

令和元年6月21日現在

機関番号：38005

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K14968

研究課題名(和文) 超高感度IM-MSイメージングによる統合失調症の神経伝達物質代謝バランス解析

研究課題名(英文) IM-MS imaging analysis for metabolic balance of neurotransmitters in schizophrenia

研究代表者

早川 英介 (Eisuke, Hayakawa)

沖縄科学技術大学院大学・進化神経生物学ユニット・研究員

研究者番号：20739809

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：精神疾患は現代社会の大きな健康問題であるが、発症メカニズムに未知の部分が多く診断と治療は未だに困難である。本研究では統合失調症等の精神疾患の病態解明につながる分析技術としてイオンモビリティ(IM)と質量分析(MS)イメージングを連携した分析系とデータ解析ツールの開発を行った。本研究では脳内神経伝達物質とその代謝物のIMライブラリを構築することにより高感度・高い選択性での分析が可能にした。さらにIMおよびMS情報と位置情報を可視化し、物質間バランスを算出し可視化するツールにより、IM-MSイメージングデータからの代謝物バランス解析が可能になった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、イオンモビリティ(IM)と質量分析(MS)イメージングによる代謝物バランス解析法が構築され、本手法がモデル動物を使った脳内の神経伝達物質の代謝系の分析に有効であることが示された。本研究により構築されたIMライブラリは統合失調層のみならず、様々な精神疾患の病態基盤にかかわると考えられている神経伝達物質群の高感度・高選択性の分析に広く活用することが可能である。この脳内神経伝達物質代謝物のIM-MS分析系とイメージング解析ツールにより、精神疾患の病態基盤の解析がさらに進むことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Although mental disorder is an important health issue, diagnosis and treatment is still difficult due to the unclear pathogenic mechanisms. In this study, we developed an analytical workflow as well as data analysis tool, combining ion mobility (IM) and mass spectrometry (MS), to facilitate the analysis of the underlying metabolic mechanisms of mental disorders such as schizophrenia. We developed IM library of neurotransmitters and their metabolites, allowing highly sensitive and selective analysis. A data analysis tool was developed for processing IM-MS imaging data, enabling visualization of metabolic balances of neurotransmitter metabolites.

研究分野：神経化学

キーワード：質量分析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

統合失調症等の精神疾患は現代社会の大きな健康問題であるが、発症メカニズムに未知の部分が多く診断と治療は未だに困難である。精神疾患の病態基盤としてはドーパミンなど複数の神経伝達物質間のバランスの異常が示唆されてきたが、複数の神経伝達物質とその代謝物の一斉分析は未だに困難であった。質量分析 (MS) イメージングは脳切片上の複数の物質を一斉に分析できる方法として注目されていたが、実際は組織上に共存する化合物の多様さのために化合物同定が困難であることや、感度の低さ、化合物の同定が困難であるなど問題が多かった。

2. 研究の目的

そこで本研究では統合失調症などの精神疾患の病態解明につながる分析技術として、脳切片上の神経伝達物質とその代謝物を網羅的・高感度で行う分析系を、イオンモビリティ (IM) 技術を取り入れた MS イメージングとインフォマティクスの連携により構築することを目的とした。具体的には「IM-MS イメージングによる神経伝達物質とその代謝物の分析系の構築」「IM-MS 分析データから物質間バランス (代謝バランス) 解析を行うソフトウェアの開発」の技術開発を目的とした。

3. 研究の方法

「IM-MS イメージングによる神経伝達物質とその代謝物の分析系の構築」

IM-MS イメージングでは各化合物は質量電荷比 (m/z) に加え衝突断面積 (CCS) が観測される。そこで、各物質の固有の m/z と CCS 情報をライブラリとして構築することで、高感度かつ高い選択性の IM-MS イメージングが可能となる。

「物質間バランスイメージングを行うソフトウェアの開発」

通常の MS および IM-MS イメージングデータ解析ソフトウェアは特定の化合物に該当する m/z の可視化及びシグナル定量のために開発されており、化合物間のバランスや代謝バランスの定量や可視化を行うことはできない。そこで IM-MS イメージング分析データを解析して任意の化合物間のバランスを定量・可視化するアルゴリズムをソフトウェアに実装した。

「統合失調症モデルマウスを用いた本分析系の有用性の検証」

Cuprizone 投与による統合失調症マウスモデルを用い実際に IM-MS イメージング分析を行い、上記の分析・解析を適用することで神経伝達物質の代謝バランスの解析を行った。

