

HCCにおける脂質合成の異常が報告されている。そこでHCCにおける脂質の変化をIMSにより詳細に解析したところ、周辺正常組織と比較してHCCにおいてPC (16:0/16:1) が非常に豊富に存在していた(図3-B)⁵⁾。この脂質変化の原因を探るため、アシル CoA の脂肪酸をリゾリン脂質 (lyso-PC, LPC) に結合させることでPCの産生に寄与するLPCアシルトランスフェラーゼ (LPCAT) ファミリーの発現量を調べたところ、LPCAT1の発現が高いHCC症例が多く認められた。そこで肝細胞がん培養細胞HuH7およびHepG2においてRNA干渉によりLPCAT1の発現を抑えたところ、PC群の組成比率が変化しPC (16:0/16:1) の低下が認められた。さらにLPCAT1の発現を抑制した場合には細胞増殖の低下に加え、細胞の遊走および浸潤も低下していた。一方、これらの細胞株にLPCAT1を過剰発現させたところ、逆に増殖・浸潤の増加が認められた。これらの結果は、LPCAT1がHCCの悪性度を左右する重要な因子であることを示唆し、LPCAT1がHCC治療戦略の新たな標的になると期待される。

(3) 統合失調症

統合失調症は古くから知られる代表的な精神疾患である。近年では脂質、特に不飽和脂肪酸の関与が注目されているが、ヒト疾患サンプルの解析は困難であることからほとんど進んでいない。そこで福島県立医科大学ブレインバンクに保管されている統合失調症患者死後脳脂質組成を、IMSにより部位別に詳細に解析した⁶⁾。脳切片についてイメージング解析を行う前に、健常者死後脳サンプルから抽出した脂質成分をliquid chromatograph (LC)/electrospray ionization (ESI)-MS/MSでニュートラルロススキャン解析し、PC、スフィンゴミエリン、ホスファチジルエタノールアミンそれぞれに特徴的な分子骨格に分類して測定することで、得られる m/z シグナルピークがどの脂質分子に帰属されるかを検討した。その後、それぞれのピークに着目して健常者および患者由来脳組織切片のイメージング解析を行ったところ、疾患脳においてPC (16:0/20:4) の増加やPC (16:0/18:1) の減少をはじめ、さまざまな脂質分子について含有量の顕著な違いが認められた(図3-C)。これらのイメージ像が示すように、サン

プル間で含有量に差が見られる分子種は、組織全体ではなく限られた部分において明確に違いを生じていた。このことは組織部位を含めた形で情報が取得可能になることで、採取部位の違いに由来する測定値のバラツキの軽減や、広範囲の測定では見逃してしまう局所変化の検出につながり、IMSが疾患組織の微小変化解析に有効であることを示している。

(4) 血管障害モデル

高脂血症は心血管疾患の代表的なリスクファクターとして知られている。近年の研究からトリグリセリド (TG) が疾患心血管において蓄積し、コレステロール (CHO) などの他の脂質とは独立したリスクファクターであることが示唆されている。しかし、その分子メカニズムはほとんどわかっていない。一方、シロスタゾール (CLZ) はホスホジエステラーゼ3の選択的阻害薬であり、血小板凝集の抑制や末梢血管を拡張するため、動脈硬塞に伴う間欠性跛行の虚血障害や脳梗塞の再発防止に用いられる。最近の統計解析においてCLZがアテローム性動脈硬化症の予防と血清脂質の改善を促すことが示唆されているため、CLZのTG集積抑制効果を組織レベルで解析した⁷⁾。ラットの頸動脈を片側性に結紮し、4週後に脂質量を解析したところ、血中のTG、CHO、PCについてはCLZの投与による有意な変化は認められなかった。一方、結紮動脈組織中においては、結紮によるTGの増加がCLZ投与により有意に抑制された(図3-D)。さらに詳しく検証するため、動脈組織中におけるTGの分布をIMSにより解析したところ、コントロールにおいては m/z 879、881のシグナルでそれぞれ示されるTG (52:3)、TG (52:2) が結紮により著明に増加していたが、CLZの投与群ではこれらのTG分子の増加が抑えられていた。興味深いことに、CLZは結紮によるヘムBの低下も抑制しており、組織学的解析において内皮・中皮の新生も抑えられていた。この結果はCLZの血管拡張作用が結紮により起こる低酸素状態を緩和することで、病状の悪化を抑えている可能性を示唆している。脂質に限らずヘムのような低分子を同一サンプル中において同時検出可能であるIMSの利点が活かされた例である。

(5) 歯周病

歯周病は自然回復することがなく歯の喪失につながる場合もあるため、歯科領域における最も深刻な問題の一つである。歯周病における歯肉などの周辺組織の炎症については調べられているが、歯そのものに対する炎症の影響についてはよくわかっていない。そこで歯周病における歯と炎症の関係についてIMSを用いて解析を行った⁸⁾。まず健常者の歯をIMS解析すると、エナメル質、象牙質、歯髄についてそれぞれ特徴的なシグナルピークが観察された。次に歯槽骨の骨吸収や歯石の蓄積が認められる歯周病患者の歯(中切歯、側切歯、小臼歯)について解析したところ、全体としては健常者の歯と同様のシグナルが観察されたが、歯根膜の顕著な減少が認められた。さらに m/z 496.3のピークを示す分子が歯根表面に集積していた(図3-E)。これまでの研究においてわれわれは、炎症部位のLPCが m/z 496.3を示すことを見出しており、今回検出したシグナルピークも歯周病菌による炎症で蓄積したLPCであると予想している。得られたイメージングデータは、歯周病において周辺組織のみならず歯根部でも炎症が起こっており、病態に影響していることを示唆している。本研究ではこれ以外にも現時点でデータベースに登録されていない代謝物ピークを複数検出しており、今後これらの分子が同定されることで、口腔領域に特徴的な生理現象や関連疾患の分子情報が明らかになるだろう。

展 望

以上のように当研究室ではこれまでIMSの開発からスタートし、生体試料の解析方法の確立、ヒト疾患解析への応用を進めてきた。IMSが可能にした解析技術は、近年の代謝に注目した医学生物学研究や医療応用を強く意識した基礎開発研究において大

きな注目を集め、実際のIMS使用例も爆発的に増加している。現在われわれはIMSをさらに有効に利用できるようにするため、解析技術の向上をはかるだけでなく解析装置の共通利用システムの構築も進めている。IMSを用いた本方法論が、疾患のイメージングをはじめさまざまな分野において広く応用されることで、医療の発展につながることを強く願っている。

▶ 文 献 ◀

- 1) Shimma S, et al.: Mass imaging and identification of biomolecules with MALDI-QIT-TOF-based system. *Anal Chem* 80: 878-85, 2008
- 2) Sugiura Y, et al.: Visualization of Spatiotemporal Energy Dynamics of Hippocampal Neurons by Mass Spectrometry during a Kainate-induced Seizure. *PLoS ONE* 6: e17952, 2011
- 3) 齋藤祐介, ほか: 高解像度質量顕微鏡を用いた薬物動態の解析. *J Mass Spectrom Soc Jpn* 59: 79-84, 2011
- 4) Ide Y, et al.: Human Breast Cancer Tissues Contain Abundant Phosphatidylcholine (36:1) with High Stearoyl-CoA Desaturase-1 Expression. *PLoS ONE* 8: e61204, 2013
- 5) Morita Y, et al.: Lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 altered phospholipid composition and regulated hepatoma progression. *J Hepatol* 59: 292-299, 2013
- 6) Matsumoto J, et al.: Abnormal phospholipids distribution in the prefrontal cortex from a patient with schizophrenia revealed by matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 400: 1933-1943, 2011
- 7) Tanaka H, et al.: Cilostazol inhibits accumulation of triglycerides in a rat model of carotid artery ligation. *J Vasc Surg* 58: 1366-1374, 2013
- 8) Hirano H, et al.: Matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry revealed traces of dental problem associated with dental structure. *Anal Bioanal Chem* 2013 Jun 2 [Epub ahead of print]

▶ 参考文献 ◀

- ・ 瀬藤光利 (編): 質量顕微鏡法 イメージングマスマイクトロメトリー実験プロトコール, シュプリンガー・ジャパン, 2008
- ・ Setou M (Ed): *Imaging Mass Spectrometry: Protocols for Mass Microscopy*. Springer, 2010

- ・本書の複製権・翻訳権・上映権・譲渡権・公衆送信権（送信可能化権を含む）は株式会社診断と治療社が保有します。
- ・**JCOPY**（（社）出版者著作権管理機構 委託出版物）
本書の無断複写は著作権法上での例外を除き禁じられています。
複写される場合は、そのつと事前に、（社）出版者著作権管理機構
（電話 03-3513-6969、FAX03-3513-6979、e-mail: info@jcopy.or.jp）
の許諾を得てください。

いようしつりょうぶんせき
医用質量分析ガイドブック

ISBN978-4-7878-2073-0

2013年12月25日 初版第1刷発行

編 集 にわとしみつ ひむらふみお
丹羽利充、野村文夫

発 行 者 藤実彰一

発 行 所 株式会社 診断と治療社

〒100-0014 東京都千代田区永田町2-14-2 山王グランドビル4階

TEL：03-3580-2750（編集） 03-3580-2770（営業）

FAX：03-3580-2776

E-mail：hen@shindan.co.jp（編集）

eigyobu@shindan.co.jp（営業）

URL：http://www.shindan.co.jp/

印刷・製本 三報社印刷株式会社

©Toshimitsu NIWA, Fumio NOMURA, 2013. Printed in Japan.

[検印省略]

乱丁・落丁の場合はお取り替えいたします。

