

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：24303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15034

研究課題名(和文)MRI・ラマン分光による間質液pH・重炭酸イオン濃度の非侵襲的測定法開発

研究課題名(英文)Noninvasive assay development of interstitial fluid pH and bicarbonate concentration by MRI and Raman spectrum

研究代表者

丸中 良典 (Marunaka, Yoshinori)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00127036

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：2012年における糖尿病患者数は世界で3億7千万人、我国で2千万人にもものぼ、2型糖尿病患者におけるアルツハイマー型認知症発症のリスクが高い。我々は、2型糖尿病での病態の本体ともいえるインスリン抵抗性の発症およびアルツハイマー型認知症におけるアミロイドベータ生成に組間質液pH低下が関与していることを明らかにした。ヒト脳間質液pHおよびHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度測定は糖尿病・アルツハイマー型認知症の予防医学的診断に重要な役割を担っているが、ヒトの脳内組織間質液pHおよびHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度の非侵襲的測定法は未だ開発されていない。ヒト間質液pHおよびHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度の非侵襲的測定法を開発することも本研究の目的とする。

研究成果の概要(英文)：The diabetes number of patients in 2012 amounts to 20 million in 370 million people, our country in the world, and it is reported that onset of the Alzheimer's dementia is higher in in the type 2 diabetes patient than normal ones. We found that interstitial liquid pH and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentration participated in insulin-resistant and amyloid beta synthesis in Alzheimer's dementia. Therefore, the measurement of human brain interstitial fluid pH and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentration is important for a preventive medical diagnosis of diabetes and Alzheimer's dementia, but the noninvasive assay of interstitial fluid pH HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentration in human brain is not yet developed. The purpose of the present study is to develop the noninvasive assay of the interstitial fluid pH and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentration using using nuclear magnetic resonance imaging and Raman spectrum.

研究分野：分子細胞生理学

キーワード：間質液 pH 糖尿病 ラマン分光 アルツハイマー型認知症 核磁気共鳴 重炭酸イオン インスリン

1. 研究開始当初の背景

- ・2012年における糖尿病患者数は世界で3億7千万人、我国で2千万人にものぼる。
- ・また、2型糖尿病患者におけるアルツハイマー型認知症発症のリスクが高いことも報告されている。
- ・我々は、2型糖尿病での病態の本体ともいえるインスリン抵抗性の発症およびアルツハイマー型認知症におけるアミロイドベータ生成に組間質液 pH 低下が関与していることを明らかにした。
- ・従って、ヒト脳間質液 pH 測定は糖尿病・アルツハイマー型認知症の予防医学的診断に重要な役割を担っているが、ヒトの脳内組織間質液 pH の非侵襲的測定法は未だ開発されていない。間質液 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度測定は間質液 pH 低下原因解明のため重要であるが、間質液 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度非侵襲的測定法も未だ開発されていない。

2. 研究の目的

核磁気共鳴画像法およびラマン分光法を用いて、ヒト間質液 pH および HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度の非侵襲的測定法を開発する。

3. 研究の方法

核磁気共鳴画像法 (MRI) ・ラマン分光による間質液 pH・HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度非侵襲的測定法開発

1) モデル動物実験:

- ・2型糖尿病モデルラットである OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) ラット・非糖尿病対照 LETO (Long-Evans Tokushima Otsuka) ラットを用いて、アンチモン製マイクロ pH 電極・マイクロダイアリシス法を用いて侵襲的に腹腔内間質液・脳内海馬周囲間質液 pH および HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度を測定する。
- ・上記モデル動物を用いて、腹腔内間質液および脳内海馬周囲間質液 pH の MRI を用いた非侵襲的測定法および HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度のラマン分光を用いた非侵襲的測定法を開発する。

2) ヒトでの臨床試験

- ・動物実験で得られた実験結果を元に、ヒト腹腔内間質液・脳海馬周囲組間質 pH 測定および腹腔内間質液 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度を MRI ・ラマン分光を用いた非侵襲的測定法開発を試みる。

