

質量分析イメージングと免疫組織化学染色の融合によるマルチオミクスイメージング解析

質量分析イメージング (mass spectrometry imaging, MSI) は、試料に存在する分子をイオン化し、質量分析を通じて分子の空間分布を可視化する技術である。特に、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI) をイオン源に用いた MALDI-MSI では、数十 μm 程度またはそれ以下の空間分解能で生体組織切片中のタンパク質やペプチド、脂質、神経伝達物質、薬物などの分布を可視化できる。MALDI-MSI は腫瘍や神経変性疾患などにおける分子の空間分布を細胞レベルで把握できることから、疾患メカニズムの解明や新規治療法の開発に利用されている。

一般に、MALDI-MSI で測定可能なタンパク質はイオン化効率の制限により分子量が約 30 kDa 程度までである。生体内には 30 kDa 以上の高分子量タンパク質が多数存在しており、生命現象において重要な役割を果たしているため、高分子量タンパク質の測定は極めて重要である。質量分析イメージングによるタンパク質同定には、トリプシンでタンパク質を断片化し、生成されたペプチド断片に対して MS/MS 測定およびデータベースを基にした解析法が用いられている。しかし、この方法では同定できるタンパク質は存在量が豊富なものに限られるといった課題がある。

近年、MALDI-MSI と免疫組織化学染色 (immunohistochemistry, IHC) を組み合わせた MALDI-IHC が開発された。MALDI-IHC では、光開裂性質量タグ (photocleavable mass-tag, PC-MT) を結合させた抗体プローブを用いて免疫組織化学染色を行い、抗体プローブを目的タンパク質に結合させる。その後、組織切片に紫外線を照射して PC-MT を開裂させ、開裂したタグを MALDI-MSI で検出する。この PC-MT は固有の質量を有するため、質量スペクトルの重複を回避することができ、数十種類以上のタンパク質の同時イメージングのようなマルチプレックス解析を可能とする (100 種類程度も可能である)。

先行研究において、Lim らはホルマリン固定パラフィン包埋された乳がん組織切片を対象に、MALDI-IHC を用いて Her2 や CD3, CD20 などの 19 種類のタンパク質を検証している¹⁾。また、同一の組織切片に対する蛍光免疫染色を行うことで、MALDI-IHC の結果の妥当性の評価とともに、マルチモーダルイメージングを報告している。さらに、凍結乳がん組織切片の解析では、PDPN や CD68, Collagen-1A1 などの 11 種類のタンパク質に加えて、脂質に由来する m/z 687.5, 700.5, 788.5, 885.5, 942.8 の可視化も行うことで、マルチオミクス解析も報告している。このように、MALDI-IHC はマルチプレックス・マルチモーダル・マルチオミクス

によるイメージング解析を通じて、生体分子の空間的相関関係の情報を提供し、様々な生化学プロセスを明らかにする技術として期待される。

- 1) M. J. Lim, G. Yagnik, C. Henkel, S. F. Frost, T. Bien, K. J. Rothschild : *Front. Chem.*, **11** (2023). DOI: 10.3389/fchem.2023.1182404.

[同志社大学生命医科学部 山下 修司]

蛍光 X 線分析と情報処理

蛍光 X 線分析法は、試料に X 線を入射し、放出される蛍光 X 線を計測することで未知試料の定性・定量分析を行う手法である。この蛍光 X 線分析を応用した分析方法として、微小部蛍光 X 線分析法や全反射蛍光 X 線分析法などがある。微小部蛍光 X 線分析法では、入射 X 線ビームを 10 μm 程度に微細化して、試料に照射させる。その結果、ある微小領域のみの元素情報を取得することが可能となる。また、試料の走査と蛍光 X 線分析を繰り返すことによって、元素分布像も取得することが可能となる。全反射蛍光 X 線分析も非常にユニークな分析方法のひとつで、X 線を全反射臨界角度以下の角度で入射させ、試料基板上で全反射現象を引き起こす。その結果、試料内部に X 線がほとんど侵入しないので、蛍光 X 線の正味の強度とバックグラウンド強度の比が向上する。それゆえ、シリコンウェハーなどの表面分析に最初は適用され、その後溶液中の微量元素分析に用いられるようになった。このように蛍光 X 線分析法は非常に有用であり、近年では、情報処理技術と組み合わせが注目されている。ここでは、いくつかの適用例に関して紹介させていただきたい。

Vermeulen らの研究グループは、情報処理技術を絵画の微小部分分析に対して適用した¹⁾。微小部蛍光 X 線分析法は、試料の元素分布像を取得するために用いられている。一般的な機械学習では、数万のスペクトルと識別のパターンを用意する必要があるが、彼らは、プログラム言語 Julia を用いて教師データを必要としない辞書学習アルゴリズムを用いた。この技術を 18 世紀のメキシコの絵画に対して適用し、顔料の情報を突き止めることに成功している。例えば、青色のロープにはコバルトを含む顔料であるスマルトが用いられていると紹介している。他にも、Allegretta らのグループは隕石試料を可搬型エネルギー分散蛍光 X 線分析装置で測定した。その測定結果に対して、主成分分析及び機械学習を適用することで、隕石の分類を得ている²⁾。分類のためにいくつかの機械学習アルゴリズム (decision tree (DT) やサポートベクトルマシンなど) が用いられ、DT を用いた分析では 94% の精度が得られ、18 個の試料のうち一つのみが誤分類という結果となった。このように、蛍光 X 線分析法と情報処理技術の融合は進められている。

- 1) M. Vermeulen, A. McGeachy, B. Xu, H. Chopp, A. Katsaggelos, R. Meyers, M. Alfeld, M. Walton : *J. Anal. At. Spectrom.*, **37**, 2130 (2022).
- 2) I. Allegretta, B. Marangoni, P. Manzari, C. Porfido, R. Terzano, O. De Pascale, G. S. Senesi : *Talanta*, **212**, 120785 (2020).

[岐阜大学工学部 松山 嗣史]