

タッピングモード走査型プローブエレクトロスプレーイオン化法を用いたヒト心臓疾患組織の質量分析イメージング

Mass Spectrometry Imaging of Human Heart Disease Tissue by Tapping-Mode Scanning Probe Electrospray Ionization

阪大院理¹, 阪大 FRC², 阪大院工³, 阪大院医⁴ ○大塚 洋一^{1,2}, 新聞秀一³, 木岡秀隆⁴, 大谷朋仁⁴, 坂田泰史⁴

Osaka Univ., ○Yoichi Otsuka, Shuichi Shimma, Hidetaka Kioka, Tomohito Ohtani, Yasushi Sakata

E-mail: otsuka@phys.sci.osaka-u.ac.jp

生物の構造的・機能的な最小単位である細胞は、恒常性を維持するための多種多様な分子を含む。細胞膜の構成要素でもある脂質は、生命活動において重要な役割を果たす。多様な分子構造を有する脂質・代謝物の、生体組織中の分布とその機能は未解明な点が多い。これらの分布情報を計測し、疾患状態を表現する特徴量を抽出し、生化学的・医学的意義を理解するアプローチは、細胞恒常性の変容、破綻機構を追求するうえで重要となる。

質量分析イメージング (MSI, mass spectrometry imaging) は、一度の計測で複数の分子の試料内分布を可視化でき、疾患組織の細胞変容を可視化する場合に有効である。我々はこれまでに、極微量の溶媒を用いて、生体組織の局所領域を抽出・イオン化する、タッピングモード走査型プローブエレクトロスプレーイオン化法 (t-SPESI, tapping-mode scanning probe electrospray ionization) の要素技術の開発と生体組織の MSI を報告した。t-SPESI は、生体組織の前処理を施すことなく、MSI を実施できる。

本研究では、t-SPESI 計測システムを用いて、難病疾患であるヒト拡張型心筋症 (DCM, dilated cardiomyopathy) の患者から提供された心臓組織の MSI を実施した。DCM は、心臓左室の収縮低下と左室内腔の拡張を特徴とする難病であり、本邦の心臓移植の原疾患として最も多い。一方で、DCM の診断は除外診断であり、分子病態の詳細は明らかではない。心筋細胞の健康状態を、化学情報に基づいて詳細に判別することができれば、心筋症の病理診断や治療法の研究開発への新たな情報の提供に繋がることが期待される。

t-SPESI による MSI では、クライオミクロトームで心臓組織の切片 (厚さ 10 μ m) を作製し、スライドガラスに乗せ、そのまま使用した (大阪大学研究倫理委員会承認番号 T10081)。抽出とイオン化のための溶媒として DMF/MeOH 混合溶媒 (1/1 v/v) を用いた。四重極・飛行時間型質量分析装置 (LCMS-9030、島津製作所) に接続された、t-SPESI 計測システム¹⁾を用いて、正イオンモード、および負イオンモードの計測を実施した。MSI で得られるイオン像のピクセル間距離が 25 μ m となるように、プローブの走査速度と、質量分析装置のデータ積算時間を設定した。イメージングデータの解析では、IMAGEREVEAL (島津製作所) と LIPID MAPS データベースを用いた。MSI を実施した組織切片をヘマトキシリン・エオシン (H/E) 染色を施し、イオン像との比較を行った。

正イオンモードの MSI の結果、線維化領域に局在する脂質 (図 1b)、心筋に広く分布する脂質 (図 1c) が可視化された。興味深いことに、H/E 染色組織において一見正常に見える線維化周囲の心筋細胞 (図 1a) において、アシルカルニチンと推定された脂質群のイオン信号強度が著明に低下することを見いだした (図 1d)。アシルカルニチンは、ミトコンドリア内の ATP 産生において、脂肪酸代謝のためのアシル CoA を供給する役割を担う。本結果は、線維化領域周辺における、心筋細胞のミトコンドリア代謝機能の局所的な減弱領域を可視化できる可能性が想定された。

参考文献

- 1) Y. Otsuka, et al., *Analyst*, **148**, 1275-1284 (2023).

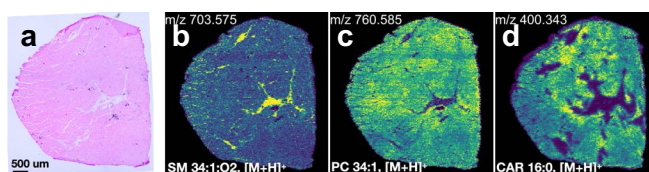


Fig.1. Representative ion images of myocardial tissue from patients with dilated cardiomyopathy.