より優位な点がある。DESI を用いたイオン化では、帯電液滴の生成が、感度・空間分解能共に重要な要素であると考えられる。そして、帯電液滴の生成に最も重要な役割を果たすのが、エミッターチップと言われるフューズドシリカキャピラリーである。
我々は、DESI の高感度化に関する研究の一環として、エミッターチップを自作し、今年度の質量分析総合討論会で発表した。今回は、その後の進捗について報告する。

【方法】エミッターチップは、外径 375 μm、内径 50 μm のフューズドシリカキャピラリーを一定の力で引っ張りながら加熱してテーパー状に加工し、先端を切断する事で作製した。先端形状や内径を制御し、シグナル強度を比較した。赤インクや Chloropromazine のメタノール溶液などをスライドガラスに塗布し、マススペクトルを測定した。また、脳切片などのイメージングデータを取得した。

【結果と考察】自作チップを用いた時のシグナル強度は、先端内径や作製の歩留まりによってばらつきはあるものの、概ね市販チップよりも高い傾向が見られた。しかし、中には長時間のシグナル安定性が低いものや、スパイクノイズのような不安定なシグナルが得られるものもあった。チップ先端の形状や内径、それらに応じた溶媒流量やガス圧などの測定条件の最適化が必要であると考えられる。それらは現在検討中であり、その結果を報告する予定である。

P-67

若手ポスター賞　対象

DESI-IMS はヒトの頭蓋内動脈瘤壁の破裂におけるアラキドン酸の関連を明らかにした

○Islam Ariful[1], 武田 理々子[2], 佐藤 智仁[1], 栗田 浩樹[3], 瀬藤 光利[1]

[1]浜松医科大学, [2]帝京大学医学部, [3]埼玉医科大学

DESI-IMS revealed the association of arachidonic acid in the rupture of intracranial aneurysmal walls in humans

○Ariful Islam[1], Ririko Takeda[2], Tomohito Sato[1], Hiroki Kurita[3], Mitsutoshi Setou[1]

[1]Hamamatsu University School of Medicine, [2]Teikyo University School of Medicine, [3]Saitama Medical University

Objective: Intracranial aneurysms (IAs) are chronic inflammatory condition affecting intracranial arteries. Several lipids and lipid mediators have been suggested to play key roles as factors involved in inflammatory mechanisms. However, no study has yet investigated on lipid storage in aneurysmal walls in humans. In this study, we aimed to elucidate the distribution of lipids in ruptured and unruptured IA walls in humans.

Method: This study is authorized by the ethics committees of the affiliated institutions. We collected 11 human IA samples (6 ruptured IAs and 5 unruptured IAs) and applied desorption electrospray ionization imaging mass spectrometry (DESI-IMS) analysis in negative ion mode.

Results: In this study, using DESI-IMS, arachidonic acid (AA) was detected only in ruptured IAs but not in unruptured IAs. We also found significant increases in the distribution of linoleic acid (LA), and oleic acid (OA) in ruptured IA walls (3.5-fold and 2.8-fold respectively) compared to unruptured IA walls. Furthermore, possible candidates of AA-containing phospholipids, such as PC (38:4) and PC (40:4), PI (38:4), and PS (38:4) were also detected only in ruptured IA walls.

Discussion: AA is well known for its inflammatory role by producing inflammatory mediators. In this study, AA was only detected in the ruptured IA walls of human using DESI-IMS. Moreover, we found increased levels of LA; a precursor of AA biosynthesis and some possible candidates for AA containing lipids in ruptured IA walls only, and they may be important sources of increased levels of AA in ruptured IAs. Our finding offers new insights on the association of AA in the rupture of IA wall of humans.

P-68

MALDI-MSI 分析における導電性粘着フィルムで作製した生体組織切片の有用性について

○三枝 大輔[1], 齋藤 律水[1], 川本 孔明[2], 宇留野 晃[1], 可野 邦行[3], 青木 淳賢[3], 山本 雅之[1], 川本 忠文[2]

[1]東北大学東北メディカル・メガバンク機構/大学院医学系研究科, [2]鶴見大学歯学部, [3]東北大学大学院薬学研究科

The utility of conductive adhesive film for MALDI-MSI analysis

○Daisuke Saigusa[1], Ritsumi Saito[1], Komei Kawamoto[2], Akira Uruno[1], Kuniyuki Kano3, Junken Aoki3, Masayuki Yamamoto[1], Tadafumi Kawamoto[2]

[1]Tohoku University, [2]Tsurumi University, [3]Tohoku University

【目的】MALDI-MSI は組織切片上に含まれる代謝物を可視化することができ、実験動物を用いる基礎研究から疾患患者から得られた検体を解析する臨床研究まで広く利用されている。しかしながら、脂肪組織、骨、マウス全身組織、植物等から形態の保たれた凍結切片を作製する事が困難な試料がある。近年、粘着性フィルムを用いる凍結組織切片作成法が実用化され MALDI-MSI に利用されている。一部の装置を除き、MALDI-MSI に供する切片は導電性支持体上に作製する事が望ましく、非導電性の粘着性フィルム上で作製した切片の MSI 分析はイオン強度値が低下する欠点があった。そこで我々は、新たに開発された導電性粘着性フィルムを用いてマウス全身凍結切片を作製し、MALDI-MSI による代謝物解析を実施し、その導電性粘着フィルムで作製した切片がイオン検出強度にもたらす影響を検証した。

【方法】冷ヘキサン中で凍結包埋されたマウス（9 日齢）を準備し、クライオスタット内で粘着性フィルムを用いて 10 μm の全身凍結切片を作成した。非導電性および導電性粘着性フィルムには、Cryofilm type 2C9 と Cryofilm type MS をそれぞれ用い、MALDI-MSI 分析で組織切片上から検出されたイオン強度値について、一般的に MALDI-MSI 用組織切片作成に使用される ITO コートガラス上に採取した凍結切片上から得られたイオンの強度値と比較した。

【結果と考察】導電性粘着性フィルムを用いて得られた凍結切片の脳領域上において、m/z 600-900 の範囲で検出されたイオン強度は、非導電性フィルムと比較して有意に増加あるいは同等の値であった。一方、ITO コートガラスと比較したところ、PC 16:0/16:0 などのリン脂質や Heme 等、脳や心臓に組織局在を有する分子由来のイオン強度が特徴的に増加した。本研究により、導電性粘着性フィルムは MALDI-MSI 分析に極めて有用であることが示され、今後様々な分子の組織分布解析に活用されることが期待される。

P-69

若手ポスター賞　対象

DESI-IMS は、ヒト唇の皮膚と比較して、朱色の上皮におけるドコサヘキサエン酸の高い蓄積を明らかにした。

○Mamun Md. Al[1], Kahyo Tomoaki[1], Naru Eiji[2], Sakata Osamu[2], Hoshikawa Emi[3], Suzuki Ayako[3], Islam Ariful[1], Sato Shumpei[1], Sato Tomohito[1], Ito Takashi[1], Horikawa Makoto[1], Izumi Kenjii[3], Setou Mitsutoshi[1, 4, 5]

[1]浜松医科大学, [2]コーセー研究所, [3]新潟大学大学院医歯学総合研究科, [4]国際マスイメージングセンター浜松, [5]最先端医療フォトニクス教育研究センター浜松市

DESI-IMS Revealed High Accumulation of Docosahexaenoic Acid in the Epithelium of Vermilion Compared to that in the Skin of Human Lip

○Md. Al Mamun[1], Tomoaki Kahyo[1], Eiji Naru[2], Osamu Sakata[2], Emi Hoshikawa[3], Ayako Suzuki[3], Ariful Islam[1], Shumpei Sato[1], Tomohito Sato[1], Takashi Ito[1], Makoto Horikawa[1], Izumi Kenjii[3], Mitsutoshi Setou[1, 4, 5]

[1]Hamamatsu University School of Medicine, [2]KOSE Corporation Research Laboratories, Tokyo, [3]Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, [4]International Mass Imaging Center, Hamamatsu, Shizuoka, [5]Preeminent Medical Photonics Education & Research Center, Hamamatsu

Objectives: Epithelium of Vermilion (EPV) represents a unique portion of the face because of its certain distinguishing features from the skin. However, the distinction in terms of molecular distribution between vermilion and skin has remained unexplored. To this end, we aimed at mapping human lip by imaging mass spectrometry (IMS) for gaining an insight into the lipid distribution of this unique organ.

