

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15074

研究課題名(和文)LPCAT3による生体恒常性維持機構の解明

研究課題名(英文)Functional analysis of LPCAT3 in liver homeostasis and regeneration

研究代表者

稲垣 奈都子 (INAGAKI, NATSUKO)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・研究員

研究者番号：00611419

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年、グリセロリン脂質は生体膜の主要構成成分としての役割だけでなく、様々な生命現象に関与していることが明らかになってきた。リゾホスファチルコリンアシル転移酵素3(LPCAT3)は、リソリン脂質アシル転移酵素の一つで、リモデリング経路においてリソリン脂質にアラキドン酸を導入してリン脂質を合成する酵素である。本研究では、脂質代謝の中心的役割を担う肝臓に着目し、肝臓特異的LPCAT3欠損マウスを用いて、生理条件下における変化に加えて肝再生時におけるLPCAT3の役割を明らかにすることにより、『LPCAT3による生体恒常性維持機構』を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

LPCAT3は、2008年に研究代表者の所属研究室で単離された酵素であり、その生理学的機能や病態形成に果たす役割に関しては未解明な部分が多い。肝再生の観点からLPCAT3の恒常性維持機構については、これまで国内外においても報告例がなく、本研究結果によりLPCAT3が肝切除後肝再生における肝細胞の増殖に関与することを示すことが出来た。この成果は将来的に新規治療法などの開発へと発展しうる可能性が期待される。

研究成果の概要(英文)：The liver has a remarkably high regenerative capacity that is regulated by several growth factors and signaling pathways working in a coordinated manner after liver resection to restore lost liver volume and function. Moreover, changes in membrane phospholipid composition have been reported during liver regeneration. However, the pathophysiological significance of these changes remains unknown. In this project, we focused on lysophosphatidylcholine acyltransferase 3 (LPCAT3), which incorporates arachidonic acid into lysophospholipids to produce phospholipids, and investigated whether qualitative and quantitative changes in membrane phospholipid composition might affect liver regeneration. Our study demonstrated that changes in membrane phospholipid composition allowed hepatocytes to prepare for the proliferation stage required for regeneration of liver tissue.

研究分野：肝臓学

キーワード：肝臓 リン脂質 多価不飽和脂肪酸 リソリン脂質アシル転移酵素 肝再生 メタボローム

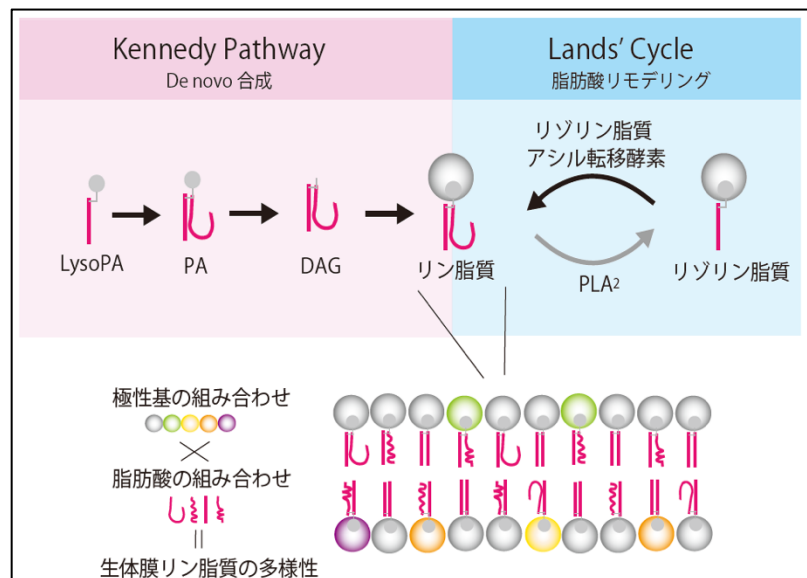
様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

グリセロリン脂質は、生体膜を構成する主要成分である。グリセロリン脂質は、グリセロール骨格に二つの脂肪酸鎖とリン酸を含む極性基が結合した構造を有している。ホスファチジルコリン(PC)、ホスファチジルセリン(PS)、ホスファチジルエタノールアミン(PE)などの極性基と多様な脂肪酸鎖の組み合わせにより、グリセロリン脂質は1000種類以上存在する。

グリセロリン脂質は、*de novo*経路 (Kennedy 経路) で生合成され、脂肪酸鎖リモデリング経路 (Lands' 回路) で非対称性と多様性を獲得したと考えられている。*de novo*経路で新規合成されたグリセロリン脂質は、脂肪酸鎖リモデリング経路で、ホスホリパーゼ A2 により切り出され、リゾリン脂質になる。

そして「リゾリン脂質アシル転移酵素」により再びアシル基が結合してグリセロリン脂質に変換される (右図)。このように脂肪酸鎖リモデリング経路において重要な役割を担う「リゾリン脂質アシル転移酵素」だが、同定はその存在が提唱されてから50年以上経った2000年代に入ってからだった。



所属研究室では、これまでに13種類のうち8種類のリゾリン脂質アシル転移酵素を同定・報告している (Shindou H. et al. *J. Biol. Chem.* 2009., Shimizu T. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2009)。その中の一つであるリゾホスファチジルコリンアシル転移酵素3 (LPCAT3) は、MBOATモチーフを持つ膜貫通タンパクで、高度不飽和脂肪酸を含む18:1CoAや20:4CoAなどのアシルCoAの脂肪酸をリゾPC、リゾPE、リゾPSに結合させ、PC、PE、PSを生合成する酵素である。LPCAT3は、哺乳類においてユビキタスに発現しているが、肝臓、小腸といった消化器系、脂肪組織での発現が高いことが知られている。LPCAT3全身性ノックアウトマウスは中性脂質の輸送不全により小腸の脂質吸収不全や血糖値低下をきたし、新生仔致死に陥いる。このようにLPCAT3は、新生仔の成長に必要なリン脂質を合成・供給していることが示唆されている。LPCAT3は、新生仔だけでなく成体にも高発現していることから、成長期のみならず成体の恒常性維持にも重要な役割を担っていると考えられるが、LPCAT3の成体における役割は不明である。

2. 研究の目的

再生能力の高い臓器としても知られている肝臓は、その2/3を外科的に切除しても、残った1/3の肝臓が肥大することにより数週間で元の大きさにまで回復する。この「肝再生」のプロセスにおける生体膜グリセロリン脂質の脂質代謝制御機構は不明である。本研究では、脂質代謝の中心的役割を担う肝臓に着目し、肝臓特異的LPCAT3欠損マウスを用いて、生理条件下にお

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

ける変化に加えて肝再生時における LPCAT3 の役割を明らかにすることにより、『LPCAT3 による生体恒常性維持機構』を解明する。

3. 研究の方法

(1) 野生型マウスに肝切除を施し、肝臓における LPCAT3 遺伝子発現の経時変化を調べた。

(2) LPCAT3 を全身で欠損させたマウスは新生仔致死に陥るため、本研究を始めるにあたり、Cre/loxP 遺伝子組換えシステムを用いて肝臓特異的 LPCAT3 欠損マウスを作成した。肝臓特異的 LPCAT3 欠損マウスは雌雄とも全匹、胎生致死・新生仔致死にならずに成体にまで成長することを確認した。新たに作成した肝臓特異的 LPCAT3 欠損マウスの生理条件下における特性を明らかにした。

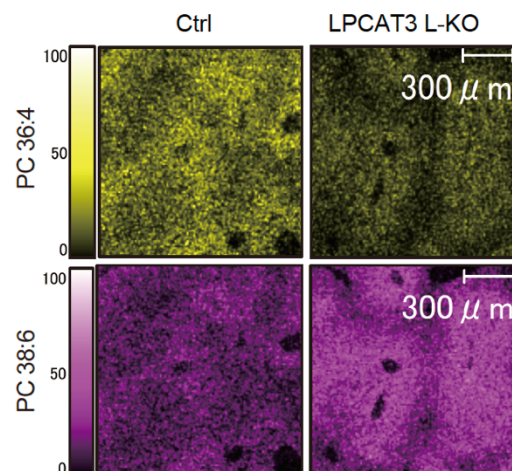
(3) 肝臓特異的 LPCAT3 欠損マウスに 70% 肝切除を施行し、肝再生のプロセスにおいて LPCAT3 がどのような役割を果たしているのかを明らかにした。

4. 研究成果

LPCAT3 は、2008 年に研究代表者の所属研究室で単離された酵素であり、その生理学的機能や病態形成に果たす役割に関しては未解明な部分が多い。肝再生の観点から LPCAT3 の恒常性維持機構については、これまで国内外においても報告例がなく、本研究成果により LPCAT3 が肝切除後肝再生における肝細胞の増殖に関与することを示すことが出来た。この成果は将来的に新規治療法などの開発へと発展しうる可能性が期待される。以下に詳細な研究成果を記述する。

(1) 野生型マウスに 70% 部分肝切除を施行した後、肝臓における LPCAT3 遺伝子発現の経時変化を調べたところ、肝切除後に大きく変動することを見出した。この結果は、LPCAT3 と肝再生との関連を示唆した。

