

科学研究費補助金（特別推進研究）公表用資料  
〔研究進捗評価用〕

平成 19 年度採択分

平成 22 年 4 月 27 日現在

研究課題名（和文）

リン脂質代謝と脂質メディエーターの総合的研究

研究課題名（英文）

Phospholipid metabolism and lipid mediators

研究代表者

清水孝雄 (SHIMIZU TAKAO)

東京大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要：生命現象を営むには外界から独立した環境が必要で、これを可能にしたのが脂質二重膜により作られた各種の生体膜である。生体膜は常に代謝回転を受けていることが 1950 年代より知られており、発見者の名前にちなんでランズ回路と呼ばれていた。この代謝回転の間に生じた脂肪酸やリン脂質から各種の脂質メディエーターの代謝や機能を研究してきており、これらが生体防御や神経活動などで非常に重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。今後、膜リン脂質の動的な変化を解析し、この変化の生物学的意義や分子機構（ランズ回路の仕組み）を明らかにし、リン脂質代謝と脂質メディエーターの産生調節や機能を総合的に明らかにしようとしている

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 基礎医学・病態医科学・医科学一般

キーワード： 脂質メディエーター・ロイコトリエン・アシル転移酵素・ホスホリパーゼ A2・遺伝子欠損マウス

1. 研究開始当初の背景

膜リン脂質合成に関わる最初のアシル転位酵素が単離され、そのファミリー遺伝子が発見された。それらの生理的意義は不明であった。また、リポドミクスの基本技術は開発済みであったが、病態モデルや患者への応用は出来ていなかった。

2. 研究の目的

- (1) 膜リン脂質代謝の解析（ホスホリパーゼ A2 およびアシル転移酵素ファミリー遺伝子の同定と機能解析）
- (2) 脂質メディエーターの生理的意義、病態における役割とその分子機構の解明。
- (3) 脂質メディエーターの網羅的、且つ定量的な解析システムとデータベースの作成。

3. 研究の方法

遺伝子やタンパクを用いた *in vitro* 研究、遺伝子組み換え動物や細胞を用いた *ex vivo*、*in vivo* の研究、さらに患者組織などを用いた解析を組み合わせている。

4. これまでの成果

- (1) 血小板活性化因子 (PAF) 産生酵素であるリゾ PAFAセチル転移酵素を 2 種類（構成型 LPCAT1 と誘導型 LPCAT2）同定することに成功した。この内、LPCAT2 が細菌内毒素によりリン酸化されることにより、活性調節されていること、そのリン酸化部位アミノ酸を同定し、シグナル経路を

明らかにした。

- (2) 多発性硬化症モデルマウスの脊髄病変部におけるリポドミクス解析により、プロスタグランジン合成酵素 mPGES-1 依存的なプロスタグランジン E2 産生が、Th1 及び Th17 型免疫応答を調節して、多発性硬化症の病態を増悪させていることを明らかにした。多発性硬化症の病変部では mPGES-1 を発現しているマクロファージから、大量に PGE2 が産生されて免疫応答を調節し、結果として症状を増悪させていることが示唆された。
- (3) 骨密度および骨形態計測学的パラメーターの測定により、ロイコトリエン B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) 第一受容体 (BLT1) ノックアウトマウスでは、卵巣摘除および LPS 投与による骨吸収が顕著に抑制されていることを見出した。破骨細胞では LTB<sub>4</sub> が産生され、BLT1 は発現していたが BLT2 は発現していなかった。また、BLT1 ノックアウトマウス由来破骨細胞のカルシウム吸収能は、野生型マウス由来破骨細胞に比較し減少していた。破骨細胞の形態変化と破骨細胞活性には密接な関係があることを考慮すると、LTB<sub>4</sub> は、バラクライン・オートクライン的に作用して破骨細胞活性を増加することが示唆された。
- (4) リポドミクス解析により、ヒト肺線維症患者の肺胞洗浄液中のエイコサノイドを定量し、プロスタグランジン F が重要な役割を果たすことを示唆した。さらに、同受容体欠損マウスの解析により、プロスタグランジン F が TGF β と独立して

#### [4. これまでの成果 (続き)]

線維化を促進することを明らかにした(京大成宮との共同研究)。

#### 5. 今後の計画

##### (1) 酵素と膜代謝に関する研究

①各酵素の酵素学的諸性質を明らかにし、細胞における当該酵素の役割を過剰発現系や siRNA 法で推定する。また、 $\beta$ 型、 $\gamma$ 型の遺伝子欠損マウスの表現形解析を、LC-MS による膜リン脂質組成変化も含めて解析する。