Methods: The protocol for obtaining human lip tissue samples was approved by the Niigata University Medical and Dental Hospital Internal Review Board (2015-5018). The lip specimen trimmed off during cheiloplasty were subjected to desorption electrospray ionization-imaging mass spectrometry (DESI-IMS) analysis in negative ion mode in the mass to charge ratio (m/z) range of 50 to 1200. Compounds were assigned based on their masses and previously reported data.

Results: We observed a remarkably higher accumulation of docosahexaenoic acid (DHA) in the EPV compared to that in the skin of human lip. The distribution of linoleic acid and oleic acid was noteworthy across the EPV and skin with a slightly higher accumulation in the latter part. Interestingly, the distribution of palmitoleic acid was just the opposite compared to the DHA. In addition, arachidonic acid had a slightly higher abundance in the EPV compared to that in the skin.

Discussion: DHA is well-known to have multiple biological activities including anti-inflammatory properties, and hence, could play a protective role in the vermilion. It could have the involvement in the maintenance of epidermal water barrier and the rapid turnover of the keratinocytes in vermilion.

P-70

医薬品候補化合物のハイスループット・スクリーニングにおける新規イオン化法 DIUTHAME の適用可能性

○内藤 康秀 [1], 小谷 政弘 [2], 大村 孝幸 [2]

[1] 光産業創成大学院大学, [2] 浜松ホトニクス株式会社

Applicability of DIUTHAME to the ionization method for high throughput screening in drug discovery

○Yasuhide Naito[1], Masahiro Kotani[2], Takayuki Ohmura[2]

[1]GPI, [2]Hamamatsu Photonics K.K.

【目的】サブミクロンの直径の貫通孔が規則的に配列しているポーラスアルミナ薄膜をマトリックスの代替として用いるレーザー脱離イオン化法 DIUTHAME（Desorption Ionization Using Through Hole Alumina Membrane）の特長を最大活用する用途として、医薬品候補化合物探索に用いられる酵素反応アッセイのハイスループット・スクリーニング（High Throughput Screening; HTS）への適用可能性を検討した。

【方法】文献に記載されている方法でアセチルコリンエステラーゼ（AChE）酵素反応アッセイを調製した。ギ酸添加により反応停止したサンプル 1-2 μl を、そのまま DIUTHAME チップの薄膜裏面（レーザー照射面の反対側）にピペットを用いて搭載し、浸透・乾燥させた。比較用として MALDI スポット（マトリックス：α シアノ桂皮酸）をサンドウィッチ法により作製した。これらを MALDI 飛行時間型質量分析計（Bruker Ultraflex TOF/TOF）のリフレクトロンモードで測定した。

【結果】AChE アッセイの DIUTHAME マススペクトル上には、酵素反応の基質分子であるアセチルコリン（ACh）と反応生成物のコリン（Ch）が分子イオンとして明瞭に観察された。同じサンプルを MALDI で測定した場合と比較して、DIUTHAME による測定は ACh および Ch の近傍におけるピーク干渉がなく、相対ピーク強度の再現性が優れていた。

【考察】酵素反応時間にともなう反応進行率の変化をプロットすると、DIUTHAME は MALDI よりも反応の立上りが見かけ上早くなる結果を示した。これは、DIUTHAME は Ch に対するイオン化効率が MALDI よりも高いためと考えられる。測定の自動化・高速化が前提となる HTS のイオン化法として、マトリックスとの混和が不要で定量性に優れた DIUTHAME は有望である。また、DIUTHAME は MALDI よりも溶媒組成や添加剤等に対する許容能が高いので、幅広いアッセイ系に対応できることが期待される。

P-71

若手ポスター賞　対象

MALDI イメージング質量分析法とショットガンプロテオミクス法を用いたパラフィン包埋腎生検組織の高深度プロテオーム解析

○武笠 結天[1], 梶田 遼[2], 韮澤 崇[2], ラヴァン マリオン[3], ジャンポール・ドン・バン・ファン[3], ブルネバル パトリック[4], 植田 初江[5], 角田 伸人[1], 池川 雅哉[1]

[1]同志社大・生命医科, [2]ブルカー・ジャパン K.K., [3]パリ国立ネッカー小児病院病理部, [4]パリ公立ポンビドゥ・ヨーロッパ病院解剖病理部, [5]国立循環器病研究センター病理部

In-depth proteomics for paraffin embedded biopsy tissue section for the studies of renal diseases using MALDI Imaging Mass Spectrometry and shotgun proteomics

○Yume Mukasa[1], Ryo Kajita[2], Takashi Nirasawa[2], Marion Rabant[3], Jean-Paul Duong Van Huyen[3], Patrick Bruneval[4], Hatsue Ueda[5], Nobuto Kakuda[1], Masaya Ikegawa[1]

[1]Doshisha Univ., [2]Bruker Japan K. K., [3]Necker-Enfants malads HP., [4]Georges-Pambidou European HP., [5]NCVC

【目的】腎疾患の鑑別診断において腎生検組織を対象とした病理解析は、確定診断のみならず病気の進行度や予後判定のために重要な手法である。たとえば、腎アミロイドーシスは放置すると腎不全をもたらす難病の一つであり、現在病型は 31 種あることが知られているが、時として抗体を用いた免疫組織学的解析による従来の診断方法では病型の特定が困難なケースが認められる。本研究では、抗体などのプローブを用いずに、組織切片上の分子局在を一度に網羅的に可視化するイメージング質量分析（Imaging Mass Spectrometry；IMS）法と LC-TIMS-MS/MS 法を用い、パラフィン包埋腎生検組織からシングルネフロンレベルの高深度プロテオーム解析を試み、その臨床病理応用について若干の考察を試みた。

【方法】腎生検組織は、パリ国立ネッカー小児病院病理部由来のホルマリン-酢酸-アルコールにより固定されパラフィン包埋された臨床診断後の残余物を用いた。脱パラフィン、抗原賦活化用処理、トリプシン酵素消化など IMS 法（rapifleX）と LC-TIMS-MS/MS 法（timsTOF Pro）で共通の組織前処理法について標準化の検討を行った。トリプシン酵素消化やマトリクスの塗布には、自動化デバイスを使用し、画像解析とプロテオーム解析には、それぞれ SCiLS Lab 2019 と Proteinscape ver 3.0.を用いた。

【結果】IMS 法と LC-TIMS-MS/MS 法の両解析結果から 103 オーダーのプロテオーム・データの取得に成功した。パラフィン包埋腎生検組織は、固定方法に試料作製施設ごとのプロトコルに若干の差のあることが判明し、安定した前処理を行い、ペプチド・タンパク質のイオン化効率を向上させるための条件を見出した。さらに空間分解能を既報の 50 ~ 100 μm から 20 mm まで絞ることに成功し、シングルネフロンレベルでの腎組織プロテオームの可視化に成功した。

