

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：32409

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15729

研究課題名(和文) 高濃度酸素性肺傷害マウスにおけるピルビン酸脱水素酵素の重要性

研究課題名(英文) Importance of pyruvate dehydrogenase in the mouse lungs exposed to hyperoxia

研究代表者

小林 信吾 (Kobayashi, Shingo)

埼玉医科大学・医学部・助教

研究者番号：00464727

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：メタボロミックス解析を用いて、新生仔・成獣マウスの高濃度酸素暴露に対する反応性の違いについて研究した。新生仔・成獣マウスを21%または95%酸素に4日間暴露した。肺組織を用いたメタボロミックス解析を行い、ピルビン酸脱水素酵素(PDH)活性、PDH kinase(Pdk)4 mRNA発現、Pdk4蛋白発現・分布を評価した。ピルビン酸代謝関連代謝産物が成獣肺で高濃度酸素暴露により増加した。高濃度酸素により、成獣肺でPDH活性は低下し、Pdk4 mRNA発現は増加し、Pdk4蛋白は増加し、終末細気管支上皮に分布した。成獣マウス肺では、解糖・糖新生関連代謝産物が、高濃度酸素暴露により変化した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新生仔マウスと成獣マウスの高濃度酸素暴露に対する耐性の違いについて、ピルビン酸代謝経路の違いで一部説明できることが示唆された。この結果から、将来的に、ピルビン酸代謝経路をターゲットとした新生児慢性肺疾患および成人呼吸窮迫症候群の治療法の開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：This study investigated differences in the response to hyperoxic exposure between neonatal and adult mouse lungs using metabolomics analysis. Neonatal and adult mice were exposed to 21% or 95% O<sub>2</sub> for four days. Lung tissue samples were collected and analyzed by metabolomics. Pyruvate dehydrogenase (PDH) enzyme activity, PDH kinase (Pdk) 4 mRNA expression levels, Pdk4 protein expression and localization were determined. Levels of pyruvic acid-related metabolites were elevated in the lungs of hyperoxia-exposed adult mice. PDH activity was reduced and Pdk4 mRNA expression levels after hyperoxic exposure were elevated in adult mice. Pdk4 protein levels were increased in adult mouse lungs exposed to hyperoxia and were localized mainly to the epithelium of terminal bronchiole. Conclusions: Specific metabolites associated with glycolysis and gluconeogenesis were altered after hyperoxia exposure in the lungs of adult mice, but not in neonates.

研究分野：新生児学、呼吸器学

キーワード：新生児慢性肺疾患 高濃度酸素 ピルビン酸脱水素酵素 メタボローム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 新生児肺は成人肺よりも高濃度酸素傷害に対して耐性を示す。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、新生仔と成獣マウス肺の高濃度酸素暴露に対する反応性の違いを、キャピラリー電気泳動・飛行時間型質量分析計 (capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry、CE-TOFMS) によるメタボロミクス解析を用いて研究した。

3. 研究の方法

(1) 新生仔と成獣マウスを 21%酸素 (ルームエア) または 95%酸素 (高濃度酸素) に 4 日間暴露した。引き続き、肺組織サンプルを収集し、CE-TOFMS を用いてメタボロミクス解析を行った。ピルビン酸脱水素酵素 (pyruvate dehydrogenase、PDH) 酵素活性を、マイクロプレート解析キットを用いて測定した。PDH kinase (Pdk) 1、Pdk2、Pdk3、Pdk4 mRNA 発現レベルは定量逆転写 PCR 法で定量した。Pdk4 蛋白発現はウエスタンブロットで定量し、Pdk4 蛋白分布は免疫組織化学で評価した。

4. 研究成果

(1) 3-phosphoglyceric acid、2-phosphoglyceric acid、phosphoenolpyruvic acid、乳酸値がルームエアと比較して高濃度酸素暴露した成獣マウス肺で有意に増加した一方、新生仔マウスでは、高濃度酸素暴露後の有意な変化は認めなかった (図 1)。