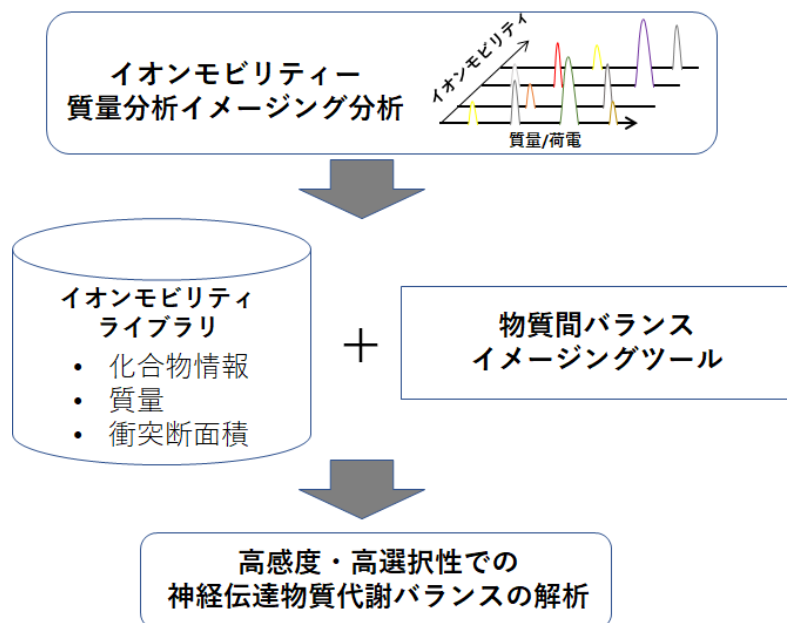


図1 IM-MS イメージングによる分析系の概要

4. 研究成果

「IM-MS 分析系の構築」

IM-MS イメージングデータからの神経伝達物質およびその代謝物の高感度・高選択性での検出を可能にするため、各化合物の m/z 値と CCS 値の網羅的な取得を行った。当初は標準品を利用してデータ取得を行っていたが、標準品が入手困難なものが複数あったため、以下の2つのアプローチをとった。(1) 各物質の構造情報をもとに、3D コンフォーマーから密度汎関数理論計算を通して CCS を予測するパイプラインを構築した。(2) マウス脳抽出より液体クロマトグラフィー(LC)に接続した IM-MS 装置で分析することにより脳内低分子化合物の m/z 、CCS とフラグメントスペクトルを網羅的に取得した。神経伝達物質とその代謝物の構造をもとにスペクトルマッチング及びスペクトル類似度解析によりスペクトルの化合物同定を行い、LC-IM-MS から得た m/z と CCS を割り当てた。この二つのアプローチにより神経伝達物質とその代謝物の網羅的なイオンモビリティライブラリを構築することができた。

「IM-MS イメージング解析ツール開発」

イメージングデータ解析ソフトウェアに関しては IM-MS イメージングデータから位置情報及と質量電荷比(m/z)に加え CCS 情報を抽出して再構築するアルゴリズムを MSIdV に実装した。上記「IM-MS 分析系の構築」におけるイオンモビリティライブラリとリンクさせることで、ユーザーが対象の化合物に関する質量・イオンモビリティの予備情報無しで解析が可能となる機能を付加したことで、広範囲のアプリケーションに活用できるようになった。

「統合失調症モデルマウスへの IM-MS イメージングデータ解析の適用」

Cuprizone を用いた統合失調症モデルマウスを作成し、その脳切片を用い本研究で構築した

IM-MS イメージング分析系を適用した。複数の神経伝達物質代謝物及び物質間バランスが統合失調症モデルマウスと通常マウス間で違いがみられ、本分析系の有効性が確認できた。一方で、定量的な解析や複数の試料グループ間での統計的な解析等、未だ機能向上の余地がある。

この脳内神経伝達物質代謝物の IM-MS 分析系とイメージング解析ツールにより、精神疾患の病態基盤の解析がさらに進むことが期待できる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Hayakawa E, Ohgidani M, Fujimura Y, Kanba S, Miura D, Kato TA. Cuprizone-treated mice, a possible model of schizophrenia, highlighting the simultaneous abnormalities of GABA, serine and glycine in hippocampus. *Schizophr Res*. 査読有、受理済

Torata N, Kubo M, Miura D, Ohuchida K, Mizuuchi Y, Fujimura Y, Hayakawa E, Kai M, Oda Y, Mizumoto K, Hashizume M, Nakamura M. Visualizing Energy Charge in Breast Carcinoma Tissues by MALDI Mass-spectrometry Imaging Profiles of Low-molecular-weight Metabolites. *Anticancer Res*. 査読有、38(7):4267-4272, 2018
DOI : 10.21873/anticancerres.12723.

Irie M, Hayakawa E, Fujimura Y, Honda Y, Setoyama D, Wariishi H, Hyodo F, Miura D. Analysis of spatiotemporal metabolomic dynamics for sensitively monitoring biological alterations in cisplatin-induced acute kidney injury. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有、496(1):140-146, 2018
DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.01.012.

津川 裕司, 早川 英介, 三浦 大典、メタボロミクスにおける化合物同定 生体内低分子代謝物の構造推定ガイド *Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan*, 査読無 65 巻 5 号 p. 203-209、2017
DOI: <https://doi.org/10.5702/massspec.S17-50>

〔学会発表〕(計 4 件)

Iinuma Y, Hayakawa E, Inomata S, Sato K, Ren H, Yue S, and Fu P. Structural characterisation of SOA bound isobaric isomers using ion mobility mass spectrometry and CO2 drift gas. 第 27 回環境化学討論会 (2018)

Iinuma Y, Hayakawa E, Inomata S, Sato K, Ren H, Yue S, and Fu P. Comparison of CO2 and N2 drift gas for the separation of isobaric isomer compounds in a travelling wave ion mobility mass Spectrometry. Japan Mass Spectrometry and Proteomics 2018 (2018)

Iinuma Y, Hayakawa E, Inomata S, Sato K, Ren H, Yue S, Fu P, Zhao W. Application of CO2 drift gas in travelling wave ion mobility mass spectrometry for the structural elucidation of environmentally relevant isobaric isomer compounds. THE 22nd INTERNATIONAL MASS SPECTROMETRY CONFERENCE (IMSC) 2018 (2018)

Hayakawa E. A strategy to analyze the spectral datasets of unknown compounds using mass spectral similarity network. THE 22nd INTERNATIONAL MASS SPECTROMETRY CONFERENCE (IMSC) 2018 (2018)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号(8桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。