



高性能質量分析計を用いたイメージングにより スフィンゴミエリンの組織内局在と酵素による制御を解明

研究成果のポイント

- ・高性能質量分析計^{注1}を用いてマウスの脳切片上でスフィンゴミエリン^{注2}の可視化に成功。
- ・特定の合成酵素によるスフィンゴミエリン組織内分布の制御メカニズムを解明。
- ・脂質分子の生理機能の解明や新しい診断マーカーの発見に期待。

研究成果の概要

脂質は種々の生物現象や疾患において重要な役割を持つことが分かっています。脂質分子の局在を可視化することはその生理機能を解明する上で有効な手段ですが、従来の手法では脂質分子の可視化は困難でした。私たちは、生体膜の構成成分として特に重要な脂質であるスフィンゴミエリンに注目し、質量分析計を用いて分子を可視化する手法であるイメージング質量分析^{注3}によりスフィンゴミエリン分子種の組織切片上での可視化に成功しました。また、セラミド合成酵素^{注4}ファミリーの組織内分布との比較から、スフィンゴミエリン分子種の局在がどのように制御されているかも明らかにしました。これらの成果は、スフィンゴミエリンをはじめとした脂質分子の生理機能の解明や新しい診断マーカーの発見につながると期待されます。

本研究は、文部科学省 先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラム補助金により実施された研究です。

論文発表の概要

研究論文名：Histological analyses by matrix-assisted laser desorption/ionization-imaging mass spectrometry reveal differential localization of sphingomyelin molecular species regulated by particular ceramide synthase in mouse brains (マトリックス支援レーザー脱離イオン化型質量分析装置を用いた組織学的解析によりマウスの脳において特定のセラミド合成酵素によって制御されたスフィンゴミエリン分子種の異なる局在を明らかにした)

著者：杉本正志^{1,5}、志水陽一^{2,4}、吉岡健⁵、若林雅人⁵、田中由香里⁶、東野賢一⁵、沼田義人⁵、酒井祥太³、木原章雄⁴、五十嵐靖之³、久下裕司^{1,2}

北海道大学(大学院医学研究科¹、アイソトープ総合センター²、大学院先端生命科学研究院³、大学院薬学研究院⁴)

塩野義製薬株式会社(シオノギ創薬イノベーションセンター⁵、医薬研究センター⁶)

公表雑誌：Biochimica et Biophysica Acta (生命科学を広く扱う国際誌)

公表日：米国東部時間 2015年10月1日(木)(オンライン公開)

研究成果の概要

(背景)

脂質は生体膜の構成をはじめとした種々の生物現象に関わる多機能性分子であり、複数の疾患に関与することが分かっています。中でもスフィンゴミエリンは細胞膜やマイクロドメイン^{注5}の構造を維持するために極めて重要です。分子の局在を可視化することはその生理機能を解明する上で有効な手段ですが、スフィンゴミエリンをはじめとする脂質は比較的単純な構造を持ちながら非常に多くの分子種が存在するため、免疫染色等の従来の手法では脂質分子の可視化は困難でした。

(研究手法)

スフィンゴミエリンはスフィンゴイド塩基と種々の鎖長の脂肪酸から構成されています。私たちは、マトリクス支援レーザー脱離イオン化法^{注6}によるフーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析計^{注7}を用いて、マウスの脳切片上におけるスフィンゴミエリンの分子種ごとの分布を特異的に可視化しました。また、特定のセラミド合成酵素遺伝子の組織内分布を *in situ* ハイブリダイゼーション^{注8}によって可視化し、培養細胞系を用いてセラミド合成酵素遺伝子をノックダウンしてスフィンゴミエリン分子種量の変化を測定しました。

(研究成果)

フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析計は最高クラスの質量分解能を持つことから、マウスの脳切片上で複数のスフィンゴミエリン分子種の特異的な検出・同定に成功しました。イメージング質量分析によりマウスの脳切片上でこれらのスフィンゴミエリンを分子種ごとに可視化すると、炭素数 18 の長鎖脂肪酸^{注9}を持つスフィンゴミエリンが灰白質に、炭素数 24 の極長鎖脂肪酸^{注10}を持つスフィンゴミエリンが白質にそれぞれ特徴的に分布していました。灰白質と白質は機能が大きく異なっていることから、スフィンゴミエリンは分子種ごとに生理機能が異なる可能性が示唆されました。また、スフィンゴミエリンの鎖長とセラミド合成酵素ファミリーの組織内分布には相関があり、スフィンゴミエリンの組織内局在はセラミド合成酵素によって制御されている可能性が示唆されました。この結果は、培養細胞系を用いたセラミド合成酵素遺伝子の発現抑制実験によって、対応するスフィンゴミエリン分子種が減少したことにより証明されました。

(今後への期待)

これまで可視化できなかったスフィンゴミエリンが、イメージング質量分析を用いて可視化できることが示されました。また、分子種ごとの可視化によってそれぞれが脳の特定の領域に分布し、酵素によって厳密に制御されていることも分かりました。私たちの研究成果を基に、スフィンゴミエリンをはじめとした脂質分子の組織学的解析から病気との関係が明らかになれば、新たな診断マーカーの発見につながると期待されます。

