

## 自己評価報告書

平成 23 年 5 月 12 日現在

機関番号： 13802  
研究種目： 若手研究 S  
研究期間： 2008 ～ 2012  
課題番号： 20670004  
研究課題名（和文） 多次元オミックス脳解剖  
研究課題名（英文） Brain anatomy with multidimensional omics  
研究代表者  
瀬藤 光利 (SETOU MITSUTOSHI)  
浜松医科大学・分子イメージング先端研究センター・教授  
研究者番号： 20302664

研究分野： 総合領域  
科研費の分科・細目： 神経科学・神経解剖学・神経病理学  
キーワード： オミックス、質量顕微鏡、翻訳後修飾、チュブリン、脂質、代謝物

## 1. 研究計画の概要

我々が開発した新しい手法、質量顕微鏡法 (Imaging Mass Spectrometry) を用い、マウス疾患モデル脳、更にはヒト死後脳を対象とした多次元オミックス (プロテオーム、メタボローム) 解析を行う。プロテオーム解析としてはチュブリン翻訳後修飾異常の解析を、メタボローム解析としては脂質・糖脂質代謝異常の解析を計画した。モデルマウスやヒト死後脳サンプルの解析から、これまでに予想されていなかった新しい物質の局在や修飾の変化を発見することを目指し、新たなバイオマーカー創出に繋がる研究になると期待している。

## 2. 研究の進捗状況

## (1) 質量顕微鏡法によるオミックス解析系の確立

ブルカーダルトニクス社 MALDI-TOF や我々が独自に開発した世界最高性能の質量顕微鏡を用いて脳内の脂質や糖脂質などのメタボローム解析を行い、細胞種特異的な分布や加齢に伴う変化の検出に成功した (Sugiura et al. PLoSOne2008、Sugiura et al. J Lipid Res2009)。また、新しいマトリクス開発にも挑戦し、イオン液体を用いた脂質の解析法を確立した (Shrivastava et al. Anal Chem in press)。さらに質量顕微鏡法を用い、我々が作製した翻訳後修飾酵素、SCRAPPER ノックアウトマウスのプロテオーム解析を行い、野生型マウスとノックアウトマウスの比較により脳内の領域特異的なタンパク質分布の変化を見出した (Yao et al., Proteomics2008)。

## (2) チュブリン翻訳後修飾異常モデル動物の

## 解析

脳で最も多いタンパク質、チュブリンをモデルとした解析を進め、チュブリンのチロシン化修飾 (酵素 TTL)、グリニン化修飾 (酵素 TTLL8、10)、グルタミン酸化修飾 (酵素 TTLL1) について多くの知見を得た (Konishi et al. Nat Neurosci2009、Ikegami et al. FEBS Lett2009、Ikegami et al. PNAS 2010)。また、新たにモデル動物として線虫を導入し、神経受容におけるチュブリングルタミン酸化の役割に関する重要な発見に成功した (Kimura et al. JBC2010)。

## (3) ヒト死後脳の解析

オミックス解析系の確立、疾患モデル動物の解析が完了し、当初計画における最重要課題であるヒト死後脳の解析に着手した。アルツハイマー病疾患脳における、脂質の特徴的な分布変化、統合失調症患者脳における脂質代謝変化などについて、新しい知見が蓄積されつつあり、当初計画通り平成 23、24 年度に学術雑誌に掲載されるよう更なる解析を続けている。

## 3. 現在までの達成度

・当初計画以上に進展している。

(理由)

(1) 当初計画では、計画の最終目標の一つとして教科書執筆を掲げていた。予想以上の計画進展により多次元オミックス解剖法の確立が完了し、チーフエディターとして世界で初となる英文教科書をシュプリンガー社より出版した (研究成果、図書①)。また国内向けにも内容を簡略化した教科書を出版した (研究成果、図書②)。さらに本研究成果と内外の時空間的生命現象解析の最新技術

について紹介する実験医学特集号を企画編集した(研究成果、図書③)。

(2) 当初計画では、メタボローム解析で扱う対象は脂質、糖脂質であった。予想以上に順調に研究が進展したため、低分子代謝物(ATP代謝物)のメタボローム解析にも挑戦し、てんかんモデル脳におけるエネルギー代謝の時空間的可視化に成功した(Sugiura et al. PLoS One in press)。

