

# 主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㊦ 第 号	氏 名	杉 木 咲 乃
<p>主 論 文 題 名</p> <p>Microscopic imaging mass spectrometry assisted by on-tissue chemical derivatization for visualizing multiple amino acids in human colon cancer xenografts (アミノ基誘導体化試薬を利用した質量顕微鏡イメージングによるヒト大腸がん肝転移モデルにおけるアミノ酸分布の可視化)</p>			
<p>(内容の要旨)</p> <p>近年、がん細胞はその成長にアミノ酸を巧みに利用していることが報告されているが、生体内の腫瘍および周辺組織のアミノ酸分布や利用に関する報告は少ない。腫瘍組織のアミノ酸分布を可視化し、腫瘍内外のアミノ酸代謝状態を理解することは、新たな治療標的を発見するうえで重要である。Matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI)-mass spectrometry (MS)による分子イメージング法とcapillary electrophoresis (CE)-MSによる網羅的代謝物定量法を組み合わせることにより、組織切片において種々の低分子代謝物の分布を半定量的に可視化することが可能となった。しかしながらアミノ酸は、イオン化効率が低いことから、画像として検出することが困難であった。そこで本研究では、MALDI-MSを用いたアミノ酸イメージング技術を開発し、ヒト大腸がん肝転移モデルにおける、アミノ酸の空間分布情報を取得することを目的とした。</p> <p>アミノ基誘導体化試薬<i>p</i>-<i>N,N,N</i>-trimethylammonioanilyl <i>N'</i>-hydroxysuccinimidyl carbamate iodide (TAHS)を利用して、組織内の遊離アミノ酸を組織切片上で誘導体化する方法を検討した。その結果、5 <math>\mu\text{m}</math>の肝凍結組織切片に、アセトニトリルに溶解した5 mg/ml TAHSを組織1 <math>\text{cm}^2</math>あたり50 <math>\mu\text{l}</math>程度噴霧することにより、内在性の遊離アミノ酸が10~60%誘導体化され、MALDI-MSで複数のアミノ酸を同時に検出できるようになることが分かった。次に、16週齢のNOD/scid/<math>\gamma^{\text{null}}</math> (NOG) マウスにヒト大腸がん細胞HCT116を脾臓より移植して肝転移モデルを作成し、肝組織のアミノ酸イメージングを実施した。また、イメージングに利用した組織の隣接組織のアミノ酸濃度をCE/MSにて定量し、担がん組織の半定量的アミノ酸空間分布情報を取得した。</p> <p>ヒト大腸がん肝転移モデルでは、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ロイシン/イソロイシン/ヒドロキシプロリン、フェニルアラニンの腫瘍部の濃度が、非がん部あるいは正常肝に比べて有意に高いことが分かった。また半定量的イメージングの結果、グルタミン酸、グリシン、ロイシン/イソロイシン/ヒドロキシプロリン、フェニルアラニン、アスパラギン酸、アラニンは正常肝に比べ担がん組織の非がん部の濃度が有意に高いことが分かった。この結果から、腫瘍部のみならず、腫瘍の周辺組織にも代謝変動が起こっている可能性が示唆された。したがって本手法は、腫瘍と宿主との代謝的相互作用を解明するうえで有用な技術であり、本技術を利用してがん代謝研究を推進することによって、代謝システムを標的とした新たながん治療戦略の構築が可能となると考えられた。</p>			