

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：10107

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K18828

研究課題名(和文) 質量分析イメージングによる水晶体硫黄代謝機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of lens sulfur metabolism by imaging mass spectrometry imaging

研究代表者

善岡 尊文 (Takafumi, Yoshioka)

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号：20548854

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)：ホモシスチン尿症は高頻度に水晶体亜脱臼(チン氏帯断裂)を発症する。この病態は未だ不明であるが、チン氏帯を構成するフィブリリンになんらかの障害を与えていることが考えられ、CBSノックアウトマウスの代謝解析を行うことでその病態の解明を試みた。イメージングMSを用いて分析したところ二つの代謝物が明らかに野生型と異なる事がわかった。一つはホモシステインパーサルフィド(HcySSH)、もう一つはオファルミン酸である。HcySSHのような活性硫黄分子は強い還元力を持つため、チン氏帯を構成するフィブリリンのジスルフィド結合を開裂(還元)している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ホモシスチン尿症はメチオニンの代謝産物であるホモシステインが血中に蓄積する常染色体劣性遺伝性疾患である。原因遺伝子はシスタチオニン合成酵素(CBS)欠損症であり、国内では100万出生あたり1名の頻度で発症する新生児マススクリーニングの対象疾患である。知的障害などの中枢神経系の異常、骨格の異常(マルファン症候群様体型)、水晶体亜脱臼、血栓症を主症状とするがその病態についてはわかっていない。本研究は水晶体亜脱臼の病態を解明するため、CBSノックアウトマウスの眼球を用いて代謝解析を行い、その原因が高い還元力を有するホモシステインパーサルフィドにあると考える。

研究成果の概要(英文)：Homocystinuria frequently develops ectopia lentis (rupture of zonular fibers). The pathology is still unknown, but it is thought to be caused by damages to the fibrillin that consist of zonular fibers. We attempted to elucidate the pathology by performing metabolic analysis of CBS knockout mice.

Analysis using Imaging MS revealed that two metabolites were clearly different from those in the wild type. One was homocysteine persulfide (HcySSH) and the other was ophthalmic acid.

Active sulfur molecules such as HcySSH have strong reducing power, suggesting the possibility that they cleave (reduce) the disulfide bonds of the fibrillin that consist of zonular fibers.

研究分野：眼科学

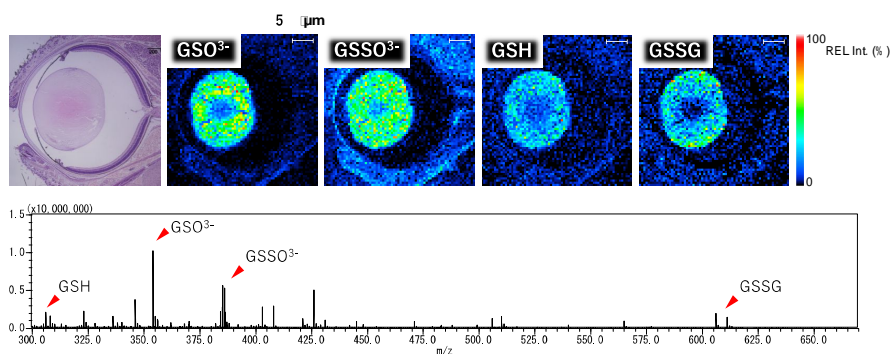
キーワード：CBS ホモシスチン ホモシステイン 水晶体亜脱臼 チン氏帯断裂 シスタチオニン シンターゼ ホモシスチン尿症 ホモシステインパーサルフィド

# 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

人水晶体にはグルタチオン (GSH) が多く存在することが知られており、GSH の減少が白内障を誘発することも動物実験で証明されている。島津製作所の MS イメージングを用いてマウス眼球の代謝解析を行ったところ、水晶体には GSH だけではなく、より還元力の強いグルタチオンパーサルファイド (GSSH) が多く存在することを発見し、水晶体における GSSH の代謝機構の解明のため研究を開始した (図 1)。

GSSH など  $S_0$  を含む代謝物は活性硫黄種と呼ばれ、還元力を高める働きがあり、酸素などの酸化物質から水晶体タンパク質 (クリスタリン) を守っていることが推察される。そこで活性硫黄種



の生成酵素であるシスタチオニンシンターゼ (CBS) およびシスタチオニンリアーゼ (CSE) のノックアウトマウスを用い、質量分析で代謝解析を行うことで GSSH の眼における役割を評価した。

