第 45 回
日本医用マススペクトル学会年会

会　期

2020 年 9 月 18 日（金）・19 日（土）

会　場

同志社大学　今出川キャンパス　良心館

京都市上京区今出川通烏丸東入
オンライン開催

年会長

池川 雅哉

同志社大学大学院生命医科学研究科　教授

第 45 回日本医用マススペクトル学会年会　事務局

年会長

池川 雅哉（同志社大学大学院生命医科学研究科）

事務局

角田 伸人（同志社大学大学院生命医科学研究科）

実行委員会

五十嵐 一雄（近畿大学）
三枝 大輔（東北大学）
杉浦 悠紀（慶応義塾大学）
内藤 康秀（光産業創成研究科）
中西 豊文（大阪医科大学）
中山 憲司（京都大学）
益田 勝吉（サントリーグローバルイノベーションセンター株式会社）

五十音順、敬称略

目 次

開催にあたって 1

年会案内 2

会場のご案内 3

日程表 5

座長・演者の方へ 7

プログラム 8

講演要旨

特別講演 17

国際シンポジウム 21

シンポジウム 29

一般演題（口頭発表） 35

テクノロジーフォーラム 71

京都生体質量分析研究会との共催シンポジウム 75

第８回「異様質量分析認定士講習会」並びに認定試験のご案内 83

学会賛助会員一覧 84

年会協賛企業一覧 85

企業広告

奥付

第 45 回日本医用マススペクトル学会年会　開催にあたって

第 45 回日本医用マススペクトル学会年会長
池川 雅哉

第 45 回日本医用マススペクトル学会年会を、2020 年 9 月 18 日（金）19 日（土）に京都・同志社大学（今出川キャンパス・良心館）にて開催させていただきます。本年会は、COVID-19 感染拡大に鑑み、初めての試みとしてオンラインを活用しての開催といたしました。コロナ禍の状況の中で、多くの皆様からご理解・ご助力を頂戴し、ここに開催にこぎ着けることが出来ましたことを、心より御礼申し上げます。

とりわけ本年会は、MSACL（The Association for Mass Spectrometry : Applications to the Clinical Lab）との初の国際共催シンポジウムを予定し、David Herold 先生（MSACL 会長）はじめ、海外研究者を京都にお招きして、国内の新進気鋭の研究者の先生方共々ご講演をいただく予定でございましたが、このオンライン開催に向けて、快くご理解をお示しいただきました。また、特別講演として、小林 久隆先生（米国立がん研究所)、Nathalie Y. R. Agar 先生（Harvard Medical School)から、未来医療における質量分析の果たす役割について最新研究についてご講演をお願いしております。医用質量分析の臨床医学への応用を国内外の研究者らが未来に向けて発信することとなり、まさにポストコロナの新しい時代の幕開けを象徴する試みと言えるのではないでしょうか。ぜひ、皆様からの活発なご討論を期待いたしております。

本年会におきましては第 8 回医用質量分析認定士の講習会をオンラインにて開催いたします。このような時代であるからこそ、将来に向けて医用質量分析認定士の活躍の場が飛躍的に広がりますよう、対象者様へのお声がけよろしくお願い申し上げます。また、今年会の特別企画として、京都生体質量分析研究会との合同シンポジウムを予定しておりましたところ、講演者の皆様からご理解・ご賛同を得て、同志社大学今出川キャンパス良心館からリアルタイム配信させていただける運びとなりました。あらためて研究・教育の地域連携の重要性を再認識いたしました。この場をお借りして御礼申し上げます。

最後になりますが、同志社大学今出川キャンパスから、皆様のご健勝と医用質量分析の発展を切に祈念いたしております。

年会案内

会期

令和 2 年 9 月 18 日（金）・19 日（土）ともにオンライン開催
9 月 19 日（土）に第 8 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および認定試験をオンライン開催いたします。

年会長

池川雅哉（同志社大学大学院生命医科学研究科　教授）

会場

年会:　同志社大学今出川キャンパス良心館　京都市上京区今出川通烏丸東入
講習会：オンライン開催

事前参加登録

１）年会参加費：参加登録用のシステムをご用意しておりますので、そちらから参加登録を行ってください。詳細はシステムの案内に従ってご記入ください。8 月 31 日(月)までに　参加登録をしていただきますようお願い申し上げます。事前参加登録の振込先：銀行振込にてお願いします。事前参加システムで登録を終了されますと、登録内容の確認メールで振込口座をお知らせしますので、案内に従って振込をお願いします。

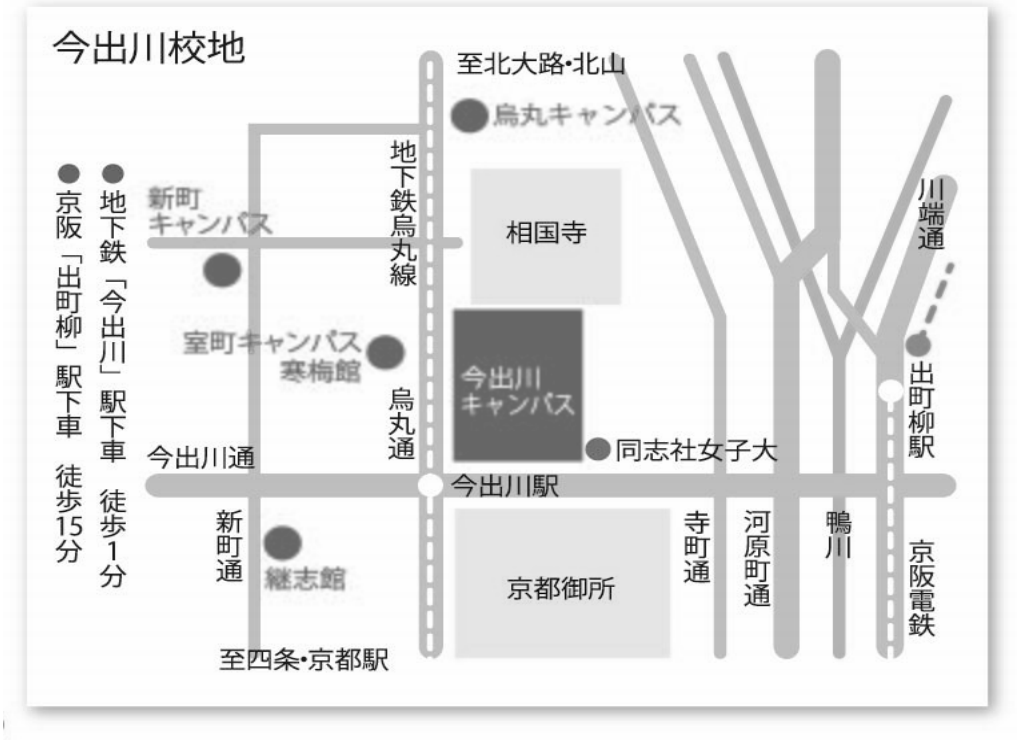
２）参加費は下表の通りです。支払期限は、９月８日（火）です。

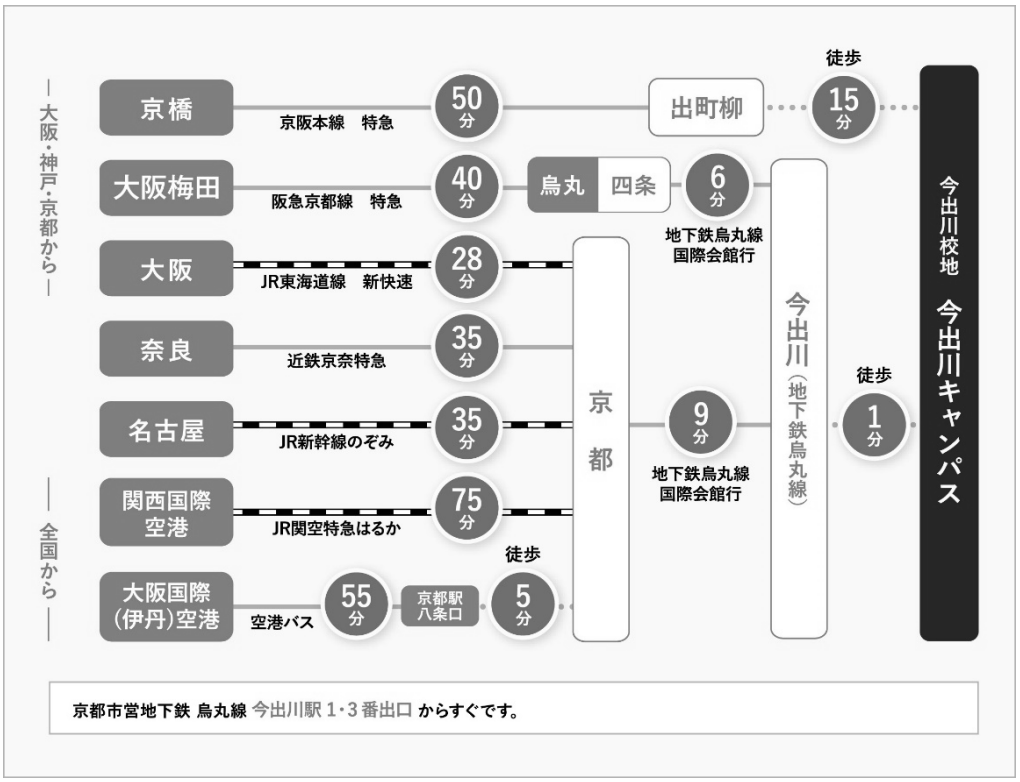
３）一旦払い込まれた参加費は返却出来ませんのでご了承ください。

	会員		非会員	
参加費	一般	学生	一般	学生
	6000	2000	10000	3000

会場のご案内

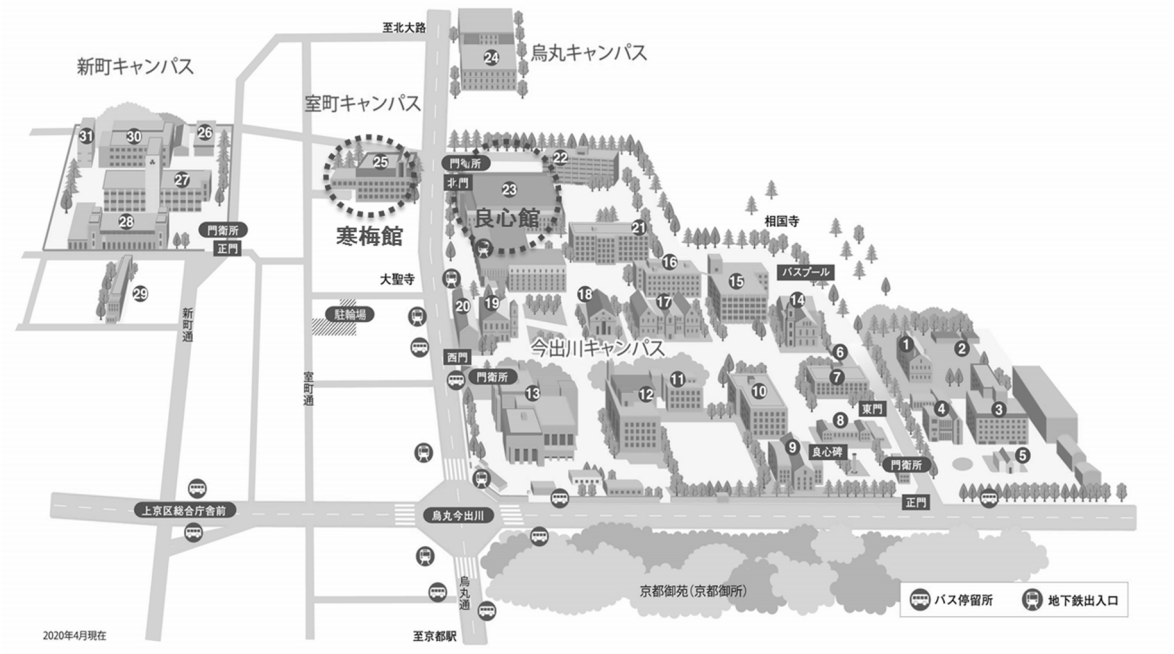
同志社大学今出川キャンパス



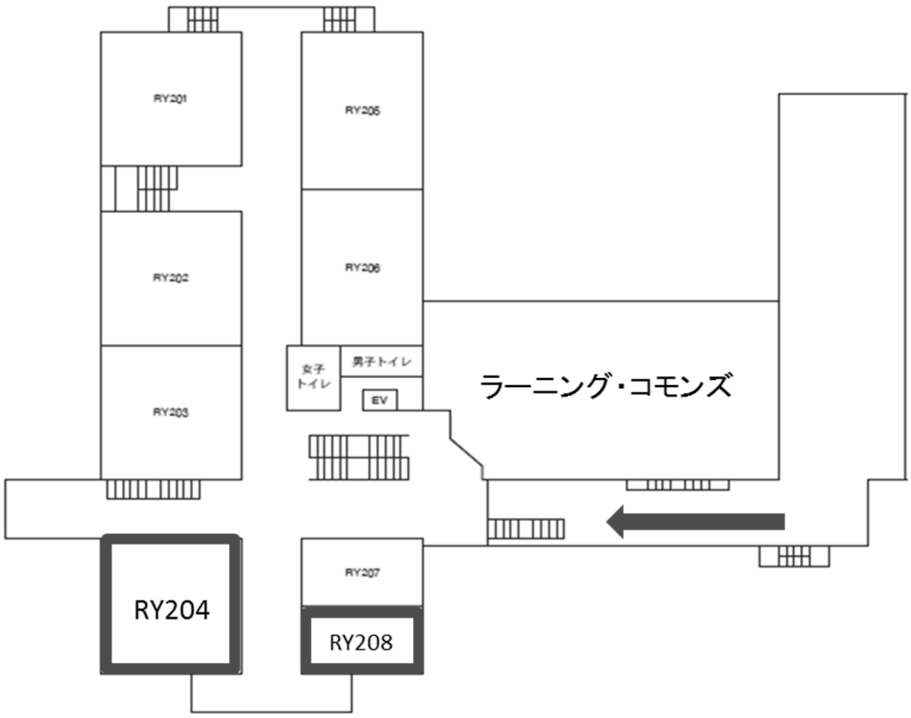


会場案内図

同志社大学今出川キャンパス良心館
京都市上京区今出川通烏丸東入



良心館　2階



日程表

1日目　9月18日（金）

	寒梅館6階 会議室	良心館2階大教室 （204号教室）	良心館2階小教室 （208号教室）
8:55			
	8:55–9:00	8:55–9:00	
9:00	Hybrid real-time online 開会の辞　池川 雅哉	Hybrid real-time online 開会の辞　池川 雅哉	
	9:00–10:30	9:00–10:30	
10:30	Hybrid real-time online **一般演題（口頭発表）** **医用質量分析学と方法論** 片木 宗弘 ・ 李 暁鵬	Hybrid real-time online **一般演題（口頭発表）** **医用質量分析学と方法論** 片木 宗弘 ・ 李 暁鵬	
	10:30–12:00	10:30–12:00	
12:00	Hybrid real-time online **シンポジウム１** 三枝 大輔	Hybrid real-time online **シンポジウム１** 三枝 大輔	
	12:00–13:00	12:00–13:00	
	お昼休み	**お昼休み**	**国際シンポジウム** **ビデオ放映**
12:55	Hybrid real-time online **同志社大学学長　ご挨拶**	Hybrid real-time online **同志社大学学長　ご挨拶**	
	13:00–15:00	13:00–15:00	
15:00	Hybrid real-time online **一般演題（口頭発表）** **質量分析と臨床** 宮本 泰豪 ・ 中山 憲司	Hybrid real-time online **一般演題（口頭発表）** **質量分析と臨床** 宮本 泰豪 ・ 中山 憲司	
15:10	15:00–15:10 **休憩**	15:00–15:10 **休憩**	
	15:10–16:55	15:10–16:55	
16:55	Hybrid real-time online **一般演題（口頭発表）** **MSイメージング** 内藤 康秀・新間 秀一	Hybrid real-time online **一般演題（口頭発表）** **MSイメージング** 内藤 康秀・新間 秀一	

2日目　9月19日（土）

	オンライン	良心館2階大教室 （204号教室）	良心館2階小教室（208号教室）
7:00			
	7:00–8:00	7:00–8:00	
8:00	Hybrid real-time online **特別公演1** **小林 久隆**	Hybrid real-time online **特別公演1** **小林 久隆**	
	8:00–9:00	8:00–9:00	
9:00	Hybrid real-time online **特別公演2** **Nathalie Y. R. Agar**	Hybrid real-time online **特別公演2** **Nathalie Y. R. Agar**	
	9:00–10:00	9:00–10:00	
10:00	**1st Joint Sympoium of JSBMS and MSACL**	**1st Joint Sympoium of JSBMS and MSACL**	
	10:00–12:00	10:00–10:30 **休憩**	
12:00	**第8回医用質量分析認定士講習会**	10:30–12:00 **テクノロジーフォーラム**	**国際シンポジウム** **ビデオ放映**
13:00	12:00–13:30	12:00–13:00 **お昼休み**	
13:30	**お昼休み**	13:00–13:30 **第8回医用質量分析認定士認定試験**	
	13:30–15:30	13:30–15:30	
15:30	Hybrid real-time online **共催シンポジウム（第1部）** **京都生体質量分析研究会**	Hybrid real-time online **共催シンポジウム（第1部）** **京都生体質量分析研究会**	
15:40	15:30–15:40 **休憩**	15:30–15:40 **休憩**	
	15:40–17:40	15:40–17:40	
17:40	Hybrid real-time online **共催シンポジウム（第2部）** **京都生体質量分析研究会**	Hybrid real-time online **共催シンポジウム（第2部）** **京都生体質量分析研究会**	
	Hybrid real-time online **閉会の辞**	Hybrid real-time online **閉会の辞**	

発表者・演者の方へ

当日，会場に来られる方以外は，online 参加となります（Hybrid real-time online ）。発表演者と座長は，寒梅館６階会議室から動画の発信を行います。会場に来られる方は，良心館２０４号室の大教室でモニターに映し出された映像を視聴していただけます。小教室では，国際シンポジウムの動画を随時視聴いただけます。

発表時間は，質疑応答を入れて 15 分といたします。視聴者からの質問についてもリアルタイムに応答する予定です。あらかじめ予行演習をご希望の方は、事務局までご連絡ください。

座長の方は、視聴者から寄せられた質疑を講演時間内にとりまとめて講演者に伝え双方向の討論をお願いいたします。発表の途中で、映像や音声が乱れることも予測されますが、何卒、よろしくお願い申し上げます。

プログラム

Online Meeting

1st. Joint Symposium of MSACL and JSBMS

オーガナイザー・座長：山口 清次（島根大学），野村 文夫（千葉大学）

Artificial Intelligence will enable Mass Spectrometry in the Clinical Laboratory

○David A. Herold[1,2]

[1]Department of Pathology, School of Medicine, University of California, San Diego, CA, [2]MSACL, Del Mar, CA

Quality Assurance for Newborn Screening by Tandem Mass Spectrometry using Flow-injection or Liquid-chromatography in Japan

○重松 陽介 1

1 福井大学医学部小児科

Overview of Techniques for Quantitative Protein Measurement by Tandem Mass Spectrometry

○Daniel T. Holmes[1,2]

[1]St. Paul's Hospital Department of Pathology and Laboratory Medicine, [2]Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of British Columbia

Application of Imaging Mass Spectrometry to the Analysis of Lipids in Biological Samples

○瀬藤 光利 [1,2,3]，華表 友暁 [1,2]，佐藤 智仁 [1,2]，高橋 豊 [1,3]，衞藤 史博 [1,3]，山田 智裕 [1]，Chi Zhang[1]，坂本 匠 [1,3]

[1] 浜松医科大学細胞分子解剖学講座，[2] 国際マスイメージングセンター，[3] 株式会社プレッパーズ

Massively Multiplexed Single Cell Analysis in Human Health and Diseases

○Sean Bendall[1,2]

[1]Department of Pathology, School of Medicine, Stanford University, [2]Stanford Blood Center

Biomarker Search for Digestive Cancer using Metabolomics and Its Practical Application

○吉田 優 [1]

[1] 神戸大学大学院医学研究科病因病態解析学分野

1 日目　9 月 18 日（金）

8：55-9：00 開会の辞　　年会長　池川 雅哉

9：00-10：30 Hybrid real-time online

一般演題（口頭発表）

医用質量分析学と方法論

オーガナイザー・座長：片木 宗弘（大阪府警科学捜査研），李 暁鵬（昭和大学）

O1-1　コレステロール生合成経路に及ぼすエルゴステロールの影響

○中川 沙織[1]，根井 隆治[1]，清水（太田）美穂[1]，不破 史子[1]，田中 昭弘[2]，佐藤 眞治[1]

[1]新潟薬科大学，[2]株式会社雪国まいたけ

O1-2　GC-MS/MS を用いて血液・尿からのカフェイン及び代謝物の迅速かつ精密定量法の開発

○ウォーターズ ブライアン[1]，原 健二[1]，徳安 智子[1]，松末 綾[1]，柏木 正之[1]，久保 真一[1]

[1]福岡大・法医

O1-3　UFLC-MS/MS 分析を用いたヒト唾液中コルチゾールの高感度分析

○長谷川 智華[1,3]，熊澤 武志[2]，李 暁鵬[3]，藤城 雅也[3]，橋本 茉莉[3]，松山 高明[3]，黒崎 久仁彦[1]

[1]東邦大・医・法医，[2]聖隷クリストファー大・看護，[3]昭和大・医・法医

O1-4　LC-MS/MS による血中ネオニコチノイド系農薬の一斉分析法の開発―除タンパク・リン脂質除去カラム ISOLUTE PlD＋を用いた前処理法の検討―

○小川 匡之[1,2]，近藤 文雄[1,3]，岩井 雅枝[1,2]，久保 勝俊[1,4]，妹尾 洋[1,2]

[1]愛知医大・法医，[2]愛知医大・薬毒物分析センター，[3]中部大・生命健康科学，[4]愛学大・歯

O1-5　LC-MS/MS によるフッ化ピリミジン系抗がん剤代謝に関連する Dihydropyrimidine dehydrogenase 活性測定

○前田 康博[1]，中島 葉子[2]，横井 克幸[2]，伊藤 哲哉[2]

[1]藤田医大・共同利用研究設備サポートセンター，[2]藤田医大・小児科

O1-6　タンデムマス・スクリーニングにおける C5 アシルカルニチンの偽陽性低減の検討

○堀江 征司[1]，服部 考成[1]，田中 美砂[2]，野津 吉友[3]，飯田 哲生[1]，渡辺 淳[1]，小林 弘典[2]

[1]株式会社島津製作所，[2]島根大学医学部小児科，[3]島根大学医学部附属病院検査部

10：30-12：00 Hybrid real-time online

シンポジウム１

オーガナイザー・座長：三枝 大輔（東北大学）

S1　リゾリン脂質研究の医療応用

○青木 淳賢[1]

[1]東京大学大学院薬学系研究科　衛生化学教室

S2　多層オミックス解析による認知症の早期発見のためのバイオマーカー探索

○多田羅 洋太[1]，中村 智洋[2]，山嵜 博未[1]，勝岡 史城[2]，千葉 満[3]，三枝 大輔[2]，葛西 秋宅[1]，伊東 健[1]

[1]弘前大学大学院医学研究科附属高度先進医学研究センター分子生体防御学講座，[2]東北大学東北メディカル・メガバンク機構，[3]弘前大学大学院保健学研究科生体検査科学領域

S3　ニーマンピック病の血清メタボローム解析と新規スクリーニング戦略

○前川 正充[1,2]，岩堀 杏南[1]，眞野 成康[1,2]

[1]東北大学病院薬剤部，[2]東北大学薬学部

13：00-15：00 Hybrid real-time online

一般演題（口頭発表）
質量分析学と臨床

オーガナイザー・座長：宮本 泰豪（大阪国際がんセンター），中山 憲司（京都大学）

O2-1　急性心不全患者における臨床転帰とトリアミン N-オキシドとの関連の民族的差異

○相澤 健一[1], Yazaki Yoshiyuki[2], Israr Muhammad[2], 根岸 経太[1], Salzano Andrea[3], 齋藤 亨佳[1], 木村 夏花[1], 河野 健[1], Heaney Liam[2], Cassambai Shabana[2], Bernieh Dennis[2], Lai Florence[2], 今井 靖[1], 苅尾 七臣[1], 永井 良三[1], Ng Leong[2], Suzuki Toru[1]

[1]自治医大，[2]レスター大学，[3]ナポリ診断核医学研究所

O2-2　GC/MS 分析による尿中グルタル酸高排泄の臨床意義の検討

○阮 宗海[1], 張 春花[1], 王 旭陽[1], 金 明姫[1], 唐 剣慈[1], 万 婷婷[1], 趙 寧[1], 謝 宏傑[1], 王 恬[1]

[1]ミルスインターナショナル

O2-3　四塩化炭素障害ラット肝内で検出されたＤ－ドーパクロムトートメラーゼ上の修飾

○日吉 峰麗[1], 長子 晴美[1], 三浦 美樹子[1], 原 伸正[1], 土屋 美加子[1]

[1]島根大・医

O2-4　Does the PCs/LPC ratio in the urine become a novel diagnostic index for prostate cancer ?