お問い合わせ先

北海道大学 未来創薬・医療イノベーション推進室 [広報担当：和田]

TEL : 011-706-7798 FAX : 011-706-7799 E-mail : innovation@cris.hokudai.ac.jp

ホームページ : <http://www.cris.hokudai.ac.jp/cris/innovahome/index.html>

【用語説明】

注 1) 質量分析計：質量分析をするための装置。種々のイオン化法で物質を原子・分子レベルの微細なイオンにし、その質量数と数を測定することで物質を分離・検出する手法を質量分析と言う。

注 2) スフィンゴミエリン：極性基としてホスホコリンを持つスフィンゴ脂質の一種であり、セラミドを母体骨格に持つ。細胞膜中に多く存在し、神経細胞の軸索を膜状に覆う髄鞘の構成成分の一つとして知られる。

注 3) イメージング質量分析：固体試料から気化イオンを直接生成するイオン化法を用いた質量分析により、組織切片等において位置情報を保持しながら物質を可視化する方法。

注 4) セラミド合成酵素：スフィンゴイド塩基とアシル CoA からセラミドを合成する酵素。6 種類のアイソザイムが存在し、それぞれが特定の鎖長のアシル CoA に対して基質特異性を示す。セラミド合成酵素 1 は C18 アシル CoA に、セラミド合成酵素 2 は C22 や C24 アシル CoA に対してそれぞれ基質特異性を有することが知られている。

注 5) マイクロドメイン：スフィンゴ脂質やコレステロールを主要構成成分とする生体膜上の微小領域であり、シグナル伝達、膜輸送、細胞骨格系の編成など、様々な細胞機能に重要な役割を果たしている。

注 6) マトリックス支援レーザー脱離イオン化法：試料をマトリックスと呼ばれるイオン化支援剤に溶解させて固化し、レーザーを照射して物質を気体状のイオンにする方法。

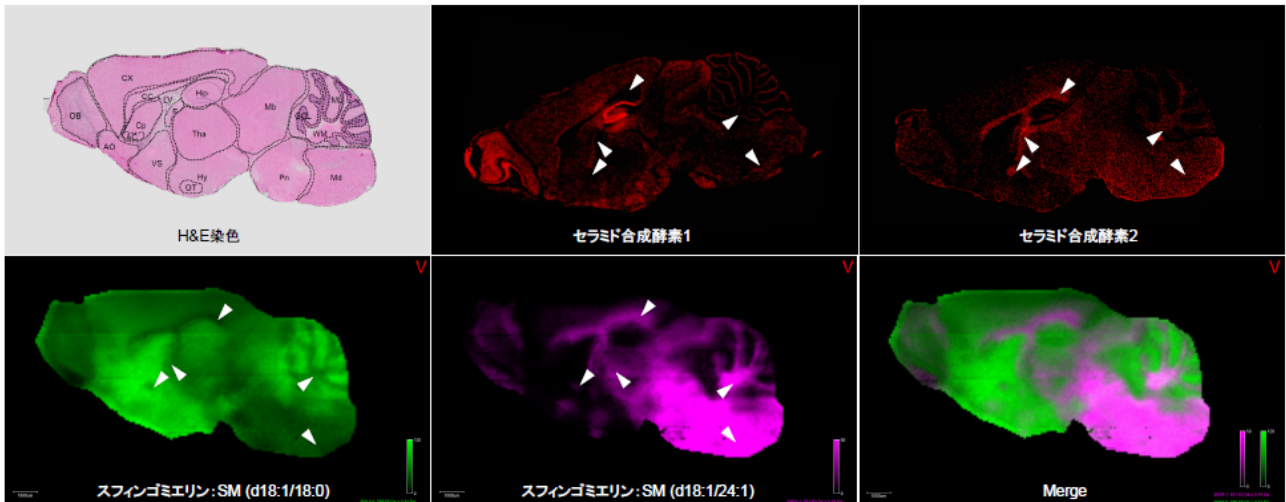
注 7) フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析計：イオンを高磁場でセルに導入し、サイクロトロン運動の周回周期から得られた FID データをフーリエ変換することを利用した質量分析計。

注 8) in situ ハイブリダイゼーション：固定された組織や細胞に含まれる特定の遺伝子を、特異的なプローブを用いて可視化する手法。

注 9) 長鎖脂肪酸：一般的に炭素数 11~20 の脂肪酸を指す。

注 10) 極長鎖脂肪酸：一般的に炭素数 21 以上の脂肪酸を指す。

【概念図】



脳切片上において In situ ハイブリダイゼーションにより可視化したセラミド合成酵素とイメージング質量分析により可視化したスフィンゴミエリン分子種の分布の比較画像。矢印の先の部分が脳における白質部分。セラミド合成酵素 1 と炭素数 18 の長鎖スフィンゴミエリン(SM(d18:1/18:0)) は白質に分布が認められないが、セラミド合成酵素 2 と炭素数 24 の極長鎖スフィンゴミエリン(SM(d18:1/24:1)) は白質に分布が認められる。