

講演番号：3A25p14

講演日時、会場：3月26日 16:36～ A校舎25会場

質量分析イメージング法による緑茶カテキンおよびその代謝物の生体組織内分布情報の非標識可視化

Label-free visualization of green tea catechin and its metabolites in mouse tissue by mass spectrometry imaging

○金 允喜¹、藤村 由紀²、萩原 立春¹、佐々木 雅子¹、行平 大地²、山口 歩²、永尾 達彦²、齋藤 和徳³、三浦 大典²、割石 博之^{1,2,4}、田中 浩士⁵、山田 耕路¹、立花 宏文^{1,2,4,6} (1 九大院農、2 九大レドックスナビ、3 ブルカードルトニクス、4 九大バイオアーク、5 東工大院理工、6 九大食品機能デザイン)

○Yoonhee Kim¹, Yoshinori Fujimura², Takatoki Hagihara¹, Masako Sasaki¹, Daichi Yukihiro², Ayumi Yamaguchi², Tatsuhiko Nagao², Kazunori Saito³, Daisuke Miura², Hiroyuki Wariishi^{1,2,4}, Hiroshi Tanaka⁵, Koji Yamada¹, Hirohumi Tachibana^{1,2,4,6} (1 Kyushu Univ., 2 Kyushu Univ. Redox navi., 3 Bruker Daltonics, 4 Kyushu Univ. Bio-architecture center, 5 Tokyo Institute of Technology, 6 Kyushu Univ. Food functional design research center)

【目的】多彩な生理作用が報告されている緑茶カテキン Epigallocatechin-3-*O*-gallate (EGCG) の詳細な作用機構の解明には、組織内微小領域における EGCG の局在情報が必要不可欠である。しかしながら、現状では、EGCG の組織内微小領域における空間分布情報は明らかにされておらず、これは現状の分子イメージングでは、標識化に基づく時間・コスト・特異性などの問題を抱えていることに起因している。一方、近年生体分子の局所変動を非標識で捉える *in situ* 生体分子マッピング法 (質量分析イメージング) の開発が新たな分子イメージング法として注目されており、我々も本法を独自に最適化することで一連の組織内微量低分子代謝物の時空間動態の一斉可視化に世界に先駆けて成功している (*Anal. Chem.*, 82, 9786, 2010)。そこで本研究では、非標識で低分子化合物を可視化できるマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析イメージング法 (MALDI-MSI) を開発し、これまで追跡不可能であった EGCG の組織内微小領域における分布情報の可視化を試みた。

【方法】MALDI 法における EGCG のイオン化に最適なマトリックス (イオン化助剤) を見出すため、EGCG と一連のマトリックス混合物をサンプルプレートおよびマウス組織切片上にスポットし、MALDI-TOF-MS に供することで最適イオン化条件を検討した。さらに、C57BL/6J マウスに EGCG を経口投与した 1 時間後に肝臓、腎臓、脳を摘出し、LC-MS を用いて各組織中の EGCG レベルを検討した。また、各マウス組織凍結切片を作成、そこに選別されたマトリックスを塗布し、MALDI-MSI に供してイメージング実験を行った。なお、組織上の EGCG およびその代謝物の同定は超高分解能フーリエ変換イオンサイクロトン共鳴質量分析装置にて行った。

【結果】低分子化合物の可視化で汎用されるマトリックス (DHB、CHCA、SA、9-AA) を含む 41 種類の化合物の中で、 β -Carboline 化合物や CHCA 構造類似物ならびに naphthalene 誘導体が EGCG に対する高い検出能 (pmol オーダー) を示した。また、これら候補化合物の中でも naphthalene 誘導体のみがマウス肝臓、腎臓、脳組織切片上に直接スポットした EGCG を可視化した。さらに、本マトリックスを用いることで、EGCG を投与したマウス肝臓と腎臓で EGCG の可視化に成功し、それと同時にマウス肝臓と腎臓で EGCG 代謝物の同時画像化が可能となった。

【結論】EGCG 摂取後 EGCG ならびにその代謝物の生体組織内分布情報を非標識で可視化できる質量分析技術の開発に世界に先駆けて成功した。これにより、実態が不明瞭な標的組織中の EGCG の詳細な作用機構の解明につながるとともに EGCG 以外の様々な食品成分の可視化が期待される。

EGCG, MALDI-MSI, label-free imaging