○中山 憲司[1], 李 新[1], 後藤 崇之[1], 木村 博子[1], 赤松 秀輔[1], 林 裕次郎[2], 藤田 和利[3], 小林 恭[1], 清水 公治[4], 野々村 祝夫[2], 小川 修[1], 井上 貴博[5]

[1] 京都大学大学院医学研究科 泌尿器科教室,[2] 大阪大学大学院医学研究科 泌尿器科教室,[3] 近畿大学医学部 泌尿器科教室,[4] 京都大学医学部附属病院 先端医療機器開発・臨床研究センター,[5] 三重大学大学院医学系研究科 腎泌尿器外科

O2-5　尿中遊離糖鎖の腫瘍マーカー候補の探索

半澤 健[1], 岡本 三紀[1], 村上 博子[1], ○宮本 泰豪[1]

[1] 大阪国際がんセンター　分子生物学

O2-6　Kidney injury molecule-1 の早期腎症診断マーカーとしての有用性

○五十嵐 久留未[1], 前田 浩人[2], 曽川 一幸[1]

[1] 麻布大学　生命・環境科学部, [2] 前田獣医科医院

O2-7　腎アミロイドーシスのパラフィン包埋生検組織を対象とした 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による高深度プロテオーム解析

○武笠 結天[1], 梶田 遼[2], 韮澤 崇[2], Jean - Paul Duong van Huyen[3], Marion Rabant[3], Patrick Bruneval[4], 植田 初江[5], 内木 宏延[6], 角田 伸人[1], 池川 雅哉[1]

[1] 同志社大学大学院・生命医科学研究科, [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・バイオバンクセンター, [6] 福井大学・医学部医学科分子病理学

15：10-16：55 Hybrid real-time online

一般演題（口頭発表）
ＭＳイメージング

オーガナイザー・座長：新間 秀一（大阪大学), 内藤 康秀（光産業創成大学院大学）

O3-1　質量分析イメージングを用いた酵素組織化学

○新間 秀一[1]

[1] 大阪大学大学院工学研究科生物工学専攻

O3-2　顕微質量計を用いたマウス胸腺のメタボロミック・イメージング

○辻 雄大[1], 山口 真一[2], 山本 卓志[2], 中邨 智之[3], 池川 雅哉[1]

[1] 同志社大学大学院生命医科学研究科, [2] 島津製作所, [3] 関西医科大学薬理学教室

O3-3　イメージング質量分析法を用いた大豆オイルボディーの消化分解過程の可視化

○前川 和響[1]，新谷 祈[2]，辻 雄大[2]，韮澤 崇[3]，池川 雅哉[2]，谷 史人[1]

[1]京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻農産製造学分野，[2]同志社大学大学院生命医科学研究科，[3]ブルカージャパン K.K.

O3-4　DIUTHAME を用いたアルツハイマー病（AD）脳の迅速 MALDI 質量分析イメージング

○外山 友美子[1]，武笠 結天[1]，新谷 祈[1]，徳平 壮一郎[1]，大村 孝幸[2]，小谷 政弘[2]，田代 晃[2]，角田 伸人[1]，韮澤 崇[3]，村山 繁雄[4]，内藤 康秀[5]、池川 雅哉[1]

[1]同志社大学大学院，[2] 浜松ホトニクス，[3]ブルカージャパン K.K.，[4]東京都健康長寿医療センター研究所高齢者ブレインバンク，[5] 光産業創成大学院大学

O3-5　リチウム神経薬理作用の解明に向けたマウス脳プロテオームの可視化

○安井 悠生[1]，亀山 大樹[1]，山本 康太[2]，韮澤 崇[3]，梶田 遼[3]，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，[2]東京大学大学院理学系研究科最先端計測化学研究室，[3]ブルカージャパン K.K.

O3-6　W 突然変異マウスの Whisker 毛包におけるプロテオーム解析

○小杉 茉由佳[1]，木下 和生[2]，韮澤 崇[3]，梶田 遼[3]，角田 伸人[1]，池川 雅哉[1]

[1]同志社大学大学院生命医科学研究科，[2]滋賀県立総合病院研究所，[3]ブルカージャパン K.K.

O3-7　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を用いた拡張型心筋症モデル J2N-k ハムスターの病態解析

○新谷 祈[1]，辻 崇[2]，韮澤 崇[3]，梶田 遼[3]，植田 初江[4]，升本 英利[2]，湊谷 謙司[2]，池川 雅哉[1]

[1]同志社大学大学院生命医科学研究科，[2]京都大学大学院医学研究科心臓血管外科学，[3]ブルカージャパン K.K.，[4]国立循環器病研究センター病理部

2 日目　9 月 19 日（土）

7：00-8：00 Hybrid real-time online
特別講演 1

座長：池川 雅哉（同志社大学）

がんの近赤外光線免疫療法

○小林 久隆[1]
[1]分子イメージングプログラム・米国国立がん研究所・NIH

8：00-9：00 Hybrid real-time online
特別講演 2

座長：池川 雅哉（同志社大学）

Mass Spectrometry Imaging Applications to Support Clinical Decision Making

○Nathalie Y.R. Agar[1,2,3]
[1]Department of Neurosurgery, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, [2]Department of Radiology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, [3]Department of Cancer Biology, Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School

10：30-12：00 online テクノロジーフォーラム

TF-1　timsTOF を用いた最新技術のご紹介

○梶田 遼[1]，韮澤 崇[1]
[1]ブルカージャパン株式会社

TF-2　培養皮膚・毛髪イメージングと新規導入 LC-FTMS のご紹介

○中村 篤史[1]，田中 竜也[1]
[1]一般財団法人材料科学技術振興財団

13：30-15：30 Hybrid real-time online

京都生体質量分析研究会との共催シンポジウム（第 1 部）

KS1-1　最先端リピドミクスから解き明かす病態・バイオロジー研究

○有田 誠 [1,2,3]

[1] 慶應義塾大学薬学部代謝生理化学講座，[2] 理化学研究所生命医科学研究センター，[3] 横浜市立大学大学院生命医科学研究科

座長：西川 喜代孝（同志社大学）

KS1-2　正常細胞と変異細胞間に生じる細胞競合

○藤田 恭之 [1]

[1] 京都大学医学研究科分子腫瘍学分野

座長：杉浦 悠紀（慶応義塾大学）

KS1-3　スプライシング治療薬による遺伝病治療の試み

○萩原 正敏 [1,2,3], 伊藤 慎二 [2], 網代 将彦 [1,3]

[1] 京都大学医学研究科形態形成機構学講座, [2] 京都大学医学研究科医学研究支援センター質量分析室，[3] 京都大学医学研究科創薬医学講座

座長：池川 雅哉（同志社大学）

15：40-17：40 Hybrid real-time online

京都生体質量分析研究会との共催シンポジウム（第 2 部）

KS2-1　ヒトキノーム収斂型細胞内シグナルの解明

○石濱 泰 [1,2]

[1] 京都大学薬学研究科製剤機能解析学分野，[2] 京都大学薬学研究科創薬プロテオミクス分野

座長：益田 勝吉（サントリーグローバルイノベーションセンター株式会社）

KS2-2　英国におけるフェノーム解析に関する研究活動

○鈴木 亨 [1]

[1] 英国レスター大学・循環器内科

座長：飯原 弘二（国立循環器病研究センター）

KS2-3　LUBAC の二つのユビキチンリガーゼ活性による免疫シグナル制御

○岩井 一宏[1], 伏屋 康寛[1]

[1]京都大学医学研究科細胞機能制御学

座長：野口 範子（同志社大学）

17：40-17：45 閉会の辞　　年会長：池川 雅哉

講演要旨

特別講演

がんの近赤外光線免疫療法

○小林 久隆[1]
[1]分子イメージングプログラム・米国国立がん研究所・NIH

Near Infrared Photoimmunotherapy of cancer

○Hisataka Kobayashi[1]
[1]Molecular Imaging Program, National Cancer Institute /NIH

臨床におけるがんの三大治療方法は、半世紀以上前から変わらず外科手術、放射線治療、化学療法(抗がん剤)である。これらの三大治療はすべて直接がん細胞を攻撃しまたは取り去って体の中にあるがん細胞を無くすまたは減らしていくことを目的にしている合理的な方法である。ただどの治療法も免疫細胞を含む正常な細胞もダメージを受けるため、がん治療による副作用の原因となり患者を苦しめている。一方、現在のがん免疫療法は、免疫細胞ががん細胞を殺しきることで、がんを治癒させるわけであり、免疫療法自体によっては一つもがん細胞が殺されることはない。この講演では、我々が開発した分子特異性を重視したがん細胞選択的癌治療「近赤外光線免疫療法(光免疫療法)について紹介したい。光免疫療法は、抗体を用いた細胞選択性と光化学反応による細胞に結合した抗体上の光反応分子の選択的な分子内リガンド切断によって急速かつ強力な抗体抗原結合体の分子変形に基づいて、がん細胞のみを効果的に狙い撃ちして免疫原性細胞死を起こす。したがって、この治療の効果は切断されたリガンド分子を質量分析技術によって定量することで推定することができる。また、免疫細胞を含む正常細胞を傷つけることがないため、壊した癌細胞に対する免疫を非常に効率よく誘導することができる。従ってがん細胞の数を減らしながら合理的に免疫力を強化して短期間にがんを根治できる従来のがん治療とは全く異なるコンセプトのがん治療法である。さらに免疫抑制細胞を標的として腫瘍内で壊すことによる免疫増強など、光免疫療法には固有の優れた特長がある。この方法では、一か所を治療することによって転移にも合理的に効果があり、また免疫記憶を誘導することによって再発を抑制する光免疫療法の最終完成形をも可能にできることは動物実験では実証できてきている。最後に光免疫療法の臨床治験の進行状況についても最新情報を紹介したい。

Mass spectrometry imaging applications to support clinical decision making

○Nathalie Y.R. Agar[1,2,3]

[1]Department of Neurosurgery, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School

[2]Department of Radiology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School

[3]Department of Cancer Biology, Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School

Mass spectrometry provides multiple options for the direct characterization of tissue to support surgical decision-making, and provides significant insight in the development of drugs targeting tumors of the central nervous system (CNS). Using an array of mass spectrometry (MS) applications, we rapidly analyze specific tumor markers ranging from small metabolites to proteins from surgical tissue for rapid diagnosis and surgical guidance. Using similar clinical protocols, we visualize drug and metabolites penetration in brain tumor tissue and correlate with tumor heterogeneity and response to support drug development.

講演要旨

国際シンポジウム

JS1

Artificial Intelligence will enable Mass Spectrometry in the Clinical Laboratory

○David A. Herold[1,2]

[1]Department of Pathology, School of Medicine, University of California, San Diego, CA

[2]MSACL, Del Mar, CA

The clinical laboratory contributes 70% of the information used to direct patient diagnosis and treatment. Mass spectrometry (MS) is widely used in the clinical laboratory due to its accuracy and precision, which was succinctly illustrated in the analysis of testosterone in women and children versus immunoassay. Of paramount importance for the application of Artificial Intelligence (AI) is data quality. Fortunately, there have been significant advances in HPLC, high-resolution MS, ion mobility separations and increases in ionization efficiency in MALDI. Of equal importance, MS has the ability to multiplex. This has led to AI application in 3 areas – small molecule profiling, cancer biomarkers in serum, and determination of cancer in tissue sections. 1) Arlt et al at the University of Birmingham used a panel of 9 steroids in urine to differentiate a benign adrenal cyst and adrenal cortical carcinoma (ACC) by the use of AI to determine the presence (90% sensitivity, 90% specificity) and recurrence of ACC (92% sensitivity, 95% specificity). This success provided the motivation to use AI in the evaluation of steroid-related diseases. 2) Black et al (2019) at Medical University of South Carolina developed a combination of immunoarrays and mass spectrometry for analysis of patient biofluids with minimal sample prep for identification of glycoprotein biomarkers for early detection of an extremely aggressive cancer (AUROC = 0.92). 3) Recently, the FDA approved the use of digital pathology as equivalent to a microscopic review for surgical pathology cases, thereby opening the application of AI to surgical pathology case review. Eberlin et al, at the University of Texas, Austin, have analyzed 20 human cancer thin tissue sections and 253 patient tissue samples including normal and cancerous tissues from breast, lung, thyroid, and ovary. Statistical classifiers built from the histologically validated molecular database predicted cancer with high sensitivity (96.4%), specificity (96.2%), and overall accuracy (96.3%). Notably, the classifier allowed accurate diagnosis of cancer in marginal tumor regions presenting mixed histologic composition.

JS2

Overview of techniques for quantitative protein measurement by tandem mass spectrometry

○Daniel T. Holmes[1,2]

[1]St. Paul's Hospital Department of Pathology and Laboratory Medicine

[2]Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of British Columbia

Liquid Chromatography and Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) has been an unprecedented tool for the rapid development of quantitative diagnostic tests targeting endogenous and exogenous small molecules. Over the past two decades, LC-MS/MS has revolutionized the fields of therapeutic drug monitoring, toxicology, newborn screening, and endocrinology. After these many years of success, some now wonder whether LC-MS/MS is running short of diagnostic applications to the clinical laboratory. However, the field of quantitative protein analysis represents this new territory where LC-MS/MS (and related mass spectrometric techniques) circumvent many of the weaknesses of immunoassay: cross reactivity, heterophile antibody interference, autoantibodies against the target analyte, and antibodies against kit components. Similar to the benefits it has brought to small molecule analysis, LC-MS/MS quantitative protein measurement permits multiplexing, simultaneous quantitation and phenotyping, identification of common polymorphism and a number of other advantages. However, the technical challenges that must be overcome to routinely report quantitative protein results by LC-MS/MS is numerous and may be specific to target analysis and the methodological approach. Using specific clinical examples, the techniques that we and others have employed in routine care will be discussed. We will focus on the advantages that LC-MS/MS has brought to the diagnostic process. Approaches include:

- direct analysis of peptides after sample clean-up or immunopurification (angiotensins, hepcidin, amyloid beta, insulin and synthetic insulins)
- direct analysis using HRAM (IGFI, IGFII)
- digestion followed and direct analysis (apolipoproteins, immunoglobulins and their subclasses, therapeutic monoclonal Abs)
- digestion followed by immunopurification – "SISCAPA" (thyroglobulin)

These techniques vary in their complexity and bringing them to routine requires some determination. However, once achieved, many benefits are achieved that bring new clinical insights, solve previously standing questions and ultimately improve patient care.

JS3

Massively Multiplexed Single Cell Analysis in Human Health and Disease.

○Sean Bendall[1,2]

[1]Department of Pathology, School of Medicine, Stanford University

[2]Stanford Blood Center

Single cell analysis, starting with the earliest low parameter fluorescent cytometry and microscopy experiments, helped define the major cell subsets of human cellular systems as we understand them today. Now, a novel combination of elemental mass spectrometry with single cell analysis (mass cytometry – CyTOF, Science 2011) and nanometer-scale imaging (multiplexed ionbeam imaging – MIBI, Nature Med. 2014, Cell2018, Science Adv. 2019) offers routine examination of >50 parameters without fluorescent agents or interference from spectral overlap using heavy metal isotopes as reporters. With these platforms, we have reached new levels of organizational understanding in human pathobiology. Here, we will review the evolution of these technologies and present our latest efforts to create assays with these platforms in order to quantify multiple levels of regulation including metabolism, proteome dynamics, and chromatin content regulating the epigenome. Further to this, we will demonstrate how the ever-expanding single cell proteomics toolbox can be leveraged to understand a variety of human systems ranging from hematopoietic to the central nervous system (CNS). Overall, these new approaches can reveal new layers of human cellular organization and structure that can be exploited to understand dysfunction in general.

JS4

我が国の新生児タンデムマススクリーニングの精度管理における LC-MS/MS 分析の役割

○重松 陽介[1]

[1]福井大学医学部小児科

Quality Assurance for Newborn Screening by Tandem Mass Spectrometry using Flow-injection or Liquid-Chromatography in Japan

○Yosuke Shigematsu[1]

[1]Department of Pediatrics, University of Fukui

Although newborn screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry has been conducted worldwide, quality control has not been established, and there is room for improvement.

In Japan, amino acids and acylcarnitines are analyzed by flow-injection ESI-MS/MS analysis (MRM) for 21 target diseases. There are 35 screening laboratories, where 3 types of internal standard kit and MS/MS instruments by 3 manufacturers are used. The analytical conditions are set by the cooperation of the kit or the device manufacturers, and the operators are not necessarily trained and qualified. The concentration is calculated using the ratio of ion intensity of the internal standard substance to that of the substance to be measured, although the same MRM condition is not shared for both substances in some laboratories. In some laboratories using a specific kit, the concentrations are corrected based on the data obtained using the control filter paper blood, whereas in the majority of the laboratories, the concentrations are calculated without correction.

Thus, with the cooperation of 35 laboratories, we performed flow-injection measurements using a mixture containing a liquid calibrator from a certain kit manufacturer and the internal standard kit solution used at each facility at a fixed ratio. The ion intensity ratios between the internal standard substance and the substance to be measured was distributed more widely than expected, probably because of the limit of flow-injection analysis.

Based on the above situation, it seems rather difficult to guarantee the measured values in the filter paper blood analysis, and we are trying to establish a filter paper blood “calibrator” by LC-MS/MS measurement in consideration of traceability.

JS5

生体試料中の脂質解析へのイメージング質量分析の応用

○瀬藤 光利[1,2,3]、華表 友暁[1,2]、佐藤 智仁[1,2]、高橋 豊[1,3]、衞藤 史博[1,3]、山田 智裕[1]、Chi Zhang[1]、坂本 匠[1,3]

[1]浜松医科大学細胞分子解剖学講座、[2]国際マスイメージングセンター、[3]株式会社プレッパーズ

Application of imaging mass spectrometry to the analysis of lipids in biological samples

○Mitsutoshi Setou[1,2,3], Tomoaki Kahyo[1,2], Tomohito Sato[1,2], Yutaka Takahashi[1,3], Fumihiro Eto[1,3], Tomohiro Yamada[1], Chi Zhang[1], Takumi Sakamoto[1,3]

[1]Department of Cellular and Molecular Anatomy, Hamamatsu University School of Medicine, [2]International Mass Imaging Center, Hamamatsu University School of Medicine, [3]Preppers Ltd.

Modern medicine requires molecular biological insights into the physiology of the body and the pathology of disease. Imaging Mass Spectrometry (IMS) is a new observation technique that combines mass spectrometry and microscopy techniques to visualize the distribution of biomolecules in tissues and cells without the need for molecular labeling. It is suitable for observing the distribution of a wide variety of biomolecules in a wide variety of combinations because it allows simultaneous observation of multiple molecules on the same section, distinguishing the slightest structural differences between them. In this presentation, we will explore and identify disease-related lipids in yellow ligament thickening by MALDI using FT-ICR MS, analyze lipid metabolism in atherosclerosis and termite lifespan using model mice by DESI and others, and observe changes in intracellular lipid localization by light-dependent lipid manipulation by SIMS. We will introduce various applications of IMS for lipid analysis. The research and development introduced in this lecture were supported by JSPS KAKENHI grant no. JP15H05898B1, JP18H05268, Imaging Platform grant no. 967, CREST from the Japan Agency for Medical Research and Development, AMED grant no. 921910520, and the Mochida Memorial Foundation for Medical and Pharmaceutical Research. International Mass Imaging Center has MALDI-IMS and DESI-IMS, which are available through "Microscopic Imaging Platform for Atoms and Molecules". Preppers, Inc., a Hamamatsu University School of Medicine venture company, offers a variety of contract analysis services using IMS. If you are interested, please contact us.

JS6

メタボロミクスによる消化器がんバイオマーカー探索とその実用化

○吉田 優[1]
[1]神戸大学大学院医学研究科病因病態解析学分野

Biomarker search for digestive cancer using metabolomics and its practical application

○Masaru Yoshida[1]
[1]Division of Metabolomics Research, Department of Internal Medicine related, Kobe University Graduate School of Medicine.

Improvements in analytical technologies have made it possible to rapidly determine the concentrations of thousands of metabolites in any biological sample, which has resulted in metabolome analysis being applied to various types of research, such as clinical, cell biology, and plant/food science studies. The metabolome represents all of the end products and by-products of the numerous complex metabolic pathways operating in a biological system. Thus, metabolome analysis allows one to survey the global changes in an organism's metabolic profile and gain a holistic understanding of the changes that occur in organisms during various biological processes, e.g., during disease development. In clinical metabolomic studies, there is a strong possibility that differences in the metabolic profiles of human specimens reflect disease-specific states. Recently, metabolome analysis of biofluids, e.g., blood, urine, or saliva, has been increasingly used for biomarker discovery and disease diagnosis. Mass spectrometry-based techniques have been extensively used for metabolome analysis because they exhibit high selectivity and sensitivity during the identification and quantification of metabolites. Here, we show metabolome analysis using gas and liquid chromatography-mass spectrometry. Furthermore, we discuss metabolome analysis-based disease diagnosis and its practical application.