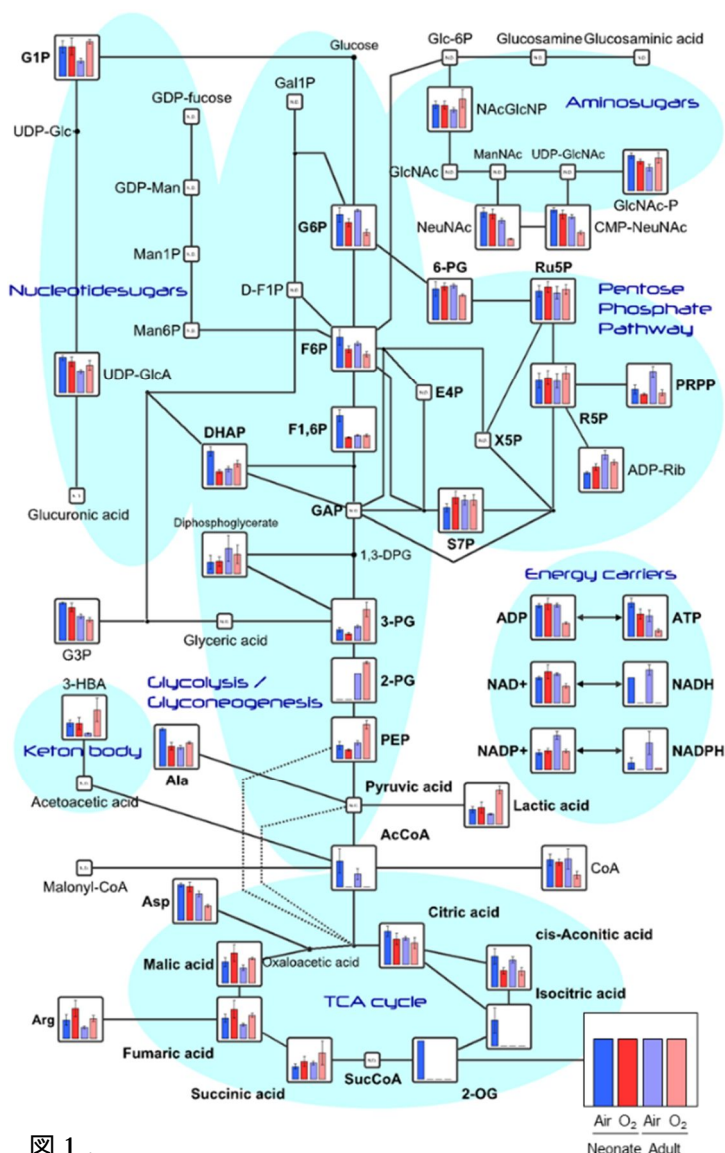


図 1 .

(2) PDH 活性は高濃度酸素暴露後、成獣マウス肺でのみ減少した(図 2)。高濃度酸素暴露後の Pdk4 mRNA 発現レベルは、新生仔マウスと比較して成獣肺で有意に増加した(図 3D)。一方、Pdk1、Pdk2、Pdk3 の遺伝子発現レベルは、新生仔・成獣マウス肺ともに、高濃度酸素暴露後も変化がなかった(図 3A-C)。

(3) Pdk4 蛋白レベルは高濃度酸素暴露した成獣マウス肺で有意に増加し(図 4A, B)、終末細気管支の上皮に主に分布した(図 4C)。

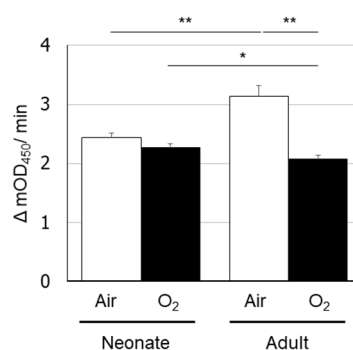


図 2 .

