

## “MS の変遷進歩について”

### ー研究者から見た「質量分析学の進展と現在」

A Five Decade Development of Japanese Mass Spectrometry: A Personal View

西村 俊秀 <sup>a, b</sup>

Toshihide NISHIMURA

<sup>a</sup> 聖マリアンナ医科大学 分子病態情報研究講座

<sup>b</sup> スウェーデン国ルンド大学 生物学医学質量分析センター

<sup>a</sup> 〒216-8511 川崎市宮前区菅生 2-16-1

E-mail: t-nisimura@marianna-u.ac.jp

### 1. Hittorf, JJ Thomson, Aston と “mass spectrograph”

質量分析の歴史 <sup>1)</sup> は、19 世紀中頃に物理学者たちが大きな関心を寄せていた“ガス放電現象”に端を発している。Hittorf (1869) <sup>2)</sup> は真空にした L 字管のカソード付近の湾曲した部分にグリーン蛍光が生じることを見つけた。また、Goldstein (1876) <sup>3)</sup> はカソード側に小さな物体を置くと影ができることを報告し、カソード（陰極）から放出されるものがあるに違いないと考え、これを陰極線（Cathode ray）と名付けた。Perrin (1895) <sup>4)</sup> は、電場や磁場での陰極線の偏向のされ方から負の電荷をもっていることをつきとめた。さらに、JJ Thomson 卿 <sup>5)</sup> は、ピンホールから出てくる陰極線を平板コンデンサー型の電場と磁場に導いて  $m/e$  の値を初めて測定した (1897)。これは後にギリシャ語の  $\eta\lambda\epsilon\kappa\tau\rho\nu$  をあてて「電子」と名付けられた。その後、多くのガスの放電からの正電荷をもつ原子が測定できるようになった。Aston (1919) <sup>6)</sup> は、Thomson の装置をさらに発展させ、正電荷分子イオンを新しいタイプの装置を作製し (“mass spectrograph”) と呼んだ測定した。その後、1940 年代までは、質量分析学はほぼ放射線物理学及び現在の素粒子物理学を専門とする一部の研究者によって発展されてきた。米国での核爆弾開発プロジェクトであるオッペンハイマー計画（日本の長崎と広島がその結果廃墟となった）では、U235 を濃縮する道具として巨大な磁場型質量分離装置が使用された。ゼーマン効果 (1896) はよく知られてはいたが、この核爆弾開発プロジェクトが 1945 年に終了し職を失った物理学者らが核磁気共鳴分光 (Magnetic resonance spectroscopy: NMR) を始めた。従って、質量分析の方がずっと歴史が長い。

日本質量分析研究会発足（1953 年）に当たり、（故）佐々木申二（京都大学理学部化学教室）は、「……、まず最初 1912 年、JJ Thomson が同位元素の存在の証明に使って以来、1918 年 Dempster が存在比を測定し、1925 年に Aston が質量欠損を測定して、原子量の物理的決定が可能になりました。その後電子衝突による分子のイオン化が研究され（1929）、同位元素の分離にも使はれ（1934）、更に気体の分析に進み（1940）、最近（1947）には合金分析用の装置が作られ、また真空容器の洩れ場所の発見という特殊目的の簡単な装置も商品化されるようになり、医学的研究に使はれたという文献もあります。質量分析は英国に始まり、米国に渡って繁栄しているように思われます。今に日本でも大いに繁栄することでしょう。」と話されています。やはり、当時の役員・会員のほとんどが物理・物理化学出身が多く、現

在の加速器を使った研究や材料物性の研究者が大半を占めていたようです。また、当時の雑誌「質量分析」はガリ版刷りで製本されていて、熱心な研究意欲を感じさせ、手作り感満載であった。

