

2019 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	質量分析を用いたスフィンゴ糖脂質定量解析法の構築 —先天性代謝異常症診断への臨床応用に向けて—
キーワード	①先天性代謝異常疾患、②糖脂質、③メタボローム解析

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	フジワラ ユウコ 藤原 優子	所属等	帝京大学 薬学部 助教
プロフィール	海外での長年の研究生活を終えて、2013 年 10 月より帝京大学薬学部 助教に着任。糖脂質の蓄積症を始めたとした、先天性代謝異常疾患を研究対象とし、病態発生機序の解明を目標とした研究を行っている。		

1. 研究の概要

私たちの体内では、生命維持のために様々な物質が合成および分解されている。生まれつき、遺伝子に変異があり、特定の酵素が欠損していたり、代謝活動が障害され、体内で様々な症状を引き起こす遺伝性の疾患を『先天代謝異常疾患』と呼ぶ。疾患の数としては数百種類があり、これらの疾患の一部には早期の発見と適切な治療により、発症を未然に防ぐことができるものもある。本研究では、リソソームで分解される糖脂質の蓄積症を対象として、高速液体クロマトグラフィーと質量分析計を駆使し、極長鎖脂肪酸を含む糖脂質を測定することにより、病態発生機序の解明を目標とした研究を行う。

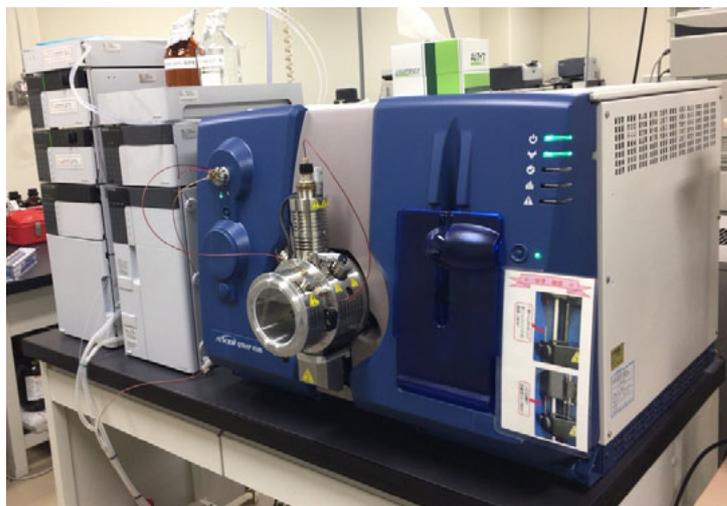
2. 研究の動機、目的

先天代謝異常疾患の多くは、数万～数十万人に 1 人の発生頻度だが早期診断が治療戦略上、極めて重要である。近年、高速液体クロマトグラフィー・質量分析系(LC-MS)を用いた脂質メタボローム解析が注目され、特にリン脂質では細胞応答や疾患における量的変動の解析が盛んであり、LC-MS を用いて分子種レベルでの微量定量や構造決定が行われている。しかしながら、糖脂質の蓄積症を始めたとした、先天性代謝異常疾患では、現在の臨床で用いられるマーカーは限られており、方法は煩雑である。そこで、これらの先天代謝疾患について、スフィンゴ糖脂質の機能を明らかにし、病態発生機序を解明するためには、分子種レベルでの定量的な解析を可能にすることが重要であると考え、LC-MS を用いて、スフィンゴ糖脂質の各分子種を高感度に定量できる網羅的解析系を構築することを目標とした。

