

博士(医学) 永田 泰之

論文題目

Glutaraldehyde fixation method for single-cell lipid analysis by time-of-flight secondary ion-mass spectrometry

(飛行時間型二次イオン質量分析法による単一細胞脂質解析のためのグルタルアルデヒド固定法)

論文審査の結果の要旨

近年、腫瘍細胞における脂質代謝の変化が注目されており、質量顕微鏡法の開発はこの分野の研究に貢献してきた。飛行時間型二次イオン質量分析法 (TOF-SIMS) は、試料表面を一次イオンビームによりスパッタリングし、弾き出された二次イオンを解析する質量分析法であり、個々の細胞における脂肪酸の細胞内分布の解析を可能にした。実臨床においては、生体試料はその保存性を改善し、微細構造を保持するために、ホルムアルデヒドなどによる化学的固定がしばしば必要であるが、TOF-SIMS による脂肪酸解析におけるグルタルアルデヒドの影響はわかっていない。そこで、申請者らは多発性骨髄腫細胞株である U266 細胞を用いた TOF-SIMS 解析を行い、解析結果に対するグルタルアルデヒド固定の影響を検討した。

申請者は、U266 細胞をサイトスピン等を用いてスライドガラスに付着させた後に、0.25%グルタルアルデヒドを含む PBS で 15 分間固定後に 150 mM 酢酸アンモニウムで 3 回洗浄した。また、コントロールとして未固定のスライドガラスを用意した。TOF-SIMS 解析において、 m/z 79 で示されるリン酸イオンと m/z 253、255、279、281、283 で示されるパルミトレイン酸、パルミチン酸、リノール酸、オレイン酸、ステアリン酸の 5 種類の脂肪酸イオンが細胞レベルで可視化できた。個々の細胞から得られたマススペクトルにおいて、各脂肪酸のピークは良好な信号雑音比で観察され、そのイオン平均強度には固定の有無で差はなかった。

以上の結果から、申請者は、グルタルアルデヒド固定が単一細胞における脂肪酸の TOF-SIMS 解析に影響を与えないことを明らかにした。これは、実臨床で用いられる化学固定した生体試料においても、TOF-SIMS による単一細胞脂質解析が有用であること示し、今後、TOF-SIMS 解析の応用範囲をさらに広げることができる可能性を示唆するものであり、審査委員会では申請者のこれらの研究成果を高く評価した。

以上により、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者

主査 須田 隆文

副査 岩下 寿秀 副査 峯田 周幸