

## 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 6月 1日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2013

課題番号：23790324

研究課題名（和文）

リゾリン脂質アシル転移酵素ファミリーの機能解析

研究課題名（英文）

Analyses of lysophospholipid acyltransferase family

研究代表者

進藤 英雄 (SHINDOU HIDEO)

国立国際医療研究センター脂質シグナリングプロジェクト・上級研究員

研究者番号：10401027

研究成果の概要（和文）：

生体膜リン脂質を多様化するリゾリン脂質アシル転移酵素群をターゲットとして研究を進めた。リン脂質変化、リゾリン脂質アシル転移酵素発現と活性変動を調べた。本研究期間では、脂肪細胞への分化に関与する LPCAT3、精巣機能成熟に関与する脂肪酸の LPAAT3 による貯蔵、細胞周期に連動する PC-20:4、生理活性を持つ脂肪酸（パルミトレイン酸）の PI への貯蔵などがわかった。今後、これらの情報をもとに、さらに細胞レベルでのアシル転移酵素機能の解明が必要となる。

研究成果の概要（英文）：

I investigated lysophospholipid acyltransferases as target molecules to generate membrane diversity. Phospholipid composition, mRNA expression and activity of lysophospholipid acyltransferases were examined in differentiated cells (C3H 10T1/2 to adipocytes), mouse testis, and several stages of cell cycle. In this period, I could report that possible contribution of LPCAT3 to adipocyte function, storage of polyunsaturated fatty acids by LPAAT3 to mature testis function, oscillation of PC-20:4 during cell cycle, and storage of palmitoleic acid (16:1) in PI. In the future, biological roles of lysophospholipid acyltransferases in cells should be further investigated.

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	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：細胞医化学、リゾリン脂質アシル転移酵素

## 1. 研究開始当初の背景

生体膜グリセリン脂質は組織や細胞によって異なり多様な分子種が存在する。それぞれの組織や細胞に特徴的な複数のリゾリン脂質アシル転移酵素が働き、多様な生体膜グリセリン脂質を合成できる。本研究課題は、このリゾリン脂質アシル転移酵素の機能を解析することによって生体膜と細胞機能の密接な関係を解明し、新たな視点で細胞理解を深めることを目的としている。我々は、既に6種類の酵素を発見している。(i) 肺に多

く呼吸に必須なサーファクタント脂質と常時に PAF を生合成する LPCAT1、(ii) 炎症性細胞膜リン脂質 (PC) と炎症免疫時に産生誘導される PAF を生合成する LPCAT2、(iii) 精巣で週齢と共に誘導され、アラキドン酸のリン脂質への貯蔵に関与している可能性が高い LPAAT3 を報告した。さらに、(i)～(iii)とは異なる新規のファミリーを発見し (iv～vi) LPCAT3、LPCAT4、LPEAT1 と名付けた。これらは広範囲の組織で恒常的に生体膜を合成する酵素だと考えられる。また、

海外研究者も本酵素群に注目しており研究は加熱している。これまでは、世界的に見ても同定されたリゾリン脂質アシル転移酵素群の生化学的な解析中心に行われてきた。今後は、これらに加え酵素遺伝子の欠損細胞や欠損マウスを作製し生体内での機能を明確にすることが必要である。

## 2. 研究の目的

研究期間内に、様々な環境下での生体膜変化（または生体膜の違いによる細胞応答や機能の違い）を明らかにする。また、様々な環境下や病態時における生体膜グリセロリン脂質とリゾリン脂質アシル転移酵素群の変化を網羅的にプロファイリングすることによって、細胞機能に与える影響や病態の理解を細胞レベルで深める。細胞の分化などによる膜組成の変化メカニズムを解明することを目的とする。

## 3. 研究の方法

細胞の分化（脂肪細胞）や細胞周期の同調、また脂肪酸による細胞の刺激などを行い、リン脂質組成変化、リゾリン脂質アシル転移酵素群の発現量変化、活性変化をプロファイリングした。また、マウス精巣の週齢における同様の変動も解析した。これらは定量的PCR解析、ウエスタンブロット解析、質量分析計を用いてリン脂質組成と酵素活性測定を行った。

## 4. 研究成果

生体膜リン脂質合成酵素であるリゾリン脂質アシル転移酵素をターゲットとして研究を進めた。

(1) Koeberle A, Shindou H, et al. (2012). *FASEB J.* 26, 169-180: マウス精巣において、成長とともに LPAAT3 の発現が上昇した。他のアシル転移酵素にも上昇する物もあったが、LPAAT3 が最も上昇（1000倍程度）した。特に、類似の LPAAT1 や LPAAT2 よりも顕著に変化した。また、マウス精巣において高度不飽和脂肪酸が精巣成熟に必要なだと報告されており、LPAAT3 がリン脂質にそれらの脂肪酸を貯蔵している事が推測できた。LPAAT3 は PA に高度不飽和脂肪酸を貯蔵する活性が高い。

(2) Koeberle A, Shindou H, et al. (2012) *J. Biol. Chem.* 287, 27244-54: パルミトレイン酸 (16:1) が生理活性を持つことがわかった。さらに、このパルミトレイン酸はホスファチジルイノシトール (PI) に蓄えられていることが推測できた。パルミトレイン酸は細胞増殖を促進する作用を持つ、脂質メディエーターである。

