

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790805

研究課題名(和文)呼吸器におけるリン脂質代謝酵素・輸送タンパク質の病態への寄与

研究課題名(英文) Involvement of phospholipid-related enzymes and transporters in lung diseases

研究代表者

原山 武士 (HARAYAMA, TAKESHI)

独立行政法人国立国際医療研究センター・脂質シグナリングプロジェクト・研究員

研究者番号：50610218

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：肺に含まれる様々なリン脂質の機能を調べるために、リン脂質を代謝するLPCAT1という酵素を欠損したマウスを作成し、呼吸器疾患との関連を調べた。その結果、LPCAT1という酵素が肺サーファクタント(肺胞の虚脱を防ぐ物質)の正常な機能に必要であり、これが欠損すると急性肺障害に対して高い感受性を持つということがわかった。

また、LPCAT1を含む様々なリン脂質代謝酵素が体の様々な組織のリン脂質組成に与える影響を調べることができた。これらの発見が様々な病態とリン脂質の関連を明らかにするものと思われる。

研究成果の概要(英文)：To investigate the functions of phospholipids in the lung, we generated mice that lack a phospholipid-metabolizing enzyme, LPCAT1. We investigated the role of LPCAT1 during pulmonary diseases, and found that LPCAT1-deficient mice have altered pulmonary surfactant (a surface active material that prevents alveolar collapse in the lung) function. This property rendered LPCAT1-deficient mice highly susceptible to acute lung injury.

In addition, we found how multiple phospholipid-metabolizing enzymes regulate phospholipid composition in various tissues. These findings will lead to an understanding of the relationship between various diseases and phospholipid metabolism.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：リン脂質 ホスファチジルコリン 酵素 肺サーファクタント アシル基転移酵素 急性肺障害

## 1. 研究開始当初の背景

肺には様々なリン脂質が存在し、それらが重要な機能を持つことは古くから知られていた。例えば、正常な呼吸を保つのに必須な物質である肺サーファクタントの主成分はリン脂質である。一方、それらのリン脂質を合成する酵素やそれらが正しい場所に運ばれるメカニズムは完全にはわかっていなかった。また、このような調節機構が呼吸器の病態にどのように関与するかは知られていなかった。

## 2. 研究の目的

肺におけるリン脂質の代謝や輸送に関わるタンパク質をコードする遺伝子を欠損したマウスの解析を通して、呼吸器に存在するリン脂質の組成や量がどのように調節されるかを調べる。また、それらの変化を説明できるリン脂質組成調節の理論を確立する。

これらの酵素や輸送因子を欠損した場合に呼吸器疾患に対する感受性がどのように変化するかを調べる。感受性が変化した場合、その詳細なメカニズムを追求することでリン脂質が正常に合成・輸送されることと病態の関連を調べる。

## 3. 研究の方法

リン脂質の代謝に関わる酵素、LPCAT1、LPCAT2、LPCAT3、及び輸送に関わるタンパク質 ABCA3 の欠損マウスの解析を行う。具体的には次の実験を行う。各欠損マウスの肺に存在するリン脂質の組成を質量分析で解析する。変化が見られた場合、リン脂質の組成を調節する酵素活性の変化も調べ、関連づける。各欠損マウスが急性肺障害に対してどのような感受性を持つかを調べる。感受性に变化

のあったマウスに関して、そのメカニズムを調べる。

## 4. 研究成果

LPCAT2、ABCA3 の欠損マウスに関しては急性肺障害に対する感受性の変化を見出すことはできなかった。様々な条件の違いによって別の結論が得られる可能性もあるが、より興味深い別のマウスに関しての解析にシフトした。なお、ABCA3 欠損マウスは過去に報告されていたとおり、ホモ欠損の場合に新生児期に致死であるのでヘテロ欠損マウスを使用した。

LPCAT3 欠損マウスは取得することができなかった。現在、その原因を解析中である。

LPCAT1 欠損マウスは正常に呼吸が可能であったものの、肺のリン脂質組成に大きな異常が見られた。具体的には DPPC というリン脂質の量が減少しており、他のリン脂質が増加していた。リン脂質の総量は正常であった。