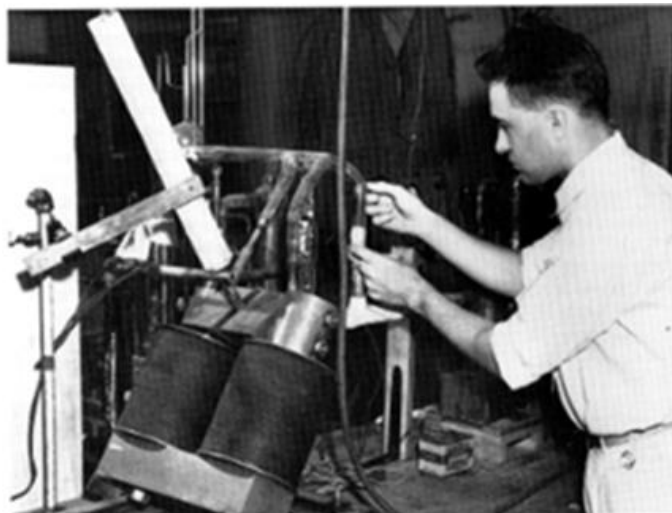


図 1. Alfred Nier の 60 度セクター質量分析計(1940 年代)

## 2. 質量分析学最盛期と日本の研究者\* (\*諸先生の敬称を略させていただきます。)

質量分析装置が、分析機器として活用され始めたのは、Alfred Nier (1940 年代) による 60-degree sector mass spectrometer (MS) (二十収束質量分析計) 開発によるところが大きい。1950 年代には Bendix Aviation Corporation の飛行時間型 MS、CEC 社による 21-103 や 21-1108 高分解能二十収束 MS、及び四重極 MS が商業的に生産され始めた。1960 年代にはこれらマスフィルターを分析機器として有機化合物の分析同定に大いに活用され、まさに 1950-1970 年代は基礎から応用まで質量分析学が大いに花開いた最盛期と云っても過言でない。日本では、天然物構造決定や製薬企業の研究所を中心に、有機質量分析討論会など独立して開催されていた活発な時期もある。故立松晃 (元名城大学教授)、故宮崎浩 (元日本化薬)、故鈴木真言 (元名城大学教授) の TMS 三人組、また中川有造 (元(株)松下テクノリサーチ) が医学と薬学分野での質量分析の展開を推進し、世界の天然物化学の重鎮、中西香爾 (コロンビア大学化学科) の下、大橋守 (電気通信大学名誉教授)、大橋陽子 (理化学研究所 脳科学総合研究センター) が不揮発性分子に対する In-beam EI 及び In-beam CI 質量分析法を開発し、天然物の構造決定を大いに推進した。

しかしながら、イオンの分解機構についての本格的理解の始まりは、Rosenstock、Wallenstein、Wahrhaftig と Eyring<sup>7)</sup> による「準平衡理論 (Quasi-Equilibrium Theory: QET)」の発表(1952)に待たなければならなかった。質量分子の歴史上おおきな役割をはたしたこの理論の建設者の一人であり、故 Wallenstein や故 Rosenstock らを世に送った Austin Levy Wahrhaftig 教授が 1997 年 11 月に他界された。追悼文が J Am Soc Mass Spectrom 9, 452 (1998) に Futrell 教授 (Univ. Delaware) の翌年 5 月号に掲載されていた。質量分析のパイオニアを失い、ひとつの時代が終った。日本での単分子イオン分解研究に関する直接的系譜のひとつは、戦時中満州鉄道において風船爆弾の研究に従事したと言うユニークな経歴をもつ廣田鋼

蔵（大阪大学名誉教授）に源をもつと考える。廣田先生は、統計理論とは異なったかなり先見的でユニークな発想をもった質量分析の分子軌道理論(MO理論)<sup>8)</sup>を提唱した。これは1981年ノーベル化学賞を受けた福井謙一の前線電子論とかなり共通したアイデアに基づいていることは驚嘆に値する。MO理論を信奉する研究者は現在聞かない。その研究の精神は、故土屋利一（元東京工業試験所部長、元千葉工大名誉教授）、山本正夫（奈良女子大学教授）、故立松晃（元名城大教授）、故岡野純（元京都大学教授）、中田尚男（元愛知教育大教授）や市川紘（元星薬科大教授）に引き継がれていった。いまでも、その系譜は山本先生のもと竹内孝江（現奈良女子大教授）や、また市川先生の後を嶋原淳（星薬科大教授）が引き継いでいる。統計理論やダイナミックスを中心とする研究方法は、土屋先生の後を受けた丹羽吉夫（元岐阜県科学振興センター長）、西村俊秀（元ネブラスカ大学物理化学教室主席研究員、現聖マリアンナ医科大学特任教授）および田島進（元群馬工専教授）によって展開された。田島先生には、俊才飛田成史博士（現群馬大教授）がおり、単分子分解をMass-analyzed ion kinetic energy spectrometry (MIKES)で研究しておられた。また、阪大系列では、Rosenstockの愛弟子である故Ceva Lifshitsu先生（元イスラエル大教授：分子動力学のRD Levine教授は彼女の隣の研究室であった）のもとでRRKM理論の研究をした荒川隆一（関西大教授）がいる。また、中田先生の後、小西英之（元愛知教育大教授）が研究を続けられた。イオン分子反応研究では、小谷野猪之助（元姫路工大教授）と田中健一郎（広島大名誉教授）およびカナダのP. Kebarle研究室と繋ぎの深い故土屋正彦（元横浜国大名誉教授）と平岡賢三（山梨大教授）が別の系譜として活躍された。

