

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号： 3 2 6 4 4

研究種目： 奨励研究

研究期間： 2020 ~ 2020

課題番号： 2 0 H 0 1 0 0 2

研究課題名 親水性相互作用クロマトグラフィー質量分析法による生体中イノシトールピロリン酸解析

研究代表者

伊藤 誠敏 (Ito, Masatoshi)

東海大学・伊勢原研究推進部・技術職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 450,000 円

研究成果の概要：申請者が開発したイノシトールピロリン（PP-InsPs）酸検出法（Ito et al., J Chromatogr A, 2018 : 1573, 87-97）の改良法の構築に成功し、ヒト大腸がん細胞株HCT116細胞を使って哺乳類内在性PP-InsPsの検出が可能であることを確認した。この改良法を用いて、げっ歯類組織でのPP-InsPsの分布を明らかにした。現在、PP-InsPs合成酵素遺伝子欠失マウスやヒト臨床検体を使った解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イノシトールリン酸（InsPs）は動植物を含む多様な生命体に含まれ、様々な生理学的重要性を担っている。特に、ピロリン酸基を持つ高度にリン酸化されたイノシトールピロリン酸（PP-InsPs）は、癌、糖尿病や神経変性疾患への関与が示唆されており、治療薬としてPP-InsPs合成酵素に対する新規阻害剤の開発が期待されている。哺乳類組織中のどこにどれだけのPP-InsPsが存在するかを明らかにすることは、PP-InsPsの更なる機能解明や副作用が少なく効果的な治療薬開発に必須である。

研究分野： 分子生物学

キーワード： イノシトールピロリン酸 質量分析 親水性相互作用クロマトグラフィー

1. 研究の目的

イノシトールリン酸 (InsPs) は動植物を含む多様な生命体に含まれ、細胞膜の構成、リン元素の貯蔵やシグナル伝達に深く関与することが知られている。結合するリン酸基の数に応じて InsP1 ~ InsP8 まで存在するが、特に高度にリン酸化されたイノシトール 7 リン酸 (InsP7) やイノシトール 8 リン酸 (InsP8) といったイノシトールピロリン酸 (PP-InsPs) は、癌、糖尿病や神経変性疾患への関与が示唆されている。しかし、生体内にわずかしかな存在せず検出が極めて困難なため、その機能の全容は未だ謎に包まれている。昨年、申請者は生体中に極微量に存在する InsP7 を、親水性相互作用クロマトグラフィーを用いた質量分析法によって高感度・高選択的に検出及び定量する方法を世界に先駆けて開発した (Ito et al., J Chromatogr A, 2018 : 1573, 87-97)。本研究計画では、申請者が開発した上記の分析法を用いて哺乳類における PP-InsPs の生体内濃度分布を明らかにすることを目的とした。

2. 研究成果

(1) 分析法の改良

申請者が開発した InsP7 検出法 (Ito et al., J Chromatogr A, 2018 : 1573, 87-97) について、InsP8 の検出に加えて多数の試料を連続分析しても安定した検出が可能な改良法の構築に成功した。この改良法を用いて、ヒト大腸がん細胞株 HCT116 細胞の内在性 InsP7 と InsP8 が検出できることを確認した。

(2) 哺乳類組織中の PP-InsPs 解析

C57BL/6J マウス及び Sprague-Dawley ラット組織中の PP-InsPs 解析を行った。PP-InsPs 前駆体イノシトール 6 リン酸 (InsP6) は全ての臓器において高濃度で存在していた。一方、InsP7 は中枢神経系を含む特定の臓器で蓄積しており、InsP8 は全ての臓器においてほとんど検出されなかった。現在、InsP7 合成酵素遺伝子欠失マウス、疾患モデルマウスや法医学検体を用いたヒト臓器中 PP-InsPs の解析を進めている。

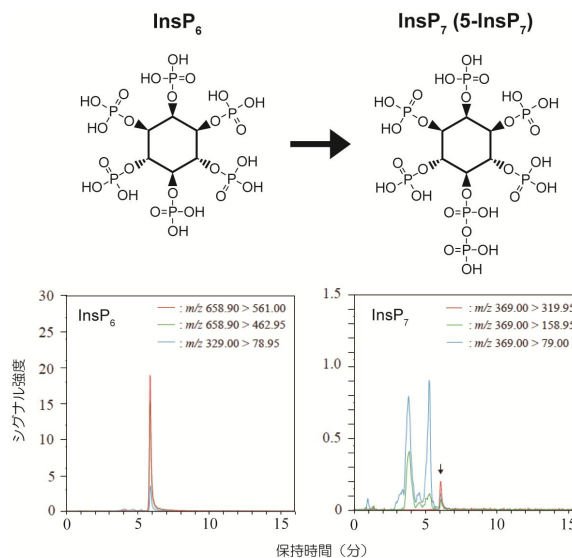


図. 親水性相互作用クロマトグラフィー質量分析法による InsP₆ と InsP₇ の検出。

3. 考察と結論

PP-InsPs は癌、糖尿病や神経変性疾患への関与が示唆されているが、その生理学的重要性は未だ謎に包まれている。本研究で哺乳類における PP-InsPs の組織分布を明らかにしたことで、PP-InsPs の新たな機能の解明、そして PP-InsPs が関与する疾患に対する新規治療薬の開発に大きな光を当てることになると考えている。一連の研究成果について論文の準備を進めている。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1．発表者名 伊藤 誠敏
2．発表標題 親水性相互作用クロマトグラフィー質量分析法による 生体中イノシトールピロリン酸の解析
3．学会等名 第63回 日本脳循環代謝学会総会
4．発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
永田 栄一郎	(Eiichiro Nagata)
垣本 由布	(Yu Kakimoto)