**まとめ**

成獣肺において、解糖および糖新生に関連した代謝産物が、高濃度酸素暴露後に変化を示したが、新生仔では変化を認めなかった。これは、高濃度酸素暴露下での Pdk4 mRNA 発現増加による PDH 活性低下の結果によるものであることが示唆された。

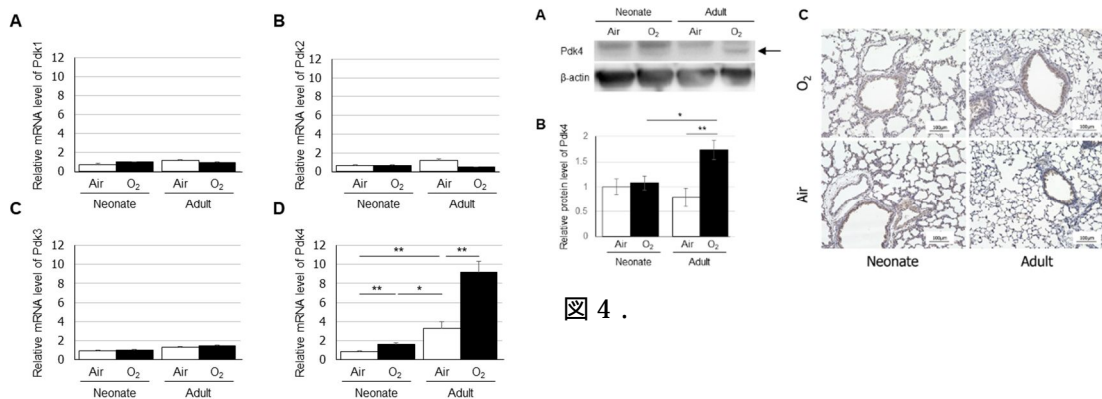


図 3 .

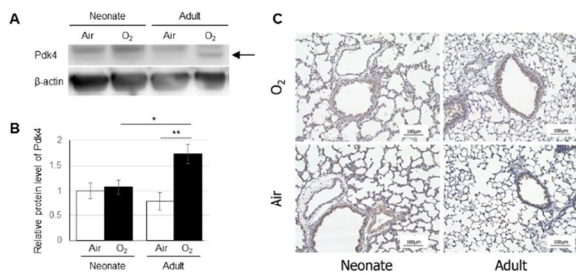


図 4 .

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tanaka Kosuke, Watanabe Takaaki, Ozawa Junichi, Ito Masato, Nagano Nobuhiko, Arai Yukio, Miyake Fuyu, Matsumura Shun, Kobayashi Shingo, Itakura Ryuta, Namba Fumihiko	4. 巻 15
2. 論文標題 Difference in pyruvic acid metabolism between neonatal and adult mouse lungs exposed to hyperoxia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0238604
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0238604	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Kosuke Tanaka, Junichi Ozawa, Takaaki Watanabe, Yukio Arai, Kikumi Matsuoka, Ryuta Itakura, Shingo Kobayashi, Masanori Tamura, Fumihiko Namba
2. 発表標題 Difference in lung pyruvic acid metabolism between neonatal and adult mice exposed to hyperoxia: a metabolomics approach
3. 学会等名 Pediatric Academic Societies Annual Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanaka K, Ozawa J, Watanabe T, Arai Y, Matsuoka K, Itakura R, Kobayashi S, Tamura M, Namba F
2. 発表標題 Difference in lung pyruvic acid metabolism between neonatal and adult mice exposed to hyperoxia: a metabolomics approach
3. 学会等名 Pediatric Academic Societies Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Namba F, Tanaka K, Ozawa J, Watanabe T, Arai Y, Matsuoka K, Itakura R, Kobayashi S, Tamura M
2. 発表標題 Difference in pyruvic acid metabolism between neonatal and adult mouse lungs exposed to hyperoxia: a metabolomics approach
3. 学会等名 Pediatric Academic Societies Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------