

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 17 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011~2012

課題番号：23790366

研究課題名（和文） スフィンゴ脂質サルベージによる炎症制御

研究課題名（英文） Regulation of inflammation by sphingolipid salvage pathway

研究代表者

北谷 和之 (KITATANI KAZUYUKI)

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・助教

研究者番号：40539235

研究成果の概要（和文）：炎症調節への p38 δ およびスフィンゴ脂質サルベージ経路の関与を検討した。その結果、新たに p38 δ に制御される標的炎症性分子群を同定した。また外因性短鎖セラミドは細胞移動を著しく低下させることを見出した。短鎖セラミドは一度分解され後に再び長鎖セラミドに再合成される。この再合成を阻害すると、セラミド作用は減弱した。このことからサルベージ経路由来セラミドは細胞移動運動を抑える分子であると考えられる。本研究成果は炎症性疾患への新規治療法の開発に繋がると期待される。

研究成果の概要（英文）：The PI hypothesized that p38 δ and sphingolipid salvage pathway regulate inflammation. The PI identified p38 δ -controlled genes responsible for inflammation. The PI discovered that short-chain C₆-ceramide decreased cell motility. Most of exogenous C₆-ceramide can be converted to sphingosine which in turn is reacylated to form long chain ceramide. Inhibition of ceramide salvage by fumonisins B1 restored decreased cell motility with C₆-ceramide. Those results raise the possibility that ceramide synthesis through the salvage pathway is responsible for inhibiting cell motility. This study provides new insight for developing novel therapeutic approaches to inflammation-involving disorders.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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

キーワード：セラミド、p38、p38 δ 、炎症、スフィンゴ脂質、細胞運動、細胞遊走

1. 研究開始当初の背景

スフィンゴ脂質はスフィンゴ塩基骨格を有する脂質の総称であり、これまで数百種類のスフィンゴ脂質が同定されている。なかでもスフィンゴ脂質代謝の中心分子であるセラミドには数多くの生物作用が見出されている。セラミド生成経路は複数存在し（新規新生経路、スフィンゴミエリナーゼ経路、サルベージ経路）、それぞれ特有の細胞内小器官においてスフィンゴ脂質代謝に関与している。

例えば、サルベージ経路ではライソゾーム内で複合スフィンゴ脂質がスフィンゴ塩基へと異化代謝され、さらに遊離スフィンゴ塩基は小胞体膜に局在するセラミド合成酵素によりセラミドへと再合成される。このサルベージ経路に関わる酵素の欠損は、慢性的な炎症を伴うスフィンゴ脂質蓄積症を引き起こす。この疾患の病態形成メカニズムには不明な点が多く残されているが、スフィンゴ脂質サルベージ経路は炎症を制御している可能性が考えられる。

これまで研究代表者は、スフィンゴ脂質サルベージ経路から生成されたセラミドが炎症性キナーゼ p38 の活性化およびインターロイキン 6 の生成を抑えることを明らかにした。このような一連の研究から、セラミドが抗炎症性脂質である可能性を提唱している。

2. 研究の目的

炎症性細胞の炎症部位への遊走は炎症進展に重要なステップであり、細胞の(走化性)運動が密接に関与する。研究代表者は予備的研究からサルベージ経路を介して生成されたセラミドが細胞運動性を抑える分子である可能性を見出した。そこで、本件研究では細胞運動性の調節に焦点を当て、セラミドの抗炎症作用を分子レベルで解明した。

3. 研究の方法

細胞培養：卵巣がん細胞株 SKOV3 および TOV112D 細胞、乳癌細胞株 MDA-MB-231 細胞を 10% 牛胎児血清存在化に培養した。

細胞遊走：細胞の遊走活性はトランスウェルを用いた。

細胞仮足形成：細胞の運動性は、フィラメントアクチン (F-actin) を豊富に有する葉状または糸状仮足形成細胞数を測定することで評価した。

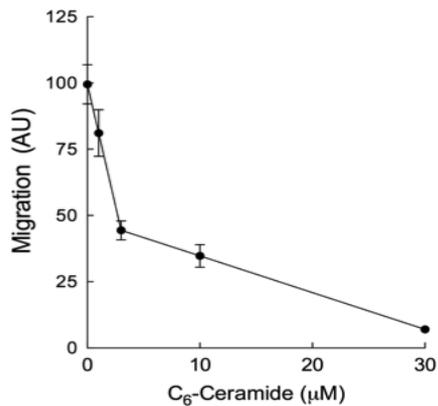


図1 セラミドによる細胞遊走の阻害

4. 研究成果

C₆-短鎖セラミドは細胞膜透過性セラミドとして知られており、細胞内ではサルベージ経路を介して代謝される。細胞を C₆-短鎖セラミドで処理すると、細胞遊走を濃度依存的に抑えた (図 1)。

細胞は仮足を構築することで移動運動を行う。この仮足は F-actin により構成されて

おり、蛍光標識 phalloidin で細胞を染色することで細胞仮足を可視化した。細胞仮足 (葉状仮足または糸状仮足) の形成への C₆-短鎖セラミドの作用を検討したところ、細胞仮足の形成が短鎖セラミド処理により抑えられた (図 2 ; 青, DAPI; 赤, phalloidin)。細胞仮足の形成は細胞運動性に相関することを考慮すると、短鎖セラミドは細胞運動性を減弱させたと考えられる。さらに、短鎖セラミドのサルベージ代謝経路を fumonis B1 (FB1) で遮断することで、短鎖セラミドの抗細胞運動性作用は消失した (図 3 ; 青, DAPI; 赤, phalloidin)。C₆-短鎖セラミドはサルベージ経路においてスフィンゴシンへと分解され、長鎖セラミドとして再合成されることを考慮すると、サルベージ経路由来セラミドは細胞運動性を低下させる脂質であると示唆される。

