

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06839

研究課題名（和文）コリンプラスマローゲンの生合成経路と生理機能の解明

研究課題名（英文）Biosynthetic pathways and physiological functions of choline plasmalogens

研究代表者

本庄 雅則（Honsho, Masanori）

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：90372747

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：心臓に多く存在するエーテルリン脂質の1種であるコリンプラスマローゲンの生合成経路や生理機能の解明を試みた。マウス心臓におけるコリンプラスマローゲン量はヒトと比較して約1/5程度と少ないことを見出した。マウス心臓と比較してコリンプラスマローゲンが約2倍程度多いヒト心筋由来培養細胞を用い、エタノールアミンプラスマローゲンの代謝の抑制はコリンプラスマローゲンを増加させることを見出した。また、コリンプラスマローゲンの精製法を確立し、精製コリンプラスマローゲンの細胞への投与実験からコリンプラスマローゲンがミトコンドリアの膜電位の維持や増加に機能することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

哺乳動物の心臓には、エーテルリン脂質の1種であるコリンプラスマローゲンが多く存在するが、その生合成経路や生理機能は不明である。本研究では、コリンプラスマローゲン合成の前駆体を見出すとともに、コリンプラスマローゲンが心筋細胞のミトコンドリア機能を改善することを世界に先駆けて明らかにした。

研究成果の概要（英文）：I attempted to elucidate the biosynthetic pathway and physiological function of choline plasmalogen, a type of ether phospholipid abundant in the heart. The main findings were summarized as follows: The amount of choline plasmalogen in the mouse heart is about 1/5 of that in the human heart. Inhibition of ethanolamine plasmalogen metabolism increased choline plasmalogens in human myocardium. Choline plasmalogens function to maintain or increase mitochondrial membrane potential from experiments in which purified choline plasmalogens were administered to cells.

研究分野：医化学関連

キーワード：コリンプラスマローゲン エーテル型リン脂質 心臓 生合成

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

エーテル型リン脂質プラスマローゲンのひとつでヘッドグループにコリンを有するコリンプラスマローゲン (図 1) の生理機能や生合成経路は不明である。これまでに、コリンプラスマローゲンは、ヒトの心臓や筋肉に多く存在すると報告され、例えば、ヒト心臓の全リン脂質の 25% を占めることが知られているが、その他の臓器における存在量は少ない。また、遺伝的心臓疾患の一つであるバース症候群において、プラスマローゲンの減少が報告されるなど、プラスマローゲンと心臓機能との関連性が注目されつつある。しかしながら、コリンプラスマローゲンの生理機能や生合成制御機構は明らかにされていない。

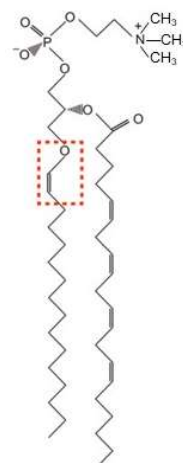


図1コリンプラスマローゲンの構造

プラスマローゲンは sn-1 にビニルエーテル結合を有する (点線四角)。

2. 研究の目的

本研究は、コリンプラスマローゲンの生理機能と生合成経路を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

ヒト心筋由来培養細胞 (ヒト心筋培養細胞) やマウスを対象とし、コリンプラスマローゲンの存在量を液体クロマトグラフィー質量分析機 (LC-MS/MS) で解析した。また、心筋培養細胞のプラスマローゲン生合成を障害し細胞機能への影響を検討した。次に、ウシ心臓から精製したコリンプラスマローゲンが細胞機能障害を改善するのかを検討した。さらに、コリンプラスマローゲンの生合成経路に関わると推察されるタンパク質の発現抑制や機能阻害によるコリンプラスマローゲンの合成量の変化を検討した。

4. 研究成果

マウスの心臓における主要なプラスマローゲンであるコリンプラスマローゲンとヘッドグループにエタノールアミンを有するエタノールアミンプラスマローゲンを LC-MS/MS で測定した。全プラスマローゲン (コリンおよびエタノールアミンプラスマローゲン) に対するコリンプラスマローゲンの割合を検証した結果、ヒト心臓のコリンプラスマローゲンと比較してマウスの心臓では、コリンプラスマローゲンが約 1/5 程度しか存在しなかった (図 2)。また、ヒト心臓のコリンプラスマローゲンは、年齢を重ねるとともに、その存在量が増加すると報告されていたが、マウスにおいてもその傾向はヒトと似ており、週齢の高いマウスの心臓におけるコリンプラスマローゲンは、週齢が若いマウスよりも多く存在するとの結果を得た (図 2)。しかしながら、週齢の高いマウスにおいても、心臓のコリンプラスマローゲンの存在量はヒトよりも低いままであった。これらの定量解析から、従来の定説であった心臓にコリンプラスマローゲンが多く存在するとの知見は、ヒトにおいては明らかな特徴であるが、マウスにおいては、コリンプラスマローゲンの存在量は顕著に多いとは言えない結果であった。種によってコリンプラスマローゲンの存在量が異なることの生理的意義は不明である。

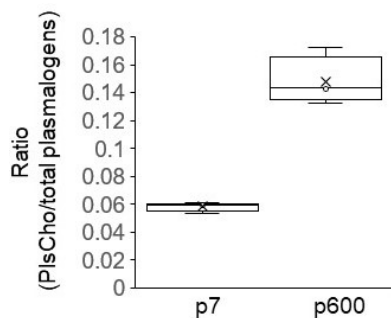


図2 マウス心臓におけるコリンプラスマローゲン 生後 7 日 (p7) および 600 日 (p600) の野生型マウスの心臓におけるコリンプラスマローゲン (PlsCho) の量を全プラスマローゲンの存在比として示した。

上記の結果を踏まえて、ヒト心筋培養細胞を研究材料とし、まず、コリンプラスマローゲンの存在量を検討した。その結果、ヒト心筋培養細胞のコリンプラスマローゲンの存在量は、マウス心臓よりも約 2 倍多く存在することを明らかにした。

PlsCho 合成経路の探索

ヒト心筋培養細胞を用いてコリンプラスマローゲン合成経路を探索した。これまでに、エタノールアミンプラスマローゲンは、1-アルキル-2-アシルホスファチジルエタノールアミン (PlsEtn) からプラスマニルエタノールアミン還元酵素によって合成されるが、コリンプラスマローゲンは、アルキル型から合成されるのではなく、エタノールアミンプラスマローゲンを出発物質として合成されると報告されている。また、この経路におけるコリンプラスマローゲン合成を担う酵素としてエタノールアミンにメチル基を付加するホスファチジルエタノールアミン N-メチル転移酵素 (PEMT) が示唆されていたことから、コリンプラスマローゲン合成における本酵素の関与を検証した。そこで、ヒト心筋培養細胞における PEMT の発現を RNA 干渉で抑制したところ、エタノールアミンプラスマローゲンとコリンプラスマローゲンいずれも増加するとの結果を得た (図 3)。次に、エタノール

アミンプラスマローゲンの sn-2 の脂肪酸や、ヘッドグループの代謝を経てコリンプラスマローゲンが生合成されることを考慮し、ホスホリパーゼ A2 (PLA2) や N-アシルホスファチジルエタノールアミンホスホリパーゼ D (NAPEPLD) の阻害剤で処理し、同様にプラスマローゲンの動態を検証した。その結果、カルシウム非依存的 PLA2 や PLA2 の阻害剤、NAPEPLD の阻害剤で、エタノールアミンプラスマローゲンとコリンプラスマローゲンいずれも増加するとの結果を得た。これらの結果から、エタノールアミンプラスマローゲンは sn-2 やヘッドグループが代謝され、その阻害によってエタノールアミンプラスマローゲンが増加し、コリンプラスマローゲンが増加すると考えられ、コリンプラスマローゲンの生合成は、複数の経路で合成される、あるいは検証した経路とは異なる経路で生合成されるものと考えられた。