### 3. 光電子分光法とイオン解列素過程の研究

筆者が質量分析(Mass Spectrometry)と出会ったのは、1974年のことである。その当時、有機分子の電子状態の理論計算が盛んにおこなわれており、実際の電子状態と結びついたデータを提供できる“光電子分光法(Photoelectron Spectroscopy)”が大きな注目を集めていた。何かおもしろいことがないかと思っていたので、土屋利一先生と丹羽吉夫先生に誘われるまま高沸点化合物の光電子スペクトルが測定できる装置の開発研究に参加した。その頃、北海道大学応用電気研究所(現電子科学研究所)の木村克美、勝又春次グループと電子総合研究所(現産総研)の故前田浩五郎グループが活発に研究を展開していた(最初の前田先生との出会い)。然しながら、筆者らは、ひとつのターゲットでもあった“ポルフィリンの光電子スペクトル”が1ヶ月先に外国のグループにより報告されてしまって困っていた折、東工試(現物質工技研)雑誌会でElandらにより始められた光電子光イオン同期法(Photoelectron-photoion coincidence spectroscopy)(1972)<sup>9)</sup>に出会い、イオン化で生じた電子の相手である分子イオン側ではどのようなことが起こっているのか大きな興味を覚えた。70年代前半の学会はまだ石油化学全盛の余韻漂うなかにあり、質量分析におけるイオン化の方法は揮発性分子に有効な電子衝撃イオン化(Electron impact ionization: EI)や化学イオン化(Chemical ionization: CI)が主流であった。GC-MSが確立されて有機分子の質量スペクトルデータのライブラリーが充実しており、その威力がいろいろな分野で発揮されていた。地下鉄サリン事件の解明において、GC-MSが使われ現場に残された痕跡

中でサリンが同定されたことが記憶にある。既にサリンという猛毒ガスもライブラリーに登録されていた。当時の質量分析の主テーマは「質量スペクトルから構造が解らないか」という壮大なものであり、そのためイオン分解についての実験的理論的研究が大きな科学的関心事であった。その中で、日本分光の光電子分光装置（確か PES-1）の組み上げとともに Wiley-McLaren 型の二重加速場をもつ自作の飛行時間型（Time-of-flight）質量分析計）を結合した装置を2年がかりで設計製作することになった。PES 1は日本分光が開発した第一号機で、後にサーモフィッシャーサイエンティフィックジャパン社長になる松本普（当時日本分光社開発部長）が設計による（公私ともにお世話になり鍛えられた）。当時、一枚のADC 電子ボードが300万円という高価なものであったが、土屋先生がどこからかポンともってきたのはすごいと思った。ちなみに、筆者らが使用していた積算とプログラムができる Varian 620i というコンピューター（米空軍のファントム戦闘機に搭載されていた。今考えると恐ろしくお粗末なPC）は4k バイトしかなかった。Coincidence 計測実験装置の製作は当初非常に難しいということで、ほかの人々からおおいに嚇かされ、また私自身もコインシデンスのシグナルがどうやって得られるかどうもしっくりと説明できなかった。この頃、表面反応をやっておられた野副尚一（元物質工技研室長）や溶液反応論で有名な立矢正典（元物質工技研次長）に大いに勇気づけられ、また貴重なアドバイスを受けた。何はともあれ、2年間掛かってマイクロカノニカルな分解速度や分解曲線（Breakdown Curves）また分解に伴って放出される運動エネルギー（Kinetic energy release）を測定できる装置が作られ、マイクロカノニカルなレベルで分解の化学を研究することが日本で初めて可能となった。

