

機関番号：15101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21890144

研究課題名（和文）

酸性グルコセレブロシダーゼによるスフィンゴ脂質シグナルの制御

研究課題名（英文）

Regulation of sphingolipid signal by acid- β -glucosidase

研究代表者

北谷 和之 (KITATANI KAZUYUKI)

鳥取大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40539235

研究成果の概要（和文）：酸性グルコセレブロシダーゼ（GBA1）はスフィンゴ脂質セラミドの生成を担う酵素である。このセラミド生成に伴うシグナル（セラミドシグナル）が炎症性キナーゼ p38 δ の活性化および IL-6 の生成を抑えることを明らかにした。本研究課題では、新たに p38 δ の標的分子として MMP1/MMP13 を明らかにした。さらに、GBA1 欠損ゴーシェ病モデルにおいて炎症性キナーゼ p38 の活性化の異常な亢進を明らかにした。したがって、GBA1-セラミドは p38 δ に依存した炎症を抑えるシグナル生成に寄与すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：

Acid- β -glucocerebrosidase (GBA1) contributes to the formation of ceramide and signal that suppresses p38 δ activation and IL6 formation. In this project, the PI uncovered that p38 δ is involved in inducing the formation of proteases including MMP1 and MMP13. Moreover, in GBA1-deficient Gaucher disease model, the activation of inflammatory kinase p38 was significantly increased. Taken together, GBA1-ceramide pathway is suggested to account for suppressing p38 δ -mediated inflammatory responses.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：病態医化学

科研費の分科・細目：分子病態学

キーワード：酸性グルコセレブロシダーゼ，セラミド，炎症，p38，スフィンゴ脂質，ゴーシェ病，GBA1，サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

これまでセラミドが ceramide-activate protein phosphatase 依存的な炎症性キナーゼ“p38”の脱リン酸化／不活化を促進することを見出し、このようなセラミドの作用が炎症性分子の生成を抑える可能性を示唆した。また、セラミド生成経路と代謝酵素の活性調節において、酸性グルコセレブロシダーゼ

(GBA1) が細胞の炎症性応答でのセラミド生成に関わる酵素である可能性を提唱した。

2. 研究の目的

生体には炎症を抑える分子が存在する。本研究では、セラミドが抗炎症性の生体分子として機能する可能性を検索し、GBA1-セラミドにより調節されている炎症性シグナルを

明らかにする。

3. 研究の方法

ヒト腫瘍細胞を用いて、GBA1 による細胞内セラミド量調節を GBA1 阻害剤、GBA1 遺伝子の過剰発現または RNA 干渉による発現量を低下による細胞内セラミド量の変動を質量分析により解析した。

サイトカイン (TNF- α , IL-6) や炎症性マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) は、炎症応答に関わる分子である。これらの炎症性分子の生成は、p38 の活性化に依存している部分が多い。そこで、p38 活性化および炎症性分子生成の調節への GBA1-セラミドの関与を薬理学および分子生物学的手法を用いて明らかにした。

4. 研究成果

siRNA を用いて GBA1 発現を抑制した結果、C16-セラミドが有意に減少し、一方でグルコシルセラミド量は増加した。逆に GBA1 の過剰発現はセラミド量を増加させた。

炎症性応答において、セラミド生成は亢進する。この生成への GBA1 の関与を siRNA により検索したところ、GBA1 のノックダウンは炎症性刺激に伴うセラミド生成を有意に抑えた。したがって、GBA1 は細胞の炎症性応答でのセラミド生成を調節する酵素であると考えられる。

TNF- α またはホルボールエステルによる炎症性応答下に p38 は活性化した。この活性化は GBA1 ノックダウンにより増強した。p38 には4つのアイソフォームが存在し、p38 δ が GBA1-セラミド経路により制御される主要なアイソフォームであることが明らかにした。

p38 α/β は炎症性分子の生成に関わるリン酸化酵素であるが、これまで p38 δ の炎症性応答への関与は明らかにされていなかった。そこで、p38 δ の活性化により調節される炎症性分子をスクリーニングしたところ、p38 δ の標的分子として MMP1, MMP3, MMP6, MMP7, MMP12 および MMP13 が同定された。さらに、炎症性サイトカイン IL-6 の生成もまたp38 δ の活性化により亢進することを明らかにした。

さらに、GBA1 欠損は炎症性疾患であるゴーシェ病を起こすが、この疾患マウスモデルにおいて、有意な p38 の活性化および血清 IL-6 の上昇が明らかとなった。

したがって、GBA1-セラミド経路が炎症性キナーゼ p38 δ の活性化およびこれに依存した炎症性分子の生成を抑えると考えられる。

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 9 件)

1, Sun Y., Ran H., Liou B., Quinn B., Zamzow M., Zhang W., Bielawski J., Kitatani K., Setchell K.D., Hannun Y.A., Witte D.P., Xu Y., and Grabowski G.A. (2011) "Isofagomine in vivo effects in a neuropathic Gaucher disease mouse"

PLoS One in press

2, Jenkins R.W., Clarke C.J., Canal D., Snider A.J., Gault C.R., Heffernan-Stroud L., Wu B.X., Simbari F., Roddy P., Kitatani K., Obeid L.M., and Hannun Y.A. (2011) "Regulation of CC ligand 5/rantes by acid sphingomyelinase"

J. Biol. Chem. 286, 13292-13303

3, Mullen T.D., Spassieva S., Jenkins R.W., Kitatani K., Bielawski J., Hannun Y.A., and Obeid L.M. (2011) "Selective knockdown of ceramide synthases reveals complex inter-regulation of sphingolipid metabolism"

J. Lipid Res. 52, 68-77

4, Fujiwara K., Kitatani K., Fukushima K., Yazama H., Umehara H., Kikuchi M., Igarashi Y., Kitano H., and Okazaki T. (2011) "Inhibitory effects of dietary glucosylceramides on squamous cell carcinoma of the head and neck in NOD/SCID mice"

Int. J. Clin. Oncol. 16, 133-140

5, Jenkins R.W., Canal D., Idkowiak-Baldys J., Simbari F., Roddy P. Perry D.M., Kitatani K., Luberto C., and Hannun Y.A. (2010) "Regulated secretion of acid sphingomyelinase: implications for selectivity of ceramide formation"

J. Biol. Chem. 285, 35706-35718

6, Sun Y., Liou B., Ran H., Skelton M.R., Williams M.T., Vorhees C.V., Kitatani K., Hannun Y.A., Witte D.P., Xu Y., and Grabowski G.A. (2010) "Neuronopathic Gaucher disease in the mouse: Viable combined selective saposin C deficiency and mutant glucocerebrosidase (V394L) with CNS glucosylsphingosine and glucosylceramide accumulation"

Human Mol. Genet. 19, 1088-1097

7, Sun Y., Ran H., Zamzow M., Kitatani K.,

Skelton M.R., Williams M.T., Vorhees C.V., Witte D.P., Hannun Y.A., and Grabowski G.A. (2010) "Specific saposin C deficiency: CNS impairment and acid- β -glucosidase effects in the mouse"

Human Mol. Genet. 19, 634-647

8, Kitatani K., Sheldon, K., Anelli, V., Jenkins, R. W., Sun, Y., Grabowski, G. A., Obeid, L. M., and Hannun, Y. A. (2009) "Acid- β -glucosidase 1 counteracts p38 δ -dependent induction of interleukin-6: possible role for ceramide as an anti-inflammatory lipid."

J. Biol. Chem., 284:12979-88.

9, Kitatani K., Sheldon, K., Anelli, V., Jenkins, R. W., Sun, Y., Grabowski, G. A., Obeid, L. M., and Hannun, Y. A. (2009) "Involvement of acid- β -glucosidase 1 in the salvage pathway of ceramide formation."

J. Biol. Chem., 284:12972-8.

[学会発表] (計 6 件)

1, K. Kitatani

Regulation of the pro-inflammatory kinase p38 by ceramide generated from acid- β -glucosidase 1 (GBA1): implications for Gaucher disease

The 27th NAITO conference on Membrane Dynamics and Lipid Biology [I]

2010年6月29日-7月2日 札幌

2, K. Kitatani

Regulation of the pro-inflammatory kinase p38 by ceramide generated from acid- β -glucosidase-1 (GBA1): implications for Gaucher disease.

Gordon Research Conference

2010年2月9日 Ventura, CA, USA

3. 橋本真由美, 田口佳光, 北谷和之, 谷口真, 浅野智志, ルーシー・ワルダハニ, 武谷浩之, 岡崎俊朗
セラミド依存的な ATM 活性化によるアポトーシス誘導

第83回日本生化学会

2010年12月7-10日, 神戸

4. M. Taniguchi, K. Kitatani, K. Kondo, M. Hashimoto, S. Asano, Y. Igarashi, H. Umehara, H. Takeya, T Okazaki

"Suppression of ceramide-,mediated autophagy by sphingosine-1-phosphate "

3. 岡崎俊朗, 北谷和之, 谷口真, 橋本真由美, 浅野智志, ルーシー・ワルダハニ
細胞間相互作用による SMS の新たな機能-細胞遊走能, 浸潤/転移, homing における役割-

第5回スフィンゴセラピー研究会

2010年7月16-17日, 鳥取県米子市

4, 谷口真, 北谷和之, 近藤忠一, 橋本真由美, 浅野智志, 五十嵐靖之, 梅原久範, 武谷浩之, 岡崎俊朗

スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) による mTOR 活性化を介したオートファジー抑制機構

第5回スフィンゴセラピー研究会

2010年7月16-17日, 鳥取県米子市

5. 橋本真由美, 北谷和之, 浅野智志, 五十嵐靖之, 武谷浩之, 岡崎俊朗
セラミド依存的な ATM 活性化によるアポトーシス誘導

第5回スフィンゴセラピー研究会

2010年7月16-17日, 鳥取県米子市

6. 浅野智志, 北谷和之, 谷口真, 橋本真由美, 武谷浩之, 座間宏太, 光武進, 五十嵐靖之, 岡崎俊朗

スフィンゴミエリンによる走化性運動の制御

第5回スフィンゴセラピー研究会

2010年7月16-17日, 鳥取県米子市

[図書] (計 4 件)

1, Kitatani K., and Luberto, C. (2010) "Tools and Techniques for sphingolipid research" Sphingolipids as Signaling and Regulatory Molecules" *Advances in Experimental Medicine and Biology*, LANDES BIOSCIENCE, 276-285

2, Kitatani K., (2010) "Functional liposomes using sphingolipids" *Seibutsu-kogaku Kaishi (The Society for Biotechnology, Japan)*, 88, 678

3, Kitatani K., and Okazaki T. (2009) "Ceramide and Tumors" *The Lipids* (Tokyo) 20, 289-290

4, Kitatani K., Hashimoto M., Sugimoto Y., Taniguchi M., and Okazaki T. (2009) "Regulation of ceramide by sphingomyelin synthase" *The Cell* (Tokyo)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北谷 和之 (KITATANI KAZUYUKI)

鳥取大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40539235