講演要旨

シンポジウム

S1

リゾリン脂質研究の医療応用

○青木 淳賢[1]
[1]東京大学大学院薬学系研究科　衛生化学教室

Clinical application of lysophospholipid mediator

○Junken Aoki[1]
[1]Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo

我々は、シグナリング脂質の中で “リゾリン脂質” に着目し、その産生機構・作用機構、さらには、その生理病態機能の解明を目指し、研究を行っている。リゾリン脂質は脂肪酸を一本だけ持つ一本脚のリン脂質であり、リゾホスファチジン酸（LPA）、スフィンゴシン 1 リン酸（S1P）、リゾホスファチジルセリン（LysoPS）、リゾホスファチジルイノシトール（LPI）などがある。近年、リゾリン脂質の作用が細胞膜に存在する特異的 G タンパク質共役型受容体（GPCR）を介することが示され、それぞれのリゾリン脂質の特異性を示す約 20 種類のリゾリン脂質 GPCR が同定された。また、幾つかのリゾリン脂質に関しては、その産生酵素やキャリアタンパク質が同定された。これらの受容体や産生酵素の発見が契機となり、ノックアウトマウスの解析や拮抗薬・作動薬・阻害剤の開発が進み、リゾリン脂質の生理病態機能が明らかとなってきた。脂質は遺伝子に直接コードされることはなく、また、抗体などのツールが使用できない。それゆえ、リゾリン脂質を含む、脂質の発現解析は薄層クロマトグラフィー等のロースループットの手法で解析されてきた。また、従来リゾリン脂質は組織の局所で産生されると考えられているが、従来の手法で解析することは困難であった。近年の質量分析型を用いた高感度で、リゾリン脂質の解析が可能となってきた。本手法を用いると、モデル動物の血液中、組織中のリゾリン脂質を網羅的に測定できるだけでなく、血液、脳脊髄液、尿などのヒトの臨床サンプル中のリゾリン脂質の定量解析が可能となってきた。さらに、近年、質量顕微鏡技術が発達し、リゾリン脂質を含むリン脂質を組織切片レベルで検出することが可能となってきた。

これらの実験手法により、KO マウスを用いる動物レベルでの機能解析に加え、ヒト臨床におけるリゾリン脂質の機能解明が可能な時代になってきている。

本発表では、KO マウスからわかってきた心筋梗塞時の DHA 型リゾホスファチジン酸に焦点を絞り、臨床応用研究に関する我々の成果を紹介したい。

S2

多層オミックス解析による認知症の早期発見のためのバイオマーカー探索

○多田羅 洋太[1]、中村 智洋[2]、山嵜 博未[1]、勝岡 史城[2]、千葉 滿[3]、三枝 大輔[2]、葛西 秋宅[1]、伊東 健[1]

[1]弘前大学大学院医学研究科附属高度先進医学研究センター分子生体防御学講座、[2]東北大学東北メディカル・メガバンク機構、[3]弘前大学大学院保健学研究科生体検査科学領域

Biomarker discovery for early diagnosis of dementia using multi-omics analysis

○Yota Tatara[1], Tomohiro Nakamura[2], Hiromi Yamazaki[1], Fumiki Katsuoka[2], Mitsuru Chiba[3], Daisuke Saigusa[2], Syuya Kasai[1], Ken Itoh[1]

[1]Department of Stress Response Science, Center for Advanced Medical Research, Graduate School of Medicine, Hirosaki University, [2]Tohoku Medical Megabank Organization, Tohoku University, [3]Department of Bioscience and Laboratory Medicine, Hirosaki University Graduate School of Health Sciences

高齢化社会における認知症の患者数の増加は、介護や医療費の増加といった社会問題を引き起こしている。認知症は早期に治療介入すれば回復させることができる。そこで、この研究では認知症の早期発見を可能にするバイオマーカーを探索するために、認知症の前段階である軽度認知障害（MCI）を対象とした多層オミックス解析を実施した。

これまで弘前市岩木地区の住民を対象とした MCI 血漿検体のトランスクリプトーム、マイクロ RNA（miRNA）のマイクロアレイ解析、プロテオーム、メタボロームのそれぞれの解析を実施してきた。その結果、認知症のリスク因子と相関する分子が各階層のオミックスに見出された。例えば、認知症の最強のリスク因子として知られる APOE4 遺伝子型と血漿のアディポネクチンやアミノ酸、コレステロールエステルとの間に相関が認められた。多層オミックス解析の結果から、遺伝子（information）、タンパク質（function）、代謝物（phenotype）にわたって MCI の病因あるいは病態が末梢血に反映されていると考えられる。

解析対象とした物質のなかで特に MCI 診断の感度と特異度が優れたバイオマーカーが miRNA に見られたことから、miRNA には複数の認知症リスク因子が集約されることが示唆された。また、MCI で有意に変動する血漿 miRNA が GCN1 を主な標的にすることが予測された。GCN1 はアミノ酸飢餓ストレス応答において統合的な役割を担うことからも、GCN1 が MCI の鍵遺伝子である可能性が示唆された。現在、複数の認知症リスク因子を血液中の成分を測定することで個別に診断できるモデルの構築に取り組んでいる。

S3

ニーマンピック病の血清メタボローム解析と新規スクリーニング戦略

○前川 正充[1,2]、岩堀 杏南[1]、眞野 成康[1,2]
[1]東北大学病院薬剤部、[2]東北大学薬学部

Serum global metabolomics and a novel screening strategy for Niemann–Pick disease diagnosis

○Masamitsu Maekawa[1,2], Anna Iwahori[1], Nariyasu Mano[1,2]
[1]Department of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University Hospital
[2]Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University

【ニーマンピック病 C 型の血清グローバルメタボロミクス】

ニーマンピック病 C 型 (NP-C) では、多様な病態発現や病態進行における分子機構や、それに伴う関連代謝物の変動は未だ不明な点が多い。我々は、NP-C 患者に特徴的な内因性代謝物の変動を調べるため、血液中に含まれる低分子を網羅的に検出し、半定量解析するグローバルメタボロミクスを実施した。すなわち、血清を除タンパク処理し、試料を LC-MS/MS 分析した後、多変量解析に付し、NP-C 患者で増減するピークを抽出した。

負イオンモードで分析したとき、NP-C 患者血清で 2 本のピークが増加し、8 本のピークが減少した。増加したピークはリン脂質類であり、減少したピークはステロイド系化合物と推測されるものが多かった。一方、正イオンモードで分析した場合でも脂質類と推測されるピークが増加し、トリグリセリド類と推測されるピークが減少した。

【血清脂質の同時分析に基づくニーマンピック病のスクリーニング検査法の構築】

NP-A/B と NP-C は共通した臨床症状も見られるが、異なる遺伝子変異に起因する疾患であり、早期に鑑別診断し、適切な治療を開始することが望ましい。我々が NP-C のバイオマーカーとして先に構造を解明した N-palmitoyl-O-phosphocholine-serine (PPCS) と、sphingosylphosphocholine (SPC) の 2 分子を同時分析する迅速分析法 (M1) と精密分析法 (M2) を構築し、2 つの分析法を組み合わせた新規スクリーニング検査法の開発を試みた。

1 検体当たりの分析時間は、M1 が 1.2 分、M2 が 8 分であった。M1 を用いるとき、M2 の場合と同様に PPCS は十分に正確であったが、SPC では正確な値は得られなかった。M1 による血清 PPCS 濃度は、NP-C、NP-B のどちらでも健常人より十分に高値であり、スクリーニングによる NP の早期発見に有用であることが示唆された。一方、M2 によって得られた NP-B 患者の血清中 PPCS/SPC 比は、NP-C 患者のそれより低く、これが両者の鑑別に利用可能と考えられた。

講演要旨

一般演題（口頭発表）

O1-1

コレステロール生合成経路に及ぼすエルゴステロールの影響

○中川 沙織[1], 根井 隆治[1], 清水（太田）美穂[1], 不破 史子[1], 田中 昭弘[2], 佐藤 眞治[1]
[1]新潟薬科大学
[2]株式会社雪国まいたけ

Effects of ergosterol on cholesterol biosynthetic pathway

○Nakagawa Saori[1], Ryuji Nenoi[1], Shimizu-Ohta Miho[1], Fuwa Fumiko[1], Tanaka Akihiro[2], Sato Shinji[1]
[1]Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences
[2]Yukiguni Maitake Co., Ltd.

【目的】キノコなどに含まれるエルゴステロールは、ビタミン D2 の前駆体として知られている化合物であり、コレステロールの生合成経路に深く関与していると考えられる。コレステロールの生合成経路は、アセチル CoA からスクアレンなどを経て、ラノステロールが合成される。また、ラノステロールからは、ラソステロールまたはデスモステロールを通る二つの経路に分岐することが知られている。このラソステロール経路中の 7-デヒドロコレステロールからコレステロールが合成される酵素である 7-デヒドロコレステロールレダクターゼ（DHCR7）は、エルゴステロールの代謝に大きく関与しており、コレステロール生合成経路に影響を及ぼす可能性がある。そこで、ヒト肝がん由来培養細胞と Wistar 系雄性ラットを用いて、コレステロール生合成経路に及ぼすエルゴステロールの影響について検討を行った。

【方法】コレステロール合成を促進させたヒト肝がん由来 HepG2 細胞にエルゴステロールを添加し、72 時間培養した。また、実験日前日に右頸静脈にカニューレを施した Wistar 系雄性ラットにエルゴステロールを静脈内投与し、経時的に採血を行った。細胞および血漿をジルコニアビーズによる細胞破砕、アルカリによるけん化、n-ヘキサンによる溶媒抽出およびトリメチルシリル誘導体化後、コレステロール、合成前駆体、吸収マーカー、エルゴステロールおよびブラジカステロール濃度を GC-MS を用いて測定した。

【結果および考察】細胞にエルゴステロールを添加培養した場合、エルゴステロールが DHCR7 によってブラジカステロールに代謝され、7-デヒドロコレステロールへの代謝が阻害されて 7-デヒドロコレステロールが蓄積され、コレステロール濃度が減少することが明らかとなった。更に、ラットの血漿中コレステロール合成前駆体および吸収マーカーの濃度は、エルゴステロールの投与初期は増加し、その後、減少した。コレステロールにおいては投与初期に減少し、その後投与前の濃度に戻った。この結果は、コレステロールの生合成経路にエルゴステロールが影響を及ぼしていることを示唆している。

O1-2

GC-MS/MS を用いて血液・尿からのカフェインおよび代謝物の迅速かつ精密定量法の開発

○ウォーターズ ブライアン[1], 原 健二[1], 徳安 智子[1], 松末 綾[1], 柏木 正之[1], 久保 真一[1]
[1]福岡大・法医

The development of a rapid and robust gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantitation of caffeine and its metabolites in biological specimens

○Waters Brian[1], Hara Kenji[1], Tokuyasu Tomoko[1], Matsusue Aya[1], Kashiwagi Masayuki[1], Kubo Shin-ichi[1]
[1]Fukuoka University, Department of Forensic Medicine

Objective: The abuse of caffeinated alcoholic beverages and an increase in caffeine intoxications makes caffeine analysis of rising importance. A robust method that can distinguish caffeine and its metabolites would benefit the biomedical toxicology field. We present the development of a rapid and robust GC-MS/MS method for the quantitation of methylxanthines from biological matrices. Method: Samples were fortified with caffeine-d3 as the internal standard. The samples were diluted with deionized water and deproteinized with acetonitrile containing acetic acid. After mixing and centrifugation, the supernatant was passed through lipid removal and ion-exchange SPE cartridges to remove interfering compounds. The eluent was evaporated and dissolved in methanol:n-propyl acetate. Analysis was performed on a Shimadzu GC-MS/MS using tandem capillary columns. The total run time was less than 11 min. Detection was in the MRM mode. Result: Peaks for caffeine/caffeine-d3, paraxanthine, theobromine, theophylline, 1-methylxanthine, 3-methylxanthine, and 7-methylxanthine were clearly distinguished with baseline separation. Calibration curves were linear with coefficients of determination greater than 0.995 for each compound. Samples from forensic and emergency medicine departments were analyzed using the developed method. Discussion: In 2015, a man in his early 20s died of acute caffeine intoxication that made national headlines. Caffeine is a ubiquitous stimulant present in coffee, tea, and other drinks worldwide. It is widely considered safe, but acute and chronic abuse can lead to negative consequences, including death. We have developed a rapid and robust GC-MS/MS method that can separate caffeine and its metabolites in human specimens. This method can be applied to various biomedical mass spectrometry fields, including forensic, clinical, and emergency medicine, among others.

O1-3

UFLC–MS/MS 分析を用いたヒト唾液中コルチゾールの高感度分析

○長谷川 智華 [1,3], 熊澤 武志 [2], 李 暁鵬 [3], 藤城 雅也 [3], 橋本 茉莉 [3], 松山 高明 [3], 黒崎 久仁彦 [1]

[1] 東邦大・医・法医

[2] 聖隷クリストファー大・看護

[3] 昭和大・医・法医

High sensitive analysis of cortisol in human saliva by UFLC–MS/MS

○Hasegawa Chika[1,3], Kumazawa Takeshi[2], Lee Xiao-Pen[3], Fujishiro Masaya[3], Hashimoto Mari[3], Matsuyama Takaaki[3], Kurosaki Kunihiko[1]

[1]Department of Legal Medicine, Toho University School of Medicine

[2]Seirei Christopher University School of Nursing, Department of Legal Medicine

[3]Showa University School of Medicine

【目的】コルチゾールはストレスマーカーとして知られている。体液中コルチゾールの分析には ELISA 法がよく用いられているが、生体内成分との交差反応が生じることが報告されている。本研究では、酢酸エチルを用いた液-液抽出法と UFLC‐MS/MS 法を組み合わせた新しい唾液中コルチゾールの迅速・高感度分析システムを開発したので報告する。

【方法】本研究におけるコルチゾールの分析には、UFLC 装置（島津製作所）および API4000 QTrap MS/MS 装置（AB SCIEX）を用いた。唾液 200µl に内部標準物質（IS）の d4-コルチゾールを添加し酢酸エチルを加え混和した後、5 分間の遠心分離を施した。得られた上清について、窒素気流下にて蒸発乾固を行い、残渣はアセトニトリル/ギ酸水溶液にて溶解後、その一部を UFLC/MS/MS 分析に供した。分析カラムはインタクト社製 Cadenza HS-C18（長さ 50mm、内径 3 mm、粒径 3 µm）、移動相は 0.1％ギ酸水溶液をベースにしたアセトニトリルによるリニアグラジエント法を用いた。質量分析は正イオン大気圧エレクトロスプレーイオン化法による多重反応モニタリング法を採用した。

【結果】コルチゾールと IS は 5 分以内に感度よく検出され、内部標準法を用いて作成した検量線は 0.25～100ng/ml の範囲で良好な直線性（相関係数 0.999）を示した。検出限界は 0.1ng/ml であった。今回開発した分析法を用いボランティア 20 名の唾液中コルチゾールを検出・定量したところ、その値は 0.06～1.09ng/ml の範囲であった。

【考察】今回の研究では、液-液抽出法と UFLC‐MS/MS 法を組み合わせた唾液中コルチゾール分析を試みた。従来、唾液中ストレスマーカー分析の主流となっている ELISA 法は簡便な方法であるものの、抗体と生体内成分との交差反応あるいは呈色反応が生じやすく、分析精度の低さが問題となっている。本法は、唾液中コルチゾールの迅速かつ高感度分析が可能であり、ストレス研究や臨床研究領域における応用が期待できる。

O1-4

LC-MS/MS による血中ネオニコチノイド系農薬の一斉分析法の開発 —除タンパク・リン脂質除去カラム ISOLUTE PLD+を用いた前処理法の検討—

○小川 匡之[1,2], 近藤 文雄[1,3], 岩井 雅枝[1,2], 久保 勝俊[1,4], 妹尾 洋[1,2]

[1]愛知医大・法医, [2]愛知医大・薬毒物分析センター, [3]中部大・生命健康科学, [4]愛学大・歯

Investigation of sample extraction method for simultaneous analysis of neonicotinoidpesticides in blood by LC-MS/MS using deproteinization/phospholipid removal column ISOLUTE PLD+

○Ogawa Tadashi[1,2], Kondo Fumio[1,3], Iwai Masae[1,2], Kubo Katsutoshi[1,4,] Seno Hiroshi[1,2]

[1]Departmant of Legal Medicine, Aichi Medical University School of Medicine, [2]Poison Analysis Center, Aichi Medical University School of Medicine, [3]Chubu University College of Life and Health Sciences, [4]Aichi Gakuin University School of Dentistry

【目的】ネオニコチノイド系農薬は、水溶性、浸透性、残効性、低揮発性、熱安定性に優れた殺虫剤として、稲・果樹・野菜等に幅広く使用されており、その使用量は近年増加傾向にある。ネオニコチノイド系農薬は、有機リン剤と比べて安全と言われているが、摂取による急性中毒、さらには死亡例も報告されている。従って、中毒原因の解明のためにはネオニコチノイド系農薬の血中濃度測定が重要であり、それらの一斉分析法の確立が求められている。本研究では、ISOLUTE PLD+（バイオタージ）を用いた血中ネオニコチノイド系農薬の前処理法について検討した。

【方法】従来から用いられているアセタミプリド、イミダプロクリド、クロチアニジン、ジノテフラン、チアクロプリド、チアメトキサム、ニテンピラムの 7 種類のネオニコチノイド系農薬に加え、近年承認されたスルホキサフロル、フルピラジフロン、トリフルメゾピリム、更にネオニコチノイド系農薬に似た作用を示すフィプロニル、エチプロール、フロニカミドの計 13 種を対象とした。あらかじめアセトニトリル 700 µL およびメタノール 200 µL を注入した ISOLUTE PLD+カラムに、対象化合物をスパイクした血液 100 µL を水で希釈（1:1、v/v）後、負荷した。カラムを 10 分間遠心分離後（170×g）、溶出液を遠心エバポレーターで乾固した。得られた残渣をメタノール 100 µL に再溶解後、LC-MS/MS（Nexera X3/LCMS-8045, 島津製作所）を用いて測定した。

【結果】対象化合物をスパイクした血液を、ISOLUTE PLD+カラムで前処理後に分析した結果、各化合物のピークは良好に分離されるとともに、すべて 5 分以内に検出された。ISOLUTE PLD+カラムにおける回収効率は 93.7-100.4%で、農薬の前処理法として知られる QuEChERS 法（71.7-95.4%）よりも高効率であった。

【考察】ネオニコチノイド系農薬の中には親水性が高い物もあり、水溶性化合物を不得意とする QuEChERS 法よりも ISOLUTE PLD+カラムが有利に働く可能性が示された。今後、さらにバリデーションを進めて、血中ネオニコチノイド系農薬の LC-MS/MS による一斉分析法の確立を目指す。

O1-5

LC-MS/MS によるフッ化ピリミジン系抗がん剤代謝に関連する dihydropyrimidine dehydrogenase 活性測定

○前田 康博[1], 中島 葉子[2], 横井 克幸[2], 伊藤 哲哉[2]

[1]藤田医大・共同利用研究設備サポートセンター

[2]藤田医大・小児科

Measurement of dihydropyrimidine dehydrogenase activity involved in fluoropyrimidine anticancer drugs metabolism by LC-MS/MS

○Maeda Yasuhiro[1], Nakajima Yoko[2], Yokoi Katsuyuki[2], Ito Tetsuya[2]

[1]Center for Joint Research Facilities Support, Fujita Health University

[2]Department of Pediatrics, Fujita Health University

【目的】抗がん剤として用いられる 5-fluorouracil (5-FU) 約 85%は，dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)により 5-fluoro-2,3-dihydrouracil に代謝された後，2-fluoro-β-alanine となり，主に尿中に排泄される。DPD をコードする遺伝子(DPYD)に変異があり、酵素活性が低下している患者が 5-FU を服用した場合、5-FU の代謝が滞るため，重篤な副作用が発生する危険がある。DPD 活性測定による副作用発現の未然防止のための簡便な方法として，LC-MS/MS を利用した酵素活性測定を検討した。

【方法】DPD は uracil, thymine, 5-FU の酸化還元に関わる酵素であるため，酵素反応の生成物を MS/MS で定量する際に最も検出しやすかった thymine となるように，dihydroyhimine (DHT) から thymine の酸化反応により DPD 活性を検討した。5-FU を服用した患者 49 名および健常人 17 名の末梢血リンパ球を分離し、DHT, MgCl2, NADP+を加え、37℃で 2.5 時間インキュベートした。健常人と患者で thymine 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 thymine 生成平均量は 136 ± 23.7 pmol/2.5 h であり範囲は 53.1-180 pmol/2.5h であった。5-FU 投与患者群では、thymine 生成量は 53.1-162 pmol/2.5 h となり、DPD 活性は正常平均値の 37.5-141%であった。

【考察】今回の測定した患者 48 名のうち 8 名は遺伝子変異をヘテロで有している保因者であった。これらの患者のうち 5 名は酵素活性が 84-114%であり，副作用発現もなく 5-FU 代謝への影響は見られなかった。一方 Grade 2 及び Grade 3 の副作用が発現した 3 名の患者は酵素活性が 37-65%であった。この結果から、リンパ球中の DPD 活性測定は、DPYD 遺伝子の変異をヘテロで有する患者においても-FU の投与による副作用発現リスクのスクリーニングが可能と考えられる。

O1-6

タンデムマス･スクリーニングにおける C5 アシルカルニチンの偽陽性低減の検討

○堀江征司[1], 服部 考成[1], 田中　美砂[2], 野津 吉友[3], 飯田 哲生[1], 渡辺 淳[1], 小林 弘典[2]
[1]株式会社島津製作所 [2]島根大学医学部小児科 [3]島根大学医学部附属病院検査部

Study on the false-positive reduction of C5-acylcarnitine in tandem mass Screening

○Seiji Horie[1], Takanari Hattori[1], Misa Tanaka[2], Yoshitomo Notsu[3], Tetsuo Iida[1], Jun Watanabe[1], Hironori Kobayashi[2]
[1]Shimadzu Corporation
[2]Department of Pediatrics Shimane University School of Medicine
[3]Clinical Laboratory Division Shimane University Hospital

【目的】 タンデムマス・スクリーニングでは迅速性を追求するためにカラム分離を行わないため、同じ m/z の異性体を分離分析できないという課題もある。C5 アシルカルニチンには、本来の測定指標である isovalerylcarnitine(i-C5)のほかに pivaloylcarnitine(p-C5)等のいくつかの異性体がある。p-C5 はピボキシル基を含む抗菌薬が由来となり偽陽性の原因となっている。本研究では、これらの課題を解決するために i-C5 と p-C5 の識別の可能性を検討した。

【方法】i-C5 と p-C5、それぞれ 100 µg/L 水溶液を超純水により調製し、タンデムマス分析を行った。LC-MS/MS には、Nexera X3 と LCMS-8060（いずれも島津製作所）を用いた。MS/MS により i-C5 と p-C5 を識別できないか検討するため、はじめに i-C5 と p-C5 のプレカーサーイオン（m/z 246.15）に対してプロダクトイオンスキャンを行い、それぞれの成分由来の特有なプロダクトイオンを探索した。その後、ピーク強度が強い代表的なプロダクトイオンに関して、コリジョンエネルギーの設定値を 5 V 刻みで-100 V から-10 V に変化させた際のピーク強度パターンを確認した。

【結果・考察】i-C5 と p-C5 のプレカーサーイオン（m/z 246.15）に対して、プロダクトイオンスキャン分析を行った結果、強度の強い代表的なプロダクトイオンは m/z 187.05, 84.95, 57.00, 41.10, 29.15 の 5 つであった。いずれのプロダクトイオンも i-C5 および p-C5 両成分から検出されており、それぞれの成分由来の特有なプロダクトイオンを確認できず、プロダクトイオンによる両成分の識別ができないことがわかった。次に、前述した代表的な 5 つのプロダクトイオンに対して、コリジョンエネルギーを-100 V から-10 V に変化させた際のピーク強度パターンを確認した。その結果、幾つかのプロダクトイオンにおいて i-C5 と p-C5 で最大ピーク強度となるコリジョンエネルギーに差が見られた。i-C5 と p-C5 におけるこれらの差を利用することで Flow-injection 法においても両者を識別できる可能性が示唆された。

P1-1

肝細胞中 CYP 分子種誘導能評価法

○竹内 敦子[1], 都出 千里[1]
[1]神戸薬大

Evaluation method of CYPs induction in hepatocytes

○Takeuchi Atsuko[1], Tode Chisato[1]
[1]Kobe Pharm. Univ.

