

生体膜脂肪酸鎖の細胞生物学的機能

Cell biological functions of fatty acyl chains
in biological membranes

新井 洋由 (ARAI HIROYUKI)

東京大学・大学院薬学系研究科・教授



研究の概要：生体膜を構成するリン脂質には、飽和脂肪酸から高度不飽和脂肪酸まで様々な脂肪酸鎖が結合し、生体膜の疎水的環境を形成しているが、その細胞生物学的意義はほとんど解明されていない。研究代表者の新井は最近、線虫遺伝学の導入により、生体膜リン脂質の脂肪酸鎖を規定する酵素群の同定に成功した。本研究では、これらの成果をもとに、「生体膜リン脂質脂肪酸鎖の細胞生物学的意義」という生体膜の基本問題を解決する。

研究分野：脂質生物学

科研費の分科・細目：生物化学（機能生物化学）

キーワード：生体膜、脂肪酸、リン脂質、アシルトランスフェラーゼ

1. 研究開始当初の背景

生体膜を構成するリン脂質には、飽和脂肪酸から高度不飽和脂肪酸まで様々な脂肪酸鎖が結合し、生体膜の疎水的環境を形成しているが、その細胞生物学的意義はほとんど解明されていない。

申請者は最近、線虫遺伝学の導入により、生体膜リン脂質の脂肪酸鎖を規定する酵素群の同定に成功した。

2. 研究の目的

本研究では、研究代表者が最近同定したリン脂質脂肪酸鎖を規定する分子を基軸に、1) 膜リン脂質中の特定の脂肪酸鎖環境を必要とする細胞現象の解明、2) 膜リン脂質中の特定の脂肪酸鎖環境を必要とする膜蛋白質の同定と感受性ドメインの解明、3) 膜リン脂質脂肪酸鎖の恒常性維持の分子機構の解明、4) 膜リン脂質脂肪酸鎖の恒常性破綻による病態とその分子機構の解明、をおこなう。

3. 研究の方法

研究代表者は、リン脂質の代謝に関わる分子のほとんど全てについて、線虫欠損変異体を樹立している。さらにいくつかの新規分子については欠損マウスも作製済みである。また、質量分析計によるリン脂質測定系を独自に確立している。本研究では、遺伝学、最新の機器分析等を駆使しながら、生化学、分子生物学のみでは解決できなかった生体膜の疎水性環境の生物学的意義を、はじめて包括的に明らかにしていく。

4. これまでの成果

・リン脂質中の不飽和脂肪酸を要求する細胞現象の解明：線虫 *C. elegans* は飽和脂肪酸から高度不飽和脂肪酸 (PUFA) を一連の脂肪酸不飽和化酵素により合成することができる。脂肪酸不飽和化酵素が欠損し PUFA が欠乏した線虫では、エンドサイトーシス異常、上皮系細胞の接着異常等を来すことを見出している。そこで、これらの PUFA 欠乏による異常がどの PUFA で回復できるか調べたところ、エンドサイトーシス異常は様々な PUFA (18:3n-3、20:3n-6、20:4n-3、20:4n-6、20:5n-3) で回復がみられたが、上皮系細胞の接着異常は、20:4n-6 と 20:5n-3 でのみ回復がみられた。さらに、エンドサイトーシス異常は PC 中の PUFA 欠乏により、上皮系細胞の接着異常は PI 中の PUFA 欠乏により引き起こされていることが明らかとなった。

・ホスファチジルイノシトールリン酸 (PIPs) の脂肪酸鎖によるビタミン E 輸送蛋白質の機能制御：ビタミン E (VE) に特異的な結合蛋白質である α -TTP (α -Tocopherol Transfer Protein) は肝細胞における VE の輸送蛋白質であり、ヒト先天性 VE 欠乏症の原因遺伝子産物として我々が同定したものである。VE 欠乏症をもたらす α -TTP における変異のうち、3つのアルギニン残基 (Arg) のミスセンス変異はビタミン E の結合部位とは異なる表面に位置しており、これらの変異は VE との結合能には影響しないため、 α -TTP の機能におけるこれら Arg の役割は不明であった。我々は、

α -TTP がこれらの Arg を介し PIPs と相互作用していることを見出し、PIP_s が α -TTP の細胞膜への標的および VE の膜移行を促進すること、 α -TTP と PIP_s との相互作用の不全が VE 欠乏症の原因となることを強く示唆した (*Science*. 2013; 340: 1106-1110.)。