【考察】本研究で確立したワークフローは、腎アミロイドーシスや糖尿病性腎症など、糸球体部での病変が診断に大きな意味を持つ腎疾患の確定診断、病期判定、治療効果や、さらには病態解明に応用できることが示唆された。現在、非病理腎生検組織から正常腎の高深度プロテオームデータベースの構築を行っている。

P-72

マトリックスフリーイオン化基板 DIUTHAME の測定プロトコルの検討

○大村 孝幸[1], 小谷 政弘[1], 田代 晃[1], 内藤 康秀[2]

[1]浜松ホトニクス株式会社, [2]光産業創成大学院大学

Examination of measurement protocol of matrix-free laser desorption/ionization

○Takayuki Ohmura[1], Masahiro Kotani[1], Akira Tashiro[1], Yasuhide Naito[2]

[1]HAMAMATSU PHOTONICS K.K., [2]GPI

【目的】我々は貫通孔ポーラスアルミナを用いて、MS イメージングの対象となる試料をイオン化するための前処理にかかる時間を大幅に短縮することができるマトリックスフリーイオン化基板 DIUTHAME（Desorption Ionization Using Through Hole Alumina MEmbrane、ジュテーム）を開発した。これまでの研究で、特に生体凍結切片に DIUTHAME を適用した場合の測定プロトコルを開発してきた。本発表では、乾燥切片に DIUTHAME を適用した場合の測定プロトコルの検討結果を報告する。

【方法】ITO スライドグラス上に貼られたマウス脳乾燥切片の上に DIUTHAME を載せたものを測定試料とし、溶媒（メタノール）による乾燥切片成分抽出のための測定プロトコル①②③について評価した。
①溶媒 2μL 滴下
②溶媒 5μL 噴霧
③気化した溶媒に暴露（上蓋に測定試料をセットしたシャーレに溶媒を入れ、ホットプレートで温めて溶媒を気化した）

【結果】①②③で作製した試料で MS イメージングを行ない、いずれの場合でも MS イメージを取得できた。これにより、DIUTHAME 表面側から導入した溶媒は、DIUTHAME 裏面側の乾燥切片の成分を抽出していることが分かった。
また、①においては切片全面で均一な MS イメージの取得が難しいと分かった。これは、滴下した溶媒が切片全面に行き渡っていないことが予想される。②③においては、切片成分の位置情報を保った MS イメージを取得できた。しかしながら、②の場合、溶媒塗布の量などによるバラツキが MS イメージの空間分解能や再現性に影響を与えることが容易に想像できる。③の場合は、溶媒の滴下量、温度、気化した溶媒に DIUTHAME を晒す時間等をコントロールすることで、再現性の良い MS イメージが取得できると思われる。

【考察】乾燥切片の成分抽出において、溶媒を気化させた手法を用いることで、切片試料全面にわたり均一な成分抽出ができ、空間分解能の高い MS イメージが取得できると分かった。また、これら結果から、溶媒を蒸着することでも同様の結果が得られると予想される。

P-73

若手ポスター賞　対象

レーザー脱離イオン化イメージング質量分析における DIUTHAME-IMS / FT-ICR の新しい組み合わせにより、高い質量精度と分解能が維持されます。

○Md. Mahmudul Hasan[1], Mamun Md. Al[1], Naito Yasuhide[3], Kotani Masahiro[4], Ohmura Takayuki[4], Sato Shumpei[1], Islam Ariful[1], Waliullah A S M[1], Setou Mitsutoshi[1, 2, 5]

[1]浜松医科大学, [2]浜松医科大学国際マスイメージングセンター, [3]光産業創成大学院, [4]浜松ホトニクス K.K, [5]最先端の医療用フォトニクス教育研究センターシステム分子解剖学

High mass accuracy and resolution conserves by the novel combination of DIUTHAME-IMS/FT-ICR in the laser Desorption/Ionization Imaging Mass Spectrometry

○Md. Mahmudul Hasan[1], Md. Al Mamun[1], Yasuhide Naito[3], Masahiro Kotani[4], Takayuki Ohmura[4], Shumpei Sato[1], Ariful Islam[1], A S M Waliullah[1], Mitsutoshi Setou[1, 2, 3]

[1]HUSM, [2]IMIC. HUSM, [3]GPI, Hamamatsu, [4]Hama. Photonics K.K., [5]PMPERC. Hama.

Objective: Recently, novel matrix-free ionization-assisting substrates have been developed based on porous alumina membranes named DIUTHAME (Desorption Ionization Using Through-Hole Alumina MEmbrane). Successful evaluation experiments have been conducted on the feasibility of that membrane for the ionization method using liquid samples. In our current study, we aimed at extending its potential application as an alternative to the matrix to see the molecular distribution of animal tissue through a novel combination of DIUTHAME-IMS and Fourier transform ion cyclotron resonance (FT-ICR) mass spectrometer.

Methods: This novel combination has great advantages on the mass accuracy and resolution. Adult mice brain sections mounted on indium tin oxide (ITO) glass slides were coated with matrix or DIUTHAME, and subsequently measured by SolariX XR (FT-ICR) mass spectrometer in positive ion mode.

Result and Discussion: DIUTHAME-IMS were capable of detecting almost the same molecular species as a matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry (MALDI-IMS) with high reproducibility and drastically less background noise. In most cases, the ion images obtained by DIUTHAME-IMS showed better spatial resolution compared to that of the MALDI-IMS.

Conclusion: Our current findings suggest that DIUTHAME might be used in place of the matrix and the novel combination of DIUTHAME-IMS/FT-ICR conserves high mass accuracy and resolution in IMS of animal tissue.

P-74

質量顕微鏡法により明らかとなったラウリル硫酸ナトリウムによる皮膚表面のスフィンゴミエリン（d18:0/24:0）の減少

○衞藤 史博[1,2], 齋藤 祐介[1], 武井 史郎[3], 矢尾 育子[1,2], 瀬藤 光利[1]

[1]浜松医科大, [2]関西学院大・理工, [3]中部大・応用生物

Imaging mass spectrometry revealed the reduction of sphingomyelin (d18:0/24:0) in skin surface by sodium lauryl sulfate

○Fumihiro Eto[1,2], Yusuke Saito[1], Shiro Takei[3], Ikuko Yao[1,2], Mitsutoshi Setou[1]

[1]Hamamatsu Univ. Sch. of Med., [2]Kwansei Gakuin Univ., [3]Chubu Univ.

【目的】皮膚のバリア機能は、主に脂質の構成要素によって決まる。したがって、これらの表皮脂質の定性的および定量的バランスを維持することは非常に重要である。親水性洗剤のラウリル硫酸ナトリウム（SLS）は洗剤や化粧品に広く使用されているが、有用な脂質の除去により皮膚のバリア機能を低下させる可能性がある。これまで、SLS による皮膚刺激については多くの研究があるが、メカニズムに関与する特定の分子は未だ解明されていない。本研究では、SLS を用いた際に起こる、皮膚バリア機能にとって重要な脂質の変化を明らかにする目的で質量顕微鏡法（IMS）による解析を行った。

【方法】麻酔下でマウスの足を 5% SLS 水溶液に 60 分間接触させ SLS を皮膚に経皮投与した。無処置対象として生理食塩水を適用した。生理食塩水で 10 分間洗浄し、足の肉球周辺の皮膚の凍結切片を作成し IMS 測定に供した。マトリックスには 2,5-ジヒドロキシ安息香酸（DHB）を使用し iMScpoe プロトタイプ機で測定後 Imaging MS Solution software を用いてデータ解析した。

