

**【目的】** 糖類やアミノ酸、有機酸等の内因性代謝物（メタボライト）の網羅的解析手法であるメタボローム解析は、疾患のバイオマーカー探索等、生命科学分野において広く応用されている。しかし、解剖によるサンプリングは必然的に「死」を伴うことから、メタボローム・プロファイルに影響を与える事が問題となっている。また、メタボロームは動的に変化しているため、解剖による定点観測で捉えたプロファイルが、どの程度、病態と真に相関しているのかは定かではない。さらに、前処理操作中に化学的な分解等が生じ、結果に「バイアス」が生じる可能性も示唆されている。

一方、近年、脳疾患や認知症へのメタボローム解析の応用は著しく、特定のメタボライトをバイオマーカーとした病態レベルや病態進行程度の予測が模索されている。しかし、アルツハイマー病において、有効な「病態進行の予測法」が確立されていないのが現状である。

そこで、本研究では、新規イオン化法である探針エレクトロスプレーイオン化法／タンデム質量分析（PESI/MS/MS）を用いて、マウス脳内のリアルタイム・メタボローム解析法の構築を試みる。さらに、アルツハイマー病モデルマウスのメタボローム・プロファイルをリアルタイムで観測し、病態進展が予測可能な新たなバイオマーカーを探索する事を目的とする。

**【方法】** PESI では、イオン化促進のため有機溶媒の供給が必要となるが、有機溶媒交換の有無におけるイオン化の影響について検討するため、解剖により採取した臓器を用いて 30 分間分析を行い、メタボライトの検出強度を比較した。また、本手法を生きたマウスの脳に適用することを試みた。麻酔下のマウスの脳を露出させ、有機溶媒供給用の特殊サンプルカップを固定した後、PESI 用ステージに固定した。ヘパリンを添加した 50%エタノール溶液を特殊サンプルカップに添加し、PESI/MS/MSにてリアルタイム・メタボローム解析を行った。対象化合物は、エネルギー代謝関連物質を中心とした。さらに、構築したメタボローム解析法を用いて、アルツハイマー病モデルマウスへの適用を試みた。

**【結果】** 解剖により採取した臓器を用いて 30 分間の分析を行ったところ、有機溶媒を交換しない場合は、メタボライトの検出強度に大きな変動が認められたのに対し、有機溶媒の交換を行った場合には、30 分間で大きな変動は認められなかった。従って、有機溶媒を交換することで、長時間でも安定的に分析を行うことが可能であると考えられた。また、本手法を用いることで、生きているマウスの脳内リアルタイム・メタボローム解析を最大で 3 時間行うことに成功した。さらに、各メタボライトの微細な変動を捕捉することも可能であり、生きているマウスの脳内メタボロームのリアルタイムな変動を観察することが可能であることが示された。そこで、現在、本手法をアルツハイマー病モデルマウスに適用し、各月齢におけるメタボロームをモニタリングすることで、病態進展が予測可能な新たなバイオマーカーの探索を行っている。

脳内メタボロームのリアルタイム分析のフローとシステム概略図

