

AL06 生体機能性分子の高性能分析法の開発と薬学的応用研究  
A Study on Development of High-Performance Analytical Methods for Bioactive Molecules  
and Their Application to Pharmaceutical Sciences

豊岡 利正 (Toshimasa TOYO'OKA)

静岡県立大学薬学部 (School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka)

生体機能を解明するためには、多種多様に混在する生体機能性分子の存在状態や濃度を精密に把握することが重要であり、そのためには高感度・特異的分析のための新規方法論の開発が不可欠と思われる。このような考えに基づき、1) ベンゾフラザン型蛍光誘導体化試薬の開発と応用、2) キラル化合物標識用光学活性試薬の開発と生体機能解明研究への展開、3) 高感度質量分析用誘導体化試薬の開発とキラルメタボロミクスへの展開、4) 非侵襲的試料を用いたメタボローム解析と疾病バイオマーカー探索への展開、等の研究を推進してきた。本講演では、このうち、3)と4)を中心に概説する。

近年、質量分析計が高性能かつ比較的安価になってきたことから、バイオアナリシス研究に盛んに使われてきている。しかし、カルボキシル化合物のように負にイオン化するものに対しては、必ずしも高感度分析ができないものもあり、誘導体化等の工夫が必要となる。しかし、質量分析に特化した標識試薬や光学異性体分離検出のための試薬開発はほとんど行われていない。そこで、高感度化を目的に正にイオン化した構造や定性に適した臭素を導入した試薬等を開発した。さらに光学異性体検出用の試薬開発では、高感度化に加えて、異性体を認識する部位とSRM測定のため、誘導体が選択的に開裂する部位を導入した。これらの試薬を利用することにより、光学異性体をアトモレベルで分離検出することが可能となった。

メタボローム解析に基づく疾病マーカーの探索研究が行なわれているが、光学異性体の代謝物を考慮した網羅的な探索は分離の困難さゆえに、これまで検討されてこなかった。これを解決する方法として光学異性体反転試薬を併用した方法を提案した。反転試薬を用いることによって、光学異性体分子では、立体構造の異なるジアステレオマーとなるため、クロマトグラム上溶出位置が反転し異なる化合物として認識され、光学異性体のマーカー分子として見つけだすことができる。一例としては、唾液中のカルボキシル化合物の測定を行ったところ、糖尿病患者では、D-乳酸がL-乳酸に比較し異常に高いことを明らかにした。通常この種の測定を行う際には、D-体、L-体の濃度を検量線からそれぞれ測定して比を求めることになるが、試料により内在成分や妨害化合物が異なるため、正確な測定できない場合が生じる。それを回避するため、安定同位体試薬と併用する方法を開発した。この方法では、異なる試料を構造が同一の同位体試薬で別々に標識したのち混合し測定を行うことから、マトリックスの影響を相殺でき、一度の測定で、D/L比を容易に測定できた。

非侵襲的試料の唾液、爪、毛髪を用いた代謝研究やメタボロミクス研究も10年以上前から手掛けている。これらの試料にも、血液や尿等と同様に様々な代謝物が含まれていることを、これまでの研究で明らかにしてきた。例えば、乳癌患者と健康者唾液の12種のポリアミン類の比較解析から、数種のポリアミン類が乳癌に強く関与していることを見出した。更に導き出した判別式の数値から進行度を予測できることが明らかとなり、乳癌の早期診断につながるものと期待している。ここでは唾液の例を示したが、毛髪や爪でも疾病に関連するバイオマーカーが見いだされており、今後これらの非侵襲的試料は、様々な分野で利用できるものと考えられる。

これらの研究成果は、研究室の歴代のスタッフや多くの学生・院生諸氏をはじめ、多くの共同研究者の多大な努力とご支援、ご協力の基に得られたものであり、この場をお借りしてお礼申し上げます。