

平成29年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書
〔追跡評価用〕

平成29年 4 月 12 日現在

研究代表者 氏名	清水 孝雄	所属研究機関・ 部局・職 (研究期間終了 時)	東京大学・大学院医学系研究科・教授
研究課題名	リン脂質代謝と脂質メディエーターの総合的研究		
課題番号	19002011	研究期間	平成19年度～平成23年度
研究組織 (研究期間終了 時)	研究代表者 清水 孝雄（東京大学・大学院医学系研究科・教授） 研究分担者 柳田 圭介（東京大学・大学院医学系研究科・助教） 高橋 利枝（東京大学・大学院医学系研究科・助手） 浜野 文三江（東京大学・大学院医学系研究科・助教）		

【補助金交付額】（研究期間全体）（直接経費）： 611,660 千円

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか

特別推進研究によってなされた研究が、どのように発展しているか、次の(1)~(4)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究の概要

(研究期間終了後における研究の実施状況及び研究の発展過程がわかるような具体的内容を記述してください。)

特別推進研究では、課題1(脂質代謝酵素)、課題2(生理活性脂質受容体)、課題3(脂質メタボローム解析)の三つの柱で、それぞれ重要な成果を挙げた。代表的なものは以下の通りである。

課題1: リン脂質膜リモデリングに関与する三つの遺伝子ファミリーを同定し、その中で8つの遺伝子を単離、解析した。また、5つの遺伝子欠損マウスを作成した。ホスホリパーゼA2、ジアシルグリセロールリパーゼ欠損マウスの表現形を解析した。

課題2: リゾホスファチジン酸(LPA)の新規受容体、LPA4(2003年)に続き、LPA6(2010年)を見出し、他のグループの同定したLPA5と併せて、non-Edg LPA receptor familyという概念を提唱した。これは従来のEdg(endothelial differentiation gene)受容体(LPA1-3)と全く異なる構造を持つ受容体ファミリーで、様々な生理機能を持つことが予想された。

課題3: 脂質メタボローム解析では14種のエイコサノイドの分離、定量法を高感度化し、さらに1,000種を超えるリン脂質の網羅的解析への方法論を開発した。

これらの研究成果を元に、その後の5年間での研究成果は以下の通りである。

1. グリセロリン脂質多様性及び非対称性(グリセロール骨格のsn-1位には飽和脂肪酸が多く、sn-2位には多価不飽和脂肪酸が多く蓄積)の形成に関与する酵素ファミリーを解析する過程で、従来とは異なる形成機構を提唱した。即ち、アラキドン酸(20:4)、パルミチン酸(16:0)、オレイン酸(18:1)はランズ回路(リゾPC→PC)で導入されるが、リノール酸(18:2)とDHA(22:6)はケネディ経路でLPA→PAの段階で決定されること。リゾPCをPCに変換するLPCアシル転位酵素(LPCAT)は4種類あること、リゾホスファチジン酸アシル転位酵素(LPAAT)は6種類あり、それぞれが脂肪酸特異性を持つことを明らかにした。10~20種類のアシル転位酵素が、基質を異なるKmと速度で導入し、1,000種類を超えるグリセロリン脂質を生成すると考えられた。
2. ゲノム編集技術で、個々の酵素遺伝子を欠損した細胞やマウスを作成し、膜リン脂質多様性を持つ生物学的意味を明らかにしつつある。この中で、例えば1位、2位にいずれもパルミチン酸を持つホスファチジルコリン(DPPC)は肺サーファクタントとして重要であり(*Cell Metabolism*, 2014)、また、網膜形成にも関与すること(*FASEB J.* 2016)を明らかにした。また、アラキドン酸を導入する酵素(LPCAT3)を欠損させると、新生仔致死をおこし、小腸細胞および肝に脂肪蓄積を起こすことを明らかにした。アラキドン酸含有リン脂質はエイコサノイド産生だけではなく、トリグリセリドの運搬特にリポタンパク合成に重要であることを示した(*eLife*, 2015)。未発表であるが膜リン脂質にDHAを導入する酵素も特定し、この酵素を欠損させると、網膜変成、精子形成不全、筋肉障害などがおこることを見出した(未発表)。
3. 受容体に関しては、次の研究を行った。LPA4受容体は血管やリンパ管に発現し、これを欠損したマウスは一部胎性致死となった(*Blood*, 2010)。その他、脂肪細胞に多く発現し、脂肪細胞でのミトコンドリア形成などを阻害している。従って、生き残った遺伝子欠損マウスに高脂肪食を与えると、野性型と異なり、皮下脂肪の蓄積はあるものの、脂肪肝はおこらず、耐糖能も正常な健康肥満となった(*Nature Med.* 改訂中)。ロイコトリエンB4第2受容体(BLT2)は血小板由来の12-HHT(炭素数17の水酸化脂肪酸)に反応し、創傷治癒を引き起こすことを明らかにした(*J. Exp. Med.* 2014)。
4. 脂質メタボローム研究は次の発展をした。従来の14種類から、不活性代謝産物、非酵素的酸化脂質などを含め、150種類のエイコサノイドおよび、各種の脂肪酸を生体サンプルから抽出し、定量する方法を開発し(*J. Chromatogr.*, 2015)、尿、血液などの患者サンプルを用いて解析を進めている。また、1,000種類を超えるリン脂質を幅広くプロファイリングし(厳密な定量は困難で、この表現を使う)、上記の遺伝子欠損マウス組織、また、アスピリン喘息、糖尿病性腎症などの患者検体からの測定を進めている(研究継続中)。また、種々のメーカーの質量分析データを解析できるソフトウェアを開発し、オープンウェアとして、脂質研究者の利用のため、広く頒布している。

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など（研究の発展過程でなされた研究成果の発表状況を記述してください。）

1. Eto, M., Shindou, H., Koeberle, A., Harayama, T., Yanagida, K., Shimizu, T. (2012) Lysophosphatidylcholine acyltransferase 3 is the key enzyme for incorporating arachidonic acid into glycerophospholipids during adipocyte differentiation. *Int J Mol Sci.* 13. 16267-80
2. Koeberle, A., Shindou, H., Harayama, T., and Shimizu, T. (2012) Palmitoleate is a mitogen, formed upon stimulation with growth factors, and converted to palmitoleoyl-phosphatidylinositol. *J. Biol. Chem.* 287, 27244-27254.
3. Ishihara, K., Miyazaki, A., Nabe, T., Fushimi, H., Iriyama, N., Kanai, S., Sato, T., Uozumi, N., Shimizu, T., and Akiba, S. (2012) Group IVA phospholipase A2 participates in the progression of hepatic fibrosis. *FASEB J.* 26, 104111-104121.
4. Echigo, R., Shimohata, N., Karatsu, K., Yano, F., Kayasuga-Kariya, Y., Fujisawa, A., Ohto, T., Kita, Y., Nakamura, M., Suzuki, S., Mochizuki, M., Shimizu, T., Chung, U-i., and Sasaki, N. (2012) Trehalose treatment suppresses inflammation, oxidative stress, and vasospasm induced by experimental subarachnoid hemorrhage. *J. Translational Medicine* 10, 80-85.
5. Saito, Y., Watanabe, K., Fujioka, D., Nakamura, T., Obata, JE., Kawabata, K., Watanabe, Y., Mishina, H., Tamaru, S., Kita, Y., Shimizu, T. and Kugiyama, K. (2012) Disruption of group IVA cytosolic phospholipase A2 attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury partly through inhibition of TNF- α -mediated pathway. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 302, H2018-2030.
6. Sasaki, F., Okuno, T., Saeki, K., Min, L., Onohara, N., Kato, H., Shimizu, T., and Yokomizo, T. (2012) A high-affinity monoclonal antibody against the FLAG tag useful for G-protein-coupled receptor study. *Anal. Biochem.* 425, 157-165.
7. Jönsson, F., Mancardi, DA., Zhao, W., Kita, Y., Iannascoli, B., Khun, H., van Rooijen, N., Shimizu, T., Schwartz, LB., Daeron, M., and Bruhns, P. (2012) Human Fc γ RIIA induces anaphylactic and allergic reactions. *Blood* 119, 2533-2544.
8. Koeberle, A., Shindou, H., Harayama, T., Yuki, K., and Shimizu, T. (2012) Polyunsaturated fatty acids are incorporated into maturing male mouse germ cells by lysophosphatidic acid acyltransferase 3. *FASEB J.* 26, 169-180.
9. Hishikawa, D., Shindou, H., Harayama, T., Ogasawara, R., Suwabe, A. and Shimizu, T. (2013) Identification of Sec14-like 3 as a novel lipid-packing sensor in the lung. *FASEB J.* 27. 5131-40.
10. Hashimoto-dani, Y., Ohno-Shosaku, T., Tanimura, A., Kita, Y., Sano, Y., Shimizu, T., Marzo, Vincenzo Di, and Kano, M. (2013) Acute inhibition of diacylglycerol lipase blocks endocannabinoid-mediated retrograde synaptic suppression: evidence for on-demand biosynthesis of 2-arachidonoylglycerol. *J. Physiol.* 591. 4765-76.
11. Tokuoka M, S., Kita, Y., Shindou, H., Shimizu, T. (2013) Alkylglycerol monooxygenase as a potential modulator for PAF synthesis in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 436. 306-12.
12. Yoshikawa, K., Kita, Y., Furukawa, A., Kawamura, N., Hasegawa-Ishii, S., Chiba, Y., Takei, S., Maruyama, K., Shimizu, T., Shimada, A. (2013) Excitotoxicity-induced immediate surge in hippocampal prostanoid production has latent effects that promote chronic progressive neuronal death. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 88. 373-81.
13. Taketomi Y, Ueno N, Kojima T, Sato H, Murase R, Yamamoto K, Tanaka S, Sakanaka M, Nakamura M, Nishito Y, Kawana M, Kambe N, Ikeda K, Taguchi R, Nakamizo S, Kabashima K, Gelb MH, Arita M, Yokomizo T, Nakamura M, Watanabe K, Hirai H, Nakamura M, Okayama Y, Ra C, Aritake K, Urade Y, Morimoto K, Sugimoto Y, Shimizu T, Narumiya S, Hara S, Murakami M. (2013) Mast cell maturation is driven via a group III phospholipase A2-prostaglandin D2-DP1 receptor paracrine axis. *Nature Immunol.* 14. 554-63
14. Koeberle, A., Shindou, H., Koeberle, SC., Laufer, SA., Shimizu, T., Werz, O. (2013) Arachidonoyl-phosphatidylcholine oscillates during the cell cycle and counteracts proliferation by suppressing Akt membrane binding. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110. 2546-51.
15. Okubo, H., Ito, Y., Minamino, T., Mishima, T., Hosono, K., Shibuya, M., Yokomizo, T., Shimizu, T., Watanabe, M., Majima, M. (2013) BLT1 signaling promotes liver repair following hepatic ischemia/reperfusion injury through enhancement of EGF on recruited macrophages. *FASEB J.* 27, 3132-3143
16. Nakamura, M., Yasuda, D., Hirota, N., Yamamoto, T., Yamaguchi, S., Shimizu, T., and Nagamune, T. (2013) Amino acid residues of G-protein coupled receptors critical for endoplasmic reticulum export and trafficking. *Methods Enzymol.* 521, 203-216.
17. Yoshioka, W., Kawaguchi, T., Fujisawa, N., Aida-Yasuoka, K., Shimizu, T., Matsumura, F., and Tohyama, C. (2014) Predominant role of cytosolic phospholipase A2 α in dioxin-induced neonatal hydronephrosis in mice. *Sci. Rep.* 4, 4042
18. Tarui, M., Shindou, H., Kumagai, K., Morimoto, R., Harayama, T., Hashidate, T., Kojima, H., Okabe, T., Nagano, T., Nagase, T., and Shimizu, T. (2014) Selective inhibitors of a PAF biosynthetic enzyme lysophosphatidylcholine acyltransferase 2. *J. Lipid Res.* 55. 1386-1396
19. Harayama, T., Eto, M., Shindou, H., Kita, Y., Otsubo, E., Hishikawa, D., Ishii, S., Sakimura, K., Mishina, M., and Shimizu, T. (2014) Lysophospholipid acyltransferases mediate phosphatidylcholine diversification to achieve the physical properties required in vivo. *Cell Metabolism.* 20. 295-305
20. Morimoto, R., Shindou, H., Tarui, M., and Shimizu, T. (2014) Rapid Production of Platelet-activating Factor Is Induced by Protein Kinase C α -mediated Phosphorylation of Lysophosphatidylcholine Acyltransferase 2 Protein. *J. Biol. Chem.* 289.

21. Liu, M., Saeki, K., Matsunobu, T., Okuno, T., Koga, T., Sugimoto, Y., Yokoyama, C., Nakamizo, S., Kabashima, K., Narumiya, S., Shimizu, T. (2014). 12-Hydroxyheptadecatrienoic acid promotes epidermal wound healing by accelerating keratinocyte migration via BLT2 receptor. *J. Exp. Med.* 211.1063-78
22. Sumida, H., Yanagida, K., Kita, Y., Abe, J., Matsushima, K., Nakamura, M., Ishii, S., Sato, S., and Shimizu, T. (2014) Interplay between CXCR2 and BLT1 facilitates neutrophil infiltration and resultant keratinocyte activation in a murine model of imiquimod-induced psoriasis *J. Immunol.* 192.4361-4369
23. Eto, M., Shindou, H., and Shimizu, T. (2014) A Novel Lysophosphatidic Acid Acyltransferase Enzyme (LPAAT4) with a Possible Role for Incorporating Docosahexaenoic Acid into Brain Glycerophospholipids. *Biochem Biophys Res Commun.* 443. 718-24.
24. Sugatani, J., Sadamitsu, S., Yamaguchi, M., Yamazaki, Y., Higa, R., Hattori, Y., Uchida, T., Ikari, A., Sugiyama, W., Watanabe, T., Ishii, S., Miwa, M., Shimizu, T. (2014) Antiobese function of platelet-activating factor: increased adiposity in platelet-activating factor receptor-deficient mice with age. *FASEB J.* 28. 440-52.
25. Hikiji, H., Endo, D., Horie, K., Harayama, T., Akahoshi, N., Igarashi, H., Kihara, Y., Yanagida, K., Takeda, J., Koji, T., Shimizu, T., and Ishii, S. (2014) TDAG8 activation inhibits osteoclastic bone resorption. *FASEB J.* 28. 871-9.
26. Hori, T., Nakamura, M., Yokomizo, T., Shimizu, T., and Miyano, M. (2015) The leukotriene B4 receptor BLT1 is stabilized by transmembrane helix capping mutations. *Biochem. Biophys. Res. Rep.* 4, 243-249.
27. Kita, Y., Yoshida, K., Tokuoka, M.S., Hamano, F., Yamazaki, M., Sakimura, K., Kano, M., Shimizu, T. (2015) Fever is mediated by conversion of endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol to prostaglandin E₂. *PLoS ONE*, 10, e0133663.
28. Harayama, T., Shindou, H., Kita, Y., Otsubo, E., Ikeda, K., Chiba, S., Weaver, T. and Shimizu, T. (2015). Establishment of LC-MS method for the analysis of palmitoylated surfactant proteins. *J. Lipid Res.* 56.1370-9.
29. Yamada, M., Kita, Y., Kohira, T., Yoshida, K., Hamano, F., Tokuoka, M. S., and Shimizu, T. (2015) A comprehensive quantification method for eicosanoids and related compounds by using liquid chromatography/mass spectrometry with high speed continuous ionization polarity switching. *J. Chrom. B.* 995-996:74-84.
30. Taniguchi, K., Hikiji, H., Okinaga, T., Hashidate-Yoshida, T., Shindou, H., Ariyoshi, W., Shimizu, T., Tominaga, K., and Nishihara T. Essential Role of Lysophosphatidylcholine Acyltransferase 3 in the Induction of Macrophage Polarization in PMA-Treated U937 Cells. (2015) *J. Cell Biol.* 116:2840-2848.
31. Hashidate-Yoshida, T., Harayama, T., Hishikawa, D., Morimoto, R., Hamano, F., Mitamura-Tokuoka, S., Eto, M., Tamura-Nakano, M., Yanobu-Takanashi, R., Mukumoto, Y., Kiyonari, H., Okamura, T., Kita, Y., Shindou, H., and Shimizu, T. (2015) Fatty acyl-chain remodeling by LPCAT3 enriches arachidonate in phospholipid membranes and regulates triglyceride transport. *eLife* 21;4. doi: 10.7554/eLife.06328.
32. Asahara, M., Ito, N., Yokomizo T., Nakamura, M., Shimizu, T., Yamada, Y. (2015) The absence of the leukotriene B4 receptor BLT1 attenuates peripheral inflammation and spinal nociceptive processing following intraplantar formalin injury. *MolPain* 2015,11,11
33. Yamaguchi, M., Matsui, M., Higa, R., Yamazaki, Y., Ikari, A., Miyake, M., Miwa, M., Ishii, S., Sugatani, J. and Shimizu, T. (2015) A platelet-activating factor (PAF) receptor deficiency exacerbates diet-induced obesity but PAF/PAF receptor signaling does not contribute to the development of obesity-induced chronic inflammation. *Biochem. Pharmacol.* 93, 482-495.
34. Yasuda, D., Imura, Y., Ishii, S., Shimizu, T., and Nakamura, M. (2015) The atypical N-glycosylation motif, Asn-Cys-Cys, in human GPR109A is required for normal cell surface expression and intracellular signaling. *FASEB J.* 29. 2412-22.
35. Koeberle, A., Pergola, C., Shindou, H., Koeberle, S.C., Shimizu, T., Laufer, S.A., and Werz O. (2015) Role of p38 mitogen-activated protein kinase in linking stearoyl-CoA desaturase-1 activity with ER homeostasis. *FASEB J.* 29. 2439-2449.
36. Shigematsu, M., Koga, T., Ishimori, A., Saeki, K., Ishii, Y., Taketomi, Y., Ohba, M., Jo-Watanabe, A., Okuno, T., Harada, N., Harayama, T., Shindou, H., Li JD, Murakami, M., Hoka, S., Yokomizo, T. (2016) Leukotriene B4 receptor type 2 protects against pneumolysin-dependent acute lung injury. *Sci Rep.* 6:34560. doi: 10.1038/srep34560.
37. Doi, H., Sato, K., Shindou, H., Sumi, K., Koyama, H., Hosoya, T., Watanabe, Y., Ishii, S., Tsukada, H., Nakanishi, K., and Suzuki, M. (2016) Blood-brain barrier permeability of ginkgolide: Comparison of the behavior of PET probes 7a-[18F]fluoro- and 10-O-p-[11C]methylbenzyl ginkgolide B in monkey and rat brains. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 24 (2016) 5148-5157.
38. Shimura, M., Shindou, H., Szyrwiel, L., Tokuoka, M.S., Hamano, F., Matsuyama, S., Okamoto, M., Matsunaga, A., Kita, Y., Ishizaka, Y., Yamauchi, K., Komura, Y., Lobinski, R., Shimizu, I., Shimizu, T. (2016) Imaging of Intracellular Fatty Acids by Scanning X-ray Fluorescence Microscopy. *FASEB J.* 30. 4149-4158
39. Kojo, K., Ito, Y., Eshima, K., Nishizawa, N., Ohkubo, H., Yokomizo, T., Shimizu, T., Watanabe, M., Majima, M. (2016) BLT1 signalling protects the liver against acetaminophen hepatotoxicity by preventing excessive accumulation of hepatic neutrophils. *Sci. Rep.* 6:29650. doi:10.1038/srep29650
40. Tabe, S., Hikiji, H., Ariyoshi, W., Hashidate-Yoshida, T., Shindou, H., Okinaga, T., Shimizu, T., Tominaga, K., and Nishihara, T. (2016) Lysophosphatidylethanolamine acyltransferase 1/membrane bound O-acyltransferase 1 regulates morphology and function of P19C6 cell-derived neurons. *FASEB J.* 30:2591-2601
41. Akagi, S., Kono, N., Ariyama, H., Shindou, H., Shimizu, T., and Arai, H. (2016) Lysophosphatidylcholine

acyltransferase 1 protects against cytotoxicity induced by polyunsaturated fatty acids. *FASEB J.* 30:2027-39
45. Shindou, H., Shiraishi, S., Tokuoka, M. S., Takahashi, Y., Harayama, T., Abe, T., Bando, K., Miyano, K., Kita, Y., Uezono, Y., Shimizu, T. (2017) Relief from neuropathic pain by blocking of platelet-activating factor-pain loop. *FASEB J.* (in press)
42. Kita, Y., Tokuoka, M. S. and Shimizu, T. (2017) Mediator lipidomics by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Biochim. Biophys. Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids* (in press).

Invited reviews:

1. Yanagida, K., Kurikawa, Y., Shimizu, T., and Ishii, S. (2013) Current progress in non-Edg family LPA receptor research. *Biochim Biophys Acta.* ;1831:33-41
2. Shindou H, Hishikawa D, Harayama T, Eto M and Shimizu T (2013) Generation of membrane diversity by lysophospholipid acyltransferases *J. Biochem.* 154. 21-8.
3. Hishikawa, D., Hashidate, T., Shimizu, T., and Shindou, H. (2014) Diversity and function of membrane glycerophospholipids generated by the remodeling pathway in mammalian cells. *J. Lipid Res.* 55:799-807

招待講演 (主要なものを掲載)

Shimizu, T. Lipid and aging. Ernst Schering Foundation Memorial Symposium. September, 10-12, 2012, Berlin

Shimizu, T. Cytosolic phospholipase A2 in health and disease (Life-time achievement award lecture) 5th International Conference on phospholipase A2 mediated signaling, May 21, 2013, New Orleans

Shimizu, T. Lipid mediators: enzymes and receptors (Outstanding Achievement Award Lecture in Lipids). 13th International Conference on Bioactive Lipids in Cancer, inflammation and Related Diseases. November 5, 2013, San Juan, Puerto Rico.

Shimizu, T. Glycerophospholipid metabolism and biological functions. 2013 FASEB Summer Research Conference, August 5, 2013, Niseko

Shimizu, T. Regulation of membrane phospholipids in health and disease. 55th International Conference on Bioscience of Lipids. June 27, 2014, Aberdeen, Scotland

Shimizu, T. Characterization of lysophospholipid acyltransferase in vitro and in vivo. Nobel Forum Symposium, August 27, 2014, Stockholm.

Shimizu, T. Diversity of membrane phospholipids: biosynthetic mechanism and biological significance. 6th International Conference on Phospholipase A2 and Lipid Mediators. February 10-12, 2015, Tokyo

Shimizu, T. Roles of polyunsaturated fatty acids in biology and pathology. Lipidmap annual meeting, May 17-18, 2016, La Jolla

清水孝雄 「脂質生物学研究、過去、現在、未来」 第57回日本脂質生化学会特別講演、2015年5月29日、東京

清水孝雄 「膜リン脂質研究への誘い—脂質多様性の意味を考える」。第90回日本薬理学会特別講演、2017年3月16日、長崎

1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(3) 研究費の取得状況（研究代表者として取得したもののみ）

平成24年～28年 学術振興会 基盤研究S 約2億円

平成25年 武田科学財団 特定研究 5,000万円（秋田大学石井聡教授と共同研究）

この他に AMED「産官学連携創薬推進事業、GAPFREE」の研究開発代表を務めている。患者サンプルの多層的オミクス研究により、疾患のバイオマーカー探索を初めとする医療技術開発、創薬が目標である。研究費は企業からの出資も含めて、5年間（平成27年～31年度）で33億円であるが、研究開発代表者は事務経費を除き、研究費を受け取っていない！

(4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

1. 膜リン脂質が多様性形成機構、その生物学的意味の解析

従来はケネディ経路で1,2位の区別無く、飽和脂肪酸を優先的に導入し、ランズ回路でリモデリングがおこるときに、2位に多価不飽和脂肪酸が入り、こうして非対称性と多様性が出来るという古典的概念であった。これに対して、研究概要1で述べた様に、異なる脂肪酸がケネディ経路とランズ回路でそれぞれ特定の酵素で導入されるという概念の提唱である。この仮説を証明するために、ここの遺伝子を欠損させた細胞やマウス個体を作成し、仮説の証明と共に、リン脂質多様性の生物学的意味を明らかにしつつある点であろう。現時点で、特筆すべきことは、(1) リン脂質膜のアラキドン酸は単にエイコサノイドの前駆体として貯蔵されているのでは無く、その脂質膜の流動性や曲率を形成し、トリグリセリドのリポタンパクへの転換を促すこと、(2) パルミチン酸の様な飽和脂肪酸を持つリン脂質は肺サーファクタントとして表面張力の低下に関わると共に、酸素毒性から肺を保護していることなどである。さらに、(3) 魚油として知られているDHAを含むリン脂質は網膜形成、精子成熟に必須であることを明らかにした研究である。

2. 生理活性脂質研究

リゾホスファチジン酸（LPA）に既存のLPA1-3の受容体以外に non-Edg LPA receptors (LPA4-6) が存在し、血管、リンパ管発生、脂肪細胞分化などの作用があることを示した。さらに遺伝子欠損患者の解析も進めた。これらの結果は LPA 産生酵素欠損の症状が LPA1-3 のトリプル欠損でも見えないことを考え合わせると、むしろ non-Edg type は LPA の主要な受容体群である可能性を示している。また、エンドカンナビノイド（2-アラキドノイルグリセロール）が海馬の逆行性神経伝達に関わること、12-HHT が創傷治癒に関与することを共同研究で発見した事も重要な発見である。

3. 脂質メタボロームの展開と応用：

150種に及ぶ脂肪酸代謝物の一斉定量法の開発や多数のリン脂質プロファイリング技術創成は、従来の仮説立脚、分子注目型研究から、トップダウン研究（症候から、分子発見型研究）への第一歩となっている。実際、この方法を用いて、各種遺伝子改変マウスの組織脂質解析や、疾患バイオマーカー探索が進められている。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況

特別推進研究の研究成果が他の研究者に活用された状況について、次の(1)、(2)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

(1) 学界への貢献の状況（学術研究へのインパクト及び関連領域のその後の動向、関連領域への関わり等）

脂質研究、特にリン脂質や中性脂質がその脂肪酸鎖により異なる機能を持つ点に関しては、この特別推進研究で、我が国を初め、広く世界の脂質研究者の関心呼び研究が広がったと考えられる。大ブレークではないが、引用数は確実に増加している。こうした研究の国際性と先駆性は、京都大学の成宮及び清水が共同で脂質関連のキーストン会議を日本で主催し（2010年、京都）、また、国際学会でいくつかの重要な賞を受けていることから推測される（成宮、清水、Life time achievement award, 清水、Journal of Lipid Research Award, 清水、Outstanding Achievement Award of Lipids など）。

我が国では、文部科学省科学研究費 新学術領域研究「脂質クオリティが解き明かす生命現象」（リポクオリティ）分野（有田誠代表）が平成27年より開始した。また、日本医療研究開発機構（AMED）のCREST事業で、平成26年度より「疾患代謝」（清水孝雄総括）、また平成27年度より同じくCREST事業で「機能性脂質」（横山信治総括）が開始し、従来の脂質研究者の研究の発展を促進すると同時に、様々な分野の研究者の糾合が始まっている。二つのCRESTに対応する「さきがけ」あるいは「プライム」でも脂質研究を目指す若手研究者が多く応募し、新たな技術開発を含む、研究を進めている。脂質データベースの作成も本特別推進計画と「メタボローム講座」の研究の両方で支えて来たが、特別推進終了後は、新学術領域、あるいは「機能性脂質」（CREST）で引き継いでおり、EU及び米国との間で、命名法の統一、ナンバリングの標準化を行い、データシェアリングを進めている。

日本は伝統的に脂質生化学の研究で世界をリードしていた（京大沼、早石、東大山川、野島、農工大遠藤、岩手医科大、藤原など）。しっかりとした脂質生化学の基礎の上に、代表者の特別推進の研究成果も加わり、脂質生物学や脂質栄養学が発展する基礎を築いたと自負している。

代表者は従来、生理活性脂質の産生酵素やそのGタンパク共役受容体の研究を進めてきたが、平成15年（2003年）に研究を膜リン脂質の多様性に展開し、現在に至っている。同時に、この間、脂質解析技術の開発を目指し、東大医学部に日本初の「メタボローム講座」を設立した。この10数年間で多くの新しい技術やソフトウェアが開発され、また、20名を越えるメタボローム研究者が育ち、全国で大学教員あるいは研究所PIとなって、活躍している。メタボローム講座は小野薬品工業及び島津製作所の寄付講座（現在は社会連携講座）であるが、ここでの技術開発と特別推進研究通算二期での生物学的アプローチが平行して進んだ。

