

Title	水素ガスによる虚血脳エネルギー代謝代償機転の分子機構の解明：顕微質量分析を用いて
Sub Title	How does molecular hydrogen protect the brain against ischemic reperfusion injury?
Author	梶村, 眞弓(Kajimura, Mayumi)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>脳梗塞は重篤な後遺症を残し、患者のQOLは極めて不良である。2007年にOhsawaら(Nat Med)は、水素ガス吸入が脳梗塞による神経機能障害を改善することを示した。以来10年が経過したが、水素ガスの受容体・情報伝達機構と生理作用との因果関係は、立証されておらず、臨床応用への大きな障壁となっている。本研究は、脳虚血病態における水素ガスの標的分子・受容機構を探究し、エネルギー代謝の代償機転の分子機構を解明することを目的とした。</p> <p>具体的には、マウス中大脳動脈閉塞という確立された偏在性虚血モデルを作製した。虚血開始後すぐに1.3%水素/空気混合ガスの吸入を開始した。虚血30分で再灌流し、その後60分継続して水素混合ガスを投与した。以後2週間にわたって、機能評価を行った。水素ガス吸入療法が顕著な効果を示したのは、①梗塞巣の縮小、②neurological scoreの正常化、③corner testによって判明した左片感覚性失調の正常化である。Hanging wire testやrotarodによる運動機能テストの結果も良好であり、水素の作用機序を検討するモデル系として適切であると判断した。</p> <p>さらに虚血の度合いに呼応して領域特異的に惹起される代謝リモデリングを、メタボローム解析により水素投与群と対照群で比較した。その結果、現在までに水素ガスをリガンドとするレセプタ候補分子が数個見つかった。</p> <p>"Time is brain"の言葉が示す通り、脳梗塞は可能な限り早期の治療開始が原則である。しかし血栓溶解療法等の現行の脳梗塞治療は、その適応が極めて限られており(発症後4.5時間以内)、多くの症例で施行できない現実がある。これを打破する新規治療法の開発は急務である。本研究により、水素ガスの分子標的の同定できれば、医療ガスとしての水素の応用が加速すると予想される。さらに、水素ガスが脳出血に対しても有効かつ安全であることが証明できれば、CT/MRIによる診断前に救急車で治療を開始することが期待できる。</p> <p>Although inhalation of molecular hydrogen has been found to improve neurologic outcomes after cerebral ischemia, etiology remains unknown. To decipher the mechanisms whereby molecular hydrogen regulates metabolic dynamics in different brain regions, we used a two-step approach: a metabolomics to target metabolic pathways responding to hydrogen gas, and a quantitative imaging mass spectrometry (Q-IMS) to reveal spatial alterations in targeted metabolites in the brain.</p> <p>Mice were subjected to a 30-min occlusion of the right common carotid artery followed by reperfusion and exposure to 1.3% H₂ for 60 min. The brain metabolic states were rapidly fixed using in-situ freezing. The frozen brains were processed for metabolome analysis using capillary electrophoresis-electrospray ionization mass spectrometry (CE/ESI/MS). The profiling of 95 metabolites showed that H₂ inhalation diminished an increase of a metabolite that was related to purine degradation pathway.</p> <p>In addition, during FS 2017, we established a rapid method to generate color-coded metabolic-content maps from the data obtained by MALDI imaging mass spectrometry. In the field of life sciences, it is imperative to compare and contrast phenomena under different conditions such as "health versus disease" and "H₂ treated versus non-treated". To search molecular targets for molecular hydrogen, we should be able to track metabolic changes taking place in specific anatomic structures of the organs. However, until now, there has been a limited method to examine quantitative differences among separate specimens without losing spatial information. We, therefore, implemented a new platform which enables "spatio-quantitative" intergroup comparisons among multiple samples in "at-a-glance" fashion. The new method, RICE (Rapid Image Contrast Enhancement) aided with intuitive color-coded maps, can efficiently delineate the difference in metabolic changes between two separate specimens (Goto S et al., Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, in press). We believe that the RICE will give rise to new insights to characterize complex metabolic interactions between distinct regions of tissues such as ischemic versus non-ischemic. Such a strategy will provide means for elucidating molecular mechanisms for hydrogen effects.</p>

Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170302

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部(日吉)	職名	教授	補助額	300 (A) 千円
	氏名	梶村 眞弓	氏名 (英語)	Mayumi KAJIMURA		
研究課題 (日本語)						
水素ガスによる虚血脳エネルギー代謝代償機転の分子機構の解明: 顕微質量分析を用いて						
研究課題 (英訳)						
How does molecular hydrogen protect the brain against ischemic reperfusion injury?						
1. 研究成果実績の概要						
<p>脳梗塞は重篤な後遺症を残し、患者の QOL は極めて不良である。2007 年に Ohsawa ら(Nat Med)は、水素ガス吸入が脳梗塞による神経機能障害を改善することを示した。以来 10 年が経過したが、水素ガスの受容体・情報伝達機構と生理作用との因果関係は、立証されておらず、臨床応用への大きな障壁となっている。本研究は、脳虚血病態における水素ガスの標的分子・受容機構を探究し、エネルギー代謝の代償機転の分子機構を解明することを目的とした。</p> <p>具体的には、マウス中大脳動脈閉塞という確立された偏在性虚血モデルを作製した。虚血開始後すぐに 1.3%水素/空気混合ガスの吸入を開始した。虚血 30 分で再灌流し、その後 60 分継続して水素混合ガスを投与した。以後 2 週間にわたって、機能評価を行った。水素ガス吸入療法が顕著な効果を示したのは、① 梗塞巣の縮小、② neurological score の正常化、③ corner test によって判明した左片感覚性失調の正常化である。Hanging wire test や rotarod による運動機能テストの結果も良好であり、水素の作用機序を検討するモデル系として適切であると判断した。さらに虚血の度合いに呼応して領域特異的に惹起される代謝リモデリングを、メタボローム解析により水素投与群と対照群で比較した。その結果、現在までに水素ガスをリガンドとするレセプタ候補分子が数個見つかった。</p> <p>“Time is brain”の言葉が示す通り、脳梗塞は可能な限り早期の治療開始が原則である。しかし血栓溶解療法等の現行の脳梗塞治療は、その適応が極めて限られており(発症後 4.5 時間以内)、多くの症例で施行できない現実がある。これを打破する新規治療法の開発は急務である。本研究により、水素ガスの分子標的の同定できれば、医療ガスとしての水素の応用が加速すると予想される。さらに、水素ガスが脳出血に対しても有効かつ安全であることが証明できれば、CT/MRI による診断前に救急車内で治療を開始することが期待できる。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>Although inhalation of molecular hydrogen has been found to improve neurologic outcomes after cerebral ischemia, etiology remains unknown. To decipher the mechanisms whereby molecular hydrogen regulates metabolic dynamics in different brain regions, we used a two-step approach: a metabolomics to target metabolic pathways responding to hydrogen gas, and a quantitative imaging mass spectrometry (Q-IMS) to reveal spatial alterations in targeted metabolites in the brain.</p> <p>Mice were subjected to a 30-min occlusion of the right common carotid artery followed by reperfusion and exposure to 1.3% H₂ for 60 min. The brain metabolic states were rapidly fixed using in-situ freezing. The frozen brains were processed for metabolome analysis using capillary electrophoresis-electrospray ionization mass spectrometry (CE/ESI/MS). The profiling of 95 metabolites showed that H₂ inhalation diminished an increase of a metabolite that was related to purine degradation pathway.</p> <p>In addition, during FS 2017, we established a rapid method to generate color-coded metabolic-content maps from the data obtained by MALDI imaging mass spectrometry. In the field of life sciences, it is imperative to compare and contrast phenomena under different conditions such as “health versus disease” and “H₂ treated versus non-treated”. To search molecular targets for molecular hydrogen, we should be able to track metabolic changes taking place in specific anatomic structures of the organs. However, until now, there has been a limited method to examine quantitative differences among separate specimens without losing spatial information. We, therefore, implemented a new platform which enables “spatio-quantitative” intergroup comparisons among multiple samples in “at-a-glance” fashion. The new method, RICE (Rapid Image Contrast Enhancement) aided with intuitive color-coded maps, can efficiently delineate the difference in metabolic changes between two separate specimens (Goto S et al., Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, in press). We believe that the RICE will give rise to new insights to characterize complex metabolic interactions between distinct regions of tissues such as ischemic versus non-ischemic. Such a strategy will provide means for elucidating molecular mechanisms for hydrogen effects.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Kajimura M, Takenouchi T, Sugiura Y, Hishiki T, and Suematsu M.	Neuroprotective effects by hypothermia are mediated through a coordinated suppression of acetyl CoA contents leading to a decrease in acetylcholine contents in neonatal hypoxia-ischemia	The XXIII World Congress of Neurology, Kyoto, Japan. (一般ポスター発表)	平成 29 年 9 月 18 日			
梶村 眞弓	新生児低酸素性虚血性脳症における低体温療法による神経保護作用の分子機構: 代謝解剖学的アプローチを用いて	第 21 回酸素ダイナミクス研究会, 東京. (一般口頭発表)	平成 29 年 9 月 4 日			
Shinichi Goto, Takayuki Morikawa, Akiko Kubo, Keiyo Takubo, Keiichi Fukuda, Mayumi Kajimura, Makoto Suematsu	Quantitative imaging mass spectroscopy reveals roles of heme oxygenase-2 for protecting against transhemispheric diaschisis in the brain ischemia	Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	in press			

Yohji Matsusaka, Kazuhiro Takahashi, Yu Iwabuchi, Yuji Ogata, Chiyoko Nishime, Mayumi Kajimura, Masahiro Jinzaki	Preclinical evaluation of heat-denatured [¹⁸ F]FDG-labeled red blood cells for detecting splenic tissues with PET in rats	Nuclear Medicine and Biology	2018 Jan;56: 26-30
Matsusaka Y, Nakahara T, Takahashi K, Iwabuchi Y, Nishime C, Kajimura M, Jinzaki M	¹⁸ F-FDG-labelled red blood cell PET for blood-pool imaging: Preclinical evaluation in rats.	European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging	2017 Dec;7(1):19