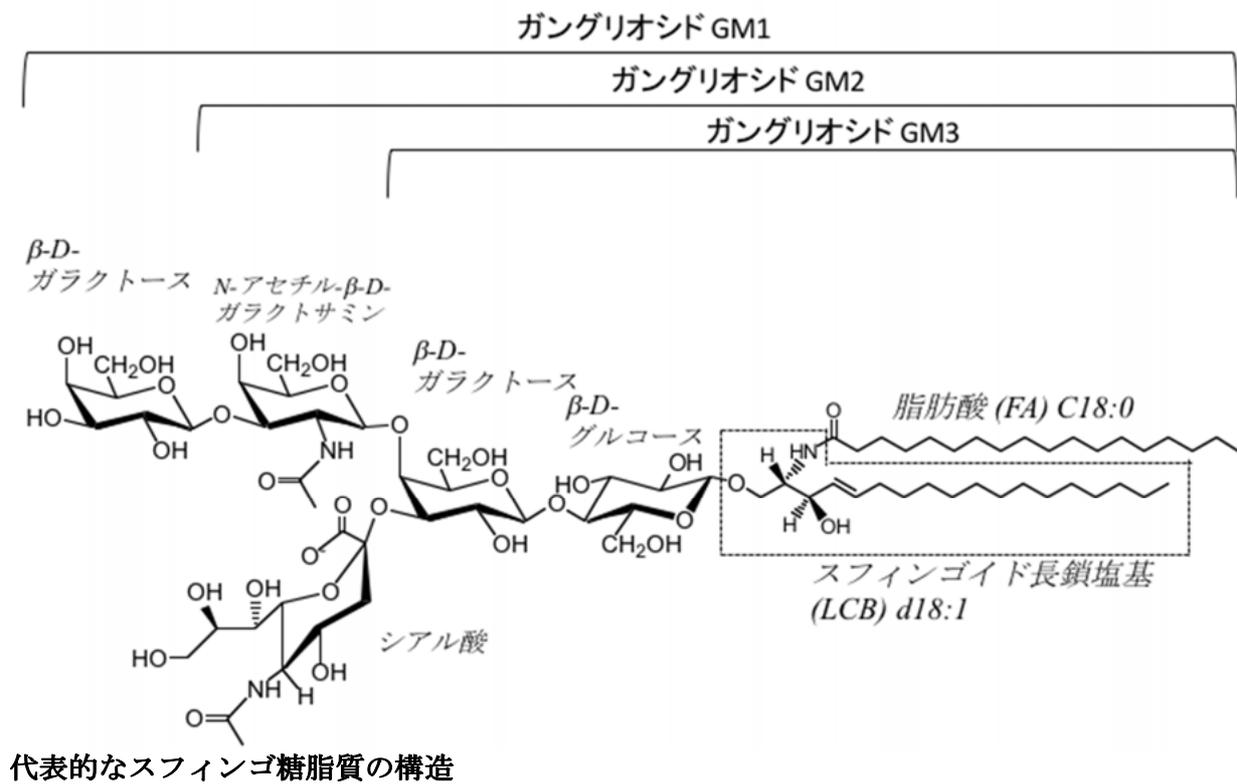
3. 研究の結果

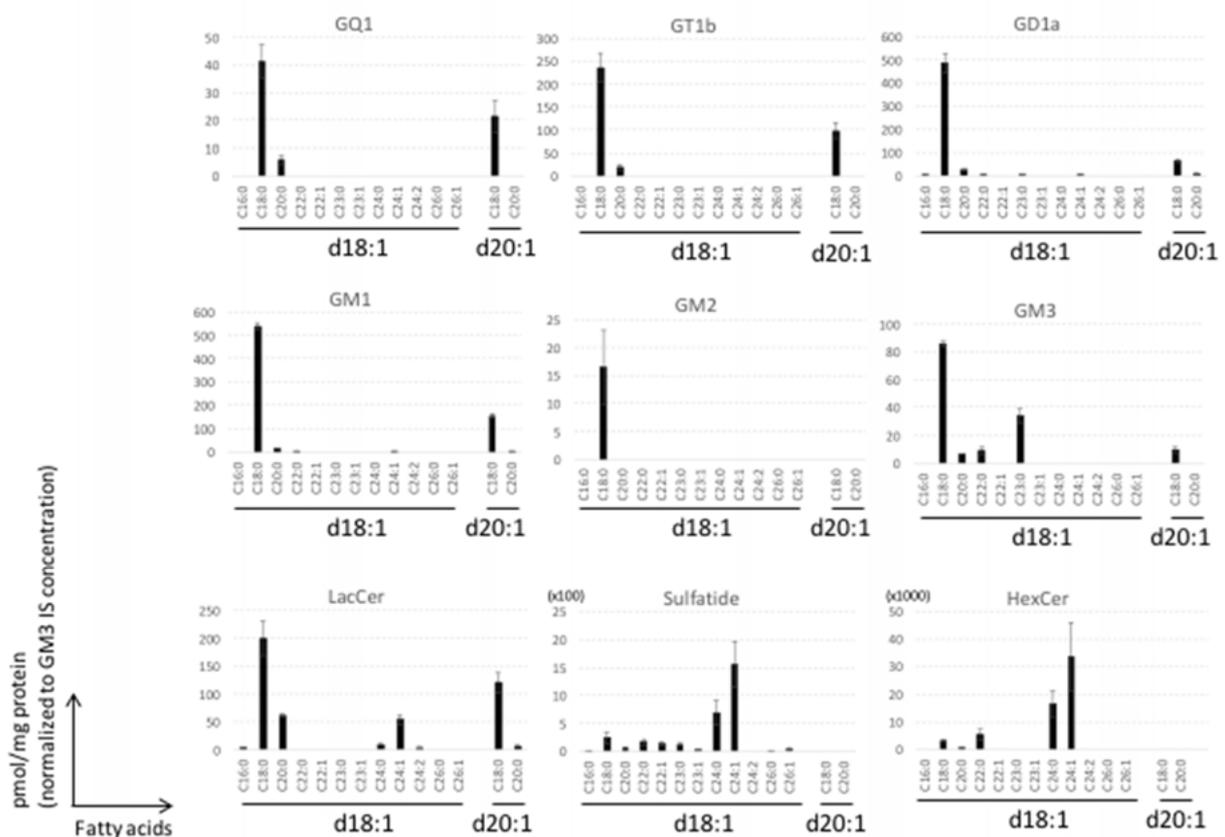
質量分析計全般の解析条件、糖脂質の糖鎖配列の解析条件、カラムによる高速液体クロマトグラフィーの分離条件について実験した結果、これまで一般的に使用されていた疎水性カラムよりも分離の良いキラルカラムを見出し、キラルカラムを使用したスフィンゴ糖脂質の測定系を確立した (Fujiwara et al., Mass spectrometry in combination with a chiral column and multichannel-MRM allows comprehensive analysis of glycosphingolipid molecular species from mouse brain. *Carbohydr Res*, 490:107959, 2020)。また、構築した測定系を用いて、野生型マウス脳におけるスフィンゴ糖脂質の網羅的解析を行い、現在までに中性糖脂質(ヘキソシルセラミド(HexCer)、ラクトシルセラミド(LacCer))、酸性糖脂質(スルファチド)、ガングリオシド(GM3、GM2、GM1、GD1a、GT1b、GQ1)において特徴的な脂肪酸

組成を有することを見出した。



本研究に使用した高速液体クロマトグラフィー (左) NexeraXR (SHIMADZU) 及び、質量分析計 (右) QTRAP 4500 (SCIEX)





マウス脳組織における各種糖脂質の定量解析結果

4. 研究者としてのこれからの展望

今後、各種先天代謝異常疾患患者の血液や線維芽細胞などの臨床サンプルを解析することにより、我が国において難病に指定されているスフィンゴ糖脂質の蓄積を病因とする疾患の治療マーカーや創薬ターゲットの発見に貢献することが目標である。

5. 社会に対するメッセージ

本研究で新しく確立した、高速液体クロマトグラフィーと質量分析計を用いた糖脂質の測定解析方法により、糖脂質の機能を明らかにし、病態発生機序の解明が可能となる。そして将来的には、我が国において難病に指定されている極長鎖脂肪酸を含む糖脂質の蓄積を病因とする先天代謝異常疾患の新規発症前診断バイオマーカー、および治療マーカー、さらには、創薬ターゲットの発見が期待できる。今回頂いた、日本私立学校振興・共済事業団 女性研究者奨励金に感謝し、先天性代謝異常疾患の病態発生機序の解明をさらに進めていきたい。