

Title	表面増強ラマン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	2023
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2022. )
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、パーサルフィド (-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。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がその作用機序は不明である。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、独自に確立した含硫化合物の絶対定量法を用いてCBS KO、CSE KOの眼球の含硫化合物を定量した結果、GSHとグルタチオンパーサルフィド(GSSH)は野生型に比べてCBS KO、CSE KOで有意に減少していたが、CBS KOとCSE KOでは有意な差はみられなかった。一方で、チオール化合物の一つであるホモシステイン(Hcys)とホモシステインパーサルフィド(Hcys-SSH)が野生型に比べてCBS KOで有意に増加していたが、CSE KOでは野生型に比べて有意な差は見られなかった。</p> <p>そこで、質量分析イメージング法と表面増強ラマンイメージング法を駆使し、CBS KOとCSE KOの眼球中の含硫化合物について局在情報を含めた詳細な解析を行った結果、HcysとHcys-SSHがCBS KOマウスの眼球の特に硝子体で増加していることが分かった。Hcysは高い求核反応性を持ち、組織中、血漿中濃度はGSHに比べて1万分の1程度と低いものの、ホモシステチン尿症で知られるように血漿中濃度がわずかに上昇しただけで知的障害や骨格異常などの全身症状を発症し、さらに水晶体脱臼による視力低下もホモシステチン尿症における代表的な症状である。</p> <p>以上の結果から、今後は眼球機能におけるGSHとHcysとの関連に焦点をあて検討を進める。</p> <p>This study aims to elucidate the functions of reactive sulfur species (RSS) in the eye, such as thiol compounds (containing an-SH groups) and persulfide compounds (containing an-SSH groups) synthesized by the enzymes CBS(cystathionine beta-synthase) and CSE(cystathionine gamma-lyase).</p> <p>Glutathione (GSH) is one of the most powerful anti-oxidant thiol compounds, and the eyes are known to contain a high level of GSH. Furthermore, a glutathione-eye-drop is well known to treat Cataracs, which is one of the common eye diseases in elderly people. Cataracs is a major phenotype of the CBS knockout mice (CBS-KO), but not in CSE knockout mice (CSE-KO).</p> <p>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 of these KO mice are significantly lower than that of the WT. On the other hand, homocysteine (Hcys) and homocysteine persulfide (Hcys-SSH), one of the RSS, were significantly increased in CBS KO compared to wild type, while no significant difference was found in CSE KO compared to wild type.</p> <p>In this study, we tried to detect the RSS in the eye by use of the MALDI (Matrix-Assisted Laser/Desorption Ionization ) MS imaging and SERS (Surface-enhanced Raman Spectroscopy) imaging. Using these technologies, both Hcys and Hcy-SSH were higher than</p> <p>Therefore, we performed a detailed analysis of RSS, including localization information, in the eyes of CBS KO and CSE KO mice using MALDI (Matrix-Assisted Laser/Desorption Ionization ) MS imaging and SERS (Surface-enhanced Raman Spectroscopy) imaging. As a result, the Hcys and Hcys-SSH are higher in the eyes of CBS KO mice, especially in the vitreous.</p> <p>Hcys has high nucleophilic reactivity and tissue and plasma concentrations are as low as 1/100 of GSH. However, as is known in homocystinuria, a slight increase in plasma levels of Hcys can cause systemic symptoms such as mental retardation and skeletal abnormalities, and vision loss due to lens dislocation is also a typical symptom in homocystinuria.</p> <p>Based on these results, we will continue to focus on the relationship between GSH and Hcys in ocular function.</p>
Notes	

Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2022000010-20220002">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2022000010-20220002</a>