図 1

## 2. 研究の目的

研究の目的は GSSH などの活性硫黄種の水晶体での役割を解明すること。

## 3. 研究の方法

活性硫黄種の生成酵素である CBS および CSE のノックアウトマウスを用いて、質量分析イメージングで眼球の代謝比較を行いその変化を解析した。さらに、眼球の代謝物定量解析には、島津製作所の液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) を使用し、モノプロモビメイン (mBBr) で誘導体化して含硫アミノ酸を定量した。他の代謝物に関してはアジレントテクノロジーのキャピラリー電気泳動質量分析計 (CE/MS) を使用して測定した。

## 4. 研究成果

CBS および CSE のノックアウトマウスの眼球の質量分析イメージングを行ったがどちらも GSSH には変化を認めなかった。質量分析イメージングでは 150 種類程度の代謝物を部位特異的網羅的に測定することが可能であり、CBS ノックアウトマウスで大きく異なっていた代謝物はホモシステインパーサルファイド (HcySSH) とオファルミン酸 (ophthalmate) であった (図 2、図 3)。

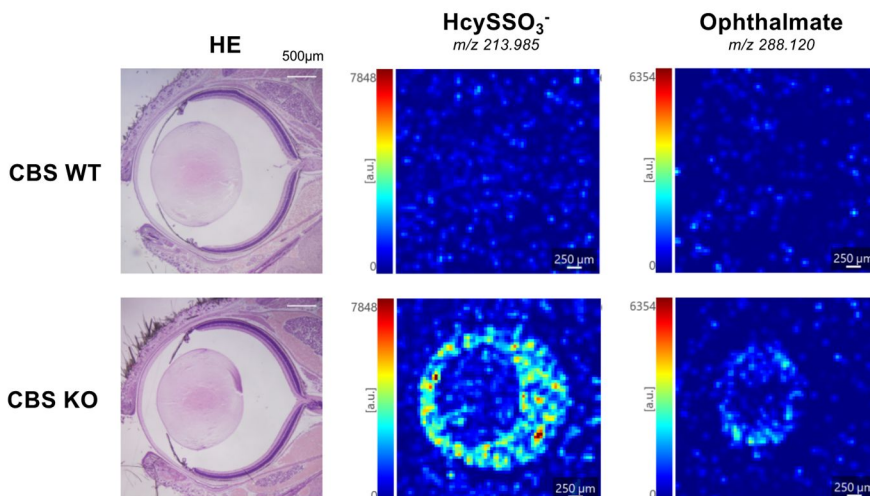


図 2

