

## 質量分析技術を基盤とした動脈硬化性心血管疾患の リポタンパク質代謝解析

竹田, 浩章

<https://doi.org/10.15017/1931737>

---

出版情報 : Kyushu University, 2017, 博士 (理学), 課程博士  
バージョン :  
権利関係 :

氏 名	竹田 浩章			
論 文 名	質量分析技術を基盤とした動脈硬化性心血管疾患のリポタンパク質代謝解析			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	馬場 健史
	副 査	九州大学	教授	久保田 浩行
	副 査	九州大学	教授	神田 大輔

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、動脈硬化性心血管疾患におけるリポタンパク質の脂質分子種の精密解析を行うことを目的として、質量分析技術を基盤としたリポタンパク質の定量プロファイリング法を開発し、開発した手法を用いて心筋梗塞を自然発症する WHHLM1 ウサギの血漿リポタンパク質の解析に取り組んだものである。

まず、*in silico* の多重反応モニタリング (MRM) ライブラリと超臨界流体クロマトグラフィー三連四重極型質量分析 (SFC/QqQ-MS)によるワイドターゲットの新規脂質定量手法を開発した。エチレン架橋型ハイブリッド粒子にジエチルアミンを結合させた順相カラムを使用することで各脂質クラスを 20 分以内に分離することができ、異なる脂肪酸側鎖を持つリン脂質などの構造異性体についても、側鎖由来の MRM トランジションによる質量分離により解析可能になった。さらに、本分析手法の定量性を検証するために、WHHLM1 ウサギの血漿抽出物を定量し、同濃度の標準品を血漿抽出物に添加することで各脂質クラスの回収率を計算し、64.9%から 103.5%の回収率で個々の脂質クラスや分子種の濃度を高精度に定量することができた。

次に、WHHLM1 ウサギの血漿リポタンパク質画分において、アポリポタンパク質と脂質分子の定量分析に取り組んだ。トリプシン消化で分解したアポリポタンパク質由来のペプチド断片をスクリーニングし、高感度で検出可能な定量用ペプチド配列を決定し、安定同位体標識 (リジンやアルギニンを  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  標識) したペプチド溶液を添加して測定することによりアポリポタンパク質濃度の絶対定量に成功した。さらにアポリポタンパク質 B-100 (apoB-100) はリポタンパク質 1 粒子につき 1 分子存在することから、VLDL と LDL の粒子数を算出した。その結果、LDL 粒子数は VLDL 粒子数より豊富に存在し、LDL 受容体の欠損に伴い LDL が血中に蓄積していることが明らかになった。一方、リポタンパク質画分からは計 352 種類の脂質分子を一斉分析することに成功し、リポタンパク質画分のリピドーム解析結果を粒子数で補正することで、1 粒子辺りの脂質組成を取得することに成功した。

以上の結果は、リポタンパク質の脂質分子種の精密解析が可能なこれまでにない定量プロファイリング法を開発したことにより動脈硬化性心血管疾患におけるリポタンパク質代謝機構の解明に寄与するものであり、価値のある業績と認める。また、本研究内容は、申請者を筆頭著者とする論文を国際学術誌に発表している。

以上、本研究は博士 (理学) の学位を得る資格を有するものと認める。