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	医学部基礎教室	職名	専任講師	補助額	300 (A) 千円
	氏名	菱木 貴子	氏名 (英語)	Takako Hishiki		
研究課題 (日本語)						
表面増強ラマン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がその作用機序は不明である。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、独自に確立した含硫化合物の絶対定量法を用いて CBS KO、CSE KO の眼球の含硫化合物を定量した結果、GSH とグルタチオンパースルフィド(GSSH)は野生型に比べて CBS KO、CSE KO で有意に減少していたが、CBS KO と CSE KO では有意な差はみられなかった。一方で、チオール化合物の一つであるホモシステイン(Hcys)とホモシステインパースルフィド(Hcys-SSH)が野生型に比べて CBS KO で有意に増加していたが、CSE KO では野生型に比べて有意な差は見られなかった。</p> <p>そこで、質量分析イメージング法と表面増強ラマンイメージング法を駆使し、CBS KO と CSE KO の眼球中の含硫化合物について局在情報を含めた詳細な解析を行った結果、Hcys と Hcys-SSH が CBS KO マウスの眼球の特に硝子体で増加していることが分かった。</p> <p>Hcys は高い求核反応性を持ち、組織中、血漿中濃度は GSH に比べて 1 万分の 1 程度と低いものの、ホモシステイン尿症で知られるように血漿中濃度がわずかに上昇しただけで知的障害や骨格異常などの全身症状を発症し、さらに水晶体脱臼による視力低下もホモシステイン尿症における代表的な症状である。</p> <p>以上の結果から、今後は眼球機能における GSH と Hcys との関連に焦点をあて検討を進める。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>This study aims to elucidate the functions of reactive sulfur species (RSS) in the eye, such as thiol compounds (containing an-SH groups) and persulfide compounds (containing an-SSH groups) synthesized by the enzymes CBS(cystathionine beta-synthase) and CSE(cystathionine gamma-lyase).</p> <p>Glutathione (GSH) is one of the most powerful anti-oxidant thiol compounds, and the eyes are known to contain a high level of GSH. Furthermore, a glutathione-eye-drop is well known to treat Cataracs, which is one of the common eye diseases in elderly people. Cataracs is a major phenotype of the CBS knockout mice (CBS-KO), but not in CSE knockout mice (CSE-KO).</p> <p>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 of these KO mice are significantly lower than that of the WT. On the other hand, homocysteine (Hcys) and homocysteine persulfide (Hcys-SSH), one of the RSS, were significantly increased in CBS KO compared to wild type, while no significant difference was found in CSE KO compared to wild type.</p> <p>In this study, we tried to detect the RSS in the eye by use of the MALDI (Matrix-Assisted Laser/Desorption Ionization) MS imaging and SERS (Surface-enhanced Raman Spectroscopy) imaging. Using these technologies, both Hcys and Hcy-SSH were higher than WT. Therefore, we performed a detailed analysis of RSS, including localization information, in the eyes of CBS KO and CSE KO mice using MALDI (Matrix-Assisted Laser/Desorption Ionization) MS imaging and SERS (Surface-enhanced Raman Spectroscopy) imaging. As a result, the Hcys and Hcys-SSH are higher in the eyes of CBS KO mice, especially in the vitreous.</p> <p>Hcys has high nucleophilic reactivity and tissue and plasma concentrations are as low as 1/100 of GSH. However, as is known in homocystinuria, a slight increase in plasma levels of Hcys can cause systemic symptoms such as mental retardation and skeletal abnormalities, and vision loss due to lens dislocation is also a typical symptom in homocystinuria.</p> <p>Based on these results, we will continue to focus on the relationship between GSH and Hcys in ocular 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)			
Kubo A, Masugi Y, Hase T, Nagashima K, Kawai Y, Takizawa M, Hishiki T, et. al.	Polysulfide serves as a hallmark of desmoplastic reaction to differentially diagnose ductal carcinoma in situ and invasive breast cancer by SERS imaging	Antioxidants	2023			
Honda K, Hishiki T, et. al.	On-tissue polysulfide visualization by surface-enhanced Raman spectroscopy benefits patients with ovarian cancer to predict post-operative chemosensitivity.	Redox Biol	2021			