LPCAT1 はリゾリン脂質アシル基転移酵素という種の酵素である。この欠損マウスでの DPPC の減少を説明する理論を確立するために、様々な組織でのリゾリン脂質アシル基転移酵素活性を測定し、リン脂質の組成と比較したところ、DPPC が LPCAT1 によって増加するということが理にかなっているということがわかった。また、LPCAT1 を発現する肺以外の臓器である脾臓でも LPCAT1 欠損による DPPC の減少が見られた。

LPCAT1 欠損と呼吸器疾患の関連を調べるために LPCAT1 欠損マウスの急性肺障害に対する感受性を調べた。LPCAT1 欠損マウスは急性肺障害に対して高い感受性を持っていた。その結果、肺において高度な炎症が見られ、致

死亡率、酸素飽和度の低下が亢進していた。

LPCAT1 欠損の病態メカニズムを調べるために、DPPC の機能を調べた。肺には肺サーファクタントと呼ばれる肺胞の虚脱を防ぐ物質が存在し、その主成分が DPPC である。LPCAT1 欠損マウスは肺サーファクタントに含まれる DPPC が減少していた。人工的に作成した肺サーファクタントの機能を調べると DPPC が多いほうが高い機能を持っていた。また、DPPC を LPCAT1 欠損マウスに投与すると、病態時に見られる変化の一部が回復した。このため、LPCAT1 欠損マウスの病態は DPPC の減少によるものであることがわかった。

DPPC が減少したことによって、どのような変化が生じるかを調べるために、LPCAT1 欠損マウスに含まれる炎症物質を調べた結果、炎症を惹起すると知られているロイコトリエン D4 という物質が増加していた。これが増加するメカニズムとして、DPPC 減少による物理的ダメージの増大が考えられた。ロイコトリエンの合成を阻害する物質を LPCAT1 欠損マウスに投与したところ、病態が一部回復したため、DPPC 減少が引き起こしたロイコトリエン D4 の増加が病態に関わると考えられた。

これらの結果から、肺を含む様々な組織でリン脂質の組成が調節されるメカニズムとこの調節が正常に機能することの生体での意義を調べることができた。これらの結果が今後様々な病態時に見られるリン脂質組成の異常を説明するのに重要であると考えられる。また、様々な呼吸器疾患とリン脂質の関連を示唆し、新たな治療戦略の開発に役立つかもしれない。

#### 5 . 主な発表論文等

( 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 3 件 )

原山武士、清水孝雄、「Lands サイクルとサーファクタント代謝」、『生体の科学』、公益財団法人金原一郎医学医療振興財団、65 巻 4 号掲載予定、2014 年 ( 査読なし )

Takeshi Harayama, Miki Eto, Hideo Shindou, Yoshihiro Kita, Eiji Otsubo, Daisuke Hishikawa, Satoshi Ishii, Kenji Sakimura, Masayoshi Mishina, and Takao Shimizu, 「Lysophospholipid Acyltransferases Mediate Phosphatidylcholine Diversification to Achieve the Physical Properties Required In Vivo」『Cell Metabolism』、Cell Press、掲載決定 ( 査読あり )

Hideo Shindou, Daisuke Hishikawa, Takeshi Harayama, Miki Eto, and Takao Shimizu, 「Generation of membrane diversity by lysophospholipid acyltransferases」『The Journal of Biochemistry』、Oxford Journals、Vol. 154、pp. 21-28、2013、doi: 10.1093/jb/mvt048 ( 査読なし )

[ 学会発表 ] ( 計 1 件 )

Hideo Shindou, Daisuke Hishikawa, Takeshi Harayama, Miki, Eto, Ryo Morimoto, and Takao Shimizu, 「Glycerophospholipid biosynthesis by lysophospholipid acyltransferases in the Lands' cycle」、『第 85 回日本生化学会大会』、福岡国際会議場、マリンメッセ福岡、福岡 ( 2012 年 12 月 15 日 )

[ その他 ]

ホームページ等

国立国際医療研究センター研究所のホームページ

<http://www.rincgm.jp/>

国立国際医療研究センター研究所脂質シグ  
ナリングプロジェクトのホームページ

<http://www.ncgm lipidsp.jp/>

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

原山 武士 ( HARAYAMA, Takeshi )

国立国際医療研究センター研究所・脂質シグ  
ナリングプロジェクト・研究員

研究者番号 : 50610218