【結果】マウスの足の皮膚の断面をイメージングしたところ、SLS が表皮から真皮まで達していることが明らかとなった。さらに、IMS によってマウス足皮膚の脂質に対する SLS の効果を分析すると、皮膚に存在する様々な脂質をイメージングすることができた。得られた画像のヒストグラムを作成して比較し、皮膚表面領域のスペクトル強度を数値化して比較したところ、スフィンゴミエリン（SM）に関連する m/z 817.71 が皮膚表面から有意に除去されている様子が観察された。

【考察】IMS の測定で著名な変化を示した m/z 817.71 は皮膚に多く存在する SM（d18:0/24:0）であると考えられた。これは皮膚表面に存在し、SLS の影響を受け易く界面活性剤特有の脂質抽出効果のために除去されたと考えられる。

本研究において IMS を利用することにより、SLS が皮膚への浸潤が深部まで及んでいることを視覚化すると同時に、皮膚脂質の変化を視覚化することができた。

P-75

若手ポスター賞　対象

DPH を用いたリゾリン脂質イメージング解析

○岩間 大河[1], 可野 邦行[1,4], 三枝 大輔[2,3,4], 青木 淳賢[1,4]

[1]東北大院薬・分子細胞生化学, [2]東北メディカルメガバンク機構, [3]東北大医, [4]AMED-LEAP

MALDI-IMS analysis for lysophospholipid using DPH

○Taiga Iwama[1], Kuniyuki Kano[1,4], Daisuke Saigusa[2,3,4], Junken Aoki[1,4]

[1]Grad.Sch.Pharm.Sci.,TohokuUniv, [2]Tohoku Med. Megabank Org, [3]Tohoku Univ. Scool of Med, [4]AMED-LEAP

【目的】リゾリン脂質はアシル基を一つだけ持ったリン脂質であり、生体内において特定の条件下で局所的に産生され、特異的受容体に認識されることによりメディエーター分子として機能する。そのため、その組織・細胞分布はリゾリン脂質の機能を理解する上で重要な情報となる。しかし、一部のリゾリン脂質分子種では検出感度が十分でなかった。今回、我々はリゾリン脂質及びその前駆体のジアシルリン脂質の高感度検出系の構築を目的に最近、リン脂質、リゾリン脂質、脂肪酸の検出が可能であると報告された新規マトリクス 1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene (DPH) を用い、試料の前処理の条件検討を行なった。

【方法】マトリクス(DPH)の蒸着は iMlayer (島津製作所)を用い、減圧下 200°C で行なった。MS データの取得は、Solid-state レーザー(AP-SMALDI5, Transmit)とオービトラップ型 MS の Q-Exactive（ThermoFisher）の Fullscan mode を用い行なった。

【結果】まず、ネガティブイオンモードで検出されるマウス胎仔の各種リゾリン脂質の平均のイオン強度を指標に、蒸着した DPH の膜厚を最適化した。さらに、測定対象分子の検出感度を向上させることが知られているマトリクスの再結晶化や各種水溶性緩衝液を用いた試料の洗浄をマウス脳切片で検討した。その結果、検討した項目の中でリゾリン脂質検出感度上昇をもたらしたのは膜厚の調節と試料の洗浄であり、従来用いられる膜厚より薄い条件下において多くのリゾリン脂質のイオン強度が向上することがわかった。一方、再結晶化に関しては、一部のジアシルリン脂質の感度向上に寄与したが、多くのリゾリン脂質の局在を乱す結果となった。結果として今回最適化された条件では従来の条件でイメージングが困難であった 18:0 LPS や 18:2 LPI などの分子種のイメージングが可能となった。

【考察】本研究において凍結切片は洗浄し、DPH の膜厚を制御して蒸着させることでリゾリン脂質の検出感度を改善できることが示された。一方再結晶化をリゾリン脂質へ適用するにはさらなる検討が必要であると考えられる。今後は構築された検出系を用いてこれまでは解析が困難であった様々なリゾリン脂質の特徴的な局在を明らかにしていきたい。

P-77

若手ポスター賞　対象

全身イメージング質量分析法を用いたマウス母乳成分の消化・吸収・代謝プロセスの可視化

○小関 将人[1], 辻 雄大[1], 山本 卓志[2], 山口 真一[2], 藤分 秀司[2], 中邨 智之[3], 角田 伸人[1], 谷 史人[4], 池川 雅哉[1]

[1]同志社大・生命医科, [2]島津製作所, [3]関西医科大・薬理, [4]京都大・農

Application of whole body- imaging mass spectrometry to visualize digestion, absorption and metabolism of breast milk component in mice

○Masato Ozeki[1], Yudai Tsuji[1], Takushi Yamamoto[2], Shinichi Yamaguchi[2], Hideshi Fujiwake[2], Tomoyuki Nakamura[3], Nobuto Kakuda[1], Fumito Tani[4], Ikegawa Masaya[1]

[1]Department of Life and Medical Systems, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, [2]SHIMADZU Corporation, [3]Department of Pharmacology, Kansai Medical University, [4]Department of Agriculture, Kyoto University

【目的】食品中の栄養素の消化、吸収と生体内での代謝の全プロセスを統一的に理解するために、顕微質量計を用いた全身イメージング質量分析法を開発した。 その応用例として哺乳 1 日目の新生児（Ｐ１）マウスを解析対象とし、消化管内母乳成分の消化、 吸収のプロセスの可視化と、 胆汁酸を指標とした腸肝循環をはじめとする個体レベルでの生体内代謝物の可視化を試みた。

【方法】動物実験は、 同志社大学動物実験委員会の承認のもと指針に則り試行した。 ＩＣＲのＰ１マウスを麻酔下で安楽死させたのち液体窒素で速やかに凍結した。 クリオスタット(Leica CM3050)を用いて 10 μm 厚の P1 マウス全身切片を作成し、 透明導電性コートを施した ITO スライドグラスに融解接着させた。 マトリックスは、 アミノアクリジン(9-AA)を用いエアブラシで用手的に均一に塗布した。分析には大気圧 MALDI-QIT-TOF-MS を搭載した顕微質量計 iMScope のプロトタイプ機（島津製作所）を用い、 陰イオンモードで測定を行った。 データ採取後、 MS イメージングデータ解析ソフトウェア Imaging MS Solution および IMAGEREVEALMS を利用し画像・統計解析を行った。 興味対象の分子については 代謝物データベースを用いて分子の推定を行った。

【結果・考察】顕微質量計を用いた全身イメージング質量分析法のプロトコールを確立し、 P1 マウス胆汁酸を指標としたマウス胆汁の腸管循環の可視化に成功した。さらに P1 マウスの胃に特異的に局在する分子（m/z = 632.17）に注目し、あらたに母親マウスの乳腺組織に本イオンの局在を検出したことから、この分子は、母親マウスの母乳成分であると考えられた。本分子は、データベースよりミルクオリゴ糖の一種であると推測され、IMAGEREVEALMS を用いた網羅的解析手法により、 さらに本分子と類似の局在を示す分子群を抽出した。さらに、 より解像度の高いイメージング質量分析法を用いて詳細な解析を行い、 腸管内における栄養素の存在形態と消化・吸収・代謝機構の可視化を試みた。

P-79

若手ポスター賞　対象

イメージング質量分析法を用いたメダカ胆汁酸の網羅的解析

○野島 嵩文[1], 辻 雄大[2], 山口 真一[3], 上野 智弘[4], 中邨 智之[5], 池川 雅哉[2], 渡辺 好章[1]

[1]同志社大学超音波医科学研究センター, [2]同志社大学大学院生命医科学研究科, [3]島津製作所, [4]京都大学医学部人間健康学科, [5]関西医科大学薬理学講座