##### (2) アシル転位酵素の研究

①LPCAT1 遺伝子欠損マウスの解析から、当該酵素の肺サーファクタント産生のみならず、種々の病態 (ARDS など) への関連を解明する。

②他のファミリー酵素に関し、ノックアウトマウスを解析することにより、一連の遺伝子ファミリーの役割分担を明確にする。

##### (3) 脂質メディエーターの生理的意義、病態における役割とその分子機構の解明

①各種遺伝子欠損マウス (BLT2, TDAG8, Lpa4 など) の表現形及び分子機構の解析を進める。

②脂質メディエーターを認識する G 蛋白共役型受容体の遺伝子発現、品質管理、膜輸送制御などを解析する。

##### (4) 脂質メディエーターの網羅的、且つ定量的な解析システムの構築とデータベースの作成

①リゾホスファチジン酸やスフィンゴシン 1 リン酸などの定量も可能なシステム構築を目指すと共に、感度の向上も図る。

②膜リン脂質の詳細解析を実施する。特に各種遺伝子欠損マウスの臓器脂質、および遺伝子の過剰発現またはノックダウンに起因する細胞機能の変化と脂質膜組成の変化を同時解析し、両者の因果関係などを明確にする。さらに、倫理委員会の承認を前提に患者組織や血液などの各脂質メディエーター成分の変化を解析し、ヒト疾患とマウスモデルの相違を明らかとする。

③現在構築したデータベースと質量分析計の値をリンクできる検索エンジンソフトの開発を進める。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

(研究代表者は二重線、研究分担者は一重下線、連携研究者は点線)

2009 年 6 月日本学士院賞受賞「生理活性脂質と膜脂質代謝に関する研究」(清水孝雄)

1. Tanimura, A., Yamazaki, M., Hashimoto, Y., Uchigashima, M., Kawata, S., Abe, M., Kita, Y., Hashimoto, K., Shimizu, T., Watanabe, M., Sakimura, K., Kano, M. (2010) The endocannabinoids 2-arachidonoyl glycerol produced by diacylglycerol lipase  $\alpha$  mediates retrograde suppression of synaptic transmission. *Neuron* 65, [320-327](#)
2. Le, TD, Shirai, Y., Okamoto, T, Tatsukawa, T., Nagao, S., Shimizu, T., and Ito, M. (2010) Lipid signaling-cytosolic phospholipase

A2a-Cox-2 cascade mediates cerebellar long-term depression and motor learning. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, in press

3. Oga, T., Matsuoka, T., Yao, C., Nonomura, K., Kitaoka, S., Sakata, D., Kita, Y., Tanizawa, K., Taguchi, Y., Chin, K., Mishima, M., Shimizu, T., and Narumiya, S. (2009) Prostaglandin F2 $\alpha$  receptor signaling facilitates bleomycin-induced pulmonary fibrosis independently of transforming growth factor-beta. *Nature Med.* 12, [1426-1430](#)
4. Kihara, Y., Matsushita, T., Kita, Y., Uematsu, S., Akira, S., Kira, J.-i., Ishii, S., and Shimizu, T. (2009) Targeted lipidomics reveals mPGES-1-PGE2 as a therapeutic target for multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, [21807-21812](#)
5. Hikiji, H., Ishii, S., Yokomizo, T., Takato, T., and Shimizu, T. (2009) A distinctive role of the leukotriene B4 receptor BLT1 in osteoclastic activity during bone loss. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, [21294-21299](#)
6. Shimizu, T. (2009) Lipid mediators in health and diseases. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 49, [123-150](#)
7. Yasuda, D., Okuno, T., Yokomizo, T., Hori, T., Hirota, N., Hashidate, T., Miyano, M., Shimizu, T., and Nakamura, M. (2009) Helix 8 of leukotriene B4 type-2 receptor is required for the folding to pass the ER quality control. *FASEB J.* 23, [1470-1481](#)
8. Okuno, T., Iizuka, Y., Okazaki, H., Yokomizo, T., Taguchi, R., and Shimizu, T. (2008) 12(S)-Hydroxyheptadeca-5Z, 8E, 10E-trienoic acid is a natural ligand for leukotriene B4 receptor 2. *J. Exp. Med.* 205, [759-766](#)
9. Tsujimura, Y., Obata, K., Mukai, K., Shindou, H., Yoshida, M., Nshikado, H., Kawano, Y., Minegishi, Y., Shimizu, T., and Karasuyama, H. (2008) Basophils play a pivotal role in IgG-, but not IgE-mediated systemic anaphylaxis in contrast to mast cells. *Immunity* 28, [581-589](#)
10. Hishikawa, D., Shindou, H., Kobayashi, S., Nakanishi, H., Taguchi, R., and Shimizu, T. (2008) Discovery of a lysophospholipid acyltransferase family essential for membrane asymmetry and diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, [2830-2835](#)

ホームページ等

[http://biochem2.umin.jp/index\\_j.html](http://biochem2.umin.jp/index_j.html)