したがって、セラミドサルベージは炎症に関わる細胞運動性を抑える制御機構に関与していると考えられる。

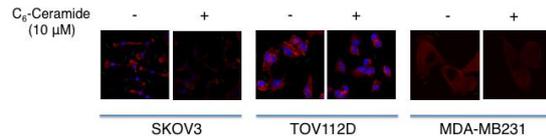


図2 セラミドによる細胞仮足形成阻害作用

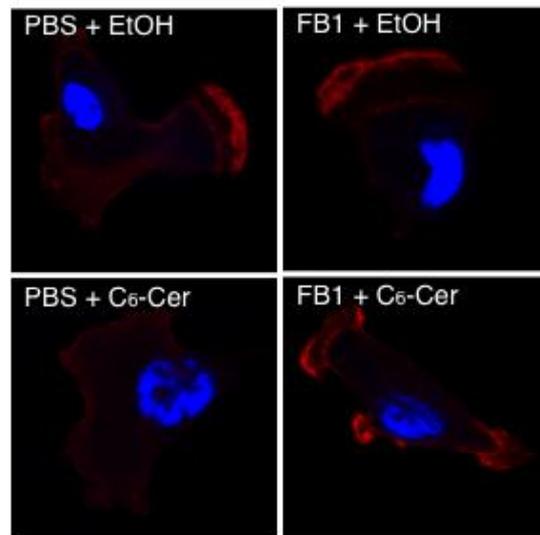


図3 セラミドサルベージ経路を介した抗細胞運動性作用

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 5 件)

1, Asano S., Kitatani K., Taniguchi M., Hashimoto M., Zama K., Mitsutake S., Igarashi Y., Takeya H., Hayashi A., Umehara H., Kigawa J., and Okazaki T. (2012) "Regulation of cell migration by sphingomyelin synthases: sphingomyelin in lipid rafts decrease responsiveness to signaling by the CXCL12/CXCR4 pathway" *Mol. Cell. Biol.*, 32, 3242-3252

doi: 10.1128/MCB.00121-12

(査読有り)

2, Perry. D.M., Kitatani K., Roddy P., El-Osta M., Hannun Y.A., (2012) "Identification and characterization of PP2C activation by ceramide" *J. Lipid Res.*, 53, 1513-1521

doi: 10.1194/jlr.M025395

(査読有り)

3, Taniguchi M., Kitatani K., Kondo T., Hashimoto-Nishimura M., Asano S., Hayashi A., Mitsutake S., Igarashi Y., Umehara H., Takeya H., Kigawa J. and Okazaki T. (2012) "Regulation of autophagy and its associated cell death by sphingolipid rheostat: Reciprocal role in ceramide and sphingosine-1-phosphate in the mTOR pathway" *J. Biol. Chem.*, 287, 39898-39910

doi: 10.1074/jbc.M112.416552

(査読有り)

4, Lafont E., Kitatani K., Okazaki T., and Segui B. (2011) "Regulation of death and growth signals at the plasma membrane by sphingomyelin synthesis: implications for hematological malignancies" *Recent Pat. Anticancer Drug Discov.*, 6, 324-333

doi: 10.2174/157489211796957801

(査読無し)

5, 北谷和之, 浅野智志, 橋本真由美, 谷口真, 岡崎俊郎 (2011) "セラミドを中心としたスフィンゴ脂質代謝" 生化学, 83, 495-505

(査読無し)

[学会発表] (計 4 件)

1, Kitatani K., Perry D., Wada M., Sheldon K., Sun Y., Bielawski J., Anneli V., Obeid LM., Okazaki T., Grabowski G., Hannun YH. "p38 activation in Gaucher's disease model mice." 第6回スフィンゴセラピー研究会, 米子, 2011年7月16日

2, 谷口真, 北谷和之, 林輝, 田口良光, 橋本真由美, 浅野智志, 梅原久範, 武谷浩之, 岡崎俊郎 "Ceramide-mediated XIAP degradation through cathepsin B in IL-2-deprived natural killer cells" 第53回脂質生化学会, 東京, 2011年5月12日

3, 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, 清川悦子, 松田道行, 岡崎俊郎 "スフィンゴミエリンによる走化性運動の制御" 第53回脂質生化学会, 東京, 2011年5月13日

4, Kitatani K. "p38δ is a novel target for anti-inflammation therapy of Gaucher's disease" 4th Gaucher Leadership Forum, Munich, Germany 2012年9月22日
(招待講演)

[図書] (計 1 件)

1. 北谷和之, 岡崎俊郎 (2011) "セラミドの細胞内機能概論 スフィンゴミエリン合成酵素ファミリー" セラミド—基礎と応用—, 食品化学新聞社, 50-55

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: スフィンコ脂質の製造方法
発明者: 北谷和之、岡崎俊朗、平田みよ、北垣浩志

権利者: 北谷和之、岡崎俊朗、平田みよ、北垣浩志

種類: 特許

番号: 2012-090774

出願年月日: 2012年05月16日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北谷和之 (KITATANI KAZUYUKI)

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・助教

研究者番号：40539235

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：