Comprehensive analysis of bile acids in Medaka fish using Imaging Mass Spectrometry

○Takafumi Nojima[1], Yudai Tsuji[2], Shinichi Yamaguchi[3], Tomohiro Ueno[4], Tomoyuki Nakamura[5], Masaya Ikegawa[2], Yoshiaki Watanabe[1]

[1]Medical Ultrasound Research Center, Doshisha University, [2]Department of Life and Medical Systems, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, [3]Shimadzu Corporation, [4]Department of Human Health Siences, Graduate School of Medicine, Kyoto University, [5]Department of Pharmacology, Kansai Medical University

メダカは多産で世代交代サイクルも短いため、世代を超えた観察に適したモデル生物として注目されている。我々は、超音波照射等の外部刺激に対する生体への影響を評価するモデルとして、メダカを対象として遺伝子やタンパク質の網羅的解析を進めてきた。本研究ではメダカを代謝物レベルで解析する目的で顕微質量計を用い、メダカ成魚の生体内代謝物の可視化と測定結果の統計解析を試みた。液体窒素で急速凍結させたメダカ成魚を 12 μm 厚の全身切片を作製し、伝導性コートを施したスライドガラス（ITO）に融解接着させた。マトリクス（9AA：アミノアクリジン）塗布はエアーブラシを使用した。顕微質量計 iMScope（島津製作所）にスライドを装着し分析を行った後、 MS イメージングデータ解析ソフトウェア Imaging MS Solution、 IMAGEREVEALMS を利用し画像・統計解析を行った。その結果、メダカの胆汁酸として二つの主要な胆汁酸の分布の可視化に成功した。さらに HCA 解析の結果から上記の主要な胆汁酸との分布が一致していない分子種についても同様の分布を示す分子が観察された。本システムを応用してメダカ生体内におけるさまざまな胆汁酸の分布や将来的には、 食物の消化・吸収のプロセスを可視化することによりモデル生物としてのメダカへの理解が深まるものと考えられる。

P-81

若手ポスター賞　対象

イメージング質量分析法を用いた薬理量リチウム(Li)の脳内分布の解析

○安井 悠生[1], 山本 康太[2], 亀山 大樹[1], 角田 伸人[1], 平田 岳史[2], 池川 雅哉[1]

[1] 同志社大学大学院生命医科学研究科医生命機能研究室, [2] 東京大学大学院理学系研究科最先端計測化学研究室

Visualization of pharmacological amount of lithium in mouse brain with Imaging Mass Spectrometry

○Yuki Yasui[1], Kota Yamamoto[2], Daiki Kameyama[1], Nobuto Kakuda[1], Takafumi Hirata[2], Masaya Ikegawa[1]

[1]Genomics, Proteomics and Biomedical Functions, Department of Life and Medical Systems, Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan, [2]Geochemical Research Center, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

【目的】リチウム（Li）は双極性障害などの治療薬として用いられているが、その詳細な作用機序は未解明である。 また使用が長期にわたることなどから、薬物動態を理解することは副作用を回避するために重要である。本研究では薬理量 Li を投与したマウス脳内 Li およびその他のミネラルおよび低分子の分布を，LA-ICP-MS および TOF-SIMS を用いたイメージング質量分析法により可視化を試み，若干の考察を加えた。

【方法】C57Bl/6 マウス(雄，7 週齢)に，塩化リチウム(Lithium chloride, 99. 9%)を非投与群、低濃度投与群 (200mg/L)，高濃度投与群 (600mg/L)の 3 群に分けて 2 週間投与した。 血中 Li 濃度測定には，メタロアッセイ(メタロジェニクス社)を用い，投与 0,2,7,14 日後の血清 Li 濃度を計測し，14 日後に各組織を摘出した。 クライオスタット(CM1950，Leica 社)を用い 10μm 厚の凍結切片を作製し, LA-ICP-MS を用い Li, Zn, Cu,のイメージング質量分析法を行った。 また同様の前処理方法を加えた脳および腎臓の組織に対し TOF-SIMS によるイメージング質量分析を行い Li とその他の低分子の可視化を行った。

【結果】血清 Li 濃度測定の結果，投与 14 日目の段階で，高濃度投与群では他の 2 群に対して有意な血清 Li 濃度の上昇がみられた。 LA-ICP-MS による Li のイメージング質量分析では，非投与例ではシグナルが得られなかったのに対し，両投与例では嗅球，海馬ならびに,吻側移動経路 (Rostral Migratory Stream, RMS) 領域において比較的広範に分布することが明らかとなった。 一方, Zn, Cu などの内因性のミネラルの分布は,海馬や RMS の組織構築に沿って分布していることが明らかとなった。 TOF-SIMS によるイメージング質量分析においてもほぼ同様の Li 脳内分布が確認されたことに加えて脂質など低分子の変動についても観察が可能となった。

【考察】薬理量 Li をマウスに投与後，脳内で嗅球，海馬ならびに吻側移動経路などに選択的に分布することが明らかとなった。 また内因性の Cu, Zn および脂質の分布との関連において成体脳への薬理量 Li の影響を可視化することに成功した。

講演要旨

ランチョンセミナー

質量分析計を用いた免疫抑制剤の血中濃度測定

～LC-MS/MS 用免疫抑制剤分析キット「DOSIMMUNE（ﾄﾞｽﾞｨﾐｭｰﾝ）」のご紹介～

川上　大輔

株式会社 島津製作所

Introduction of analysis kit for immunosuppressive drugs for LC-MS/MS

Daisuke Kawakakami

Shimadzu Corporation

本邦では免疫抑制剤としてタクロリムス、シクロスポリン A、エベロリムス、ミコフェノール酸が特定薬剤治療管理料の対象薬剤となっており、TDM(治療薬物モニタリング)に基づいた投与量管理が行われる。これらの血中濃度は主に免疫学的測定法で測定されており、一部ミコフェノール酸は分離分析法である HPLC-UV 法でも測定されている。免疫学的測定法は操作が簡便である一方で測定法間差、感度および特異性の問題があることから、近年では分析結果の信頼性向上を目的として、欧米を中心により選択性に優れる液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS/MS）が用いられ始めている。しかしながら、LC-MS/MS を用いて全血や血漿などの生体試料を分析する際には一般に除タンパクや抽出などの前処理が必要であり、作業者の手技に由来するバラつきやミスのリスク低減が課題となっている。また、本邦では流通している市販キットがないため、キャリブレータ、QC コントロール、安定同位体、移動相は自家調製が必要であり、内部精度管理の観点からも課題となっていた。

島津製作所は長年培ってきた血液凝固自動分析装置の技術を採用し、採血管をセットするだけで血液サンプルを分析するための前処理から LC-MS/MS 分析までを全自動で行うシステムを開発し、医療機器クラス 1 に登録した。このシステムにより作業者の負担を減らすことができるだけでなく、前処理の作業によるサンプル取り違いミスやバラツキを低減し再現性の高い分析を行うことができる。また、ソフトウェアも臨床検査装置と同じ操作性を実現した。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み、タッチパネルを用いて数ステップの操作で簡便に LC-MS/MS を使い測定することができる。また、キャリブレータ、QC コントロール、安定同位体、抽出液、移動相、カラムおよび分析メソッド等を含む Ready-to-use の LC-MS/MS 用免疫抑制剤分析キット「DOSIMMUNE（ﾄﾞｽﾞｨﾐｭｰﾝ）」を発売した。本セミナーでは、質量分析技術の臨床応用として臨床検査装置のようにタッチパネルを用いて数ステップの操作で簡便に LC-MS/MS を使い測定することができる全自動前処理装置付き LC-MS/MS システムと LC-MS/MS 用免疫抑制剤分析キット「DOSIMMUNE（ﾄﾞｽﾞｨﾐｭｰﾝ）」を用いた薬物血中濃度測定（TDM）の紹介を行う。