(3) Eto M, Shindou H, et al. (2012) *Int J Mol Sci.* 13, 16267-80: マウス C3H10T1/2

細胞はインスリンなどと培養すると脂肪細胞に分化される。この分化時に生体膜リン脂質組成、リゾリン脂質アシル転移酵素発現 (mRNA)、その酵素活性の変動を策定した。その結果、リゾホスファチジルコリンアシル転移酵素 3 (LPCAT3) が時間依存的に誘導され、酵素活性やリン脂質変動も LPCAT3 の性質と一致していた。LPCAT3 は主にアラキドン酸をホスファチジルコリン (PC) に組み込む活性を持つ。LPCAT3 がアラキドン酸を生体膜リン脂質に組み込む事が、脂肪細胞機能に重要であると予測できた。

(4) Koeberle A, Shindou H, et al. (2013) *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110, 2546-51: アラキドン酸を含有する PC (PC-20:4) が細胞周期の G1 期に増加していることがわかった。膜リン脂質の PC-20:4 が増加すると Akt の膜移行を阻害し、細胞増殖を抑制している事がわかった。今後は、どのリゾリン脂質アシル転移酵素が、この機能に影響を与えている PC-20:4 を生合成しているかを解析する必要がある。

他に、研究期間中にレビューを執筆した。In press

酵素遺伝子欠損マウスの作成は順調に進んでいる。

## 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 5 件)

Shindou H, Hishikawa D, Harayama T, Eto M and Shimizu T (2013) Generation of membrane diversity by lysophospholipid acyltransferases *J. Biochem.* In press.

Koeberle A, Shindou H, Koeberle SC, Laufer SA, Shimizu T, Werz O. (2013) Arachidonoyl-phosphatidylcholine oscillates during the cell cycle and counteracts proliferation by suppressing Akt membrane binding. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110, 2546-51. doi/10.1073/pnas.1216182110

Eto M, Shindou H, Koeberle A, Harayama T, Yanagida K, Shimizu T. (2012) Lysophosphatidylcholine acyltransferase 3 is the key enzyme for incorporating arachidonic acid into glycerophospholipids during adipocyte differentiation. *Int J Mol Sci.* 13, 16267-80 doi:10.3390/ijms131216267

Koerberle A, **Shindou H**, Harayama T, Shimizu T. (2012) Palmitoleate is a mitogen, formed upon stimulation with growth factors, and converted to palmitoleoyl-phosphatidylinositol. J. Biol. Chem. 287. 27244-54.  
DOI 10.1074/jbc.M111.274829

Koerberle A, **Shindou H**, Harayama T, Yuki K, Shimizu T. (2012) Polyunsaturated fatty acids are incorporated into maturing male mouse germ cells by lysophosphatidic acid acyltransferase 3. FASEB J. 26, 169-180  
doi: 10.1096/fj.11-184879

[学会発表] (計8件)

**Hideo Shindou**, Daisuke Hishikawa, Takeshi Harayama, Miki, Eto, Ryo Morimoto, and Takao Shimizu  
Glycerophospholipid biosynthesis by lysophospholipid acyltransferases in the Lands' cycle  
日本生化学会大会合同大会 2012 12月14-16日(15日)福岡 福岡国際会議場 マリンメッセ福岡 シンポジウム

垂井愛、**進藤英雄**、森本亮、衛藤樹、原山武士、長瀬隆英、清水孝雄 血小板活性化因子(PAF)生合成酵素(LPCATs)阻害剤の検討 肺サーファクタント分子病態研究会 2012年6月23日札幌医科大学

**Hideo Shindou**, Daisuke Hishikawa, Takeshi Harayama, Miki, Eto, Ryo Morimoto, Koichi Yuki, and Takao Shimizu  
Discovery of lysophospholipid acyltransferases in the Lands' cycle 4th International Singapore Lipid Symposium 13 - 16 March 2012 National University of Singapore

徳岡涼美、北芳博、**進藤英雄**、清水孝雄  
Lyso-PAF分解酵素としてのアルキルグリセロールモノオキシゲナーゼ 日本生化学会 2011年9月22日 国立京都国際会館

原山武士、**進藤英雄**、清水孝雄  
LPCAT1はリン脂質リモデリングを介して肺のホメオスタシスに重要である 日本生化学会 2011年9月22日 国立京都国際会館

原山武士、**進藤英雄**、清水孝雄  
肺サーファクタント脂質組成調節酵素LPCAT1欠損マウスの解析 肺サーファクタント分子病態研究会 2011年6月25日 札幌医科大学

原山武士、**進藤英雄**、衛藤樹、清水孝雄  
LPCAT1は正常な肺サーファクタント脂質の合成に必須である 日本脂質生化学会 2011年5月12-13日ホテル東京ガーデンパレス

Takeshi Harayama, **Hideo Shindou**, and Takao Shimizu.  
Analysis of phospholipid functions through the investigation of remodeling enzymes Max-Planck 2011年5月16-19日

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○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

<http://www.ncgmipidsp.jp/members/1.htm>

<http://www.ncgmipidsp.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

進藤 英雄 (SHINDOU HIDEO)

国立国際医療研究センター脂質シグナリングプロジェクト・上級研究員

研究者番号: 10401027

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし