

# 審査報告書

平成30年 8月31日

食品薬品総合科学研究科長  
山下 勉 殿

## 論文審査委員会

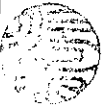
主査 教授 佐々木 秀明



副査 教授 河合 裕一



教授 佐々木 康人



准教授 石井 剛志



本学学位規則第8条の規定により論文審査の結果の要旨および学位の授与に関

し下記のとおり報告致します。

## 記

論文題目	安定同位体基質と LC-MS を用いた キサンチン酸化還元酵素活性測定法の研究
氏名	村瀬 貴代

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、生体内のキサンチン酸化還元酵素 (Xanthine oxidoreductase; XOR) の活性を、安定同位体で標識した (Stable isotope labeled; SIL) 基質と高速液体クロマトグラフィー-質量分析計 (LC-MS) を用いて高精度、高感度、且つ簡便に測定する方法の開発を目的として行われた研究をまとめたものである。XOR は、キサンチン (Xan) を尿酸 (UA) まで代謝する酵素であると共に、生体内での活性酸素発生源の 1 つとして、メタボリックシンドロームや循環器疾患との関連性も注目されている酵素である。これらの疾患と XOR との関連性を研究する上で、高精度・高感度で XOR 活性を測定する方法の確立は重要な課題であり、申請者は従来法とは全く異なる視点から測定法の開発に着手し、成功している。

第 2 章では、実験動物として汎用されるマウスの組織 XOR 活性を、安定同位体で標識した  $[^{15}\text{N}_2]$ SIL-Xan を基質として、XOR により生成される  $[^{15}\text{N}_2]$ SIL-UA を高分解能 (High resolution; HR) MS で測定する方法について検討している。HRMS を用いるこの測定法では、 $[^{15}\text{N}_2]$ SIL-Xan を用いることにより、内在性の UA の影響 (バックグラウンド) が排除できることから、高精度且つ簡便な XOR 活性の測定が可能となった。

第 3 章では、ヒトでの病態と XOR 活性との関連を研究する上で、臨床検体、即ちヒト血漿 XOR 活性を測定できることが重要となる。マウスより数百分の 1 程度のヒト血漿 XOR 活性を高感度に測定するには、内在性の UA に存在する天然同位体の +2DaUA の影響を排除する必要がある。申請者は安定同位体の標識数を増やした  $[^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2]$ SIL-Xan を基質として用い、XOR 活性を測定することにより、この問題を克服している。又、質量分析計を HRMS より定量性に優れ、取扱も簡便な三連四重極 (Triple quadrupole; TQ) MS とすることにより、XOR 活性測定の利便性を高めた上で、高感度測定に成功している。

第 4 章では、第 3 章で確立した LC-TQMS と  $[^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2]$ Xan を用いた高感度 XOR 活性測定法を臨床検体、ヒト血漿へ応用することを検討している。即ち、ヒト血漿を用いた XOR 活性の測定条件の最適化の一環として、除タンパク法、基質量、血漿量、反応時間、及び内在性成分の影響等を検討し、ヒト血漿 XOR 活性測定の標準プロトコルを確立している。更には、ヒト血漿 XOR 活性測定に於いてもバックグラウンドの影響が無く、低活性での測定や日内及び日間単位での測定結果の再現性が良好であることを確認している。結果として、20 名の被験者の血漿 XOR 活性の測定に初めて成功している。

第 5 章では、申請者が開発した高感度 XOR 活性測定法が、実験動物の病態と投与した薬物の生理作用を解明する研究に応用されていること、及び、同法がヒト血漿を用いる臨床研究で、多くの大学や病院との共同研究で活用され、年間 5000 検体の測定が実施されていることが述べられている。これらのことは開発した XOR 活性測定法が研究段階を超えて、既に実用化の段階に達していることを示しており、申請者の研究の有用性が実証されている。更に、申請者が本測定法の技術的な問題についても考察し、今後の研究課題として取り組む姿勢を示していることは、申請者の研究者としての資質を高く評価できる。

本論文は様々な病態と関連性を持つことが知られている生体内の XOR 活性を、高精度、高感度で測定することができた世界初の研究をまとめたものである。特に、測定困難であったヒト血漿 XOR 活性を高精度、高感度で測定することに成功し、有用性の高い XOR 活性測定法として臨床研究に着実に応用されている点でも高く評価できる研究である。

以上、審査委員会は食品薬品総合研究科の規定に照らし、申請者の研究が本研究科の博士論文に値すると判定し、申請者を博士 (学術) の学位を授与するに相応しいものと認める。