

平成 22 年 6 月 4 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20890047
 研究課題名（和文） リン脂質のリモデリング経路により作られる脂肪酸非対称性の生理的意義の解析
 研究課題名（英文） Biological role of asymmetric distribution of fatty acids in membrane phospholipids
 研究代表者
 徳岡 涼美（TOKUOKA SUZUMI）
 東京大学・大学院医学系研究科・特任助教
 研究者番号：60511376

研究成果の概要（和文）：

グリセリン脂質の脂肪酸組成に関わるとされる酵素群のうち、マウス脳中の神経細胞に特異的に多く発現する酵素のいくつかを明らかにした。マウス神経細胞の培養を行い、培養条件によってリン脂質脂肪酸の組成を変化させる系を作製した。リン脂質脂肪酸組成の異なる細胞では、神経細胞の機能に変化が起こる可能性を示す結果が得られたがこれらに関わる酵素についての解析を現在進めている。

研究成果の概要（英文）：

We have studied phospholipid-remodeling enzymes that are possibly involved in fatty acid composition in glycerophospholipid. Our study has revealed that some of the enzymes have specific expression pattern in neuron in mice brain. We have established a method that manipulates fatty acid composition in phospholipid in neuron by using mouse primary hippocampal neuronal culture. Our results suggest the possibility that neuronal function may differ between cells that have different fatty acid composition. We are currently investigating the enzymes that are involved in this functional change by modulation of fatty acid composition.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,340,000	402,000	1,742,000
2009 年度	950,000	285,000	1,235,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,290,000	687,000	2,977,000

研究分野：分子細胞生物学

科研費の分科・細目：基礎医学分科 医化学一般

キーワード：リン脂質、アシル転移酵素、神経細胞

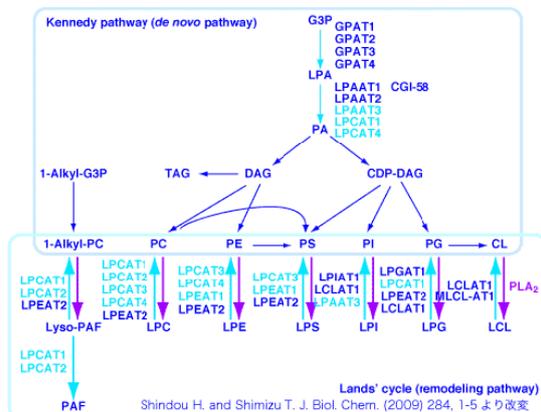
1. 研究開始当初の背景

生体膜の主成分であるグリセリン脂質

の sn-1 位には飽和脂肪酸が、sn-2 位にはアラキドン酸 (20:4) などの多価不飽和脂肪酸

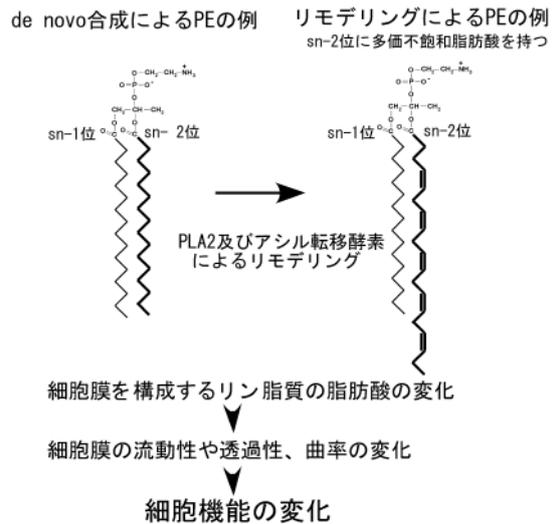
が多い事が知られている。この違いは、グリセリン脂質の de novo 合成過程では説明されないため、50 年前に W. E. Lands の提唱したリモデリング経路で形成されると考えられる (Lands, W. E. (1958) *J Biol Chem* 231, 883-888)。この脂肪酸非対称性を作り出すアシル転移酵素は、遺伝子配列からは予測がしにくいいため遺伝子クローニングが遅れていたが、最近になって報告が相次ぎ、それぞれの遺伝子についての酵素活性と基質特異性が報告されはじめた。しかしながら、これらの酵素が作り出すリン脂質脂肪酸非対称性の生物学的意義に関してはいまだ明らかでなかった。

申請者はこのリモデリングサイクルに関わる酵素の生理的意義を、遺伝子モデル動物である *C. elegans* を用いて解析する計画をした。*C. elegans* の不飽和脂肪酸合成酵素欠損変異体を用いた研究報告が盛んに行われていたが、これまでの報告は脂肪酸単独に着目している研究やリン脂質の中でもシグナル分子であるフォスファチジルイノシトールに着目した研究などであり、細胞膜組成に注目した研究はほとんどなされてこなかった (Watts, J. L. et al (2002) *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 5854-5859, Marza, E. et al (2006) *Biochem Soc Trans* 34, 77-80)。当研究室では細胞膜の組成に関わると思われるリン脂質アシル転移酵素のいくつかを世界に先駆けてクローニングしホ乳動物での機能解析を現在進行中であり、そこから得られる結果と *C. elegans* での優位な点を補い合いながら迅速に研究を進める事が出来ると考えた。