全自動前処理装置付き LC-MS/MS システム
「CLAM-2030+LCMS-8050」

LC-MS/MS 用免疫抑制剤分析キット
「DOSIMMUNE（ﾄﾞｽﾞｨﾐｭｰﾝ）」

講演要旨

テクノロジーフォーラム

TF-1　**臨床検体のハイスループットプロテオミクスを可能にするナノHPLC EVOSEP ONE、及び、臨床検体をダイレクトに MS 解析できる新規高感度大気圧イオン源「SICRIT」のご紹介**

板東 泰彦
エーエムアール株式会社

TF-2　**臨床検査における質量分析装置の役割**

須賀 香屋子
サイエックス　アプリケーション

TF-3　**分析の信頼性確保に不可欠な認証標準物質**

松島 江里香
シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社

TF-4　**島津製作所 分析装置新技術のご紹介**

渡辺 淳
株式会社　島津製作所

TF-5　**安定同位体標識試薬のご紹介**

大陽日酸株式会社

TF-6　**臨床研究分野におけるウォーターズの最新質量分析技術**

寺崎　真樹
日本ウォーターズ株式会社

TF-7　**自動サンプル前処理システム Biotage® Extrahera GLP ソフトウェアのご紹介**

岡部 芙美子
バイオタージ・ジャパン株式会社

TF-1

臨床検体のハイスループットプロテオミクスを可能にするナノHPLC EVOSEP ONE、及び、臨床検体をダイレクトに MS 解析できる新規高感度大気圧イオン源「SICRIT」のご紹介

板東泰彦

エーエムアール株式会社

Novel nanoHPLC technology which enables high throughput clinical proteomics without carry over and novel direct ionization technology for clinical samples.

Yasuhiko Bando

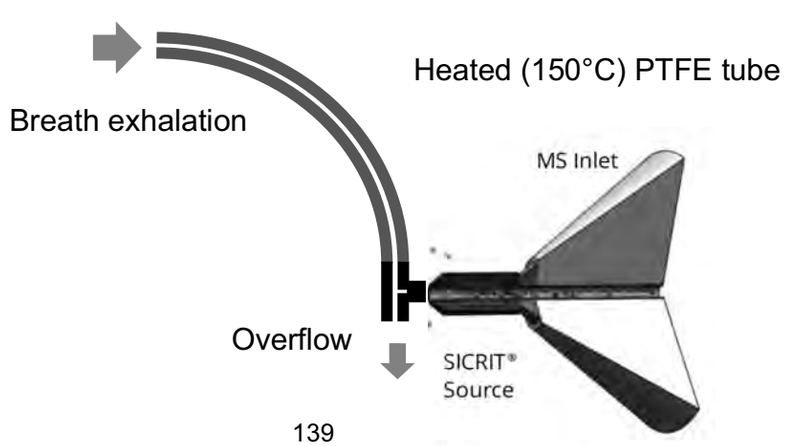
AMR, Inc.

EVOSEP ONE　ハイスループットナノ LC

多くの検体を処理しなければならない臨床プロテオミクスではそのスループット性とクルードな検体によるシステムのコンタミネーションが大きな問題であった。臨床検体の測定では一度に同じ条件で多くの検体を測定する必要があるが、1 検体分析に時間がかかると多くの臨床検体を処理するときに検体の質的変化の可能性や、さらに、カラムや質量分析装置が多検体解析でコンタミネーションを起こしてしまい多検体解析に限界があった。EVOSEP ONE はこれらの問題を解決する画期的な前処理と分析方法を搭載したナノ HPLC システムで、Dream Spray Ion source(AMR)や ScanSpeed の早い質量分析装置と組み合わせることで多数の臨床検体をハイスループットで高感度分析することが可能になる。

SICRIT ダイレクトイオン化ソース

クロマトとの組み合わせや定量にも活用可能な新規高感度大気圧イオン化法の紹介
主に MH^+を生成するソフトな SICRIT イオン化法は、特定のガスや液体の供給を必要とせず各種質量分析計に取り付けが可能である。LC, GC, SPME やレーザーアブレーションとの組み合わることが可能である。またサンプル前処理なしに直接分析を行うことができ、非極性の物質もイオン化可能なので肺癌、生活習慣病、感染症などでの呼気の分析への応用が可能となる。



TF-2

臨床検査における質量分析装置の役割

須賀　香屋子

サイエックス　アプリケーション

SCIEX は、1973 年にカナダ・トロント大学にて設立されて以降、液体クロマトグラフィー質量分析装置業界にて、40 年にわたり高性能機器、ワークフローソリューションおよびサポート分野における技術革新を世界中の科学者や研究者の皆様にご提供してまいりました。

近年、アメリカ、ヨーロッパでの質量分析装置の医療機器への移行が進む中で、SCIEX 本社（アメリカ・ボストン）も 2013 年から医療機器としての質量分析装置を上市し、その後ヨーロッパ、アジアでも医療機器の販売を開始しております。2018 年日本国内においても、液体クロマトグラフィー装置を分離装置として接続可能な「質量分析装置」としてクラス I 医療機器の届出を完了いたしました。

本講演では、SCIEX としての質量分析装置の医療機器への取り組み、今後の展望などについてご紹介させていただきます。

TF-3

分析の信頼性確保に不可欠な認証標準物質

松島 江里香

シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社

Certified reference material for reliability of analysis

Erika Matsushima

Sigma-Aldrich Japan G.K.,

分析結果の信頼性を確保するためには、分析の際に基準となる標準物質の選択は重要である。しかし市場には様々な種類、規格、グレードの「標準物質」があり、時折混乱を招いている。

認証標準物質はその目的の特性について、十分均質かつ安定で、計量学的に妥当な手順によって値付けされ、認証値やその不確かさ、ならびに計量学的トレーサビリティを記載した認証書が付随した標準物質と定められている。シグマア ルドリッチは、ISO17025（試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項）と ISO17034（標準物質生産者の能力に関する一般要求事項）の認定を取得し、薬毒物、無機元素、薬局方二次標準物質など幅広い研究分野の認証標準物質を供給しており、本フォーラムでは標準物質の選択方法や認証標準物質の特徴などについてわかりやすく解説する。

島津製作所 分析装置新技術のご紹介

渡辺　淳

株式会社 島津製作所

Introduction of new technology of Shimadzu analytical instruments

Jun Watanabe

Shimadzu Corporation

1) LCMS-9030

LCMS-9030 は，当社初の四重極飛行時間型質量分析計（Q-TOF）です。LCMS-8000 シリーズで培われた高速性能と高いイオン収束力を継承し，新たに TOF の技術を開発，融合しました。LCMS-9030 には，高強度微細格子電極 UFgrating™，理想リフレクトロン iRefTOF™，高精度温度コントロールシステムといった当社オリジナルの特許技術が搭載されています。特に，高分解能精密質量分析装置としての要である質量精度に最も寄与しているのが「高精度温度コントロールシステム」です。ラボの室温変化などの外的要因による精密質量変化を抑制するため TOF 部に配置するヒーター，温度センサーの位置を最適化して，堅牢性の高い温度コントロールを行い，長時間の高い質量精度安定性を実現しており，分析間に TOF 較正を行わなくても，質量誤差 ±1 ppm 以内の質量精度を長時間にわたり維持することができるため，非常に信頼の高い測定が可能です。これらの技術により，常に安定した質量精度を保ちながら，感度と分解能を両立したデータを得ることができます。