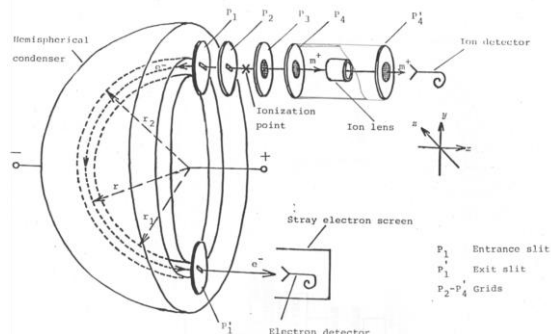


図2. 東京工業試験所（現産総研）の質量分析研究室で作製された日本で初の光電子—光イオンコインシデンス質量分析計（1979）の概略図。半球状の PES-1 光電子分光器と TOF 質量分析器が組み込まれている。真空紫外光 HeII（584Å）がイオン化光源として用いられた。

その後 1982 年にネブラスカ大の GG Meisels 教授（1986 年度米国質量分析学会会長、故 Rosenstock の親友で元 Provost, Univ. South Florida）グループに加わって「しきい光電子光イオン同期装置（Threshold Photoelectron-Photoion Coincidence Mass Spectrometer）」の改良など5年間研究をつづけ、同じ大学の ML Gross 教授（現 Washington Univ., 現米国質量分析学会誌 Chief Editor）についてタンデム質量分析法を研究した。ネブラスカ大学の5年間では、しきい光電子光イオン同期質量分析計を用い、状態選別されたいくつかの有機分子イオン分解の実験測定と分子イオン解列に関する量子統計を装備した「統計的位相空間理論（Statistical Phase Space Theory of Unimolecular Ionic Dissociation in Mass Spectrometry）」を展開し、その理論予測と実験結果との対応を研究した。<sup>11, 12)</sup>（その頃（1985年）、前田研究室から鈴木功（現産総研）が、真空紫外分光の権威、James AR Samson 教授

(元ネブラスカ大物理学教室)へ留学された。小職のアパートに数泊されて奥様と滞在先を探されていたのを思い出す。)

#### 4. 初めて P C 制御を持つ MAT-90 質量分析計

その後、筆者が米国ミシガン州 The Upjohn Company (後に、Pharmacia-Upjohn、Pfizer に吸収された) に化学コントロール部門の主任研究員として移る頃 (1987 年) には、サーモエレクトロン社の Triple-Stage Quadrupole (TSQ) MS が非常に人気で、ミシガンの同社研究所では主な機器として使われていた。当時は、高分解能磁場型装置での構造決定やイオン分解反応に興味があり、磁場型装置の購入検討を行った。米国 JEOL (ボストン) におられた樋口哲夫氏と何度も電話でやり取りしたことを思い出す。最終的には、逆配置二十収束高分解能質量分析装置で初めてコンピューター制御をもつ MAT-90 を筑波研究所に導入することとなった。分析以来業務のほとんどが輸入原末の HPLC アッセイで新たに見つかった未知ピークの構造決定で、実は HPLC と MAT-90 をサーモスプレーというイオン化インターフェースを用いるものでした。このインターフェースでは mA の電流が流れ非常に危険な測定系で、小職と同僚は何度となく危ない目にあった。MAT-90 は、イオン化室の後に磁場、電場の順で、MIKES を測定するには向いていて、 $C_{60}$  フラーレン分子イオンと  $N_2$  との衝突エネルギーの関数としてその分解反応断面積を測定することができるなど、1995-1997 年は、フラーレンの研究を筑波大学物理学李相茂教授や産総研古賀義紀グループと共同研究を行い、京都大学でのクラスター研究会 (交久瀬先生 (大阪大) が参加されておられた) や西伊豆で開催された Yamada Conference に発表した。Yamada Conf. では、憧れの RD Levine 教授<sup>13)</sup> (化学反応動力学の権威) に挨拶できたのを光栄に感じた。



図 3. 初めてコンピューター制御を装備した高分解能質量分析計 MAT90 (1987 年) .

