

平成 22 年 4 月 20 日現在

研究種目：特別推進研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19002011

研究課題名（和文） リン脂質代謝と脂質メディエーターの総合的研究

研究課題名（英文） Phospholipid metabolism and lipid mediators

研究代表者

清水 孝雄（SHIMIZU TAKAO）

東京大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：80127092

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学、医科学一般

キーワード：脂質メディエーター、ロイコトリエン、アシル転移酵素、ホスホリパーゼ A2、遺伝子欠損マウス、G タンパク共役型受容体、脂質メタボローム、肺サーファクタント

1. 研究計画の概要

- (1) 膜リン脂質代謝の解析（ホスホリパーゼ A2 およびアシル転移酵素ファミリー遺伝子の同定と機能解析）
- (2) 脂質メディエーターの生理的意義、病態における役割とその分子機構の解明
- (3) 脂質メディエーターの網羅的、且つ定量的な解析システムとデータベースの作成

2. 研究の進捗状況

- (1) 血小板活性化因子（PAF）産生酵素であるリゾPAFアセチル転移酵素を2種類（恒常型 LPCAT1 と誘導型 LPCAT2）同定することに成功した。さらに、LPCAT2 がエンドトキシンによりリン酸化されるアミノ酸を同定し、活性調節機構を明らかにした。
- (2) 多発性硬化症モデルマウスの脊髄病変部におけるリポミクス解析により、プロスタグランジン合成酵素 mPGES-1 依存的なプロスタグランジン E2 産生が、Th1 及び Th17 型免疫応答を調節して、多発性硬化症の病態を増悪させていることを明らかにした。多発性硬化症の病変部では mPGES-1 を発現しているマクロファージから、大量に PGE2 が産生されて免疫応答を調節し、結果として症状を増悪させていることが示唆された。
- (3) 骨密度および骨形態計測学的パラメータの測定により、ロイコトリエン B₄ (LTB₄) 第一受容体 (BLT1) ノックアウトマウス

では、卵巣摘除および LPS 投与による骨吸収が顕著に抑制されていることを見出した。破骨細胞では LTB₄ が産生され、BLT1 は発現していたが BLT2 は発現していなかった。また、BLT1 ノックアウトマウス由来破骨細胞のカルシウム吸収能は、野生型マウス由来破骨細胞に比較し減少していた。破骨細胞の形態変化と破骨細胞活性には密接な関係があることを考慮すると、LTB₄ は、パラクライン・オートクライン的に作用して破骨細胞活性を増加することが示唆された。

- (4) リポミクス解析により、ヒト肺線維症患者の肺胞洗浄液中のエイコサノイドを定量し、プロスタグランジン F が重要な役割を果たすことを示唆した。さらに、同受容体欠損マウスの解析により、プロスタグランジン F が TGF と独立して線維化を促進することを明らかにした（京大成宮との共同研究）。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している
(理由)

患者の脳組織や組織液のリポミクス解析と疾患モデル動物の比較は予想を超えた進展を示した。

4. 今後の研究の推進方策

- (1) 酵素と膜代謝に関する研究
ホスホリパーゼ A2 の酵素学的諸性質を

明らかにし、細胞における当該酵素の役割を過剰発現系や siRNA 法で推定する。

型、型の遺伝子欠損マウスの表現形解析を、LC-MS による膜リン脂質組成変化も含めて解析する。

(2) アシル転位酵素の研究

LPCAT1 遺伝子欠損マウスの解析から、当該酵素の肺サーファクタント産生のみならず、種々の病態 (ARDS など) への関連を解明する。

他のファミリー酵素に関し、基質プロファイルを同定すると共に、ノックアウトマウスを解析することにより、一連の遺伝子ファミリーの役割分担を明確にする。

(3) 脂質メディエーターの生理的意義、病態における役割とその分子機構の解明

各種遺伝子欠損マウス (BLT2, TDAG8, Lpa4 など) の表現形及び分子機構の解析を進める。

脂質メディエーターを認識する G 蛋白共役型受容体の遺伝子発現、品質管理、膜輸送制御などを解析する。

(4) 脂質メディエーターの網羅的、且つ定量的な解析システムの構築とデータベースの作成

定量系に関しては、リゾホスファチジン酸やスフィンゴシン 1 リン酸などの定量も可能なシステム構築を目指すと共に、感度の一層の向上を図る。

膜リン脂質の詳細解析を実施する。特に各種遺伝子欠損マウスの臓器脂質、および遺伝子の過剰発現またはノックダウンに起因する細胞機能の変化と脂質膜組成の変化を同時解析し、両者の因果関係などを明確にする。さらに、倫理委員会の承認を前提に患者組織や血液などの各脂質メディエーター成分の変化を解析し、ヒト疾患とマウスモデルの相違を明らかとする。

現在構築したデータベースと質量分析計の値をリンクできる検索エンジンソフトの開発を進める。

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 41 件)

Oga, T., Matsuoka, T., Yao, C., Nonomura, K., Kitaoka, S., Sakata, D., Kita, Y., Tanizawa, K., Taguchi, Y., Chin, K., Mishima, M., Shimizu, T., and Narumiya, S. (2009) Prostaglandin F2 α receptor signaling facilitates bleomycin-induced pulmonary fibrosis independently of transforming growth factor- β . *Nature Med.* 12, [1426-1430](#) 査読有

Kihara, Y., Matsushita, T., Kita, Y., Uematsu, S., Akira, S., Kira, J.-i., Ishii, S., and Shimizu, T. (2009) Targeted lipidomics reveals mPGES-1-PGE2 as a therapeutic target for multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, [21807-21812](#) 査読有

Hikiji, H., Ishii, S., Yokomizo, T., Takato, T., and Shimizu, T. (2009) A distinctive role of the leukotriene B4 receptor BLT1 in osteoclastic activity during bone loss. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, [21294-21299](#) 査読有

Okuno, T., Iizuka, Y., Okazaki, H., Yokomizo, T., Taguchi, R., and Shimizu, T. (2008) 12(s)-Hydroxyheptadeca-5Z, 8E, 10E-trienoic acid is a natural ligand for leukotriene B4 receptor 2. *J. Exp. Med.*, 205, 759-766. 査読有

[学会発表] (計 20 件)

2009 年 4 月 22 日: 清水孝雄

Keystone 国際学会 (The Resort at Squaw Creek, CA, USA) "Phospholipid Metabolism : Phospholipases and Acyltransferases"

[その他]

ホームページ

http://biochem2.umin.jp/index_j.html