(2) 肝臓特異的 LPCAT3 欠損マウスの生理条件下における特性を調べるにあたり、コントロールマウスには同腹仔を用いた。生理条件下における、肝臓特異的 LPCAT3 欠損マウスの肝臓内のリン脂質を液体クロマトグラフィー質量分析計(LC/MS)を用いて測定したところ、総 PC 含有量はコントロールマウスの間に有意差は認められなかった。しかしながら、そのリン脂質組成を調べてみると、アラキドン酸含有リン脂質が有意に低下し、代わりに DHA 含有リン脂質が増加していた。加えて、イメージング質量分析 (イメージング MS) を用いて、肝臓組織内のリン脂質局在を可視化した。肝臓特異的 LPCAT3



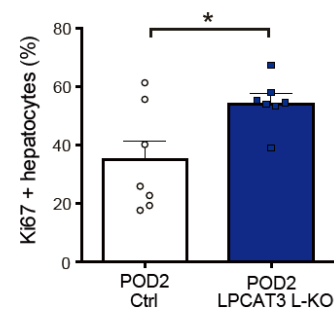
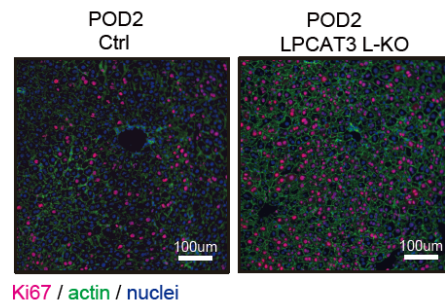
様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

欠損マウスでは、その局在には違いはなかったが、アラキドン酸含有リン脂質が減り、DHA 含有リン脂質が増加していることが確認できた(右図)。

上記のように、肝臓特異的 LPCAT3 欠損マウス肝臓におけるアラキドン酸含有リン脂質は低下していたが、生理条件下における血清 AST 値・ALT 値、肝臓のコレステロールやトリグリセリドの含有量、および肝重量比は LPCAT3 肝臓特異的欠損マウスとコントロールマウスの間に有意差は認められなかった。また組織像にも違いは認められなかった。

(3) この LPCAT3 肝臓特異的欠損マウスを用いて、70%肝切除を施行し、肝再生のプロセスにおいて LPCAT3 がどのような役割を果たしているのかを検討した。

肝切除後初期に、LPCAT3 肝臓特異的欠損マウスで肝再生が促進された。イメージングサイトメトリーによる解析ではコントロールマウスと比較して増殖マーカーである Ki67 陽性肝細胞の割合が有意に増加していた(右図)。CyclinD1 も肝切除後早期から発現しており肝細胞の増殖が促進されていることが明らかになったが、肝細胞の肥大に関して有意差は認められなかった。これまで肝再生に関与することが報告されている HGF、IL-6、EGF、HB-EGF など各種サイトカインの発現を調べたが有意差は認められなかった。加えて、PGE2 をはじめとしたアラキドン酸代謝産物や中性脂肪の蓄積量に関する差異は認められず、既報とは別のメカニズムの存在が示唆された。このため、肝切除早期のアラキドン酸含有リン脂質の挙動に着目して解析を行なったところ、肝切除後の再生過程においてアラキドン酸含有リン脂質が肝細胞の増殖のタイミングを制御する調節機構として働くことが明らかとなった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Inagaki NF, Inagaki FF, Kokudo N, Miyajima A	4. 巻 593
2. 論文標題 Generation of mesothelial progenitor-like cells from mouse-induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 386-394
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/1873-3468.13325	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 稲垣奈都子, 進藤英雄, 高橋佳一, 橋立智美, 浜野文三江, 徳岡涼美, 清水孝雄
2. 発表標題 アシル転移酵素LPCAT3の肝臓における役割の解明
3. 学会等名 第41回 分子生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲垣奈都子, 進藤英雄, 清水孝雄
2. 発表標題 6系多価不飽和脂肪酸含有リン脂質による肝再生調節機構の解明
3. 学会等名 第20回 日本再生医療学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 稲垣奈都子, 進藤英雄, 清水孝雄
2. 発表標題 アラキドン酸含有リン脂質による肝再生調節機構の解明
3. 学会等名 第7回 肝臓と糖尿病・代謝研究会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Natsuko F Inagaki, Fuyuki F Inagaki	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 300
3. 書名 Advances in Stem Cell Biology	

〔産業財産権〕

〔その他〕

第7回肝臓と糖尿病・代謝研究会にて若手研究奨励賞（YIA）を受賞

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
---------	---------