2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況（続き）

(2) 論文引用状況（上位10報程度を記述してください。）

【研究期間中に発表した論文】

No	論文名・著者名・発行年・ページ数等	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Update of the lipidmaps comprehensive classification system of lipids. Murphy, R. , Shimizu, T. et al. (2009) <i>Journal of Lipid Res.</i> 50, 9-14	日本、米国、EUの合同委員会による脂質データベース統合と命名法の標準化（改訂版）	562
2	Adiponectin and AdipoR1 regulate PGC-1 α and mitochondrial by Ca and AMPK/Sirt1, Iwabu, M., Shimizu, T., Kadowaki, T. (2010) <i>Nature</i> 464, 1313-1319	アディポネクチン受容体欠損マウスの解析から、本物質が筋肉の受容体を介して、カルシウム導入、ミトコンドリア形成、ヒストン脱アセチル化を引き起こす。	535
3	Lipid mediators in health and disease. Enzymes and receptors as therapeutic target for regulation of immunity and inflammation. Shimizu, T. (2009) <i>Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.</i> 49, 123-150	生理活性脂質と膜リン脂質代謝の研究の現状と今後の方向を示した総説。米国のいくつかの大学（コーネル、ハーバード大など）で学生教育に使われている。	300
4	Basophils play a pivotal role in IgG-mediated but not IgE-mediated systemic anaphylaxis. Tsujimura, Y. ... Shimizu, T. and Karasuyama, H. (2008) <i>Immunity</i> 28, 495-497	ある種のアナフィラキシー反応に IgG-好塩基球が重要な役割を果たし、この反応に血小板活性化因子が関与することを証明。	271
5	The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol produced by diacylglycerol lipase a mediates retrograde suppression of synaptic transmission. Tanimura, A. ... Shimizu, T., Kano, M (2010, <i>Neuron</i> 65, 320-327	アラキドン酸代謝物（エンドカンナビノイド）が神経伝達の逆行性伝達物質として働くことを提唱	269
6	Acyl-CoA: lysophospholipid acyltransferase. Shindou, H and Shimizu, T. (2009) <i>J. Biol. Chem.</i> 284, 1-5	清水研究室で発見されたアシル転位酵素群の概説。膜リン脂質多様性を説明	234
7	Identification and characterization of a novel lysophosphatidic acid receptor, p2y5/LPA6. Yanagida, K. ... Shimizu, T. (2009) <i>J. Biol. Chem.</i> 284, 17731-17741	リゾホスファチジン酸の新しい受容体、LPA6を同定し、その組織分布、細胞内シグナル系を明らかにした。	187
8	A single enzyme catalyzes both PAF-production and membrane biogenesis of inflammatory cells. Harayama, T. ... Shimizu, T. (2007), <i>J. Biol. Chem.</i> 282, 6532-6539.	アシル転位酵素の一つ（LPCAT2）が膜リン脂質を作ると同時に、血小板活性化因子を生合成することを証明。	164
9	Discovery of a lysophospholipid acyltransferase family essential for membrane asymmetry and diversity. Hishikawa, D. Shimizu, T. (2008) <i>PNAS USA</i> 105, 2830-2835	膜リン脂質アシル転位酵素が構造的に大きく三つのファミリーに分類されることを見つけ、特に従来タンパクアシル化を担うと思われたMBOATファミリーに新規の脂質代謝酵素を発見。	161
10	Recent progress on acyl-CoA:lysophospholipid acyltransferase research. Shindou, H. ... Shimizu, T. (2009), <i>J. Lipid Res.</i> 50, 546-551	膜脂質多様性と非対称性の生成機構に関する実験的概説。特に質量分析による詳細なデータを示した。	159

【研究期間終了後に発表した論文】

No	論文名・著者名・発行年・ページ数等	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	Prostaglandin E2-prostaglandin E receptor subtype 4 (EP4) signaling mediates UV irradiation-induced systemic immunosuppression. Soontrapa, K., Shimizu, T. and Narumiyam S. (2012), <i>PNAS USA</i> 108, 6668-6673	紫外線照射により引き起こされる全身性の免疫抑制にプロスタグランジン E2 とその受容体の一つが関与することを証明。	79
2	Human FcγRIIA induced anaphylactic and allergic reactions. Jonsson, F., Shimizu, T. et al. (2012) <i>Blood</i> 119, 2533-2544	ヒトのアナフィラキシー反応では、IgG がその受容体の一つの FcγRIIA を介しておこすことを提唱し、このプロセスに生理活性脂質の関与を示唆	71
3	Update on leukotriene, lipoxin and oxoeicosanoid receptors. IUPHAR Review 7. Evans, JF, Shimizu, T. et al. (2014) <i>Brit. J. Pharmacol.</i> 171, 3551-3574	国際薬理学連合による生理活性脂質命名法の統一化、標準化の要約	71
4	Mast cell maturation is driven via group III phospholipase A2-prostaglandin D2-DP1 receptor paracrine axis. Taketomi, Y., Shimizu, T., and Murakami, M. (2013) <i>Nature Immunol.</i> 14, 554-563	マスト細胞の成熟過程に3型ホスホリパーゼ A2 が関与し、これから生合成されるプロスタグランジン D2 が関与していることを種々の遺伝子欠損マウスより証明	49
5	Current progress in non-Edg family LPA receptor research. Yanagida, K., Shimizu, T. 2013, <i>Biochim. Biophys Acta (Lipid)</i> 1831, 33-41	私共の見出した新規LPA受容体群(non-Edg type LPA receptor family)の性質、生理機能などを要約し、紹介した総説。	47
6	Trehalose treatment suppresses inflammation, oxidative stress, and vasospasm induced by experimental subarachnoid hemorrhage. Echigo, R. ... Shimizu, T. et al. (2012) <i>J. Translational Med.</i> 10:80	実験的なクモ膜下出血にトレハロースを用いて脳機能障害を最小にする試み	44
7	12-Hydroxyheptadecatrienoic acid promotes epidermal wound healing by accelerating keratinocyte migration via BLT2 receptor. Liu, M., Shimizu, T et al. <i>J. Exp. Med.</i> 211, 1063-1078	研究期間に12-HHTの受容体を発見したが、この脂肪酸が血小板で作られ、上皮細胞の遊走や創傷治癒に関係することを証明	33
8	Polyunsaturated fatty acids are incorporated into maturing male mouse germ cells by lysophosphatidic acid acyltransferase 3. Koerberle, A., Shimizu, T. (2012), <i>FASEB J.</i> 26, 169-180	マウスの精子はDHAを初め様々な多価不飽和脂肪酸を多く含むが、この導入に関与するのがLPAAT3という新規遺伝子。	28
9	Acute inhibition of diacylglycerols lipase blocks endocannabinoid retrograde signaling. Hashimoto, Y., Shimizu, T., Kano M. (2013) <i>J. Physiol.</i> 591, 4756-4776	ジアシルグリセロールリパーゼを薬理的に阻害するとエンドカンナビノイドによる逆行性神経伝達を阻害する。研究期間の文献5の追跡論文	28
10	Generation of membrane diversity by lysophospholipid acyltransferases. Shindou, H., Shimizu, T. (2013). <i>J. Biochem.</i> 154, 21-28	膜リン脂質多様性形成に関与するアシル基転位酵素の総説、研究動向を日本生化学会の英文誌に発表。	32