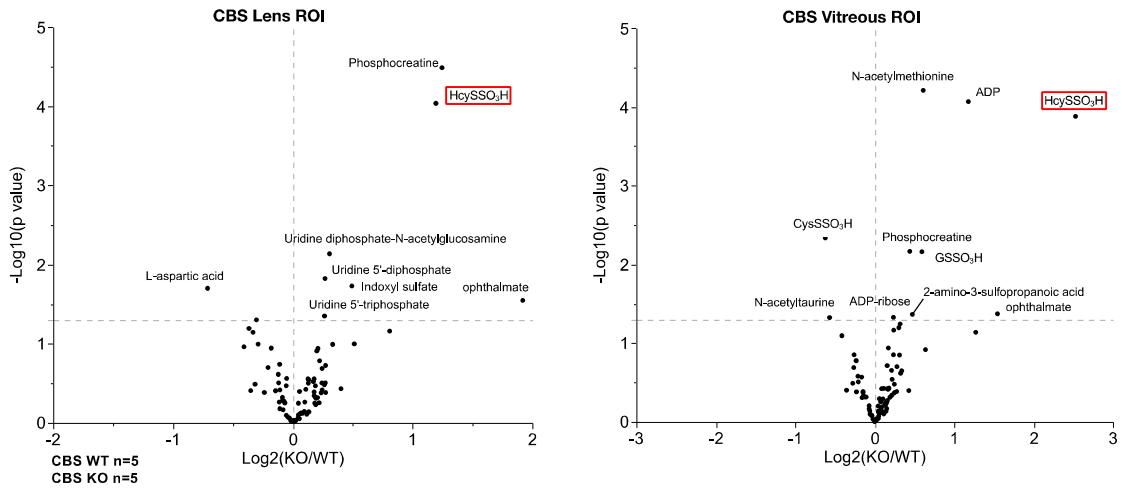


図 3

CSE ノックアウトマウスに関しては、HcySSH とシスタチオンであった ( 図 4 )。

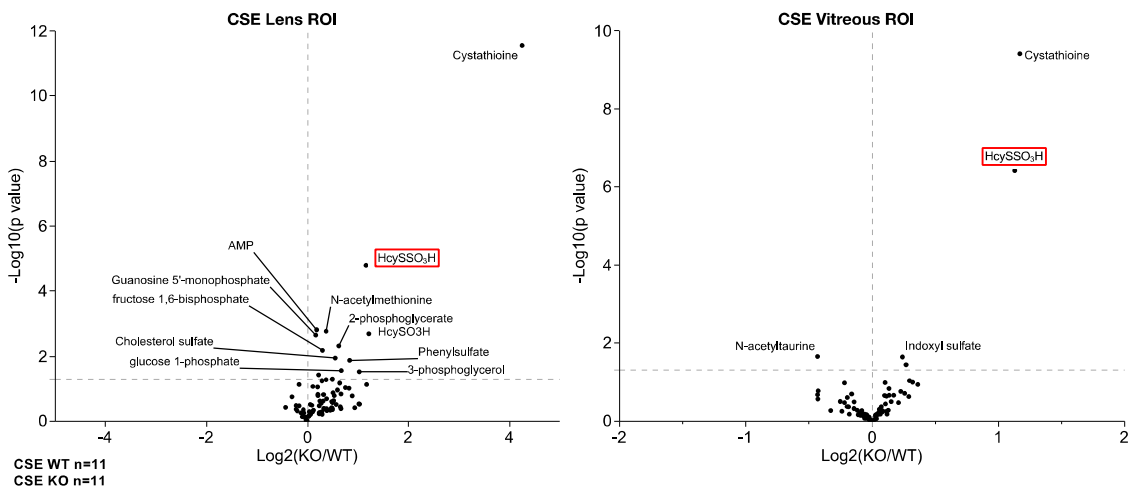


図 4

どちらも活性硫黄種の生成酵素にも関わらず、GSSH が減るのではなく HcySSH が増える結果となった。

臨床 CBS 変異がある病態はホモシスチン尿症と呼ばれ、眼の表現型では水晶体亜脱臼を高率に発症することが知られている。CSE 変異に関しては眼の表現型の報告はない。そこで CBS ノックアウトマウス、CSE ノックアウトマウスの代謝物定量解析を行いこの二つ違いを比較したところ、HcySSH の定量値が大きく異なっていた ( 図 5 )。

HcySSH は化学的性質として、GSSH よりもより強力な還元力を持つことが予想される。この強力な還元剤の上昇が水晶体を支えるチン小帯に化学的変化を加え、水晶体亜脱臼を発症させているのではないかと考察した。

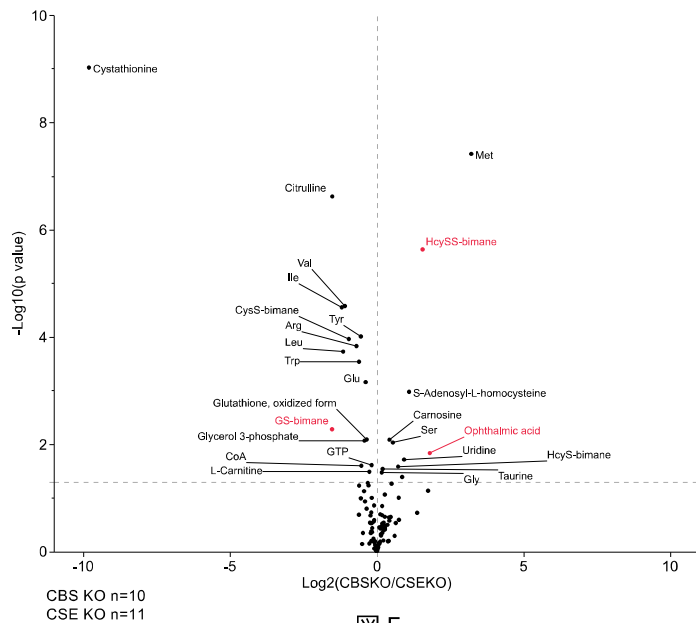


図 5

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------