

Title	顕微質量分析イメージング技術を用いた含硫化合物依存性眼球機能制御機構の解明
Sub Title	Functional analyses of sulfur-containing amino acid-derived thiol compounds in eyes by MALDI MS imaging
Author	菱木, 貴子(Hishiki, Takako)
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>本研究は, CBS(cystathionine beta-synthase)やCSE(cystathionine gamma-lyase)より産生されるチオール(-SH基を持つ)化合物, パースルフィド(-SSH基を持つ)化合物等, 「含硫化合物」の眼球における機能解明を目的とする。</p> <p>眼球は, 高い抗酸化作用を有するチオール化合物のひとつであるグルタチオン(GSH)の濃度が高い組織として知られるが, 眼球中のGSH量は加齢に伴い減少する。また高齢での発症率が高い白内障は, CBSノックアウトマウス(CBS KO)の表現型の一つであり, 白内障の治療にはグルタチオン点眼薬が汎用されている。一方, CSEノックアウトマウス(CSE KO)は白内障を発症しない。</p> <p>申請者は, 平成28年度までの成果としてCBS KOとCSE KOの眼球中の含硫化合物を網羅的に定量した結果, GSHとグルタチオンのパースルフィド化合物(GSSH)の量は, CSE KO, CBS KOともに野生型に比べて有意に減少していたが, CSE KOとCBS KOとの比較では有意な差は確認出来なかった。</p> <p>そこで本年度は, 質量分析イメージング法を用い, GSH, GSSHの眼球機能との関連について, 局在情報を含めた詳細な検討を行った。申請者が用いた大気圧イオン源を用いたイメージング法は, SSH基をより安定なS-スルホン酸に置換することで, GSHより数オーダー低い濃度でしか存在しない組織中のGSSHを感度よく検出し, 画像化出来る。この手法を用いCBS KO, CSE KOのマウス眼球の質量分析イメージングを行ったところ, GSHは水晶体に, GSSHは角膜上皮や水晶体線維細胞に集積していることが判明した。さらに, GSH量はCBS KO, CSE KOともに野生型に比べて減少していたにも関わらず, GSSHはCBS KOでは減少していたが, CSE KOでは野生型に比べて有意な差は確認出来なかった。さらに, CBS KOでは, 水晶体線維細胞の「六角柱構造」に乱れが生じていることもわかった。</p> <p>これらの結果から, CBSは, ポリサルファー化合物を介したタンパク質機能やレドックス恒常性の制御に不可欠な酵素であり, 水晶体の透明性を維持する上で重要な役割をもつことが示唆された。</p> <p>Both of thiol (containing an-SH group) compounds and persulfide (containing an-SSH group) compounds are synthesized by the enzymes CBS (cystathionine beta-synthase) and CSE (cystathionine gamma-lyase), which are sulfur-containing amino acid metabolism. The aim of this study is to be clarified the mechanism of the thiol compounds to keep visual function through the eyes.</p> <p>Glutathione (GSH) is one of the most powerful anti-oxidant thiol compounds, and the eyes are known to contain high level of GSH. Furthermore, for the treatment of Cataracs that is one of common eye diseases in elderly people, a glutathione-eye-drop is well-known. Cataracs is a major phenotype of the CBS knockout mice (CBS-KO), but not in CSE knockout mice (CSE-KO). Previously, we measured the amount of the thiol compounds comprehensively in mouse eyes. As the result, the levels of GSH and glutathione-persulfide (GSSH) in the eyes from these KO mice are significantly lower than that of the WT. However there are not significant differences among them.</p> <p>In this study, we tried to detect the GSH and GSSH by the atmospheric-pressure MALDI (Matrix-Assisted Laser/Desorption Ionization) MS imaging. Using this technology, each of GSH and GSSH can be readily oxidized to derive glutathione sulfonate (GSO3-) and glutathione S-sulfonate (GSSO3-) whose ionization efficiency is much higher than its native form, making it possible to detect this trace-amount metabolites. This oxidation reaction is a specific phenomenon only seen in atmospheric-pressure MALDI. Using this method, we obtained MS-images from mice eyes and acquired images showed GSO3- and GSSO3- are higher in the lens epithelia and the cortex fiber cells. Furthermore, GSSH in CBS-KO was decreased, but not in WT and CSE-KO mice, while GSH levels of the CBS-KO and CSE-KO were significantly lower than that of WT. Moreover,</p>

	morphometric analyses of alignment of lens-fiber-cell showing that hexagonal packing geometry was disturbed in the lens from CBS-KO. Altogether, CBS plays important roles in redox homeostasis through the persulfide-compounds in the lens to keep visual function.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170006

