

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2010～2012

課題番号：22249017

研究課題名（和文）脂質メディエーターの臨床検査医学の構築

研究課題名（英文）Establishment of laboratory medicine of lipid mediators

研究代表者

矢富 裕（YATOMI YUTAKA）

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：60200523

研究成果の概要（和文）：第二世代脂質メディエーターとされるスフィンゴシン 1-リン酸，リゾホスファチジン酸，リゾホスファチジルセリンなどのリゾリン脂質の機能的役割，代謝機構の解明を基礎として，その測定の臨床検査医学的応用に道筋をつけた

研究成果の概要（英文）： Through the elucidation of functional roles and metabolic regulation of lysophospholipids, i.e., sphingosine 1-phosphate, lysophosphatidic acid, and lysophosphatidylserine, introduction into laboratory medicine of the assay of these lipid mediators has been pursued.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	11,200,000	3,360,000	14,560,000
2011 年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
2012 年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
総計	22,600,000	6,780,000	29,380,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・病態検査学

キーワード：臨床検査医学

1. 研究開始当初の背景

現代の医療は，臨床検査なくして成立しない。病歴情報と診察所見に加え，これらと相補的かつ客観的なデータを提供してくれる臨床検査は，日常診療に必須である。そして，新しい有用な臨床検査を開発することは，我々臨床検査に携わるものの使命である。

我々の研究グループは，これまで，脂質メディエーターの研究を基礎・臨床両面から進めてきており，臨床面では，とくに診断医学的応用に力を注いできた。脂質メディエーターは，その多彩かつ重要な（病態）生理学的役割が，細胞・個体レベルで示されてきているが，診断医学への応用は遅れている。一部のエイコサノイド類の測定が研究を目的に

施行されることがあるが，脂質メディエーター関連で保険収載されている項目はなく，臨床検査の教科書でもほとんど記述がない。

2. 研究の目的

我々がこれまで研究を進めてきたリゾリン脂質を中心とした脂質メディエーターの機能的役割，代謝機構の解明を基礎として，その測定の臨床検査医学的応用を目指す。

3. 研究の方法

リゾリン脂質は，最近，急速に知見が蓄積されているが，エイコサノイドとは異なり，

いまだ未知の部分が多く、種々の細胞、組織、さらには個体レベルでの機能的役割と代謝制御機構の解明は極めて重要である。このような基礎研究と並行して、これら脂質メディエーターとその関連蛋白質の測定の臨床検査医学的応用を目指した。

4. 研究成果

スフィンゴシン 1-リン酸 (Sph-1-P) 関連：慢性肝疾患、門脈圧亢進症における Sph-1-P の病態生理学的役割を新たに解明した (15)。Sph-1-P 受容体 S1P2 アンタゴニストの治療薬としての応用が期待できる結果を得た。脊髄損傷マウスモデルにおける神経修復作用における、S1P1 アナログ FTY720 の作用機序に関しても、新しい知見を得た (17)。

臨床検査医学的応用として、改良を進めてきた Sph-1-P 測定法を用いて、種々の病態下における生体の Sph-1-P 変動を解析した。慢性肝疾患における血漿 Sph-1-P の低下を明らかにした (1) が、その機序の解明は、慢性肝疾患の病態解明にとって重要と考えられ、研究を継続している。また、冠動脈疾患において、セロトニンとともに血漿 Sph-1-P を測定する意義を明らかにした (20)。さらには、血小板数が血清 Sph-1-P を規定する重要な因子であることを明らかにした (24)。

最近、ApoM が Sph-1-P キャリアであることが報告されたが、我々は、ApoM を介した、肝臓による血中 Sph-1-P レベルの制御機構を明らかにした (26)。

一方、生体における糖代謝、糖尿病 (腎症を含む) への Sph-1-P への関与を示唆する知見を得ることができ (2, 3)、現在、マウス個体レベルでの検討を進めている。

合わせて、Sph-1-P の上流脂質であるスフィンゴミエリンの測定も確立し、臨床応用を進めている (18)。

リゾホスファチジン酸 (LPA) 関連：

血漿 LPA 測定の臨床的意義を探索し、急性冠症候群における血漿 LPA 値の上昇を明らかにした (12, 27)。さらには、これまでの我々の検討では、種々の病態における血漿 LPA の上昇は、その産生酵素であるリゾホスホリパーゼ D/オートタキシン (lysoPLD/ATX) を伴っていたが、急性冠症候群では、ATX の上昇が起きておらず、新しい機序による血漿 LPA 上昇が想定された。現在、その機序を解明するため、LPA 分子種の解析を質量分析法を用いて行っている。

また、ATX 測定の臨床検査医学的応用を目指し、慢性肝疾患における高値とその測定意義 (10, 21, 23)、膵癌における高値 (11)、妊娠における上昇と妊娠高血圧症

候群における低減傾向 (9) を明らかにし、さらなる詳細な評価を進めている。血中 ATX レベルが副腎皮質ステロイド治療の薬効を反映する可能性も明らかにした (25)。一方、以前、LPA が卵巣癌のバイオマーカーとして有望とされていたが、ATX は卵巣癌のマーカーにはならないことを明らかにした (16)。

さらには、生体における ATX アイソフォーム発現の評価も行った (14)。その他、関節リウマチにおける LPA の関与 (28)、輸血副作用における LPA の関与の可能性 (29) も報告した。

リゾホスファチジルセリン (LPS) 関連：

LPS 産生に最も重要に関わる PS-PLA1 の測定系を構築した (4)。その後、検討を進め、自己免疫疾患 SLE における PS-PLA1 の特異的上昇を認め、現在、その機能的意義を追及している。

以上の解析・検討を通じ、リゾリン脂質を中心とした脂質メディエーターの生体における機能的役割と生体における制御機構の解明に大きく寄与することができたとともに、その測定の臨床検査医学的応用に際しての展望も開かれたと考える。

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 29 件)

1. Ikeda, H., Ohkawa, R., Watanabe, N., Nakamura, K., Kume, Y., Nakagawa, H., Yoshida, H., Okubo, S., Yokota, H., Tomiya, T., Inoue, Y., Nishikawa, T., Ohtomo, N., Tanoue, Y., Koike, K., and Yatomi, Y. Plasma concentration of bioactive lipid mediator sphingosine 1-phosphate is reduced in patients with chronic hepatitis C. *Clin. Chim. Acta* 411: 765-770, 2010.

2. Imasawa, T., Kitamura, H., Ohkawa, R., Satoh, Y., Miyashita, A., and Yatomi, Y. Unbalanced expression of sphingosine 1-phosphate receptors in diabetic nephropathy. *Exp. Toxicol. Pathol.* 62: 53-60, 2010.

3. Imasawa, T., Koike, K., Ishii, I., Chun, J., and Yatomi, Y. Blockade of sphingosine 1-phosphate receptor 2 signaling attenuates streptozotocin-induced apoptosis of

pancreatic beta-cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 392: 207-211, 2010.

4. Nakamura, K., Igarashi, K., Ohkawa, R., Saiki, N., Nagasaki, M., Uno, K., Hayashi, N., Sawada, T., Syukuya, K., Yokota, H., Arai, H., Ikeda, H., Aoki, J., and Yatomi, Y. A novel enzyme immunoassay for the determination of phosphatidylserine-specific phospholipase A(1) in human serum samples. *Clin. Chim. Acta* 411: 1090-1094, 2010.

5. Ogiso, H., Nakamura, K., Yatomi, Y., Shimizu, T., and Taguchi, R. Liquid chromatography/mass spectrometry analysis revealing preferential occurrence of non-arachidonate-containing phosphatidylinositol bisphosphate species in nuclei and changes in their levels during cell cycle. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 24: 436-442, 2010.

6. Qi, X., Okamoto, Y., Murakawa, T., Wang, F., Oyama, O., Ohkawa, R., Yoshioka, K., Du, W., Sugimoto, N., Yatomi, Y., Takawa, N., and Takawa, Y. Sustained delivery of sphingosine-1-phosphate using poly(lactic-co-glycolic acid)-based microparticles stimulates Akt/ERK-eNOS mediated angiogenesis and vascular maturation restoring blood flow in ischemic limbs of mice. *Eur. J. Pharmacol.* 634: 121-131, 2010.

7. Dohi, T., Miyauchi, K., Okazaki, S., Yokoyama, T., Ohkawa, R., Nakamura, K., Yanagisawa, N., Tsuboi, S., Ogita, M., Yokoyama, K., Kurata, T., Yatomi, Y., and Daida, H. Decreased circulating lipoprotein-associated phospholipase A2 levels are associated with coronary plaque regression in patients with acute coronary syndrome. *Atherosclerosis* 219: 907-912, 2011.

8. Ikeda, H., Tateishi, R., Enoku, K., Yoshida, H., Nakagawa, H., Masuzaki, R., Kondo, Y., Goto, T., Shiina, S., Kume, Y., Tomiya, T., Inoue, Y., Nishikawa, T., Ohtomo, N., Tanoue, Y., Ono, T., Koike, K., and Yatomi, Y. Prediction of hepatocellular carcinoma development by plasma ADAMTS13 in chronic hepatitis B and C. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 20: 2204-2211, 2011.

9. Masuda, A., Fujii, T., Iwasawa, Y., Nakamura, K., Ohkawa, R., Igarashi, K., Okudaira, S., Ikeda, H., Kozuma, S., Aoki, J., and Yatomi, Y. Serum autotaxin measurements in pregnant women: application for the differentiation of normal pregnancy and pregnancy-induced hypertension. *Clin. Chim. Acta* 412: 1944-1950, 2011.

10. Nakagawa, H., Ikeda, H., Nakamura, K., Ohkawa, R., Masuzaki, R., Tateishi, R., Yoshida, H., Watanabe, N., Tejima, K., Kume, Y., Iwai, T., Suzuki, A., Tomiya, K., Inoue, Y., Nishikawa, T., Ohtomo, N., Tanoue, Y., Omata, M., Igarashi, K., Aoki, J., Koike, K., and Yatomi, Y. Autotaxin as a novel serum marker of liver fibrosis. *Clin. Chim. Acta* 412: 1201-1206, 2011.

11. Nakai, Y., Ikeda, H., Nakamura, K., Kume, Y., Fujishiro, M., Sasahira, N., Hirano, K., Isayama, H., Tada, M., Kawabe, T., Komatsu, Y., Omata, M., Aoki, J., Koike, K., and Yatomi, Y. Specific increase in serum autotaxin activity in patients with pancreatic cancer. *Clin. Biochem.* 44: 576-581, 2011.

12. Dohi, T., Miyauchi, K., Ohkawa, R., Nakamura, K., Kishimoto, T., Miyazaki, T., Nishino, A., Nakajima, N., Yaginuma, K., Tamura, H., Kojima, T., Yokoyama, K., Kurata, T., Shimada, K., Yatomi, Y., and Daida, H. Increased circulating plasma lysophosphatidic acid in patients with acute coronary syndrome. *Clin. Chim. Acta* 413: 207-212, 2012.

13. Dohi, T., Miyauchi, K., Ohkawa, R., Nakamura, K., Tsuboi, S., Ogita, M., Miyazaki, T., Nishino, A., Yokoyama, K., Kurata, T., Yatomi, Y., and Daida, H. Higher lipoprotein-associated phospholipase A2 levels are associated with coronary atherosclerosis documented by coronary angiography. *Ann. Clin. Biochem.* 49: 527-533, 2012.

14. Hashimoto, T., Okudaira, S., Igarashi, K., Hama, K., Yatomi, Y., and Aoki, J. Identification and biochemical characterization of a novel autotaxin isoform, ATXdelta, with a four-amino acid deletion. *J. Biochem.* 151: 89-97, 2012.

15. Kageyama, Y., Ikeda, H., Watanabe, N., Nagamine, M., Kusumoto, Y., Yashiro, M., Satoh, Y., Shimosawa, T., Shinozaki, K., Tomiya, T., Inoue, Y., Nishikawa, T., Ohtomo, N., Tanoue, Y., Yokota, H., Koyama, T., Ishimaru, K., Okamoto, Y., Takawa, Y., Koike, K., and Yatomi, Y. Antagonism of sphingosine 1-phosphate receptor 2 causes a selective reduction of portal vein pressure in bile duct-ligated rodents. *Hepatology* 56: 1427-1438, 2012.
16. Nakamura, K., Igarashi, K., Ohkawa, R., Yokota, H., Masuda, A., Nakagawa, S., Yano, T., Ikeda, H., Aoki, J., and Yatomi, Y. Serum autotaxin is not a useful biomarker for ovarian cancer. *Lipids* 47: 927-930, 2012.
17. Norimatsu, Y., Ohmori, T., Kimura, A., Madoiwa, S., Mimuro, J., Seichi, A., Yatomi, Y., Hoshino, Y., and Sakata, Y. FTY720 improves functional recovery after spinal cord injury by primarily nonimmunomodulatory mechanisms. *Am. J. Pathol.* 180: 1625-1635, 2012.
18. Ohkawa, R., Kishimoto, T., Kurano, M., Dohi, T., Miyauchi, K., Daida, H., Nagasaki, M., Uno, K., Hayashi, N., Sakai, N., Matsuyama, N., Nojiri, T., Nakamura, K., Okubo, S., Yokota, H., Ikeda, H., and Yatomi, Y. Development of an enzymatic assay for sphingomyelin with rapid and automatable performances: Analysis in healthy subjects and coronary heart disease patients. *Clin. Biochem.* 45: 1463-1470, 2012.
19. Soroida, Y., Ohkawa, R., Nakagawa, H., Satoh, Y., Yoshida, H., Kinoshita, H., Tateishi, R., Masuzaki, R., Enooku, K., Shiina, S., Sato, T., Obi, S., Hoshino, T., Nagatomo, R., Okubo, S., Yokota, H., Koike, K., Yatomi, Y., and Ikeda, H. Increased activity of serum mitochondrial isoenzyme of creatine kinase in hepatocellular carcinoma patients predominantly with recurrence. *J. Hepatology* 57: 330-336, 2012.
20. Sugiura, T., Dohi, Y., Yamashita, S., Ohte, N., Ito, S., Iwaki, S., Hirowatari, Y., Ohkawa, R., Mishima, Y., Yatomi, Y., Kimura, G., and Fujii, S. Analytical evaluation of plasma serotonin and sphingosine 1-phosphate and their clinical assessment in early atherosclerosis. *Coron. Artery Dis.*, 2012, 23: 234-238, 2012.
21. Ikeda, H. and Yatomi, Y. Autotaxin in liver fibrosis. *Clin. Chim. Acta* 413: 1817-1821, 2012.
22. Enooku, K., Kato, R., Ikeda, H., Kurano, M., Kume, Y., Yoshida, H., Ono, T., Aizawa, K., Suzuki, T., Yamazaki, T., and Yatomi, Y. Inverse correlations between serum ADAMTS13 levels and systolic blood pressure, pulse pressure, and serum C-reactive protein levels observed at a general health examination in a Japanese population: A cross-sectional study. *Clin. Chim. Acta* 421: 147-151, 2013.
23. Ikeda, H., Enooku, K., Ohkawa, R., Koike, K., and Yatomi, Y. Plasma lysophosphatidic acid levels and hepatocellular carcinoma (Letter). *Hepatology* 57: 417-418, 2013.
24. Ono, Y., Kurano, M., Ohkawa, R., Yokota, H., Igarashi, K., Aoki, J., Tozuka, M., and Yatomi, Y. Sphingosine 1-phosphate release from platelets during clot formation: close correlation between platelet count and serum sphingosine 1-phosphate concentration. *Lipids Health Dis.* 12: 20, 2013.
25. Sumida, H., Nakamura, K., Yanagida, K., Ohkawa, R., Asano, Y., Kadono, T., Tamaki, K., Igarashi, K., Aoki, J., Sato, S., Ishii, S., Shimizu, T., and Yatomi, Y. Decrease in circulating autotaxin by oral administration of prednisolone. *Clin. Chim. Acta* 415: 74-80, 2013.
26. Kurano, M., Tsukamoto, K., Ohkawa, R., Hara, M., Iino, J., Kageyama, Y., Ikeda, H., and Yatomi, Y. Liver involvement in sphingosine 1-phosphate dynamism revealed by adenoviral hepatic overexpression of apolipoprotein M. *Atherosclerosis*, in press.
27. Dohi, T., Miyauchi, K., Ohkawa, R., Nakamura, K., Kurano, M., Kishimoto, T., Yanagisawa, N., Ogita, M., Miyazaki, T., Nishino, A., Yaginuma, K., Tamura, H., Kojima, T., Yokoyama, K., Kurata, T., Shimada, K., Daida, H., and Yatomi, Y. Increased lysophosphatidic acid levels in culprit coronary arteries of patients with

acute coronary syndrome. Atherosclerosis, in press.

28. Miyabe, Y., Miyabe, C., Iwai, Y., Takayasu, A., Fukuda, S., Yokoyama, W., Nagai, J., Jona, M., Tokuhara, Y., Ohkawa, R., Albers, H.M., Ovaa, H., Aoki, J., Chun, J., Yatomi, Y., Ueda, H., Miyasaka, M., Miyasaka, N., and Nanki, T. Lysophosphatidic acid receptor LPA is essential for development of arthritis. Arthritis Rheum., in press.

29. Nagura, Y., Tsuno, N.H., Ohkawa, R., Nojiri, T., Tokuhara, Y., Matsushashi, M., Yatomi, Y., and Takahashi, K. Inhibition of Lysophosphatidic Acid (LPA) Increase by Pre-storage Whole-Blood Leukocyte Reduction in Autologous CPDA-1 Whole Blood. Transfusion, in press.

〔学会発表〕 (計 9 件)

1. Yatomi, Y. Lipid mediators and atherothrombosis. XXth World Congress of the International Society for Heart Research. 2010. 5. 13-16. Kyoto, Japan.

2. Yatomi, Y. Clinical laboratory medicine of lysophospholipid mediators. The 7th Seoul National University College of Medicine – The University of Tokyo Faculty of Medicine Joint Conference. 2010. 5. 28. Seoul, Korea.

3. Yatomi, Y. Clinical introduction of plasma lysophosphatidic acid and serum autotaxin assays. Keystone Symposia: Bioactive Lipids: Biochemistry and Diseases. 2010. 6. 6-11. Kyoto, Japan.

4. Yatomi, Y., Igarashi, K., Nakamura, K., Ohkawa, R., Masuda, A., Ikeda, H., and Aoki, J. Usefulness of the enzyme immunoassay of serum autotaxin reflecting the plasma lysophosphatidic acid level. Keystone Symposia: Bioactive Lipids: Biochemistry and Diseases. 2010. 6. 6-11. Kyoto, Japan.

5. Yatomi, Y., Igarashi, K., Nakamura, K., Ohkawa, R., Masuda, A., Ikeda, H., and Aoki, J. Analysis of lysophospholipids and their related molecules: its introduction into clinical laboratory medicine. The 27th Naito Conference on “Membrane Dynamics and Lipid Biology

[I]”. 2010. 6. 29-7.2. Sapporo, Hokkaido, Japan.

6. Yatomi, Y. Metabolism of lysophospholipids in the blood. XXIIIrd Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2011. 7. 23-28. Kyoto, Japan.

7. Kurano, M., Tsukamoto, K., Ohkawa, R., Hara, M., Iino, J., Ikeda, H., and Yatomi, Y. Hepatic Apolipoprotein M Overexpression Increased Total Sphingosine 1-phosphate Mass and Ameliorate Insulin Resistance in Diet Induced Obesity Mice. Scientific Session of the American Heart Association. 2012 11.3-7. CA, USA.

8. Ohkawa, R., Kishimoto, T., Kurano, M., Dohi, T., Miyauchi, K., Daida, H., Nagasaki, M., Uno, K., Hayashi, N., Sakai, N., Matsuyama, N., Nojiri, T., Nakamura, K., Okubo, S., Yokota, H., Ikeda, H., and Yatomi, Y. Possible Usefulness of the Assay of Choline and Choline-containing Phospholipids in Clinical Laboratory Medicine in the Fields of Dyslipidemia and Atherosclerosis. Scientific Session of the American Heart Association. AHA Scientific Sessions. 2012 11.3-7. CA, USA.

9. Sawada, T., Nakamura, K., Ohkawa, R., Shoji, A., Tahara, K., Hayashi, H., Kimura, E., Igarashi, K., Aoki, J., and Yatomi, Y. Serum phosphatidylserine-specific phospholipase A1 (PS-PLA1) identified as a novel biomarker for systemic lupus erythematosus (SLE). American College of Rheumatology 76th Annual Meeting, 2012.11.9-14. Washington DC, USA.

〔図書〕 (計 1 件)

Yatomi, Y., Igarashi, K., Nakamura, K., Ohkawa, R., Masuda, A., Suzuki, A., Kishimoto, T., Ikeda, H., and Aoki, J. Clinical Introduction of Lysophosphatidic Acid and Autotaxin Assays. Lysophospholipid Receptors: Signaling and Biochemistry (ed., J. Chun) John Wiley, USA., in press.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称：オートタキシン測定による膵疾患の検査方法および検査薬

発明者：矢富裕，池田均，中井陽介，中村和宏，五十嵐浩二
権利者：同上
種類：特許
番号：特願 2010-194658
出願年月日：2010/8/31
国内外の別：国内

○取得状況（計 2 件）

名称：オートタキシン測定による肝線維化の検査方法および検査薬
発明者：矢富裕，中村和宏，池田均，五十嵐浩二
権利者：同上
種類：特許
番号：W02011/081214
取得年月日：2011/7/7
国内外の別：国際

名称：ホスファチジルセリン特異的ホスホリパーゼ A 1 測定による全身性エリテマトーデスの検査方法および検査薬
発明者：矢富裕，中村和宏，五十嵐浩二，青木淳賢，沢田哲治
権利者：同上
種類：特許
番号：2012-032278
取得年月日：2012/2/16
国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://lab-tky.umin.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢富 裕 (YATOMI, YUTAKA)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：60200523