#### 5. MALDI, ESI と革新的分離器 Makarov 型 Orbitrap

1985-1995 年は、非常に革命的なイオン化法が発展した 10 年でもあった。ここから、生体高分子の質量分析の道が大きく開いた。1996 年には、前田浩五郎先生も関与して、TMS 研究会が発足し、例の「高分子研究における質量分析スペクトルデータの必要性」(1997 年 前田浩五郎編集) が作成された。

1998 年から、筆者は日本グラクソ (現 GlaxoSmithKline、GSK) 筑波研究所で発現タンパク

質の網羅的解析、いわゆるプロテオミクス技術的基盤の構築を開始した。nanoESI は、Matthius Wilm (EMBL)により開発されており、ハイデルベルクでお会いすることができた。ESI インターフェースでは 10 プロトタイプの開発を碓井史彦氏（現 AMR 社長）と 2 年以上掛け現在の形のものが完成した。質量分析装置の方は、熟慮の結果サーモフィニガン社のイオントラップ型 LCQ タンデム質量分析器に落ち着き、実際にモデルマウスなどを使ったプロテオーム解析で基盤技術の POC が始まっていた。



図 4. ナノスプレー発明者 Wilm 博士 (EMBL, Heidelberg にて 1998 年)

2002 年には、東京医科大学臨床プロテオームセンター（センター長：加藤治文先生（呼吸器外科の世界的権威））で本格的に肺癌を中心とした臨床プロテオミクスを展開した。同年には、MALDI の開発者、田中耕一氏と ESI の発明者 John Fenn がノーベル化学賞を受賞した。後者の発明にも、山下雅道、能美 隆が深くかかわっている。（2003 年 4 月の臨床プロテオームセンター開所式では、田中耕一氏が古くからの研究仲間として特別講演を引き受けてくれた。）そこからの質量分析計の進化は激しいものがあつた。LCQ から LTQ、LTQ-Orbitrap MS、そして Q-Exactive などへと、高性能化が一段と進んだ。今や、質量分析装置はかなり様変わりして、Alexander Makarov の Orbitrap をコアとしたハイブリッド型高分解能質量分析計が臨床プロテオーム解析技術基盤として不可欠となっている。<sup>14)</sup>

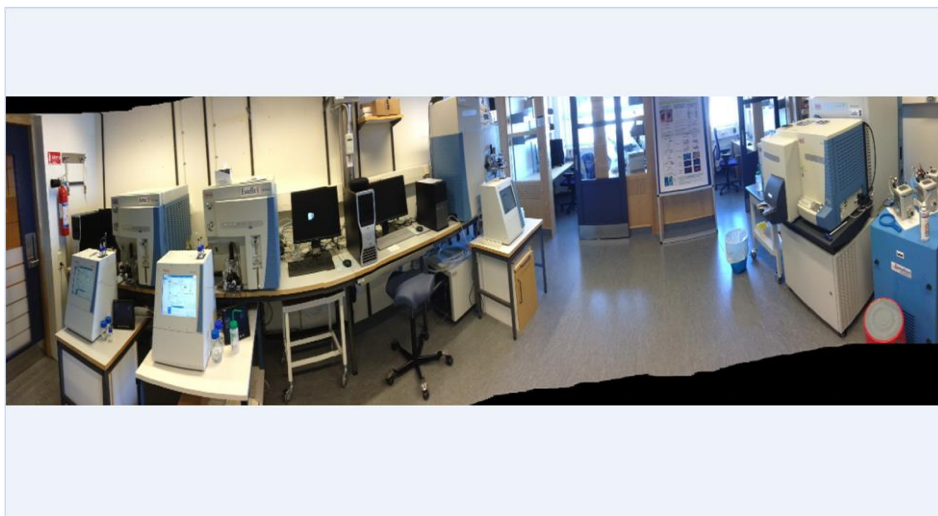


図 5. Lund 大学 CEBMMS の質量分析センターの一室



スウェーデン国ルンド大学のBioMedical Center 内には、The Center of Excellence on Biological and Medical Mass Spectrometry (CEBMS)が 2013 年に発足し、現在 22 台高性能質量分析計が稼働している。北欧に多発する悪性黒色腫（メラノーマ）を中心に、肺疾患、循環器疾患等々、バイオバンクの構築とともに、主要製薬企業とも共同研究を行っている。