【目的】シトクロム P450(CYP)は主として薬物代謝に関与する酵素である。その代謝活性は酵素タンパク質量と関係があるので、CYP タンパク質含量を定量することにより併用薬による CYP 誘導を評価できる。一般的に、薬物による CYP への影響は western blotting(WB 法)による CYP タンパク質定量、または RT-PCR による CYP mRNA 定量が主流である。しかしながら、これらの方法は様々なデメリットがある。我々は LC-MS/MS を用いることにより、CYP タンパク質定量に用いる WB 法のデメリットを補完した定量法を確立し、薬物による肝細胞中主要 CYP 分子種誘導能評価法について検討した。

【方法】肝細胞を用いて①定量と②薬物の誘導能評価を以下のように行った。
① 定量 : 肝細胞の CYP をトリプシンで処理をして、ペプチドに消化した。LC-MS/MS を用いて Selected Reaction Monitoring(SRM)、ポジティブモードで CYP1A2、2C9、2C19、2D6、3A4 の各分子種に特異的な配列のペプチドを測定し、一斉定量を行った。
② 薬物の誘導能評価 : 肝細胞を 10μM リファンピシン暴露群、50μM オメプラゾール暴露群、1mM フェノバルビタール暴露群（いずれも 3 日間暴露）及びそれぞれのコントロール群を作成した後に、①の方法で定量を行った。

【結果・考察】① 定量 : 最適条件での LC-MS/MS 分析により、CYP1A2、2C9、2C19、2D6、3A4 はクロマト上、いずれも単一ピークとして認められ、定量可能であった。また、各々の検量線はいずれも良好な直線性を示した。
② 薬物の誘導能評価 : 薬物暴露群の肝細胞中 CYP 量をそれぞれのコントロール群と比較した。その結果、リファンピシンとフェノバルビタール暴露群の CYP3A4 とオメプラゾール暴露群の CYP1A2 において増加がみられ、2D6 の増加はいずれの暴露群でもみられなかった。
以上の結果から、LC-MS/MS による各 CYP 分子種タンパク質含量の一斉定量法によって薬物による各 CYP 分子種の誘導能評価が可能であることが明らかとなった。

P1-2

GC/MS 分析による成人尿中メチルマロン酸定量

○金 明姫[1], 張 春花[1]

[1] ミルスインターナショナル

Quantitative of methylmalonic acid in adult urine by GC/MS analysis

○Jin MingJi[1], Zhang Chunhua[1]

[1]MILS International

【目的】メチルマロン酸（MMA）の濃度増加は、メチルマロニル CoA ムターゼの欠損またはビタミン B12 （VitB12）欠乏症の可能性がある。VitB12 欠乏症患者の 90-98%は、MMA の濃度が増加し、進行すると貧血症状、肝脾腫、うつ病、認知症症状まで現れると報告されている。子供には発達障害、運動障害などがある。治療が遅れると、生涯的な障害になりえる。VitB12 欠乏の有無は血中 MMA、メチオニンとホモシスチンの濃度評価が有用である。われわれは、メタボロームの観点から尿の GCMS 分析より病態解析と伴い、尿中 MMA の濃度を用いて VitB12 欠乏の有無と他の MMA 上昇疾患を判別した。 【対象及び方法】昨年当施設に依頼してきた検診者のうち、確認できた健常者 34 名（男：15 名、女：19 名；20～50 代）を対象に、尿中 MMA を定量し、その基準値を検討した。MMA 定量には安定同位体 MMA（Methyl-d3）を、クレアチニン(Cr)の定量には安定同位体 Creatinine-d3 を内標とし、検出された MMA と Cr の定量イオンピーク面積と対応内標イオン面積の比で検量線を作成し、MMA の濃度(mmol/mol Cr)を求めた。当様な定量法を用いて、既に確定診断したホモシスチン血症を伴う MMA 血症 1 例、CMAMMA（Combined malonic and methylmalonic aciduria）1 例の VitB12 投与前後の尿中 MMA 濃度を計算比較した。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。 【結果】健常者の MMA 定量値は男性（n＝15）平均値±1SD は 3.1±1.04 mmol/mol Cr、女性（n＝19）は平均値±1SD は 3.1±2.02 mmol/mol Cr に対して、ホモシスチン血症を伴う MMA 血症例と CMAMMA 例の治療前後の尿中 MMA 濃度は、それぞれ基準値の 160 倍、1000 倍、30 倍で，いずれも著明な増加を認めた。 【考察】今回検討した成人尿中 MMA 濃度は、性別間有意差がなく、いずれも平均値 3.1 mmol/mol Cr であった。今回得た結果を基準に成人健康診断への拡大や、VitB12 欠乏並びに MMA 上昇疾患の鑑別診断、治療効果のモニターにも応用できると信じる。

P1-3

ホタテのトロポミオシンアレルゲンに関するアレルギー患者血清 IgE 結合エピトープ解析

○飯田 ひかり [1], 下条 直樹 [2], 曽川 一幸 [1]

[1] 麻布大学 生命・環境科学部

[2] 千葉大学医学部附属病院

Search for novel allergen of Mizuhopecten yessoensis (Scallop) allergy using IgE-immunoblotting assay

○Iida Hikari[1], Shimojo Naoki[2,] Sogawa Kazuyuki[1]

[1]Azabu University

[2]Chiba University Hospital

【目的】貝類のアレルギーは食物アレルギーの主要な原因のひとつであり、人口の 0.5～2.5%を占める。その症状は軽度のものからアナフィラキシーショックといった重篤なものまで様々である。また、貝類のアレルギーは小児より成人に多く、成長とともに消失することが少なく、イカやカニなどとの交差反応がみられることもある。従って、貝類のアレルギーに関して新たな知見を得ることにより、今後の食物アレルギーの治療に役立てることは重要である。我々は、貝類のなかでもホタテアレルギーに着目し、アレルゲンのひとつであるトロポミオシンについて血清 IgE 結合エピトープについてウエスタンブロットにより解析を行った。

【方法】千葉大学医学部附属病院小児科に受診したホタテアレルギー患者でトロポミオシン陽性患者 7 名、陰性患者 3 名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。UniProtKB のデータベースを基に tropomyosin (Japanese scallop; O02389)のアミノ酸配列を 15～27 アミノ酸で合計 25 種類の合成ペプチドを作製した。100ng の各合成ペプチドを PVDF 膜上に滴下する。一次抗体はホタテアレルギー患者血清、二次抗体は Mouse anti-human IgE 抗体、三次抗体は Polyclonal rabbit anti-mouse immunoglobulins/ HRP を用いた。Light-Capture Ⅱ(ATTO 社)でスポットの検出を行った。

【結果】トロポミオシン陽性患者 7 名の血清検体で 15 種類の合成ペプチドと反応した。エピトープ部位は 6 個所検出し、VDRENAQDLAE、LEEDFNDLQK、ESDVGALQRR、NRKVLEGR、LAITEVDLER、LAEKERYK のアミノ酸配列で反応が見られた。トロポミオシン陰性患者 3 名の血清検体では合成ペプチドと反応しなかった。

【結語】トロポミオシンのエピトープ部位を 6 個所検出した。今後、牡蠣、ハマグリ等の他の貝類と共通のエピトープが存在するかどうか確認する予定である。

P1-4

当院にて DDH 同定不能であった抗酸菌 65 株の MALDI-TOF MS による同定結果

○大木 仁[1], 猪坂 英里奈[1], 安藤 ほなみ[1], 本橋　亜耶乃[1], 黒川　正美[1], 守屋　任[1], 目崎 和久[1], 田中 暁人[1], 庄司 路[1], 小関　満[1]

[1]国立研究開発法人 国立国際医療研究センター病院

Identification results of Acid-fast bacilli by introducing MALDI-TOF MS at our hospital

○Oki Hitoshi[1], Isaka Erina[1], Ando Honami[1], Motohashi Ayano[1], Kurokawa Masami[1], Moriya Ataru[1], Mezaki Kazuhisa[1], Tanaka Akihito[1], Shouji Michi[1], Ozeki Mitsuru[1]

[1]National Center for Global Health and Medicine Hospital

【目的】MALDI バイオタイパー（Bruker Daltonics）は MALDI-TOF MS を原理とした測定機器で、抗酸菌 150 種以上が同定可能であることから、当院では抗酸菌同定検査の 1 つとして採用している。本装置における抗酸菌の同定精度は、検出頻度の高い非結核性抗酸菌（NTM）ついては複数の報告により一定の評価に定まってきた。一方、稀な NTM についてはまとまった報告が少なく評価は不明確である。そこで今回、稀な NTM の同定精度を評価するために、当院にて DDH 同定不能であった NTM を MALDI-TOF MS による同定を行ったので報告する。

【方法】対象は当院で分離した 2017 年 1 月から 2019 年 12 月までの MGIT 培養陽性 5904 株のうち、DDH マイコバクテリア極東（極東製薬工業）にて同定不能であった 65 株とし、MALDI バイオタイパーを用いて菌名の同定を行った。前処理や結果判定法は抗酸菌検査ガイド 2020 に準じて行った。

【結果】DDH 同定不能菌 65 株のうち、Score Value（SV）が 1.8 以上で種まで同定できたものは 42 株（M. lentiflavum 13 株、M. mageritense 7 株、M. paragordonae 4 株、M. septicum 3 株、M. mucogenicum phocaicum group 3 株、M. gordonae 2 株、M. kumamotonense 2 株、M. cosmeticum 2 株、M. abscessus 1 株、M. asiaticum 1 株、M. gastri 1 株、M. immunogenum 1 株、M. kansasii 1 株、M. kubicae 1 株）で、23 株は SV が低く種の同定はできなかった。

【考察】今回、DDH 同定不能と臨床報告していた 65 株のうち 42 株（64.6%）は質量分析にて SV1.8 以上の良好な同定結果が得られた。また、質量分析での結果は DDH にて同定可能な種も含まれていた。M. gordonae に関していえば 9 株が同定菌名として検出されたが、SV は全体的に低かった。このことは遺伝子配列の多型による影響も考えられた。今後、本検討株の遺伝子解析を行い、同定精度の評価やデータベースの構築を行いたいと考える。

P1-5

チーズアレルギーにおける新規アレルゲンタンパク質の解析

○笛吹 凪沙[1], 佐藤 守[2], 野村 文夫[2], 下条 直樹[2], 曽川 一幸[1]

[1]麻布大学　生命・環境科学部

[2]千葉大学医学部附属病院

Search for novel allergen of cheese allergy using IgE-immunoblotting assay

○USUI NAGISA[1], Satoh Mamoru[2], Nomura Fumio[2], Shimojo Naoki[2], Sogawa Kazuyuki[1]

[1]School of Life and Environmental Science, Azabu University

[2]Chiba University Hospital

【目的】牛乳は栄養価が高く健康維持に欠かせない食品であるが、卵に次いで 2 番目に多いアレルギー原因食品として知られている。主要アレルゲンはカゼインとβ-ラクトグロブリンであり、症状は皮膚症状,消化器症状など多岐にわたり命に関わる場合もある。食物アレルギーに有効な治療法は無く、アレルゲンの摂取をせずに発症を回避する除去食療法が最良の策とされている。チーズなどの乳製品のアレルゲンの検討は殆どされていないのが現状である。今回われわれは、牛乳やヨーグルト及びバターの乳製品に対しアレルギー症状を呈しないが、少量のチーズに対してアレルギー症状を呈する 1 例について、原因アレルゲンの探索を目的に行った。

【方法】千葉大学医学部附属病院小児科に受診したチーズアレルギー患者 1 名、牛乳アレルギー患者 1 名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。チーズはハードタイプのパルミジャーノレッジャーノとサレール、セミハードタイプのゴーダとサンネクテール、青カビタイプのスティルトン、ゴルゴン、ゴルーデコース、白カビタイプのブリーとカマンベール、ウォッシュタイプのランゴドール、マンステール、エポワスの 5 タイプ 12 種類用いた。PVDF 膜上にチーズタンパク抽出液、β-ラクトグロブリン、Polymeric immunoglobulin receptor（PIGR）を転写する。一次抗体はチーズ及び牛乳アレルギー患者血清、二次抗体は Mouse anti-human IgE 抗体、三次抗体は Polyclonal rabbit anti-mouse immunoglobulins/ HRP を用いた。Light-Capture Ⅱ(ATTO 社)でバンドの検出を行った。

【結果】チーズアレルギー患者血清は、ハードタイプのパルミジャーノレッジャーノと白カビタイプのカマンベールにバンドを検出した。パルミジャーノレッジャーノは PIGR、カマンベールは、β-ラクトグロブリンが同定された。チーズアレルギー患者血清では PIGR が検出されたが、牛乳アレルギーでは検出されなかった。

【まとめ】チーズアレルギーの新規アレルゲンとして PIGR を同定した。今後 PIGR のチーズアレルギー患者血清 IgE 結合エピトープ解析を行う予定である。

P1-6

香辛料アレルギーにおける新規アレルゲンタンパク質の解析

○保坂 貴一[1], 佐藤 守[2], 野村 文夫[2], 下条 直樹[2], 曽川 一幸[1]

[1] 麻布大学　生命・環境科学部

[2] 千葉大学医学部附属病院

Search for novel allergen of Spices allergy using IgE-immunoblotting assay

○Hosaka Kiichi[1], Satoh Mamoru[2], Nomura Fumio[2], Shimojo Naoki[2], Sogawa Kazuyuki[1]

[1]School of Life and Environmental Science, Azabu University

[2]Chiba University Hospital

【目的】花粉食物アレルギー症候群（PFAS）は花粉症に合併する疾患で、花粉抗原と野菜や果物などに含まれる抗原の交差反応性により、交差抗原を有する食物を摂取することで発症する。症状は口腔、咽頭、口唇粘膜の刺激感、粘膜腫脹などの口腔内症状に限局されることが多いが、時に消化器症状やアナフィラキシーなどの高度から重度の全身症状が誘発されることがある。日本では、スギ花粉がアレルギー性鼻炎の最も一般的な原因であるが、シラカバ花粉は PFAS の最も一般的な原因である。シラカバ花粉は、バラ科の果物（りんごなど)、アブラナ科の野菜（セロリ、ニンジンなど)、大豆など、キク科花粉は、セリ科の野菜（セリ、パセリなど)、香辛料（マスタード、コリアンダー、クミンなど）などで交差反応性が認められている。食生活の変化とフュージョンフードの人気の高まりにより、日本ではスパイスの使用が増加している。 今回我々は、香辛料アレルギーのアレルゲンでハンノキ花粉及びシラカバ花粉との交差反応性について解析した。

【対象・方法】千葉大学医学部附属病院小児科に受診した香辛料アレルギー患者 1 名、シラカバ花粉症患者 2 名、ハンノキ花粉症患者 2 名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。クミン、コリアンダー、シラカバ花粉、ハンノキ花粉のタンパク抽出液を PVDF 膜上に転写した。一次抗体は香辛料アレルギー患者血清、二次抗体は Mouse anti-human IgE 抗体、三次抗体は Polyclonal rabbit anti-mouse immunoglobulins/ HRP を用いた。Light-Capture Ⅱ(ATTO 社)でバンドの検出を行った。

【結果】ウエスタンブロット法により、香辛料アレルギー患者血清はクミン、コリアンダーと反応し、バンドが 2 本検出された。2 本のバンドは ribulose bisphosphate carboxylase large chain（RBCL）（score:105, 122）と同定された。香辛料アレルギー患者血清はシラカバ花粉、ハンノキ花粉の RBCL とも反応した。

【結語】香辛料アレルギー患者血清は、クミン、コリアンダーの RBCL だけではなく、シラカバ花粉、ハンノキ花粉の RBCL との交差反応性が示唆された。

P1-7

ラットの Clostridium difficile 感染モデルにおける腸内細菌叢に関する検討

○矢野 彩音[1], 伊藤 智[2], 安達 明[2], 塚本 篤士[1], 石﨑 直人[1], 古畑 勝則[1], 曽川 一幸[1]

[1] 麻布大学　生命・環境科学部

[2] 麻布大学　獣医学部

Characteristics of fecal microbiota on Clostridium difficile infection in rats

○YANO AYANE[1], Ito Satoshi[2], Adachi Mei[2], Tsukamoto Atsushi[1], Ishizaki Naoto[1], Furuhata Katsunori[1], Sogawa Kazuyuki[1]

[1]School of Life and Environmental Science, Azabu University

[2]School of Veterinary Medicine, Azabu University

【目的】4 週齢の SD 系雄性ラットを Lieber-Decarli 手法により、アルコール含有液体飼料あるいはその等カロリーを炭水化物で置換したコントロール液体飼料で 8 週間の pair-feeding を行い、腸内細菌叢解析及び門脈血の血液培養を行った。腸内細菌叢解析において、小腸・大腸では Clostridium sp.、Morganella sp.、Proteus sp.でコントロール群よりもアルコール群で増加がみられ、門脈血の血液培養において、8 週間飲酒させたラット全てに Clostridium diffcile が分離された。

我々は胃内に摂取した C. difficile が腸管内で定着し、門脈血で同定されるかについて、ラットモデルを作製し検証することを目的とした。

【方法】８週齢の SD 系雄性ラット(Charles River)24 匹を Lieber-Decarli 法により、固形飼料で 24 日間の Pair-feeding を行った。胃内に 1.0×107CFU/mL C. difficile を 10mL 直接投与した群（感染群：20 匹）と投与していない群（コントロール群：4 匹）の 2 群を作製した。C. difficile 投与は飼育し始めて 7 日後に行い、投与後 3 日ごとに解剖した。各群のラットは門脈より門脈血採血を行い、腹腔大動脈から全採血を行なった。その後、便が含まれている小腸・大腸を各々５cm程度摘出後、肝臓の尾状葉を摘出した。門脈血は血液培養ボトルで増菌後、同定検査を行った。小腸・大腸はホモジネイト後、DNA を抽出し、V3V4 領域のプライマーを使用し PCR を行った。その後、菌属を推定した。肝臓の尾状葉は中性緩衝ホルマリン液で固定した。また血液は遠心分離後、血清を用いて、AST、ALT、ALP、T-CHO、TG、エンドトキシンを測定した。

【結果】肝臓組織の HE 染色による病理組織像では、投与後 15 日の感染群において少数であるが脂肪滴沈着を認めた。C. difficile 感染群の小腸における腸内細菌叢の C. difficile 存在比率は、投与後 3 日、6 日、9 日、12 日、15 日で、それぞれ 0.0±0.0%、0.6±0.1%、3.2±0.1%、8.4±0.1%、18.6±1.0%、であった。

門脈血の血液培養では感染群で投与後 12 日、15 日で C. diffcile が分離された。

【結語】C. difficile 感染ラットモデルにおいて、小腸で定着・増殖することで門脈血に存在し、肝臓の防御・保護作用として脂肪沈着を引き起こす可能性が示唆された。

P1-8

牡蠣のトロポミオシンアレルゲンに関するアレルギー患者血清 IgE 結合エピトープ解析

○根本 結香[1], 下条 直樹[2], 曽川 一幸[1]

[1] 麻布大学　生命・環境科学部

[2] 千葉大学医学部附属病院

Search for novel allergen of oyster allergy using IgE-immunoblotting assay

○Nemoto Yuka[1], Shimojo Naoki[2], Sogawa Kazuyuki[1]

[1]School of Life and Environmental Science, Azabu University

[2]Chiba University Hospital

【目的】

近年、食物アレルギーは、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患とともにこの 40 年で約 10 倍増加している。食物アレルギーは原因食物を摂取した後に免疫学的機序を介して生体にとって不利益な症状（皮膚・粘膜・消化器・アナフィラキシー反応など）が惹起される現象と定義づけられ、発症には IgE が関与することが多い。魚介アレルギーを持つ人は約 5%で、エビやカニのアレルギーがよく見られる。成人に多い貝アレルギーの中から、牡蠣に注目した。我々は、牡蠣アレルギーにおいて、アレルゲンのひとつであるトロポミオシンについて血清 IgE 結合エピトープについてウエスタンブロットにより解析を行った。

【対象・方法】

千葉大学医学部附属病院小児科に受診した牡蠣アレルギー患者でトロポミオシン陽性患者 11 名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。UniProtKB のデータベースを基に tropomyosin (Pacific oyster; Q95WY0)のアミノ酸配列を 15～27 アミノ酸で合計 25 種類の合成ペプチドを作製した。100ng の各合成ペプチドを PVDF 膜上に滴下する。一次抗体は牡蠣アレルギー患者血清、二次抗体は Mouse anti-human IgE 抗体、三次抗体は Polyclonal rabbit anti-mouse immunoglobulins/ HRP を用いた。Light-Capture Ⅱ(ATTO 社)でスポットの検出を行った。

【結果】

トロポミオシン陽性患者 11 名の血清検体で 9 種類の合成ペプチドと反応した。エピトープ部位は 6 個所検出し、LATTT EK、LTVV GANIK、TLQVQ NDQASQR、EDS YEETIR、DLSK NLK、AT EAERQLTK のアミノ酸配列で反応が見られた。

