

学位論文抄録

A procedure for method development and protein binding ratio as the indicator of sensitivity
with anticancer agents on MALDI mass spectrometry imaging
(抗がん剤を用いた MALDI-質量分析イメージングの測定メソッド開発手順と感度の指標として
のタンパク結合率)

林 善 治

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻
腫瘍治療・トランスレーショナルリサーチ学

指導教員

濱田 哲暢 客員教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻
腫瘍治療・トランスレーショナルリサーチ学

Abstract of the Thesis

Background and Purpose: The concentration and distribution of a drug and its metabolites in tissues are key factors for elucidating both drug efficacy and toxicity in drug development. We here presented a procedure for standardization of pharmaco-imaging method development using the in-tissue method with matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometer imaging (MALDI-MSI) against 12 agents, moreover, we estimated key parameters affecting the intensities of the target compounds by investigating the relationship between the sensitivities of target compounds and those properties.

Methods: We prepared mock samples with mouse liver homogenates diluted with gelatin solution, limit of detection concentrations of each compound was confirmed. The correlation was evaluated between the intensities of mass signals obtained in MALDI-MSI with each test compound (the intensities of the test compounds) at a consistent concentration and the properties of each test compound.

Results: The liver homogenate diluted with gelatin solution showed easier handling and lower coefficients of variation than did liver homogenate only, and can be used as a good surrogate matrix. Based on the analysis of 12 agents, the protein binding ratios showed significant correlation to the detection sensitivities.

Conclusions: We presented a procedure for standardization of method development by MALDI-MSI assay protocol and indicated the possibility that the protein binding ratio in plasma or serum indicates the sensitivities of target compounds. It is hoped that the present approach will contribute to further progress in the application of MALDI-MSI techniques and the ability to develop suitable assay protocols.

学位論文抄録

[目的] 医薬品開発において、薬物およびその代謝物の組織内濃度や分布は、薬効と毒性の両方を評価するための重要な項目である。そのため、標的部位における薬物濃度を評価できる適切な測定方法の開発が不可欠である。液体クロマトグラフィー質量分析法(LC/MS)は医薬品開発の標準ツールの1つと考えられている。しかし、LC-MSは採取した試料から標的化合物やその代謝物を抽出する過程で、投与された薬剤やその代謝物の組織内空間分布に関する情報が失われる。そこで、組織内空間分布に関する情報を維持したままの測定が可能であるイメージング技術が注目されている。中でもマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法(matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometer, MALDI-MS)によるイメージングが薬物動態研究において注目されている。MSを用いた測定では測定対象化合物をイオン化させる必要があるため化合物のイオン化のしやすさは測定系構築時に非常に重要な情報であるが、直接的に測定することは困難であることから、測定対象化合物の物性(pKa、Log P、分極率など)を用いて経験的に推定されている。そこで、本研究においては、12種類の化合物を用いてMALDI-MSイメージングを用いたpharmaco-imaging法開発の標準化手順を示すとともに、測定対象化合物の感度とそれらの物性との関係を調べることで、MSシグナル値に影響を与える主要パラメータを推定した。

[方法] マウス肝臓ホモジネートをゼラチン溶液で希釈し、模擬組織ホモジネートを作製した。(in-tissue法)。模擬組織ホモジネート試料を用いて、各化合物の検出限界濃度を確認した。さらに、各化合物を一定濃度でMSシグナル値の強度と各化合物の物性との相関を評価した。

[結果] ゼラチン溶液で希釈した肝臓ホモジネートは、肝臓ホモジネートのみに比べ、粘性が下がることでハンドリング性が向上し、その結果MSシグナルのばらつき低減につながった。このことから、ゼラチン溶液で希釈した肝臓ホモジネートは良好なサロゲートマトリックスとして使用できることが確認された。また、12種類の化合物のMALDI-MSイメージング分析から血漿・血清中の各化合物のタンパク結合率がMSシグナル値と有意な相関を示した。

[結論] MALDI-MSを用いたin-tissue法によるpharmaco-imaging法開発の標準的手順を提示した。加えて、血漿または血清中のタンパク結合率が測定対象化合物の感度を示す可能性が示唆された。本アプローチがMALDI-MSイメージング法の適切な測定系構築と、MALDI-MSイメージング技術の応用に寄与することが期待される。