

招待講演

S-1 質量分析による拡大新生児スクリーニングの現状

石毛 信之

公益財団法人東京都予防医学協会 小児スクリーニング科

わが国における新生児マススクリーニングは自治体の公衆衛生事業であり検査費用は実施主体の自治体が負担している。従来から主に有機酸代謝異常症の化学診断法として必須の検査とされてきたガスクロマトグラフィー/質量分析法に加え、2014年以降はアミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症の検査において全国的でタンデム質量分析計（タンデムマス）の使用が開始され、患児で著明に上昇または低下する代謝物の測定を行ってきた。出生病院から郵送された新生児の乾燥ろ紙血液（ろ紙血）の一次検査ではタンデムマスの流路に分離カラムを使用しない flow injection 法が採用されているが、一次検査で異常値を呈した例の二次検査（同一検体を使用した精度・診断確度がより高い検査）やスクリーニング陽性例の診断支援ならびに患児の経過観察の検査でも使用され、その場合は分離カラムを装着した LC/MS/MS 法で検査が実施されている。

近年、従来は診断・治療が困難であった疾患に対する有効な治療法が開発されてきている。

これらの疾患はより早期の診断ならびに治療開始による治療成績の向上が判明したため、無症状のうちの新生児スクリーニング実施が期待されてきた。これらの新規対象疾患の検査を「拡大新生児スクリーニング」(ENBS) 検査と呼び、現在、全国 30 以上の都道府県で実施されるようになった。しかしながらほとんどの地域では検査希望者が検査費用を負担する有償検査であるため、公費化が望まれている。ENBS における質量分析計の役割はライソゾーム病 (LSDs) と呼ばれる疾患群の責任酵素の酵素活性値測定にある。本検査ではろ紙血の小片に対象酵素の人工基質を緩衝液とともに添加して一定時間酵素反応した後、生じる生成物を LC/MS/MS 法で測定し活性値を算出する。一般的には一度に 4~5 疾患の LSDs のスクリーニングを行っているが、一度に 11 疾患の LSDs のスクリーニングを行うという研究報告もある。LSDs の酵素活性測定には、LC/MS/MS 法以外にも蛍光基質を使用した蛍光検出法もあり、どちらも有用な検査法なので検査施設の状況、対象疾患数等によって選択が可能である。今回は LC/MS/MS 法を使用した LSDs の酵素活性測定法の紹介と実際の検査成績について共有したい。

S-2 質量分析による先天性胆汁酸代謝異常症の診断実態

武井 一

¹順伸クリニック胆汁酸研究所 ²昭和大学医学部法医学教室

胆汁酸は、生体内において肝臓でコレステロールから合成される。肝臓で産生された胆汁酸は、グリシンまたはタウリンと抱合すると BSEP (bile salt export pump) によって毛細胆管に排泄され、胆嚢内に蓄えられる。胆嚢内胆汁酸は食事摂取の刺激により他の胆汁成分とともに小腸へ分泌され、脂肪消化物や脂溶性ビタミンなどの脂溶性化合物とミセルを形成して吸収を促進させる。最近では、FXR, VDR, TGR5 などの受容体を刺激して、脂質や糖などの生理的プロセスに関与することも知られている。

コレステロールから胆汁酸への 17 の合成酵素のいずれかが欠損すると先天性胆汁酸代謝異常症と診断される。本疾患では脂溶性ビタミンなどの吸収障害が起こるほか、肝臓内に増加した胆汁酸合成の中間代謝物によって肝機能障害が引き起こされ、重篤な場合は死にいたる。中間代謝物は特異なスペクトルを持つことから、LC/MS による診断は容易である。LC/MS による診断の実際と診断成績、そして治療効果を紹介する。

S-3 質量分析による先天代謝異常症の診断現状と今後の展望

張 春花

ミルスインターナショナル

先天代謝異常症は遺伝子の病原性変異による酵素蛋白の異常を生じ、代謝バランスが崩れる病態の総称である。現在1000種類以上報告されている。古くからGCMSを用いた尿中有機酸分析より有機酸血症と名付ける先天代謝異常症の発見と診断に大きく貢献してきた。その後のLCMSMSによるろ紙血中のアミノ酸とアシルカルニチンの分析でワールドワイドな先天代謝異常症の新生児スクリーニングが実現できた。近年臨床検査としての質量分析法の先天性代謝異常症検査と特殊遺伝子検査の保険適応に伴い、ゲノム解析に合わせて幅広いメタボローム解析は先天代謝異常症の臨床診断に求められてきた。そのための質量分析のルーチン検査と臨床ニーズに合わせの多様化の分析メソッドの構築でプレシジョン・メディシンに適応できる質量分析臨床検査Precision Mass Spectrometry testingへの取込みと実用が新しいステージへ変化した。本発表はGCMSとLCMSMSの組み合わせによる多彩な診断経験例にて先天代謝異常症の臨床診断への支援実態と新たなステージへの臨床期待を述べたい。

企業セミナー

医薬品開発における糖鎖の MS 分析

坂本 泉

¹ 株式会社糖鎖工学研究所

² 東北大学大学院医学系研究科・医学専攻 外科病態学講座 泌尿器科学分野

糖鎖は「第三の生命鎖」と呼ばれる。これは、糖鎖が核酸やタンパク質と同様な生体高分子であり、様々な生命現象に関与することによる。そのため、糖鎖を標的とした医薬品開発を中心に、その機能解析は多くの注目を集めている。特にたんぱく質に付加される糖鎖は、重要な機能を持つと考えられているが、その付加は遺伝子によって制御されず、様々な環境によって大きく変動し、さらに構造が多岐にわたるため、正確な分析が困難であることから、核酸やタンパク質に比べ、機能解析の研究が遅れている。まずは正確な構造を解析することが重要であるものの、高分子の分析に多く使用される MS 分析においては、「存在量が少ない」「同一分子量の多型が存在する」「MS 分析途中で脱離分解しやすい」など多くの問題を抱えている。これらの課題に対して、本講演では合成糖鎖標品を活用することで、糖鎖分析を比較的シンプルに実施できることを紹介する。さらに、正確に糖鎖構造をコントロールすることで新しいバイオ医薬品開発に利用できる可能性も紹介したい。

機械学習を用いたGC-TOFMS専用自動構造解析ソフトウェアmsFineAnalysis AIのご紹介

田村 淳

日本電子株式会社

GC-MS 定性分析においては EI マススペクトルデータベース (DB) による検索が極めて有用である。しかし NIST が編纂している最新 EI マススペクトル DB には約 35 万化合物が登録されているのに対して、NIH が管理している化合物 DB (PubChem) には 1 億を超える化合物が登録されており、実在する化合物数と EI マススペクトル DB に登録されている化合物数には大きなギャップがある。マススペクトル DB 未登録の化合物に対しては、EI 法とソフトイオン化法で得た 2 つのマススペクトルを用いた定性解析手法“統合解析”が有用である。精密質量測定が可能な飛行時間質量分析計 (TOFMS) を用いることで、ソフトイオン化法で得られた分子イオンと EI 法で得られたフラグメントイオンの組成推定が可能となり、DB 未登録化合物であっても分子式と部分構造情報を得ることができる。しかし構造推定については解析者自身による考察が必須であり、質量分析や化学に関する多くの知見・経験が必要であった。我々は機械学習による EI マススペクトル予測を組み込んだ網羅的な構造解析手法を開発した。分子式情報と、上記モデルにより得た予測マススペクトルとを組み合わせることで未知物質においても精度高く自動で構造式を推定することが可能となった。本発表では、実試料中の未知物質分析へ適用した事例について報告する。