【結語】

Tropomyosin のエピトープ部位を 6 個所検出した。今後、ハマグリ、ホタテ等の他の貝類と共通のエピトープが存在するかどうか確認する予定である。

O2-1

急性心不全患者における臨床転帰とトリメチルアミン N-オキシドとの関連の民族的差異

○相澤 健一[1], Yazaki Yoshiyuki[2], Israr Muhammad[2], 根岸 経太[1], Salzano Andrea[3], 齋藤 亨佳[1], 木村 夏花[1], 河野 健[1], Heaney Liam[2], Cassambai Shabana[2], Bernieh Dennis[2], Lai Florence[2], 今井 靖[1], 苅尾 七臣[1], 永井 良三[1], Ng Leong[2], Suzuki Toru[1]

[1] 自治医大, [2] レスター大学,[3] ナポリ診断核医学研究所

Ethnic differences in association of outcomes with trimethylamine N-oxide in acute heart failure patients

○Aizawa Kenichi[1], Yazaki Yoshiyuki[2], Israr Muhammad Zubair[2], Negishi Keita[1], Salzano Andrea[3], Saitoh Yuka[1], Kimura Natsuka[1], Kono Ken[1], Heaney Liam[2], Cassambai Shabana[2], Bernieh Dennis[2], Lai Florence[2], Imai Yasushi[1], Kario Kazuomi [1], Nagai Ryozo [1], Ng Leong L[2], Suzuki Toru[1]

[1]Jichi Medical University, [2]University of Leicester, [3]Diagnostic and Nuclear Research Institute, Napoli

【目的】近年、腸内細菌叢由来の酸化代謝物トリメチルアミン N-オキシド（TMAO）が心疾患と関連することが欧米から相次いで報告され、注目されている。しかし、他の民族、特に日本人における意義は明らかではなかった。本研究は民族性が TMAO レベルと心不全（HF）の結果との関連に影響を与えるかどうかを明らかにすることを目的とする。

【方法】TMAO レベルは 2 つのサイトで、急性 HF 患者について 2 つのコホートで測定した。英国レスター大学のコホートは主に白人（n＝842、77％）と南アジア人（n＝129、12％）の患者で構成されてたが、日本人のコホート（n＝116、11％）の患者はすべて日本人だった。主要評価項目は、入院後 1 年以内の全死因死亡および/または HF 再入院の測定とした。TMAO レベルと臨床転帰との関連性は、臨床パラメーターの調整後、全集団および民族間で比較された。

【結果】TMAO レベルは、日本人患者（中央値[四分位範囲]：9.9 μM [5.2-22.8]）の方が白人（5.9 μM [3.6-10.8]）および南アジア人（4.5 μM [3.1-8.4]）患者よりも有意に高かった（p <0.001）。死亡率および/または HF 再入院率の民族グループ間の違いはなかった（p＝0.096）。全体として、より高い TMAO レベルは、交絡因子の調整後の死亡および/または再入院との関連を示した（p＝0.002）。民族性と調整後の死亡率/ HF との関連性に違いはなかった（p＝0.311）が、死亡率/ HF イベントで層別化できる TMAO レベルは白人患者に限定的だった（p <0.001）。

【考察】末梢血中 TMAO レベルに基づく死亡率および/または再入院の関連に違いが観察された。白人患者の TMAO レベルの上昇は、有害転帰との関連性の増加を示した。一方、非白人患者ではその関連を認めなかったため、TMAO レベルの解釈には民族性を念頭に置くことが重要であると考えられる。

O2-2

GC/MS 分析による尿中グルタル酸高排泄の臨床意義の検討

○阮 宗海[1], 張 春花[1], 王 旭陽[1], 金　明姫[1], 唐 剣慈[1], 万　婷婷[1], 趙 寧[1], 謝 宏傑[1], 王 恬[1]

[1]ミルスインターナショナル

A Study of the Clinical Significance of Increased glutaric acid in Urine by GC/MS Analysis

○Ruan Zonghai[1], Zhang Chunhua[1], Wang Xuyang[1], Jin Mingji[1], Tang Jianci[1], Wan Tingting[1], Zhao Ning[1], Xie Hongjie[1], Wang Tian[1]

[1]MILS International

【目的】尿中にグルタル酸の上昇は、グルタル酸血症Ⅰ型とⅡ型の診断の重要な指標とされている。しかし、それ以外、さまざまな有機酸代謝異常症にもグルタル酸上昇を伴うと単独グルタル酸上昇する症例もあった。今回　スクリーニングの患者を利用し、グルタル酸上昇の症例を集計し、分類しました。それらの病態特徴を比較し、意義を検討した。

【方法】患者約 3 万人、その尿をウレアーゼで前処理した後、GC/MS 分析を行った。データ解析は当施設のプログラムで病態解析した。

【結果】化学診断されたグルタル酸血症Ⅰ型 7 例は尿中グルタル酸の変動範囲が健常者の 116～26045 倍で、Ⅱ型 4 例が 15.1～4982.6 倍です。有機酸代謝異常症の 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸尿症 2 例 、3-メチルグルタコン酸尿症 1 例 、メチルマロン酸血症 6 例、 2-ケトアジピン酸尿症 6 例 、アセトアセチル-CoA チオラーゼ欠損症 1 例、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル CoA 合成酵素欠損症 1 例がそれぞれ 10.2～793.7 倍を示した。また、血中アミノ酸とアシルカルニチン分析結果では特に異常なしの単独グルタル酸上昇 6 例(一例がグルタル酸血症Ⅲ型)が 11.4～621.5 倍でした。

【考察】グルタル酸血症Ⅰ型とⅡ型だけではなく、各種有機酸代謝異常症と単独グルタル酸上昇の症例もグルタル酸の変動範囲は非常に大きい。 2－ケトアジピン酸尿症を除く、各種有機酸代謝異常症のグルタル酸の上昇が一時的で、発作時の特徴だと考える。

グルタル酸血症Ⅰ型とⅡ型のグルタル酸上昇のメカニズムは、グルタリル CoA デヒドロゲナーゼ欠損によるという説とグルタル酸血症Ⅲ型がグルタリル CoA オキシダーゼ酵素欠損によるという説があったが、しかし各種有機酸代謝異常症のグルタル酸上昇に対して解釈できず。また　グルタル酸代謝を二次的に阻害によると腸内細菌により生産されると代謝性アシドーシスによるという説もあったが、我々の結果から必ずしも支持できない。ビタミン B2 が産生するフラビン酵素は 40 種類以上ある。同時にグルタリル CoA デヒドロゲナーゼの補酵素でもあるため、何らかの原因でフラビン酵素の欠損やビタミン B2 欠乏に由来したグルタル酸上昇の一因だと推測できないか。これから更なる検討が必要だと考える。

O2-3

四塩化炭素傷害ラット肝内で検出された D-ドーパクロムトートメラーゼ上の修飾

○日吉 峰麗[1], 長子 晴美[1], 三浦 美樹子[1], 原 伸正[1], 土屋 美加子[1]

[1] 島根大・医

Modification on D-dopachrome tautomerase detected in rat liver damaged by carbon tetrachloride

○Hiyoshi Mineyoshi[1], Osago Harumi[1], Miura-Kobayashi Mikiko[1], Hara Nobumasa[1], Tsuchiya Mikako[1]

[1]Shimane University, Faculty of Medicine

【目的】

演者らはこれまで、四塩化炭素により誘導したラット傷害肝および正常肝それぞれから抽出したタンパク質のプロテオーム解析を実施してきた。その途上で、近年サイトカインとしての活性に注目が集まっている D-ドーパクロムトートメラーゼ (DDT) 上に、333 Da 分の修飾が検出された。本演題ではこの修飾物質の詳細を明らかにすることを目的とする。

【方法】

四塩化炭素は生体内で、トリクロロメチルラジカル、クロロホルム、トリクロロメタノール、ホスゲン (COCl2) へと代謝され、2 分子の還元型グルタチオン (GSH) がホスゲンに結合することでジグルタチオニルジチオカルボネート (GS-CO-SG) が形成される。

演者らは、1 分子の還元型グルタチオン (GSH) がホスゲンに結合することで形成されるグルタチオニルカルボニルクロライド (Cl-CO-SG) の -CO-SG 部分がタンパク質に修飾した場合、333 Da 分の増加が見込まれることから、-CO-SG が DDT へと修飾する候補物質であると推定した。

本演題では、四塩化炭素を投与したラット肝臓から精製した DDT を用いて、電気泳動によって修飾型と未修飾型を分離した後で GSH に対するイムノブロッティングを行い、修飾型にのみ GSH に対する反応があるか明らかにする。また、トリプシン消化後ペプチドのタンデムマス分析を行い、333 Da 分の修飾が-CO-SG である可能性を評価する。

【結果】

修飾型および未修飾型 DDT の内、GSH に対するイムノブロッティングで反応した DDT は修飾型のみであった。また、タンデムマス分析の結果からは、修飾分子の構成成分と推定している GSH からグルタミン酸が切断されたサイズに相当するピークが検出された。

【考察】

四塩化炭素肝傷害後に生じた DDT に対する修飾物質は-CO-SG である可能性が示された。今後、この修飾が DDT 以外のタンパク質からも検出されるか明らかにし、修飾を受けたタンパク質の機能面への影響を明らかにしていくことが課題である。

O2-4　Does the PCs/LPC ratio in the urine become a novel diagnostic index for prostate cancer?

○中山 憲司[1], 李 新[1], 後藤 崇之[1], 木村 博子[1], 赤松 秀輔[1], 林 裕次郎[2], 藤田 和利[3], 小林 恭[1], 清水 公治[4], 野々村 祝夫[2], 小川 修[1], 井上 貴博[5]

[1] 京都大学大学院医学研究科 泌尿器科教室,[2] 大阪大学大学院医学研究科 泌尿器科教室,[3] 近畿大学医学部 泌尿器科教室,[4] 京都大学医学部附属病院 先端医療機器開発・臨床研究センター,[5] 三重大学大学院医学系研究科 腎泌尿器外科

Does the PCs/LPC ratio in the urine become a novel diagnostic index for prostate cancer?

○Nakayama Kenji[1], Li Xin[1], Goto Takayuki[1], Kimura Hiroko[1], Akamatsu Shusuke[1], Hayashi Yujiro[2], Fujita Kazutoshi[3], Kobayashi Takashi[1], Shimizu Koji[4], Nonomura Norio[2], Ogawa Osamu[1], Inoue Takahiro[4]

[1]Department of Urology, Graduate School of Medicine, Kyoto University,[2]Department of Urology, Osaka University Graduate School of Medicine,[3]Department of Urology, Kindai University Faculty of Medicine,[4]Clinical Research Center for Medical Equipment Development, Kyoto University Hospital,[5]Department of Nephro-Urologic Surgery and Andrology, Mie University Graduate School of Medicine

【Objective】The altered phospholipids (PLs) in prostate tissues have been reported as potential biomarkers for prostate cancer (PCa) diagnosis or prediction of biochemical recurrence after surgical treatment in our previous studies. Urinary lipidomics has great potential in clinical diagnostics and prognostics, especially for PCa. In this study, a comparative PLs screening was performed in the urine samples using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF/MS).【Method】A total of 126 urine samples collected from 77 PCa and 49 benign prostatic hyperplasia (BPH) patients at Kyoto University Hospital were analyzed as the discovery set. Another large cohort at Osaka University was analyzed as the validation set. The lipids were extracted by the acidified Bligh-Dyer method from the digital rectal examination (DRE) urine samples according to our previous reports. The urinary lipidomic screening was performed by MALDI-TOF/MS (AXIMA Performance, Shimadzu Kratos Analytical, Manchester, UK). Lipids were identified by MALDI-TOF/MS2 analyses. The compositions of lysophosphatidylcholine (LPC) and phosphatidylcholines (PCs) were compared between the PCa and BPH groups.【Results and Discussion】In this study, we focused on urinary LPC(16:0), PC(34:2), and PC(34:1) since they were detected as major peaks in our lipidomic screening. The urinary {[PC(34:2)]+[PC(34:1)]}/[LPC(16:0)] ratio was statistically significantly different ($p<0.001$) between PCa and BPH cases in the discovery set, which showed a better performance than the serum prostate-specific antigen (PSA) level. This significant difference ($p<0.001$) was also confirmed in the validation set. Therefore, those results indicate that the PCs/LPC ratio becomes a novel diagnostic index for PCa.

O2-5

尿中遊離糖鎖の腫瘍マーカー候補の探索

半澤 健[1], 岡本 三紀[1], 村上 博子[1], ○宮本 泰豪[1]
[1]大阪国際がんセンター　分子生物学

Investigation of tumor marker candidates in urine free-glycans

Hanzawa Ken[1], Okamoto Miki[1], Murakami Hiroko[1], ○Miyamoto Yasuhide[1]
[1]Dept. Mol. Biol. Osaka International Cancer Institute

【目的】がん患者において特異的に増加する糖タンパク質・糖脂質の糖鎖は腫瘍マーカーとして利用されている (例: CA19-9, SLX, STN など)。一方、タンパク質・脂質に結合せずに存在する遊離糖鎖に関しては、一部のがん組織において異常に蓄積することが知られているが、あまり研究が進められていない。がん患者で特異的に増加する遊離糖鎖を検出することができれば、腫瘍マーカーとして利用できる可能性がある。遊離糖鎖は血中から速やかに尿中に排出されるため、健常人、がん患者から尿検体を収集し、遊離糖鎖の解析を検討した。
【方法】健常者、膵がん、胃がん、肺がん患者を対象とした。尿検体から遊離糖鎖を陽イオン交換樹脂・グラファイトカーボンを用いて抽出し、ピリジルアミノ化により蛍光標識したものを解析に用いた。尿中のクレアチニン濃度を基準とすることで濃度の異なる検体間であっても比較が可能であった。

今回は酸性糖鎖に焦点を当てた。まず糖鎖を多段階の HPLC により分画し、HPLC 溶出位置、MS および MSn に基づいた構造解析を行った。また、健常者とがん患者の HPLC 蛍光クロマトグラムの比較によりマーカー候補となり得る糖鎖を探索した。蛍光検出は簡便であるが感度が低いことに加え一部のピークが分離できずに重なってしまうため定量性が低いという問題があったため、より感度の高い検体間の比較を Selected Reaction Monitoring (SRM)により行った。
【結果】一部の膵がん・胃がん患者において、特異的な増加傾向を示す糖鎖が見つかった。一方で、肺がん患者では目立った変化が認められなかった。

増加傾向が見られた主な遊離糖鎖は、Man α 1-3/6Man β 1-4GlcNAc コアを含む N-結合型糖鎖断片、ラクトース (Gal β 1-4Glc)および N-アセチルラクトサミン (Gal β 1- 4GlcNAc)をコアとして伸長された糖鎖のグループに分けられた。硫酸付加、フコース付加などが、がんの特異性に寄与した。
【考察】今後、糖鎖の分枝、伸長および修飾構造に着目して、さらに解析を進めていくことで、より特異性の高い糖鎖腫瘍マーカー候補が見つかると考えられる。

O2-6

Kidney injury molecule-1 の早期腎症診断マーカーとしての有用性

○五十嵐 久留未[1], 前田 浩人[2], 曽川 一幸[1]

[1] 麻布大学　生命・環境科学部

[2] 前田獣医科医院

Identification of a novel urine biomarker for early diagnostic markers of chronic kidney disease by quantitative proteomic analysis using tandem mass tags

○Igarashi Kurumi[1], Maeda Hiroto[2], Sogawa Kazuyuki[1]

[1]School of Life and Environmental Science, Azabu University

[2]Maeda Veterinary Hospital

【目的】近年イヌの飼育頭数の減少に伴い、ネコの飼育頭数がイヌを上回りつつある。臨床現場においては、尿素窒素、血漿クレアチニン、尿中タンパク、尿比重、SDMA 等をマーカーとして国際腎臓病研究グループ(IRIS)病期分類の基準に従い日々の診療に応用しているが、これらのマーカーの中には腎機能に対する特異性の低いマーカーも含まれており、軽度の腎機能低下では異常値を示さない blind area の存在が問題視されている。

今回我々は、ヒトにおいて近位尿細管損傷のバイオマーカーとして応用されている Kidney Injury molecule-1（KIM-1）を尿中から検出測定し、腎機能不全早期診断マーカーとしての有用性について検討した。

【方法】検体は、臨床的に正常と診断された 2 歳令以下のネコ尿 25 検体、IRIS 分類 stage I ネコ尿 25 検体, IRIS 分類 stage Ⅱネコ尿 8 検体、合計 58 検体を用いた。尿検体はネコ腎症の尿 3 検体、正常ネコの尿 3 検体を任意に抽出し、Albumin & IgG Depletion SpinTrap（Agilent Technologies 社）で処理し、アルブミンと免疫グロブリン（IgG）を除去した。各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 SDS-PAGE を行い、CBB 染色後のゲルから分子量ごとに in-gel digestion を行った。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。腎症で発現量の変化がみられた新規マーカー候補タンパク質の検証は ELISA を構築して評価した。

【結果】KIM-1 は全ての検体において、腎症群の比率（腎症群 / 正常群）が 2.0 以上を示し、腎症の変動を反映するマーカーであった。尿 KIM-1 濃度は正常ネコで 33.8±10.6 pg/mL、慢性腎症ネコ尿（Stage I）で 59.9±9.5 pg/mL、慢性腎症ネコ尿（Stage II）で 89.1±19.3 pg/mL であり、慢性腎症ネコは正常ネコに比べ、$p<0.001$ と有意に高値を示した。

【結語】KIM-1 はネコ腎機能不全早期診断マーカーとしての可能性が示唆された。今後検体数を増やして検証していきたいと考えている。

O2-7　MALDI-TOFMS 法による尿中単クローン性免疫グロブリンκ/λ鎖の迅速検出法の確立

○麻野 秀一[1], 桝谷 亮太[1], 五十嵐 一雄[2], 韮沢 崇[3], 中西 豊文[1,4]
[1]大阪医科大学附属病院 中央検査部 [2]近畿大学医学部 法医学教室 [3]Bruker Daltonics KK カスタマーサポートセンター [4]大阪医科大学 研究支援センター

【目的】単クローン性免疫グロブリン（M-Ig）の同定には、セ・ア膜電気泳動でのα2～γ領域のシャープなピーク検出、各種特異抗血清を用いた免疫電気泳動による M-bow の検出、免疫固定法による M-Ig の検出等により実施されている。一方、タンパク質・核酸など高分子量化合物の MS 解析は、ソフトイオン化法の開発によって可能となり生命科学研究の必須ツールとなった。臨床検査への MS 応用に関しては、2008 年「MALDI- TOFMS による感染症起因菌同定」への保険適用を契機に、臨床検査項目の計測の試みが加速している。今回、簡便前処理法を組み合わせた MALDI-TOFMS 法による尿中 M-Ig 軽鎖（M-Ig L）迅速解析法を確立し、各種 M-Ig 異常症患者尿に応用した。【方法】多発性骨髄腫（MM）等の患者尿を用い、MALDI-TOFMS 法（Autoflex speed）、SDS-PAGE/WB/ECL 法にて尿中 M-IgL プロファイルを明らかにした。患者尿は、脱塩/濃縮を目的に UltracelTM-3K にて処理し、MS 解析に供した。また、尿蛋白陽性例は予め Affi-GelTM にてアルブミンを除去した後、処理した。MALDI-TOFMS 解析は、イオン化試薬にシナピン酸を用い、リニアモードにて実施した。一方、電気泳動はマルチゲル II ミニを用い、分離したタンパク質を PVDF 膜に転写後、1 次抗体にはヒト BJP 由来抗κ及びλ鎖モノクローナル抗体、2 次抗体は HRP 標識抗体を用い、ECLTM Prime WB 検出試薬にて抗κ/λ鎖抗体陽性バンドの検出し、その泳動位置より単量体、2 量体及び多量体を同定した。また、BJP 由来精製κ・λ鎖を用いて 11 段階組成比を作成し単量体（23.5kDa、22.5kDa）、2 量体（47.1kDa、45.1kDa）におけるλ/κ比を産出した。【結果】MM 患者由来精製 M-Igλ鎖 8 例を用いた MALDI-TOFMS 解析では、単量体由来の分子イオン[M+]が m/z 22460+/-155Da、2 量体イオン[2M+]が m/z 45039+/-337Da、3 量体イオン[3M+]が m/z 67889+/-801Da、4 量体イオン[4M+]が m/z 89144+/-3086Da にそれぞれ検出され、分子イオン強度より[2M+]/[M+]比を算出すると 1.16+/-0.56 であった。一方、MM 患者尿では、[M+]が m/z 23483 +/-980Da、[2M+]が m/z 46356+/-1400Da、[3M+]が m/z 68562+/-2356Da、[4M+]が m/z 92529+/-3484Da に検出された。また、市販 BJP 由来精製κ・λ鎖混合サンプルを用いた解析（λ鎖含量：0→100％）では、κ・λ鎖混合比と単量体（[22.5]/[23.5]）および 2 量体（[45.1]/[47.1]）における相対イオン強度比は正の相関を示した。MM 患者尿の[2M+]/[M+]比は、BJPκ型（IEF にて同定）では、0.054+/-0.007、λ型では、0.513+/-0.340 であった。また MALDI-マスパターンから、前者は単量体単独型が大多数を占め、後者は 2 量体優位型および両者共存型で、単量体単独型は皆無であった。MALDI-TOFMS 法による[2M+]/[M+]比は、SDS-PAGE/WB/ECL 法と一致しない例も若干認められたが、κ型とλ型の鑑別が可能であった。また、n>3 多量体[nM+]の検出も可能であった【考察】今後、追加実験の必要性を有するが、本 MALDI-TOFMS 法はスピンカラムにて脱塩・濃縮するだけの前処理操作で M-IgL（κ鎖・λ鎖）を検出し得る迅速簡便なスクリーニング法として有用である。

O2-8 腎アミロイドーシスのパラフィン包埋生検組織を対象とした 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による高深度プロテオーム解析

○武笠 結天 [1], 梶田 遼 [2], 韮澤 崇 [2], Jean-paul Duong van Huyen[3], Marion Rabant[3], Patrick Bruneval[4], 植田 初江 [5], 内木 宏延 [6], 角田 伸人 [1], 池川 雅哉 [1]

[1] 同志社大学大学院・生命医科学研究科,[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・バイオバンクセンター,[6] 福井大学・医学部医学科分子病理学

Molecular dissection of renal amyloidosis with MALDI - Imaging Mass Spectrometry and shotgun proteomics on paraffin embedded biopsy tissue section

○Mukasa Yume[1], Kajita Ryo[2], Nirasawa Takashi[2], Jean-paul Duong van Huyen[3], Marion Rabant[3], Patrick Bruneval[4], Ishibashi-Ueda Hatsue[5], Naiki Hironobu[6], Kakuda Nobuto[1], Ikegawa Masaya[1]

[1]Doshisha Univ., [2]Bruker Japan K. K., [3]Necker-Enfants malads HP, [4]HEGP, [5]NCVC, [6]Fukui Univ.

【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進行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。病型によって予後や治療法は異なるため、正確かつ迅速に病型を特定する必要があるが、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困難な場合がある。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）法とショットガンプロテオミクス法を統合したワークフローを用い、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、アミロイドーシスの診断と病態解明を試みた。【方法】腎生検組織は、アルデヒドで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。切片作製、抗原性賦活化用処理、トリプシン酵素消化、高湿度環境でのインキュベーションなど 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。自動蒸着装置を使用してトリプシン酵素消化やマトリクス塗布を行った。取得データを主成分分析、セグメンテーションで評価し、組織・病理学的情報と比較を行った。【結果・考察】IMS 法と LC-TIMS-MS/MS 法の両解析結果から 10 ^ 3 オーダーのプロテオーム・データの取得に成功し、アミロイド沈着部に特異的な分子をいくつか見い出した。腎生検組織の固定方法は各病院・施設によって若干の差があることが判明し、前処理の条件検討を行うことで、ペプチド・タンパク質のイオン化効率を向上させ、安定した方法を確立した。さらに空間分解能を 20 μm に絞ることで、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。これは、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、3 タイプのアミロイドーシス腎生検組織と非病理腎生検組織から高深度プロテオームデータベースの構築を行っている。

P2-1

質量分析による代謝疾病解析の国際精度管理参加 15 年間経験報告

○張 春花[1], 金 明姫[1], 阮 宗海[1], 王 旭陽[1]

[1] ミルスインターナショナル

The experience report of participation international EQA survey for metabolic disorder by mass spectrometry analysis past 15 years

○Zhang Chun-hua[1], Jin Mingji[1], Ruan Zonghai[1], Xuyang Wang[1]

[1]Department of research & development of MILS International

【目的】質量分析の臨床検査への応用は 1960 年代から有機酸血症の GCMS 分析が最も世界的に認められ、先天性代謝異常症の臨床診断に欠かさない特殊検査でありながら、2020 年ようやく日本で保険適応検査に収納された。われわれは、1997 年から GCMS を用いた尿の代謝プロファイル解析により先天代謝異常症の臨床検査サービスを提供しているなか、臨床検査の法定に従い本検査の精度管理を実施し、外部精度管理は過去 15 年間国際認証機構主導した尿有機酸血症のサーベイを参加した。その結果を纏めましたので報告する。

【方法】2006 年より欧州国際認証機構 ERNDIM (European Research Network for evaluation and improvement of screening, Diagnosis and treatment of Inherited disorders of Metabolism)が主導した尿有機酸定性スキームを参加、年に 3 回 9 検体をルーチン先天代謝異常症検査標準作業にて検査実施し、ERNDIM の結果提出要領に従い ①異常成分、②考えられる疾病名、③確定診断のためのアドバイス、④依頼医師に対する診断治療へのコメント提供および⑤定性解析後の TIC クロマトグラムを報告した。2019 年よりアメリカの CAP (College of American Pathologists)が主導した biochemical genetics survey の有機酸 Proficiency testing : PT 項目参加、年に 2 回 PT 2 検体に Educational challenge 検体をルーチン先天代謝異常症検査標準作業にて検査実施し、CAP の指定有機酸成分をチェクし、①異常成分番号を提出、②指定疾病番号を提示して報告した。主導機関がサーペイ参加者全員の結果を纏め、統計結果を参加者に返し、判定基準に応じ、合学者に参加証明を発送する。

【結果と考察】ERNDIM の項目参加 15 年、PT132 検体の参加した結果は、50 種 103 件の代謝異常症検体の判定を経験した。判定ミスが 3 件、正解率 98%でした。CAP の PT 参加 2 年、PT 検体５件、４種の代謝異常症を判定した。優良評価 100％でした。上記結果より、GCMS よる先天代謝異常症の外部精度管理ができた同時に経験ない稀の疾病の病態解析もでき、検査技能の評価もされながら検査知識の向上とデータベースの拡大にも繋がれた。質量分析実施される施設の品質管理に推奨したい。

P2-2

ヒト肝細胞による合成カンナビノイド AB-PINACA の代謝

○南方 かよ子 [1], 野澤 秀樹 [1], 山岸 格 [1], 長谷川 弘太郎 [1], 鈴木 雅子 [1], 北本 卓也 [2], 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 AB-PINACA in human hepatocytes

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

[1]Department of Legal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine

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

【目的】以前我々は BB-22 のヒト肝細胞代謝物について調べた。その結果、BB-22 の肝細胞代謝物に関する他の報告[1]にはなかった代謝物を 2 種類検出し、それらを尿中代謝物の主成分としても検出した[2]。AB-PINACA に関しては、Wohlfarth et al. [3] による肝細胞代謝物の報告があるが、保存している解剖試料中代謝物との詳しい比較をするために、AB-PINACA の肝細胞代謝物を作成して検討した。

【方法】BioreclamationIVT 社から 50-Donor Pooled Cryopreserved Hepatocytes を、Cayman Chemical 社から AB-PINACA を入手した。37℃の CO2 インキュベーター内で 20, 60, 180 分間代謝物の生成を行い、反応溶液と同量の冷 acetonitrile を添加して反応を停止した。遠心後の上清を希釈し、LC-QTRAP-MS/MS で 代謝物の構造推定と相対定量をし、LC-Orbitrap-MS/MS で精密質量を測定した。

【結果】Wohlfarth et al.の報告では 180 分後の代謝率は 69%であったが我々の場合は 66%であった。primary amide hydrolysis, hydroxylation, dehydrogenation (dehydration) が観察された。AB-PINACA と代謝物 M1-M6 およびそれら各々の primary amide が水解された MO と MO1-MO6 の合計 13 の代謝物が主成分として検出された。この 13 種類の代謝物の構造をそれらの product ion ならびに精密質量から推定した。推定した構造に基づいた母 ion と product ion の m/z の理論値と実測値との差は母 ion では 1 ppm、product ion では 4 ppm であった。

[1] Carlier J, et al. J Pharm Biomed Anal 2018, 157: 27 ; [2] Minakata K, et al. Forensic Toxicol 2019, 37:164; [3] Wohlfarth A, et al. The AAPS Journal 2015, 17: 660."

P2-3

GC/MS 分析を用いたウロカナーゼ欠損症の診断 1 例報告

○王 恬[1], 王 旭陽[1], 金 明姫[1], 阮 宗海[1], 鄧 亜仙[2], 張 春花[1]

[1] ミルスインターナショナル研究開発部

[2] 中国首都医科大学天壇病院小児科

A case of urocanase deficiency discovered by GCMS analysis

○WANG TIAN[1], Xuyang Wang[1], Mingji Jin[1], Zonghai Ruan[1], Yaxian Deng[2], Chunhua Zhang[1]

[1]Department of research & development of MILS International

[2]Beijing Tian Tan Hospital, Capital Medical University

【目的】ウロカナーゼは、ヒスチジン代謝の初段階から生成したウロカン酸を 4-イミダゾロン-5-プロピオン酸に変換させる第 2 段階の反応酵素であり、ウロカナーゼの活性低下により、ウロカン酸は蓄積し、尿中へ多量排泄される病態はヒスチジン代謝異常症である。1971 年吉田・多田らよりウロカナーゼ欠損症と名付けている。2009 年ウロカナーゼの責任遺伝子は UROC1 であり、ウロカナーゼ欠損症は常染色体劣性遺伝疾患と明らかにされた。最初の日本人症例は進行性の精神身体発達遅延を呈したが、後に報告された症例は、無症状や主に非特異的な症状を呈するため、一般臨床検査により診断が難しい。今回われわれは、GC/MS を用いた尿の代謝プロファイル分析で発達遅延伴う自閉症を呈する 7 歳の症例を経験したので、報告する。

【症例と方法】症例：7 歳 8 ヶ月中国人男児、自閉症を伴い発達遅滞が原因で中国北京市の病院小児科を受診、一般臨床生化学検査で異常が認められず、先天代謝異常症の有無をチェックするため、当施設の代謝異常症のハイリスククリーニングを依頼した。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 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。また、同時にろ紙血中アミノ酸とアシルカルニチンをタンデムマスより分析を行った。

【結果】患者の尿中ウロカン酸レベルは健常者の 889.9~1783 倍異常増加した。血中ヒスチジン濃度とほかのアミノ酸は正常でした。アシルカルニチンも正常でした。病態解析の結果、ウロカナーゼ欠損症と化学診断した。

【考察】今回の症例は当施設の尿代謝プロファイル解析による初めのウロカナーゼ欠損症経験例であり、7 歳まで原因不明な自閉伴う発達遅延例の病因究明を迅速かつ正確にできた。本症例の臨床所見は 1971 年報告された日本人症例の臨床所見と類似し、心身発達遅延はウロカナーゼ欠損症の主な病態であること推測できる。しかし本疾患における心身発達遅延などの発症契機は不明で、ヒスチジン制限療法や有効な治療法もなく、今後 GC/MS 分析よる早期発見に努め、より多くの患者さんを早期に診断し、リハビリ療法と遺伝子治療のモニターに貢献したい。

P2-4

Tandem Mass Tag を用いたタンデム質量分析法による膵臓癌の新規診断マーカーの解析

○今野 加央里[1], 高野 重紹[2], 吉富 秀幸[2], 大塚 将之[2], 野村 文夫[3]

[1] 麻布大学　生命環境科学部

[2] 千葉大学大学院医学研究院　臓器制御外科学

[3] 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

Search for novel diagnostic markers of pancreatic ductal adenocarcinoma using secretome and proteome analysis

○Konno Kaori[1], Takano Shigetsugu[2], Yoshitomi Hideyuki[2], Ohtsuka Masayuki[2], Nomura Fumio[3]

[1]School of Life and Environmental Science, Azabu University

[2]Department of General Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University

[3]Divisions of Clinical Mass Spectrometry and Clinical Genetics, Chiba University Hospital

【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。膵管腺癌（PDAC）は、すべての膵臓腫瘍の 85〜90%を占めている。すべての PDAC 患者の生存期間の中央値は 6 か月未満であり、最近の 5 年生存率は約 8%である。予後不良である最も重要な理由の 1 つに、PDAC の早期診断マーカーの不足が挙げられる。これを改善するには、高感度で特異的なマーカーを特定することが急務となる。現在広く使用されている炭水化物腫瘍関連抗原 19-9（CA19-9）および癌胎児性抗原（CEA）の血清循環マーカーは、初期診断マーカーとして使用するには十分に正確でない。

【方法･対象】ヒト PDAC 細胞株（MIA PaCa-2、PANC-1、および BxPC-3）から得られた培養培地を用い、Tandem Mass Tag を用いたタンデム質量分析法（TMT 法）により細胞分泌タンパク質を比較分析し、新たな腫瘍マーカー候補タンパク質の探索を行った。候補タンパク質は、Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay（ELISA）を用いて、健常者 20 名、慢性膵炎患者 10 名、膵臓癌患者 20 名の術前後の血清検体を用いて測定し検証した。

【結果】TMT 法により細胞分泌タンパク質を比較分析し、ヒト PDAC 細胞株 3 株すべてに発現している分泌タンパク質は 13 種類検出された。文献検索を行い、膵臓癌との関連性が報告されていない分泌蛋白質として、Protein X を検出した。血清 Protein X 濃度は、健常者で 50.5±6.0 ng/mL、慢性膵炎患者で 53.9±5.1 ng/mL、膵臓癌患者で 61.6±7.6 ng/mL であり、膵臓癌患者は健常者及び慢性膵炎患者に比べ、$p<0.01$ と有意に高値を示した。また、膵臓癌患者 20 名において、術前血清検体は術後血清検体に比べ、$p<0.01$ と有意に高値を示した。

【結語】血清 Protein X は、新規膵臓癌診断マーカーとして有用であることが示唆された。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予定である。

O3-1　質量分析イメージングを用いた酵素組織化学

○新間 秀一 (大阪大学大学院工学研究科生物工学専攻)

Enzyme histochemistry using mass spectrometry imaging

○Shuichi Shimma (Department of Bioengineering, Graduate School of Engineering, Osaka University)

【目的】 生体組織内での酵素活性を可視化する手法として酵素組織化学が古くから知られている。酵素組織化学では、試料表面へ基質を供給し、内在性の酵素反応により産生した物質に対し、呈色反応を行うことで可視化する。既存の酵素組織化学では、この呈色反応のステップに汎用性がないため、手法自体の汎用性も低い。また、ここで用いられる呈色反応は定量性が乏しいという問題もある。本研究では、これらの課題を解決するために酵素反応で産生された分子を質量分析イメージング（MSI）にて可視化する方法を検討した 1, 2)。

【方法】本研究では WT マウス脳を用いて、アセチルコリンエステラーゼ（AChE）の活性分布の可視化を試みた。AChE は、アセチルコリンを基質としコリンと酢酸に分解する酵素である。したがって、アセチルコリンを試料表面に供給し、分解産物であるコリンを検出した。内在性のコリンと区別するために、基質として重水素ラベル化されたアセチルコリン-d9 を購入し、コリン-d9 を検出した。なお基質の供給はマニュアルスプレーで行った。本研究では、反応時間の検討及び半定量的な解析を行うための手法も検討した。MSI 測定は iMScope TRIO（島津製作所）を用い、解析は IMAGEREVEAL MS（島津製作所）を用いた。

【結果・考察】アセチルコリン-d9 は試料表面に噴霧後速やかにコリン-d9 に分解することが確認され、反応時間 5 分でプラトーに達しアセチルコリン-d9 が枯渇することが確認された。したがって、酵素活性を測定するにあたり 5 分以内の反応で十分であることを確認した。半定量的な解析を行うにあたり、組織の部位によるマトリックス効果は問題となる。したがって、アセチルコリン d-9 とコリン d-9 のイオン化効率を考慮した規格化方法を考案した。考案した算出式を用いて、アセチルコリン d-9 分布とコリン d-9 分布像から、IMAGEREVEAL MS で演算を行い最終的な AChE 活性分布を得た。その結果、AChE 活性は線条体ならびに視床下部で最も高くなり、脳梁並びに小脳皮質では低いことがわかった。この結果を、既存の酵素組織化学の結果と比べたところ、非常に良い一致が得られたため本手法の PoC を確認することができた。哺乳類のコリンエステラーゼには、AChE およびブチリルコリンエステラーゼ（BuChE）が存在する。BuChE はアセチルコリンに非特異的であり様々なコリンエステルをコリンに変換することから、BuChE を阻害するテトライソプロピルピロホスファミド（iso-OMPA）を供給し酵素活性を可視化することで、AChE 特異的な活性分布を可視化した。その結果、脳梁で大きく酵素活性が阻害されていることがわかり、脳梁での ChE は BuChE 由来であることが示唆された。このように、試料表面に安定同位体基質を供給するとともに、阻害剤などを供給することでより詳細な酵素組織化学法が確立できたといえる。【参考文献】1 Takeo E, Fukusaki E, Shimma S. A mass spectrometric enzyme histochemistry method developed for visualizing in situ cholinesterase activity in Mus musculus and Drosophila melanogaster. Anal. Chem. (in press) 2 新間秀一、竹尾映美　特願 2020-143727

O3-2

顕微質量計を用いたマウス胸腺のメタボロミック・イメージング

○辻　雄大[1], 山口 真一[2], 山本 卓志[2], 中邨 智之[3], 池川 雅哉[1]

[1]同志社大学大学院生命医科学研究科

[2]島津製作所

[3]関西医科大学薬理学教室

Metabolomic mapping of mouse thymus with Imaging Mass Microscope

○Yudai Tsuji[1], Shinichi Yamaguchi[2], Takushi Yamamoto[2], Tomoyuki Nakamura[3], Masaya Ikegawa[1]

[1]Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan

[2]Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan

[3]Department of Pharmacology, Kansai Medical University, Osaka, Japan

【目的】 胸腺は、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色で濃染される皮質と淡染される髄質から成るリンパ組織である。骨髄から胸腺内に移行した T 前駆細胞は、胸腺の皮質･髄質間を移動して様々なシグナルを受け取り、成熟した T 細胞へ分化・選択される。このプロセスは、胸腺微小環境が鍵を担っていると考えられるが、詳細については、まだ未解明の点が多い。一方、抗体などのプローブを用いずに、低分子化合物の局在を一度に可視化する手法、イメージング質量分析(Imaging Mass Spectrometry; IMS)法が可能となった。本研究では、胸腺組織の代謝を組織レベルで理解するため、マウス胸部組織を対象に IMS 法を用いヌクレオチドをはじめとする低分子代謝物の局在について実験を行った。

【方法】 実験動物として ICR マウス（4 週齢、雌）を用いた。デキサメタゾン 5 mg / kg を腹腔内投与した。同容量の生理食塩水を投与したマウスを control とした。安楽死後、液体窒素にて急速凍結した。クライオスタットにて胸部組織切片を作成し、導電性のスライドグラスへ融解接着させた。マトリックスにはアミノアクリジンを用いて用手塗布し、顕微質量計を用いて negative ion mode で分析した。分析後の組織切片は HE 染色、連続切片を TUNEL 染色した。多変量解析には、IMAGEREVEAL（島津製作所）を用いた。

【結果と考察】 成体マウスの胸部組織切片を whole animal section として作製することにより、骨髄、胸腺、リンパ節、平滑筋、食道、気管、肺、脊髄、脂肪、動静脈血管、血液の各組織成分を同一スライド上で観察可能となった。さらに、取得データをもとに多変量解析を行った結果、各器官の組織構造に対応する代謝物質の分布をクラスターマップとして可視化することに成功した。特に胸腺は、HE 染色からも皮質、髄質に加え皮質・髄質境界領域の組織構築を判別可能であるが、今回の代謝マッピングによれば、同じ皮質・髄質内においても、腹側・背側などの特徴的分子プロファイルの存在が明らかとなった。さらにデキサメサゾン投与によるアポトーシス誘導胸腺では、胸腺の皮質･髄質領域における代謝物質のプロファイルが顕著に変化した。今後は、今回得られた知見を胸腺腫などの病態の理解や治療への応用について検討を行う。

O3-3

イメージング質量分析法を用いた大豆オイルボディーの消化分解過程の可視化

○前川 和響[1], 新谷 祈[2], 辻 雄大[2], 韮澤 崇[3], 池川 雅哉[2], 谷 史人[1]

[1] 京都大学大学院農学研究科食品生物科学専攻農産製造学分野, [2] 同志社大学大学院生命医科学研究科, [3] ブルカージャパン K.K.

Visualization of digestion/decomposition process of soybean oil body using imaging mass spectrometry

○Kazuki Maekawa[1], Inori Shintani[2], Yudai Tsuji[2], Takashi Nirasawa[3], Ryo Kajita[3], Masaya Ikegawa[2] Fumito Tani[1]

[1]Laboratory of Bioengineering, Division of Food Science and Biotechnology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, [2]Graduate School of Medical Life and Medical Sciences, Doshisha University, [3]Bruker Japan K.K.

【目的】 咀嚼・嚥下された食塊が、食道から大腸に至るまで消化管内でどのように流動し、多数の栄養素がどのように相互作用しながら消化・吸収されていくのか、その過程の詳細については不明である。先行研究において、大豆オイルボディー（OB）を食物繊維とともにマウスに投与すると、吸収される脂肪量が減少する傾向が観察された。これは、栄養素間の相互作用がそれらの消化吸収に大きく影響することを意味している。そこで本研究では、腸管内における大豆 OB の経時的・空間依存的な分布を解析する手法としての質量分析イメージング（IMS）法の有用性を検討した。【方法】 市販の大豆を、5 倍量の蒸留水に一晩浸漬し、粉砕後、ガーゼで濾して生豆乳を調製した。生豆乳にショ糖と NaOH 溶液を加えて、0.6 M ショ糖溶液/生豆乳(pH 11)を作製した。続いて、Flotation 溶液(0.4 M ショ糖/リン酸緩衝液(pH 11))と重層して遠心分離(12000 rpm, 20 min, 15℃)した。遠心後、クリーム層を回収し、detergent 溶液(1%Tween20/0.2 M ショ糖/リン酸緩衝液(pH 11))で洗浄後、再度、遠心にて OB 層を回収した。得られた OB 液に、水とブリリアントブルーFCF をそれぞれ 43%(w/w)と 0.05%(w/w)になるように添加した。この懸濁液を、14 時間絶食させた C57BL/6 マウス（10wks、オス）に経口投与し、投与後 30 分後に、セボフルランによる麻酔下で液体窒素によりマウスを凍結した。実験日にマウスの一個体切片を 10 μm で作製し、タンパク質レベルのイメージングを行った。【結果と考察】 成体マウスの whole animal section を作製し、MALDI-IMS 法により肝臓、膵臓、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、皮下脂肪組織を含む領域のインタクトタンパク質のイメージングに成功した。その結果、Segmentation の手法により消化管の消化管壁と内容物のプロファイルをそれぞれインタクトタンパク質のプロファイルから鑑別することが可能となった。特に、上部消化管である胃・十二指腸には、その内容物の境界を食道や胃に特異的なピークや、空腸・回腸の構造特異的なペプチドの存在、さらに下部消化管特有の分子を可視化できた。また、肝臓や動静脈管内に特有のプロファイルなども確認できた。今後は、on tissue digestion の方法と併用し大豆 OB 由来のペプチドを特定し、消化吸収の過程を空間的・時間的に可視化してゆく予定である。

O3-4

DIUTHAME を用いたアルツハイマー病（AD）脳の迅速 MALDI 質量分析イメージング

○外山 友美子 [1], 武笠 結天 [1], 新谷　祈 [1], 徳平 壮一郎 [1], 大村 孝幸 [2], 小谷 政弘 [2], 田代 晃 [2], 角田 伸人 [1], 韮澤 崇 [3], 村山 繁雄 [4], 内藤 康秀 [5], 池川 雅哉 [1]

[1] 同志社大学大学院, [2] 浜松ホトニクス, [3] ブルカージャパン K.K., [4] 東京都健康長寿医療センター研究所高齢者ブレインバンク, [5] 光産業創成大学院大学

Rapid MALDI mass spectrometry imaging for Alzheimer's disease (AD) brain using DIUTHAME

○Yumiko Toyama[1], Yume Mukasa[1], Inori Shintani[1], Soichiro Tokuhira[1], Takayuki Ohmura[2], Masahiro Kotani, Akira Tashiro, Nobuto Kakuda[1], Takashi Nirasawa[2], Shigeo Murayama[4], Yasuhide Naito[5], Masaya Ikegawa[1]

[1]Doshisha University [2]HAMAMATSU PHOTONICS K.K. [3]Bruker Japan K.K. [4]The Brain Bank for Aging Research, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital and Institute of Gerontology [5]The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries

【Objective】Neuropathology of Alzheimer's disease (AD) is characterized by the accumulation and aggregation of Amyloid β (Aβ) peptides into extracellular plaques of the brain. Increasing lines of evidence support a direct involvement of cholesterol in AD pathogenesis as well. For the rapid and reproducible analysis of multifactorial autopsy brains, here we adopt a novel matrix free laser desorption/ionization method, Desorption Ionization Using Thorough Hole Alumina Membrane (DIUTHAME) in combination with conventional MALDI IMS on human autopsy brain tissues to obtain a comprehensive molecular mapping. 【Method】Human cortical specimens for IMS were obtained from those brains that were removed processed at the Brain bank at Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology. Frozen tissue sections were cut on a cryostat at a 20 μm thickness onto ITO glass slides. Spectra were acquired using the rapifleX MALDI Tissuetyper, whereas ions were detected with spatial resolution of 50 μm. Obtained mass spectra were visualized with flexImaging and SCiLS Lab 2019 Software. 【Results and Discussion】We have succeeded in obtaining low molecular imaging with DIUTHAME system for the brains from AD in contrast with non pathological aged subjects. Mass spectra were between 10 to 1000 m/z and underling white matter, grey matter and leptomeningeal vascular spaces were precisely visualized with low molecular lipid species. As DIUTHAME strategy is extremely rapid, simple and reproducible, it must be feasible to apply this technology into generating mass spectrometry library for the diagnosis and pathological studies of neurological diseases.

O3-5

リチウム神経薬理作用の解明に向けたマウス脳プロテオームの可視化

○安井 悠生[1], 亀山 大樹[1], 山本 康太[2], 韮澤 崇[3], 梶田 遼[3], 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

[2] 東京大学大学院理学系研究科最先端計測化学研究室

[3] ブルカージャパン K.K.

Visualization of mouse brain proteome for the study of lithium neuropharmacology with MALDI - Imaging Mass Spectroscopy

○Yasui Yuki[1], Kameyama Daiki[1], Yamamoto Kota[2], Nirasawa Takashi[3], Kajita Ryo[3], Kakuda Nobuto[1], Hirata Takafumi[2], Ikegawa Masaya[1]

[1]Graduate School of Medical Life and Medical Science, Doshisha University, [2]Geochemical Research Center, The University of Tokyo, [3]Bruker Japan K.K.

【目的】

リチウム (Lithium; Li) は双極性障害の治療薬として確立され、近年ではその神経保護作用からアルツハイマー型認知症（Alzheimer disease）など神経変性疾患の予防・維持薬の候補にも挙げられている。一方、生体内での薬理動態の詳細は明らかではない。本研究ではタンパク質・ペプチドレベルでの Li の神経薬理作用を検討するため、Li 投与マウスモデルを作製し、イメージング質量分析法を用いたマウス脳プロテオームの可視化を試みた。

【方法】

C57BL/6 マウス（雄, 7~8 週齢）をコントロール群 (0mM, n=3)、低濃度投与群 (4.72mM, n=4)、高濃度投与群 (14.2mM, n=9) の 3 群に対し炭酸 Li を自由飲水にて投与した。投与 0, 2, 7, 14 日の段階で、メタロアッセイリチウム測定 LS (メタロジェニクス社)を用いて血清 Li 濃度を計測した。投与 14 日目に脳を摘出して迅速凍結した。実験日には 10μm 厚の凍結切片を作製し ITO スライドグラスへ貼り付け、マトリクスにはシナピン酸 (Sinapinic Acid)を用いた。質量分析には rapifleX Tissue typer を用い 50μm の解像度で測定を行った。イメージング画像の取得と統計解析には FlexImaging と SciLS Lab 2016a を用いた。

【結果と考察】

血清 Li 濃度は、高濃度投与群で他の 2 群に対して有意な濃度上昇を認めた。MALDI-IMS の測定データからセグメンテーション・マップを作成すると、マウス脳の組織構造を反映したプロファイルが描出された。さらにシングルピークの中から主嗅球 (Main Olfactory Bulb; MOB) の顆粒細胞層、吻側移動経路 (Rostral Migratory Stream; RMS)、脳室下帯 (Sub Ventricular zone; SVZ)に局在し、特に MOB で Li 濃度依存的にイオン強度の増大するインタクトタンパク質を観察した。このように Li 投与モデルマウス脳で、Li 投与の影響をインタクトタンパク質のプロファイルとして検討することが可能となり、リチウム神経薬理作用の解明に有効であると考えられた。

O3-6

W 突然変異マウスの Whisker 毛包におけるプロテオーム解析

○小杉 茉由佳[1], 木下 和生[2], 韮澤 崇[3], 梶田 遼[3], 角田 伸人[1], 池川 雅哉[1]

[1] 同志社大学大学院生命医科学研究科

[2] 滋賀県立総合病院研究所

[3] ブルカージャパン K.K.

in depth Proteomics of Hair Follicles of whiskers from W mutant mice

○Mayuka Kosugi[1], Kazuo Kinoshita[2], Takashi Nirasawa[3], Ryo Kajita[3], Nobuto Kakuda[1], Masaya Ikegawa[1]

[1]Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University

[2]Shiga Medical Center Research Institute

[3]Bruker Japan K.K.

【目的】 W 遺伝子座（white spotting locus）の c-kit 遺伝子がコードする受容体型チロシンキナーゼ（KIT）は、幹細胞増殖因子をリガンドとし、MAPK 経路や PI3K 経路を介して細胞の分化や増殖を引き起こす。W 突然変異は KIT の機能を喪失し、ホモ接合型突然変異（W/W）で皮膚および体毛のメラニン色素欠損、大球性貧血により生後 10 日ほどで死亡する。ヘテロ接合型突然変異（W/+）では、腹部および頭部の一部の体毛が白色を呈することが知られてきた。毛包にメラノサイトを有するマウスのヒゲ（Whisker）は生下直後より認められ、静脈洞を持つ。本研究は、組織学的解析及びイメージング質量分析法（IMS）を用いた組織プロテオーム解析により W 突然変異マウスの Whisker 毛包における KIT の機能喪失と造血及びメラノサイトの関連について検討した。

【方法】 W 突然変異マウス（出生 0 日目）Whisker 毛包を含む 10 μm 厚の凍結切片を作製した。ヘマトキシリン・エオジン染色、フォンタナ・マッソン染色（メラニン色素染色）、MelanA の免疫組織化学を行った。また組織上でトリプシン消化後 rapifleX tissue typer を用いて、50 μm の空間分解能で IMS を行った。同様の前処理を施した連続切片及びレーザーマイクロダイセクションにより切り取った毛包と毛球からペプチドを抽出し、LC-TIMS MS/MS 測定を行った。

【結果】遺伝子型間で発毛と組織学的構造に顕著な差異を認めない一方、W/W の毛包はメラノサイト及びメラニン色素が観察されなかった。また IMS 測定データから、遺伝子型間で異なるプロテオミックパターンが検出された。ヘモグロビンα鎖由来のペプチドが W/W に対し+/+及び W/+において特徴的な単一ピークに相当した。

【考察】W 突然変異は Whisker 毛包におけるメラノサイト維持の破綻に寄与することが示唆された。また IMS による組織プロテオーム解析から、W/W マウスの血球系形成異常による貧血との相関において興味深い結果となり、KIT 制御下の分子基盤の解明に有効な手段であると考えられた。

O3-7　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を用いた拡張型心筋症モデル J2N-k ハムスターの病態解析

○新谷 祈[1], 辻 崇[2], 韮澤 崇[3], 梶田 遼[3], 植田 初江[4], 升本 英利[2], 湊谷 謙司[2],池川 雅哉[1]

[1] 同志社大学大学院生命医科学研究科, [2] 京都大学大学院医学研究科心臓血管外科学, [3] ブルカージャパン K.K., [4] 国立循環器病研究センター病理部

Dissecting pathogenesis of dilated cardiomyopathy (DCM) on J2N-k Hamster model using MALDI-Imaging Mass Spectrometry in combination with shotgun proteomics

○Shintani Inori[1], Tsuji Takashi[2], Nirasawa Takashi[3], Kajita Ryo[3], Ishibashi-Ueda Hatsue[4], Masumoto Hidetoshi[2], Minatoya Kenji[2], Ikegawa Masaya[1]

[1]Graduate School of Medical Life and Medical Sciences, Doshisha University, [2]Department Cardiovascular Surgery, Graduate School of Medicine, Kyoto University, [3]Bruker Japan K.K., [4]Department of Pathology, National Cerebral and Cardiovascular Center

【目的】拡張型心筋症（Dilated Cardiomyopathy; DCM）は、左室の拡大と心筋の収縮機能障害を主体とする進行性の予後不良の疾患群である。J2N-k ハムスター（以下 J2N-k）は、δ-サルコグリカン遺伝子欠損により DCM に類似した病態を自然発症する動物モデルである。生後約 20 週齢で心臓の拡張および機能不全を示し、最終的に約 1 年でうっ血性心不全をきたし死亡することが知られている。本研究では、DCM 形成過程である若齢期 J2N-k 心筋と健常対照の J2N-n ハムスター（以下 J2N-n）心筋を対象に、イメージング質量分析法(MALDI-Imaging Mass Spectrometry; MALDI-IMS)およびショットガンプロテオミクスを用いてプロテオームレベルでの病態解析を行った。

【方法】J2N-k および J2N-n 心筋を対象に、MALDI-IMS と LC-TIMS-MS/MS を組み合わせた in-depth プロテオーム解析を行った。MALDI-IMS には、rapifleX tissue typer を用いて解析を行った。一部は組織上でトリプシンを用いた酵素消化処理を行い、ペプチドレベルでの解析を行った。また、同様の前処理を施した連続切片に対して tims TOF Pro を用いた解析を行った。 画像・統計解析には、FlexAnalysis、FlexImaging 5.0、SCiLS Lab ソフトウェアを用いた。病理組織学的評価には HE 染色や免疫組織化学を行った。

【結果】ハムスター心筋の in situ プロテオーム解析のプロトコルを確立し、J2N-k 心筋において炎症性組織病理変化に一致したプロテオミック・プロファイルを抽出した。また、tims TOF Pro を用いた LC-TIMS-MS/MS により約 2,000 ものタンパク質を同定することに成功し、病巣特異的なタンパク質・ペプチドの特定に成功した。

【考察】本研究より、J2N-k 心筋の若齢期に認められた炎症性心筋症から DCM への病態進行機序を反映する組織病理学的変化をタンパク質・ペプチドレベルで理解可能となった。また発症の予測や病態形成理解につながるバイオマーカーとして有用な候補タンパク質の情報を得ることに成功し、MALDI-IMS およびショットガンプロテオミクスを用いたアプローチが有効であることが示唆された。

講演要旨

テクノロジーフォーラム

timsTOF を用いた最新技術のご紹介

○梶田 遼[1]，韮澤 崇[1]

[1]ブルカージャパン株式会社

Introduction of the latest technologies using timsTOF

○Ryo Kajita[1], Takashi Nirasawa[1]

[1]Bruker Japan K.K.

【dia-PASEF】

dia-PASEF (data independent acquisition-Parallel Accumulation Serial Fragmentation) 法は，従来の DIA 測定にイオンモビリティー軸を加えた新たな測定手法です。

timsTOF シリーズ（timsTOF Pro, timsTOF fleX, timsTOF fleX MALDI-2）は，トラップタイプのイオンモビリティーデバイスである TIMS（trapped ion mobility spectrometry）を搭載した Q-TOF 型の質量分析計です。この TIMS を活用した PASEF 法は，高分解能，高感度及び高速を満たす測定手法であり，様々なオミクス研究へと応用されています。Data dependent acquisition である PASEF 法に DIA の手法を組み合わせた dia-PASEF は，より高深度なオミクス解析を可能とします。

【MALDI-2】

レーザーポストイオン化（MALDI-2）は，MALDI で不足していたイオン収量を大幅に向上させる最新の技術です。

MALDI-2 を用いることで, イメージング測定において避けることのできないイオンサプレッションを排除することが可能であり, MALDI の検出感度が飛躍的に向上します。また，MALDI-2 により高感度で検出された複雑なスペクトルは，イオンモビリティーでの分離を必要とします。timsTOF fleX MALDI-2 は，イメージングモードで最大 20 ピクセル／秒の高速取得速度を提供します。さらに，TIMS を使用することで，モビリティー分解能 200 で構造異性体を区別することが可能であり，SpatialOMx 解析を次のステージに導くことができます。

本発表では，dia-PASEF 及び MALDI-2 の概要並びにそのアプリケーションについてご紹介いたします。

培養皮膚・毛髪イメージングと新規導入 LC-FTMS のご紹介

○中村 篤史[1]，田中 竜也[1]

[1]一般財団法人材料科学技術振興財団

Imaging mass spectrometry of cultured skin and hair /Introduction to LC-FTMS

○Atsushi Nakamura[1], Tatsuya Tanaka[1]

[1]Foundation for Promotion of Material Science and Technology of Japan

飛行時間型二次イオン質量分析法（ToF-SIMS）は、サンプルの表面にパルス状の一次イオンビームを照射し、サンプル表面から放出された二次イオンが検出器に到達するまでの飛行時間の違いから質量を分離する。主に数百 m/z 以下の低質量成分の検出を得意としており、有機成分・無機成分を問わず、一度の測定で両方の情報を取得可能である。また、イメージングの面分解能は最高で約 0.3 μm であるため、非常に小さな試料に対してもイメージングが可能であることも大きな特徴となっている。本発表では、このような ToF-SIMS の特徴を活かした分析事例を紹介する。培養皮膚においては、浸透試験後の皮膚切片に対して製剤の浸透を可視化した例を示す。厚み 100 μm に満たない培養皮膚断面に対しても、ToF-SIMS では角層・細胞層を分けてイメージング評価することが可能である。毛髪においては、毛髪断面の成分イメージングによりヘアケア成分の毛髪への浸透を評価した例を示す。ヘアケア成分が毛髪の表面に局在している状態や、内部に浸透している様子がイメージングにより明らかになった。

本発表の後半では、MST で実施しているクロマトグラフィーを中心とした分析事例、サービス等を解説する。タイトルにもある液体クロマトグラフィー - フーリエ変換質量分析計（LC-FTMS）は 2020 年 9 月より開始する新規分析サービスであり、今後様々な有機分析に対し展開していく予定である。新規導入する LC-FTMS の特徴として、最高質量分解能 500,000 を誇る世界最高レベルの質量分解能が挙げられ、分子中の同位体比率から硫黄の有無を判断可能であるなど、不明成分の組成決定に大きく力を発揮する。

その他、GC-MS,LC-MS を用いた有機材料の劣化メカニズム解明、不良原因調査、他社品の材料調査などニーズに合わせた分析を展開しており、それらの分析事例について具体的な内容も含め紹介する。

講演要旨

京都生体質量分析研究会との
共催シンポジウム

KS1-1

最先端リピドミクスから解き明かす病態・バイオロジー研究

○有田 誠[1,2,3]

[1]慶應義塾大学薬学部代謝生理化学講座

[2]理化学研究所生命医科学研究センター

[3]横浜市立大学大学院生命医科学研究科

Advanced lipidomics technology and its application in biology

○Makoto Artita[1,2,3]

[1]Division of Physiological Chemistry and Metabolism, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Keio University

[2]Laboratory for Metabolomics, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences

[3]Graduate School of Medical Life Science, Yokohama City University

脂質は生体膜を構成し、エネルギー源としての役割に加え、シグナル分子やその前駆体として働く多彩な役割を担う生体分子である。よって生体内の脂質多様性や代謝ネットワークを捉えることは、その生物学的意義を理解する上で極めて重要である。我々は、生体内の脂肪酸やリン脂質の代謝を網羅的かつ定量的に把握するためのリピドミクス解析システムを構築し、炎症・代謝性疾患の制御において脂肪酸代謝バランスが重要であることを示してきた。中でも、EPA や DHA などω3 脂肪酸が脂肪酸オキシゲナーゼにより活性代謝物に変換され、積極的に抗炎症作用や組織保護作用を発揮することを見出してきた。一方で、近年の質量分析技術の進歩は脂質研究に大きなインパクトを与えた。すなわち、従来解析されてきた脂質分子は氷山の一角に過ぎず、生体内には 10 万種を超える多様な脂質が存在することが示唆された。我々は、ヒトおよびマウスの臓器・組織・細胞、腸内細菌叢などの脂質成分を網羅的に捉えるため、従来法の約 10 倍の 8,000 種類に及ぶ脂質の構造多様性を見極めることができる、ノンターゲットリピドミクスの解析基盤を確立した。さらに、脂質分子の構造および定量情報を代謝マップに投影するシステムを構築し、疾患やバイオロジーと相関を示す脂質代謝ネットワークの解明を行っている。このように高網羅的かつ未知分子探索型のノンターゲット解析技術の開発により、既知の範囲内での分子計測にとどまらず、これまでに知られていない生理機能や活性代謝物の同定につながり、メカニズム不明であった生命現象や病態に対して根本的な解を与えることが期待される。

【参考】

1. 新学術領域「リポクオリティ」ホームページ： https://sites.google.com/site/lipoqualityjpn/

2. Tsugawa H. & Arita M. et al. A lipidome atlas in MS-DIAL4. *Nat. Biotechnol.* 2020 in press

KS1-2

正常細胞と変異細胞間に生じる細胞競合

○藤田 恭之[1]
[1]京都大学医学研究科分子腫瘍学分野

Cell competition between normal and transformed epithelial cells

○Yasuyuki Fujita[1]
[1]Department of Molecular Oncology, Graduate School of Medicine, Kyoto University

現在のがん治療研究の潮流は、がん細胞と正常細胞の細胞内シグナルの違いを明らかにし、その差異をターゲットにしてがん細胞を特異的に攻撃するというものである。しかし、それらの研究で、がんは正常な細胞から起こり、正常な細胞に囲まれながら増えていくという「がんの社会性」についてはあまり顧みられることはなかった。がん細胞と周りの正常細胞はお互いの存在を認識できるのだろうか？また、両者は何か作用を及ぼし合うのだろうか？私の研究室では、新たに確立した哺乳類培養細胞系を用い、正常上皮細胞と様々なタイプの変異細胞との境界で起こる現象を解析してきた。非常に面白いことに、がん遺伝子 *Src* 変異細胞や *Ras* 変異細胞が正常細胞に囲まれると、変異細胞内の様々なシグナル伝達が活性化され、正常上皮細胞層からはじき出されるように管腔側（体内への浸潤とは逆方向）へと排出されることが観察された。これらの現象は変異細胞のみを培養した時には見られないことから、周囲の正常細胞の存在が、変異細胞のシグナル伝達や性状に大きな影響を与えうることを示している。このように正常細胞と変異細胞が互いに生存を争う現象は細胞競合と呼ばれているが、その分子メカニズムについては未だ多くが明らかになっていない。

本講演では、哺乳類における細胞競合現象について最新の知見を紹介したい。

KS1-3

スプライシング治療薬による遺伝病治療の試み

○萩原 正敏[1,2,3], 伊藤 慎二[2], 網代 将彦[1,3]
[1] 京都大学医学研究科形態形成機構学講座
[2] 京都大学医学研究科医学研究支援センター質量分析室
[3] 京都大学医学研究科創薬医学講座

Splicing Therapeutics for Genetic Diseases

○Hagiwara Masatoshi[1, 2, 3], Shinji Ito[2], Masahiko Ajiro[1, 3]
[1]Department of Anatomy and Developmental Biology, Graduate School of Medicine, Kyoto University
[2]Division of Mass Spectrometry, Medical Research Support Center, Graduate School of Medicine, Kyoto University
[3]Department of Drug Discovery Medicine, Graduate School of Medicine, Kyoto University

スプライシング変異は遺伝性疾患関連変異として報告されている既知遺伝病関連変異（約27万種類）のおよそ9%を占めるが、中でも深部イントロン変異に起因する偽エクソン型スプライシング変異が新たな制御形態として注目されている。これら深部イントロン変異は、変異によりイントロン配列内にスプライス部位やエンハンサー等を新生させることでイントロン配列の部分的なエクソン化、すなわち「偽エクソン」を生じさせ、特定の遺伝子にフレームシフトや停止コドンを導入することで病原性を示す。これまでに我々は、低分子化合物を処理することで偽エクソンを抑制する活性があることをNEMO異常症、嚢胞性線維症の既知偽エクソン変異モデルの解析から見出した。これら偽エクソン型の深部イントロン変異は原因変異未知症例、未診断疾患群の多くに潜在している可能性が指摘されるが、既存のエクソーム解析等では検出することが出来ないことから疾患関連性の知見が殆ど得られていないのが現状である。我々は全ゲノム配列情報から深部イントロン変異を検出し創薬標的として評価する方法を確立し、従来の薬剤では治療が困難であった疾患に対する治療薬候補物質を続々と見出している。こうした遺伝性難治疾患治療薬の研究開発において、質量分析は大きな意義を有する。また医学研究支援センター質量分析室では、様々の医学研究において質量分析による研究支援を行っているので、その状況を報告する。

KS2-1

ヒトキノーム収斂型細胞内シグナルの解明

○石濱 泰 [1,2]
[1] 京都大学薬学研究科製剤機能解析学分野，[2] 京都大学薬学研究科創薬プロテオミクス分野

Illuminating human kinome in cellular signaling

○Yasushi Ishihama[1,2]
[1] Department of Molecular & Cellular BioAnalysis, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University
[2] Department of Proteomics and Drug Discovery, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University

タンパク質のリン酸化は、最もユビキタスな翻訳後修飾の一つであり、プロテインキナーゼやホスファターゼによって可逆的に制御されている。ヒトには約 500 個のプロテインキナーゼが存在し、細胞内シグナル伝達経路において重要な役割を果たしており、様々な細胞機能を制御している。そのため、キナーゼ全体（キノーム）を構成する各キナーゼの活性をそれぞれ測定し、システムとしてのキノームプロファイルを取得、評価することは非常に重要である。

我々は、脱リン酸化処理した細胞由来タンパク質混合試料を用いた *in vitro* キナーゼアッセイを確立し、ショットガンリン酸化プロテオミクスを用いて、キナーゼと基質の関係についてのデータを幅広く収集してきた (Imamura et al., *J. Proteome Res.*, 2014, **13**, 3410, Sugiyama et al., *Sci. Rep.,* 2019, **9**, 10503)。これまでに 433 のヒトキナーゼに対し、それぞれ *in vitro* 基質タンパク質およびそのリン酸化部位同定を行い、のべ 19 万種のキナーゼ－基質リン酸化部位関係を得た。また、既知のキナーゼ－基質関係をもとに、キナーゼの基質リン酸化部位とその周辺配列に対する特異性を評価するための PSP (Primary Sequence Preference) score を開発した (Imamura et al., *J. Proteome Res.*, 2017, 16, 1825)。これらのリソースを用い、210 種の Ser/Thr キナーゼと 78 種の Tyr キナーゼを標的とし、キナーゼ基質の感度と特異性を両立させたキナーゼ特異的人工基質ペプチドライブラリーを設計した。本講演では、合成ペプチドを用いて行った標的キナーゼに対する特異性と感度の実験的検証結果について報告するとともに、このペプチドライブラリーを用いたキナーゼ阻害剤アッセイへの応用についても報告する。

KS2-2

英国におけるフェノーム解析に関する研究活動

○鈴木 亨[1]
[1]英国レスター大学・循環器内科教授/医学ライフサイエンス研究科副研究科長

Phenomic analysis

○Toru Suzuki[1]
[1]Cardiovascular Sciences, College of Life Sciences, University of Leicester (UK)