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報

次の(1)、(2)の項目ごとに、該当する内容について具体的かつ明確に記述してください。

(1) 研究成果の社会への還元状況（社会への還元の程度、内容、実用化の有無は問いません。）**1. 英文論文公表、国際学会、国内学会での研究成果発表（市民公開講座も含む）上記参照****2. 特許出願 特許出願公開番号**

2012-239450 LPA 受容体拮抗薬による脂肪肝抑制、耐糖能改善、肝硬変の予防
その他出願中 2 件

3. メディアなどによる広報、啓発活動

平成 26 年 3 月 31 日 「日本産業新聞」ほぼ 1 面で詳細に特集
“体内炎症に関わる物質、網羅的測定可能に。国際医療センターなど、基盤作る日本人研究者”

平成 29 年 4 月 4 日 「日本経済新聞」
“鎮痛薬候補発見、医療用麻酔効かない痛み、国立国際医療研究センターなど”

4. 研究成果に基づく産学連携（医療技術開発、創薬へ向けて）

東京大学社会連携講座（旧寄付講座）の設置

平成 25 年～平成 27 年 リピドミクス講座

平成 28 年～平成 30 年 同延長

脂質解析の人材育成、質量分析計のプロトタイプの製品化、エイコサノイド測定パッケージの創出を共同
アスピリン喘息、糖尿病性腎症の早期診断に関する前向き、非侵襲臨床試験

国立国際医療研究センター 企業連携研究部設置

平成 28 年～ 小野薬品連携研究部

人材育成、脂質創薬に関する共同研究（受容体拮抗薬、酵素阻害剤の開発、前臨床試験など）

5. 高校生に対する研究室開放、公開講座、配達授業など（筑波大付属高校、桜陰女子、浦和高校など）

3. その他、効果・効用等の評価に関する情報（続き）

(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況（助教やポスドク等の研究終了後の動向を記述してください。）

氏名は略し、イニシアルで示す。複数の研究者が同じイニシアルだが、別の人材。最低1年間研究に携わった者。

MD-PhD プログラム学生

M: 大学院修了後、初期研修、米国留学（現在、MGH で臨床と研究）

Y: 大学院修了後、助教、国立国際医療研究センター研究員、その後米国留学（現在、ハーバード大学）

M: 大学院修了後、マックスプランク研究所留学（フライブルグ）

医学系大学院生

Y: 大学院終了後、秋田大学医学部助教

O: 大学院終了後、学振研究員、秋田大学大学発ベンチャー企業就職

O: 大学院修了後、順天堂大学助教、講師

N: 大学院修了後、理研研究員

K 他4名: 大学院修了後、製薬企業研究所に就職（4名）

I: 大学院修了後、学振研究員を経て、獨協医科大学助教

Y: 大学院修了後、UCSF 留学、埼玉医科大学薬理学講師に

H: 大学院修了後、ハーバード大学留学、帰国後東大内科講師

F: 大学院修了後、ハーバード大学留学、帰国後慶応大学内科講師

C: 大学院修了後、台湾医科大学助教

I: 大学院修了後、帝京大学脳外科講師

ポスドク

H: 国立国際医療研究センター研究員、その後スイス留学

H: 国立国際医療研究センター 上級研究員に

H: 国立国際医療研究センター上級研究員

C: 英国留学後、東大リポドミクス講座 特任助教

D: 米国コーネル大学留学、現在、群馬大学独立准教授

E: 英国インペリアルカレッジ留学、東大内科助教

F: ドイツ帰国、現在ジュネーブ大学講師

Y: 米国留学、現在 MGH 麻酔科医

I: 米国留学後、現在東大麻酔科講師

T: 米国留学、現在、カナダ、マッギル大学腎臓内科医師

N: スクリプス研究所研究員

I: 帝京大学医学部講師（脳外科）

H: 九州歯科大学教授

S: UCSF へ留学中

K: 埼玉医科大学助教を経て、現在徳島大学准教授

T 他3名: ポスドク修練後、元の民間企業に戻る

助教等

T: 札幌医科大学准教授

Y: 当教室准教授を経て、九州大学教授、現在順天堂大教授

I: 当教室准教授を経て、秋田大学医学部教授

N: 当教室准教授を経て、岡山理科大学教授

S: 国立国際医療研究センター副プロジェクト長、東大連携大学院準教授

K: 東大医学部 ライフサイエンス研究支援部 准教授

I: スクリプス研究所留学、国立精神神経研究センター研究員を経て、昭和薬科大学教授

S: 米国ベンチャーを経て、PMDA 主席研究官