2) Nexera シリーズ

島津の超高速液体クロマトグラフ Nexera シリーズにこれまでの LC の概念を変える新たなラインナップが登場しました。極低キャリーオーバー性能と 7 秒未満の超高速注入性能を有するオートサンプラ，保証値 2.5AU の直線性，室温変動の影響を受けないベースライン安定性，UV カットオフフィルタによる光分解性化合物の高精度定量など多彩な新機能を新たに搭載したフォトダイオードアレイ検出器など，基本性能の大幅な向上により，質量分析計のフロント LC として活躍します。また，従来システム比 2/3 のシステム幅と最大 2 ユニット分低くなったシステム高さは，質量分析計の設置スペースを邪魔しません。さらに新 Nexera シリーズの「Analytical Intelligence（AI）」・新機能は，装置起動からシャットダウンまで分析者の操作を支援するだけでなく，分析の失敗を防ぎデータの信頼性を向上させます。高性能，省スペース，多彩な新機能を備えた新 Nexera シリーズは，LCMS のデータ信頼性向上に貢献します。

左：Nexera シリーズ
右：LCMS-9030

安定同位体標識試薬のご紹介

大陽日酸株式会社

弊社では、質量分析で用いる安定同位体(D、^{13}C、^{15}N、^{18}O)標識試薬を豊富に取り揃えています。
今回は、安定同位体で標識した誘導体化試薬と内部標準物質について紹介いたします。

1. 安定同位体標識タグ試薬（誘導体化試薬）

弊社で開発した「Py-Tag」試薬は、タンパク質やペプチドのリジン残基や、一級アミンを特異的に高効率で誘導体化します。安定同位体を用いて質量差を付与することで、質量分析装置を用いて複数サンプルの高精度な同時比較定量が可能です。
その他にもプロテオーム解析で利用される還元ジメチル化のための安定同位体標識ホルムアルデヒドなど、誘導体化にご使用いただける各種試薬を取り揃えています。

製品番号	製品名	数量	希望納入価格(円)
A132-0178	Py-Tag for PROTEINS	1キット (3サンプル×10分析分)	98,000
A212-0275	Py-Tag for ヒスタミン	1キット (25分析分)	7,000

2. 質量分析用安定同位体標識アミノ酸(20 種)カクテル

アミノ酸の定性・定量分析には、安定同位体標識アミノ酸を混合した「質量分析用安定同位体標識アミノ酸(20 種)カクテル」が最適です。安定同位体標識内部標準物質として、試料中に含まれるアミノ酸のメタボローム解析にご使用いただけます。

製品番号	製品名	数量	希望納入価格(円)
A162-0218	質量分析用　安定同位体標識 アミノ酸(20種)カクテル	1キット (各25 nmol)	49,800

3. 安定同位体標識タンパク質合成キット「無細胞くん」

タンパク質の定量を行う際、内部標準物質として安定同位体標識したタンパク質やペプチドが用いられます。無細胞くんは、各種安定同位体標識アミノ酸と組み合わせることで、安定同位体標識タンパク質を簡単に合成できます。

製品番号	製品名	数量	希望納入価格(円)
A183-0242	無細胞くん start	1キット (100 μL反応× 6回分)	28,000
A91-0128	アミノ酸混合水溶液 Lys, Arg-UL-^{13}C,^{15}N	1 mL	20,000

TF-6

臨床研究分野におけるウォーターズの最新質量分析技術

寺崎　真樹

日本ウォーターズ株式会社

Introduction of latest Waters MS technology for clinical applications

Maki Terasaki

Nihon Waters K. K.

ウォーターズは、クロマトグラフィーシステム、質量分析計、カラム前処理製品、試薬、データ管理ソフトウェア、および種々サービスとサポートを含む in vitro 診断用の LC-MS/MS 分析のトータルソリューションを提供しており、マススクリーニングのための乾燥ろ紙血検査や治療薬物モニタリング(TDM)、ビタミン D 代謝物、性ステロイドおよびそのほかのホルモン、生体アミン、疼痛管理および薬物乱用など多岐に渡るアプリケーションに対応しております。

また、インペリアル大学の Zoltan Takats 教授によって開発された iKnife と呼ばれるサンプリング機能付きの電気メスなどによりイオンを発生させるアンビエント・イオン化質量分析技術のひとつである REIMS（Rapid Evaporative Ionization Mass Spectrometry：急速蒸発イオン化質量分析法)、MALDI 法に加えて、異なるイオン化法である脱離エレクトロスプレーイオン化 (DESI)を用いたマトリクス塗布などの前処理が不要で、同一組織切片から複数回のデータ取得が可能な質量分析イメージングに、質量ではなくイオンの大きさや電荷の違いによって分離を行うイオンモビリティー分離技術を組み合わせたフルスペクトル分子イメージングといった臨床応用が期待される研究用途の技術も提供しています。

本発表では、臨床研究分野におけるウォーターズの質量分析技術や、研究用途でご利用いただける最新の質量分析技術についてご紹介します。

SELECT SERIES Cyclic IMS

TF-7

自動サンプル前処理システム Biotage® Extrahera GLP ソフトウェアのご紹介

岡部　芙美子

バイオタージ・ジャパン株式会社

Introduction of automated Sample Preparation system Biotage® Extrahera GLP Software

Fumiko Okabe

Biotage Japan, Ltd.

サンプル前処理は LC/MS 分析等の機器分析において、再現性、感度の向上、装置汚染防止のために欠かすことができない操作である。しかし、除タンパクや固相抽出といったサンプル前処理は一般に単純作業であることが多く、また、処理工程が比較的多い固相抽出においては特に、ヒューマンエラーや前処理に起因する分析結果のばらつきが起こりやすい。近年、これらの問題を解消すること等を目的として、サンプル前処理の自動化が分野を問わず注目されている。製薬メーカーや CRO など医薬品の非臨床試験を行う施設もまたもサンプル前処理の自動化が求められる分野の一つである。非臨床試験を行う施設においては GLP 基準に対応したラボ運営がなされており、自動化装置についても GLP 基準への対応が求められている。

バイオタージでは、2015 年に自動サンプル前処理装置として Extrahera を発売した。Extrahera はユーザーフレンドリーなソフトウェアを搭載し、誰もが容易に操作できる装置として諸施設で使用されている。この秋、バイオタージは GLP 基準に対応した Extrahera GLP ソフトウェアを新たに発売する。GLP ソフトウェアの搭載により、GLP 基準に対して今までよりもデータ管理が明確になる。またこのソフトウェアには GLP 基準対応以外の新機能も付与されている。今回の発表では、Extrahera GLP ソフトウェアの発売に先駆けて、その機能について紹介する。
てわかりやすく解説する。

一般社団法人　日本医用マススペクトル学会認定

第７回「医用質量分析認定士講習会」並びに認定試験のご案内

近年、質量分析の著しい進歩に伴い、医療分野においても質量分析技術が広く用いられるようになってきました。日本医用マススペクトル学会では質量分析技術の臨床応用への基盤を共有することを目的に、平成 25 年度より「医用質量分析認定士」制度をスタートさせ、今回は、第７回目の講習会・認定試験となります。タンデムマス・スクリーニング検査、感染症起因菌同定等臨床微生物検査、薬物モニタリング等薬毒物分析、ホルモン・脂質分析など質量分析の臨床応用に従事されている各分野の方々のご参加をお待ちしております。