4. 研究成果

2012年における糖尿病患者数は世界で3億7千万人、我国で2千万人にものぼる。2型糖尿病患者におけるアルツハイマー型認知症発症のリスクが高い。我々は、2型糖尿病での病態の本体ともいえるインスリン抵抗性の発症およびアルツハイマー型認知症におけるアミロイドベータ生成に組間質液 pH 低下が関与していることを明らかにした。ヒト脳間質液 pH および

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度測定は糖尿病・アルツハイマー型認知症の予防医学的診断に重要な役割を担っているが、ヒトの脳内組織間質液 pH および HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度の非侵襲的測定法は未だ開発されていない。ヒト間質液 pH および HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度の非侵襲的測定法を開発することも本研究の目的とする。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 25 件) すべて査読あり

1)

Puppulin P, Pezzotti G, Sun H, Hosogi S, Nakahari T, Inui T, Kumamoto Y, Tanaka H, MARUNAKA Y

Raman micro-spectroscopy as a viable tool to monitor and estimate the ionic transport in epithelial cells

Scientific Reports (in press)

2)

Kogiso H, Hosogi S, Ikeuchi Y, Tanaka S, Shimamoto C, Matsumura H, Nakano T, Sano K, Inui T, MARUNAKA Y, Nakahari T

A low [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>-induced enhancement of cAMP-activated ciliary beating by PDE1A inhibition in mouse airway cilia

Pflügers Archiv - Eur J Physiol 2017 (in press)

3)

Tanaka S, Miyazaki H, Shiozaki A, Ichikawa D, Otsuji E, MARUNAKA Y

Cytosolic Cl<sup>-</sup> affects the anticancer activity of paclitaxel in the gastric cancer cell line, MKN28 cell

Cell Physiol Biochem 42:68-80, 2017

4)

MARUNAKA Y

Actions of quercetin, a flavonoid, on ion transporters: its physiological roles

Annals of the New York Academy of Sciences 2017 (in press)

5)

Shiozaki A, Kudou M, Ichikawa D, Fujiwara H, Shimizu H, Ishimoto T, Arita T, Kosuga T, Konishi H, Komatsu S, Okamoto K, MARUNAKA Y, Otsuji E.

Esophageal cancer stem cells are suppressed by tranilast, a TRPV2 channel inhibitor.

J Gastroenterol 2017 (in press)

6)

Sasamoto K, Marunaka R, Niisato N, Sun H, Taruno A, Pezzottia G, Yamamoto T, Kanamura N, Zhu W, Nishio K, Inuia T, Eaton DC,

## **MARUNAKA Y**

Analysis of aprotinin, a protease inhibitor, action on the trafficking of epithelial Na<sup>+</sup> channels (ENaC) in renal epithelial cells using a mathematical model

Cell Physiol Biochem 41:1865-1880, 2017

7)

Kudou M, Shiozaki A, Kosuga T, Shimizu H, Ichikawa D, Konishi H, Morimura R, Komatsu S, Ikoma H, Fujiwara H, Okamoto K, **MARUNAKA Y**, Otsuji E.

Heat shock exerts anticancer effects on liver cancer via autophagic degradation of aquaporin  
Int J Oncol 50(5):1857-1867, 2017.

8)

Shiozaki A, Ichikawa D, Kosuga T, **MARUNAKA Y**, Otsuji E.

Regulation of osmolality for cancer treatment.  
J Physiol Sci 67(3):353-360, 2017.

9)

**MARUNAKA Y**, Marunaka R, Sun H, Yamamoto T, Kanamura N, Inui T, Taruno A.

Actions of quercetin, a polyphenol, on blood pressure.

Molecules 22(2). pii: E209, 2017.

10)

Taruno A, **MARUNAKA Y**.

Hypotonicity activates a voltage-dependent membrane conductance in N2a neuroblastoma cells.

Biochem Biophys Res Commun 484(2):331-335, 2017.

11)

Ariyoshi Y, Shiozaki A, Ichikawa D, Shimizu H, Kosuga T, Konishi H, Komatsu S, Fujiwara H, Okamoto K, Kishimoto M, **MARUNAKA Y**, Otsuji E.

Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger 1 has tumor suppressive activity and prognostic value in esophageal squamous cell carcinoma.

Oncotarget 8(2):2209-2223, 2017

12)

Yoshimoto K, Nagao M, Watanabe Y, Yamaguchi T, Ueda S, Kitamura Y, Nishimura K, Inden M, **MARUNAKA Y**, Hattori H, Murakami K, Tokaji M, Ochi K.

Enhanced alcohol-drinking behavior associated with active ghrelinergic and serotonergic neurons in the lateral hypothalamus and amygdala.

Pharmacol Biochem Behavior 153:1-11, 2017

13)

Shiozaki A, Kudou M, Ichikawa D, Shimizu H,

Arita T, Kosuga T, Konishi H, Komatsu S, Fujiwara H, Okamoto K, Kishimoto M, **MARUNAKA Y**, Otsuji E.

Expression and role of anion exchanger 1 in esophageal squamous cell carcinoma  
Oncotarget 8(11):17921-17935, 2017

14)

Taruno A, Kashio M, Sun H, Kobayashi K, Sano H, Nambu A, **MARUNAKA Y**

Adeno-associated virus-mediated gene transfer into taste cells *in vivo*

Chemical Senses 42(1):69-78, 2017

15)

Pezzotti G, Adachi T, Gasparutti I, Vincini G, Zhu W, Boffelli M, Rondinella A, Marin E, Ichioka H, Yamamoto T, **MARUNAKA Y**, Kanamura N

Vibrational monitor of early demineralization in tooth enamel after *in vitro* exposure to phosphoric liquid

Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy 173:19-33, 2017

16)

Nakajima K, **MARUNAKA Y**

Intracellular chloride ion concentration in differentiating neuronal cell and its role in growing neurite

Biochem Biophys Res Commun 479(2):338-342, 2016

17)

Pezzotti G, McEntire BJ, Bock R, Zhu W, Boschetto F, Rondinella A, Marin E, **MARUNAKA Y**, Adachi T, Yamamoto T, Kanamura N, Bal BS

*In situ* spectroscopic screening of osteosarcoma living cells on stoichiometry-modulated silicon nitride bioceramic surfaces

ACS Biomater Sci Eng 2 (7): 1121-1134, 2016

18)

**MARUNAKA Y**, Marunaka R, Sun H, Yamamoto T, Kanamura N, Taruno A

Na<sup>+</sup> homeostasis by epithelial Na<sup>+</sup> channel (ENaC) and Na<sub>x</sub> channel (Na<sub>x</sub>): cooperation of ENaC and Na<sub>x</sub>

Annals of Translational Medicine 4(Suppl 1):S11, 2016.

19)

**MARUNAKA Y**, Niisato N, Miyazaki H, Nakajima K, Taruno A, Sun H, Marunaka R, Okui M, Yamamoto T, Kanamura N, Kogiso H, Ikeuchi Y, Kashio M, Hosogi S, Nakahara T

Quercetin is a useful medicinal compound showing various actions including control of blood pressure, neurite elongation and epithelial

ion transport

Current Med Chem 23:1-12, 2016

20)

Kudou M, Shiozaki A, Kosuga T, Ichikawa D, Konishi H, Morimura R, Komatsu S, Ikoma H, Fujiwara H, Okamoto K, Hosogi S, Nakahari T, **MARUNAKA Y**, Otsuji E

Inhibition of regulatory volume decrease enhances the cytotoxic effect of hypotonic shock in hepatocellular carcinoma

J Cancer 7(11):1524-1533, 2016

21)

Puppulin L, Miura Y, Casagrande E, Hasegawa M, **MARUNAKA Y**, Tone S, Sudo A, Pezzotti G

Validation of a protocol based on Raman and Infrared spectroscopies to nondestructively estimate the oxidative degradation of UHMWPE used in total joint arthroplasty

Acta Biomaterialia 38:168-178, 2016

22).

