

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成27年度研究進捗評価用〕

平成24年度採択分
平成27年3月24日現在

生体膜リン脂質多様性の生物学

Biology of diversity and asymmetry of membrane lipids

課題番号：24229003

清水 孝雄 (SHIMIZU TAKAO)

独立行政法人国立国際医療研究センター・研究所・研究所長



研究の概要

生体膜の主成分は両親媒性のリン脂質であり、これが二重層を作り、外界から独立した環境を持つ細胞を作り、生命誕生の基礎となった。グリセロリン脂質は一位、二位の脂肪酸が非対称的に配置され（1位は飽和脂肪酸、2位は主に高度不飽和脂肪酸）、さらに異なる脂肪酸の組み合わせにより1000種類以上の異なる分子種が存在する。この様な多様性は単なる、脂質バリアとしてだけの機能を越えており、細胞や生体機能と関わる固有の性質を持つと考えられる。本研究で「膜リン脂質多様性の生物学的意義」を明らかにする。

研究分野：医学

キーワード：リン脂質、リポドミクス、メタボロミクス、質量分析計、生体膜

1. 研究開始当初の背景

グリセロリン脂質は多様であり、sn-1位には主に飽和脂肪酸、sn-2位にアラキドン酸などの多価不飽和脂肪酸を多く含む、という特徴があり、その形成機構が注目されていた。研究開始の時点でリン脂質リモデリングに関わる一連の酵素の単離が進んでおり、これらの酵素がどの様にして、1000種類を超すリン脂質を作るかが、解析出来る準備が出来た。

2. 研究の目的

リン脂質の多様性と非対称性の出来る分子機構を明らかにする。また、関与する分子の改変（欠損マウス、欠損細胞、過剰発現細胞など）を行い、リン脂質多様性の生物学的意味、病態への関与を明らかにすることが目的である。このために、リン脂質や生理活性脂質の定量、プロファイリング技術を開発する。

3. 研究の方法

各種リゾリン脂質アシル転移酵素欠損マウスや細胞を作成し、脂質組成を質量分析計で解析した。LPAAT1欠損マウスでは呼吸機能解析を行った。LPCAT2の解析ではマウスマクロファージやマクロファージ細胞（RAW263.7）での活性調節を調べ、東京大学薬学部オーブンイノベーションセンターとの共同で阻害

剤スクリーニングを行った。

4. これまでの成果

Harayama, T., et al. (2014) *Cell Metab.* 20, 295-305.

生体膜リン脂質のホスファチジルコリン(PC)の脂肪酸多様性形成メカニズムの一端を解明し報告した。PCの脂肪酸組成はリゾホスファチジン酸アシル転移酵素(LPAAT)反応かリゾホスファチジルコリンアシル転移酵素(LPCAT)反応で形成される。今回、18:2や22:6の脂肪酸はLPAAT反応で、16:0や18:1はLPCAT反応で組み込まれやすいことがわかった。また、16:0を持つPC(DPPC)を生合成するLPCAT1の欠損マウスでは、過換気呼吸モデル実験において炎症誘発により致死率が高いこともわかった。DPPCは呼吸に必要な肺サーファクタント主成分であるため、リン脂質の質の維持が生体機能に必要であると、一例を報告した。

Morimoto, R., et al. (2014) *J. Biol. Chem.* 289, 15566-15576

Tarui, M., et al (2014) *J. Lipid Res.* 55, 1386-1396

強力な生理活性を持つリン脂質である血小板活性化因子(PAF)の生合成調節機構を解析した。PAFの生合成酵素であるリゾホスファチジルコリンアシル転移酵素2(LPCAT2)は主にマクロファージ等の炎症性細胞で働

く。これまで、リポポリサッカライド刺激30分程度でリン酸化により活性化、16時間では mRNA の誘導により活性が上昇することがわかってきた。今回、PAF そのものでの刺激で1分程度でもリン酸化による活性化されていることがわかった。また、この部位はリポポリサッカライド刺激の時と同じく Ser34 であり、しかしキナーゼは cPKC α と異なっていた。さらに、LPCAT2 の阻害剤スクリーニングを17万化合物から行った(東大薬学部オープンイノベーションセンターとの共同)。マレイミド骨格を持つ化合物を同定し TSI-01 と名付けた。TSI-01 は LPCAT2 に類似の LPCAT1 の肺サーファクタント脂質(DPPC) 生合成活性は抑制しない。

5. 今後の計画

1. 遺伝子改変マウスの作製と解析をさらに進める。
2. 多様なリン脂質の解析系を開発する。
3. リン脂質組成の変化と生体機能、病態への関与を明らかにする。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

- (1)Asahara, M., et al. Mol Pain. (2015) Dec;11(1):10. Epub 2015 Mar 12.
- (2)Yamaguchi, M., et al. (2015) Biochem. Pharmacol. 93, 482-495.
- (3)Yasuda, D., et al (2015)FASEB J. in press
- (4)Koeberle, A. et al. (2015) FASEB J. in press
- (5)Hishikawa, D., et al (2014)J. Lipid Res. 55:799-807
- (6)Yoshioka, W., et al (2014)Sci. Rep. 4, 4042
- (7)Tarui, M., et al (2014)J. Lipid Res. 55. 1386-1396
- (8)Harayama, T., et al. (2014)Cell metab. 20. 295-305
- (9)Morimoto, R., et al. (2014)J. Biol. Chem. 289. 15566-15576
- (10)Liu, M., et al (2014)J. Exp. Med. 211.1063-78
- (11)Sumida, H., et al (2014)J. Immunol. 192.4361-4369
- (12) Eto, M., et al (2014) Biochem Biophys Res Commun. 443. 718-24.
- (13) Sugatani, J., et al (2014) FASEB J. 28. 440-52.
- (14) Hikiiji, H., et al (2014) FASEB J. 28. 871-9.
- (15)Shindou, H., et al (2013)J. Biochem. 154. 21-8.
- (16)Yanagida, K., et al (2013)Biochim Biophys Acta. ;1831:33-41
- (17)Hishikawa, D., et al (2013)FASEB J. 27.

5131-40.

- (18)Hashimotodani, Y., et al (2013) J. Physiol. 591. 4765-76.
- (19)Tokuoka M, S., et al (2013) BBRC. 436. 306-12.
- (20)Yoshikawa, K., et al (2013) Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. 88. 373-81.
- (21)Taketomi, Y., et al (2013) Nat Immunol. 14. 554-63
- (22)Koeberle, A. et al (2013)PNAS 110 2546-51.
- (23)Ohkubo, H., et al (2013) FASEB J. 27, 3132-3143
- (24)Nakamura, M., et al (2013)Methods Enzymol. 521, 203-216.
- (25)Eto, M., et al (2012)Int J Mol Sci. 13. 16267-80
- (26)Koeberle, A., et al (2012)J. Biol. Chem. 287, 27244-27254.
- (27)Ishihara, K., et al (2012)FASEB J. 26, 104111-104121.
- (28)Echigo, R., et al (2012) J. Translational Medicine 10, 80.
- (29)Saito, Y., et al (2012) Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 302, H2018-2030.
- (30)Sasaki, F., et al (2012) Anal. Biochem. 425, 157-165.
- (31)Jönsson, F., et al (2012) Blood 119, 2533-2544.
- (32)Koeberle, A., et al (2012) FASEB J. 26, 169-180.

ホームページ等

<http://www.ncgmilipidsp.jp>

<http://www.rincgm.jp/department/pro/02/>