コリンプラスマローゲンの生理機能の探求

ヒト心筋培養細胞のプラスマローゲン生合成を阻害し、細胞機能に与える影響を検討した。ヒト心筋培養細胞のプラスマローゲン生合成に必須な alkylglycerone phosphate synthase (AGPS) の発現を RNA 干渉で抑制し、ミトコンドリア膜電位依存的に集積する蛍光物質で蛍光量を測定したところ、ミトコンドリアの膜電位の低下を見出した。この膜電位の低下をコリンプラスマローゲンが回復するかを検証するため、ウシ心臓からコリンプラスマローゲンの精製を試みた。ウシ心臓の可溶化物に対しホスホリパーゼ A1 で反応させた後に、リゾ型脂質を除去する脂質抽出を実施し、次いで液体クロマトグラフィーでコリンプラスマローゲンを回収した。プラスマローゲンのビニルエーテル結合は、酸で加水分解されることを利用し、精製コリンプラスマローゲンの純度は 96% と見積もられた。このコリンプラスマローゲンを、AGPS の発現を抑制したヒト心筋培養細胞に添加するとミトコンドリア膜電位の回復が認められた (図 4)。以上の結果

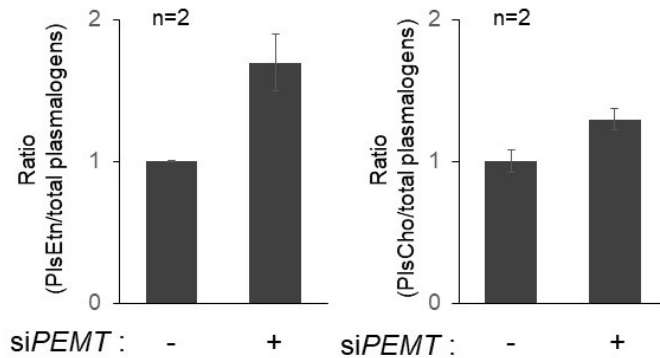


図 3 PEMT の発現を抑制したヒト心筋細胞におけるプラスマローゲン

PEMT に対する siRNA を導入し (+)、エタノールアミンプラスマローゲン (左) とコリンプラスマローゲン (右) の量をコントロール (-) との相対値で示した。

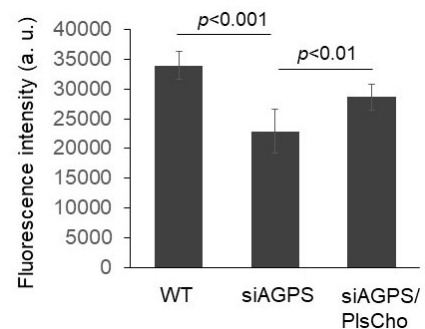


図 4 プラスマローゲン合成阻害によるミトコンドリア膜電位の低下

alkylglycerone phosphate synthase (AGPS) の発現を抑制した心筋細胞において、ミトコンドリアの膜電位が低下し、この障害はコリンプラスマローゲン (PlsCho) の投与で回復した。

から、コリンプラスマローゲンはミトコンドリアの膜電位の維持に機能することが明らかとなった。

次に、ヒト心筋培養細胞をエタノールアミンプラスマローゲンあるいはコリンプラスマローゲン存在下で培養し、ミトコンドリア膜電位に対するプラスマローゲン分子種の影響を検証した。その結果、コリンプラスマローゲンを投与した場合にミトコンドリア膜電位の増加が認められたが、エタノールアミンプラスマローゲンでは見られず、ヒト心筋細胞のミトコンドリア機能に対するコリンプラスマローゲンの関与が示唆された (図 5)。

