

2012年度日本質量分析学会

学会賞

和田芳直氏 [大阪府立母子保健総合医療センター, 医学博士]

〔業績〕 分子病の質量分析に関する先駆的研究



和田芳直氏の質量分析に関する学術研究業績は以下の三つにまとめられる。それぞれが行われた研究時期と成果を以下に記載し、学会賞の顕彰記事とする。

1. 構造変異タンパク質の質量分析 (1980–1992)：大阪大学教養部・松田，松尾，交久瀬，桜井ら MS装置グループと共同で、質量分析による構造変異タンパク質の一次構造解析を世界で初めて行い、その方法論を確立した。
2. 遺伝子の質量分析 (1995–1999)：質量分析による一塩基置換検出を世界で初めて報告した。
3. 糖タンパク質・糖ペプチドの質量分析 (1992–現在)：糖タンパク質を試料とする質量分析によって糖鎖修飾異常疾患解析を世界で初めて行った。その後、プロテオーム時代に適した分析法としての糖ペプチドの質量分析を推進した。

・構造変異タンパク質の質量分析 (1980–1992)

「分子病 molecular disease」は、Linus Pauling が筆頭著者とする原著論文“Sickle Cell Anemia, A Molecular Disease,” *Science*, **110**, 543–548 (1949) に初めて登場する。Linus Pauling らはこの論文の中で sickle cell anemia (鎌状赤血球貧血症) の原因が血色素分子 (hemoglobin) の構造異変であり、健常者血色素と患者血色素は電気泳動パターン (移動度) によって区別できること、すなわち「診断」できることを発表した。冒頭の和田氏の研究業績1は、この電気泳動パターンという「アナログデータ」による解析「診断」を、質量という「デジタルデータ」に置き換えた点が新しい。そして、和田氏のその後の研究は、質量分析による分子病の診断という一点をひたすら追い求めた。

分子病に関連する構造変異タンパク質の解析に関する和田氏の業績は国際的に認知されている。例えば、臨床化学をリードする雑誌 *Clinical Chemistry* におけるチューリヒ大学の P. Keiner らの総説 “Mass Spectrometry: A Tool for Enhanced Detection of Hemoglobin Variants,” *Clin. Chem.*, **54**(1), 69–76 (2008) では、まず Linus Pauling の業績が、“...the pioneering study of Linus Pauling in 1949, in which the different electrophoretic mobilities of sickle cell anemia Hb and normal Hb were described, ...” と記載され、次いで、クロマトグラフィーによる分析の歴史の1段落の後、主題である質量分析の段落が次のように開始されている。“During the last 3 decades, mass spectrometry (MS), a technique that is widely used in clinical chemistry, laboratory medicine, and research, found its way into the field of Hb analysis. In 1981, Wada *et al.* (ref) pioneered the analysis of tryptic peptides of Hb by MS.” この記述で引用されている論文は *Biochim. Biophys. Acta*, **667**, 233–241 (1981) である。この原著論文は、構造既知試料を例に電界脱離 (FD) MS でペプチドマスマッピングを行う手法を述べたものである。この FDMS による手法を和田氏は、構造未知であったいわゆる“フィンランド他血症家系血色素”の解析に適用できることを初めて証明し、その成果を国際質量分析会議 IMSC (Vienna, 1982) で発表した。当時、この血色素は、血色素構造解析のメッカであったケンブリッジ大 (UK) とオークランド大 (NZ) でも解析できなかった経緯をもつ。したがって、MS を使った和田氏のこの成功を記載した論文 *Int. J. Mass. Spectrom. Ion. Phys.*, **48**, 209–212 (1983) の中の Fig. 3 は、歴史的な意義を有していると考えられる。1980年代半ばには、この酵素消化ペプチドに関する構造解析戦略を確立し、その後のイオン化法の発展に伴い基盤的な方法として現在も使われている。当然ながら、和田氏は血色素以外のタンパク質にもこの手法を応用し、例えば、amyloid polyneuropathy の原因である transthyretin の構造異変解析を世界に先駆けて行って次の論文で発表している *Biochim. Biophys. Acta*, **873**, 316–319 (1986)。

・遺伝子の質量分析 (1995–1999)

1990年代に入り、タンパク質の一次構造解析は遺伝子解析が主流となったことを受け、和田氏は DNA の MS 解析に取り組んだ。一塩基置換の同定 [*Rapid Commun. Mass. Spectrom.*, **11**, 1657–1660 (1997)]、および神経疾患に多く見られる3塩基反復伸長の反復数の決定 [*J. Mass Spectrom.*, **34**, 885–888 (1999)] を和田氏が世界に先駆けて行ったことは特筆すべき成果といえる。