・ホスファチジルイノシトール 3-リン酸 (PI3P) 代謝によるマクロピノサイトーシスの制御機構の解明：マクロピノサイトーシス (MP) はエンドサイトーシスの一つの様式であり、広い範囲の細胞外液および細胞膜を細胞内に一度に取り込む。近年、MP の生物学的意義に注目が集まっているものの、その分子機構の解明は遅れている。我々は、線虫におけるエンドサイトーシスに関わる遺伝子から、高等動物にまで共通のものを探索した。その結果、PI3P の生成・分解に関わる、INPP4B、および MTMR6 が MP に必須であることを明らかにし、さらに PI3P で活性化することが知られているカルシウム依存性カリウムチャンネルも MP に必要であることを見出した。本研究において、段階的な PIP_s の分解が、それぞれの PIP_s のエフェクターを介して MP を制御していることを提唱した (*PNAS*. 2014 *in press*)。

・リン脂質アシル転移酵素によるミトコンドリアの融合の制御機構の解明：ミトコンドリアは分裂と融合を繰り返しており、これによりミトコンドリアの恒常性を維持している。我々が独自に作成している線虫のリン脂質アシル転移酵素の欠損変異体ライブラリーの解析から、ミトコンドリアに局在するリン脂質合成の初発段階を担うリン脂質アシル転移酵素 (Mt-GPAT) の欠損変異体がミトコンドリア融合異常を示すことを見出した。また Mt-GPAT により産生されるリゾホスファチジン酸 (LPA) がミトコンドリアの融合に重要であることを明らかにした。 (*EMBO J*. 2013; 32: 1265-1279.)。

・小胞体ストレス応答分子 IRE1 による膜脂脂肪酸鎖恒常性維持機構：膜リン脂質の脂肪酸組成 (特に PUFA) は食餌由来の脂肪酸などにより絶えず影響を受けている。生体はそれに応答して、脂肪酸代謝系を調節し、脂肪酸組成の恒常性を維持していると考えられるが、このような生体応答についてはほとんど明らかになっていない。我々はこれまでに、PUFA が欠乏した線虫では小胞体ストレス応答 (UPR) 分子 IRE1 が活性化していることを見出している。さらに解析を進めた結果、PUFA 欠乏により飽和脂肪酸が蓄積しやすい状態になると、IRE1 が活性化し、その下流で飽和脂肪酸不飽和化酵素 fat-5 の発現を誘導することで、飽和脂肪酸の蓄積を抑制する、という膜脂脂肪酸鎖の恒常性維持機構が明らかとなった。

5. 今後の計画

これまでの研究成果をさらに発展させるとともに、以下の点について解析を進める

・PUFA 欠乏哺乳動物細胞を用いたリン脂質中の特定の脂肪酸鎖環境を必要とする細胞現象・膜 (蛋白質) の解明。

・線虫を用いた膜脂脂肪酸鎖変化に伴い活性化される MAP キナーゼ経路の活性化機構と生物学的意義の解明。

・PI の脂肪酸鎖を規定するリン脂質アシル転移酵素群の欠損マウスを用いた、PI 脂肪酸鎖とインスリン抵抗性、代謝性疾患との関連の解明。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Maekawa M, Terasaka S, Mochizuki Y, Kawai K, Ikeda Y, Araki N, Skolnik EY, *Taguchi T, *Arai H. Sequential breakdown of 3-phosphorylated phosphoinositides is essential for the completion of macropinocytosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 *in press*

2. Kono N, Ohto U, Hiramatsu T, Urabe M, Uchida Y, Satow Y, *Arai H. Impaired α -TTP-PIP_s interaction underlies familial vitamin E deficiency. *Science*. 2013; 340: 1106-1110.

3. Ohba Y, Sakuragi T, Kage-Nakadai E, Tomioka NH, Kono N, Imae R, Inoue A, Aoki J, Ishihara N, Inoue T, Mitani S, *Arai H. Mitochondria-type GPAT is required for mitochondrial fusion. *EMBO J*. 2013; 32: 1265-1279.

4. Lee HC, Inoue T, Sasaki J, Kubo T, Matsuda S, Nakasaki Y, Hattori M, Tanaka F, Udagawa O, Kono N, Itoh T, Ogiso H, Taguchi R, Arita M, Sasaki T, *Arai H. LPIAT1 regulates arachidonic acid content in phosphatidylinositol and is required for cortical lamination in mice. *Mol Biol Cell*. 2012; 23: 4689-4700.

5. Imae R, Inoue T, Nakasaki Y, Uchida Y, Ohba Y, Kono N, Nakanishi H, Sasaki T, Mitani S, *Arai H. LYCAT, a homologue of *C. elegans acl-8, acl-9, and acl-10*, determines the fatty acid composition of phosphatidylinositol in mice. *J Lipid Res*. 2012; 53: 335-347.

(他 12 報)

ホームページ等

<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~eisei/jp/Home.html>