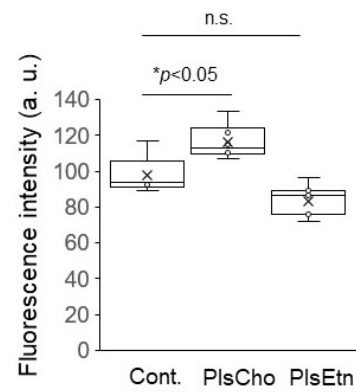


図 5 プラスマローゲンによるミトコンドリア膜電位の変化

コリンプラスマローゲン (PlsCho) は心筋細胞のミトコンドリア膜電位を増加させた。この効果は、エタノールアミンプラスマローゲン (PlsEtn) では認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Irimajiri Rei, Kuwabara Meimi, Togo Shun, Fujino Yasuhiro, Honsho Masanori, Mawatari Shiro, Fujino Takehiko, Doi Katsumi	4. 巻 13
2. 論文標題 Complete genome sequence of <i>Lentilactobacillus buchneri</i> subsp. <i>silagei</i> MGR2-32 isolated from guinea grass silage in Okinawa, Japan	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e0069523
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/mra.00695-23	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Honsho Masanori, Fujiki Yukio	4. 巻 13
2. 論文標題 Asymmetric Distribution of Plasmalogens and Their Roles-A Mini Review	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Membranes	6. 最初と最後の頁 764 ~ 764
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/membranes13090764	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Dorninger Fabian, Berger Johannes, Honsho Masanori	4. 巻 11
2. 論文標題 Editorial: Solving the plasmalogen puzzle-From basic science to clinical application	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 1137868
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcell.2023.1137868	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Honsho Masanori, Fujiki Yukio	4. 巻 194
2. 論文標題 Regulation of plasmalogen biosynthesis in mammalian cells and tissues	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Brain Research Bulletin	6. 最初と最後の頁 118 ~ 123
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainresbull.2023.01.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kuwabara Meimi, Irimajiri Rei, Togo Shun, Fujino Yasuhiro, Honsho Masanori, Mawatari Shiro, Fujino Takehiko, Doi Katsumi	4. 巻 12
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of the Thermophilic Enterococcus faecalis Strain K-4, Isolated from a Grass Silage in Thailand	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e0081422
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mra.00814-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Lackner Katharina, Sailer Sabrina, van Klinken Jan-Bert, Wever Eric, Pras-Raves Mia L., Dane Adrie D., Honsho Masanori, Abe Yuichi, Keller Markus A., Golderer Georg, Werner-Felmayer Gabriele, Fujiki Yukio, Vaz Frederic M., Werner Ernst R., Watschinger Katrin	4. 巻 1868
2. 論文標題 Alterations in ether lipid metabolism and the consequences for the mouse lipidome	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids	6. 最初と最後の頁 159285 ~ 159285
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbalip.2023.159285	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Honsho Masanori, Mawatari Shiro, Fujiki Yukio	4. 巻 9
2. 論文標題 ATP8B2-Mediated Asymmetric Distribution of Plasmalogens Regulates Plasmalogen Homeostasis and Plays a Role in Intracellular Signaling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences	6. 最初と最後の頁 915457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2022.915457	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujiki Yukio, Okumoto Kanji, Honsho Masanori, Abe Yuichi	4. 巻 1869
2. 論文標題 Molecular insights into peroxisome homeostasis and peroxisome biogenesis disorders	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research	6. 最初と最後の頁 119330 ~ 119330
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbamcr.2022.119330	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Honsho Masanori, Mawatari Shiro, Fujino Takehiko	4. 巻 9
2. 論文標題 Transient Ca ²⁺ entry by plasmalogen-mediated activation of receptor potential cation channel promotes AMPK activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences	6. 最初と最後の頁 1008626
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2022.1008626	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Masanori Honsho
2. 発表標題 Regulation of plasmalogen biosynthesis in mammals
3. 学会等名 The 3rd International Plasmalogen Symposium (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 本庄雅則, 馬渡志郎, 藤野武彦
2. 発表標題 エーテルリン脂質プラスマローゲンによるAMPKの活性化
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 本庄雅則
2. 発表標題 エーテルリン脂質プラスマローゲンの細胞膜での偏在性の確立と生理機能
3. 学会等名 第26回Hindgut Club Japan シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 本庄雅則, 馬渡志郎, 藤木幸夫
2. 発表標題 エーテルリン脂質プラスマローゲンの細胞膜での偏在性の確立と生理機能
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 桑原芽美, 入交伶, 藤野泰寛, 本庄雅則, 馬渡志郎, 藤野武彦, 土居克実
2. 発表標題 プラスマローゲン生産株の探索と効率的プラスマローゲン生産法の検討
3. 学会等名 第74回日本生物工学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 阿部雄一, 田村茂彦, 本庄雅則, 藤木幸夫
2. 発表標題 成体マウスにおけるペルオキシソーム機能欠損は記憶障害を惹起する
3. 学会等名 令和3年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 本庄 雅則	4. 発行年 2022年
2. 出版社 ニューサイエンス社	5. 総ページ数 4
3. 書名 Medical Science Digest Vol.48 (1) 「個体におけるエーテル型リン脂質プラスマローゲンの生合成制御機構と生理機能の解明」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
オーストリア	Medical University of Vienna			
オーストリア	Medical University of Innsbruck			