#### 4. 今後の研究の推進方策

(1) 当初計画通り、ヒト疾患脳の質量顕微鏡観察を推し進める。既にアルツハイマー病疾患脳、統合失調症疾患脳における特徴的な脂質局在変化を見出している。また、パーキンソン病死後脳解析にも着手を開始している。低分子代謝物の解析は死後経過時間のコントロールが最重要であり、これらの解析はモデル動物の脳を用いて解析を行う。

(2) これまでに脂質、糖脂質、低分子代謝物、タンパク質の質量顕微鏡解析法を確立してきた。今後、最も難しい問題である翻訳後修飾の質量顕微鏡解析に挑戦していきたい。

#### 5. 代表的な研究成果

(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 43 件)

- ① Shrivastava K, Hayasaka T, Goto-Inoue N, Sugiura Y, Zaima N, Setou M. Ionic Matrix for Enhanced MALDI Imaging Mass Spectrometry for Identification of Phospholipids in Mouse Liver and Cerebellum Tissue Sections. Anal Chem. in press. 査読有.
- ② Kimura Y, Kurabe N, Ikegami K, Tsutsumi K, Konishi Y, Kaplan OI, Kunitomo H, Iino Y, Blacque OE, Setou M. Identification of tubulin deglutamylase among Caenorhabditis elegans and mammalian cytosolic carboxypeptidases (CCPs). J Biol Chem 285(30): 22936-22941, 2010. 査読有.
- ③ Ikegami K, Sato S, Nakamura K, Ostrowski LE, Setou M. Tubulin polyglutamylation is essential for airway ciliary function through the regulation of beating asymmetry. Proc Natl Acad Sci USA 107: 10490-10495, 2010. 査読有.
- ④ Konishi Y, Setou M. Tubulin tyrosination navigates the kinesin-1 motor domain to axons. Nat Neurosci 12: 559-567(5), 2009. 査読有.
- ⑤ Sugiura Y, Shimma S, Konishi Y,

Yamada MK, Setou M. Imaging mass spectrometry technology and application on ganglioside study; visualization of age-dependent accumulation of C20-ganglioside molecular species in the mouse hippocampus. PLoS One 3(9): e3232, 2008. 査読有.

[学会発表] (計 72 件、うち招待講演 44 件、特別講演 8 件、シンポジウム 9 件)

- ① Mitsutoshi Setou, Multi Dimensional Mass Spectrometry Data Analysis, 7th Asian Biophysics Association Symposium & Annual meeting of the Indian Biophysical Society, 2011年1月, India.(Invited Lecture)
- ② Mitsutoshi Setou, Mass Microscopy of Glycolipid, The Annual Conference of the Society for Glycobiology, 2010年11月, Florida. (Invited Lecture)
- ③ Mitsutoshi Setou, Mass Microscopy revealed the polarized distribution of membrane lipids in axons, The 10th Biennial Meeting of the Asia-Pacific Society for Neurochemistry, 2010年10月, Phuket.(Special Lecture)
- ④ Mitsutoshi Setou, Human Brain Pathology with Mass Spectrometry Imaging, MIT Stanley Center Seminar, 2008年12月, Cambridge. (Special Lecture)
- ⑤ Mitsutoshi Setou, Mass Imaging of Dynamic Metabolomics in Kainate signaling, Gordon Research Conferences Molecular and Cellular Neurobiology, 2008年6月, Hong Kong. (Invited Lecture)

[図書] (計 3 件)

- ① Setou M. Ed. Imaging Mass Spectrometry: Protocols for Mass Microscopy. Springer, Tokyo. 2010.
- ② 瀬藤光利 編 質量顕微鏡法: イメージングマススペクトロメトリー実験プロトコール、シュプリンガー・ジャパン、2008年11月
- ③ 瀬藤光利 時間的・空間的な生命現象理解のための最新テクノロジー 実験医学、2010年28巻1号 p2-6

[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://www.hama-med.ac.jp/mt/setou/ja/>