

## 第7回 日本医用マススペクトル学会 東部会

開催日時: 2022年8月20日(土)  
当番世話人: 恵 淑萍 (北海道大学 大学院保健科学研究院)  
形式: オンライン  
参加費: 無料  
テーマ: 尿試料の質量分析  
協力: 北海道大学 高度脂質分析ラボ

### プログラム

#### 【開会の挨拶】

10:00 ~ 10:10 東 達也 (東京理科大学 薬学部)

#### 【第1部(講演)】

10:10 ~ 10:40 尿中抱合型コレステロール代謝物の質量分析研究  
前川 正充 (東北大学 病院薬剤部、大学院医学系研究科)

10:40 ~ 11:10 尿中コレステリルエステルと腎障害の関連  
櫻井 俊宏 (北海道大学 大学院保健科学研究院)

11:10 ~ 11:40 尿中生理活性脂質測定系の医療応用を目指して  
蔵野 信 (東京大学 大学院医学系研究科)

#### 【第2部(動画による紹介・質疑応答)】

13:00 ~ 14:00 多重反射型 TOF-MS による高分解能 MS イメージング  
窪田 雅之 (日本ウォーターズ株式会社)

14:00 ~ 15:00 timsTOF fleX を用いた高深度 SpatialOMx 解析  
坂本 太郎 (ブルカー・ジャパン株式会社)

事前参加登録: 2022年8月8日(月)迄に専用フォーム(<https://forms.gle/dFfheBtCas5jUNv4A>)を使ってご登録をお願いします。URLを開く際は Google Chrome あるいは Safari を推奨します。頂いた情報をもとに後日オンライン会場の URL をご案内いたします。今回の登録で頂戴した情報は本目的以外に使用しません。

事務局担当: 櫻井 俊宏 (北海道大学大学院保健科学研究院) (sakura@hs.hokudai.ac.jp)  
(@が全角になっています。半角英数字に直して下さい)

## 尿中抱合型コレステロール代謝物の質量分析研究

前川正充

東北大学病院薬剤部，大学院医学系研究科

コレステロール輸送機能を欠損する遺伝性疾患であるニーマンピック病 C 型 (NPC) は，発症時期が幅広く，症状も多様で診断が難しい．従来の検査法に課題があることから，簡便で迅速な診断法の確立が望まれていた．我々は，液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) を用いた尿中バイオマーカー候補分子の探索と診断性能の評価に取り組んできた．

まず，3 種の多重抱合型コレステロール代謝物の LC/MS/MS による定量法を構築した．それらは，尿試料測定の結果，優れた診断性能を有していた一方，偽陰性も認められたため，新たなマーカー候補を探索した．コレステロール代謝物の MS/MS 挙動の特徴を捉え，それらを活用するフォーカスドメタボローム解析法により NPC 患者尿試料を再解析し，最終的に 2 種のマーカー候補分子を同定した．次いで，それら 2 分子を含む計 5 種の尿中抱合型コレステロール代謝物一斉分析法を構築し，NPC 患者尿中の濃度を調べた結果，いずれも高い診断マーカー性能を示した．さらに，移動相添加剤を工夫することにより，LC の高速化と MS/MS の高感度に成功した．

本講演では，目的による分析法の使い分け等にも触れながら，我々の研究成果を紹介する．

## 尿中コレステリルエステルと腎障害の関連

櫻井俊宏<sup>1</sup>, 三浦佑介<sup>2</sup>, 高田康德<sup>3</sup>, Divyavani Gowda<sup>1</sup>, 陳 震<sup>1</sup>, 関島将人<sup>1</sup>, 千葉仁志<sup>4</sup>, 惠 淑萍<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 北海道大学大学院保健科学研究院, <sup>2</sup> 群馬パース大学保健科学部検査技術科, <sup>3</sup> 愛媛大学大学院医学系研究科糖尿病内科・臨床検査医学, <sup>4</sup> 札幌保健医療大学

慢性腎臓病は末期まで自覚症状が現れないため、腎機能検査や尿検査による早期発見が重要である。尿検査において、従来、蛋白尿やアルブミン尿による評価が行われてきたが、蛋白尿やアルブミン尿を認めずに腎機能が低下する症例が増えており、腎機能悪化の新たな予見バイオマーカーの開発への期待が高まりつつあるが、未だ確立には至っていない。近年、糖尿病性腎症において近位尿細管細胞への脂肪蓄積が報告されるなど、腎における異所性脂肪蓄積が腎障害に及ぼす影響について注目されている。当研究室では尿中のコレステリルエステル（CE）が腎障害の患者尿に含まれていることを突き止め、CE の測定系開発に着手した。これまでに、CE の標準物質の合成、質量分析を用いる定量系の開発を報告し、糖尿病性腎症や腎炎など様々な腎疾患の尿サンプルにおける検討を行ってきた。また、ヒト近位尿細管細胞 HK-2 を用いて脂肪酸負荷後の CE の蓄積や各種脂質のプロフィールの変化を分析した。

本講演では、当研究室のこれまでの成果と尿中 CE 増加の機序に関する仮説について、CE 代謝を中心に解説したい。

## 尿中生理活性脂質測定系の医療応用を目指して

蔵野 信

東京大学大学院医学系研究科

質量分析計の技術的な進歩により、質量分析計の医療分野、特に臨床検査への導入が求められている。リゾリン脂質やエイコサノイド類といった生理活性脂質は、様々な疾患との関連が基礎研究から明らかにされてきており、ヒト臨床研究においてもその疾患との関連性が解明されてきている。このような状況で、質量分析計を用いた生理活性脂質の臨床検査への導入が期待される。しかしながら、リゾホスファチジン酸やスフィンゴシン 1-リン酸、エイコサノイド類などの生理活性脂質は、血球（血小板、白血球、赤血球）から放出され、また、サンプリング後も血液中に生理活性脂質産生酵素、基質が存在していることより、保存条件により上昇してしまい、血液検体にて測定する際は、日常検査の現場では対応が難しい厳密なサンプリングを要する。そこで、私たちは、血液検体と比較して、血球、タンパク質が少ない髄液、尿検体を用いて生理活性脂質の臨床検査への導入を目指している。本講演では、そのうち尿について紹介させていただく。

具体的には、尿中スフィンゴ脂質、尿中エイコサノイド類の糖尿病性腎症マーカーとしての可能性、尿中生理活性脂質一斉測定系の可能性、さらには、COVID-19 患者の尿中リン脂質測定結果について私たちの研究成果について紹介させていただきたい。

【文献】(1) Morita Y, **Kurano M**, Yatomi Y, et al. Analysis of urinary sphingolipids using liquid chromatography-tandem mass spectrometry in diabetic nephropathy. *J Diabetes Invest.* 2020; 11: 441-449.

(2) Morita Y, **Kurano M**, Yatomi Y, et al. Simultaneous analyses of urinary eicosanoids and related mediators identified tetranor-prostaglandin E metabolite as a novel biomarker of diabetic nephropathy. *J Lipid Res.* 2021;62:100120.

## 多重反射型 TOF-MS による高分解能 MS イメージング

窪田雅之

日本ウォーターズ株式会社

TOF-MS は高い質量分解能と高速なデータ取得スピードが特徴であり、特に質量分析イメージングにおいてその特徴を活かした分析手法のひとつである。イメージング画像の解像度は MALDI のレーザー光のフォーカシングが最重要であり、解像度を高くすればするほどデータポイント数が多くなる。ひとつの高解像度検体画像を取得するには長い測定時間が必要となり、高速なデータ取得スピードが要求されるのである。最近の TOF-MS はいずれもデータ取得スピードは高速化しており、別の課題として TOF の質量分解能がクローズアップされるようになっている。ToF の質量分解能はドリフト長に依存しており、長くなればなるほど分解能は向上するが、装置の大きさに制限され、これまでの市販装置では十分とは言えない性能であった。また、無電位のドリフト空間内では、イオンのクーロン反発力によって拡散が生じることから、ドリフト長を長くしても計算通りに分解能が向上しないという要因も存在する。この課題を解決し、分解能を向上させる技術として、今回、MRT (Multi Reflecting Time-of Flight) 技術をご紹介します。この技術はドリフト空間内でリフレクターによって何度も反射させることによってドリフト長を最大 47m にする技術である。また、リフレクターによってイオンの拡散が抑えられ、分解能の低下を回避している。結果として、この装置の質量分解能は 200,000 (20 万 FWHM) という上市されている ToF 製品では最も高い性能を有している。質量精度は 500 ppb 以内 (内標準物質使用時) と、MS の基本性能も大きく向上している。本講演では、この多重反射型 TOF の仕組みと性能について、実際のイメージングデータを交えて紹介する。

## timsTOF fleX を用いた高深度 SpatialOMx 解析

坂本太郎

ブルカージャパン株式会社

物質固有の質量を用いて生体組織切片等を可視化するイメージング質量分析は、ラベルフリーでの解析が可能な汎用性の高い分子イメージングの一つとして期待されています。可視化の対象となる物質は、タンパク質、ペプチド、脂質、薬物、代謝物など多岐にわたり、特に近年では、分子量では分離することのできない異性体の局在を明らかにする解析が望まれるようになってきます。私たちブルカーは、分子の形状の違いを利用して分離する“Trapped Ion Mobility Spectrometry (TIMS)”を搭載した飛行時間型質量分析計である timsTOF fleX をリリースし、異性体を含む様々な物質の可視化を実現しています。一方、膨大な情報が得られるイメージング分析では、ソフトウェアによる統計学的な処理や自動アノテーションが必要不可欠です。本講演では、質量分析による分子イメージング解析を飛躍的に発展させる装置、および解析ソフトウェア等の最新情報をご紹介します。