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	医学部臨床研究推進センター	職名	専任講師(有期・医学部)	補助額	500 (特B)千円
	氏名	菱木 貴子	氏名 (英語)	Takako Hishiki		
研究課題 (日本語)						
顕微質量分析イメージング技術を用いた含硫化合物依存性眼球機能制御機構の解明						
研究課題 (英訳)						
Functional analyses of sulfur-containing amino acid-derived thiol compounds in eyes by MALDI MS imaging						
1. 研究成果実績の概要						
<p>本研究は、CBS (cystathionine beta-synthase)や CSE (cystathionine gamma-lyase)より産生されるチオール(-SH 基を持つ)化合物、パースルフィド(-SSH 基を持つ)化合物等、「含硫化合物」の眼球における機能解明を目的とする。</p> <p>眼球は、高い抗酸化作用を有するチオール化合物のひとつであるグルタチオン(GSH)の濃度が高い組織として知られるが、眼球中の GSH 量は加齢に伴い減少する。また高齢での発症率が高い白内障は、CBS ノックアウトマウス(CBS KO)の表現型の一つであり、白内障の治療にはグルタチオン点眼薬が汎用されている。一方、CSE ノックアウトマウス(CSE KO)は白内障を発症しない。</p> <p>申請者は、平成 28 年度までの成果として CBS KO と CSE KO の眼球中の含硫化合物を網羅的に定量した結果、GSH とグルタチオンのパースルフィド化合物(GSSH)の量は、CSE KO、CBS KO とともに野生型に比べて有意に減少していたが、CSE KO と CBS KO との比較では有意な差は確認出来なかった。</p> <p>そこで本年度は、質量分析イメージング法を用い、GSH、GSSH の眼球機能との関連について、局在情報を含めた詳細な検討を行った。申請者が用いた大気圧イオン源を用いたイメージング法は、SSH 基をより安定な S-スルホン酸に置換することで、GSH より数オーダー低い濃度でしか存在しない組織中の GSSH を感度よく検出し、画像化出来る。この手法を用い CBS KO、CSE KO のマウス眼球の質量分析イメージングを行ったところ、GSH は水晶体に、GSSH は角膜上皮や水晶体線維細胞に集積していることが判明した。さらに、GSH 量は CBS KO、CSE KO とともに野生型に比べて減少していたにも関わらず、GSSH は CBS KO では減少していたが、CSE KO では野生型に比べて有意な差は確認出来なかった。さらに、CBS KO では、水晶体線維細胞の「六角柱構造」に乱れが生じていることもわかった。</p> <p>これらの結果から、CBS は、ポリサルファー化合物を介したタンパク質機能やレドックス恒常性の制御に不可欠な酵素であり、水晶体の透明性を維持する上で重要な役割をもつことが示唆された。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>Both of thiol (containing an-SH group) compounds and persulfide (containing an-SSH group) compounds are synthesized by the enzymes CBS (cystathionine beta-synthase) and CSE (cystathionine gamma-lyase), which are sulfur-containing amino acid metabolism. The aim of this study is to be clarified the mechanism of the thiol compounds to keep visual function through the eyes. Glutathione (GSH) is one of the most powerful anti-oxidant thiol compounds, and the eyes are known to contain high level of GSH. Furthermore, for the treatment of Cataracs that is one of common eye diseases in elderly people, a glutathione-eye-drop is well-known. Cataracs is a major phenotype of the CBS knockout mice (CBS-KO), but not in CSE knockout mice (CSE-KO). Previously, we measured the amount of the thiol compounds comprehensively in mouse eyes. As the result, the levels of GSH and glutathione-persulfide (GSSH) in the eyes from these KO mice are significantly lower than that of the WT. However there are not significant differences among them.</p> <p>In this study, we tried to detect the GSH and GSSH by the atmospheric-pressure MALDI (Matrix-Assisted Laser/Desorption Ionization) MS imaging. Using this technology, each of GSH and GSSH can be readily oxidized to derive glutathione sulfonate (GSO3-) and glutathione S-sulfonate (GSSO3-) whose ionization efficiency is much higher than its native form, making it possible to detect this trace-amount metabolites. This oxidation reaction is a specific phenomenon only seen in atmospheric-pressure MALDI. Using this method, we obtained MS-images from mice eyes and acquired images showed GSO3- and GSSO3- are higher in the lens epithelia and the cortex fiber cells. Furthermore, GSSH in CBS-KO was decreased, but not in WT and CSE-KO mice, while GSH levels of the CBS-KO and CSE-KO were significantly lower than that of WT. Moreover, morphometric analyses of alignment of lens-fiber-cell showing that hexagonal packing geometry was disturbed in the lens from CBS-KO.</p> <p>Altogether, CBS plays important roles in redox homeostasis through the persulfide-compounds in the lens to keep visual function.</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)			
Megumi Shiota, Masayuki Naya, Takehiro Yamamoto, Takako Hishiki, et.al.	Gold-nanofève surface-enhanced Raman spectroscopy visualizes hypotaurine as a robust anti-oxidant consumed in cancer survival	Nature Communications	in press			