2. 研究の目的

- (1) 細胞膜リン脂質の主要構成成分であるフォスファチジルコリン、フォスファチジルエタノールアミンなどの脂肪酸組成に関わる酵素を明らかにする。
- (2) 細胞膜リン脂質中に組み込まれた脂肪酸の違いが、生体レベル又は細胞レベルでどのように影響を及ぼすのかを解析する。



3. 研究の方法

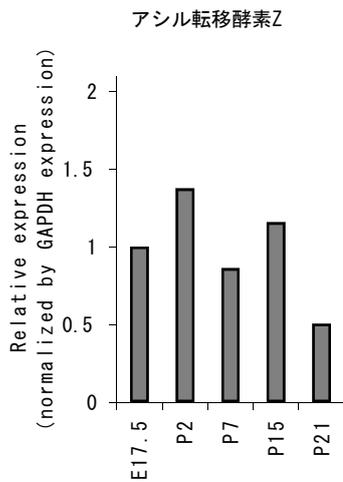
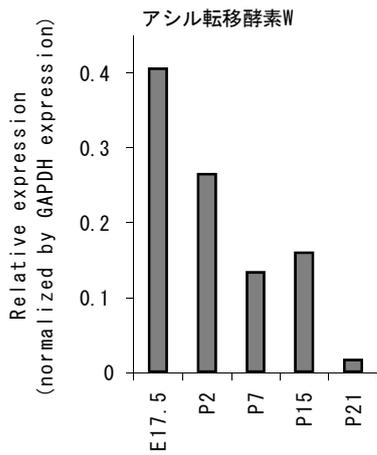
- (1) フォスファチジルコリン、フォスファチジルエタノールアミンなどのリン脂質の脂肪酸組成に関わる酵素を遺伝子配列から予測し、その変異体 *C. elegans* を作製あるいは入手し、脂質組成、酵素活性を解析する。行動解析によって脂質組成の違いが生体にどのように影響をもたらすか解析する。
- (2) 生体の中でも細胞膜リン脂質の脂肪酸組成が特異的な脳及び神経細胞に発現するアシル転移酵素を探索する。RNAi によるノックダウンにより脂質組成が変化するかどうかを解析する。リン脂質脂肪酸組成の変化による神経細胞機能への影響について解析する。

4. 研究成果

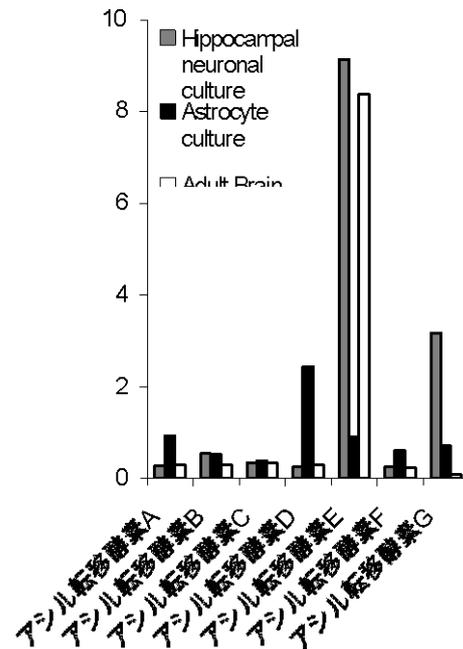
- (1) *C. elegans* を用いた系では、リン脂質の脂肪酸組成に関わる可能性がある酵素の変異体を用いて解析を進めたが、注目した単独の酵素の欠損による生体の異常は

観察されなかった（成長速度、神経伝達物質放出、筋肉の機能、刺激への応答など）。リン脂質のリモデリングに関わる酵素は複数存在し多重性もある、また生合成経路で補える可能性もある。

(2) マウスの脳では発達によりリン脂質の脂肪酸組成の変化が起こっている事がわかった。一般的に言われるように、アダルトになるに従ってリン脂質脂肪酸組成の不飽和度が高くなっていく事を確認した。さらに半定量的PCRを行う事によっていくつかリン脂質の脂肪酸構成に関わると思われる酵素が時間的に変動している事を明らかにした。これら酵素の実体は最近になって遺伝子配列が明らかになってきたものが多く、酵素の生体内での役割も不明のものが多いため、今後研究を進める事により、リン脂質脂肪酸変動とその意義に関して新しい知見が得られると考えている。



(3) マウスの神経およびアストロサイトの初代培養系を用いて、リン脂質の脂肪酸組成に関わる可能性ある酵素群の中でも神経細胞特異的に発現の高い酵素、アストロサイトに特異的な発現をする酵素が存在する事を明らかにした。これらは、組織としての脳全体を用いた実験ではわからなかった事であり、各々の細胞の脂質組成と酵素遺伝子発現の関係を明らかにする上での必要な知識である。これら特異的な発現を示す酵素に関する研究を以下のように進めている。



(4) RNAiを用いて特定の酵素のノックダウンにより培養神経細胞の特定のリン脂質脂肪酸組成が変化する可能性について検討した。現在いくつかの酵素に関して解析中である。また、この組成変化がもたらす細胞への影響も解析中である。

(5) 培養神経細胞のリン脂質組成変化を作り出す系を作製し、異なるリン脂質組成を持つ神経細胞における神経細胞機能の違いについて現在解析中である。

5. 主な発表論文等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

徳岡 涼美 (TOKUOKA SUZUMI)
東京大学・大学院医学系研究科・特任助教
研究者番号： 60511376

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし