

第 48 回
日本医用マススペクトル学会年会

会期

2023 年 9 月 8 日(金)・9 日(土)

会場

愛知県産業労働センター ウィンクあいち

愛知県名古屋市中村区名駅 4 丁目 4-38

年会長

堤内 要

中部大学 応用生物学部 応用生物化学科 教授

第 48 回日本医用マスペクトル学会年会 実行委員会

年会長

堤内 要 (中部大学応用生物学部)

事務局

堤内 要 (中部大学応用生物学部)

実行委員

猪飼 誉友 (中部大学応用生物学部)

小川 匡之 (愛知医科大学医学部)

大矢 友子 (修文大学健康栄養学部)

近藤 文雄 (中部大学生命健康科学部)

(五十音順、敬称略)

目次

開催にあたって	1
年会案内	2
会場案内	5
参加者の皆様へ	7
日程表	11
プログラム	13
講演要旨	25
受賞講演	25
シンポジウム	31
一般演題	41
ランチョンセミナー	89
第 11 回医用質量分析認定士講習会並びに認定試験のご案内	93
学会賛助会員一覧	95
年会協賛企業一覧	96
ランチョンセミナー共催企業・展示企業・広告掲載企業一覧	97
第 49 回年会のお知らせ・奥付	

第 48 回日本医用マススペクトル学会年会 開催にあたって

第 48 回日本医用マススペクトル学会年会長
堤内 要

第 48 回日本医用マススペクトル学会年会を 2023 年 9 月 8 日（金）～9 日（土）に愛知県産業労働センター ウィンクあいち で開催させていただきます。多くの皆様に演題応募・参加登録頂きましたことに感謝申し上げます。また、残暑が続く季節と思いますので、クールビズでご参加下さい。

新型コロナウイルス感染症の流行拡大の影響により、2021 年度の第 46 回年会（仙台）、2022 年度の第 47 回年会（東京）とオンライン形式を基本として実施されましたが、第 48 回年会はようやく対面形式で実施できる運びとなりました。先の 2 つの年会ではそれぞれ眞野年会長（第 46 回）、東年会長（第 47 回）をはじめ関係者の皆様のご努力により、オンラインでありながらも大変有意義な議論が繰り広げられました。今年も、そのアクティビティを維持し、さらに高めることができるような、年會にできればと考えています。

本年会では、シンポジウムのテーマとして「アルツハイマー病早期検出への挑戦」、「細胞外小胞から得られる情報とその利用」、「代謝異常症化学診断の臨床質量分析最前線」という、最近進歩が著しい注目の話題を取り上げました。シンポジストとして、「アルツハイマー病早期検出への挑戦」では井之上浩一先生（立命館大学大学院薬学研究科・スポーツ健康科学総合研究所）、金子直樹先生（株式会社島津製作所田中耕一記念質量分析研究所）、「細胞外小胞から得られる情報とその利用」では落谷孝広先生（東京医科大学医学総合研究所）、華山力成先生（金沢大学ナノ生命科学研究所）、「代謝異常症化学診断の臨床質量分析最前線」では張春花先生（ミルスインターナショナル）、石毛信之先生（東京都予防医学協会小児スクリーニング科）、前田康博（藤田医科大学オープンファシリティセンター）、真嶋隆一（国立成育医療研究センター臨床検査部）にお越し頂きます。最前線で活躍されている先生方の研究をご紹介頂き、質量分析の可能性や最先端医療のさらなる発展に向けた議論を展開できればと考えております。

さらに 9 日には、MMS（Medical Mass Spectrometry 誌）優秀論文賞の辻光俊先生（Noster 株式会社）、奨励賞の鈴木隆佳先生（修文大学医療科学部）、松本勇賞の五十嵐一雄先生（医薬分析研究所）の受賞講演が行われます。先生方の受賞を心よりお祝い申し上げます。

また、第 11 回医用質量分析認定士の講習会を 9 月 9 日（土）に開催します。日々の技術革新により医療の様々な場面で質量分析がますます重要な役割を果たすことが見込まれることから、日本医用マススペクトル学会では医用質量分析認定士の経歴 10 年（更新 2 回）以上の医用質量分析認定士に対して、医用質量分析指導士の称号を付与することと致しました。これからますます活躍の場が広がる医用質量分析認定士の資格を新規および継続取得すべく、是非ご受講頂きたいと思っております。

最後になりますが、皆様にとって有意義な学術集会となるよう、実行委員一同精一杯準備を進めてまいります。多くの皆様のご参加を心よりお待ちしております。どうぞ宜しくお願い申し上げます。

年会案内

■ 会 期

2023年9月8日（金）・9日（土）

9月9日（土）に第11回医用質量分析認定士講習会と認定試験を実施します。

■ 年会長

堤内 要 （中部大学応用生物学部 教授）

■ 会 場

年 会：愛知県産業労働センター ウィンクあいち 5階小ホール

愛知県名古屋市中村区名駅4丁目4-38

懇親会：The TOWER TAVERN BAR & GRILL（ザ・タワー タヴァン バー&グリル）

愛知県名古屋市中村区名駅1-1-4

JRセントラルタワーズ タワーズプラザ レストラン街12階

講習会：愛知県産業労働センター ウィンクあいち 11階 1103会議室

理事会・社員総会：愛知県産業労働センター ウィンクあいち 12階 1201会議室

■ 事前参加登録参加証 受け取り

事前参加登録された方は、受付にて参加証（領収証付き）をお受け取り下さい。

学生・大学院生は「学生証」をご提示下さい。

■ 当日参加登録

受付にて参加費・懇親会費（ご希望の方）をお支払い頂き、参加証をお受け取り下さい。

参加証にはご自身でお名前とご所属をご記入下さい。会期中は常にご着用下さい。参加証を身につけていない場合は、スタッフがお声がけする場合がございます。

総合受付：ウィンクあいち 5階 ホワイトエ

受付時間：9月8日（金） 9:00 ～

9月9日（土） 9:00 ～

■ 年会参加費

	会員				非会員			
	一般		学生		一般		学生	
	事前	当日	事前	当日	事前	当日	事前	当日
参加費（円）	6,000	7,000	2,000	3,000	10,000	12,000	3,000	3,000
懇親会費（円）	9,000	10,000	9,000	10,000	10,000	12,000	10,000	12,000

学生・大学院生は「学生証」をご提示下さい。

抄録集は会員および事前登録された皆様には発送済みですが、購入をご希望の方は受付にてお買い求め下さい。一冊 5,000 円で販売します。

■ ランチョンセミナー

ランチョンセミナーは整理券制です。整理券は当日開催分のみの配布です。

整理券配布時間：9月8日（金） 9:20 ～ なくなり次第終了

9月9日（土） 9:20 ～ なくなり次第終了

■ 企業展示

小ホール2（ポスター会場）にて展示を行います。

展示時間：9月8日（金） 9:00 ～ 9日（土） 14:50 なるべく2日間展示して下さい。

■ 懇親会

懇親会の参加を希望される方は、参加受付の際に懇親会費をお支払い下さい。多数のご参加をお待ちしております。

日時：9月8日（金） 18:30 ～ 20:30

場所：The TOWER TAVERN BAR & GRILL（ザ・タワー タヴァン バー&グリル）

愛知県名古屋市中村区名駅 1-1-4

JR セントラルタワーズ タワーズプラザ レストラン街 12 階

■ クローク

開設時間：9月8日（金） 9:00 ～ 18:15

9月9日（土） 9:00 ～ 17:30

生鮮品・貴重品はお預かりできません。

クローク終了時間までに必ずお荷物をお引き取り下さい。オーバーナイトでのお預かりはお断り致します。

クローク札を紛失された場合は、身分証明書などお名前・ご連絡先を証明できるものをご提示頂きます。その際に荷物の中身を確認させて頂く場合もございますので、予めご了承ください。

■ 撮影・録音

会場内での撮影・録音は禁止です。ポスターセッションも同様に撮影禁止です。無断の撮影・録音を見かけた場合、スタッフがお声がけする場合があります。

ただし、事務局の公式記録および事務局が認めた取材等は除きます。記念撮影の場合も周りの事務局スタッフに念のため許可をお取り下さい。

■ その他

会場内では無料 Wi-Fi サービスをご利用頂けます。初期設定では承認操作が必要です。

おタバコは所定の喫煙スペース（9-12 階に設置）をご利用下さい。

会場内では携帯電話による通話はお控え下さい。マナーモードにするか、電源をお切り下さい。

会場内に託児スペースは用意していませんが、会場近くの託児所を案内しておりますので、年会事務局までお問い合わせ下さい。

会場案内



愛知県産業労働センター ウィンクあいち

〒450-0002 愛知県名古屋市中村区名駅4丁目4-38

TEL: 052-571-6131

FAX: 052-571-6132

アクセス

名古屋駅（JR・地下鉄・名鉄・近鉄）より

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

JR(東海道新幹線)をご利用の場合

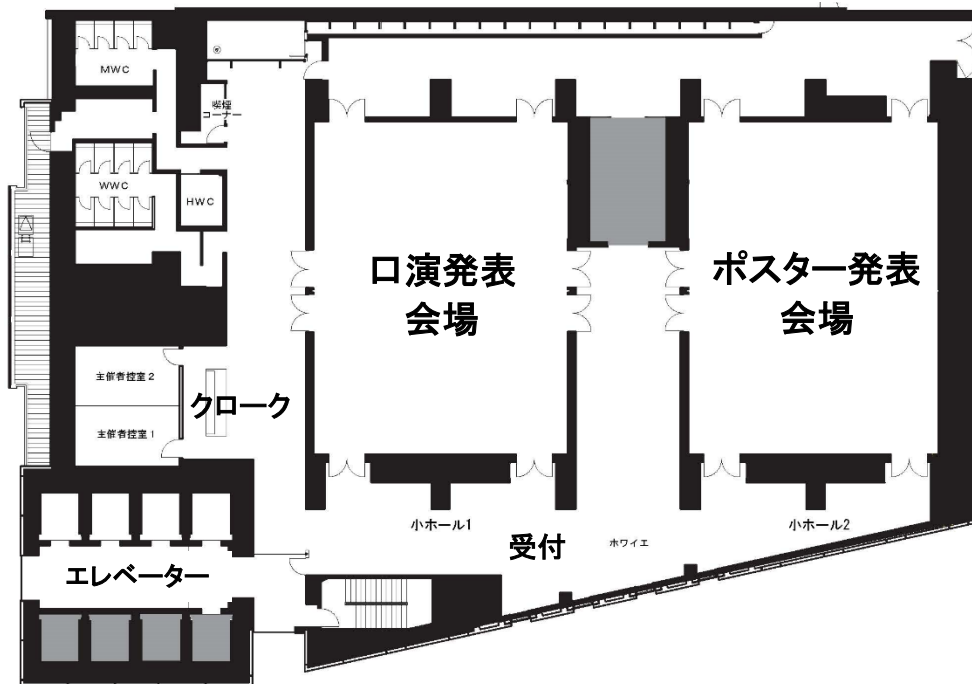
- 東京駅から：約97分
- 新大阪駅から：約51分

懇親会会場

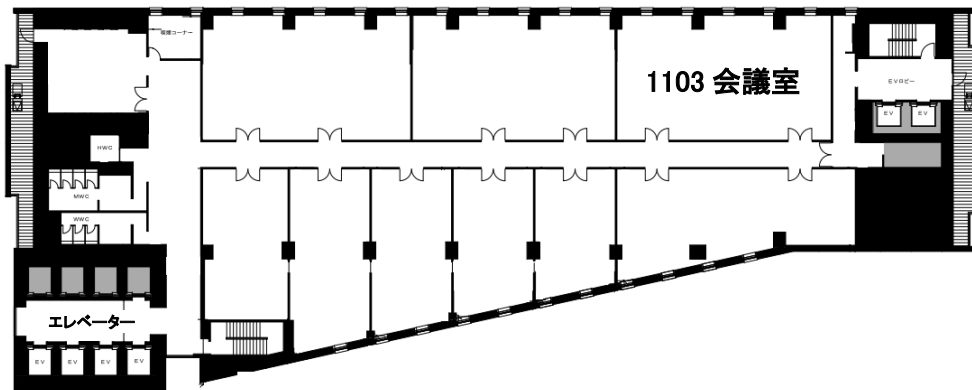
- The TOWER TAVERN BAR & GRILL (ザ・タワー タヴァン バー&グリル)
〒450-6012 愛知県名古屋市中村区名駅1-1-4
JRセントラルタワーズ タワーズプラザ レストラン街12階

会場案内図

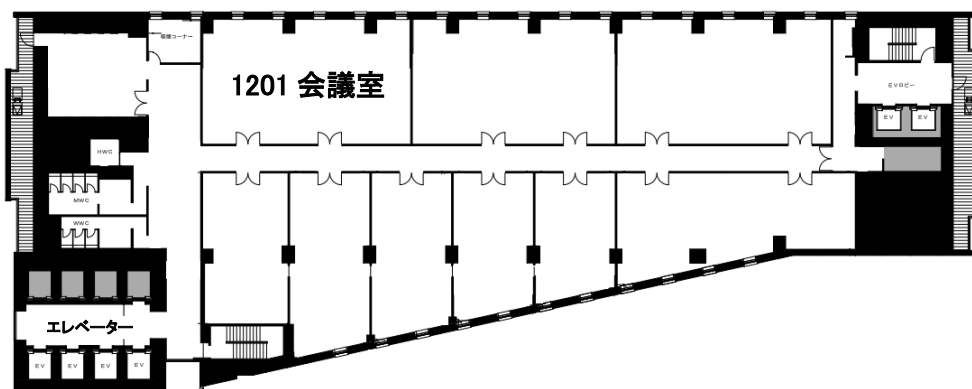
5階 … 受付、口演発表、ポスター発表、企業展示



11階 … 医用質量分析認定士講習会・認定試験(1103会議室)



12階 … 理事会、社員総会(1201会議室)



参加者の皆様へ

【座長の皆様へ】

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

【シンポジウム演者の皆様へ】

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

発表要領

- 基本のご自身の PC を使用しての発表となります。発表会場にご自身の PC を持参し、会場 PC 係にお声がけ下さい。
- ご希望により会場で用意する PC での映写も可能です。その場合は事前にデータをお送り下さい。また、万一のトラブルに備え、当日も USB フラッシュメモリでデータをご持参下さい。その際は、ご自身で USB フラッシュメモリのウイルスチェックを事前にお済ませ願います。
- プロジェクターへの試写は発表会場の休憩時間に行ってください。受付での試写は行いません。試写は、混雑やトラブル回避のため会場内の PC 係に予めお声がけ下さい。発表会場の休憩時間の確認は、抄録集または第 48 回日本医用マンスペクトル学会年会ホームページをご覧ください。
- 外部出力端子は HDMI および VGA (D-sub15pin) が使用できます。変換ケーブルが必要な機種 (Mac 等) をご使用の場合は、変換ケーブルを必ずご持参下さい。
- 発表中にスクリーンセーバーや省電力モードにならないよう、事前に設定を済ませて下さい。個々の PC や OS により設定が異なります。
- 画像解像度は XGA (1024x768) を基本とし、一面投影となります。これより大きい場合、スライドの周囲が切れてしまうことがあります。

- 音声の出力はできません。
- 各演台には電源コンセントを用意しております。PC 電源ケーブルは各自ご持参下さい。バッテリーで発表される場合、電池切れや省電力モードにならないようご注意ください。
- ご持参の PC が不調の場合は、会場で用意する PC で映写致します。会場でも USB フラッシュメモリを用意します。必要時は会場 PC 係にお申し出下さい。
- 会場で用意する PC は OS が Windows 11、プレゼンテーションソフトは Microsoft PowerPoint 2019 がインストールされています。

利益相反(COI)状態開示のお願い

- 利益相反の有無に関わらず、講演者の皆様に、研究内容に関する利益相反状態開示を行って頂きます。
- ひな形は年会ホームページからダウンロードして下さい。

【一般演題の皆様へ】

- 一般演題の発表は全てポスター発表となりますが、今年度の新しい試みとして、口頭によるショートプレゼンテーションも実施致します。
- ショートプレゼンテーションの発表時間は1分30秒です。
- ショートプレゼンテーションはPowerPointを用いて行います。ご自身のポスターに少しでも多くの聴講者が集まるような、要点を絞ったインパクトのあるプレゼンをして下さい。
- 筆頭演者は本学会会員である必要があります。
- これまでに本学会会員であっても会費未納入者は筆頭演者としての発表資格がありませんので、早急に未納分と本年度の年会費を払い込み下さい。
- 共同演者および参加者は非会員も可能です。
- 第48回年会では「若手優秀ポスター賞」を用意しております。2023年4月1日時点で年齢35歳以下の若手研究者が筆頭演者であり、申込時に若手優秀ポスター賞へのエントリーを希望した方が対象です。この中から、厳正なる審査の上、受賞者を選定します。結果は9月9日（土）17:00からの閉会式で発表し、授与式を執り行います。

発表要領

- 当日ご来場の際に、総合受付にて受付をお願い致します。
- ご自身の演題番号を確認し、パネルにポスターを貼ってください。貼付けに必要なテープは事務局で用意します。画鋏は使えませんのでご了承下さい。
- 会期中2日間とも展示をお願いします。
- 発表日時は演題番号が奇数か偶数かで異なります。具体的な日時は次の通りです。

演題番号が奇数の方

ショートプレゼンテーション1： 9月8日（金）12:50 ～ 13:40

ポスターセッション1： 9月8日（金）13:50 ～ 15:20

演題番号が偶数の方

ショートプレゼンテーション2： 9月9日（土）11:00 ～ 11:50

ポスターセッション2： 9月9日（土）13:10 ～ 14:40

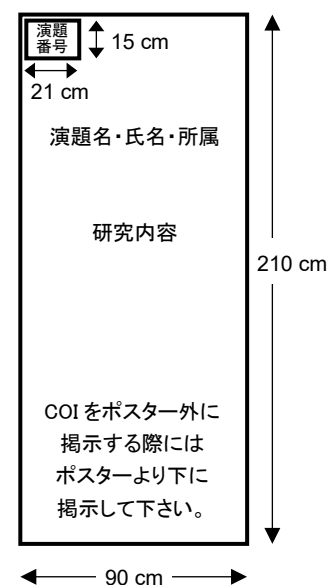
- ショートプレゼンテーションではスライド操作は実行委員会で行います。スライドを送る際にご指示下さい。
- ショートプレゼンテーションでは時間が来たら、説明が途中であっても終了して頂きますのでご了承下さい。演壇横には、次の演題発表者3名が常に待機するようにお願い致します。
- ポスター発表の時間の前に、ポスター発表者は会場受付にて演者リボンを受け取り、装着のうえ、ポスター前にお立ち下さい。
- ポスター発表は自由討論形式です。セッション開始時間にご自身のポスターの前に立ち、研究内容を説明したり、参加者からの質問に答えたり、討論を行って下さい。

ショートプレゼンテーションスライド作成要領

- スライドファイルはPowerPointで作成して下さい。
- スライドのサイズは「標準（4:3）」を使用して下さい。
- 1枚目のスライドには必ず演題番号、演題名、所属、そして利益相反の開示を示して下さい。見本を年会ホームページに示しておきますので、ご参照下さい。
- トラブルを防止するため、アニメーションの設定は「なし」でお願いします。
- ショートプレゼンテーションの発表時間は1分30秒です。事前に発表の予行演習をして頂き、時間内に発表できる内容でスライドファイルを作成して下さい。

ポスター作成要領

- ポスターパネル（横90cm x 縦210cm）内に収まるようなサイズでポスターを作成下さい。
- ポスターパネル上部左端に演題番号を示した掲示（横21cm x 縦15cm）を実行委員会の方で貼付けますので、このスペースを考慮してポスターを作成して下さい。
- ポスターには演題名、所属、氏名を必ず明記して下さい。
- 演題は日本語と英語を併記して下さい。
- 図中の文字と図のキャプションは必ず英語で記載して下さい。
- 利益相反（COI）の有無に関わらず、筆頭演者および講演者の皆様に、研究内容に関する利益相反状態開示を行って頂きます。全ての発表者に対して開示をお願いします。
- ひな形は年会ホームページからダウンロードして下さい。



ポスターの貼付けと撤去

- 会期中 2 日間とも展示をお願いします。
貼付け時間：9 月 8 日（金）9:00 ～
撤去時間：9 月 9 日（土）14:40 ～
- 9 月 9 日（土）15:30 を過ぎても残っているポスターは事務局で撤去致します。

若手優秀ポスター賞について

- 本年会では、優れたポスター発表を行った若手研究者（35 歳以下）に対して「若手優秀ポスター賞」を授与します。
- 年會に参加した理事、評議員が審査員を務めます。審査員の先生方には年會事務局より審査依頼を別途連絡致します。
- 9 月 9 日（土）17:00 からの閉會式にて、若手優秀ポスター賞受賞者を発表します。また、後日年會ホームページにて受賞者をお知らせします。

審査基準

- 研究が有用であるか。
- 新規性があるか。
- 独創性があるか。
- 実験方法は妥当であるか。
- 科学的な錯誤がないか。
- 用語が正しく使用されているか。
- 説明が簡潔でわかりやすいか。
- 質問に対する回答が簡明かつ的確であるか。

2日目 9月9日(土)

小ホール1

小ホール2

学会行事

9:00-

9:00 受付開始

9:20-10:50

MMS 優秀論文賞受賞講演

奨励賞受賞講演

松本勇賞受賞講演

10:00-

11:00-

11:00-11:50

ショートプレゼンテーション 2

12:00-

12:00-13:00

ランチョンセミナー

日本ウォーターズ株式会社

13:00-

14:00-

15:00-

14:50-16:50

シンポジウム 3

代謝異常症化学診断の

臨床質量分析最前線

16:00-

17:00-

17:00-17:15 閉会式

若手優秀ポスター賞授与式

9:00-

ポスター展示

13:10-14:40

ポスターセッション 2

9:20-11:50

医用質量分析認定士講習会

13:10-14:00

医用質量分析認定士講習会

14:15-15:00

医用質量分析認定士試験

プログラム

1日目 9月8日(金)

口演会場 小ホール1

9: 35 - 9: 40 開会の辞

9: 40 - 11: 20 シンポジウム1
アルツハイマー病早期検出への挑戦

座長：大矢 友子（修文大学）

S1-1 LC-MS メタボロミクスによる認知症バイオマーカー探索から Well-being
健康・未病へ

井之上 浩一

立命館大学大学院薬学研究科・スポーツ健康科学総合研究所

S1-2 血液バイオマーカー測定における質量分析の貢献

金子 直樹

株式会社島津製作所田中耕一記念質量分析研究所

11: 25 - 11: 55 理事会

12: 00 - 12: 30 社員総会(評議員会)

いずれも 1201 会議室

12: 35 - 12: 50 新理事会

11: 40 - 12: 40 ランチョンセミナー

共催：島津製作所

L-1 iMScope を用いた生体組織における質量分析イメージングの潮流
－ 分布可視化から定量イメージング －

新聞 秀一

大阪大学大学院工学研究科

12: 50 - 13: 40 一般演題(奇数番号) ショートプレゼンテーション1

座長：猪飼 誉友（中部大学）

13: 50 - 15: 20 一般演題(奇数番号) ポスターセッション1 小ホール2

口演会場 小ホール1

15: 30 – 16: 00 会員集会

16: 00 – 18: 00 シンポジウム2

細胞外小胞から得られる情報とその利用

座長：小川 匡之（愛知医科大学）

S2-1 細胞外小胞による疾患の診断と治療

落谷 孝広

東京医科大学医学総合研究所

S2-2 デザイナーエクソソームによる免疫制御とその品質管理

華山 力成

金沢大学ナノ生命科学研究所

18: 30 – 20: 30 懇親会

The TOWER TAVERN BAR & GRILL

JR セントラルタワーズ

タワーズプラザ レストラン街 12 階

9: 00 – 18: 10 企業展示

小ホール2

大塚製薬株式会社

シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社

株式会社島津製作所

大陽日酸株式会社

林純薬工業株式会社

日本ウォーターズ株式会社

Noster 株式会社

2日目 9月9日(土)

口演会場 小ホール1

9: 20 - 10: 50 受賞講演

座長：有田 誠（慶應義塾大学），近藤 文雄（中部大学）

MMS 優秀論文賞受賞講演

A-1 Comprehensive analysis of fatty acid metabolites produced by gut microbiota using LC-MS/MS-based lipidomics

辻 光倭

Noster 株式会社

奨励賞受賞講演

A-2 法医中毒分野における質量分析計を用いた血中薬毒物分析

鈴木 隆佳

修文大学医療科学部

松本勇賞受賞講演

A-3 生体試料中微量化合物の高感度分析法の開発と代謝毒性学的研究
—脳神経毒性を有する抗精神薬由来カチオン性化合物生成機構の解析—

五十嵐 一雄

医薬分析研究所

11: 00 - 11: 50 一般演題(偶数番号) ショートプレゼンテーション2

座長：猪飼 誉友（中部大学）

12: 00 - 13: 00 ランチョンセミナー

共催：日本ウォーターズ

L-2 タンデム四重極質量分析計のMRMを用いた高感度、高速質量イメージング

窪田 雅之

日本ウォーターズ株式会社クリニカル事業部

13: 10 - 14: 40 一般演題(偶数番号) ポスターセッション2 小ホール2

14: 50 – 16: 50 シンポジウム3

代謝異常症化学診断の臨床質量分析最前線

座長：重松 陽介（福井大学）

S3-1 メタボローム解析による先天代謝異常症の臨床診断支援

張 春花

ミルスインターナショナル研究開発部

S3-2 新生児マススクリーニングへの質量分析法による診断支援

石毛 信之

東京都予防医学協会小児スクリーニング科

S3-3 質量分析法による先天代謝異常症の酵素機能評価

前田 康博

藤田医科大学オープンファシリティセンター

S3-4 ライソゾーム病スクリーニング・診断での質量分析の役割

真嶋 隆一

国立成育医療研究センター臨床検査部

17: 00 – 17: 15 閉会式、若手優秀ポスター賞授与式

9: 00 – 15: 30 企業展示

小ホール2

大塚製薬株式会社

シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社

株式会社島津製作所

大陽日酸株式会社

林純薬工業株式会社

日本ウォーターズ株式会社

Noster 株式会社

一般演題

ショートプレゼンテーション	小ホール1
奇数番号 ショートプレゼンテーション1	9月8日(金) 12:50 - 13:40
偶数番号 ショートプレゼンテーション2	9月9日(土) 11:00 - 11:50

ポスター展示 9月8日(金) 9:00 - 9日(土) 14:40	小ホール2
ポスターセッション	
奇数番号 ポスターセッション1	9月8日(金) 13:50 - 15:20
偶数番号 ポスターセッション2	9月9日(土) 13:10 - 14:40

- P-01 オランザピンとその3種代謝物の血液・尿中における安定性の分析**
○南方 かよ子¹, 野澤 秀樹¹, 山岸 格¹, 長谷川 弘太郎¹, 三由 尚知¹,
鈴木 雅子¹, 北本 卓也², 近藤 未菜子², 鈴木 修¹
¹浜松医大法医学, ²浜松医大先進機器共用推進部
- P-02 簡便な薬毒物検査を指向した乾燥ろ紙血の法中毒分野への応用**
○西尾 忠, 東海林 洋子, 星 智昭, 新井 智美, 野上 誠
帝京大学医学部法医学講座
- P-03 固相ミニカートリッジ Smart-SPE を前処理法に用いた LC-MS/MS による
血中薬物同時定量法**
若手 ○石原 みゆ¹, 本多 祥子¹, 梶本 葵里¹, 上出 真琴¹, 寿台 直人¹,
上山 純², 鈴木 隆佳¹
¹修文大学医療科学部, ²名古屋大学大学院医学系研究科医療技術学専攻病態解析学
分野
- P-04 新規前処理法を用いた尿中薬毒物の LC-MS/MS 分析法の開発
— 遺伝子組換え β グルクロニダーゼによる加水分解の検討 —**
○松尾 友仁^{1,2}, 小川 匡之^{1,2}, 岩井 雅枝^{1,2}, 久保 勝俊^{1,3}, 近藤 文雄^{1,4},
妹尾 洋^{1,2}
¹愛知医科大学医学部法医学講座, ²愛知医科大学医学部薬毒物分析センター, ³愛知学
院大学歯学部口腔病理学・歯科法医学講座, ⁴中部大学生命健康科学部生命医学科

- P-05 アルキルアミン含有三環系医薬品化合物と $\alpha\omega$ -アルキレンジハライドとの反応およびこれを利用した機能性材料への展開**
 ○林 英樹¹, 小泉 武昭², 小川 匡之^{3,4}, 妹尾 洋^{3,4}
¹名古屋市工業研究所, ²静岡理工科大学先端機器分析センター, ³愛知医科大学医学部法医学講座, ⁴愛知医科大学医学部薬毒物分析センター
- P-06 窒素キャリアを使用したガスクロマトグラフィー質量分析法の検討(第2報:覚醒剤分析)**
 ○嘉数 一路^{1,2}, 福家 千昭³, 池松 夏紀², 二宮 賢司², 深沢 真希²
¹沖縄県科捜研, ²琉球大・法医, ³横浜市大・法医
- P-07 ポリアミン類を用いた液状検体中に含まれる細胞外小胞の回収に関する検討**
 ○菊池 有純^{1,2}, 成瀬 有純¹, 野中 健一^{1,3}, 森 基希², 加納 圭子⁴, 三城 恵美⁴, 堤内 要²
¹大雄会医科学研究所, ²中部大学応用生物学部, ³総合大雄会病院外科, ⁴名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所
- P-08 質量分析法によるエベロリムス及びミコフェノール酸測定キットの性能評価
若手**
 ○鈴木 瑛真¹, 小林 亮¹, 鳴海 菜月¹, 遠藤 明美¹, 高橋 聡²
¹札幌医科大学附属病院検査部, ²札幌医科大学医学部感染制御・臨床検査医学講座
- P-09 エクソソームを用いた自閉スペクトラム症の診断法及びバイオマーカーの探索
若手**
 ○川口 万太郎^{1,2}, 杉浦 圭^{2,3}, 牧之段 学⁴, 星野 歩子²
¹東京工業大学生命理工学院, ²東京大学先端科学技術研究センター, ³東京大学大学院工学系研究科, ⁴奈良県立医科大学
- P-10 LC-MS/MS を用いた便中ビタミン B 群測定法の開発
若手**
 ○高目 楓華¹, 竹村 呼², 野崎 七美², 平山 正昭¹, 上山 純¹
¹名古屋大学大学院医学系研究科, ²名古屋大学医学部保健学科
- P-11 血清中の細胞外小胞のプロテオーム解析による膵臓癌の新規診断マーカーの探索
若手**
 ○岡野 朱里¹, 高野 重紹², 粕谷 葉子³, 村岡 賢³, 大塚 将之², 朝長 毅³, 足立 淳³, 曾川 一幸¹
¹麻布大学, ²千葉大学, ³医薬基盤・健康・栄養研究所

- P-12 職業性化学物質曝露の生物学的指標スクリーニング法の開発
—尿中揮発性物質および半揮発性物質—**
- 若手** ○棚橋 祐斗¹, 北原 悠吾¹, 小田切 俊樹¹, 竹内 靖人², 佐久井 徳広³, 齋藤 勲¹, 上山 純¹
- ¹名古屋大学・院・医・総合保健学, ²中央労働災害防止協会・大阪労働衛生総合センター, ³アジレントテクノロジー株式会社
- P-13 Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture 法による膵臓癌の
早期新規診断マーカーの解析**
- 若手** ○武富 春香¹, 高野 重紹², 大塚 将之², 曾川 一幸¹
- ¹麻布大学, ²千葉大学
- P-14 尿メタボローム解析による尿オロト酸上昇疾患の鑑別診断**
- 金 明姫、張 春花、阮 宗海、王 旭陽、唐 劍慈
- ミルスインターナショナル 検査・研究開発部
- P-15 唾液中有機酸分析におけるいくつかの同位体代謝物について**
- 中村 勇¹, 岩本 浩二², 佐藤 瑞穂³, 阿部 尚美¹, 深谷 雅博¹, 中山 智博¹
- ¹茨城県立医療大学, ²東京保健医療専門職大学, ³(株)生体分子計測研究所
- P-16 スフィンゴミエリン合成酵素阻害の評価と海藻抽出物のスクリーニングの
ための LC/MS アッセイ法の開発: 包括的な in vitro および in silico
アプローチ**
- 若手** ○ジャヤシャンカール J¹, シダバセーブ ゴウダ B ゴウダ^{1,2}, ディビヤヴァニ ゴウダ², 千葉 仁³, シューピン ホイ²
- ¹北海道大学大学院国際食糧資源学研究科, ²北海道大学保健科学部, ³札幌保健科学大学栄養学科
- P-17 細胞内代謝フラックス解析の自動化**
- 島崎 譲¹, 渋谷 啓介¹, 河原井 雅子²
- ¹(株)日立製作所 研究開発グループ, ²(株)日立ハイテク モノづくり・技術統括本部
- P-18 LC/MS/MS によるキシレン、スチレン、トルエン尿中代謝物の同時定量法
開発**
- 本田 有紀、佐藤 守、森 正敏
- 株式会社エスアールエル 研究開発本部 技術推進部 臨床開発課

- P-19 GSMS メタボローム分析による ALDH7A1 変異の化学診断バイオマーカーの同定と鑑別診断**
○阮 宗海, 張 春花, 王 旭陽, 金 明姫, 趙 寧, 謝 宏傑, 唐 劍慈, 万 婷婷
ミルスインターナショナル
- P-20 LC-MS/MS を用いた血中メラトニンとカフェイン, パラキサンチン濃度の定量法の開発**
若手 ○島崎 隼人, 高野 大輝, 尾川 慎悟, 深江 桃花, 秋山 遥香, 五十嵐 俊二, 降幡 知己, 柴崎 浩美, 横川 彰朋
東京薬科大
- P-21 慢性腎臓病(CKD)における硫黄代謝物に基づく呼気オミックス**
若手 ○逸見 佳宣¹, 緒方 星陵², 井田 智章², 三枝 大輔³, 魏 范研⁴, 赤池 孝章², 佐藤 恵美子¹
¹ 東北大学大学院薬学研究科臨床薬学部分野, ² 東北大学大学院医学系研究科環境医学分野, ³ 帝京大学薬学部臨床分析学研究室, ⁴ 東北大学加齢医学研究所モドミクス医学分野
- P-22 オンライン前処理装置を用いた固相誘導体化法による血漿メタボロミクス分析**
若手 ○新川 翔也, 浅井 智紀, 佐々野 僚一
株式会社アイスティサイエンス
- P-23 水素をキャリアガスとして用いた GC/MS によるがん細胞のメタボローム解析**
○加納 圭子¹, 佐藤 伸哉¹, 佐藤 龍洋², 三城 恵美¹
¹ 名古屋大学トランスフォーメティブ生命分子研究所, ² 愛知県がんセンター研究所
- P-24 LC-MS/MS による血中サクシニルアセトン測定法の改良**
○重松 陽介^{1,2}, 湯浅 光織¹, 大嶋 勇成¹
¹ 福井大学医学部小児科学, ² 宇治徳洲会病院小児科
- P-25 メタボローム解析によるアミノアシラーゼ 1 欠損症 2 例の化学診断**
若手 ○唐 劍慈, 張 春花, 阮 宗海, 金 明姫, 王 旭陽, 万 婷婷, 趙 寧
ミルスインターナショナル 研究開発部
- P-26 GC-MS を用いた ABCA1 および ABCA7 遺伝子欠損マウスの血清, 肝臓 および糞便に含まれるヒドロキシコレステロールの定量分析**
若手 ○城戸 瞭, 西田 千広, 猪飼 誉友, 堂前 純子, 堤内 要
中部大学応用生物学部

- P-27 ウサギアレルギーにおける新規アレルゲンタンパク質解析**
若手 ○田崎 彩花¹, 藤田 雄治², 宮本 学², 小寺 義男³, 吉原 重美², 曾川 一幸¹
¹麻布大学, ²獨協医科大学, ³北里大学
- P-28 血液培養陽性検体の MALDI-TOF MS による直接同定法を抗菌薬選択の観点から評価する**
○梅村 啓史¹, 西山 宏幸², 清野 高吾², 谷道 由美子², 土田 祥央¹, 中山 智祥^{1,2}
¹ 日本大学医学部病態病理学系臨床検査医学分野, ² 日本大学医学部附属板橋病院臨床検査部
- P-29 牛乳に含まれる主要アレルゲンの低アレルゲン化に関する検討**
若手 ○野口 葵衣¹, 藤田 雄治², 宮本 学², 吉原 重美², 曾川 一幸¹
¹麻布大学, ²獨協医科大学病院
- P-30 MALDI イメージング質量分析によるラット歯胚におけるリン脂質 PC(30:0) および PC(32:1)の局在可視化**
○矢尾 育子^{1,2}, 紺野 在^{2,3}, 笹野 泰之⁴
¹関西学院大学生命環境学部, ²浜松医科大学光先端医学教育研究センター, ³浜松医科大学微生物・免疫学講座, ⁴東北大学大学院歯学研究科顎口腔組織発生学分野
- P-31 もやしアレルギーにおける新規アレルゲンタンパク質解析**
若手 ○村上 真祐乃¹, 藤田 雄治², 宮本 学², 小寺 義男³, 吉原 重美², 曾川 一幸¹
¹麻布大学, ²獨協医科大学, ³北里大学
- P-32 安定同位体トレーサー法による体内動態解析を目指した GC-MS によるパルミチン酸定量法の確立**
若手 ○佐藤 修輔¹, 長谷川 弘², 横川 彰朋¹, 山本 安則³, 三宅 映己³, 日浅 揚一³, 降幡 知巳¹, 柴崎 浩美¹
¹東京薬科大学個別化薬物治療学教室, ²東京薬科大学病態生理学教室, ³愛媛大学大学院消化器・内分泌・代謝内科学
- P-33 エストラジオール骨格を含む特異的プロダクトイオンを生成する誘導体化法とそれを用いた血中エストラジオールの高精度 LC/ESI-MS/MS 定量法**
若手 ○金子 穂野香¹, 松岡 大暉¹, 野津 吉友², 小林 弘典², 石毛 崇之³, 東達也¹
¹東京理大薬, ²島根大病院, ³千葉大病院

- P-34 液体クロマトグラフィー質量分析計を用いた食品中の新規脂質の探索**
 ○ボメゴウダ シッダバサーブゴウダ^{1,2}, Lipsa Rani Nath², Yusuke Minami³, Divyavani Gowda¹, Hitoshi Chiba³, Shu-Ping Hui¹
¹北海道大学 保健医療学, ²北海道大学大学院国際食資源学院, ³北海道大学大学院保健科学研究所, ⁴札幌保健医療大学栄養学科
- P-35 非標的 LC/MS を用いたナマコ中の健康機能性脂質の分析と同定**
若手 ○南 雄介¹, ボメゴウダ シッダバサーブゴウダ^{1,2}, デヴィヤヴァニ ゴウダ¹, 千葉 仁志³, 恵 淑萍¹
¹北海道大学大学院保健科学研究所, ²北海道大学大学院国際食資源学院, ³札幌保健医療大学
- P-36 ノンターゲット LC/MS ベースのソルガム品種の包括的な脂質プロファイリング**
若手 ○リプサ・ラニ・ナス¹, シッダバサーブ・ゴウダ・B・ゴウダ^{1,2}, トーマス・ロバーツ⁴, ディビヤヴァニ・ゴウダ², 千葉 仁志³, シューピン・ホイ²
¹北海道大学大学院国際食糧資源学研究所, ²北海道大学保健科学部, ³札幌保健科学大学栄養学科, ⁴シドニー大学生命環境科学部
- P-37 尿中クレアチニン低値を主訴として診断に至ったアルカプトン尿症**
若手 ○小林 愛希¹, 堤 晴菜¹, 三佐和 由吏¹, 清水 宏美¹, 瓊田 梓沙¹, 井上 かおり¹, 田代 恭子¹, 渡邊 順子^{1,2}
¹久留米大学医学部質量分析医学応用研究施設, ²久留米大学医学部小児科
- P-38 TriVersa NanoMate を用いた On-Line Fraction および Infusion Nano-Spray によるスフィンゴ糖脂質の構造決定系の構築**
 ○藤原 優子¹, 濱 弘太郎¹, 下澤 伸行², 横山 和明¹
¹帝京大学薬学部, ²岐阜大学科学研究基盤センター
- P-39 培養ヒト肝細胞から放出される VLDL 中の TG 及び TG-OOH の解析**
若手 ○益子 真明¹, 櫻井 俊宏¹, 山端 ありさ¹, 佐崎 生¹, 茂木 すみれ¹, 千葉 仁志², 恵 淑萍¹
¹北海道大学大学院保健科学研究所, ²札幌保健医療大学
- P-40 ヒューマングライコームプロジェクト:ヒト疾患糖鎖関連カタログを作成する 迅速血漿グライコプロテオミクス基盤の検討**
 半澤 健¹, 村上 怜子¹, 他那¹, 早川 伸樹², 鈴木 敦詞³, 門松 健治⁴,
 ○中嶋 和紀¹
¹岐阜大学・糖鎖生命コア研究所, ²名城大学・薬, ³藤田医科大学病院・内分泌代謝糖尿病内科, ⁴名古屋大学・糖鎖生命コア研究所

- P-41 プロテオーム解析によるネコ慢性腎症の新規診断マーカーの探索**
若手 ○清水 百梨¹, 前田 浩人², 小寺 義男³, 渡辺 俊文⁴, 曾川 一幸¹
¹麻布大学, ²前田獣医科医院, ³北里大学, ⁴DVMs どうぶつ医療センター横浜
- P-42 マイコトキシンの定量的曝露評価に向けた文献調査および尿中高感度測定法の開発**
若手 ○田島 稔基¹, 野呂 涼音², 斎藤 勲¹, 上山 純¹
¹名古屋大学大学院医学系研究科, ²名古屋大学医学部保健学科
- P-43 骨粗鬆症ラットにおけるエルゴステロールのビタミン D およびコレステロール合成経路に対する効果**
○桑原 直子, 神田 循吉, 佐藤 眞治, 中川 沙織
新潟薬科大学
- P-44 質量分析と骨再生メカニズム・骨膜における F-box タンパク質の役割**
○秋山 真理
大阪歯科大学・歯科理工学講座
- P-45 白金族触媒を用いた 6-ヒドロキシ-3'-プロピル-[1,1'-ビフェニル]-3-プロパン酸の H-D 交換反応**
若手 ○伊藤 航平¹, 富田 浩嗣^{2,3}, 中島 健一³, 井上 誠³, 猪飼 誉友¹, 堤内 要¹
¹中部大学応用生物学部, ²愛知県衛生研究所, ³愛知学院大学薬学部
- P-46 LC-MS/MS を用いた抗体結合酸化鉄ナノ粒子の特性解析**
若手 ○森 基希¹, 佐々木 健登¹, 菊池 有純^{1,2}, 成瀬 有純², 河合 憲康³, 堤内 要¹
¹中部大学応用生物学部, ²大雄会医科学研究所, ³名古屋市立大学医学部附属みどり市民病院

講演要旨

受賞講演

MMS 優秀論文賞受賞講演

奨励賞受賞講演

松本勇賞受賞講演

座長: 有田 誠(慶應義塾大学), 近藤 文雄(中部大学)

Comprehensive analysis of fatty acid metabolites produced by gut microbiota using LC-MS/MS-based lipidomics

○Kowa Tsuji^{1,2,3}, Wataru Shimada⁴, Shigenobu Kishino⁴, Jun Ogawa⁴, Makoto Arita^{1,2}

¹Research Center for Drug Discovery, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Keio University

²Laboratory for Metabolomics, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences

³R&D, Noster Inc.

⁴Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University

【目的】

腸内細菌は宿主と異なる脂肪酸代謝経路を持つことが知られており、リノール酸代謝物の1つである 10-hydroxy-*cis*-12-octadecenoic acid (HYA)をはじめとする代謝物は様々な生理機能を有することが知られている。これら代謝物を生体内で包括的にモニターすることは、生理的意義やバイオマーカーを探る上で重要である。これまでに、一部のリノール酸及び α -リノレン酸代謝物を対象とする分析方法が構築されている。本研究では、リノール酸及び α -リノレン酸由来代謝物の測定対象を拡張し、 γ -リノレン酸を基質とする代謝物までを包括的に解析する手法の確立を目的とした。

【方法】

微生物合成及び化学合成を用いて脂肪酸代謝物 45 種の標準品を合成し、液体クロマトグラフ三連四重極型質量分析計によるターゲット解析の手法を構築した。分析条件として液体クロマトグラフのカラム及び移動相条件を最適化し、質量分析計の Multiple reaction monitoring (MRM)条件の最適化を行った。既知濃度の標準溶液を用いて分析の精度・真度について評価した。構築した分析法を、抗生剤投与・非投与群のマウス糞便及び異なる特徴を持つ油（サフラワー油・亜麻仁油・月見草油）をそれぞれ摂取させた際のマウス糞便及び生体組織試料に適用した。

【結果】

LC 及び MS 条件の最適化により、多くの代謝物を個々に検出することを可能にした。定量下限は 0.03~10pg/ μ L の範囲であった。分析の精度及び真度について、精度は 80.3~119.6%の範囲であり、真度は 19.1%以下を示した。本手法を抗生剤投与マウスの糞便に適用したところ、非投与群と比較して代謝物量が減少したことから、糞便中の代謝物が腸内細菌依存的に産生されていることを確認した。異なる油を摂取させた際の代謝物プロファイルについて、特徴的な脂肪酸を含む亜麻仁油や月見草油などの摂取と糞便中の α -リノレン酸代謝物及び γ -リノレン酸代謝物レベルの相関が確認された。また、糞便の特徴的な代謝物プロファイルが血漿をはじめとする生体内の代謝物プロファイルに反映されていることを明らかにした。

【結論】 測定対象として腸内細菌が産生するリノール酸及び α -リノレン酸由来代謝物の拡張に加え、 γ -リノレン酸を基質とする脂肪酸代謝物まで包括的に解析することを可能にした。本分析法は、宿主の健康や疾病を制御する腸内細菌由来脂肪酸代謝物の生理学的意義を解明するために役立てられることが期待される。

法医中毒分野における質量分析計を用いた血中薬毒物分析

鈴木隆佳

修文大学医療科学部臨床検査学科

Forensic toxicological analysis of drugs and poisons in whole blood by mass spectrometry

Takayoshi Suzuki

Department of Medical Technology, Shubun University

私は修文大学で勤務する以前、愛知医科大学医学部法医学講座に所属し、法医解剖と薬毒物分析、及び薬毒物分析に関する研究に従事していた。法医学では正確な死因診断のために解剖による肉眼的な初見のみならず、諸検査の結果の総合的判断が必要とされる。その一つとして解剖時に得られる血液、尿などの体液や、肝臓、骨格筋などの組織を試料とした薬毒物検査が行われている。特に覚醒剤や抗うつ薬、抗不安薬、睡眠薬などの向精神薬、糖尿病治療薬、降圧薬、農薬、自然毒など中毒症状を呈する、また死亡する可能性がある物質を対象として、LC-MS/MS や GC-MS/MS などの質量分析計を用いて分析を行っている。測定試料として最も重要と考えられるのは血液であるが、解剖で得られた血液は死後経過時間が長いことや、遺体を冷蔵保存している場合があるなど、様々な遺体の保存状況によって、得られる血液は腐敗や濃縮、溶血の影響が見られ、血清を得ることが難しい。そのため、全血を試料とした分析が一般的である。全血は血清に比べて赤血球などの細胞成分や蛋白質、リン脂質などが多く含まれており除去すべき夾雑物が多いことから、薬毒物を抽出・精製・濃縮するための前処理方法には工夫が必要となる。この前処理方法には、メタノール、アセトニトリルなどの有機溶媒を用いた除タンパク法、酢酸エチルによる液-液抽出法、QuEChERS法、固相抽出法など様々な方法がある。また分析カラムの種類や移動相の違いによっても、検出されるピークの分離の程度やピーク形状に違いが見られ、測定法を確立させるには困難を伴う。これらの課題にこれまでも数多くの法中毒分野の先生が取り組まれてきた。

私は、全血を試料としたホスフェニトイン、フェニトイン及びその代謝物の同時定量法を報告した。近年、抗てんかん薬が薬物乱用、自殺、過剰摂取、薬物誘発犯罪などの様々な種類の毒物学的事件において、単独で、または他の乱用薬物と組み合わせて悪用されているという報告が増加している。そのため、そのプロドラッグ、代謝物との一斉分析開発は重要と考えられる。

また、糖尿病治療薬の一斉分析法の開発にも取り組んだ。糖尿病治療薬は血中グルコース濃度の低下を招くため、中毒濃度に至らなくても生前の行動に影響を及ぼすことから重要な測定対象と考えられる。種類の異なる糖尿病治療薬の一斉分析においては、LCでの分離が困難であったが、イナートカラムを用いることでその課題を克服することができた。

現在は新たな薬毒物分析法の確立として、血中濃度に大きな差がある市販薬と向精神薬の同時定量法を検討しており、市販薬の致死濃度域も向精神薬の治療域濃度も同時に定量可能な方法を開発していく予定である。

生体試料中微量化合物の高感度分析法の開発と代謝毒性学的研究 -脳神経毒性を有する抗精神薬由来カチオン性化合物生成機構の解析-

○五十嵐 一雄
医薬分析研究所

Development of highly sensitive analytical methods for trace compounds in biological samples and metabolic toxicological studies - Analysis of the formation mechanism of cationic compounds derived from antipsychotic drugs with neurotoxicity

○Kazuo Igarashi
Medicinal Analysis Laboratories

近年、質量分析機器の進歩には驚かされる。古くは磁場型、二重収束型、四重極型、そしてタンデム型 (MS/MS) へと進化し、さらに GC/MS は LC/MS、MALDI-TOF MS へと発展し、その医学応用は急速に進んできた。約 40 年前に、演者が薬物動態学的研究を開始したときは、GC や磁場型 MS を駆使し、主要代謝物を見出し、その生成反応を解析することが中心で、更なる新規化学構造代謝物の解析には困難がありました。薬物動態学的研究分野に、GC/MS から LC/MS、LC-MS/MS や MALDI-TOF MS の登場は、難揮発性高極性代謝物の解析に大きな役割を果たした。

医薬品の薬物動態学的解析は、それが有する中毒作用、副作用を理解する上で重要である。すなわち、代謝毒性学的観点から代謝物の解析に、近年の質量分析機器は大きく寄与している。医薬品が有する有害作用の解析の一例として、抗精神病薬ハロペリドール (HP) のカチオン性代謝物 (HPP⁺) の研究を上げることができる。HP の長期投与は、精神病患者の一部に副作用として遅発性ジスキネージアやパーキンソニズムを発症させることがある。この副作用発現の機序として、治療薬による脳内ドパミン作動性神経終末におけるドパミンの枯渇やドパミン受容体に対するドパミン結合性の変化が考えられるが、この神経毒性発現機序として、カチオン性活性代謝物の関与が考えられている。

MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) は、パーキンソン病発症関連物質であり外因性神経毒として知られている。HP はこの化学構造に類似した部分を有することから、MPTP の活性代謝物ピリジニウム化合物 (カチオン性代謝物、MPP⁺) と同様、構造類似カチオン性代謝物 (HPP⁺) の生体内での生成について検討され、その存在が報告されている。

このカチオン性代謝物 (HPP⁺) の生成には肝 CYP3A が関与し、カチオン性トランスポーターが関与し、脳内に移行される。MALDI-TOF MS イメージング手法により、HPP⁺ の脳内分布状況を明らかにすると共に、この HPP⁺ が有する有害作用などについても検討し報告されている。演者はこのカチオン性化合物による外因性パーキンソニズム発症機構についてこの講演で述べたい。

講演要旨

シンポジウム

S-1 アルツハイマー病早期検出への挑戦

座長: 大矢 友子 (修文大学)

S-2 細胞外小胞から得られる情報とその利用

座長: 小川 匡之 (愛知医科大学)

S-3 代謝異常症化学診断の臨床質量分析最前線

座長: 重松 陽介 (福井大学)

LC-MS メタボロミクスによる認知症バイオマーカー探索から Well-being 健康・未病へ

井之上浩一^{1,2}

¹ 立命館大学大学院薬学研究科

² 立命館大学スポーツ健康科学総合研究所

LC-MS metabolomics for the identification of dementia biomarkers and the future challenge of Well-being health and presymptomatic definition

Koichi Inoue^{1,2}

¹ College of Pharmaceutical Sciences, Ritsumeikan University

² Institute of Advanced Research for Sport and Health Science, Ritsumeikan University

液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS) を用いたメタボロミクスは、様々な臨床応用が行われており、そのなかでも神経系疾患の病態をモニタリングする診断バイオマーカー探索へ展開している。2012 年、Bateman らが *N. Engl. J. Med.* に発表した「優性遺伝性アルツハイマー型認知症における臨床変化とバイオマーカー」において、発症予測年齢の 25 年前からアミロイド β やその他、様々な要因変動が示されたことで早期診断が注目された。¹⁾ そのなかで、Glucose metabolism の低下も初期に観察され、メタボロミクスによる早期診断法も有用ではないかと考えられた。そこで、著者らは LC-MS を基盤とする認知症のメタボロミクス検討を進めてきたので、現在までの進捗も含めて報告する。

認知症の生前における画像診断技術も発展してきたが、確定診断は剖検病理学所見に基づいており、いずれも脳の病気 (病理) であることは間違いない。そこで、病理診断に基づく、LC-MS メタボロミクスを実施した結果、前頭葉及び側頭葉で検出ピークからの主成分分析 (PCA) が健常者との違いとして観察された。²⁾ そこで、PCA の違いからオルニチン回路を主にしたターゲット分析を行った。³⁾ それと同時に、ノンターゲットのアプローチからワイドターゲットメタボロミクスへと、その応用性を転換してきた。⁴⁾ 実際に、アルツハイマー型及びレビー小体型認知症での違いなども観察された。⁵⁾ その一方で、いくつかの問題点や今後の目標設定も考える必要性が浮上してきた。まず 1 点目に、取り扱うデータ数が膨大となり、分析者でフォローアップできる状況でなくなったことが挙げられる。これは、AI などを用いた新たな解析ツールの開発が求められると考える。2 点目に、認知症 (軽度認知障害も含めて) の診断は本当に必要かという根幹の目標設定にある。実際、認知症の治療薬開発が進み、現実のものとなったとき、どの診断指標で、どの患者から優先順位をつけるのか? 高額な薬価で社会的状況に見合うのか? そもそも、認知症は予防的概念で進めていくべきなのか? という課題に直面する。そのとき、新たな LC-MS メタボロミクスが『Well-being 健康・未病へ』と舵をきる時期にきたのかもしれない。

参考文献: 1) Bateman RJ, *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 367, 795-804 (2012) 2) Inoue K, *et al.*, *Sci. Rep.* 3, 2364. (2013) 3) Tsutsui H, *et al.*, *Med. Mass Spectrom.* 2, 11-20 (2018) 4) Muguruma Y, *et al.*, *J. Chromatogr. B* 1091,53-66 (2018) 5) Muguruma Y, *et al.*, *Med. Mass Spectrom.* 5,11-21 (2021)

血液バイオマーカー測定における質量分析の貢献

○金子直樹

株式会社島津製作所

Contribution of mass spectrometry to blood-based biomarker assay

○Naoki Kaneko

Shimadzu Corporation

アルツハイマー病 (AD) は認知症の約 60~70%を占める神経変性疾患である。AD の組織病理学的な特徴として、アミロイド β ($A\beta$) が脳内に凝集・蓄積した老人斑と、Tau タンパク質が凝集して形成された神経原線維変化がある。特に脳内 $A\beta$ は AD の臨床症状が発症する 20 年以上前から蓄積され始めていることが知られている。しかし、 $A\beta$ 蓄積の検出法はアミロイド PET と脳脊髄液 (CSF) 中 $A\beta$ 1-42 の免疫測定法しかなく、コストや侵襲性の点で課題があることから、簡易的に測定できる血液バイオマーカーが求められていた。

我々は免疫沈降 (IP) と MALDI-TOFMS を組み合わせた IP-MALDI-MS を開発し、MS による血漿内在性 $A\beta$ 検出を初めて報告した。本手法によってヒト血漿中には既知の $A\beta$ 1-42 や $A\beta$ 1-40 以外にも多くの $A\beta$ 関連ペプチドが存在し、かつ、 $A\beta$ 1-x よりも N 末端側に延びた分子種 (APP669-711 など) も含まれることが明らかとなった。

血液 $A\beta$ バイオマーカー探索研究として、国立長寿医療研究センター (NCGG) にてアミロイド PET で脳内 $A\beta$ 蓄積の評価を行った 62 例を対象に血漿 $A\beta$ を分析した。その結果、APP669-711 と $A\beta$ 1-42 の比がアミロイド PET と相関する新規バイオマーカーであることを報告した。バイオマーカーの有用性を独立検体で検証するため、NCGG とオーストラリアのコホート研究 (AIBL) のデータセットでバリデーション研究を実施した。その結果、APP669-711/ $A\beta$ 1-42 比、 $A\beta$ 1-40/ $A\beta$ 1-42 比、及び、それらの組み合わせ (composite biomarker) がアミロイド PET と高い一致性があることを示した。

バイオマーカーの生物学的背景を理解するうえで生体内分子メカニズムは重要となるが、APP669-711 の産生機構は未解明であった。東京大学との共同研究で MS 評価系を用いた様々な実験を行い、APP669-711 産生の責任酵素の一つとして ADAMTS4 を同定することができた。さらに IP-MALDI-MS 法を応用し、血液 Neurogranin が脳の神経変性状態を推測する新規バイオマーカー候補であることを示すデータも得られてきている。MS を活用することにより認知症分野で新規バイオマーカー発見や分子機構解明の成果が生まれてきている。

近年、AD 治療を目指した疾患修飾薬開発は早期 AD をターゲットとした治験が主流となっている。それゆえ、早期 AD の検出に有用な血液バイオマーカーの価値は高まっており、治験における被験者の組み入れや薬効モニタリングに対する有用性も報告されてきている。さらに、認知症患者が AD か他の認知症であるか判別する際の診断補助としても期待され、血液バイオマーカーに対する分析技術の重要性は増加すると予想される。

細胞外小胞による疾患の診断と治療

○落谷孝広¹

¹ 東京医科大学 医学総合研究所 未来医療研究センター

Extracellular vesicles as a novel modality for cancer diagnosis and therapeutics

○Takahiro Ochiya¹

¹ Tokyo Medical University

【目的】細胞外小胞 (extracellular vesicles; EVs)はあらゆる細胞が分泌するナノサイズの粒子であり、様々な情報を細胞間あるいは遠隔組織、臓器へと輸送する役割を担っている。がん細胞などの疾患細胞やその微小環境が分泌するEVと正常細胞のEVとは、その性状が著しく異なっており、質量分析などの様々な手法を用いて、血液、尿、唾液などの体液中を循環する疾患特異的なEVを捕捉して、診断に応用する動きが高まっている。最近では、哺乳類のEVのみではなく、バクテリアなどからの細菌の分泌する小胞にも興味が集まり、体液中の様々なEVsをシングル粒子レベルで解析しようとする試みも現れている。さらに、こうした疾患特異的EVは例えばがん転移などの新規治療薬の開発のターゲットとなりうる事実も集積してきた。本講演では、こうしたEVsを指標とした疾患の診断・治療の現状を概観するとともに、EV治診断や治療の領域における医用マススペクトル解析の役割についても考察する。

デザイナーエクソソームによる免疫制御とその品質管理

華山力成

金沢大学ナノ生命科学研究所

エクソソームはほとんどの細胞が分泌する直径 30–150nm 前後の細胞外小胞で、分泌細胞由来のタンパク質や脂質・RNAなどを運ぶことで、様々な機能を制御する新たな細胞間情報伝達媒体として注目されている。近年、エクソソーム上に発現しているマーカー分子であるテトラスパニン（CD9、CD63、CD81 など）とのキメラ分子を作製することで、目的のタンパク質を自在にエクソソーム上に発現させることが可能となっており、私たちは、この技術を応用してエクソソーム上に「複数の免疫制御分子を同時に発現」させる技術を開発することで、個々の単純な併用では実現することのできない「革新的な免疫制御法の実現」を目指している。すなわち、免疫細胞の効率的な活性化には、複数の免疫制御分子によるシグナルが同時に入る必要があるが、従来の免疫制御法では、これらが生体内で分散してしまう。その結果、目的の免疫細胞を効率的に活性化できないばかりか、目的外の免疫細胞をも“非特異的”に活性化してしまい、様々な副作用が引き起こされてしまう。一方、本技術では、エクソソームを介して生体内で複数の免疫制御分子を同時に運び同じ場で使うことで、個々の免疫制御分子の単純な併用では見られない相乗効果により、目的の免疫細胞のみを“特異的”に活性化させることが可能となる。私たちは、このように免疫制御機能を高めたデザイナーエクソソームの開発を進めることで、これまでの技術では不可能であった「がん細胞のみを特異的に攻撃する免疫細胞」や「自己免疫疾患・アレルギーのみを特異的に抑制する免疫細胞」などを、デザイナーエクソソームを用いて患者の体内に効率的に作り出す新規免疫制御法を開発を行っている。本講演では更に、このようなエクソソーム創薬を実現する上で課題となっている品質管理についても、私たちが開発したエクソソームの高純度精製技術・高感度定量技術を活用した方法を紹介する。

メタボローム解析による先天代謝異常症の臨床診断支援

張春花

ミルスインターナショナル 研究開発部

Supporting Clinical Diagnosis of Inborn Errors of Metabolism by Metabolome Analysis

Chunhua Zhang¹,

Department of research & development of MILS International,

先天代謝異常症は様々な生体代謝経路にある個々の酵素の異常により惹き起こされる酵素反応前駆成分の蓄積と反応生成成分欠乏の代謝バランス崩れから生じる病態の総称である。現在 1000 種類以上の先天代謝異常症は報告されている。臨床症状は多彩であり、特異性は乏しいのため、臨床症状からの診断は難しい。確定診断は、特殊の代謝成分の検査、酵素活性測定と遺伝子検査に依存し、診断と治療は遅れると発達障害、知能障害、死に至るケースも少なくない。これまで 1950 年代の HPLC 法の血中アミノ酸分析技術や、60 年代にスタートした質量分析計 GCMS による尿有機酸分析、90 年代に登場したタンデムマスによるろ紙血のアミノ酸・アシルカルニチン分析は、先天代謝異常症の新生児マススクリーニングと重症児のハイリスクスクリーニングに応用され、早期発見と早期診断に大きく貢献してきた。近年質量分析法の先天性代謝異常症検査と特殊の遺伝子検査の保険適応に伴い、ゲノム解析に合わせて幅広いメタボローム解析は先天代謝異常症の臨床診断に求められてきた。当施設は、これまで行われていたウレアーゼ処理法による尿メタボローム解析システムに、臨床オーダーに合わせ、分析時間の調整、分析検体の多様化に対応し、血中アシルカルニチン・アミノ酸分析のルーチン分析に加え、クレアチン、神経伝達物質、極長鎖脂肪酸のリゾホスファチジルコリン、ライソゾーム病酵素関連物質などの分析まで拡張してきた。その結果、従来の有機酸血症を含め、アミノ酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、核酸代謝異常症、糖代謝異常症、アミノ酸血症、アミノ酸尿症、神経伝達物質代謝異常症、難治性てんかん成因疾患、尿路結石成因疾患、神経芽細胞腫、脳髄黄色腫症、シトステロール血症および代謝性免疫異常疾患まで 160 種以上幅広い先天性代謝異常症の病態解析を対応できるようになってきた。過去 25 年間インド、タイ、中国と日本国内の臨床検査対応件数は 60 万検体超え、112 種の病態を含めた 45000 名以上の代謝異常症患者の診断は支援してきた。本発表は経験した希少疾病症例の実例を用い、実際の多種試料・多方法分析によるメタボローム解析の化学診断実態を紹介し、特に遺伝子検査結果の新規バリエーションや病原性不明バリエーション症例の判別にターゲット指標の特定分析により臨床診断のサポートツールを提唱したい。

新生児マススクリーニングへの質量分析法による診断支援

○石毛信之¹

¹ 公益財団法人東京都予防医学協会 小児スクリーニング科

Support for diagnosis by mass spectrometry in newborn screening

○Nobuyuki Ishige¹

¹ Division of Newborn Screening, Tokyo Health Service Association

【背景】わが国では、1977年から新生児マススクリーニング（NBS）が全国で行われている。これは自治体の実施主体で検査費用は公費負担となっている、極めて公益性の高い検査システムである。NBSの対象疾患は先天性代謝異常症および先天性内分泌疾患あわせて20疾患で、疾患の早期発見と早期治療を可能とし、患児の救命ならびに障害の発生防止に大きく貢献している。さらに現在は多くの地域で、近年、早期診断・早期治療開始が有効とわかった数疾患の検査（拡大スクリーニング）が有償で開始されている。

【タンデム質量分析計の導入】NBSでは検体として、新生児の踵付近から採血した血液を専用の採血用ろ紙に染みこませて乾燥させた「乾燥ろ紙血液」（ろ紙血）が使用されている。NBS開始当初の先天性代謝異常症検査は、細菌学的検査法を応用したGuthrie法で行われていたが、2012年からは全国のNBS検査施設でタンデム質量分析計（タンデムマス）の導入が開始された。2014年10月に全施設でタンデムマスの導入が完了し、本装置を使用したNBS（タンデムマス法）が全国で実施されるようになった。本法では流路に分離カラムを装着せずに throughput をあげたフローインジェクション分析法でアミノ酸ならびにアシルカルニチンを定量しているため、一部の分析物質で類似物質等を分別して定量することが困難である。そのため、分離カラムを装着したLC/MS/MS法による二次検査法（一回目の検査を行ったろ紙血を再利用した、より詳細な検査法）が導入されるようになった。その目的は、幾何異性体や偽陽性物質などを除外したターゲットのみの正確な定量により偽陽性率を下げることと、スクリーニング検査では測定していない疾患特有の診断マーカーを検出して診断に有用な情報を迅速に臨床へ提供することにある。

【LC/MS/MS法による二次検査法】先天性副腎過形成症の二次検査法であるろ紙血ステロイド分析法では、5種類のステロイドホルモンの定量が可能な検査試薬キットが市販されており、全国35施設中7施設で導入され、さらに数施設で導入が検討されている。これに対し、アミノ酸や有機酸の分析については導入に際して各施設で分析条件の検討が必要となるため、本法を日常的に施行している施設は多くないのが現状である。今回の講演では、二次検査法の種類と対象疾患、そして本会における実績の一部についても紹介したい。

質量分析法による先天代謝異常症の酵素機能評価

○前田康博

藤田医科大学 オープンファシリティセンター

Evaluation of enzyme function by mass spectrometry method in inherited metabolic diseases

○Yasuhiro Maeda

Open Facility Center, Fujita Health University

先天代謝異常症は、生まれつき特定の酵素の欠損または活性低下が原因で、特定の物質が欠損したり、過剰に蓄積することで様々な症状を引き起こす疾患である。先天代謝異常症のうち、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症およびアミノ酸代謝異常症は、タンデム質量分析計(MS/MS)を利用した新生児マススクリーニング(NBS)がおこなわれている。発症前に診断し、早期治療を開始することで、知能障害や発達障害などの重い症状が出ることを未然に防ぐ事が可能となった。

先天代謝異常症の症状は様々で、発症の時期により、新生児期に発症する重症型、乳幼児期から食思不振、嘔吐、発達遅延などを示す中等度型、ほとんど症状を示さない軽症型に分類される。しかし、NBS による発症前の治療により、従来からの発症時期による重症度分類が難しくなっている。

我々は有機酸代謝異常症のうち、日本人に患者が多いメチルマロン酸血症、およびプロピオン酸血症について、その重症度を判断する一つの指標として、責任酵素の残存活性測定をおこなっている。測定は、末梢リンパ球中の酵素と基質を反応させ、生成物を LC-MS/MS の Multiple Reaction Monitoring (MRM)によって定量し、健常者における生成量に対する患者での生成量の割合を酵素活性値としている。LC-MS/MS における生成物の定量限界値から、酵素活性の測定限界は 0.1%である。

本シンポジウムでは、メチルマロン酸血症、およびプロピオン酸血症患者の重症度について、酵素活性値に NBS の指標であるプロピオニルカルニチン(C3)値を合わせて検証した結果に基づき、酵素活性測定の有用性について紹介する。

ライソゾーム病スクリーニング・診断での質量分析の役割

○真嶋隆一

国立成育医療研究センター臨床検査部

Mass spectrometry-based clinical chemistry for lysosomal storage disorders

○Ryuichi Mashima

¹ National Center for Child Health and Development

ライソゾーム病は約 50 遺伝子からなる一群の先天代謝異常症である。主な表現型は肝脾腫に代表される内臓性疾患、中枢神経疾患、および骨格異常である。発症頻度は国や地域によって異なり、一般的に約数万分の 1 と理解されている。治療法として古典的には造血幹細胞移植が有効であるとされてきたが、近年では酵素補充療法に代表される原因遺伝子と一対一対応付けられる治療法の開発が主流である。ライソゾーム病は低分子代謝物がバイオマーカーとなる例が多く、質量分析法の活用が他の疾患よりも進んでいる。これに加え、最近、複数の原因酵素活性を同時に質量分析法で測定する例も増えてきている。本講演では発表者が体験したライソゾーム病スクリーニングとバイオマーカー測定の例を中心に、最近の関連領域の様子を紹介する。

講演要旨

一般演題

ショートプレゼンテーション
座長: 猪飼 誉友 (中部大学)

オランザピンとその3種代謝物の血液・尿中における安定性の分析

○南方 かよ子¹, 野澤 秀樹¹, 山岸 格¹, 長谷川 弘太郎¹, 三由 尚知¹, 鈴木 雅子¹, 北本 卓也², 近藤 未菜子², 鈴木 修¹

¹浜松医大 法医学, ²浜松医大 先進機器共用推進部

Thermal stability tests of olanzapine and its three metabolites in blood and urine

○Kayoko Minakata¹, Hideki Nozawa¹, Itaru Yamagishi¹, Koutaro Hasegawa¹, Naotomo Miyoshi¹, Masako Suzuki¹, Takuya Kitamoto², Minako Kondou², Osamu Suzuki¹

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

【目的】 向精神薬オランザピン(OLZ)の主要代謝物は *N*-desmethyl OLZ (DM-O), 2-hydroxymethyl OLZ (2H-O), OLZ *N*-oxide (NO-O) である。OLZ の血液中の定量法・安定性については3報告あるが, 3種類の代謝物については血液中の定量法・安定性についての報告はなされていない。また 3 mM ascorbate (Asc)が血液中 OLZ を安定化すると報告がなされてはいたが, 予備実験により NO-O は Asc によって非常に減少することが判明したので, NO-O の安定性での測定には Asc は添加しなかった。

【方法】 OLZ と内部標準(IS) OLZ-*d*8 は Cayman Chemical, 3種の代謝物は Toronto Research Chemicals から購入した。ポリプロピレン容器に 40 μL の blank 血液または尿, 定量上限濃度になるように 4 μL の標準物質, 4 μL の 0 または 30 mM Asc 溶液を入れ, 蓋をし, 25, 4 °C で 1, 2, 4, 7 日放置した。血中の NO-O の安定性は 25 °C で 15, 45, 90, 150, 240 分放置した。その後 20 μL の水, IS を含む acetonitrile 溶液 30 μL を添加混合, 170 μL の acetonitrile を添加混合後, 10000g で遠心した。上清を新容器に採取し, 6 μL の飽和(NH₄)₂CO₃, 75 μL の 1-chlorobutane を添加混合後, 10000g で遠心した。上清 5 μL を装置に注入した。LC には T S K-G E L O D S-100V のカラムを用い, 10mM 酢酸アンモニウム水溶液とメタノールのグラデーションにて 20 分で溶出を完了した。定量には QTRAP 5500-MS/MS を用いた。

【結果・考察】 25 °C で 4 種の化合物の血中と尿中の安定性には大差が見られた。3 mM Asc は OLZ, DM-O, 2H-O の安定化に僅かだけ寄与した。25 °C で血中 NO-O は 240 分後に 48 mol%にまで減少した一方で, OLZ が 12.5 mol%, DM-O が 1.3 mol%生成した。

簡便な薬毒物検査を指向した乾燥ろ紙血の法中毒分野への応用

○西尾 忠, 東海林 洋子, 星 智昭, 新井 智美, 野上 誠
帝京大学医学部法医学講座

Application of dried blood spot technique to forensic toxicological analysis

○Tadashi Nishio, Yoko Toukairin, Tomoaki Hoshi, Tomomi Arai, Makoto Nogami
Department of Legal Medicine, Teikyo University School of Medicine

【目的】乾燥ろ紙血 (DBS) は, 必要採血量が少量であるほか, 室温での検体輸送・保存が可能であること等から, 新生児マススクリーニングや薬物血中濃度測定に汎用されている. 一方, 法医実務においても, 事例により採取血液量が微量であることや, 死体検案時の試料採取後の保管・運搬を考慮すると DBS は非常に有用であると考えられるが, これまでほとんど適用されていない. 今回, 我々は市販の薬毒物検査スクリーニングの対象外である 9 種類の向精神薬 (citalopram, duloxetine, mirtazapine, olanzapine, paroxetine, quetiapine, sertraline, zolpidem, zopiclone) を標的として, 簡便な DBS 法を開発し, 実試料分析に適用した. さらに従来の薬毒物検査法の定量値と比較して考察を行った.

【方法】法医解剖時に採取した心臓血 (50 μ L) をろ紙 (Whatman-903) にスポットし, 自然乾燥させて DBS とした. この DBS から打ち抜いた 3-mm ディスク 1 枚に内部標準物質 (IS, diazepam-d5) を添加し, MeOH-MeCN 溶液中 (3:1, v/v) で超音波処理して抽出操作を行った. 次いで溶液を蒸発乾固させた後, MeCN に再溶解させて, LC/ESI-MS/MS 分析に付した [Shimadzu LCMS8050, Kinetex XB-C18 カラム, 10 mM HCO₂NH₄aq-MeOH (gradient), 0.3 mL/min, 40°C, MRM].

【結果・考察】ESI-MS 分析において 9 種類の向精神薬及び IS はいずれも [M+H]⁺ をベースピークとして強く与えた. さらに, これらをプリカーサーイオンとする MS/MS 分析において, それぞれ特異的なプロダクトイオンが得られたことから, MRM による分析法を構築できた. 検量線は各種薬物の中毒域をほぼカバーする 0.05–1.0 μ g/mL の範囲で良好な直線性を示し ($r^2 > 0.990$), 各種バリデーション試験の結果も良好であった (日内変動係数; <11.9%, 日間変動係数; <12.5%). また, DBS を -80°C で 1 か月間保存しても, 薬物の定量値に大きな影響は見られなかった. 次に, 本法を剖検試料に適用して得られた定量値と現在我々が実務で用いている QuEChERS 法で得られた定量値を比較した所, 全ての薬物の定量値において, 強い正の相関性が見られた. このうち, DBS 法で得られた duloxetine, quetiapine 及び zopiclone の定量値は QuEChERS 法のものと比較してやや低値を示し, 分析対象の化学構造によりイオンサプレッションの影響を受けることが示唆された. 本研究において, DBS 法は検体量の節約や前処理操作の簡略化が可能であり, 法中毒分野での有用性を示唆する結果が得られた.

(Ref) T. Nishio *et al*, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 233 (2023) 115438.

固相ミニカートリッジ Smart-SPE を前処理法に用いた LC-MS/MS による血中薬物同時定量法

○石原みゆ¹, 本多祥子¹, 梶本葵里¹, 上出真琴¹, 寿台直人¹, 上山純², 鈴木隆佳¹

¹ 修文大学医療科学部, ² 名古屋大学大学院医学系研究科医療技術学専攻病態解析学分野

Simultaneous quantification of drugs in whole blood by LC-MS/MS using solid phase mini-cartridge Smart-SPE.

○Miyu Ishihara¹, Shoko Honda¹, Kiri Kajimoto¹, Makoto Kamide¹, Naoto Judai¹, Jun Ueyama², Takayoshi Suzuki¹

¹Faculty of Medical Sciences, Shubun University, ²Department of Pathophysiological Laboratory Sciences, Nagoya University Graduate School of Medicine

【目的】薬物による中毒事例は、市販薬の過剰摂取が増加傾向となっており、最近では薬物中毒の5割以上を占めている。また、向精神薬による中毒事例の割合は過去10年で大きく変わらず、市販薬に次いで多くの割合を占めていることから、救急医療や法医学では、処方薬だけでなく、市販薬を含めた血中薬物濃度の測定が重要である。今回我々は、残留農薬分析用として開発された固相ミニカートリッジ Smart-SPE を前処理法として用いた LC-MS/MS による全血中の薬物同時定量法の検討を試みた。

【方法】市販薬としてアセトアミノフェン、カフェインを、向精神薬としてフルニトラゼパム、及び代謝物の7-アミノフルニトラゼパム、リスペリドン、フェノバルビタールを測定対象薬物とした。内部標準液 (IS) として、アセトアミノフェン-d4、カフェイン-d9、ジアゼパム-d5、フェノバルビタール-d5 を使用した。固相抽出用カラムとして Smart-SPE シリーズ3種類 (C-18 50mg、C-18 30mg、PSA 30mg) (アイスティサイエンス) を使用した。ブランク血液 100 μ L に、メタノールに溶解した測定対象薬物及び IS 合計 170 μ L、アセトニトリル 300 μ L を加えて除蛋白を行い、遠心分離にて得られた上清を固相カラムに通し、抽出した液体を測定試料とした。測定機器は ACQUITY UPLC-TQD (Waters) を、分離カラムは CAPCELL PAK INERT ADME-HR (2.0 \times 100mm, 3 μ m, 大阪ソーダ) を用いた。移動相は、10mM ギ酸アンモニウムと 0.1%ギ酸添加アセトニトリルの2種類を用い、検出は ESI ポジティブモード及びネガティブモードで行った。

【結果及び考察】検量線は、アセトアミノフェン 0.05-200 μ g/mL、カフェイン 0.01-200 μ g/mL、フルニトラゼパム 0.0005-2 μ g/mL、7-アミノフルニトラゼパム 0.001-2 μ g/mL、リスペリドン 0.0001-2 μ g/mL、フェノバルビタール 0.5-200 μ g/mL の範囲で良好な直線性を示し、相関係数はいずれも 0.99 以上であった。日内再現性は、真度 98.06-110.87%、精度 0.19-17.37%であった。回収率は、72.9-95.1%、マトリックス効果は、91.2-113.0%であった。検量線の直線性、日内再現性、回収率、マトリックス効果は良好であり、同時定量法としての有用性が期待できる。今後、バリデーション等を含め、さらに検討を進めて測定法の確立を目指す。

新規前処理法を用いた尿中薬毒物の LC-MS/MS 分析法の開発 —遺伝子組換え β グルクロニダーゼによる加水分解の検討—

○松尾友仁^{1,2}, 小川匡之^{1,2}, 岩井雅枝^{1,2}, 久保勝俊^{1,3}, 近藤文雄^{1,4}, 妹尾洋^{1,2}

¹愛知医科大学医学部法医学講座, ²愛知医科大学医学部薬毒物分析センター,

³愛知学院大学歯学部口腔病理学・歯科法医学講座, ⁴中部大学生命健康科学部生命医学科

Development of an LC-MS/MS Method for the Determination of Psychoactive Drugs in Postmortem Urine by Enzymatic Hydrolysis and ISOLUTE HYDRO DME+ Column Extraction

○Tomohito Matsuo^{1,2}, Tadashi Ogawa^{1,2}, Masae Iwai^{1,2}, Katsutoshi Kubo^{1,3}, Fumio Kondo^{1,4}, Hiroshi Seno^{1,2}

¹Department of Legal Medicine, Aichi Medical University School of Medicine, ²Poison Analysis Center, Aichi Medical University School of Medicine, ³Department of Oral Pathology/Forensic Odontology, Aichi Gakuin University School of Dentistry, ⁴Department of Biomedical Sciences, Chubu University College of Life and Health Sciences

【背景・目的】摂取された薬毒物は、グルクロン酸等の内因性物質との抱合体として尿中に排泄され、遊離体が微量にしか存在せず、目的の薬毒物を検出できない場合がある。従って、より正確な尿中薬毒物濃度を測定するためには、LC-MS/MS 分析前に抱合体を加水分解し、目的の薬毒物を分析する必要がある。抱合体の加水分解には従来、強酸や強塩基あるいは生物由来酵素が用いられており、それぞれ選択性が低い、長時間の加水分解反応が必要などの問題があった。本研究では、室温で加水分解可能な遺伝子組換え β -グルクロニダーゼを用いて、尿中薬毒物の迅速かつ効率的な前処理法の開発を目的とした。

【方法】対象としてグルクロン酸抱合体が尿中の主な代謝物である 5 種類の薬毒物 (11-nor-9-carboxy-tetrahydrocannabinol (THC-COOH), oxazepam, lorazepam, temazepam, amitriptyline) を用いた。加水分解酵素は、B-One (KURA biotech) と IMCSzyme RT (IMCS) の 2 種類を用いた。前処理には ISOLUTE HYDRO DME+ (Biotage) を使用した。加水分解温度、酵素量、加水分解時間の最適化を行った後、分析法のバリデーション (検出下限, 定量下限, 検量線精度, 真度, マトリックス効果, 回収率, 試料の安定性) を実施した。この確立した分析法を用いて 12 例の法医解剖試料について分析した。

【結果・考察】5 種類の薬毒物のグルクロン酸抱合体を室温 (25°C) で加水分解したところ、B-One では 3 分、IMCSzyme RT では 10 分と、B-One の方がより短時間での加水分解が可能であった。検量線は良好な直線性 ($r^2 \geq 0.99$) を示し、回収率は 56.1-104.5%, マトリックス効果は 78.9-126.9%, 真度, 精度は日内 93.7-109.7%, 0.2-3.1%, 日間 93.7-109.7%, 0.8-6.7% と許容範囲内であった。本法は、法医解剖で得られた尿試料へ適用することができた。

アルキルアミン含有三環系医薬品化合物と α, ω -アルキレンジハライドとの反応およびこれを利用した機能性材料への展開

○林英樹¹, 小泉武昭², 小川匡之^{3,4}, 妹尾洋^{3,4}

¹名古屋市工業研究所, ²静岡理工科大学先端機器分析センター, ³愛知医科大学医学部法医学講座, ⁴愛知医科大学医学部薬毒物分析センター

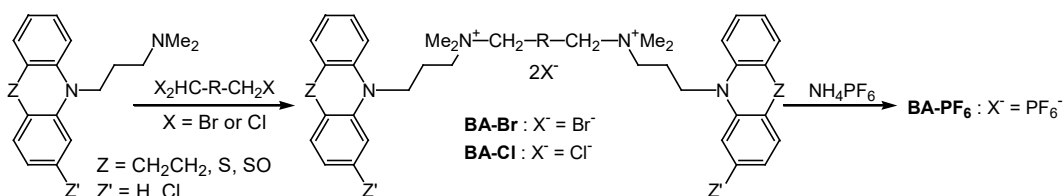
The reaction of alkylamine-type tricyclic drugs and α, ω -alkylene dibromides and development to the functional material by using this reaction

○Hideki Hayashi¹, Take-aki Koizumi², Tadashi Ogawa^{3,4}, Hiroshi Seno^{3,4}

¹Nagoya Municipal Industrial Research Institute, ²Advanced Instrumental Analysis Center, Shizuoka Institute of Science and Technology, ³Department of Legal Medicine, Aichi Medical University, ⁴Poison Analysis Center, Aichi Medical University

【目的】三環系抗うつ薬として知られているイミプラミンやクロルプロマジンなどの化合物は、*N*-位にアルキルアミノ基を有する架橋ジフェニルアミン化合物とみることができるため、色素など、医薬以外の分野における機能性材料への展開が期待できる。こその考えに基づき、発表者らは、イミプラミンやクロルプロマジンなどの化合物をベースとした種々の機能性材料の開発に取り組んでいる¹⁻³。その一方で、先に挙げた化合物は三級アルキルアミンを含んでいるため、この部位を利用した四級アンモニウム塩の形成による機能化についても興味をもたれる³。本研究では、三級アルキルアミンを有する三環系医薬品化合物と α, ω -アルキレンジハライドとの反応を行い、得られた化合物の構造解析を行った結果について報告する。

【方法】本研究で行った反応を下式に示す。まず、三環系医薬品化合物と α, ω -アルキレンジハライドをアセトニトリルに溶かし、70 °Cに加熱することで四級化を試みた。本反応により沈殿が生じた場合は沈殿を濾取後へキサンで洗浄することにより、沈殿が生じなかった場合は溶媒を留去後得られた残渣をクロロホルムに溶かしてへキサンにて析出させることにより四級化された化合物 (**BA-Br**, **BA-Cl**)を得た。さらに、既報³を参考として、**BA-Br** および **BA-Cl** のアニオン交換も併せて行った。



【結果】生成物についてはNMR、MS、X線結晶構造解析等により同定を行い、構造を明らかにした。さらに本発表では、機能性材料への展開の一環として、この反応を利用した代謝解析の試みについても報告する。

¹ H. Hayashi *et al*, *Med. Mass Spectrom.*, **4**, 50-57 (2020). ² H. Hayashi *et al*, *Anal. Sci.*, **37**, 997-1001 (2021). ³ H. Hayashi *et al*, *Heterocycles*, **104**, 689-706 (2022).

窒素キャリアを使用したガスクロマトグラフィー質量分析法の検討（第2報：覚醒剤分析）

○嘉数一路^{1, 2}, 福家千昭³, 池松夏紀², 二宮賢司², 深沢真希²

¹ 沖縄県科捜研, ² 琉球大・法医, ³ 横浜市大・法医

Analysis of amphetamine and methamphetamine by gas chromatography- mass spectrometry using nitrogen as a carrier gas

○Kazumichi Kakazu^{1, 2}, Chiaki Fuke³, Natsuki Ikematsu², Kenji Ninomiya², Maki Fukasawa²

¹ Criminal Invest. Lab., Okinawa Pref. Police H.Q., ² Dept. Leg Med., Grad. Sch. Med., Univ. Ryukyus,

³ Dept. Leg Med., Yokohama City Univ. Sch. Med

【目的】ガスクロマトグラフィー質量分析のキャリアガスとして汎用されるヘリウムは、供給不足や価格高騰により消費量削減が課題となっている。ヘリウムに代わるキャリアガスを用いた分析法の検討がなされており^{1, 2}、我々はこれまでに、キャリアガスに窒素を使用した大麻成分分析について報告をした³。今回、覚醒剤（アンフェタミン、メタンフェタミン）を対象とし窒素キャリアの検討を行ったので報告する。

【方法】対象化合物：アンフェタミン、メタンフェタミン。 分析装置：島津製作所製 GCMS-QP2020 NX 分析カラム：SH-Rxi-5Sil MS (30 m×0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μm) 分析条件 キャリアガス：窒素またはヘリウム（線速度一定モード） 注入口：260 °C（スプリットレス） カラム温度：60 °C(2 min)－10 °C/min－200 °C 抽出法：超純水に対象化合物を添加し、炭酸ナトリウム水溶液でアルカリ性にした後に有機溶媒で抽出した。 誘導体化：トリフルオロ酢酸無水物を用いて TFA 誘導体とした。

【結果・考察】ヘリウムおよび窒素の何れも対象化合物を十分に分離し保持指標は同様であった。窒素を用いた場合はヘリウムと比較してピーク面積値が減少したが、窒素使用時の線速度を小さくすることで対象化合物のピーク面積値を増大することができた。また、得られた質量スペクトルは、TFA 誘導体で強度比に若干の違いがみられたものの、検出されるフラグメントイオンは同様であり、よく一致したことから、窒素キャリアを使用したガスクロマトグラフィー質量分析はアンフェタミンおよびメタンフェタミンの定性分析法として用いることが可能であると考えられた。

【参考文献】

1. 小林興尚ら、ガスクロマトグラフ質量分析におけるヘリウムに代わるキャリアガスの使用検討。群馬県立産業技術センター研究報告, 23-26 (2019).
2. Yoshiro H., Introduction of Analytical Technology using Alternative Gas -Gas Chromatograph Mass Spectrometry. TEION KOGAKU, 56, 125-129 (2021).
3. 嘉数一路ら、窒素キャリアを使用したガスクロマトグラフィー質量分析法の検討（第1報：大麻成分分析）。日本法中毒学会第42年会講演要旨集, 71.

ポリアミン類を用いた液状検体中に含まれる細胞外小胞の回収に関する検討

○菊池有純^{1,2}, 成瀬有純¹, 野中健一^{1,3}, 森基希², 加納圭子⁴, 三城恵美⁴, 堤内要²

¹ 大雄会医科学研究所, ² 中部大学応用生物学部, ³ 総合大雄会病院外科, ⁴ 名古屋大学
トランスフォーマティブ生命分子研究所

Examination for the recovery of extracellular vesicles for liquid samples by polyamine

○Arizumi Kikuchi^{1,2}, Azumi Naruse¹, Kenichi Nonaka^{1,3}, Motoki Mori², Keiko Kano⁴, Emi Mishiro-Sato⁴, Kaname Tsutsumiuchi²

¹ Daiyukai Research Institute for Medical Science, ² College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University, ³ Department of Surgery, Daiyukai General Hospital, ⁴ Institute of Transformative Bio-Molecules, Nagoya University

【目的】リキッドバイオプシーにおける液状検体の解析は遊離状態もしくは細胞外小胞 (EV) に含まれる核酸やタンパク質が主に解析されるが、とりわけ EV に含まれる内容物は様々な疾患や生物学的な現象などに深く関与することが知られている^{1, 2}。EV に関連した試料の回収・処理方法は多くの検体量と試薬量や特殊な装置が必要になる等の課題が存在する³。我々はポリアミン類を用いた新たな試料の回収方法について、miRNA および LC-MS/MS を用いた質量分析による解析を細胞培養上清で実施し、その特性を検討した。

【方法】試料は細胞株 COLO201, K562 および PC-3 を無血清培地もしくはエクソソーム除去後のウシ胎児血清を含む培地にて 48 時間の培養後の上清から調製した。ポリアミン類を用いた方法 (PA 法) および比較対象として超遠心法 (UC 法) を用いて回収した試料を用い、miRNA および LC-MS/MS による解析を実施した。miRNA の解析は培養上清 7.5mL から回収した試料を用い、RT-qPCR 法により miR-21 および 200c の Ct 値で評価した。質量分析は両法での処理後に、Single-Pot Solid-Phase-Enhanced Sample Preparation (SP3) 法による前処理を行い、Q Exactive Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific) を用いた LC-MS/MS により行った。

【結果と考察】miRNA は両法の miR-21 における ΔCt 値 ($Ct_{UC} - Ct_{PA}$) が COLO201, K562, PC-3 でそれぞれ 2.4, 1.7, 3.8 となり、いずれも PA 法において増幅曲線の早期の立ち上がり認められた。また、miR-200c は COLO201 のみ増幅が認められ、 ΔCt 値は 4.74 を示し miR-21 と同様であった。LC-MS/MS による解析では両法とも EV に含まれるとされるテトラスパニング類を含むペプチドの検出が可能であったが、検出された内容物は異なる点も認められた。以上の結果から、PA 法は EV を含む液状検体に存在する核酸やタンパク質の回収が可能と考えられた。

¹ M. Yáñez-Mó et al., *J Extracell Vesicles.*, **4**, 27066 (2015). ² N. Kosaka et al., *J Clin Invest.*, **126**, 1163-1172 (2016). ³ C. Théry et al., *J Extracell Vesicles.*, **7** 1535750 (2018).

質量分析法によるエベロリムス及びミコフェノール酸測定キットの性能評価

○鈴木瑛真¹, 小林 亮¹, 鳴海菜月¹, 遠藤明美¹, 高橋 聡²

¹ 札幌医科大学附属病院 検査部, ² 札幌医科大学医学部 感染制御・臨床検査医学講座

Performance analysis of Everolimus and Mycophenolic Acid analysis kit for LC-MS/MS.

○Ema Suzuki^{1,2}, Ryo Kobayashi¹, Natsuki Narumi¹, Akemi Endoh¹, Satoshi Takahashi²

¹ Division of Laboratory Medicine, Sapporo Medical University Hospital, ² Department of Infection Control and Laboratory Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine.

【目的】エベロリムス (everolimus: EVL)、ミコフェノール酸 (mycophenolic acid:MPA) は免疫抑制薬として臓器移植後の拒絶反応の抑制に用いられる薬剤である。今回、採血管の搭載のみで質量分析まで自動で行うことが可能な全自動 LCMS 前処理装置 CLAMTM-2030 および LC-MS/MS 用免疫抑制剤分析キットが発売されたため、これらを用いた EVL、MPA 測定における基本性能を評価した。

【方法】当院にて、EVL または MPA の血中濃度測定依頼のあった患者の残存 EDTA-2K 加血または血漿を用いた。検討試薬には LC-MS/MS 用免疫抑制剤分析キット DOSIMMUNETM または DOSIMYCOTM を用い、全自動 LCMS 前処理装置 CLAMTM-2030 と、高速液体クロマトグラフ質量分析計 LCMSTM-8060NX (いずれも島津製作所) で測定した。移動相とカラムについては DOSIMMUNETM キットを用いた。EVL の対照試薬には、エクルーシス試薬・エベロリムスを用い、cobas e411 (いずれもロシュ・ダイアグノスティクス) で測定した。MPA の対照試薬にはフレックスカートリッジ ミコフェノール酸 MPAT を用い、Dimension EXL200 (いずれもシーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス) で測定した。

【結果】3 濃度のプール血を 20 回連続測定した変動係数 (CV) は EVL が 5.1~7.4%、MPA は 6.0~11.7% であった。また、同様の試料を用いて測定した室内再現精度の CV は、EVL が 8.7~11.1%、MPA は 6.1~12.4% であった。定量限界を求めた結果、CV10% 値は EVL が 0.60 ng/mL、MPA は 0.27 µg/mL であった。直線性は、EVL はキャリブレーションの最高濃度である 36.9 ng/mL まで、MPA は 54.6 µg/mL まで保たれていた。対照試薬との相関性は、EVL は相関係数(r)が 0.94 と測定値に若干ばらつきが認められ、標準主軸回帰式は $y=0.629x-0.058$ と、LC-MS/MS 法で低値となる傾向が確認された。一方、MPA は $r=0.99$ と対照試薬との相関性は良好であり、標準主軸回帰式は $y=1.050x+0.208$ と測定値も一致していた。

【考察】DOSSIMUNETM および DOSIMYCOTM を用いた EVL、MPA 測定の基本性能は良好であり、日常検査に有用と考えられた。ただし、EVL については免疫学的測定法と測定値が異なるため、実運用時には注意を要する。

エクソソームを用いた自閉スペクトラム症の診断法及びバイオマーカーの探索

○川口万太郎¹², 杉浦圭²³, 牧之段学⁴, 星野歩子²

¹ 東京工業大学生命理工学院, ² 東京大学先端科学技術研究センター, ³ 東京大学大学院工学系研究科, ⁴ 奈良県立医科大学

Exosomal Analysis to investigate the way to diagnose and biomarker for Autism Spectrum Disorder

○Mantaro Kawaguchi¹², Kei Sugiura²³, Manabu Makinodan⁴, Ayuko Hoshino²

¹ Department of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology, ² Research Center for Advanced Science and Technology, the University of Tokyo, ³ School of Engineering, the University of Tokyo, ⁴ Nara Medical University

【目的】自閉スペクトラム症 (ASD) は対人関係の苦手、反復行動などを始めとした症状がみられる、日本では 100 人に 1 人以上が罹患するとされる発達障害の一つである。ASD の発症機構は未だ明らかにされておらず、早期診断の方法も確立されていない。早期診断と迅速な療養は当人の社会参画にも重要であり、その需要が高まる中、本研究ではエクソソームに着目して新しい打開策の探索を試みた。細胞から放出され、血流に乗って体内を巡るエクソソームは、がんの診断に有益であることも示されている(Hoshino et al., Cell 2020)。そこで、ASD 患者のエクソソームを健常者と比較することで、診断マーカーの探索を行った。

【方法】幼少期 (ASD 患者 10 例、健常者 10 例)、青年期 (ASD 患者 23 例、健常者 36 例)、成人期 (ASD 患者 111 例、健常者 74 例) の 3 群における ASD 患者及び健常者の血漿からエクソソームを超遠心分離によって単離し、LC-MS/MS によってタンパク質の違いを解析した。解析には統計ソフト R を使い、各種エンリッチメント解析や機械学習 (ロジスティック回帰分析、ランダムフォレスト) を行った。また、タンパク質レベルでの解析に加えて、アミノ酸の修飾情報も含む各ペプチド配列のシグナル強度も比較した。

【結果/考察】機械学習 (ロジスティック回帰分析) による分類は、成人期において 89% の正確率を示した。年代によって判別精度は異なるが、本結果は、エクソソームが ASD の診断において有益なツールとなり得る可能性を示している。また、エンリッチメント解析により、ASD 患者において補体経路、その中でもとりわけレクチン経路が活性化されていることを示唆する結果を得た。ここで興味深いことに、ASD 患者のエクソソームでは、補体経路中の代表的なタンパク質においてメチオニンの酸化が解消されている傾向にあることを確認できた。酸化ストレスに関連する他のタンパク質の発現変動も検出できたことから、ここには一貫した ASD 患者の特性が反映されていると考えられる。この結果は ASD と酸化ストレスの関係を示す先行研究の知見をエクソソームにも拡大したという点で意義深いことに加え、そのアミノ酸レベルでの変化に迫ったという新規性を備えている。

LC-MS/MS を用いた便中ビタミン B 群測定法の開発

○高目楓華¹, 竹村呼², 野崎七美², 平山正昭¹, 上山純¹

¹名古屋大学大学院医学系研究科, ²名古屋大学医学部保健学科

Development of a high-throughput assay for water-soluble vitamins in feces

○Fuka Takame¹, Koko Takemura², Nanami Nozaki², Masaaki Hirayama¹, Jun Ueyama¹

¹Nagoya University Graduate School of Medicine, ²Nagoya University of Medicine

【目的】 ビタミン B 群は健康維持に必要な不可欠な物質であることはよく知られており、人体への摂取の由来は食事だけではなく、一部の腸内細菌による産生が関与している。腸内細菌によるビタミン B の産生は、ヒトが吸収する以外にも、腸内細菌叢の維持に貢献している可能性があり、健康と関係の深い腸内環境を理解する上でもビタミン B の存在量の把握は重要である。本研究では、高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いて便中ビタミン B 群を測定する方法の検討を行った。

【方法】 ビタミン B 群 8 物質の Thiamin, Riboflavin, Nicotinic acid, Pantothenic acid, Pyridoxine, Biotin, Folic acid, Cyanocobalamin を 測定対象物質とした。サンプルには凍結乾燥した便を使用した。便 20 mg に対して精製水を 1 mL 添加・遠心処理し、上清 200 μ L に 2%ギ酸 300 μ L を添加した。サンプル前処理として固相抽出法を使用し、EVORUTE EXPRESS ABN (Biotage 社)を使用し、その後 LC-MS/MS Ultivo システム (Agilent Technologies 社)にて定量分析を行った。なお、カラムには InertSustain C18 (GL sciences 社, 2.1 \times 150 mm, 3 μ m)、溶媒には (A) 0.2%酢酸 10 mM 酢酸アンモニウム水溶液、(B) 0.1%ギ酸 5mM ギ酸アンモニウム溶液を用い、流速 0.2 mL/min、溶媒 B の組成を 0% (0-3 min)–65% (3.5 min)–98% (3.5-10 min)–0% (10.1-15 min) としたグラジエント溶出を行った。

【結果と考察】 EVOLUTE EXPRESS AX, ISOLUTE SCX, および EVOLUTE EXPRESS ABN (全て Biotage 社製)の 3 つの固相抽出カラムを検討対象とし、いずれもメーカー推奨の標準的抽出手順でピーク検出の程度を検討した。その結果、8 物質すべてのピークを検出できた EVOLUTE EXPRESS ABN を採用した。その後固相抽出溶媒等の最適化を行い、洗浄液は 2%ギ酸、溶出液には 50%メタノールを採用した。これらの設定条件を使用し、プールした凍結乾燥便にて同時再現性実験を行った結果、Pyridoxine を除いた 7 物質で 15%以下の CV% を得ることができた。Thiamin, Riboflavin, Nicotinic acid, Pantothenic acid, Pyridoxine, Biotin, Folic acid, Cyanocobalamin の検出下限値はそれぞれ 12.9, 0.4, 7.2, 0.1, 1.8, 4.9, 0.1 および 0.003 μ g/g fecal sample であった。10 名のヒト便サンプル (凍結乾燥便) からビタミン B 群を定量したところ Thiamin, Riboflavin, Nicotinic acid, Pantothenic acid, Pyridoxine, Biotin, Folic acid, Cyanocobalamin それぞれの最大値は、37, 13, 194, 97, 239, 11, 0.33, 11 μ g/g fecal sample であった。今後は、凍結乾燥処理を行った際の損失や、便の採取部位による値のばらつきも検討する予定である。

血清中の細胞外小胞のプロテオーム解析による膵臓癌の新規診断マーカーの探索

○岡野朱里¹、高野重紹²、粕谷葉子³、村岡 賢³、大塚将之²、朝長 毅³、足立 淳³、曾川一幸¹

¹麻布大学、²千葉大学、³医薬基盤・健康・栄養研究所

Proteomics of Serum Extracellular Vesicles Identifies a Novel PDAC biomarker

○A.Okano¹, S. Tanaka², Y. Kasuya³, S. Muraoka³, M. Ohtsuka², T. Tomonaga³, J. Adachi³, K. Sogawa¹

¹Azabu University, ²Chiba University, ³National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition

【目的】膵臓癌は早期発見が非常に困難な上に進行が早く、極めて予後不良の疾患である。現在、低侵襲の膵臓癌診断には腹部超音波検査が行われるが、膵臓は腹腔内の深部に存在するため、全て描出することは非常に困難で、感度の低さが問題となっている。また、現存する血液診断マーカーも特異性は低いため、他の癌腫と比べ予後の改善が乏しいが、早期発見・手術が可能な症例の5年生存率は向上している。よって、早期発見のために高感度で特異的な診断マーカーを特定することは重要である。

【方法】対象は膵臓癌患者血清 90 検体（術前 45 検体、術後 45 検体）である。MagCapture Exosome Isolation Kit（富士フィルム/和光純薬）を用いて血清から細胞外小胞を精製、タンパク質の抽出・消化後、質量分析計を用いた網羅的タンパク質比較定量解析（DIA 法）を行い、新しい膵臓癌診断マーカー候補を探索した。

【結果】DIA 解析により、3876 種類のタンパク質の比較定量データが得られた。膵臓癌の術前と術後の比較を行った結果、有意差がみられた（ $p < 0.05$ ）蛋白質 131 種類同定した。これらのタンパク質は有望な新規膵臓癌診断マーカーと考えられた。

【考察】膵臓癌の術前術後の血清細胞外小胞タンパク質の網羅的解析、相対定量解析により、新しい膵臓癌診断マーカータンパク質候補の同定に成功した。更なる検体を用いた解析を行い、診断が可能な新規膵臓癌診断マーカーを絞り込んでいく方針である。

職業性化学物質曝露の生物学的指標スクリーニング法の開発 -尿中揮発性物質および半揮発性物質-

○棚橋祐斗¹, 北原悠吾¹, 小田切俊樹¹, 竹内靖人², 佐久井徳広³, 斎藤勲¹, 上山純¹
¹名古屋大学・院・医・総合保健学、²中央労働災害防止協会・大阪労働衛生総合センター、³アジレントテクノロジー株式会社

Development of a Screening Method for Biological Indicators of Occupational Chemical Exposure-Volatile and semi-volatile substances in urine-

○Yuto Tanahashi¹, Yugo Kitahara¹, Toshiki Odagiri, Akito Takeuchi², Norihiro Sakui³, Isao Saito¹, Jun Ueyama¹
¹Nagoya University, ²Osaka Occupational Health Service Center, Japan Industrial Safety and Health Association, Osaka, Japan, ³Agilent Technologies, Japan.

【目的】厚生労働省の「職場における化学物質等の管理のあり方に関する検討会」において、化学物質の管理は現在の個別具体的な規制から、自立的な管理方式への転換の必要性が提言され、処置義務対象の化学物質が大幅に拡大することが決定した。これに伴い将来的には、化学物質曝露評価において尿など生体試料中の化学物質を測定しその曝露量を評価する、ヒトバイオモニタリング(HBM)に求められる役割が拡大する可能性が考えられる。そこでアメリカ産業衛生専門家会議(ACGIH)、ドイツ研究振興協会(DFG)および日本産業衛生学会(JSOH)において生物学的許容値等が設定されている曝露マーカーの物理化学的特徴を調査したところ、揮発性有機化合物(VOC,沸点50-250°C)と半揮発性有機化合物(SVOC,沸点250-390°C)が半数以上(約67%)を占めていた。本研究では、HBM対象物質拡大を目指して、簡易な生体試料前処理法と汎用機器を用いたSVOC測定法の確立を目指した。すなわち、現在VOC測定に使用され、前処理が比較的簡便であるヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析計(HS-GC-MS)を用いて、尿試料の凍結乾燥前処理と組み合わせることで、測定対象物質をSVOCまで拡大することを目指し、モデル標準物質を用いた各種検討を行った。

【方法】測定装置はHSサンプラー(Agilent HP7694)とGC-MS(Agilent GC7890A-MS5975C)、分離カラムにはAgilent DB-5MSカラム(Length: 30m, Diam.: 0.25mm, Film: 0.25um)を用いた。水質試験用VOC24成分混合標準液(GL Sciences社)、RESTEK8270MegaMix(RESTEK社)、農薬混合標準液63(関東化学株式会社)をVOCおよびSVOCのモデル標準物質として使用した。測定法の再現性については検量線の直線性及び変動係数CV%にて評価した。

【結果と考察】プール尿に標準物質を添加し、VOC測定条件(HS加温温度60°Cで30分加温)で測定した場合、沸点250°C程度以上の物質(SVOC)は検出できなかった。しかし、尿を凍結乾燥することで、サンプル加温温度を100°C以上にすることが可能となり、SVOCの検出が可能になった。SVOCの最大沸点は350°C程度であった。SVOC測定用のHSサンプル加温温度を最適化する検討を行った結果、検出物質数と未知ピークの出現を加味して140°Cで30分間の加温条件を最適とした。検量線(0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/L urine)の決定係数は0.897以上であり、検出物質のうち90%でばらつきはCV20%以下であった。物理化学的特徴である沸点、蒸気圧、脂溶性の指標であるオクタノール/水分配比(LogPow)を独立変数として、検出の有無(目的変数)を予測するモデルを決定木分析で作成した。その結果、ROC曲線下面積は0.953と、予測モデルとしては良好な結果が得られ、物理化学的性質、特に沸点とLogPowを基に本測定法への適応を予測できる可能性を見出した。

【結語】本研究によって、尿を凍結乾燥することでHS-GC-MSの測定対象VOCだけでなくSVOCまで拡大できる可能性を示した。今後は生物学的許容値設定のある化合物のライブラリー作成など、実用化に向けた取り組みを引き続き進める予定である。

Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture 法による膵臓癌の早期新規診断マーカーの解析

○武富春香¹, 高野重紹², 大塚将之², 曾川一幸¹

¹ 麻布大学, ² 千葉大学

Search for novel diagnostic markers of pancreatic ductal adenocarcinoma using stable isotope labeling by amino acids in cell culture

○Haruka Takedomi¹, Shigetsugu Takano², Masayuki Otsuka², Kazuyuki Sogawa¹

¹ Azabu University, ² Chiba University

【目的】膵臓癌は悪性腫瘍の中でも予後不良の癌として知られている。腫瘍の大きさが 1cm 以下の膵臓癌の 5 年生存率は 80.4%、1-2cm の 5 年生存率は 50%と報告されており、膵臓癌の手術後に良好な生命予後を得るためには、Stage I A 以下の段階での早期診断が必要である。早期発見のためには膵臓癌に特異的な診断マーカーが必要である。

【方法】マウス前癌病変 (PanIN) 細胞株とマウス膵癌細胞株から Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture (SILAC) 法で得られた培養上清を用い、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である Protein X を見出した。その候補タンパク質は、Lectin Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (Lectin ELISA) を用いて、健常者 20 名、慢性膵炎患者 5 名、膵癌患者 65 名、胆管癌患者 19 名、肝臓癌患者 9 名の血清検体を用いて測定し検証した。

【結果】SILAC 法により細胞分泌タンパク質を比較分析し、PanIN 細胞株より膵癌細胞株で発現が 5 倍以上増えていたものが 7 種類検出された。特に 9.3 倍の違いがある Protein X に注目した。血清 フコシル化 Protein X 濃度は健常者 0.00 ± 0.01 AU/mL、慢性膵炎患者 0.00 ± 0.00 AU/mL、膵臓癌患者 0.07 ± 0.05 AU/mL (Stage I: 0.10 ± 0.07 AU/mL、Stage II: 0.06 ± 0.02 AU/mL、Stage III: 0.06 ± 0.02 AU/mL、Stage IV: 0.06 ± 0.01 AU/mL) であり、膵癌患者は健常者及び慢性膵炎患者に比べ $p < 0.001$ と有意に高値を示した。

【考察】血清フコシル化 Protein X は膵臓癌の早期診断マーカーとして有用であることが示唆された。今後は肝臓癌患者に反応を示さないより特異性の高い抗体を作製し、Lectin ELISA を構築する予定である。

尿メタボローム解析による尿オロット酸上昇疾患の鑑別診断

○金明姫、張春花、阮宗海、王旭陽、唐劍慈
 ミルスインターナショナル 検査・研究開発部

Differential diagnosis of pathophysiology of elevated orotate by metabolomics

○Mingji Jin, Chunhua Zhang, Zonghai Ruan, Xuyang Wang, Jianci Tang

Department of research & development of MILS International

【目的】尿中オロット酸上昇する病態は様々で、遺伝性オロット酸尿症、尿素サイクル異常症の OTC 欠損症、アルギニン血症、シトルリン血症、アルギニノコハク酸尿症、HHH 症候群、リジン尿性蛋白不耐症などの先天代謝異常症の代謝解析に重要である。上記疾患の多くは、高アンモニア血症による嘔吐、痙攣、意識障害などの症状を呈し、死に至るケースも少なくない。救命治療のため、迅速かつ正確な鑑別診断が必要である。今回メタボローム解析による上述 6 種の先天代謝異常症の鑑別診断について検討したので報告する。

【方法】症例は当施設に依頼してきた尿中オロット酸上昇症例 11 例（男 6 例、女 5 例、年齢 7D~10Y3M）。上記症例の尿検体を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。ルーチンメタボローム解析の上、鑑別診断マーカーとしてオロット酸、ウラシル、オルニチン、サイクルシトルリン、リジン、アルギニン、アルギニノコハク酸の上昇の有無を検索した。尿中ホモシトルリンと血中アミノ酸分析はタンデムマスを用いた。

【結果】症例 1 と症例 2 は尿中ウラシルとオロット酸の上昇を認めた。血中アミノ酸は正常範囲であったため、症例 1 と症例 2 は OTC 欠損症と判断した。症例 3（遺伝子検査でアルギニン血症疑い）は尿中ウラシルとオロット酸の上昇とともに血中のアルギニンの上昇を認めたので、アルギニン血症と判断した。症例 4 と症例 5 は尿中オロット酸、オルニチン、ウラシルの増加を認め、症例 5 は尿中サイクルシトルリンの検出もあった。症例 4 と症例 5 は血中シトルリンの増加を認めたため、シトルリン血症と判断した。症例 6 は尿中ウラシル、オロット酸の増加に伴いアルギニノコハク酸の著明増加を認めたため、アルギニノコハク酸尿症と判断した。症例 7、症例 8 と症例 9 は尿中オルニチン、ウラシル、オロット酸、ホモシトルリンの増加を認めた。症例 9 は血中ホモシトルリンの増加も認めた。よって、症例 7、症例 8 と症例 9 は HHH 症候群と判断した。症例 10 は尿中オロット酸とリジンの増加を認めた。症例 11（遺伝子検査でリジン尿性蛋白不耐症疑い）は尿中ウラシル、オロット酸、リジンの増加を認めた。症例 10 と症例 11 はリジン尿性蛋白不耐症と判断した。

【考察】オロット酸上昇する 6 種の病態の尿メタボローム特徴は、リジン尿性蛋白不耐症には尿中オロット酸とリジンの上昇が重要なマーカーであり、HHH 症候群には尿中オルニチンの上昇と、尿中と血中ホモシトルリンの増加が必須条件である。尿中アルギニノコハク酸の上昇はアルギニノコハク酸尿症の特異指標であり、尿中サイクルシトルリンの検出はシトルリン血症の診断に重要な指標である。尿中尿素回路アミノ酸の異常を伴わないウラシルとオロット酸の増加は OTC 欠損症の診断に重要である。上記結果より、尿メタボローム解析にて、迅速かつ正確に 6 種の先天代謝異常症の化学診断ができ、この方法は高アンモニア血症の原因となる急患の臨床診断支援に重要な役割を果たせるツールと考える。

唾液中有機酸分析におけるいくつかの同位体代謝物について

○中村勇¹, 岩本浩二², 佐藤瑞穂³, 阿部尚美¹, 深谷雅博¹, 中山智博¹

¹茨城県立医療大学, ²東京保健医療専門職大学, ³(株) 生体分子計測研究所

Some isotopic metabolites in the analysis of organic acids in saliva

○Isamu Nakamura¹, Kouji Iwamoto², Satou Mizuho, Naomi Abe¹, Masahiro Fukaya¹, Tomohiro Nakayama¹

¹Ibaraki prefectural University of health sciences, ²Tokyo Professional University of Health Science,

³Research Institute of Biomolecule Metrology Co., Ltd.

【目的】天然存在比からなる安定した特定の元素で標識した化合物が、細胞の代謝や創薬、工学など多様な研究領域で用いられている。一方でこれらの同位体は自然界にも存在している。尿中有機酸分析を GC-MS/MS にて高感度に分析していると、これら同位体を構造的に含めた化合物が微量に測定されることがある。今回は試行的に唾液を使用して ¹³C と重水素を含む化合物に焦点を合わせて測定を行った。これらの経験について報告する。

【方法】唾液の採取は、本研究に同意を得られた健常成人 3 名の協力を得た(いずれも ¹³C や重水素でラベルされたアミノ酸や水を意図的に摂取していない)。唾液採取用のスワブ (Salimetrics Oral Swab, Salimetrics LLC) を口に含み採取した後、専用の容器に入れ (Swab Storage Tube), 遠心機にて 5G で 10 分間分離を行った後、酢酸エチルにて抽出、窒素乾固して TMS 化させた。分析には GC-MS (島津製作所 TQ-8040) を用いた¹⁾。

GC-MS/MS による MRM 測定は Glutamic acid-¹³C₅-3TMS, 4-Hydroxybenzoic acid-¹³C₆-2TMS, Lauric acid-d₃-TMS, Taurine-¹³C₂-3TMS, Ribose-¹³C₅-meto-4TMS, Tyrosine-¹³C₆-3TMS, Dopa-¹³C₆-4TMS, Tryptophan-¹³C₁₁-3TMS, Ornithine-d₇-4TMS, Citric acid-d₄-4TMS, Kynurenine-d₆-3TMS, Cystamine-d₈-nTMS をターゲットとし測定を行った。また本研究の手続きについては茨城県立医療大学倫理委員会の承認(受付番号 890)を得た。

【結果】測定の結果、3 名ともに測定された化合物は Citric acid-d₄-4TMS, Lauric acid-d₃-TMS, Oxalic acid-¹³C₂-2TMS, Sarcosine-d₃-2TMS, Tryptophan-¹³C₁₁-3TMS, Tyrosine-¹³C₆-3TMS であり、その他は Glutamic acid-¹³C₅-3TMS(2 名), Isoleucine-d₁₀-2TMS(1 名)がそれぞれ微量に測定された。

【考察】今回の対象数は 3 名であり統計的に検討することに意味はないが、ヒトの体内における同位体を含む化合物の存在率は、それぞれ食事の習慣や食物の種類などによって影響を受けるものとする。よってヒト体内の栄養素の動態について安定同位体を利用する際には、事前の状態評価や食生活を考慮することが重要と考えられる。

【参考文献】 1) Kimura M et al.: Automated metabolic profiling and interpretation of GC/MS data for organic acidemia screening: a personal computer-based system. Tohoku J exp Med 188:317-334, 1999

Development of an LC/MS assay method for evaluating sphingomyelin synthase inhibition and screening of seaweed extracts: Comprehensive *in-vitro* and *in-silico* approaches.

Jayashankar J¹, Siddabasave Gowda B Gowda^{1,2}, Divyavani Gowda², Hitoshi Chiba³, Shu-Ping Hui²

¹Graduate School of Global Food Resources, Hokkaido University, Kita-9, Nishi-9, Kita-Ku, Sapporo 060-0809, Japan. ²Faculty of Health Sciences, Hokkaido University, Kita-12, Nishi-5, Kita-ku, Sapporo 060-0812, Japan. ³Department of Nutrition, Sapporo University of Health Sciences, Nakanuma, Nishi-4-3-1-15, Higashi-ku, Sapporo 007-0894, Japan.

Purpose: Obesity is a major global epidemic and a leading preventable cause of death worldwide [1]. It is closely associated with metabolic disorders that can lead to psychological stress and exacerbate obesity-related complications. One crucial factor in these metabolic disorders is the altered lipid metabolism enzyme [2]. The enzyme involved in this process is sphingomyelin synthase (SMS) which has two separate isoforms of SMS1 and SMS2 with distinct subcellular localizations [3]. **Methods:** In this study, we developed a simple, sensitive, and reproducible LC/MS method by monitoring the selected reaction monitoring (SRM) channels for C6-Ceramide and C6-Sphingomyelin which were established using TSQ Quantum Access Triple Quadrupole Mass Spectrometer in positive ionization mode. In this method, HeLa cells expressing SMS1 and SMS2 were used, and C6-Ceramide was used as a substrate to measure the SMS activity. Also, we selected five commonly consumed Japanese dietary seaweeds to check their potency against SMS. **Results:** To validate this SMS assay method, we measured the SMS inhibitory activity of HeLa/SMS1 and HeLa/SMS2 cell lysates after treatment with a known inhibitor, Ginkgolic acid (GA). The assay was performed with different concentration of GA and the *in-vitro* results shows that GA has excellent inhibiting activity against SMS1 and SMS2. The *in-silico* results for the GA were also studied and validated by molecular docking and molecular dynamics simulation studies. The results show that the GA binds with various amino acids in the binding pocket of the active site of both SMS1 and SMS2 proteins. Further screening of five edible seaweeds of methanol extract shows that hijiki has potential inhibitory activity on both SMS1 and SMS2. **Conclusion:** Both the *in-vitro* and *in-silico* insights of GA on SMS were investigated. GA appears to be a promising SMS inhibitor. Also, hijiki methanol extract showed the potential inhibition of our future interest. The establishment of the SMS inhibition screening assay method may help to facilitate the discovery of novel SMS1- or SMS2-specific inhibitors.

¹Nguyen et al., *Can J Cardiol.*, **28(3)**, 326-333 (2012). ²YanQun Chen et al., *Anal. Biochem.*, **438(1)**, 61-66 (2013). ³Bautista RJH et al., *Biomed. Pharmacother.*, **111**, 503-516 (2019).

細胞内代謝フラックス解析の自動化

○島崎譲¹, 渋谷啓介¹, 河原井雅子²

¹(株)日立製作所 研究開発グループ,²(株)日立ハイテク モノづくり・技術統括本部

Automation of Data Processing for Intracellular Metabolic Flux Analysis

○Yuzuru Shimazaki¹, Keisuke Shibuya¹, Masako Kowarai²

¹ Research and Development Group, Hitachi, Ltd., ² Manufacturing & Technology Business Group, Hitachi High-Tech Corporation

【目的】再生医療や創薬支援では、適正な条件下で培養された品質の良い細胞を用いる必要があり、培養品質の管理が必要である。日立ではこれまでに、培地上清の成分分析技術などを用いて、培養品質を管理する方法の開発を進めてきた。また、幹細胞の分化誘導時などに必要とされる高度な培養品質の管理をめざして、代謝モデルに基づき基質の代謝経路を評価する技術(代謝フラックス解析技術)を検討してきた。本研究では、代謝物のマスクロマトグラムを自動解析し、細胞内の代謝フラックスを出力するソフトウェアを試作した。本発表では試作したソフトウェアを評価した結果を報告する。

【方法】MathWorks社のMATLAB[®]を用いて、ソフトウェアを試作した。また、GC-MSにより測定したCHO細胞の代謝物のマスクロマトグラムを用いて、試作ソフトウェアを評価した。試作ソフトウェアには、マスクロマトグラムのガウスフィッティングにより代謝物を定量し同位体比を算出する機能を実装した。また、OSSとして公開されているOpenFLUXを実装し、同位体比を用いて細胞内代謝フラックスを推定する機能も付与した¹。試作ソフトウェアのGUIには、解析条件を入力する画面と、解析結果をグラフ出力する画面を装備した。

【結果】培養日数が異なるCHO細胞から抽出した4種類の試料に対してGC-MS測定を実施した(SIMモード、 $n=6$)。試作ソフトウェアを用いて、得られたマスクロマトグラムを解析し、16種類(28フラグメント)の代謝物に対してM+0~M+5の同位体比を算出した。解析に要した時間は2分30秒であった。また、M+0の同位体比の標準偏差は1%程度であった。さらに、得られた同位体比を用いて代謝フラックス解析を実施したところ、代謝フラックスが既報の論文²と同等の傾向を示し、解析が妥当であることが示唆された。

【考察】現状の手動のマスクロマトグラム解析では、数時間の作業が必要である。従って、本ソフトウェアの適用により、解析時間の大幅短縮が可能と考えられる。また、属人性が排除できるため、研究者間のスキル差による解析結果の相違を回避することも可能となる。以上から、本ソフトウェアにより、代謝フラックス解析の時間短縮と信頼性向上が期待できる。

¹L.Quék *et al.*, *Microbial Cell Factories*, **8**, 25 (2009). ²M.Coulet *et al.*, *Cells*, **11**, 1929 (2022).

LC/MS/MSによるキシレン、スチレン、トルエン尿中代謝物の同時定量法開発

○本田有紀¹, 佐藤守¹, 森正敏¹

¹ 株式会社エスアールエル

Development of Simultaneous Quantitative Analysis Method for Xylene, Styrene, Toluene Metabolites in Human Urine using LC/MS/MS

○Yuki Honda¹, Mamoru Satoh¹, Masatoshi Mori¹

¹ SRL, Inc.

【目的】スチレン、トルエン、キシレン等の有機溶剤は工業用原料や塗装、印刷等で幅広く使用されており、作業の内容・環境によっては暴露の危険性が常に存在している。実際令和3年の有機溶剤健診実施状況¹⁾内訳では受診労働者数のうち約4%で有初見が認められていた。これら有機溶剤は吸収されると速やかに血中に吸収され肝臓で代謝後尿中へ排出される。尿中有機溶剤代謝物の濃度は作業者の有機溶剤暴露状況を反映しているため、暴露評価に用いられている。現在SRLでは高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて有機溶剤代謝物の検査を行っているが、長い分析時間(有機溶剤以外の代謝物の影響を避けた分析条件のため)、複数目検査(対象の有機溶剤によって測定条件が異なる)、定期的なメンテナンス等に多くの工数・時間を要している。そこで我々は高速かつ高選択、さらに高い頑健性を有する方法が必要であると考え、分析機器の中で高い選択性を有するLC/MS/MSを用いキシレン、スチレン、トルエン代謝物の頑健性の高い同時定量分析法を構築したので報告する。

【方法】有機溶剤に暴露された尿を入手することが困難なため、株式会社ケーエーシーから個別尿およびPool尿を購入し、キシレン、トルエン、スチレンの代謝物であるメチル馬尿酸(*o, m, p*-体)、馬尿酸、マンデル酸、フェニルグリオキシル酸の標準品を添加し疑似暴露尿を作成し本評価に用いた。疑似暴露尿をアセトニトリル/超純水=1/1(v/v)および内部標準液で希釈し、SCIEX社製Qtrap4500® LC/MS/MSシステムを使用し定量した。

【結果・考察】LC/MS/MSの最適な条件を検討した結果、キシレン、スチレン、トルエン尿中代謝物の同時分析法を7.5min以内で構築することができた。構築した分析法の妥当性を評価するため直線性・再現性・添加回収試験を行った結果、各代謝物の定量下限は0.005g/L、定量範囲は0.005-4g/L(*m, p*-体は合算値として0.01-8g/L)、直線性はR=0.999以上、添加回収試験は93.3-112.5%と良好な結果が得られた。さらに疑似暴露尿を用い頑健性を確認した結果、尿検体n=100以上を安定して測定することが可能であった。本法ではキシレン代謝物であるメチル馬尿酸の*m*体と*p*体を合算して評価したが、今後は*o, m, p*-体を高速で分離する方法を構築し、検査のさらなるハイスループット化を図っていきたいと考えている。

【参考資料】1) 厚生労働省 業務上疾病発生状況等調査 第4表 (令和3年)

GSMS メタボローム分析による ALDH7A1 変異の化学診断バイオマーカーの同定と鑑別診断

○阮 宗海、張 春花、王 旭陽、金 明姫、趙寧、謝宏傑、唐 劍慈、万 婷婷
ミルスインターナショナル

Identification of Chemodiagnostic Biomarkers for ALDH7A1 Mutations and Differential Diagnosis by GSMS Metabolome Analysis

○Zonghai Ruan, Chunhua Zhang, Xuyang Wang, Mingji Jin, Ning Zhao, Hongjie Xie, Jianci Tang, Tingting Wan
MILS International

【目的】ALDH7A1 変異に由来するピリドキシン依存性癲癇(PED)は主に乳児期から幼児期早期に発症し、ピリドキシンの投与によって症状が改善される特徴ある。そのため、早期の診断が重要です。当施設では網羅的メタボロミクス法を使用して広範な診断スクリーニングを行っており、本研究ではピペコリン酸(PA)、 Δ 1-ピペリジン-6-カルボン酸(P6C)と6-オキソピペコリン酸(6-oxo-PA)の候補バイオマーカーを同定し、ALDH7A1 欠損症の化学診断の信頼性を向上させたことを報告する。また、PA が中高レベル程度上昇している症例の特徴と鑑別診断についても検討した。

【方法】ALDH7A1 欠損症遺伝子診断された患者3例、ピリドキシン依存性癲癇疑いがある患者5例、および α -ケトアジピン酸尿症(α -KAA)とアルギニノコハク酸尿症(ASA)の化学診断確定された患者各1例の尿を使用した。尿検体はウレアーゼ処理法で前処理し、GC/MSで測定した。データの解析は、当施設の代謝異常症の解析プログラムを使用して、候補バイオマーカーの定性と定量を行った。

【結果】尿中のPAが中高レベル程度上昇している患者は、以下の三つのグループに分類された：Aグループ(PA、P6C および 6-oxo-PA が上昇, n=2)、Bグループ(PA および P6C が上昇, n=4)、およびCグループ(PA のみが上昇, n=4)。ALDH7A1 欠損症遺伝子が診断された3例のうち、2例がAグループに、1例がBグループに所属していた。6-oxo-PAの上昇は主要なバイオマーカーと考えられたが、ALDH7A1 欠損症の1例では6-oxo-PA上昇が見られず、個体間の多様性が示唆された。また、BとCグループには α -KAA および ASA患者が1例ずつ存在し、これは報告された事例では初めてのことです。尿中PAとP6C上昇はALDH7A1 欠損症だけではなく、モリブデン補酵素欠損症や肝機能障害などでも報告されている。BとCグループの残りの5例は確定診断を受けていないが、PAとP6Cの上昇は臨床的な鑑別診断に有益な情報を提供する可能性がある。

【考察】本研究では、尿中にPA、P6C および 6-oxo-PA の同定により、AASADH 欠損症のより迅速かつ信頼性の高い化学診断が可能になった。また、PAとP6Cの上昇は多くの疾患に関与しており、網羅的メタボローム解析によって鑑別診断の可能性も示唆された。2-KAA患者の尿中でのPAとP6Cの上昇は、代謝産物の蓄積に起因し、 α -アミノアジピン酸セミアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性の抑制に関与している可能性が考えられる。また、ASA患者ではアルギニンの産生を阻止されることによって、尿中でのPA上昇の一因となる可能性も推定される。

LC-MS/MS を用いた血中メラトニンとカフェイン、パラキサンチン濃度の定量法の開発

○島崎 隼人, 高野 大輝, 尾川 慎悟, 深江 桃花, 秋山 遥香, 五十嵐 俊二, 降幡 知巳, 柴崎 浩美, 横川 彰朋
東京薬科大学薬学部

Development of a liquid chromatography-tandem mass spectroscopy method for quantification of plasma melatonin, caffeine and paraxanthine

○Hayato Shimazaki, Hiroki Takano, Shingo Ogawa, Momoka Fukae, Haruka Akiyama, Shunji Igarashi, Tomomi Furihata, Hiromi Shibasaki, Akitomo Yokokawa
School of Pharmacy, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

【目的】メラトニン (MEL) とカフェイン (CA) は睡眠への作用があり, 両者は相反する作用を持つ. MEL は分泌後 6 位水酸化体へ, CA は摂取後パラキサンチン (PX) へと代謝されるが, どちらも cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) が担うため, 血中 MEL 濃度は CA の摂取や CYP1A2 活性の変動の影響を受ける可能性がある. MEL と CA, PX を LC-MS/MS により同時に定量できれば, 血中 PX/CA 比で評価される CYP1A2 活性と血中 MEL 濃度の変動による睡眠への影響に関する研究が可能となる. 一方で, 両者には 10^6 程度の濃度差があり, これまでに同時定量はなされていない. そこで本研究では, 血中 MEL と CA, PX を定量するために LC-MS/MS への注入量を検討し, 定量法の確立を目的とした.

【方法】血漿 1 mL を固相デバイス (Sep-pak C18) で前処理後, LC-MS/MS (Xevo TQD, Waters) で測定した. モニターイオンは MEL で m/z 233→174, CA で m/z 195→138, PX で m/z 181→124 とした. 低濃度の MEL と高濃度の CA, PX はそれぞれ 0.1~10 μ L で適切となる注入量を検討した. 健常人 4 名に対し, 48 時間の CA 摂取制限後, CA (146 または 142 mg) 含有食品を摂取してもらい, その 4, 6, 24, 26 時間後に採血した. なお, 本研究は東京薬科大学倫理審査委員会から承認を得ている (承認番号: 22-04).

【結果】LC-MS/MS への注入量を 10 μ L とすることで低濃度の MEL でも定量可能なピークが得られたが, 高濃度の CA, PX のピークはリーディングを起こした. そこで CA, PX の定量に対しては MEL とは別に 0.1 μ L の注入量とすることで両者が適したピーク形で測定可能となった. この注入条件での精度再現性は, MEL, CA, PX で相対誤差 (R.E.) が -9.62%~1.01%, 0.96%~9.39%, -2.77%~5.67%, 相対標準偏差 (R.S.D.) が 7.23%, 4.96%, 8.54% 以内と良好であることを確認した. 健常人の CA 投与後の血中濃度測定では, MEL が 0.716~31.735 pg/mL, CA が 0.380~3.702 μ g/mL, PX が 0.443~0.966 μ g/mL, 血中 PX/CA 比が 0.120~1.780 となり, これまでの報告^{1,2}と同程度の数値を示した.

【考察】LC-MS/MS への注入量を変更することで濃度差の大きな MEL と CA, PX を同じサンプル調製手順で同時に定量することができた. 本法は, 血中 MEL 濃度や睡眠へ CA 摂取が及ぼす影響, これらに対して CYP1A2 活性が関与する影響の研究に役立つ定量方法となることが期待される.

¹ Iguichi *et al.*, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 55, 27-29 (1982). ² White *et al.*, *Clin. Toxicol.*, 54, 308-312 (2016).

慢性腎臓病(CKD)における硫黄代謝物に基づく呼気オミックス

○逸見佳宣¹ 緒方星陵² 井田智章² 三枝大輔³ 魏范研⁴ 赤池孝章² 佐藤恵美子¹

¹ 東北大学大学院薬学研究科 臨床薬学部分野

² 東北大学大学院医学系研究科 環境医学分野

³ 帝京大学薬学部 臨床分析学研究室

⁴ 東北大学加齢医学研究所 モドミクス医学分野

Exhalation omics based on sulfur metabolites in chronic kidney disease (CKD)

○Henmi Yoshinobu¹ Ogata Seiryō² Ida Tomoaki² Daisuke Saigusa³ Wei Fanyan³ Akaike Takaaki² Sato Emiko¹

¹ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University

² Department of Environmental Medicine and Molecular Toxicology, Tohoku University Graduate School of Medicine

³ Faculty of Pharma-Science, Teikyo University

⁴ Department of Modomics Biology and Medicine, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University

【背景・目的】自然に吐く息（呼気）には硫黄代謝物を含めた様々な代謝物が含まれており、呼気代謝物で生体内をモニタリングできれば非侵襲的遠隔医療となり、疾病予防や診断などに有用な技術となる。慢性腎臓病（CKD）は本来尿中へ排泄されるべき硫黄含有代謝物を含む尿毒素が体内に蓄積する疾患である。本研究では、CKD病態を対象に培養細胞・モデル動物を用いて CKD 特異的な呼気中バイオマーカーの同定と生体内硫黄代謝を明らかにする。

【方法】Adenine 誘発腎不全モデルマウスを対象に呼気凝縮液の採取を行い、網羅的メタボロミクスにより CKD 病態で変化する化合物を特定した。同時に尿の採取を行い、硫黄代謝物の測定を行った。そして、マウス腎臓において、GC-MS/MS による網羅的メタボロミクスと遺伝子発現検査により CKD 病態における体内硫黄代謝を明らかにした。さらに、ヒト腎近位尿細管上皮細胞株 HK-2 を用いて、尿毒素の毒性に対する硫黄ドナーの効果調べた。

【結果】CKD 病態の呼気凝縮液では、有意に増加した化合物が 50 種、有意に減少した化合物が 8 種類特定された。また、CKD 病態では腎臓硫黄代謝の減弱が確認され、尿中硫黄代謝物も有意に低値を示した。HK-2 細胞では、尿毒素の毒性に対する硫黄ドナーによる保護効果が示された。

オンライン前処理装置を用いた固相誘導体化法による血漿メタボロミクス分析

○新川翔也, 浅井智紀, 佐々野僚一
株式会社アイスティサイエンス

Plasma metabolomics analysis by solid phase analytical derivatization using online pretreatment system

○Shoya Arakawa, Tomonori Asai, Ryoichi Sasano
AiSTI Science, Co., Ltd.

【目的】生体内代謝物の網羅的分析手法を指すメタボロミクスは、医学・食品分野における表現型解析手法の一つとして頻用されている。ガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) はメタボロミクスに用いる分析機器の第一選択として挙げられるが、生体内代謝物の多くは難揮発性の化合物でありガスクロマトグラフィーには適さない。そのためトリメチルシリル誘導体化 (TMS 化) によって揮発性を向上させた状態で分析に供する手法がとられている。しかしながら、TMS 化処理を行うには水分の除去 (脱水) が必須であり、そのための凍結乾燥処理に 10 時間以上を要する。本報告では前処理時間の短縮を目的として、脱水操作に固相カートリッジを用いる手法および固相上での誘導体化処理 (固相誘導体化法) を提案する。

【方法】分析試料として異なる抗凝固剤 (クエン酸、EDTA-2K、ヘパリン) を用いた市販血漿を用いた。市販血漿 50 μ L に対し内部標準物質を含む水 150 μ L を加え、さらにアセトニトリル 800 μ L を加え除タンパク処理を行い、遠心分離によって得られた上清を試料液とした。試料液は 2 層のイオン交換固相カートリッジに負荷され、代謝物は固相に保持される。そこにアセトニトリルを通液することで固相中の水分を取り除き、窒素ガスで乾燥する。続いて誘導体化試薬を含浸させ、TMS 化処理を行う。TMS 化された代謝物は疎水性溶媒にて溶出されその全量が GC 注入口に導入される。GC/MS データは解析ソフトウェア MS-DIAL およびインハウスライブラリを用いてデータ解析を行い、各ピークに対する代謝物同定とピーク面積値のデータ行列を作成した。最後に、データ構造を把握するために主成分分析を行った。

【結果・考察】血漿に含まれる代謝物が同定され、その同定ピークによる主成分分析のスコアプロットは抗凝固剤の種類ごとにクラスターを形成していた。本手法および本システムの利用によって抽出以後の前処理に要する労力を削減しスループットの向上や省力化が期待できる。今後は対象成分の拡大に努め、より精密な表現型解析を目指したい。

水素をキャリアガスとして用いた GC/MS によるがん細胞のメタボローム解析

○加納圭子¹, 佐藤伸哉¹, 佐藤龍洋², 三城恵美¹

¹ 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所, ² 愛知県がんセンター研究所

Metabolomic analysis of cancer cells by GC-MS using Hydrogen carrier gas

○Keiko Kano¹, Shinya Sato¹, Tatsuhiko Sato², Emi Mishiro-Sato¹

¹ Institute of Transformative Bio-Molecules(ITbM), Nagoya University, ² Aichi Cancer Center Research Institute

【目的】疾患の理解や治療標的探索には、多層的な解釈が必要な場合があり、トランスオミクスを通じた総合的な解釈から重要なデータを得られることが期待されている。当研究室は、学内外の研究者からプロテオミクスを中心に受託解析をしてきたが、様々な解析ニーズに対応できるよう、ガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC/MS) を用いたメタボロミクスの導入を進めている。これまで汎用されてきた GC/MS はヘリウムガスキャリアが一般的でありライブラリも充実しているが、供給不足や価格高騰が問題となっている。打開する方法として水素ガスキャリアの使用が増えてきたが、水素ガス用のライブラリはまだ十分に構築されていない。本発表では、水素ガスキャリアを使用した GC/MS で安定的にメタボロミクスを実施することを目指した取り組みを紹介する。

【方法】測定には、Agilent 8890 GC/5977B GC/MSD 複合システムと PEAK 社の水素発生装置を使用した。誘導体化には AMR 社の自動誘導体化システムを使用した。サンプルには、糖代謝に変化が生じることが報告されている遺伝子のノックアウト有無のがん細胞を用いた。Bligh&Dyre 法により抽出した親水性代謝物を回収し測定した。Fiehn および NIST のライブラリに加えて、親水性代謝物混合液で構築した自作ライブラリを用いた化合物同定と、Mass Hunter Quantitative analysis を用いた半定量解析を行った。

【結果】条件を最適化することで、がん細胞サンプルから、標品に含まれるほぼ全ての代謝物を検出することができた。主成分分析を行った結果、2 群のがん細胞で、親水性代謝物プロファイルが異なることが示唆された。標品ライブラリを用いて解析したところ、解糖系・TCA サイクルの変化を検出することができ、Warburg 効果様の代謝変化が生じていることを確認できた。さらに、Fiehn および NIST のライブラリ検索をした場合、さらに多くの変動がある化合物を同定でき、矛盾しない結果を得ることができた。

【考察】がん細胞を用いたメタボロミクスを実施し、想定通りの結果を得ることができた。今後は、同定・定量精度の向上をしながらプロテオミクス解析との組み合わせなどにより、さらなる解析を進めていく予定である。

LC-MS/MS による血中サクシニルアセトン測定法の改良

○重松陽介^{1,2}, 湯浅光織¹, 大嶋勇成¹

¹ 福井大学医学部小児科学, ² 宇治徳洲会病院小児科

Improved LC-MS/MS measurement of serum succinylacetone in patients with tyrosinemia type 1

○Yosuke Shigematsu^{1,2}, Miori Yuasa¹, Yusei Oshima¹

¹ University of Fukui, ² Uji-Tokushukai Medical Center

【目的】諸外国では、濾紙中サクシニルアセトン (SA) を指標にして血高チロシン血症 1 型 (TH1) の新生児マススクリーニングが行われている。我が国では、TH1 患者頻度が低いため新生児スクリーニングの対象疾患となっていない。一方で、肝障害とチロシン高値を示す新生児・乳児例のハイリスクスクリーニングが行われ、尿有機酸分析での SA 排泄増加が本症の診断に利用されているが、肝硬変が進行した症例や尿の保存に問題があった場合は、尿中 SA の病的な増加が検出されず診断が困難となることもある。これに対して、これまで我々は LC-MS/MS による血中 SA 測定を行ってきたが、TH1 患者の化学診断に有意義ではあったものの、無症候性の TH1 患者や非患者での SA 濃度を定量するには測定感度が十分ではなかった。そこで、LC-MS/MS での SA 低濃度測定について再検討した。

【方法】小試験管に血清を一定量入れ、succinylacetone-13C4、0.1% hydrazine H₂O、0.1% ギ酸を含むアセトニトリル溶液を加えて 45 分間ゆっくり振盪し、遠沈にて得た上清を乾涸したのち 2% ギ酸・メタノールに再溶解し、API4500 (AB Sciex) で LC-MS/MS 分析した。カラムは Imtakt 社製 Scherzo SW-C18 (150 mm × 3.0 mm) を使い、移動相 A: 0.5% formic acid、B: (0.5 M ammonium formate/0.5 M NH₄OH = 9:1)/methanol = 1:9 でグラジエント分析 (B: 20%→100% [5 分]) した。

【結果】SA を添加した非患者血清 (SA 濃度: 0.01~10 μM) を 6 μl 使用して分析したところ、良好な直線性が得られ、0.1 μM 濃度の SA が分析可能であった。これまで経験した TH1 患者の血清 SA 濃度は 0.78~1.1 μM であった。次に SA 添加血清 120 μl を使用して分析したところ、0.01 μM 濃度も精度よく分析可能であった。

【考察】血漿 500 μl を使用した dioxime (pentafluorobenzyl) -TMS 誘導体化による GC-MS (SIM) 分析での無症候性 TH1 患者血漿 SA 濃度は 0.11~0.14 μM (測定下限値 0.024 μM)、NTBC 治療患者での血漿 SA 濃度は 0.003~0.021 μM であったと報告されている。我々の LC-MS/MS 法 SA 分析でも、検体量を調節することで低濃度測定も十分可能であったので、TH1 患者の治療効果追跡にも利用できると考えられた。

メタボロム解析によるアミノアシラーゼ1欠損症2例の化学診断

○唐 劍慈, 張 春花, 阮 宗海, 金 明姫, 王 旭陽, 万 婷婷, 趙 寧
ミルスインターナショナル 研究開発部

Chemical diagnosis of 2 aminoacylase-1 deficiency Chinese patients by metabolomics

○Jianci Tang, Chunhua Zhang, Zonghai Ruan, Mingji Jin, Xuyang Wang, Tingting Wan and Ning Zhao

Department of Research & Development of MILS International

【目的】アミノアシラーゼ1欠損症はACY1遺伝子の病原性変異によりアシルアミノ酸の加水分解が障害され、尿中に複種のアセチルアミノ酸排泄増加を惹き起こされる稀な常染色体劣勢遺伝性疾患である。臨床症状は発達遅延、知能障害、筋緊張低下の神経症状と自閉症・精神異常などの多彩な症状が報告されている。症状から診断するのは難しく、尿中アシルアミノ酸の高排泄と遺伝子変異は診断の決め手である。今回尿メタボロム解析にて2症例を経験したので、報告する。

【症例・方法】症例1は、13歳6か月中国人男児、原因不明な腹痛が続くため、代謝異常症のスクリーニングを依頼してきた。症例2は、5歳7か月中国人男児、熱けいれんの原因究明のためメタボロム解析を依頼してきた。メタボロム解析は、尿の代謝プロファイル解析と血中アシルカルニチンとアミノ酸分析で実施した。尿検体は既報ウレアーゼ処理法で前処理した後GC/MS分析を行い、ろ紙血検体は新生児マススクリーニング法に基づきタンデムマス法で分析を行った。

【結果】症例1の尿中4種のN-アセチル化アミノ酸（Acetylglutamine、AcetylAlanine、Acetylglycine、Acetylserine）の排泄増加を認めた。それぞれ健常者の118.3、60.8、384.2、68.5倍でしたが、Acetylvalineは正常範囲内でした。症例2も4種のN-アセチル化アミノ酸（Acetylvaline、AcetylAlanine、Acetylglycine、Acetylserine）はそれぞれ2.45、111.4、385.3、386.2倍の増加でしたが、Acetylglutamineは正常でした。2例とも血中アシルカルニチンとアミノ酸分析結果には特異的な異常がなかった。

【考察】今回腹痛と熱けいれん発作が原因で依頼してきた上記2例のメタボロム解析結果より、アミノアシラーゼ1欠損症と化学診断した。2例ともこれまで報告された症例の臨床症状と異なり、これらの症状はアミノアシラーゼ1欠損症との直接関連性あるかどうかについて、今後遺伝子解析結果と合わせてフォローアップしてゆく必要があると考える。また、本疾患の化学診断は尿のメタボロム解析にて容易にできるため、より多彩な臨床症状を呈する難病児のスクリーニングに応用してゆきたい。

GC-MS を用いた ABCA1 および ABCA7 遺伝子欠損マウスの血清、肝臓および糞便に含まれるヒドロキシコレステロールの定量分析

○城戸瞭, 西田千広, 猪飼誉友, 堂前純子, 堤内要
中部大学応用生物学部

Determination of hydroxycholesterol in serum, liver and feces of ABCA1 and ABCA7 gene-knockout mice by GC-MS

○Akira Kido, Chihiro Nishida, Yoshitomo Ikai, Sumiko Abe-Dohmae, Kaname Tsutsumiuchi
College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University

【目的】我々は高い相動性を示す2種のABC輸送体、ABCA1とABCA7に注目している。ABCA1は家族性HDL欠損症の責任遺伝子、ABCA7は生理機能不明ながら、近年の疫学研究によりその機能不全が遅発性アルツハイマー病の危険因子であること¹が示されている。そのため、これらの遺伝子欠損マウスにおけるコレステロール(Cho)およびその酸化物であるヒドロキシコレステロール(HC)の体内分布を詳細に解析することにより、ABCA1やABCA7タンパク質の機能を明らかにすることは、学術的に大きな意義があると考えられる。我々は少量のマウス血清からも精度よくHCを定量分析可能な条件を報告している²が、今回肝臓および糞便も含めた測定系の開発を行い、各種遺伝子型マウス由来試料の解析を行った。

【方法】マウス由来の生物試料(血清、肝臓、糞便)に25-HC-*d*₆とCho-*d*₇を適量添加後、1.0 mol/Lの水酸化カリウム-メタノール溶液を添加した。窒素置換した後、60°Cで2時間加熱し、加水分解を行った。飽和リン酸二水素カリウム水溶液を添加した後、超純水を入れ混和した。次に、ヘキサンを加え激しく振とう後、6000 rpmで5分間遠心分離を行い、ヘキサン層を適量分取した。乾固を防ぐため酢酸ブチルを少量加えて濃縮後、脱水ピリジンとBSTFA-TMCS(99:1)を添加して試料中のヒドロキシ基をトリメチルシリル(TMS)化させ、GC-MS測定試料とした。GCシステムはGC-2030(島津製作所)、MSシステムはGCMS-QP2020 NX(島津製作所)を用いた。カラムはDB-5MS(30 m × φ 0.25 mm, 0.25 mm film thickness)、キャリアガスはHe(1.0 mL/min)を用いた。

【結果】血清の場合HCを分離するためにシリカゲルカートリッジ処理を行う必要がある²が、処理なしで添加回収実験を行ったところ、糞便と肝臓では必要ないことが判明し、分析手順の簡略化に成功した。マウス試料の種類とその量ごとに内部標準溶液や試薬の量を変更することで、より簡単にGC-MSで幅広い範囲の濃度を測定することが可能になった。また、マウスの糞便では、飼料に含まれるCho量や摂食の有無によって、遺伝子型の異なるマウス間だけでなく、同一遺伝子型マウスでもChoおよびHCに有意差がみられた。

¹De Roeck *et al.*, *Acta Neuropathol.* **138**, 201–220(2019).

²佐藤龍一ら, 第46回日本医用マススペクトル学会年会抄録集, O1-04 (2021).

ウサギアレルギーにおける新規アレルゲンタンパク質解析

○田崎彩花¹、藤田雄治²、宮本 学²、小寺義男³、吉原重美²、曾川一幸¹

¹ 麻布大学, ² 獨協医科大学, ³ 北里大学

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

○Ayaka Tasaki¹, Yuji Fujita², Manabu Miyamoto², Yoshio Kodera³, Shigemi Yoshihara², Kazuyuki Sogawa¹

¹ Azabu University, ² Dokkyo Medical University, ³ Kitasato University

【目的】医学・生物学の発展とともに、実験動物を取り扱う飼育技術者および研究者等の数も増加してきている。実験動物に関連するアレルギー性疾患の発症率は、欧米諸国において10～30 数%と言われている。日本では実験動物アレルギーの現状と対策による研究班において1985年に調査され、実験動物アレルギー有症者率は、マウスで26.1%、ラットで24.9%、ウサギで29.7%であった。今回は特に有症者率の高いウサギアレルギーに注目し、新規アレルゲンの解析を行った。

【方法】獨協医科大学病院小児科に受診したウサギアレルギー患者2名、健常者2名の血清検体を用いた。すべての患者から同意を得た上で行った。0.03gのウサギの毛と600μLのサンプルバッファーを混合し、21130gで遠心後、上清をタンパク質抽出液とした。一次抗体はブロッキングバッファーで20倍希釈したウサギ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Mouse Immunoglobulins/HRPを用い、検出はLight-Capture II (Cooled CCD Camera System)を用いた。ウエスタンブロット法で検出したタンパク質はSDS-PAGE後CCB染色を行い、バンドを切り出し、トリプシン消化後、LC-MS/MSにより同定した。

【結果】ウエスタンブロット法にてアレルギー患者2名で4バンドが検出され、Odorant-binding protein 2 (Ory c 2) と Protein X が同定された。Odorant-binding protein 2 及び Protein X はウサギアレルギー患者2名の血清検体に反応し、健常者2名の血清検体には反応しなかった。

【考察】ウサギアレルギーの新規アレルゲンタンパク質として Protein X を同定した。今後、Protein X のエピトープ解析を行う予定である。

血液培養陽性検体の MALDI-TOF MS による直接同定法を抗菌薬選択の観点から評価する

○梅村啓史¹, 西山宏幸², 清野高吾², 谷道由美子², 土田祥央¹, 中山智祥^{1,2}

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

Evaluating direct microbial identification from positive blood culture bottles using MALDI-TOF MS; focusing on antibiotics selection.

○Hiroshi Umemura¹, Hiroyuki Nishiyama², Kogo Seino², Yumiko Tanimichi², Sachio Tsuchida¹, and Tomohiro Nakayama^{1,2}

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

【目的】血液培養検査では、患者から採血した血液を液体培地のボトルに入れ、培養装置で培養する。有意な菌の発育を認めた場合、培養液を別の培地に塗布しサブカルチャーする。サブカルチャーで得られたコロニーを MALDI-TOF MS で菌名同定し、その後薬剤感受性検査を行う。血液培養検査は菌血症や敗血症の診断と抗菌薬選択において極めて重要であるが、所要時間が患者予後に影響するため、血液培養の陽性検体をサブカルチャーする前に直接、MALDI-TOF MS で解析して菌名を迅速同定する試みがなされてきた。この直接同定に関しては複数の専用前処理キットが市販されているが、コストや労力が実臨床導入のハードルとなる。当院では主治医から迅速同定の要望がある場合、キットを用いずに培養液を洗浄・遠心して集菌し MALDI-TOF MS で直接同定する手法を実施してきた。今回、この直接同定法が抗菌薬選択に与えた影響を検討し、直接同定の意義を確立することを目的とする。

【方法】当院臨床検査部細菌検査室で 2016 年 1 月から 2022 年 12 月までの 7 年間、Bruker Daltonics の MALDI Biotyper® システムを用いて直接同定を試みた症例を集計した。直接同定で得られた菌名、同定スコア、サブカルチャー後の確定された菌名、薬剤感受性結果、投与された抗菌薬の情報を電子カルテから収集した。

【結果】7 年間で直接同定が試みられた症例は 98 例あり、うち菌名情報が得られたのが 88 症例であった。このうちグラム陽性球菌が 28 例、グラム陽性桿菌が 5 例、グラム陰性桿菌が 55 例であった。同定スコアが 2.0 以上で種レベルまで同定できたのが 47 例、1.7 以上 2.0 未満で属レベルまで同定できたのが 27 例、1.7 未満が 14 例であった。直接同定の後に抗菌薬変更が行われたのは 32 例だった。最終的な薬剤感受性結果を参照すると、直接同定後に抗菌薬が無効なものから有効なものに変更されたと考えられるのが 21 例、変更はなされたものの有効な抗菌薬同士での変更だったのが 6 例、有効な抗菌薬から無効な抗菌薬への変更が行われたのが 1 例、最終的な薬剤感受性が不明であったのが 4 例だった。

【考察】直接同定法によって、98 例中 21 例(21.4%)で無効な抗菌薬から有効な抗菌薬へと変更することができた。血液培養陽性検体の MALDI-TOF MS による直接同定法は、抗菌薬選択において有用であり、菌血症や敗血症の生命予後の改善に貢献する可能性がある。

牛乳に含まれる主要アレルゲンの低アレルゲン化に関する検討

○野口葵衣¹、藤田雄治²、宮本学²、吉原重美²、曾川一幸¹

¹ 麻布大学, ² 獨協医科大学病院

Reduction of major cow's milk allergen

○Aoi Noguchi¹, Yuji Fujita², Manabu Miyamoto², Shigemi Yoshihara², Kazuyuki Sogawa¹

¹ Azabu University, ² Dokkyo Medical University Hospital

【目的】近年、アレルギー性鼻炎、気管支喘息などのアレルギー疾患患者数は増加傾向にあり、食物アレルギーにおいてもこの40年で約10倍増加している¹⁾。厚生労働省の平成27年度乳幼児栄養調査では、その有病率は乳幼児期で9.8%、文部科学省の平成25年度学校生活における健康管理に関する調査では、学齢期で4.5%と推定されている²⁾。食物アレルギーを新規に発症する原因食物の頻度は年齢別に大きく異なり、0歳から6歳までは、牛乳は2番、7歳から17歳までは1番多い食物アレルギー原因食品である³⁾。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。牛乳除去を行うと乳幼児においてはカルシウム不足に陥る傾向がある。主要な牛乳アレルゲンは、Beta-lactoglobulin (Gal d 5)、Caseins (Bos d 8)である。本研究では Beta-lactoglobulin の低減化を試みた。

【方法】獨協医科大学病院小児科に受診した牛乳アレルギー患者6名及び、牛乳アレルギーを持たない健常者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。Beta-lactoglobulin の検出は、ウエスタンブロット法で行った。牛乳を SDS-PAGE、PVDF 膜に転写後、ブロッキングを行った。一次抗体は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 Rabbit anti-human immunoglobulin/ HRP、検出は Pierce Western Blotting substrate を用い、Light-Capture II でバンドの検出を行った。

【結果】ウエスタンブロットにて検出されたバンドはが Beta-lactoglobulin と同定された。Beta-lactoglobulin の低減化方法として、①ペプシン処理、②電氣的処理、③2 ペプシン処理と電氣的処理を行った。ペプシン処理法で0.0%、電氣的処理法で17.0%、ペプシン処理法と電氣的処理法を組合せて100%であった。

【参考文献】

1. Sicherer SH. Epidemiology of food allergy. J Allergy Clin Immunol. 127: 594-602, 2011.
2. 松原優里. 日本における食物アレルギー患者数の推移：疫学調査の現状と課題. アレルギー. 67: 767-737, 2018.
3. 令和3年度 食物アレルギーに関連する食品表示に関する調査研究事業報告書.

MALDI イメージング質量分析によるラット歯胚におけるリン脂質 PC(30:0) および PC(32:1) の局在可視化

○矢尾育子^{1,2}, 紺野在^{2,3}, 笹野泰之⁴

¹ 関西学院大学 生命環境学部, ² 浜松医科大学 光先端医学教育研究センター,

³ 浜松医科大学 微生物・免疫学講座, ⁴ 東北大学 大学院歯学研究科 顎口腔組織発生学分野

Visualization of the localization of phospholipids PC(30:0) and PC(32:1) in developing rat teeth by MALDI imaging mass spectrometry

○Ikuko Yao^{1,2}, Alu Konno^{2,3}, Yasuyuki Sasano⁴

¹ Kwansai Gakuin University, ^{2,3} Hamamatsu University School of Medicine, ⁴ Tohoku University Graduate School of Dentistry

【目的】質量分析イメージング (IMS) は、特異的な抗体を必要とせずに組織断片上の複数の分子の空間分布を同時に可視化する手法である。しかし、IMS 分析における組織試料の作製は、特に骨や歯のような石灰化組織においては問題があった。歯の特異的な石灰化組織である象牙質とエナメル質において、リン脂質が関与していることが報告されているが、歯の発生途上における動態は不明であった。そこで本研究では、IMS によりリン脂質を検出し、歯胚の象牙質形成およびエナメル形成過程におけるリン脂質の動態を明らかにすることを目的として解析を行った。

【方法】生後 3 日齢のラット頭部を 4%PFA で固定し、一部の試料を EDTA による脱灰処理後に凍結した。凍結した試料の切片を作製し、2,5-ジヒドロキシ安息香酸マトリックス溶液をスプレーした。その後、Ultraflex および Solarix XR 7.0T を用いた質量分析を行い、得られたデータを解析した。

【結果】IMS 分析により、 m/z 706 および 732 のイオンが 歯胚において特異的な局在を示すことが明らかになった。 m/z 706 はリン脂質 PC(30:0) に対応し、 m/z 732 はリン脂質 PC(32:1) に対応していると推定された。これらのシグナルは、歯の発生過程において象牙芽細胞、歯髓細胞、エナメル芽細胞、エナメル上皮などに局在していることが示された。また、 m/z 734 のシグナルはより拡散した局在を示した。

【考察】本研究の結果から、リン脂質が歯の発生において重要な役割を果たしていることが示唆される。リン脂質は細胞膜の重要な構成成分であり、特定の細胞集団により限定的に分布している可能性がある。これらのリン脂質の局在化は、従来の免疫組織化学や免疫電顕の報告と一致しており、細胞内の特定の構造に存在する可能性がある。また、PFA 固定と EDTA 脱灰による試料作製方法は、IMS 分析に、免疫組織化学や *in situ hybridization* などのさまざまな検出方法を組み合わせて同一の試料を多角的に解析するのに適していることが示唆された。さらなる IMS 分析により、リン脂質の詳細な局在化や歯の発生における役割の解明が進められることが期待される。

【参考文献】 Sasano et al., *Biomedical Research*, in press

もやしアレルギーにおける新規アレルゲンタンパク質解析

○村上真祐乃¹、藤田雄治²、宮本 学²、小寺義男³、吉原重美²、曾川一幸¹

¹ 麻布大学, ² 獨協医科大学, ³ 北里大学

Search for novel allergen of bean sprouts allergy using IgE-immunoblotting assay

○Mayuno Murakami¹, Yuji Fujita², Manabu Miyamoto², Yoshio Kodera³, Shigemi Yoshihara², Kazuyuki Sogawa¹

¹ Azabu University, ² Dokkyo Medical University, ³ Kitasato University

【目的】近年、シラカンバもしくはカバノキ花粉によって引き起こされる花粉・食物アレルギー症候群として豆乳摂取によるアレルギーが多く報告されている。豆乳摂取による花粉・食物アレルギー症候群は、豆乳そのもののアレルギーではなくシラカンバ花粉に対するアレルギーと交差反応を示す大豆成分:Gly m4 を大量に含有した豆乳を摂取することによって引き起こされることがわかっている。さらにモヤシは豆類が発芽したものであり、もやし摂取によるアレルギー症状は、豆乳アレルギーと同じ機序と考えられている。現在では、食文化の多様化に伴いもやしも欧米において容易に入手することが可能であり、世界的に健康食品として広く好まれている食品である。しかしながら、もやし摂取によるアレルギーの報告はきわめて少ないのが現状である。今回、もやしアレルギーに着目し、新規アレルゲンの検索・同定を行った。

【方法】獨協医科大学病院小児科に受診したもやしアレルギー患者 10 名、健常者 2 名の血清検体を用いた。すべての患者から同意を得た上で行った。0.1g のもやしと 500 μ L のサンプルバッファーを混合し、21130g で遠心後、上清をタンパク質抽出液とした。一次抗体はブロッキングバッファーで 20 倍希釈したもやし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 Mouse Immnglobulins/HRP を用い、検出は Light-Capture II (Cooled CCD Camera System)を用いた。ウエスタンブロット法で検出したタンパク質は SDS-PAGE 後 CCB 染色を行い、バンドを切り出し、トリプシン消化後、LC-MS/MS により同定した。

【結果】ウエスタンブロット法にてアレルギー患者 10 名で 2 バンドが検出され、Stress-induced protein SAM22 (Gly m4) と Protein X が同定された。Stress-induced protein SAM22 及び Protein X はもやしアレルギー患者 10 名の血清検体に反応し、健常者 2 名の血清検体には反応しなかった。

【考察】もやしアレルギーの新規アレルゲンタンパク質として Protein X を同定した。今後、Protein X のエピトープ解析を行う予定である。

安定同位体トレーサー法による体内動態解析を目指した GC-MS によるパルミチン酸定量法の確立

○佐藤 修輔¹, 長谷川 弘², 横川 彰朋¹, 山本 安則³, 三宅 映己³, 日浅 揚一³, 降幡 知巳¹, 柴崎 浩美¹

1 東京薬科大学 個別化薬物治療学教室, 2 東京薬科大学 病態生理学教室, 3 愛媛大学大学院 消化器・内分泌・代謝内科学

GC-MS Analysis of Plasma Palmitic Acid for Pharmacokinetic Study of Palmitic Acid by Stable Isotope Methodology

○Shusuke Sato¹, Hiroshi Hasegawa², Akitomo Yokokawa¹, Yasunori Yamamoto³, Teruki Miyake³, Yoichi Hiasa³, Tomomi Furihata¹, Hiromi Shibasaki¹

¹Laboratory of Clinical Pharmacy and Experimental Therapeutics, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, ²Department of Pathophysiology, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, ³Department of Gastroenterology and Metabology, Ehime University Graduate School of Medicine

【目的】パルミチン酸は代表的な脂肪酸であり、生体内に最も豊富に存在することが知られている。パルミチン酸は小腸で吸収され、肝臓で代謝されるが、一部は肝臓に蓄積する。パルミチン酸を含む脂肪酸の肝臓での過剰な蓄積は肝毒性をきたし、その代表的な病態として非アルコール性脂肪性肝疾患が挙げられる。パルミチン酸の体内動態の評価は、その病態解明に有用な情報を提供すると考えられる。パルミチン酸の体内動態解析には安定同位体で標識されたパルミチン酸 (palmitic acid-¹³C₁, M+1) を投与し、その血中濃度を内因性のパルミチン酸と区別して定量する必要がある。本研究では、安定同位体トレーサー法によるパルミチン酸の体内動態研究を目指し、GC-MS によるパルミチン酸の定量法の開発を行った。

【方法】血漿 0.2 mL に内標準物質として palmitic acid-¹³C₄ を添加後、イソプロパノール：ヘプタン：リン酸 = 40:10:1 (Dole 液, 1 mL) による液-液抽出を行なった。その後、trimethylsilyl-diazomethane (TMS-diazomethane) でメチルエステル誘導体 (-OMe) とし、GC-MS (Shimadzu GC-MS QP2010) で測定した。カラムは SPB-1 (0.25 mm I.D. × 15 m, film thickness 0.25 μm) を用い、イオン化は EI 法とした。Palmitic acid-OMe (M) は *m/z* 270、palmitic acid-¹³C₄-OMe (M+4) は *m/z* 274 をモニターイオンとした。さらに、M+1 の定量を念頭に *m/z* 271 もモニターした。

【結果】保持時間 5.8 min に palmitic acid-OMe の良好なピークを得た。血漿試料においても生体由来の妨害ピークは見られなかった。検量線は 5.4–54.2 μg/mL の範囲で良好な直線性を示した。パルミチン酸濃度が 32.6 ± 0.3 μg/mL (n = 6) の血漿 0.2 mL に 0.52 あるいは 2.17 μg の標品を添加した試料の相対誤差と変動係数は 2% 以内であり精度よく測定できることを確認した。M から M+1 への貢献は 19%、M+4 への貢献は 1% 以下であった。

【考察】本研究では GC-MS にて血漿中パルミチン酸を精度よく測定できることを確認した。一方で、体内動態研究に用いる palmitic acid-¹³C₁ (M+1) への内因性パルミチン酸からの貢献はとて大きく、これを考慮した palmitic acid-¹³C₁ の投与設計が重要と考えられた。

エストラジオール骨格を含む特異的プロダクトイオンを生成する誘導体化法とそれを用いた血中エストラジオールの高精度LC/ESI-MS/MS定量法

○金子穂野香¹, 松岡大暉¹, 野津吉友², 小林弘典², 石毛崇之³, 東 達也¹

¹ 東京理大薬, ² 島根大病院, ³ 千葉大病院

Derivatization procedure to generate product ion containing estradiol-skeleton for reliable determination of its serum/plasma concentrations by LC/ESI-MS/MS

○Honoka Kaneko¹, Hiroki Matsuoka¹, Yoshitomo Notsu², Hironori Kobayashi², Takayuki Ishige³, Tatsuya Higashi¹

¹ Faculty/Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tokyo University of Science, ² Shimane University Hospital, ³ Chiba University Hospital

【背景・目的】 LC/ESI-MS/MSによるエストラジオール (E₂) の定量では感度向上を目的に dansyl chloride (DNS-Cl) による誘導体化が汎用される。しかし、得られる誘導体はMS/MSにおいてジメチルアミノナフタレン由来のプロダクトイオンしか与えず、血中の超微量E₂の定量においては感度 (S/N) が十分でない。先に我々は、エストロゲン用誘導体化試薬として1-(2,4-dinitro-5-fluorophenyl)-4-methylpiperazine (PDNP-F) を開発した。E₂をPDNP-Fと反応後に末端ピペラジン部分をCH₃Iで4級化すると、MS/MSにてE₂骨格含有の高強度かつ特異的なプロダクトイオンが得られる。その結果、SRMでの高感度検出が達成されるが、反応が2段階であることに加え、装置への負荷が大きい不揮発性無機触媒を使用していた。そこで本研究では、PDNP-Fのメチル化体、1-(2,4-dinitro-5-fluorophenyl)-4,4-dimethylpiperazinium iodide (MPDNP-F) を用いる1段階かつ無機触媒不使用の誘導体化法及びこれによる血中E₂定量法の開発を試みた。

【方法・結果】 まず、MPDNP-FがE₂と4-dimethylaminopyridine (DMAP) やquinuclidineなどの有機塩基触媒存在下で反応し、目的の誘導体を与えることを見出した。触媒に加え、反応温度、時間及び溶媒を精査したところ、DMAP, 60°C, 15分及びMeCNの条件が最適であった。このように、装置への負荷の少ない有機塩基を用い、1段階の誘導体化法を確立した。MPDNP-Fによる誘導体の検出限界 (S/N = 3) は50 fgであり、DNS-Clによるそれと比較して2倍の高感度を示した。次に、ヒト血清又は血漿 (100 µL) を除タンパク、Oasis HLBカートリッジにて精製後、MPDNP-F誘導体化を行い、LC/ESI-MS/MSに付した ([M]⁺ → [M-NO₂-H]⁺)。その結果、E₂濃度が10 pg/mL程度の試料においてもそのピークがS/N ≥ 10で明瞭に観察された。これをDNS-Clによる誘導体化と比べると、血清/血漿中共存物質由来のシグナルが1/50程度に抑えられていた。²H₄-E₂をISに用いた検量線は、10–500 pg/mLの範囲でr² ≥ 0.999の良好な直線性を示した。日内・日間変動試験 (RSD ≤ 3.0%) 及び添加回収試験 (98.9–102.2%) の結果も良好であり、本定量法は精度及び正確度に優れていた。発表当日は、実試料の定量結果も報告する予定である。

Liquid chromatography-mass spectrometry driven discovery of new lipids in food

Siddabasave Gowda B. Gowda^{1,2}, Lipsa Rani Nath², Yusuke Minami³, Divyavani Gowda¹, Hitoshi Chiba³, Shu-Ping Hui¹

¹ Faculty of Health Sciences, Hokkaido University, ² Graduate School of Global Food Resources, Hokkaido University, ³ Graduate School of Health Sciences, Hokkaido University, ⁴ Department of Nutrition, Sapporo University of Health Sciences.

【目的】 Lipids are the most important nutritional components of food and its produce. Food-derived lipids are shown to exhibit many biological activities, including antioxidant and anti-inflammatory properties. Recently, there is a great interest in food composition analysis at molecular level, to reveal the potent nutritional values. Despite the rapid progress in the analytical sciences including advanced liquid chromatography /mass spectrometry (LC-MS) the lipidome data of food is limited.

【方法】 In this study we applied untargeted lipidomic approach for comprehensive analysis of lipid profile and detect unknown lipids in various food sources such as fish, shellfish, and herbs using linear-ion trap-Orbitrap mass spectrometry.

【結果】 Extraction of total lipids from different types of fish, shellfish, herbal tea samples and their analysis at molecular species level was performed. Our initial studies in fish and shellfish fillet samples lead to the identification and characterization of novel lipids such as N-acyl lysophosphatidylethanolamine(LNAPE) and furan fatty acids¹⁻². Further >200 lipid molecular species were correlated between each sample for their relative abundances. Analysis of Japanese herbal teas namely Dokudami, Yomogi, Kumazasa and Sugina lead to the characterization of 344 lipid species from five major categories. Hierarchical cluster correlations indicated the predominance of glycerophospholipids (GPs) and glycerolipids (GLs) in all the herbal teas. Interestingly, these GPs and GLs are rich in polyunsaturated fatty acids (PUFA) suggesting them as a potential PUFA source with plausible health benefits. Furthermore, we have uncovered a new family of lipids in herbal teas named short chain fatty acid esters of hydroxy fatty acids (SFAHFAs). As for our knowledge, this is the first study describing the presence of SFAHFAs in plants.

【考察】 In conclusion, comprehensive lipidome analysis of dietary foods such as fish, shellfish, and herbs was performed by untargeted LC-MS. The study compared and correlated the lipid compositions at molecular species levels. Furthermore, several new lipids such as LNAPE, furan fatty acids, and SFAHFAS were uncovered for the first time in those food matrices. It is of future interest to explore the bioactivities of these novel lipids of food origin and their nutritional significance.

¹ B. Gowda et al., *Food Res Intl.*, **144**, 110325 (2021).

² B. Gowda et al., *Food Chem.*, **393**, 133402 (2022).

非標的 LC/MS を用いたナマコ中の健康機能性脂質の分析と同定

○南 雄介¹, ボメゴウダ シッダバサーブゴウダ^{1,2}, デヴィヤヴァニ ゴウダ¹, 千葉仁志³, 恵 淑萍¹

¹北海道大学大学院保健科学研究所, ²北海道大学大学院国際食資源学院, ³札幌保健医療大学

Analysis and Identification of Health Functional Lipids in Sea Cucumber using Untargeted LC/MS

○Yusuke Minami¹, Siddabasave Gowda B. Gowda^{1,2}, Divyavani Gowda¹, Hitoshi Chiba³, Shu-Ping Hui²

¹Graduate School of Health Sciences, Hokkaido University, ²Graduate School of Global Food Resources, Hokkaido University, ³Department of Nutrition, Sapporo University of Health Sciences.

【目的】ナマコは多数の生理活性化合物を含んでいるため、機能性食品として大きな注目を集めている。ナマコ抽出物は、抗がん作用、抗炎症作用、抗酸化作用などの薬理作用をもち、アジアや米国では滋養強壮剤や医薬品として使用されてきた。ナマコへの関心と需要が高まっているにもかかわらず、その脂質プロファイルに焦点を当てた研究は進んでいない。本研究では、3種類のナマコ（黒ナマコ、青ナマコ、赤ナマコ）の皮膚、肉、腸を対象にリピドミクス解析を行い、脂質組成の比較および未知の脂質の検出を試みた。

【方法】3種類のナマコ（黒ナマコ、青ナマコ、赤ナマコ）から皮膚、肉、腸を切り離し、Folch 法によって総脂質を抽出した。分析には、リニアイオントラップーオービトラップ質量分析装置を組み合わせた超高速液体クロマトグラフィー（UHPLC/LTQ-Orbitrap-MS）による非標的リピドミクスアプローチを適用した。

【結果・考察】合計 144 種類の脂質分子種が、精密質量および MS/MS スペクトルに基づいて特徴づけられた。全てのナマコにおいて、一価不飽和脂肪酸（MUFA）および多価不飽和脂肪酸（PUFA）は腸内に多いことが明らかになった。階層クラスター分析によると、ナマコの腸内において PUFA を構造に含むリン脂質が豊富に検出された。これらの結果は、ナマコの腸内容物が、健康機能性脂質の主要な供給源であることを示唆している。さらに、9 種類の N-アシルグリシルセリン (NAGlySer) および DHA 由来ヒドロキシ脂肪酸脂肪酸エステル (FAHFA) をナマコから発見した。これは、ナマコにおいて NAGlySer および FAHFA の存在を確認した初めての報告である。NAGlySer の生理活性は未だ不明な点が多く、新たな研究領域開拓のきっかけとなる可能性がある。また、DHA 由来 FAHFA は、抗酸化作用、炎症作用を持つことが報告されており、ナマコは本脂質の貴重な供給源として期待できる。

Non-targeted LC/MS based comprehensive lipid profiling of sorghum cultivars

Lipsa Rani Nath¹, Siddabasave Gowda B Gowda^{1,2}, Thomas Roberts⁴, Divyavani Gowda², Hitoshi Chiba³, Shu-Ping Hui²

¹ Graduate School of Global Food Resources, Hokkaido University, Kita-9, Nishi-9, Kita-Ku, Sapporo 060-0809, Japan, ² Faculty of Health Sciences, Hokkaido University, Kita-12, Nishi-5, Kita-ku, Sapporo, 060-0812, Japan, ³ Department of Nutrition, Sapporo University of Health Sciences, Nakanuma, Nishi-4-3-1-15, Higashi-ku, Sapporo 007-0894, Japan, ⁴ School of Life and Environmental Sciences, University of Sydney, Australia,

Purpose: Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) is a widely consumed cereal staple and is the fifth leading cereal crop in the world [1]. The diverse phenolic compounds found in sorghum, have shown potential in inhibiting cancer cell growth, suggesting a possible role in disease prevention [2]. Further research is needed to explore the health benefits of sorghum, but consumption of whole-grain sorghum holds promise in reducing health issues like heart disease, diabetes, and obesity [3]. Lipids play crucial roles in various physiological processes of plants and are associated with important agronomic traits. Analyzing the lipids of sorghum using untargeted LC/MS techniques can offer valuable information about the crop's lipid variety and composition. **Methods:** Samples of sorghum grains collected from Australia (6 different cultivars cultivated at two different years, 2016 and 2018), were prepared and subjected to lipid extraction by the Bligh-Dyer method, followed by LC/MS analysis. In this study, an HPLC/LTQ-Orbitrap-MS approach was employed to comprehensively analyze the lipid profile of sorghum. The acquired mass spectrometry data were then processed using advanced bioinformatics tools to perform lipid identification and statistical analysis. The obtained results revealed the presence of diverse lipid species in the sorghum samples. **Results:** The untargeted LC/MS analysis identified various lipid sub-classes, including novel fatty acid esters of hydroxy fatty acids (FAHFA) which are identified for the first time in sorghum grains. It also enables the identification of both known and unknown lipid species, providing a more comprehensive view of the lipidome. Additionally, the analysis revealed significant differences in the lipid composition between different sorghum varieties and cultivated years, indicating the potential influence of genetics and maturation on lipid profiles. **Conclusion:** This study sheds light on how lipids are processed in sorghum, which can help us explore the nutritional benefits of specific lipid types. The untargeted LC/MS lipid analysis approach demonstrated its effectiveness in comprehensively characterizing the lipidome of sorghum, highlighting its potential for broader applications in lipidomics research.

¹FAO. FAOSTAT. World Crops Website. ²Smolensky D, et al., *J. Med. Food*, **21**, 990–998 (2018).

³Stefoska-Needham A, et al., *Food Rev. Int.*, **31**, 401–437 (2018).

尿中クレアチニン低値を主訴として診断に至ったアルカプトン尿症

○小林愛希¹, 堤晴菜¹, 三佐和由吏¹, 清水宏美¹, 瓊田梓沙¹, 井上かおり¹, 田代恭子¹, 渡邊順子^{1,2}

¹ 久留米大学医学部質量分析医学応用研究施設, ² 久留米大学医学部小児科

Interference of homogentisic acid on urinary creatinine measurement in Alkaptonuria

○Aki Kobayashi¹, Haruna Tsutsumi¹, Yuri Misawa¹, Hiromi Shimizu¹, Azusa Tamada¹, Kaori Inoue¹, Kyoko Tashiro¹, Yoriko Watanabe^{1,2}

¹ Research Institute of Medical Mass Spectrometry, Kurume University School of Medicine

² Department of Pediatrics and Child Health, Kurume University School of Medicine

【はじめに】現在日本における尿クレアチニン測定は、酵素法による測定方法が主流である。酵素法では、ペルオキシダーゼ (POD) 存在下で生成したキノン色素を比色定量しクレアチニン濃度を求めている。ホモゲンチジン酸 (HGA) は POD 反応を阻害することが知られており (Y Moriwaki ら, 1999 年)、アルカプトン尿症では偽性低クレアチニン尿症を呈する。今回我々は、尿中クレアチニン低値を主訴とした尿検体を GC/MS で分析を行い、HGA の大量排泄を認めた症例を 3 例経験したため報告する。

【対象】尿中クレアチニン低値を主訴とした尿検体 3 例

【方法】1. 尿中クレアチニン測定: クレアチニンを酵素分解によりクレアチン、サルコシン、過酸化水素 (H₂O₂) へと反応させた。生じた H₂O₂ と N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3-メトキシアニリンナトリウム (ADOS) と 4-アミノアンチピリン (4-AAP) を POD 存在下に酸化的に縮合させ、得られたキノン色素を比色定量することで尿クレアチニン濃度を測定した。2. 尿 GC/MS 分析: 既報のウレアーゼ処理法で前処理を行い、TMS 誘導体化後分析を行った。

【結果】尿検体 3 例のクレアチニン濃度はいずれも低値であった。また、尿検体 3 例全てにおいて GC/MS 分析で HGA の大量排泄を認めた。HGA の大量排泄の他に、代謝疾患特異的な異常物質の排泄増加は認めなかった。以上の結果より、3 例をアルカプトン尿症と化学診断した。また、低クレアチニン尿は、HGA による POD 反応阻害による偽性低クレアチニン尿と診断した。

【考察・まとめ】HGA は POD 反応を阻害するため、尿中の大量の HGA が色素の生成を抑制し、本来のクレアチニン値よりも低値を示したと考えられる。酵素法測定によるクレアチニン低値を認めた際には、アルカプトン尿症の鑑別を念頭におく必要がある。一方、HGA による影響を受ける検査項目には尿中の蛋白, 尿酸, 5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-HIAA) などの報告があり注意が必要である。

TriVersa NanoMate を用いた On-Line Fraction および Infusion Nano-Spray によるスフィンゴ糖脂質の構造決定系の構築

○藤原優子¹, 濱弘太郎¹, 下澤伸行², 横山和明¹

¹ 帝京大学薬学部、² 岐阜大学科学研究基盤センター

Analysis of glycosphingolipids using TriVersa NanoMate chip-based system with on-line fraction collection and nanoelectrospray ionization system.

○Yuko Fujiwara¹, Kotaro Hama¹, Nobuyuki Shimozawa², Kazuaki Yokoyama¹

¹ Teikyo University, Faculty of Pharma-Science, ² Gifu University, Life Science Research Center, Division of Genomics Research

【目的】X 連鎖性副腎白質ジストロフィー(X-ALD)は、副腎機能不全に加えて後天的に発症する脳白質の脱髄に伴う神経細胞の変性を主体とする先天性遺伝疾患である。脳白質にはガングリオシドを始めとするスフィンゴ糖脂質が多く含まれ、糖脂質がこれら疾患の炎症反応の一つの原因となっている事が考えられる。そこで我々は、スフィンゴ糖脂質に注目し、これまでに、三連四重極型質量分析器 QTRAP4500 (SCIEX) を用いて、スフィンゴイド塩基のフラグメントイオンに基づく MRM 網羅的定量系を確立した。本研究では、オービトラップ型質量分析計 Q Exactive (Thermo Scientific) に nano flow による注入が可能である超微量持続注入装置 TriVersa NanoMate (Advion) を接続し、既存の分析法を高感度化する、スフィンゴ糖脂質の構造決定系の構築検討を行った。

【方法】TriVersa NanoMate を Q Exactive へ接続し、スプリッター機能を用いて MS 分析と同時にフラクションを分取した。次に infusion nano spray mode で MS に長時間微量注入し、目的のピークの構造解析に必要なプロダクトイオンのシグナルを得た。解析にはスフィンゴ糖脂質各種標品、X-ALD マウス脳、X-ALD 患者剖検脳を用いた。フラクション分取の際には ChiralPak IF-3 (Daicel Corporation) を使用した。

【結果】スフィンゴ糖脂質各標品、および X-ALD マウス脳を用いて、TriVersa NanoMate のフラクションコレクター機能の条件検討、infusion nano spray mode によるスプレー条件、および MS/MS の分析条件を最適化した結果、フラクション分取後のサンプル再溶解の際に、ギ酸アンモニウムを添加することでイオン化が大幅に促進されることがわかった。また、微量であるために従来の三連四重極型質量分析器では MS/MS によるフラグメント解析が困難であった生体サンプル内のシグナルが、本研究の解析法により HexNAc-Hex-Hex-Hex-Ceramide の構造を持つ分子種 C18:0, C24:0, C24:1 のスフィンゴ糖脂質であることがわかった。

【考察】本研究では、TriVersa NanoMate を用いて、フラクションコレクター機能により分画したのちに持続的微量注入と超高精密質量測定によるスフィンゴ糖脂質の構造決定系の構築を行なった。今後は、この解析系を用いて病態特異的に変動する微量な新規物質の分子種の構造を同定することを進める。

培養ヒト肝細胞から放出される VLDL 中の TG 及び TG-OOH の解析

○益子 真明¹、櫻井 俊宏¹、山端 ありさ¹、佐崎 生¹、茂木 すみれ¹、千葉 仁志²、惠 淑萍¹

¹北海道大学大学院保健科学研究所、²札幌保健医療大学

Analysis of TG and TG-OOH in VLDL Released from Cultured Human Hepatocytes

○Naoaki Masuko¹, Toshihiro Sakurai¹, Arisa Yamahata¹, Iku Sasaki¹, Sumire Mogi¹, Hitoshi Chiba², Shu-Ping Hui¹

¹Faculty of Health Sciences, Hokkaido University, ²Department of Nutrition, Sapporo University of Health Sciences

【目的】非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の患者数は世界的に増加している。一方で、NAFLD の有効な検査法や治療法はなく、バイオマーカーや治療薬の開発が望まれる。正常肝と比較して NAFLD における脂肪肝では、放出される超低比重リポタンパク質 (VLDL) の脂質組成に違いが生じる可能性があり、その脂質組成は肝臓の VLDL 合成能や NAFLD の病態を反映する可能性が考えられる。また、培養ヒト肝細胞から放出される VLDL 中の脂質を分析する細胞培養系は、バイオマーカーの開発及び創薬分野に有用であると考えられるが、構築されていない。さらに、その VLDL 中の脂質組成は未だ明らかではない。以上より本研究では、培養ヒト肝細胞 C3A から放出される VLDL の脂質組成を質量分析によって明らかにすることを目的とした。

【方法】6 well プレートに C3A を 6.0×10^5 cells/well で播種して 24 時間培養した。次に、脂肪肝モデル作成のために、0.3 mM あるいは 3 mM リノール酸 (LA) となるように調製した MEM (5% BSA 含有) を 1 mL/well ずつ添加して 72 時間培養した。それぞれを LA low 群及び LA high 群とした。コントロール群には MEM (5% BSA 含有) のみを添加して同様に培養した。培養上清を回収後、Superose 6 カラムを用いたゲル濾過 HPLC によって VLDL 画分を分取した。その後、脂質分析のために VLDL から脂質を抽出した。抽出した脂質をサンプルとして Orbitrap LC-MS/MS を用いて VLDL 中に多く含まれる中性脂質 (TG) 及び TG のヒドロペルオキシド (TG-OOH) の各分子種を分析した。

【結果】LA 添加濃度に従って細胞内の脂肪滴の増加が観察された。TG は 38 分子種が検出された。総 TG はコントロール群と比較して LA low 群で有意に増加し ($P < 0.05$)、LA high 群でさらに有意に増加した ($P < 0.0001$)。TG-OOH は 3 分子種が検出された。総 TG-OOH は LA high 群でのみ有意に増加した ($P < 0.01$)。

【考察】培養ヒト肝細胞から放出された培養上清 VLDL 中の総 TG 及び総 TG-OOH が LA の添加濃度依存的に増加したことが明らかとなった。本実験系では、肝細胞から放出された VLDL 中の脂質を網羅的に解析でき、また、放出された VLDL を標的とする薬剤の開発などへの応用が期待された。

ヒューマングライコームプロジェクト：ヒト疾患糖鎖関連カタログを作成する 迅速血漿グライコプロテオミクス基盤の検討

半澤健¹, 村上怜子¹, 他那¹, 早川伸樹², 鈴木敦詞³, 門松健治⁴, ○中嶋和紀¹

¹岐阜大学・糖鎖生命コア研究所, ²名城大学・薬, ³藤田医科大学病院・内分泌代謝糖尿病内科, ⁴名古屋大学・糖鎖生命コア研究所

Human Glycome Atlas (HGA) Project: Platform for rapid plasma N-glycoproteomics for construction of human disease-related glycan catalog

Ken Hanzawa¹, Reiko Murakami¹, Tana¹, Nobuki Hayakawa², Atsushi Suzuki², Kenji Kadomatsu³, ○Kazuki Nakajima¹

¹Institute for Glyco-core Research (iGCORE), Gifu University, ²Meijo University, ³Endocrinology, Diabetes & Metabolism, Fujita health university, ⁴iGCORE, Nagoya University.

【目的】糖鎖は細胞状態によって複雑に構造変化することから、疾患マーカーとして利用される糖鎖が多く存在する。今年度より本格稼働したヒューマングライコームプロジェクト (HGA) では、ヒト糖タンパク質の精密地図と疾患糖鎖カタログを作成して、糖鎖情報の情報基盤を構築することを目指している。そのなかで糖ペプチドを網羅的に解析するグライコプロテオミクスは、糖鎖変化とキャリアータンパク質の情報を取得できる重要なアプローチである。しかしながら、1検体の解析に時間を要し、多検体測定には適していなかった。そこで本研究では、磁性粒子を用いる迅速グライコプロテオミクス解析基盤を構築した。

【方法】血漿試料はアルブミンなどの高含量タンパク質を除去した後、還元アルキル化、SeraMag-COOH ビーズ上でトリプシン消化を行った。さらに消化物から糖ペプチドを精製して Orbitrap Exploris240 により測定、Byonic や Progenesis を用いて解析した。モデル実験として、微量アルブミン尿、顕性アルブミン尿および末期腎不全を罹患する腎疾患患者検体を解析した。

【結果・考察】オンビーズ消化法(SP3)と溶液消化法を比較した結果、タンパク質の消化効率が向上し、 $\alpha 1$ アンチトリプシン由来の特定の糖ペプチドシグナルが強く観察された。また SP3 法では、非糖ペプチドのコンタミネーションが減少した。糖ペプチドは 20mM ギ酸アンモニウムを含む中性条件下で溶出することにより、シアル酸の酸加水分解が抑制された。各糖ペプチドの定量値の日内再現性(n=3)は、median CV 値として 11.8%であり良好であった。さらに患者検体の測定により、疾患のステージに応じて変動する糖ペプチドを同定した。本実験系で得られる糖ペプチド情報は、MS1 ピーク保持時間と精密質量 (m/z) を軸とする二次元の地図として蓄積して、解析基盤の構築を進めていく。将来、糖尿病性腎症などの疾患バイオマーカーの探索研究にもつなげていく。

プロテオーム解析によるネコ慢性腎症の新規診断マーカーの探索

○清水百梨¹、前田浩人²、小寺義男³、渡辺俊文⁴、曾川一幸¹

¹ 麻布大学, ² 前田獣医科医院, ³ 北里大学, ⁴ DVMs どうぶつ医療センター横浜

Search for novel diagnostic markers of chronic kidney disease in cats using proteome analysis

○Momori Shimizu¹, Hiroto Maeda², Yoshio Kodera³, Toshifumi Watanabe⁴, Kazuyuki Sogawa¹

¹ Azabu University, ² Maeda Veterinary Hospital, ³ Kitasato University, ⁴ DVMs Animal Medical Center Yokohama

【目的】ネコの腎疾患は臨床現場において増加傾向にあり、腎機能異常を早期の段階で評価できる検査方法によりの確に診断し、病態を把握することが重要である。しかし、獣医臨床においてこの分野の研究に関する報告は少なく、臨床現場では国際腎臓病研究グループ (IRIS) 病気分類の基準に従って血漿クレアチニン、尿素窒素を基に分類しているのが現状である。血漿クレアチニンは性差、年齢、筋肉量など腎臓以外の因子が検査データに影響を与え、軽度腎機能低下では異常値を示さない、いわゆる blind area の存在が知られている。一方、尿素窒素は蛋白摂取量など変動因子が多く、腎機能に特異的ではない。今回我々は血漿糖蛋白質に注目し、早期慢性腎症の診断マーカーの探索を行った。

【方法】健全ネコ 3 匹 (尿中 Alb/Cr 比 <10mg/g) と慢性腎障害ネコ 3 匹 (尿中 Alb/Cr 比 >30mg/g) の血漿検体を用いた。プロテオーム解析は血漿から Con A (Canavalia ensiformis) がコートされたカラムを用い、糖タンパク質を抽出した。各サンプルを安定同位体標識試薬 TMT (Tandem Mass Tag) で標識し、糖タンパク質を比較分析し、新たな診断マーカー候補タンパク質を見出した。新たな診断マーカー候補タンパク質の Lectin Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (Lectin ELISA) を構築し、健全ネコ 40 匹と慢性腎障害ネコ 16 匹の血漿検体を用いて測定し検証した。

【結果】TMT で標識した糖タンパク質を比較分析し、健全ネコより慢性腎障害ネコで発現に変化がみられたものとして Apolipoprotein A-IV が検出された。血漿フコシル化 Apolipoprotein A-IV 濃度は健全ネコ 0.17 ± 0.06 AU/mL、慢性腎障害ネコ (Stage I) 0.07 ± 0.01 AU/mL、慢性腎障害ネコ (Stage II) 0.00 ± 0.00 AU/mL であり、3 群間で $p < 0.001$ と有意に違いを示した。

【考察】血漿フコシル化 Apolipoprotein A-IV は、腎機能不全早期診断マーカーとしての可能性を確認した。今後、検体数を増やして臨床応用可能かどうか検証していく予定である。

マイコトキシンの定量的曝露評価に向けた文献調査および尿中高感度測定法の開発

○田島稔基¹, 野呂涼音², 斎藤勲¹, 上山純¹

¹ 名古屋大学大学院医学系研究科, ² 名古屋大学医学部保健学科

Literature review and development of sensitive method in urine samples for quantitative exposure assessment of mycotoxins

○Toshiki Tajima¹, Suzune Noro², Isao Saito¹, Jun Ueyama¹

¹ Nagoya University Graduate School of Medicine, ² Nagoya University School of Medicine

【目的】穀物などを汚染するカビが産生する化学物質は、マイコトキシン(mycotoxin, 以下MYC)として知られており健康に悪影響を及ぼす可能性がある。国内ではMYC推定摂取量(probable daily intake, PDI)の算出によりリスク評価が行われているが、食品汚染濃度を用いた集団のリスク評価に加えて、個人レベルのリスク評価による精査も求められている。個人の曝露評価法の一つとして、生体試料の化学分析による曝露評価(ヒトバイオモニタリング, HBM)があるが、日本での実施例はほとんどない。本研究では、1) MYC曝露評価を目的とした国際的なHBM研究の文献調査、2) 液体クロマトグラフィー質量分析計(LC-MS/MS)を用いた高感度ヒト尿中MYC測定法確立に向けた種々の検討を行った。

【方法】2020年から2022年に報告されたMYCのHBM研究について、各種検索サイトより文献を収集した。HBM報告数・健康影響を考慮して、デオキシニバレノール(DON)、オクラトキシンA(OTA)、ゼアラレノン(ZEN)など9種類を測定物質とした。測定機器にはLC-MS/MS Ultivo システム(Agilent Technologies 社)を使用した。基礎検討には健常成人のプール尿を用い、尿前処理法、分離カラム、各種LC-MS/MS条件の最適条件を探索した。

【結果と考察】文献調査によって、尿中DON・OTA・ZENから推定されたPDIの最大値が耐容一日摂取量(tolerable daily intake, TDI)・暫定耐容一日摂取量(provisional tolerable daily intake, PTDI)を超える報告が多数みられた。DONにおいては中央値がTDI付近となる報告もあり、HBMによるリスク評価の必要性が再認識された。また、国内のHBM報告例は確認できなかった。逆相分離カラムから3種検討した結果、Raptor FluoroPhenyl (RESTEK 社, 2.1×100mm, 2.7μm)が最も高分離能を示し、その後の検討に用いた。尿前処理には固相抽出(solid phase extraction, SPE)3種類、塩析を用いた液液抽出(salting-out liquid-liquid extraction, SALLE)、およびSALLEとSPEを組み合わせた(SALLE+SPE)計5種類を比較し、SALLEおよびSALLE+SPEの前処理を測定物質に応じて適用した。SALLEに用いる塩の種類を検討しNaClを採用した。測定下限値(limit of detection, LOD)はDON 0.24 μg/L、OTA 0.27 μg/L、ZEN 0.03 μg/Lとなった。HBMを用いてTDIおよびPTDIを求めるには、DON 10 μg/L、OTA 0.3 μg/L、ZEN 2 μg/Lの感度が必要であり、本研究の測定感度はMYCリスク評価に十分応用可能な性能を示していると思われる。しかし、曝露レベルの分布を評価するには、さらなる感度向上に向けた取り組みが必要である。

【結論】国際的にはHBM研究が多数存在しているものの、国内の報告例はない。本研究によりLC-MS/MSを用いた尿中MYC測定による曝露リスク評価への可能性が示された。

骨粗鬆症ラットにおけるエルゴステロールのビタミン D およびコレステロール合成経路に対する効果

○桑原 直子¹, 神田 循吉¹, 佐藤 眞治¹, 中川 沙織¹

¹ 新潟薬科大学

Effects of long-term high-ergosterol intake on the vitamin D and cholesterol biosynthetic precursors of ovariectomized rats

○Naoko Kuwabara¹, Junkichi Kanda¹, Shinji Sato¹, Saori Nakagawa¹

¹ Niigata University of Pharmacy and Medical and Life Sciences

【目的】キノコなどに含まれるエルゴステロール (ES) はビタミン D₂ の前駆体であり、7-デヒドロコレステロールレダクターゼ (DHCR7) によってブラジカステロールに代謝される。この DHCR7 は、7-デヒドロコレステロール (7-DHC) からコレステロールへの生合成にも関与する。そのため、ES は DHCR7 の競合作用により、高脂肪高ショ糖食を与えたラットにおいてコレステロール合成を阻害し、ビタミン D₂ だけでなくビタミン D₃ の合成経路にも影響を及ぼすことをこれまでに我々は報告している。そこで本研究では、骨粗鬆症のモデルラットを用いて、ES の長期摂取によるコレステロールおよびビタミン D 合成経路に対する作用を検討した。

【方法】Wistar 系雌性ラットの卵巣を摘出した骨粗鬆症モデルラットを用いた。偽手術 (Sham) 群、卵巣摘出 (OVX) 群、1% ES 含有飼料摂取卵巣摘出 (OVX-ES) 群の 3 群について、100 日間の長期投与後に採血を行い、血漿中コレステロール合成前駆体、コレステロール、ES およびブラジカステロールを GC-MS 定量し、ビタミン D₂、D₃ およびその代謝物は LC-MS/MS 定量した。

【結果および考察】コレステロール前駆体のうち、OVX 群における血漿中ラソステロール、7-DHC およびデスモステロール濃度は Sham 群に比べ有意に減少し、コレステロール濃度は有意に上昇した。次に ES を投与した OVX-ES 群において、7-DHC 濃度は有意に上昇し、コレステロール濃度は OVX 群に比べ有意に減少した。また、ラソステロールおよびデスモステロール濃度は増加傾向を示した。さらに、OVX-ES 投与群において ES は定量限界 (LOQ) 以下であったが、その代謝物であるブラジカステロールは検出できた。一方、Sham 群における血漿中ビタミン D₂ 濃度は LOQ 以下であったが、OVX 群と比較して OVX-ES 群の濃度は有意に上昇した。また、OVX 群における血漿中ビタミン D₃ 濃度は Sham 群に比べ有意に増加し、ビタミン D₃ 代謝物のうち活性体である 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ 濃度は、有意に減少した。OVX-ES 群については、ビタミン D₃ 濃度は有意に減少し、1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ 濃度は増加傾向を示した。以上の結果から、骨粗鬆症モデルラットにおいて、ES の長期投与によりビタミン D₂ が増加し、7-DHC および 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ が増加したことから、骨粗鬆症の予防に効果を発揮する可能性が示唆された。

質量分析と骨再生メカニズム・骨膜における F-box タンパク質の役割

○秋山真理

大阪歯科大学・歯科理工学講座

F-box proteins, FBXL14 and FBXW2 in the bovine periosteum

○Mari Akiyama

Osaka Dental University, Department of Biomaterials

【目的】ウシ骨膜由来細胞はスキャフォールドフリーで多層構造を形成し、生体移植後に骨を再生する特性を持っている。多層構造形成に関与するタンパク質を特定するため、演者は質量分析法と免疫染色法とを組合せ¹、F-box タンパク質のうち、FBXL14 および FBXW2 がウシ骨膜由来細胞近傍に発現していることを明らかにしてきた²。本研究は、ウシ骨膜および骨膜由来細胞における F-box タンパク質の役割を明らかにすることを目的とし、アスコルビン酸添加および無添加条件における F-box タンパク質の発現を免疫染色法にて比較検討することとした。

【方法】培養上清からサンプルを採取し、質量分析を行う方法はすでに発表した¹。神戸中央畜産荷受株式会社にて入手したウシの脚から骨膜を剥離し、ウシ胎児血清 10%添加 199 培地の中で 3 週間から 5 週間まで explant culture を行った。培養液はアスコルビン酸添加および無添加の 2 条件に分け、1 週間に一度交換した。従来の研究における質量分析結果で、候補として挙げられた^{1,2} FBXL14 および FBXW2 の抗体を用いて explant culture 後の骨膜および骨膜由来細胞の免疫染色を行った。

【結果】FBXL14 はアスコルビン酸添加条件でのみ、骨膜の内部に厚みのある膜状の構造物を形成していた³。FBXL14 の厚みが増すにつれて、骨膜由来細胞も多層構造を形成する傾向が認められた³。FBXW2 は骨膜および血管において、発現部位が弾性線維と一致していたが⁴、アスコルビン酸無添加条件では弾性線維から離れる傾向が認められた³。

【考察】FBXL14 は骨再生において天然のスキャフォールドとなり得ることが示唆され、FBXW2 は弾性線維を介した石灰化に関与することが示唆された。質量分析と免疫染色を組み合わせることにより、骨再生メカニズムの解明につながった。

¹ Akiyama, M. *Anal. Bioanal. Chem.*, **406**, 5805–5813 (2014).

² Akiyama, M. *Open Biomed. Eng. J.*, **12**, 75–89 (2018).

³ Akiyama, M. *Osteology*, **3**, 1–10 (2023).

⁴ Akiyama, M. *Biomimetics*, **8**, 7 (2023).

白金族触媒を用いた 6-ヒドロキシ-3'-プロピル-[1,1'-ビフェニル]-3-プロパン酸の H-D 交換反応

○伊藤航平¹, 富田浩嗣^{2,3}, 中島健一³, 井上誠³, 猪飼誉友¹, 堤内要¹

¹ 中部大学応用生物学部, ² 愛知県衛生研究所, ³ 愛知学院大学薬学部

H-D exchange reaction of 6-hydroxy-3'-propyl-[1,1'-biphenyl]-3-propanoic acid catalyzed by platinum group metals

○Kohei Ito¹, Koji Tomita^{2,3}, Ken-ichi Nakashima³, Makoto Inoue³, Yoshitomo Ikai¹, Kaname Tsutsumiuchi¹

¹ College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University, ² Aichi Prefectural Institute of Public Health, ³ School of Pharmacy, Aichi Gakuin University

【目的】アルツハイマー病(AD)の新たな治療薬への応用を期待して、6-ヒドロキシ-3'-プロピル-[1,1'-ビフェニル]-3-プロパン酸(6OHA)の抗 AD 作用について研究している^{1,2}。6OHA の薬物動態はマウスへの経口投与により調べているが、安定同位元素で標識した内部標準物質が存在しないため、血漿試料から 20 ng/mL 以下の低濃度領域を精度よく定量することができず、投与後 2 時間以降の薬物動態が解析できていない。そこで、本研究では白金族触媒を用いた 6OHA の H-D 交換反応を行い、内部標準物質としての応用を検討した。

【方法】既報を参考に 6OHA の H-D 交換反応を行った³。バキュームチューブ内に 6OHA 10 mg (35 mmol)、重水 2.0 mL、5% Pt/C または 10% Pd/C 4.0 mg を入れた後、水素置換し、80-140°C で 24-48 時間磁気攪拌した。反応液にメタノールを加えて 10 分間超音波照射し、遠心分離で上清を得た。沈殿物にアセトニトリルを加えて同様の操作を行い、上清をまとめて濃縮乾燥した。核磁気共鳴分光分析法(NMR)と LC-MS により反応の進行状況を確認し、内部標準物質として検討する生成物については分取 HPLC にて精製した。

【結果・考察】白金炭素 (Pt/C) を触媒に用いた H-D 交換反応は 100°C では進行しなかったものの、120°C 以上では進行した。LC-MS で 6OHA は [M+H-H₂O]⁺ として m/z 267 にピークを示した。Pt/C 触媒による反応では m/z 267-271 に H-D 交換反応に特徴的なピーク群を示したものの m/z 267 が消失するまで反応を進めることができなかった。一方、パラジウム炭素 (Pd/C) 触媒を用いた場合は 100°C 以上で 6OHA が変性したが、反応温度を 80°C とすることで 6OHA の変成を抑制しつつ、H-D 交換反応を進めることができた。48 時間の反応を 2 回繰り返したところ、LC-MS で m/z 269-273 にピーク群を示す生成物を観測した。m/z 271 が最大ピークであったことから、4 つの軽水素が重水素置換された 6OHA が主成分であると考えられた。精製した重水素化物の ¹H-NMR スペクトルから H-D 交換反応は主にアルキル基で進行したことが判明した。これらの重水素化物を用いた添加回収実験から内部標準物質としての有用性を評価したので報告する。

¹ K. Nakashima *et al.*, *ACS Chem. Biol.*, **15**, 1526 (2020). ² 富田浩嗣ら, *日本薬学会第 142 年会要旨集*, 28PO9-pm1-08 (2022). ³ H. Sajiki *et al.*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **81**, 278 (2008).

LC-MS/MS を用いた抗体結合酸化鉄ナノ粒子の特性解析

○森基希¹, 佐々木健登¹, 菊池有純^{1,2}, 成瀬有純², 河合憲康³, 堤内要¹

¹ 中部大学応用生物学部, ² 大雄会医科学研究所, ³ 名古屋市立大学医学部附属みどり市民病院

Characterization of antibody-linked iron oxide nanoparticles by LC-MS/MS

○Motoki Mori¹, Kento Sasaki¹, Arizumi Kikuchi^{1,2}, Azumi Naruse², Noriyasu Kawai³, Kaname Tsutsumiuchi¹

¹ College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University, ² Daiyukai Research Institute for Medical Science, Daiyukai Health Systems, ³ Nagoya City University Midori Municipal Hospital

【目的】血液や尿、唾液などの生体試料から病気の診断を行うリキッドバイオプシーの発達は、がんなどの早期発見を可能にしつつある¹。ただし、それだけでは具体的な腫瘍部位を特定することは困難なので、我々は核磁気共鳴画像法の造影剤として働く酸化鉄ナノ粒子 (IONP) に抗体を結合させた材料の開発を試みた。IONP を腫瘍部位に集積させることができれば、交流磁場や光などの外部エネルギーでIONPだけを発熱させることが可能であるため²、そのままがん温熱療法を実施することもでき、診断と治療を併せて行うセラノスティクスも実現できると期待される。抗体結合IONPの例として、ヒト乳がんや一部の胃がん細胞に発現するHER2タンパク質に特異的に結合するTrastuzumabのF(ab')断片(TzmFab')を結合させたIONPを調製したが、1粒子に結合しているTzmFab'の分子数を定量できずにいた。本研究ではLC-MS/MSを用いることにより、この問題を解決したので報告する。

【方法・結果】マウスを用いた体内動態実験でIONPを尾静脈注射すると、IONPは速やかに肝臓に捕捉され、1時間で血漿中から消失することがわかっている。そこで我々は粒子表面をポリグリセロール (PG) で被覆したIONP (PG-IONP) を調製し、その表面にTzmFab'を結合させることとした。既報を参考に、部分的にカルボキシ基を導入したPG-IONP (HOOC-PG-IONP) を調製し³、次にN-(2-アミノエチル)マレイミドとHOOC-PG-IONPを縮合させ、さらにTzmFab'を反応させることでTzmFab'結合IONP (TzmFab'-PG-IONP) を調製した。当初は、粒子をゲルろ過分析し、TzmFab'-PG-IONPに相当する溶出時間におけるトリプトファン残基の蛍光強度 (ex 280 nm / em 350 nm) を用いて抗体結合量の定量を試みたが、IONP粒子の存在により蛍光共鳴エネルギー移動が起こり消光してしまい、正確に定量できないことが判明した。そこで、TzmFab'-PG-IONPを濃塩酸でアミノ酸と鉄イオンまで加水分解し、乾固して過剰な塩酸を除去した後、InertSep ME-1で鉄イオンを取り除き、アミノ酸をLC-MS/MSで定量することとした。濃塩酸によるTzmFab'の加水分解では様々なアミノ酸が生成するが、TzmFab'に比較的多く含まれ、かつ逆相カラムで保持しやすいロイシンをMRM測定した。装置はLCMS-8060 (Shimadzu) を使い、カラムにInertSustain C18 (φ 2.1 x 150 mm) (GL Sciences)、溶媒に (A)水 (0.1%ギ酸含有)、(B)アセトニトリル (0.1%ギ酸含有) を使用して、流速 0.20 mL/min で溶媒 B の組成を 5% (0-5 min) – 90% (6-10 min) – 5% (11-20 min) としたグラジエント溶出を行った。m/z 132 > 86 のMRMクロマトグラムで定量したところ、1粒子あたり13-17分子のTzmFab'が結合していることが判明した。

¹ J. Matsuzaki *et al.*, *JNCI Cancer Spectrum*, **7**, pkac080 (2023). ² T. Nagai *et al.*, *Pharmaceutics*, **15**, 626 (2023).

³ Y. Zou *et al.*, *Adv. Funct. Mater.*, **32**, 2111077 (2022).

講演要旨

ランチオンセミナー

iMScope を用いた生体組織における質量分析イメージングの潮流 -分布可視化から定量イメージング-

○新聞秀一

大阪大学大学院工学研究科

【はじめに】 質量分析イメージング (MSI: mass spectrometry imaging) は二次イオン質量分析法を用いた、材料を対象とする表面分析法を基にしており、1990 年代半ばに LAMMA (laser microprobe mass analyzer) のコンセプトをマトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI: matrix-assisted laser desorption ionization) に適用し R. M. Caprioli や B. Spengler により生体分子の可視化が初めて行われた[1,2]。発表当初、田中ら (島津製作所) による質量分析法におけるタンパク質のイオン化でノーベル化学賞が受賞されたことから、多くの研究者がタンパク質のイメージングを目指したが、現在では生体内小分子 (代謝物や脂質) ならびに薬物などのイメージングが主流となっている。

【質量分析イメージングとは】 MSI は数 μm から 20 μm 程度の厚みで切った試料表面を直接質量分析により、イオン強度分布をマッピングする方法である。質量分析は「破壊分析」であるため、MSI においてはどのような測定対象であっても試料採取が必要となる。例えば、ヒト試料を対象とする場合、手術検体や生検により採取され、動物試料であればマウスなどのげっ歯類から臓器や腫瘍組織を採取する。これらの試料や植物、食品などどのような試料でも、一般的に迅速に液体窒素中で凍結される。また、分子の拡散や流出を防ぐため通常化学固定などは行わない。凍結された組織は、クライオマイクロトームを用いて凍結切片を作製し、導電性を有する透明なガラスプレートに載せられる。サンプルによっては脆いものがあるため、そのような試料は粘着性フィルムにより切片は回収される。MSI で用いられるガラスプレートは、インジウムスズ酸化物でコーティングされた ITO ガラスが一般的である。ガラスプレート上に切片を固定した後、イオン化補助剤である「マトリックス」を試料表面に供給し、MALDI を用いて分析を行う。分析に際し、組織表面にデータ取得点を設定し、各点でマススペクトルを取得し (MS/MS や MS/MS/MS の場合もある)、位置情報とともに保存する。

全てのデータ点でスペクトルの取得が終了した後、得られたマススペクトルからイメージング対象の m/z に相当するピークを選択し、その強度分布を専用のソフトウェアで描くことによりイメージングデータとなる。この測定原理から容易に想像できるが、IMS では組織表面でイオン化し検出された全てのピークについて分布を描くことが可能であり、一度に様々な分子の分布情報が得られることから「マルチモーダル」なイメージング手法であるとも言える。

本講演ではこのような特徴を持つ MSI を iMScope で実施した例について、一般的に行われる生体試料におけるイメージングから、定量的なイメージングを行うための手法について解説する。また、近年演者が取り組んでいる、MSI を用いた酵素組織科学 (酵素機能イメージング) について取り上げたいと思う。また、iMScope におけるデータ解析で用いられる IMAGEREVEAL MS の活用法についても取り上げたいと思う。

【参考文献】

1. Caprioli R.M. et al., Anal. Chem., 69, 4751 (1997).
2. Spengler B. et al., J. Am. Soc. Mass Spectrom., 13, 735 (2002).

タンデム四重極質量分析計のMRMを用いた高感度、高速質量イメージング

○窪田雅之¹

¹ 日本ウォーターズ株式会社クリニカル事業部

Highly sensitive and high throughput MS-imaging by using tandem mass spectrometer

○Masayuki Kubota¹

¹ Clinical Business Unit, Waters Corporation

【はじめに】

クロマトグラフによる成分分離の支援が得られない質量イメージングでは、成分の識別を高い質量分離能のみにゆだねることとなり、これまでの研究のほとんどは高分解能質量分析計を用いたものです。弊社では質量分解能 30 万 (FWHM) に到達する超高分解能飛行時間型質量分析計 Select series MRT を一昨年に上市しましたが、これは DESI (脱離エレクトロスプレーイオン化)、又は MALDI を組み合わせると質量イメージングが可能です。しかし、これまでの研究によって組織上での分布状態を可視化したい対象成分がすでに明確になっており、その強度 (定量) 情報により重きを置く研究ニーズが高まりつつあります。特に、薬物が疾患部位に適切に送達出来ているのか、といった研究でのニーズです。そこで、弊社は薬物動態試験などで実績のあるタンデム四重極質量分析計と、DESI を組み合わせた装置を上市しましたので、このランチョンセミナーでデータを交えてご紹介します。

【機器の特長】

タンデム四重極質量分析計に搭載している四重極は、スペクトル情報を取得するいわゆるフルスキャンは苦手ですが、特定の質量イオンを総イオン量に影響されず正確に検出器に送り出して定量情報を得るのは得意です。しかし、四重極の質量分解能は低く夾雑ピークの影響を受けやすいため、MS/MS によって選択性を高めて定量分析を行う方法が MRM モードです。この検出感度は、対象成分にもよりますが、多くの場合、高分解能 MS に比べて高い検出感度が得られます。

質量イメージングというからには、イメージングの空間分解能も重要です。DESI イオン源は ESI で発生させた帯電液滴を試料表面に吹き付けて、飛び出してくるイオン (飛沫) を分析しています。この吹き付ける範囲が空間分解能となりますが、今回ご紹介する最新のイオン源 DESI XS でもおよそ 25 μ m 程度であり、レーザー光を用いた MALDI には及びません。しかし、DESI は大気圧下のイオン化ですので試料を乾燥させる必要がなく、低質量域の分析で干渉しやすいマトリクスの塗布も不要です。ESI ですのでイオン化エネルギーが低く、フラグメンテーションが起きにくい、という特徴もあります。

本講演では、この DES XS イオン源と弊社タンデム質量分析計の最上位機種 TQ Absolute を用いた質量イメージングの分析事例をご紹介します。

一般社団法人 日本医用マススペクトル学会認定 第11回医用質量分析認定士講習会並びに 認定試験のご案内

近年、質量分析の著しい進歩に伴い、医療分野においても質量分析技術が広く用いられるようになってきました。日本医用マススペクトル学会では質量分析技術の臨床応用への基盤を共有することを目的に、2013年度より「医用質量分析認定士」制度をスタートさせました。さらに、日々の技術革新により医療の様々な場面で質量分析がますます重要な役割を果たすことが見込まれることから、医用質量分析認定士の経歴10年（更新2回）以上の医用質量分析認定士に対して、医用質量分析指導士の称号を付与することと致しました。これからますます活躍の場が広がる医用質量分析認定士の資格を新規および継続取得すべく、是非ご受講頂きたいと思っております。

■ 日時

講習会： 2023年9月9日（土） 9:20 - 14:00

認定試験：2023年9月9日（土） 14:15 - 15:00

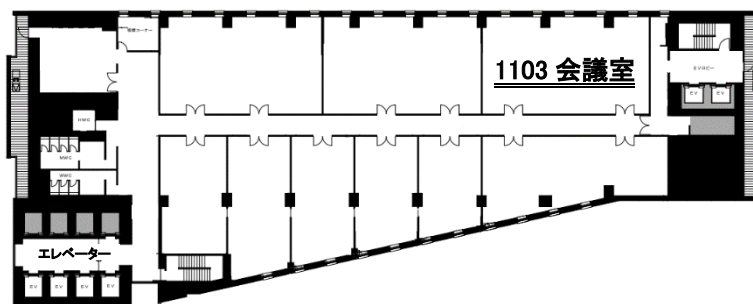
■ 会場

愛知県産業労働センター ウィンクあいち 11階 1103会議室

愛知県名古屋市中村区名駅4丁目4-38



11階



■ 講義内容

- 1) 基礎編： 窪田雅之（日本ウォーターズ株式会社）
- 2) 応用編
 - *微生物同定関連： 曾川一幸（麻布大学）
 - *臨床化学・薬物分析関連： 中川央充（慶應大学病院）
 - *代謝異常症関連： 伊藤哲哉（藤田医科大学）
 - *その他： 中山憲司（新潟医療福祉大学）

■ 受講申込方法

第 48 回日本医用マススペクトル学会年会ホームページ内の「認定士講習会」のページにある「第 11 回講習会申込用 Google Form」から申込を行って下さい。

■ 受講料(資料代を含む)

- 年会参加あり：3,000 円
- 年会参加なし：5,000 円

■ 認定要件

- 1. 日本医用マススペクトル学会会員であること
- 2. 日本医用マススペクトル学会主催の医用質量分析認定士講習会を受講し、認定試験に合格すること

■ 合否発表

JSBMS Letters Vol.48 No.3 に掲載予定です。

■ 第 48 回日本医用マススペクトル学会年会事務局

〒487-8501 愛知県春日井市松本町 1200 中部大学応用生物学部応用生物化学科
堤内 要
Tel: 0568-51-6295 e-mail: tsutsu@isc.chubu.ac.jp

■ 第 48 回日本医用マススペクトル学会年会ホームページ

講習会申込はこちらからお願いします。

<https://www.48th-annualmeeting-jsbms.com/>

学会賛助会員一覧 (2023 年度)

株式会社島津製作所

日本電子株式会社

株式会社大阪ソーダ

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

株式会社エスアールエル

株式会社エービー・サイエックス

日本ウォーターズ株式会社

ブルカージャパン株式会社

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

日本疾患メタボローム解析研究所

(12 社、敬称略)

年会 協賛企業一覧

この度の年会開催にあたり、下記の企業・団体の皆様から、ランチョンセミナー、展示、広告掲載のご支援を賜りました。この場をお借りして、心より御礼申し上げます。

株式会社大阪ソーダ

大塚製薬株式会社

シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社

株式会社島津製作所

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

Noster 株式会社

林純薬工業株式会社

株式会社羊土社

(10社、五十音順、敬称略)

ランチオンセミナー共催企業一覧

株式会社島津製作所

日本ウォーターズ株式会社

(2社、五十音順、敬称略)

展示企業一覧

大塚製薬株式会社

シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社

株式会社島津製作所

大陽日酸株式会社

日本ウォーターズ株式会社

Noster 株式会社

林純薬工業株式会社

(7社、五十音順、敬称略)

広告掲載企業一覧

株式会社大阪ソーダ

ジーエルサイエンス株式会社

大陽日酸株式会社

林純薬工業株式会社

株式会社羊土社

(5社、五十音順、敬称略)

生命を科学する 明日の医療を切り拓く

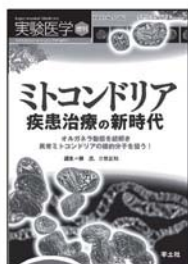
実験医学

月刊 毎月1日発行 B5判
定価 2,530円(本体 2,300円+税10%)

増刊 年8回発行 B5判
定価 6,160円(本体 5,600円+税10%)



新刊



新刊

スマホで読める実験医学

「実験医学」の記事ごとに購入できる!



生命科学研究をトータルサポートします

実験医学別冊

決定版 質量分析活用スタンダード

新刊

代謝物からタンパク質、食品・環境の分析まで
質量分析のポテンシャルを活かしきる戦略とプロトコール

馬場健史, 松本雅記, 松田史生, 山本敦史/編

■ 定価 7,920円(本体 7,200円+税10%) ■ B5判 ■ 約350頁 ■ ISBN 978-4-7581-2264-1

7月上旬
発行予定

実験医学別冊

創薬研究のための スクリーニング学実践テキスト

アッセイ系の選択・構築から、ヒット・リード化合物の同定、自動化まで

スクリーニング学研究会/編

■ 定価 9,900円(本体 9,000円+税10%) ■ B5判 ■ 374頁 ■ ISBN 978-4-7581-2258-0



実験医学別冊

メタボロミクス実践ガイド

サンプル調製からデータ解析まで、
あなたに合った実験デザインと達人テクニック

馬場健史, 平山明由, 松田史生, 津川裕司/編

■ 定価 7,920円(本体 7,200円+税10%) ■ B5判 ■ 334頁 ■ ISBN 978-4-7581-2251-1



発行 羊土社
YODOSHA

〒101-0052 東京都千代田区神田小川町2-5-1 TEL 03(5282)1211 FAX 03(5282)1212
E-mail : eigyo@yodosha.co.jp
URL : https://www.yodosha.co.jp/

ご注文は最寄りの書店、または小社営業部まで



LC/MS分析の 1st Choice C₁₈ カラム

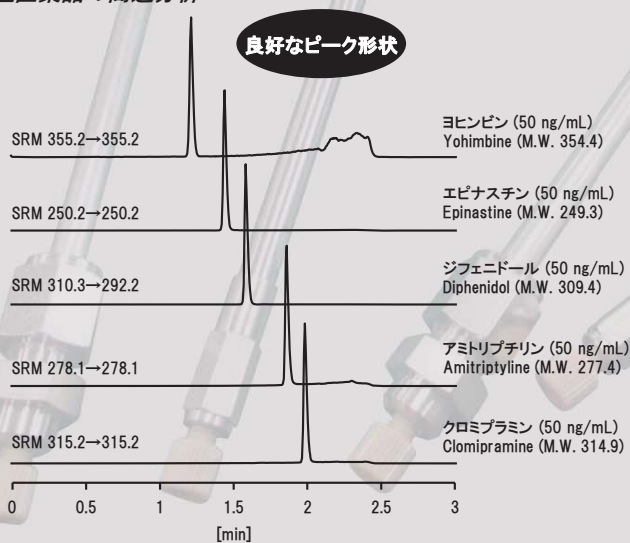
CAPCELL PAK C₁₈ MGIII 2μm

- LC/MSで汎用される酸性移動相条件での保持再現性に優れたカラム
- 低ブリードに設計されておりLC/MSを用いた高感度分析に最適
- UHPLCタイプでは100MPaの耐圧性能を有し超高速分析にも応用

タイプ	官能基	細孔径 (Å)	粒子径 (μm)	比表面積 (m ² /g)	C%	密度 (μmol/m ²)	耐圧 (MPa)	使用 pH範囲	USP
MGIII	C ₁₈ (オクタデシル基)	100	2	300	15	2.4	100	2~10	L1

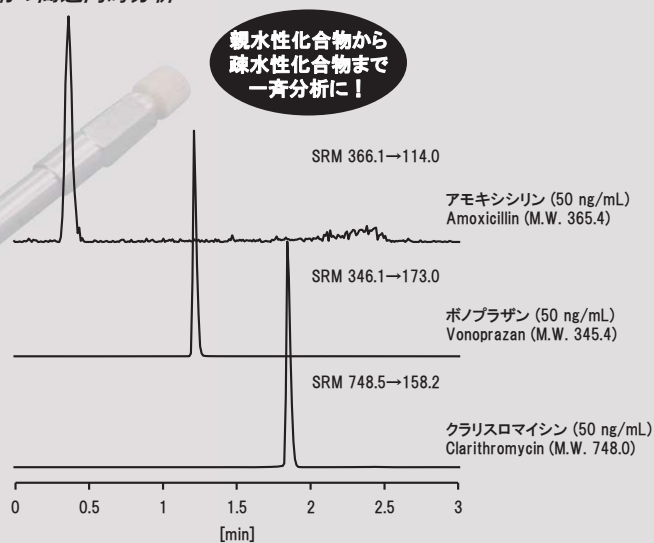
アプリケーション

<塩基性医薬品の高速分析>



[HPLC Conditions]
 Column : CAPCELL PAK C₁₈ MGIII S2; 2.0 mm i.d. x 50 mm
 Mobile phase : A) 10 mmol/L HCOONH₄, 0.1 vol% HCOOH in H₂O
 : B) 10 mmol/L HCOONH₄, 0.1 vol% HCOOH in CH₃OH
 : B 10% (0 min) → 90% (2 min) → 10% (2.1 min)
 Flow rate : 700 μL/min
 Temperature : 50 °C
 Detection : MS/MS
 Ionization : ESI positive
 Inj. vol. : 5 μL
 Sample dissolved in : 50 vol% CH₃OH

<合剤の高速同時分析>



[HPLC Conditions]
 Column : CAPCELL PAK C₁₈ MGIII S2; 2.0 mm i.d. x 50 mm
 Mobile phase : A) 10 mmol/L HCOONH₄, 0.1 vol% HCOOH in H₂O
 : B) 10 mmol/L HCOONH₄, 0.1 vol% HCOOH in CH₃OH
 : B 20% (0 min) → 100% (2 min) → 20% (2.1 min)
 Flow rate : 600 μL/min
 Temperature : 40 °C
 Detection : MS/MS
 Ionization : ESI positive
 Inj. vol. : 5 μL
 Sample dissolved in : 50 vol% CH₃OH



株式会社 大阪ソーダ

ヘルスケア事業部 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/>



110年の歴史を誇る 試薬界のパイオニア

残留農薬分析用

- ・新規農薬標準品
- ・SFA10Mix
(Analyte Protectants)

----- (開発中) -----

- ・PL2005農薬LC/MS
Mix 13
Mix 14

添加物・着色料分析用

- ・保存料
- ・甘味料
- ・製造用剤
- ・酸化防止剤
- ・着色料(許可)
- ・着色料(不許可)

各単品標準溶液を取り揃えています。

外部精度管理用

- 水道水質検査用試料
- ・金属類
- ・種々のpH緩衝液
- ・有機化合物
- ・無機イオン
- ・未知試料

公的機関様毎にカスタマイズ対応いたします。

HPC 林 純薬工業株式会社

試薬化成品部 分析用標準品・受託合成グループ
〒540-0037 大阪市中央区内平野町 3-2-12
TEL : 06-6910-7290 FAX : 06-6910-7300
E-Mail:mpd.ml@hpc-j.co.jp

試薬ダイレクト【オンライン試薬購入サイト】

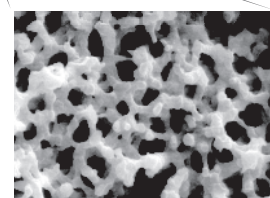
<https://direct.hpc-j.co.jp/>



微量試料前処理カラム

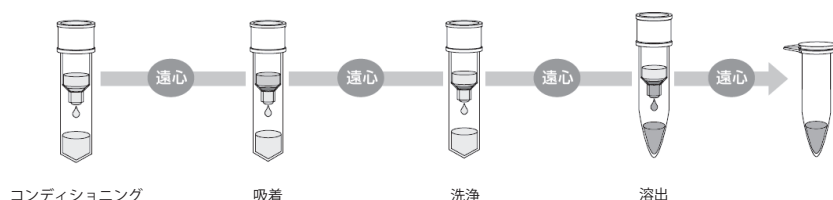
MonoSpin シリーズ

MonoSpin(モノスピ)は、均一な連続孔を持つシリカモノリスを用いた前処理用のスピнкаラムです。遠心操作により、生体試料などの微量サンプルを精製・濃縮できます。



シリカモノリス
(三次元網目構造)

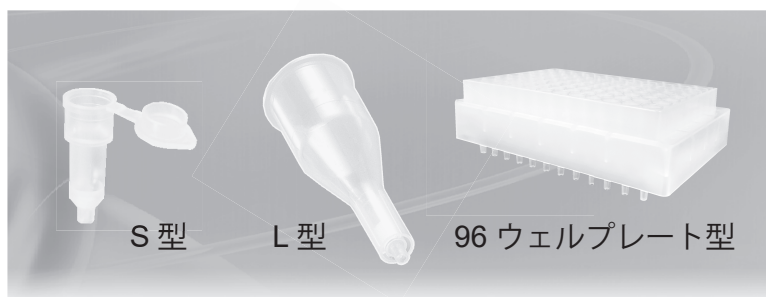
【操作方法】



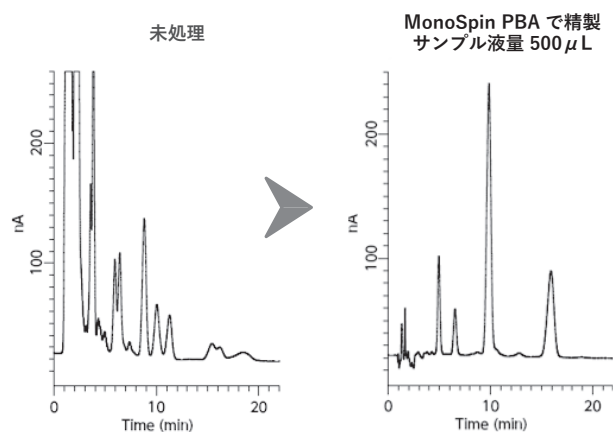
【シリーズラインアップ】

- MonoSpin C18
- MonoSpin C18 FF
- MonoSpin C18-AX
- MonoSpin C18-CX
- MonoSpin SAX
- MonoSpin SCX
- MonoSpin NH2
- MonoSpin CBA
- MonoSpin Amide
- MonoSpin PBA
- MonoSpin Ph
- MonoSpin TiO
- MonoSpin Trypsin HP
- MonoSpin ME
- MonoSpin Phospholipid
- MonoSpin ProA
- MonoSpin ProG
- MonoSpin ProL

【サイズ】



【カテコールアミンの精製例】



Conditions

Column : Inertsil ODS-3(5 μ m,150 \times 2.1 mm I.D.)
Eluent : 50 mM Phosphate buffer(pH 5.6)
50 mg/L EDTA, 600 mg/L IPCC-008,-10 % Methanol
Flow Rate : 0.3 mL/min
Col.Temp. : 35 $^{\circ}$ C
Injection Vol. : 5 μ L
Detection : ECD Pulse Mode



MonoSpin
製品ホームページ



MonoSpin
説明動画

GL Sciences

本社 総合企画部
〒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 FAX 03 (5323)6622
Webページ : <https://www.gls.co.jp/> E-mail : info@glsc.co.jp

No.Bio23001

第 49 回日本医用マススペクトル学会年会のお知らせ

年会長：矢尾 育子（関西学院大学生命環境学部 教授）

会 期：2024 年 9 月 13 日（金）～14 日（土）

（9 月 14 日（土）：第 12 回医用質量分析認定士講習会開催予定）

会 場：島津製作所本社（京都）

一般社団法人 日本医用マススペクトル学会 JSBMS Letters Vol. 48 Supplement, 2023

第 48 回日本医用マススペクトル学会年会 プログラム・抄録集

発 行 日：2023 年 8 月 25 日

編 集 者：第 48 回日本医用マススペクトル学会年会 年会長：堤内 要

発行責任者：丹羽 利充

編集委員会：（委員長）有田 誠／大矢 友子／惠 淑萍／近藤 文雄／佐藤 恵美子／
瀬藤 光利／張 春花／堤内 要／長谷川 弘太郎／東 達也

発 行 所：一般社団法人 日本医用マススペクトル学会

〒491-0938 愛知県一宮市日光町 6 番地 修文大学

E-mail: jsbms.office@gmail.com

ホームページ: <http://www.jsbms.jp/>

印 刷 所：株式会社 国際文献社

〒162-0801 東京都新宿区山吹町 358 番地 5

TEL: 03-6824-9360 FAX: 03-5227-8631