ポストゲノム時代における蛋白質・ペプチドや代謝物等の解析の重要性は増している。私が 5 年前に渡った英国ではゲノム解析を中心にコホートサイエンスが発展しており、大規模な患者集団のゲノム情報と臨床情報の組み合わせを通したリスク算出ないしアウトカム解析を重点的に進めている。大量のサンプルのバイオバンクも整備されている。そのような研究環境のなかで、私は蛋白質・ペプチドや代謝物の解析を質量分析計で解析してきた。具体的には、心不全や心筋梗塞の症例それぞれ約 1000 人のサンプルコホートや欧州多施設で行われた約 2500 人規模のコホートを中心に、従来から進めていた心臓利尿ペプチドのプロセシング産物の解析や近年明らかになった腸管マイクロバイオーム由来の心血管疾患のリスク因子であるトリメチルアミン N-オキシド（TMAO）等の代謝物を測定し、臨床情報と合わせることにより、診断ないし予後予測における意義を解析してきた。多サンプル測定に必要なワークフローを確立する必要もあった。探索研究には四重極飛行時間型（Q-TOF 型）質量分析計を、また多サンプルのターゲット測定にはトリプル四重極質量分析計や MALDI-TOF 質量分析計を用いてきた。英国では代謝物解析はナショナルプロジェクトとして進められており、私のラボは臨床・トランスレーショナル拠点として参画している。これらの活動についても紹介したいと考えている。

KS2-3

LUBAC の 2 つのユビキチンリガーゼ活性による免疫シグナル制御

○岩井 一宏[1]、伏屋 康寛[1]
[1]京都大学医学研究科細胞機能制御学

Regulation of immune signaling via two ubiquitin ligase activities of LUBAC

○Kazuhiro Iwai[1], Yasuhiro Fuseya[1]
[1]Department of Molecular and Cellular Physiology, Graduate School of Medicine, Kyoto University

LUBAC ユビキチンリガーゼ（E3）複合体は非典型的なユビキチン鎖である直鎖状ユビキチン鎖を生成することで NF-κB 活性化やプログラム細胞死抑制などの免疫シグナルの制御の関与している。LUBAC の活性異常は疾患とも関連しており、その機能低下、亢進は自己炎症性疾患、B 細胞リンパ腫発症を惹起するのに加え、LUBAC が生成する直鎖状ユビキチン鎖は細胞内寄生菌の感染抑制にも寄与している。LUBAC は 3 サブユニットから構成されており、直鎖状ユビキチン鎖を生成する HOIP だけではなく、HOIL-1L サブユニットもユビキチンリガーゼ活性を有するが、その役割は不明であった。そこで質量分析等を用いて HOIL-1L E3 の機能検索を進めたところ、HOIL-1L E3 が 3 種の LUBAC サブユニット全てにユビキチンを 1 つ結合させるモノユビキチン化活性を有していることを見出した。さらに、HOIL-1L が LUBAC のサブユニットに結合させたユビキチンに、HOIP E3 が直鎖状ユビキチン鎖を付加して LUBAC を自己直鎖状ユビキチン化することで LUBAC の機能を抑制することを明らかにした。 実際に E3 活性を喪失した HOIL-1L 変異体を発現させれば LUBAC による直鎖状ユビキチン鎖の生成が亢進させることができ、LUBAC 機能不全による自己炎症性疾患が治癒できること、サルモネラ菌の感染を抑制できることも明らかにした。この発見は、HOIL-1L E3 の阻害は LUBAC の機能を更新させることで重篤な感染症や免疫不全を治療するための有望な治療戦略を提供できる可能性を示唆している。

一般社団法人　日本医用マススペクトル学会認定
第8回「医用質量分析認定士」講習会並びに認定試験

一般社団法人　日本医用マススペクトル学会認定

第8回「医用質量分析認定士」講習会並びに認定試験実施要綱

新型コロナウイルス感染症の拡大により、従来の対面形式に代えて「オンライン講義」並びに「オンライン試験」を実施することに決定しました。受講者の皆様には大変ご不便、ご迷惑をお掛けしますが、何卒ご了承の程お願い申し上げます。

１）講習会

＊9月19日（土）当日は、午前10時より「オンライン講義」を開始致します。

各講師の持ち時間は30分間とし、先ず5分間「講義内容の概要」ビデオを放映します。引き続いて「講義内容資料（PDF形式）」を時間内閲覧を可能と致します。

＊計4名の先生方の「オンライン講義」終了後、昼休み（12：00～13：00）と致します。その間は「5分間概要」ビデオ視聴、「講義内容資料」（PDF形式）の閲覧は可能です。

２）認定試験

＊9月19日（土）当日は、試験開始時間を少し繰り上げ、13：00開始に変更致します。

＊13：00に各受講者に認定試験問題を掲載した「ログインURL3」を送信致します。受信後、ログインし必要事項を記入の上、解答を開始して下さい。問題数は20問、試験時間は30分間と致します。

＊万が一、認定試験問題が受信出来ない場合は至急メール（nakanisi@osaka-med.ac.jp）にてご連絡下さい。

＊全問解答できない場合でも、13：35までに送信ボタンを押し認定試験を完了して頂きます様お願い致します。それ以降に送信されても、ファイルを受け取る事は出来ませんのでご注意下さい。

日本医用マススペクトル学会認定制度委員会

医用質量分析認定士申請について

学会ホームページ内の申請書をダウンロードして頂き、下記振込先へ認定・審査料 20,000 円をお振込みの上、申請下さいます様お願い申し上げます。

≪振込先≫

ゆうちょ銀行 振替口座 00890-1-122387 日本医用マススペクトル学会

※通信欄に「医用質量分析認定士」と記載して下さい。

≪申請条件≫

1. 日本医用マススペクトル学会会員であること。
2. 日本医用マススペクトル学会主催の「医用質量分析認定士講習会」に参加し、認定試験に合格すること。

認定試験合格者は、JSBMS Letters Vol.45 No.3 に掲載予定

≪申請書類≫

1. 日本医用マススペクトル学会医用質量分析認定士認定審査申請書(様式 1(新規)
2. 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参加証(様式 2(新規)

≪申請書類受付期間≫

2020年12 月 1 日～2021年 1 月 5 日必着

≪書類送付先≫

〒162-0801 東京都新宿区山吹町 358-5 アカデミーセンター 日本医用マススペクトル学会 会員窓口

学会賛助会員一覧

（2020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

ブルカージャパン株式会社

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。

株式会社 ウインクス

株式会社 栄養・病理学研究所

株式会社 大阪ソーダ

大塚製薬 株式会社

一般社団法人 材料科学技術振興財団

ジーエルサイエンス 株式会社

大陽日酸 株式会社

日本ウォーターズ 株式会社

ブルカージャパン 株式会社

（9 社 五十音順・敬称略）

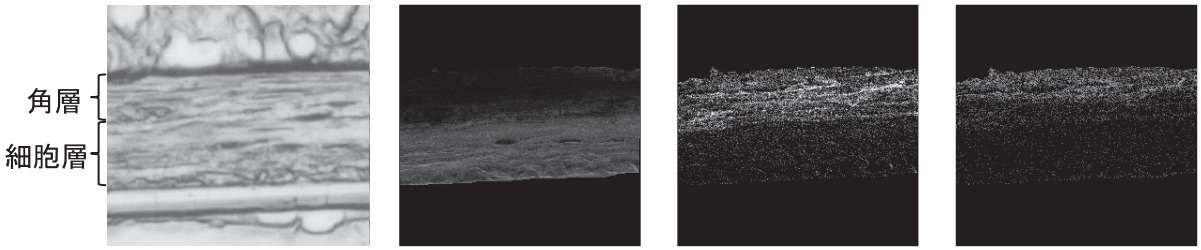
受託分析サービス

公正中立な第三者機関として、
最新装置による分析技術を提供します。

高面分解能 成分イメージング

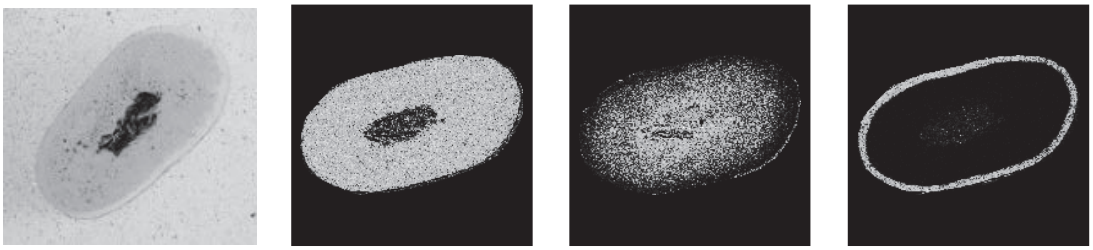
TOF-SIMSで毛髪・皮膚への
浸透・局在をイメージング

■培養皮膚断面　（視野120μm角）



光学顕微鏡像　リン酸由来　コレステロール由来　インドメタシン由来

■毛断面　（視野150μm角）



光学顕微鏡像　ケラチン由来　高級脂肪酸　ヘアケア剤成分

2020年9月　LC-FTMSを新規導入！

世界最高レベルの質量分解能で組成解析が可能！

有機材料の劣化メカニズム解明、不良原因調査、
他社品の材料調査などニーズに合わせて
オリジナルの分析を展開します。

試料の加工、前処理、分析方法のご相談から承ります。
お気軽にお問い合わせください。

MST 一般財団法人 材料科学技術振興財団

分析のご相談・お申し込みは、受付部門（SPG）へ
東京 大阪 名古屋 仙台　全国対応いたします
TEL：03-3749-2525（東京）　E-mail：info@mst.or.jp　URL：https://www.mst.or.jp/

〔設立背景〕1984年「新材料の創製に関する総合的な研究開発の推進」という政府諮問を受けた
航空・電子等技術審議会における答申に基づき、当財団は設立されました。

timsTOF fleX

BRUKER

Enhanced Sensitivity and Coverage for SpatialOMx®

With the first enhancement in ionization technology in decades, SpatialOMx enabled timsTOF fleX with MALDI-2 represents an entirely unique and powerful solution for adding biological context to routine OMICS or pharma studies.

- Several orders of magnitude increase in sensitivity
- Higher information content that utilizes TIMS for enhanced peak capacity with MALDI Imaging
- Wide range of consumables and software supporting automation and providing more scientific insights

For more information please visit www.bruker.com/timstofflex

TIMS-MALDI MS

Innovation with Integrity

For research use only. Not for use in clinical diagnostic procedures

ブルカージャパン株式会社　ダルトニクス事業部

● 横浜営業所
〒221-0022 横浜市神奈川区守屋町 3-9
TEL: 045-440-0471　FAX: 045-453-1827

● 大阪営業所
〒532-0004 大阪市淀川区西宮原 1-8-29ﾃﾗｻｷ第 2ﾋﾞﾙ2F
TEL: 06-6396-8211　FAX: 06-6396-1118

質量分析用タンパク質比較定量分析キット
安定同位体標識タグ試薬『Py-Tag® for PROTEINS』

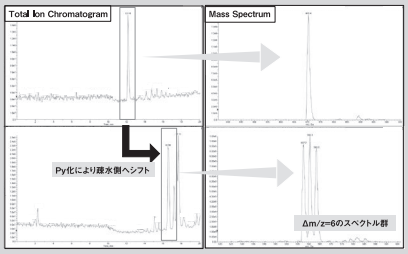
Py-Tag® (ピーワイ・タグ) FOR PROTEINS

質量分析（MS）により、タンパク質やペプチドを高精度に比較定量するためのキットです。リジン残基を特異的に高効率で標識します。

高い標識率 → 同定効率の向上
広い質量差 → 高い定量性
専用カラム → 簡易操作

測定値

Py化したペプチド[LGM(K-Py)DGYR]のクロマトグラム及びスペクトル



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x10分析用）	98,000

安定同位体標識アミノ酸（20種）カクテル

新製品

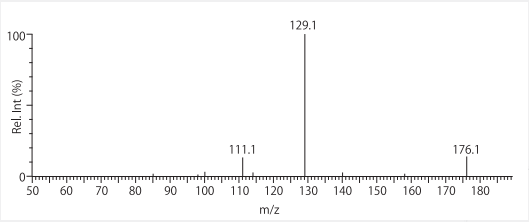
アミノ酸の定性・定量分析に最適です

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（20種）のメタボローム解析にご使用いただけます。
右図のように各構成成分のプロダクトイオンとプリカーサーイオンの情報を提供いたします。

フェニルアラニン-$^{13}C_9$,^{15}NのQ1/Q3情報（一例）

<Precursor ion/Product ion>

	m/z	Fomula C 13C H D N 15N O 18O P S
プリカーサーイオン	176.1	9 12 1 2
プロダクトイオン	129.1 111.1	8 10 1 8 7



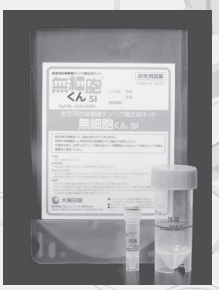
構成成分

アミノ酸	組成式
アラニン-$^{13}C_3$,^{15}N	$^{13}C_3H_7{}^{15}NO_2$
アルギニン-$^{13}C_6$,$^{15}N_4$	$^{13}C_6H_{14}{}^{15}N_4O_2$
アスパラギン-$^{15}N_2$	$C_4H_8{}^{15}N_2O_3$
アスパラギン酸-$^{13}C_4$,^{15}N	$^{13}C_4H_7{}^{15}NO_4$
シスチン-d_4	$C_6H_8d_4N_2O_4S_2$
グルタミン-$^{15}N_2$	$C_5H_{10}{}^{15}N_2O_3$
グルタミン酸-$^{13}C_5$,^{15}N	$^{13}C_5H_9{}^{15}NO_4$
グリシン-$^{13}C_2$,^{15}N	$^{13}C_2H_5{}^{15}NO_2$
ヒスチジン-$^{15}N_3$	$C_6H_9{}^{15}N_3O_2$
イソロイシン-$^{13}C_6$,^{15}N	$^{13}C_6H_{13}{}^{15}NO_2$
ロイシン-$^{13}C_6$	$^{13}C_6H_{13}NO_2$
リジン-$^{13}C_6$,$^{15}N_2$	$^{13}C_6H_{14}{}^{15}N_2O_2$
メチオニン-$^{13}C_5$,^{15}N	$^{13}C_5H_{11}{}^{15}NO_2S$
フェニルアラニン-$^{13}C_9$,^{15}N	$^{13}C_9H_{11}{}^{15}NO_2$
プロリン-$^{13}C_5$,^{15}N	$^{13}C_5H_9{}^{15}NO_2$
セリン-$^{13}C_3$,^{15}N	$^{13}C_3H_7{}^{15}NO_3$
スレオニン-$^{13}C_4$,^{15}N	$^{13}C_4H_9{}^{15}NO_3$
トリプトファン-$^{15}N_2$	$^{13}C_{11}H_{12}{}^{15}N_2O_2$
チロシン-$^{13}C_9$,^{15}N	$^{13}C_9H_{11}{}^{15}NO_3$
バリン-$^{13}C_5$,^{15}N	$^{13}C_5H_{11}{}^{15}NO_2$

*試料添加後に代謝（分解）しても区別が可能な標識パターンです。

製品番号	製品名	数量	保存温度	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本 （各25 nmol）	-20℃ （凍結乾燥品）	49,800

安定同位体標識タンパク質合成キット『無細胞くん®』



新製品

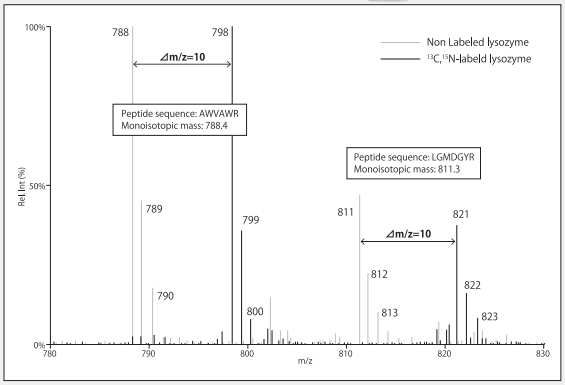
タンパク質合成キット 無細胞くん® Start

安定同位体標識タンパク質合成キット 無細胞くん® SI

無細胞くん Startは、各種安定同位体標識アミノ酸(別売)と組み合わせてご使用いただくことで、リジン・アルギニン標識等の安定同位体標識タンパク質が合成できます（CATタンパク質合成量:3 mg/キット）。より大量のタンパク質が必要な場合には、**無細胞くん SI**で発現してください。

質量分析（MS）の定量分析に安定同位体標識内部標準物質の合成に最適です。

「ヒトリゾチームのトリプシン消化物質量分析 [ESI-Triple QMS]」



製品番号	製品名	数量	保存温度	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）	−80℃	28,000
A29-0059	無細胞くん SI	1キット（1 mL反応×1回分）	−80℃	55,000

無細胞くん用 アミノ酸　●その他の標識パターンについてはお問合せ下さい。

製品番号	製品名	数量	希望納入価格（円）
A91-0128	アミノ酸混合物水溶液-Lys,Arg-UL-^{13}C,^{15}N	1mL	20,000

製造・総販売元

大陽日酸株式会社　SI事業部

〒142-8558　東京都品川区小山1-3-26 東洋Bldg.
Tel.03-5788-8550（代表）　Fax.03-6866-0564

●資料のご請求は、大陽日酸までお気軽にご用命ください。
メールアドレス Isotope.TNS@tn-sanso.co.jp
ホームページアドレス https://stableisotope.tn-sanso.co.jp

大陽日酸 The Gas Professionals

Stable Isotope Labeled Products

CIL社※が提供する安定同位体標識化合物のラインナップは世界最大を誇り，
その製品群は幅広いサイエンスの発展に大きく貢献しています。
大塚製薬株式会社はCIL社との協力体制のもと，価値ある製品を開発し，
皆様の研究・開発をサポートします。

[販売元]

大塚製薬株式会社
Otsuka 東京都千代田区神田司町2-9

[資料請求先]
診断事業部 CIL試薬課
e-mail:isotope@otsuka.jp
〒771-0182
徳島県徳島市川内町平石夷野224-18
TEL 0120-123-077 FAX0120-124-078

CIL Cambridge Isotope Laboratories, Inc.

※Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (CIL)社は大塚製薬の100%出資会社です。

2015年01月作成
0508-C-001

XEVO

変化し続ける世界の中で

常に信頼できる定量を

世界は変化し続けています。堅牢で、常に同じ結果を得ることのできる分析法を素早く開発し、そして信頼できるデータを取得しなければなりません。完成度の高いXevo 質量分析計を使用し、変化に対応し世界をリードしてください。

www.waters.com/XEVO が、長期にわたって活用でき、あなたのラボに適したMS/MS をご紹介します。

Xevo TQ-XS
極めて高い
感度と信頼性

Xevo TQ-S micro
高感度･高信頼性
そしてコンパクト

Xevo TQD
実績があり使いやすく
高い信頼性

Xevo G2-XS QTof
包括的な
定量および定性情報取得

ウォーターズのウェブサイトはこちら
www.waters.com

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

製薬 ▪ ヘルスサイエンス ▪ 食品 ▪ 環境 ▪ 化学工業

©2020 Waters Corporation. Waters および The Science of What's Possible は Waters Corporation の登録商標です。
日本ウォーターズ株式会社 www.waters.com
[東京本社] 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12 第5小池ビル
[大阪支社] 〒532-0011 大阪市淀川区西中島 5-14-10 新大阪トヨタビル11F
TEL 0120-800-299

低分子抗体 × アフィニティ × 超微量迅速精製

MonoSpin ProL

これまで、迅速精製カラムとしてご好評いただいております MonoSpin シリーズに MonoSpin ProL が新たに加わりました。MonoSpin ProL は、抗体精製用のリガンドとして、KANEKA KanCap™ L に使用している ProteinL を固定しています。κ 軽鎖を含む抗体ならびにフラグメントの精製が可能です。

3 タイプのカラム形状をご用意しております。

・スピンカラムタイプ
・ラージカラムタイプ
・96 ウェルプレートタイプ

https://www.gls.co.jp/brochure/individual_catalogues/MonoSpinProL.pdf

MonoSpin ProL の詳細はこちら↑

GL Sciences ジーエルサイエンス株式会社

本社 営業企画部
〒163-1130 東京都新宿区西新宿6丁目22番1号 新宿スクエアタワー30F
電話03(5323)6617 FAX03(5323)6622
webページ：https://www.gls.co.jp/ E-mail: info@gls.co.jp

Kyoto Institute of Nutrition & Pathology Inc.

株式会社 栄養・病理学研究所は「研究企画から学会発表／論文投稿まで」
様々な動物に対する高品質な分析／検査技術をもって，諸先生方のご研究をトータルにサポートいたします。

■ 試験研究・分析の受託 (担当，塚原：tsukahara@kyoto-inp.co.jp)
■ 動物病理検査受託 (担当，中村：nakamura@kyoto-inp.co.jp)
■ 病理組織標本作製 (担当，西川：nishikawa@kyoto-inp.co.jp)

・OCTコンパウンド包埋／薄切
・無包埋凍結標本／薄切 ⇐ イメージングMS/MS用薄切標本として好評！
・パラフィンブロック包埋／薄切
・各種特殊染色，免疫染色

弊社へは，イメージングMS/MS用標本作成のご依頼が急増しております。
脳を含む動物組織から植物組織まで幅広く対応しておりますので，
同標本作成をご検討されている方は是非一度下記へお問い合わせ下さい。

iNP 株式会社 栄養・病理学研究所

〒610-0231
京都府綴喜郡宇治田原町立川古池谷7-2
TEL(0774)99-7331／FAX(0774)99-7332
URL https://www.kyoto-inp.co.jp

株式会社 大阪ソーダ
機能材事業部 クロマトグラフィー営業部

〒550-0011 大阪市西区阿波座一丁目12番18号
TEL 06-6110-1598　FAX 06-6110-1612
e-mail: silica@osaka-soda.co.jp
URL: https://sub.osaka-soda.co.jp/HPLC

～研究者様へ徹底したサポートを追及～

株式会社ウインクスは、本年2020年に、おかげさまで創立30周年を迎えます。
今後もライフサイエンス研究や科学技術研究のお客様に最先端の機器、ソフトウェア、消耗品、試薬等をご提供して参ります。
お客様のニーズにお応えできるよう、国内外のメーカーの製品を幅広く取り扱い、最先端の情報提供、最適な製品販売と迅速なサービス・サポートを追求して参ります。

主要取扱メーカー

AMR エーエムアール株式会社　ThermoFisher SCIENTIFIC　CYPRESS INTERNATIONAL LIMITED

株式会社ウインクス winx
お問い合わせはこちら
TEL.072-631-8810　FAX. 072-631-8820
〒567-0037　大阪府茨木市上穂東町４－２４
http://www.winx-inc.co.jp