日　時：2019 年９月 14 日（土）（第 44 日本医用マススペクトル学会年会終了後翌日）
会　場：名古屋市立大学ミッドタウン名駅サテライト（JP タワー名古屋５階）
〒450-6305　名古屋市中村区名駅一丁目１番１号
年会会場と異なります。次ページの案内図をご参照ください

プログラム

9:30 ～ 9:35	**開会の辞** 丹羽利充（日本医用マススペクトル学会理事長）
9:35 ～ 10:35	**講義１**：基礎編 高橋利枝（東京大学）
10:40 ～ 11:20	**講義２**：代謝異常症関連 重松陽介（福井大学）
11:25 ～ 12:05	**講義３**：薬毒物関連 五十嵐一雄（医薬分析協会）
12:10 ～ 13:10	**ランチョンセミナー** バイオタージ・ジャパン株式会社
13:15 ～ 13:55	**講義４**：微生物関連 村田正太（千葉大学病院臨床検査・輸血部）
14:00 ～ 14:10	医用質量分析認定士制度の概要説明
14:10 ～ 14:40	認定試験（20 問）
14:40	閉会

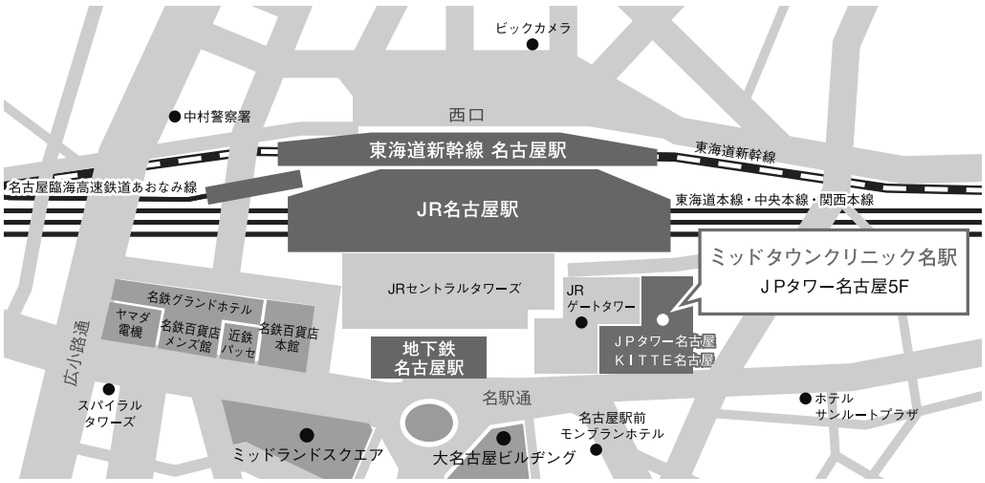
受講料（テキスト代を含む）：5,000 円
但し、第 44 回年会登録者は 3,000 円。
申し込み方法：年会ホームページでの事前登録はすでに締め切りましたが、当日受付が可能です。奮ってご参加ください。
認定要件
1. 日本医用マススペクトル学会会員であること。
2. 日本医用マススペクトル学会主催の「医用質量分析認定士講習会」を受講し、認定試験に合格すること。

合否発表は JSBMS Letters Vol.44　No.3 に掲載予定

年会・講習会事務局：
第 44 回日本医用マススペクトル学会年会事務局
事務局長：川口洋平
Phone: 052-853-8200
E-mail: jsbms44@med.nagoya-cu.ac.jp

講習会会場のご案内

JP タワー名古屋へのアクセス



＜公共機関でお越しの方＞

·JR名古屋駅から2F貫通通路をを通ってＪＰタワー名古屋へ

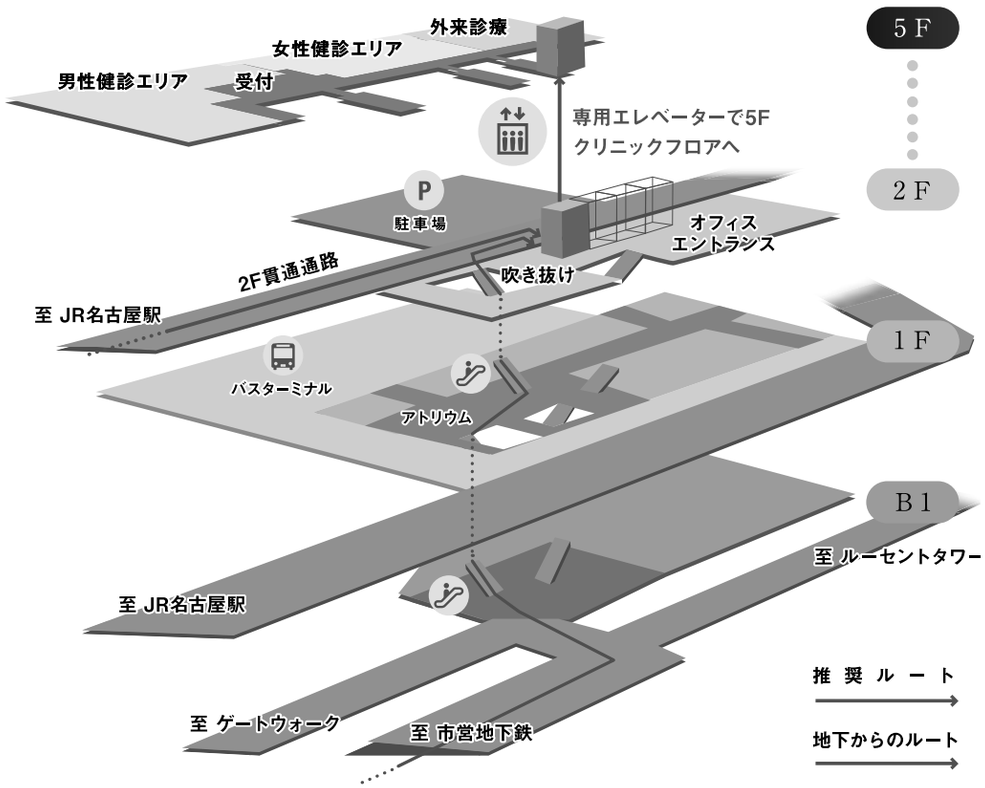
·名鉄·近鉄·市営地下鉄各線の場合 名古屋駅から地下通路より直接ＪＰタワー名古屋へ

＜お車でお越しの方＞

ＪＰタワー名古屋駐車場·タワーズ駐車場をご利用いただけます。

※駐車券のサービスはございません。

JP タワー名古屋　クリニック専用階へのご案内



学会賛助会員一覧
（2019 年度）

日本電子株式会社

株式会社 大阪ソーダ

株式会社 エービー・サイエックス

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

株式会社 島津製作所

株式会社 エスアールエル

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

林純薬工業株式会社

株式会社 LSI メディエンス

（11 社）

年会協賛企業・団体一覧

この度の年会開催にあたり、下記の企業・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。この場をお借りして心より御礼申し上げます。

エーエムアール株式会社

株式会社 エービー・サイエックス

大塚製薬株式会社

サーモフィッシ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 アルドリッチ ジャパン合同会社

株式会社 島津製作所

太陽日酸株式会社

日本ウォーターズ株式会社

バイオタージ・ジャパン株式会社

林純薬工業株式会社

ブルカージャパン株式会社

丸石製薬株式会社

理科研株式会社

（14 社　五十音順・敬称略）

展示企業一覧

エーエムアール株式会社

株式会社 エービー・サイエックス

大塚製薬株式会社

ジーエルサイエンス株式会社

シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社

株式会社 島津製作所

太陽日酸株式会社

日本ウォーターズ株式会社

バイオタージ・ジャパン株式会社

林純薬工業株式会社

（10 社　五十音順・敬称略）