

## 林 善治 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

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)

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り、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 つと捉えられている。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のひとつとして、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (MALDI-MS) によるイメージングが注目されている。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。本研究において申請者は、複数の低分子化合物を用い、MALDI-MS イメージングを用いた pharmaco-imaging 法開発の標準化手順を確立するとともに、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。

研究では、まず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。この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とし、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。その結果、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、MS シグナルのばらつきの低減につながった。また、低分子化合物の 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すことを明らかにし、MALDI-MS を用いた pharmaco-imaging 法開発の標準的手順を提示した。加えて、マウスに様々な低分子化合物を投与した際の、本法によるイメージング結果を提示した。

審査の過程において委員からは、タンパク結合率と化合物の構造との関係性、安定したイオン化を得て分解能や定量性を向上させるためにとりうる手法、実際の臓器を用いて測定する場合の分解能の限界と感度との関係性、試料の適切な採取・保存の方法、抗体薬を対象とした場合の感度や分解能、定量法などについて質問がなされ、申請者からは概ね満足できる回答と考察がなされた。

本研究は、申請者らが開発した MALDI-MS を用いた pharmaco-imaging 法が様々な臨床応用の可能性を帯びていること、また質量分析を他のモダリティと統合することによってさらに病態解明や薬効評価につながられることを示したという点で、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 臨床病態解析学担当教授

林 善治