

奨 励 賞

中西豊文氏 (大阪医科大学病態検査学, 医学博士)



〔業績〕 MS による疾患関連変異タンパク質の構造解析と疾患診断への応用

中西豊文氏は、大阪薬科大学卒業後、1985年より国立大阪病院(GCMS)、1992年より大阪医科大学(LCMS)において質量分析の臨床医学研究への応用を実践してきた。特に、大阪医科大学では、ソフトイオン化質量分析法(LC-ESIMS, MALDI-TOFMS)を用いて疾患関連変異タンパク質を検出・同定・定量し、病気の確定診断法を確立した。同氏は今やMSを用いた臨床医学研究に関して、わが国の中心的存在の一人である。今回の受賞対象となった業績は次の2点に集約される。

- (1) 免疫沈降およびタンデムLCESIMSによる疾患関連構造異常タンパク質の検出
- (2) 翻訳後修飾を含む構造異常タンパク質の検出・同定・定量法の確立と臨床診断学への応用

(1) 免疫沈降およびタンデムLCESIMSによる疾患関連構造異常タンパク質の検出

免疫沈降法を用いて生体試料より目的タンパク質を分離精製し、得られた沈降物を直接MALDI/TOFMSあるいはオンラインLC/ESIMSにて分析すると、目的蛋白と特異抗体は解離し、S/N比の良好なMSスペクトルが得られることを初めて明らかにした。本方法を糖鎖欠損トランスフェリンおよびアンチトロンビンIIIの検出に応用し、糖鎖欠損糖タンパク質症候群の化学診断法を確立した。さらに、本法を変異トランスサイレチン(TTR: 家族性アミロイドポリニューロパチー)、変異銅/亜鉛結合スーパーオキシドジスムターゼ(SOD1: 家族性筋萎縮性側索硬化症)などの検出・同定に応用した。これまでに、新規変異4種を含む計15種を検出し、上記神経変性疾患の確定診断に寄与した。一方、使用する抗体の認識部位に変異が存在する場合、免疫沈降物が得られない可能性があるため、種類の異なる2種類のカラムを連結したタンデムLCE-SIMSシステムを確立し、微量化・迅速化が達成できた。

(2) 翻訳後修飾を含む構造異常タンパク質の検出・同定・定量法の確立と臨床診断学への応用

1995年10月よりマイクロスプレー法の開発者であるRichard M. Caprioli教授(現バンダービルト大学医)の下に留学し、その手法を修得し、帰国後、異常Hbの検出・同定およびその診断に応用し、新規変異2種を含む23種類の異常Hbを同定した。さらに、現在、同手法をプロテオーム解析に応用し、細胞増殖周期を制御するタンパク質を同定するなど新しい分野も手がけられている。

翻訳後修飾タンパク質の中から重要な代謝過程に関与している可能性のある種々のタンパク質を検出・同定した。その一つ、亜硫酸化TTRは*in vitro*でアミロイド原性を有することを初めて明らかにし、老人性アミロイドーシスとの関連性を示唆する知見を得た。また、本TTRは、長年見落とされていた先天性疾患の一つ、モリブデン補因子欠損症(サルファイトオキシダーゼ欠損)の新しい診断マーカーになりうることを明らかにした。

糖尿病診断検査として糖化Hb(HbA1c)が重要視されている。しかし、現行法(HPLC法, 免疫法)では溶血性貧血, 異常Hb症などでは偽陽性, 偽陰性を示す症例に出くわす。また, 方法間での乖離が大きく誤診, 治療方針を混乱させるなどの理由から世界レベルでHbA1c測定標準化が試みられている。同氏は, いち早くESIMS法によるHbA1c測定法を確立し, 臨床検査法として実用可能であることを証明した。

以上述べたように, 中西氏の免疫沈降およびタンデムLCESIMSによる疾患関連構造異常タンパク質の検出および翻訳後修飾を含む構造異常タンパク質の検出・同定・定量法の確立と臨床診断学への応用に関する研究は, いずれも独創性が高くかつ臨床医学への貢献度は大きい。本研究は今後, 医学研究としてはもちろんのこと実地医療へのさらなる貢献が期待されており, 2000年度日本質量分析学会奨励賞に相応しいと認められた。

主要文献リスト

- 1) T. Nakanishi and A. Shimizu, Ratio of the ion peak intensity of glycated and non-glycated hexapeptides from the N-terminal of hemoglobin β -chain by LC-ESIMS. *Jpn. Soc. Mass Spectrom.*, **247**(2), 389–391 (2000).
- 2) T. Nakanishi, A. Miyazaki, M. Kishikawa, A. Shimizu, O. Kishida, and K. Imai, A new hemoglobin variant found during Hb A1c measurement: Hb Hokusetsu [β 52(D3) Asp \rightarrow Gly]. *Hemoglobin*, **22**(4), 355–371 (1998).
- 3) T. Nakanishi, A. Miyazaki, M. Kishikawa, A. Shimizu, Y. Aoki, and M. Kikuchi, Hb Sagami [β 139 (H17) Asn \rightarrow Thr], a new variant hemoglobin, not detected by isoelectrofocusing and propan-2-ol test, was detected by electrospray ionization mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, **33**(6), 565–569 (1998).
- 4) T. Nakanishi, M. Kishikawa, A. Miyazaki, A. Shimizu, Y. Ogawa, S. Sakoda, N. Ohi, and H. Shoji, Simple and defined method to detect the SOD-1 mutants from patients with familial amyotrophic lateral sclerosis by mass spectrometry. *J. Neurosci. Methods*, **81**(1), 41–44 (1998).
- 5) T. Nakanishi, A. Miyazaki, M. Kishikawa, A. Shimizu, and Y. Aoki, Hb Peterborough [β 111(GH13) Val \rightarrow Phe], in a Japanese female, rapid identification by ESI/MS/MS using proteolytic digests of oxidized globin. *Hemoglobin*, **22**(1), 23–35 (1998).
- 6) T. Nakanishi, A. Miyazaki, M. Kishikawa, and A. Shimizu, Quantification of glycated hemoglobin by electrospray ionization mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, **32**(7), 773–778 (1997).
- 7) 中西豊文, 岸川匡彦, 宮崎彩子, 清水 章, 質量分析による変異蛋白質の迅速検出と臨床検査への応用. *質量分析*, **44**(3), 431–441 (1996).
- 8) T. Nakanishi, A. Miyazaki, M. Kishikawa, A. Shimizu, and T. Yonezawa, ESI-MS/MS analysis of peptides derived by enzymatic digestion of oxidized globin chain, an improved method to detect substitution in the hemoglobin “core”. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **7**(10), 1040–1049 (1996).
- 9) T. Nakanishi, M. Kishikawa, A. Shimizu, A. Hayashi, and F. Inoue, Assignment of the ions in the ESI-MS spectra of tryptic digest of the non-derivatized globin, covering the whole sequence, a rapid diagnosis for hemoglobinopathy. *J. Mass Spectrom.*, **30**(12), 1663–1670 (1995).
- 10) T. Nakanishi, A. Shimizu, N. Okamoto, A. Ingendoh, and M. Kanai, Analysis of serum protein precipitated with antiserum by MALDI/TOF- and ESI-MS as a clinical laboratory test. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **6**(9), 854–859 (1995).
- 11) T. Nakanishi, N. Okamoto, K. Tanaka, and A. Shimizu, Laser desorption time-of-flight mass spectrometric analysis of transferrin precipitated with antiserum: a unique simple method to identify molecular weight variants. *Biolog. Mass Spectrom.*, **23**(4), 230–233 (1994).