現在、筆者の所属する聖マリアンナ医科大学分子病態情報研究講座の解析センターでは、サーモフィッシャーサイエンティフィック社 Q-Exactive Plus と定量性に優れた TSQ Quantiva を用い、「臨床プロテオジェノミクス (Clinical Proteogenomics)」という新しい分野の研究を推進しているが、最先端質量分析の力を肌で感じている。Artificial Intelligence (AI) Deep-Mining 技術がバイオインフォマティクス解析及び質量分析と融合しつつある。これにより、近い将来には個別医療のための正確な診断や重要な治療標的発見が可能になっていくことが期待されている。

## 6. 質量分析学、「質量」という永遠にふしぎなモノ

質量分析に携わる者にとって、意識するか否かに関わらず、イオンの生成とその分解は質量分析計内（真空容器）や外で日常起こる出来事である。測定した化合物の質量スペクトルを見るとき、起こり得るイオン分解のうちの限られた分解イオンしかよく観測でされないのは何故かとおそらく誰でも疑問に思ったにちがいない。ソフトなイオン化とかハードなイオン化などが何故あるのか？また、「いったいどんな反応が分析管の中で起こっているのだろうか？」という素朴な知的欲求を覚えたにちがいない。反対に「測れればそれでいいではないか」とおっしゃる方々の声も聞こえる。質量分析装置の近年の進化は目を見張るものがある。測定も 10 年前から比べるとユーザーフレンドリーでたいへん使いやすい。その傍にいて、一質量分析研究者の視点としては、「質量分析とは何か？」という問がいつもある。「場」が与えられなければ測定できない「質量」という、永遠にふしぎなモノに好奇心は止むことはない。



図 6. 最新の高性能分解能質量分析計：TSQ Quantiva と Q-Exactive Plus

## 文 献

1. Beynon JH. ; Morgan, RP. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* 27, 1, 1978.
2. Hittorf, W. ; *Poggendorff Ann.*, 136, 1, 1869.
3. Goldstein, E, *Berl. Monats.*, 234, 1876.
4. Perrin, J. *C.R. Acad. Sci.*, 121, 1130, 1895.
5. Thomson, JJ. *Nature*, London, 42, 295, 1890.
6. Aston, FW. *Philos. Mag.* VI, 38, 707, 1919.
7. Rosenstock, HM. ; Wallenstein, MG. ; Wahrhaftig, AL. ; Eyring, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 38, 667, 1952.
8. (a) 廣田鋼蔵, 日化誌, 89, 327 (1968). (b) 山本正夫, “新実験化学講座”, Vol. 6, p450, 丸善 (1977).
9. Eland, JHD. *Int. J. Mass Spectrom Ion Phys.* 9, 397, 1972.
10. Wiley, WC. ; McLaren, IH. *Rev Sci Instrm.* 26, 1150, 1955.
11. Shuman, NS. ; Johnson, M. ; Stevens, WR. ; Harding, ME. ; Stanton, JF. ; Baer, T. *J Phys Chem A* 114: 10016-10023, 2010.
12. Nishimura, T. *Unimolecular Dissociation in Mass Spectrometry* (Sec. 2) in: *Fundamentals of Mass Spectrometry* (Hiraoka, H. Ed.), Springer, New York, 2013.
13. Yurtsever, E. (Ed.), *Frontiers of Chemical Dynamics* in: Series C, *Mathematical and Physical Sciences*, Vol. 470, NATO ASI Series, Springer Science + Business Media, B.V. (2016).
14. Nishimura, T. ; Tojo, H. *Mass Spectrometry-Based Protein Sequencing Platforms*, in: G. Marko-Varga (Eds.), *Genomics and Proteomics for Clinical Discovery and Development*, (Translational Bioinformatics 6: X. Wang (Series Editor)), Dordrecht, Springer, 2014, pp. 69-99.