・糖タンパク質・糖ペプチドの質量分析 (1992–現在)

1991年に和田氏は糖鎖の合成障害疾患をもった患者に出会い、ようやく普及し始めたばかりの ESI MS を用いてトラン

スフェリン (80 kDa) を測定し、糖鎖欠損の存在を証明した [*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **189**, 832–836 (1992)]. これは本疾患 Congenital Disorders of Glycosylation (CDG) の原因が小胞体における糖鎖付加段階にあることを示したもので、CDG 研究史のターニングポイントとして、代謝異常症に関する代表的教科書 “The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease” 8 ed. に引用記載されている。質量分析的な視点からは、質量分析によってタンパク質の翻訳後修飾異常を同定したおそらく世界最初の例として特筆すべき成果である。現在、ポストゲノム研究では翻訳後修飾解析が重視されていることから、この研究の評価は特に高い。

和田氏の最近10年間の取り組みは糖鎖解析に集中しているが、従来の糖鎖の質量分析とはアプローチが異なり、プロテオミクスの視点で糖鎖解析を行う点に特徴がある。すなわち、タンパク質の一部配列を保有した分子である糖ペプチドを試料とすることに着目し、タンパク質を酵素消化して得られるペプチド混合物から糖ペプチドを選択的に濃縮する方法を開発 [*Anal. Chem.*, **76**, 6560–6565 (2004)] するなど、一般的には敬遠されがちな糖鎖解析を身近なものにすることも貢献している。また、マスペクトルによる糖鎖定量 (相対定量または糖鎖プロファイリング) が、ともすれば標準的な従来法であるクロマトグラフィーに比べて劣ると考えられ、MSは「半定量法 semi-quantitation」と呼ばれていた状況に対し、ヒトプロテオーム機構 (HUPO) イニシアティブの活動として行った国際多施設共同研究において、MSがクロマトグラフィーに比して遜色のない「定量法」であることを証明した。著者数が30名に及ぶこの多施設共同研究は質量分析学の地位向上に貢献するものであり、その成果論文2編は、いずれも和田氏が筆頭著者としてまとめており [*Glycobiology*, **17**, 411–422 (2007); *Mol. Cell. Proteomics*, **9**, 719–727 (2011)] この分野の牽引役であることを証明している。以上、糖ペプチドに関する和田氏の業績は「糖ペプチドの糖鎖解析法の開発とその臨床プロテオミクスへの応用」と題して、日本プロテオーム学会より学会賞 (2011) を授与されている。このような他学会による顕彰は、本来、他分野に広がるべき質量分析に対する和田氏の貢献の高さを示すものである。

さらに *Analytical Chemistry* 誌に複数の論文を発表したイオン化技術に関する業績や、IMSC 招致、アジアオセアニア連携会議 (AOMSC) 機構などの国際的な学会活動としての貢献も多々あるが、とりわけ先駆的研究の価値の高い「分子病の質量分析」を研究主題とした氏の業績を高く評価し、日本質量分析学会賞に値するものとして決定した。