Tanaka S, Hosogi S, Sawabe Y, Shimamoto C, Matsumura H, Inui T, **MARUNAKA Y**, Nakahari T

PPAR $\alpha$  activation of NOS1 via PI3K/Akt in guinea pig antral mucous cells: NO-enhancement in enhancement of Ca<sup>2+</sup>-regulated exocytosis

Biomed Res 37:167-178, 2016

23)

Kimura T, Hashimoto Y, Tanaka M, Asano M, Yamazaki M, Oda Y, Toda H, **MARUNAKA Y**, Nakamura N, Fukui M

Sodium-chloride difference and metabolic syndrome: a population-based large-scale cohort Study

Internal Medicine 55(21):3085-3090, 2016

24)

Pezzotti G, Bock RM, McEntire BJ, Jones E, Boffelli M, Zhu W, Baggio G, Boschetto F, Puppulin L, Adachi T, Yamamoto T, Kanamura N, **MARUNAKA Y**, Bal BS

Silicon nitride bioceramics induce chemically driven lysis in porphyromonas gingivalis.

Langmuir 32:3024-3035, 2016

25)

Tsuji T, Matsuo K, Nakahari T, **MARUNAKA Y**, Yokoyama T

Structural basis of the Inv compartment and ciliary abnormalities in inv/nphp2 mutant mice

Cytoskeleton 73:45-56, 2016

[学会発表] (8件) 招待講演のみ記載 (他40件の学会発表あり)

1)

**MARUNAKA Y**. (基調講演)

How are Cl<sup>-</sup> and H<sup>+</sup> involved in diseases such as hypertension, diabetes and cancer?

International Symposium on Ion Channels, Transporters and Signal Transduction

May 21, 2016. Kyoto

2)

Taruno A, **MARUNAKA Y**. (招待講演)

Purinergic neurotransmission of taste by CALHM channel.

17<sup>th</sup> ISOT JASTS 50th Annual Meeting.

Jun 5-9, 2016

Yokohama.

3)

**丸中良典**.

ブラジル産プロポリスの糖尿病に対する効果

第16回日本抗加齢医学会総会

2016年6月10-12日

横浜

4) Taruno A, Miyazaki H, Niisato N, Hongxin S, Kashio M, **MARUNAKA Y**. (招待講演)

Homologous CALHM subunits assemble to form a novel voltage-gated ATP channel

The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society.

July 20-22, 2016

Yokohama

5) **MARUNAKA Y**. (基調講演)

How do chloride and hydrogen ions regulate body function?

2016 International Conference of Physiological Science.

September 25-28, 2016

Beijing, China

6) **MARUNAKA Y**, Niisato N, Hongxin Sun, Inui T. (招待講演)

Insulin and the CFTR Chloride Channel.

The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference. October 27-29, 2015. Orlando, Florida, USA

7)

**MARUNAKA Y** (田原淳記念講演: 招待講演)

Regulation of body environments by epithelial ion transport

The 94th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan.

March 28-30, 2017.

Hamamatsu

8)

Taruno A, **MARUNAKA Y** (招待講演)

Neurotransmission of taste mediated by calcium  
homeostasis modulator ion channels  
The 94<sup>th</sup> Annual Meeting of the Physiological  
Society of Japan.  
March 28-30, 2017.  
Hamamatsu

他

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホ ー ム ペ ー ジ :  
<http://kpum-molecular-cell-physiology.info/>

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

丸中良典 (MARUNAKA YOSHINORI)  
京都府立医科大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：00127036

##### (2)研究分担者

該当者なし

##### (3)連携研究者

吉本寛司 (YOSHIMOTO KANJI)  
広島工業大学・生命学部・教授  
研究者番号：70111903

ペッツォッティ ジュセッペ (Pezzotti  
Giuseppe)

京都工芸繊維大学・大学院工芸科学研究科・  
教授  
研究者番号：70262962

瀬尾 芳輝 (SEO YOSHITERU)

獨協医科大学・医学部・教授  
研究者番号：90179317

##### (4)研究協力者

該当者なし