Spatiotemporal alteration of phospholipids and prostaglandins in a rat model of spinal cord injury

著者	花田 充
発行年	2014-03-17
URL	http://hdl.handle.net/10271/2727

doi: 10.1007/s00216-012-5900-3

博士(医学) 花田 充

論文題目

Spatiotemporal alteration of phospholipids and prostaglandins in a rat model of spinal cord injury
(脊髄損傷モデルラットにおけるリン脂質およびプロスタグランディンの時間的位置的变化)

論文の内容の要旨

[はじめに]

中枢神経系細胞において、様々な脂質が細胞膜の構成や prostaglandin(PG) のような生理活性脂質としてシグナル伝達に重要な役割を果たすことが知られている。このため脂質代謝の異常は中枢神経系障害に関与する可能性がある。過去の脂質研究は、生体組織から抽出した液体試料における生化学的定量が中心であった。しかし、近年登場した Imaging Mass Spectrometry(IMS) は、脂質の組織内位置的情報を保持したまま解析でき、画像上での脂質異常評価を可能にする。特に、マトリックス支援レーザー脱離イオン化 (matrix-assisted laser desorption/ionization: MALDI) 法を用いた IMS は、脂質研究の重要かつ実用的なツールで、同一標本中の複数脂質を同時に検出可能である。従って、IMS は脊髄損傷(spinal cord injury: SCI) の病態への脂質変化の影響に関して、定量的かつ質的評価に位置情報を加えて検討することができ、これは効率的な治療法の発見に至る可能性があると考えられた。そこで、SCI の発生と病態の進行過程において、IMS を用いて脂質の変化を調査した。

[方法]

Sprague-Dawley 雌ラット、9 週齢を用い、T10 レベルで IH impactor によって 200 kdyn で一定の損傷を脊髄に加えた。損傷後 12 時間、1 日、1 週、2 週、8 週の各時点で、それぞれ 3 個体から脊髄を摘出した。脊髄は、損傷部、損傷部より 5 mm 末梢、損傷部より 10 mm 中枢、5 mm 中枢の 4 面で薄切し、スライドガラス上の組織標本とした。残った脊髄より LC-ESI-MS/MS によって PG の定量を行った。また、正常脊髄においても実験を行った。IMS のマトリックスとして、リン脂質のうち phosphatidylcholine(PC) を検出するため、dihydroxy benzoic acid(DHB) を用い、スライドガラスにスプレーコートした。IMS 装置は time of flight(TOF) /TOF 型を用いた。本研究は、動物実験施設の承認を得て行った。

[結果および考察]

正常脊髄における IMS で、質量電荷比(m/z) 700~900 において約 150 もの分子イオンピークが検出された。このうち 14 のピークについて、過去に報告したデータに基づき PC 分子種として同定した。イメージングの結果、同じ PC 分子種であっても、含有する脂肪酸の違いで各々特異な組織内分布を示した。最も多量に存在する PC 分子種(diacyl-16:0/18:1)は脊髄の灰白質領域全体に一樣に分布していた。それ以外のオレイン酸(18:1)含有 PC は白質領域で検出された。一方、docosahexaenoic acid(DHA) (22:6) 含有 PC は、灰白質領域に局限して存在し、特に PC(diacyl-16:0/22:6) は前角細胞の分布に一致した為、この細胞の膜構成に関与することが示された。DHA 含有 PC は、SCI 後は 1 日より減少して 8 週まで減少したままで、脊髄神経の不可逆的損傷変化を表していることが示唆された。これとは異なり、arachidonic acid(AA) (20:4) 含有 PC は

SCI 後 1 週でのみ著明に増加していた。これらは HE 染色との対比で、免疫細胞の浸潤部と局在と一致し、時期的に破綻した血液脊髄関門を透過して浸潤した免疫細胞に由来する可能性があることを示唆した。そのような免疫細胞が AA に由来する PG を含む生理活性脂質を産生するとした報告があり、また IMS で同時に観察された LPC(18:0) の同部位での増加は PG の産生を間接的に示唆すると考えられた。そこで PG 定量を行ったが、5 つの PG はそれぞれ特異的な変化を示した。特に PGE2 は SCI 後 1 日～1 週で上昇し、2 週以降は減少したことから、浸潤免疫細胞が PGE2 を産生した可能性が考えられた。SCI 後、時期特異的な変化を示すこれらの PG 種の定量は、SCI 後の炎症(急性か慢性か)の段階、病態を評価するのに有用である可能性がある。

[結論]

前角細胞に分布する DHA 含有 PC(diacyl-16:0/22:6) は、SCI 後 1 日より減少して 8 週まで減少したままであった。AA(20:4) 含有 PC は SCI 後 1 週において損傷部を中心に著明に増加していた。IMS での分析によって、同じ PC 分子種であっても、PC の含有する脂肪酸の違いによって特異的な位置的分布と SCI 後の特異的な時間的な変化を示すことが分かった。PG の定量では、各 PG 種の変化は SCI 後の時期によって異なっていた。