授賞対象業績リスト

- 1) 和田芳直, “タンパク質の精密質量決定の生物学的意義”, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **46**(5), 429–432 (1998).
- 2) T. Matsuo, H. Matsuda, I. Katakuse, Y. Wada, and A. Hayashi, “Field desorption mass spectra of human hemoglobin β chain digested by thermolysin and staphylococcal protease”, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **30**(3), 257–263 (1982).
- 3) T. Nakano and Y. Wada, “Hemoglobin Tokyo II [α 89(FG1) His \rightarrow Asn]: A new hemoglobin variant characterized by endoproteinase Asp-N digestion and collision-induced dissociation”, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **48**(5), 341–345 (2000).
- 4) 和田芳直, “プロテオーム基本技術—インゲル消化法—”, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **49**(6), 241–243 (2001).
- 5) R. Kaneko and Y. Wada, “Mass spectrometric features of S-nitrosylated peptides”, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **50**(5), 223–225 (2002).
- 6) 和田芳直, “MSによるゲノム解析の基礎”, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **51**(2), 368–373 (2003).
- 7) Y. Wada, A. Hayashi, T. Fujita, T. Matsuo, I. Katakuse, and H. Matsuda, “Structural analysis of human hemoglobin variants with field desorption mass spectrometry”, *Biochim. Biophys. Acta*, **667**, 233–241 (1981).
- 8) Y. Wada, A. Hayashi, T. Fujita, T. Matsuo, I. Katakuse, and H. Matsuda, “Structural analysis of human hemoglobin variants by mass spectrometry”, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **48**, 209–212 (1983).
- 9) Y. Wada, A. Hayashi, F. Masanori, I. Katakuse, T. Ichihara, H. Nakabushi, T. Matsuo, T. Sakurai, and H. Matsuda, “Characterization of a new fetal hemoglobin variant, Hb F Izumi A gamma 6Glu replaced by Gly, by molecular secondary ion mass spectrometry”, *Biochim. Biophys. Acta*, **749**, 244–248 (1983).
- 10) Y. Wada, A. Hayashi, I. Katakuse, T. Matsuo, and H. Matsuda, “Application of glycinamidation to the peptide mapping using secondary ion mass spectrometry”, *Biomed. Mass Spectrom.*, **12**, 122–126 (1985).
- 11) Y. Wada, T. Matsuo, I. Katakuse, T. Suzuki, T. Azuma, S. Tsujino, S. Kishimoto, H. Matsuda, and A. Hayashi, “Mass spectrometric detection of the plasma prealbumin (transthyretin) variant associated with familial amyloidotic polyneuropathy”, *Biochim. Biophys. Acta*, **873**, 316–319 (1986).
- 12) Y. Wada, T. Fujita, K. Kidoguchi, and A. Hayashi, “Fetal hemoglobin variants in 80,000 Japanese neonates: High prevalence of Hb F Yamaguchi (A gamma T 80 Asp ... Asn)”, *Hum. Genet.*, **72**, 196–202 (1986).
- 13) Y. Wada, T. Matsuo, I. A. Papayannopoulos, C. E. Costello, and K. Biemann, “Fast atom bombardment and tandem mass spectrometry for the characterization of hemoglobin variants including a new variant”, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.*, **122**, 219–229 (1992).

- 14) Y. Wada, "Mass spectrometry in the integrated strategy for the structural analysis of protein variants," *Biol. Mass Spectrom.*, **21**, 617–624 (1992).
- 15) Y. Wada, J. Tamura, B. D. Musselman, D. B. Kassel, T. Sakurai, and T. Matsuo, "Electrospray ionization mass spectra of hemoglobin and transferrin by a magnetic sector mass spectrometer: Comparison with theoretical isotopic distributions," *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **6**, 9–13 (1992).
- 16) Y. Wada, A. Nishikawa, N. Okamoto, K. Inui, H. Tsukamoto, S. Okada, and N. Taniguchi, "Structure of serum transferrin in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **189**, 832–836 (1992).
- 17) Y. Wada, J. Gu, N. Okamoto, and K. Inui, "Diagnosis of carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome by matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry," *Biol. Mass Spectrom.*, **23**, 108–109 (1994).
- 18) Y. Wada, "Molecular mass tagging to one strand of polymerase chain reaction products," *J. Mass Spectrom.*, **32**, 124–125 (1997).
- 19) Y. Wada and M. Yamamoto, "Detection of single-nucleotide mutations including substitutions and deletions by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry," *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 1657–1660 (1997).
- 20) Y. Wada, "Separate analysis of complementary strands of restriction enzyme-digested DNA: An application of restriction fragment mass mapping by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry," *J. Mass Spectrom.*, **33**, 187–192 (1998).
- 21) Y. Wada, K. Mitsumori, T. Terachi, and O. Ogawa, "Measurement of polymorphic trinucleotide repeats in the androgen receptor gene by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry," *J. Mass Spectrom.*, **34**, 885–888 (1999).
- 22) Y. Wada, M. Tajiri, and S. Yoshida, "Hydrophilic affinity isolation and MALDI multiple-stage tandem mass spectrometry of glycopeptides for glycoproteomics," *Anal. Chem.*, **76**, 6560–6565 (2004).
- 23) Y. Wada, "Mass spectrometry for congenital disorders of glycosylation, CDG," *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **838**, 3–8 (2006).
- 24) Y. Wada, P. Azadi, C. E. Costello, A. Dell, *et al.*, "Comparison of the methods for profiling glycoprotein glycans — HUPO Human Disease Glycomics/Proteome Initiative multi-institutional study," *Glycobiology*, **17**, 411–422 (2007).
- 25) Y. Wada, M. Tajiri, and S. Ohshima, "Quantitation of saccharide compositions of O-glycans by mass spectrometry of glycopeptides and its application to rheumatoid arthritis," *J. Proteome Res.*, **9**, 1367–1373 (2010).
- 26) Y. Wada, A. Dell, *et al.*, "Comparison of methods for profiling O-glycosylation: Human Proteome Organisation Human Disease Glycomics/Proteome Initiative multi-institutional study of IgA1," *Mol. Cell Proteomics*, **9**, 719–727 (2011).