

疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく革新的医療
基盤技術の創出

H25 年度
実績報告

平成25年度採択研究代表者

村上 誠

東京都医学総合研究所生体分子先端研究分野
参事研究員

PLA₂メタボロームによる疾患脂質代謝マップの創成と
その医療展開に向けての基盤構築

§ 1. 研究実施体制

(1)「村上」グループ

- ① 研究代表者:村上 誠 (東京都医学総合研究所生体分子先端研究分野、参事研究員)
- ② 研究項目
 - ・PLA₂遺伝子改変マウスの総合解析とそのバイオマーカー・創薬展開

(2)「杉本」グループ

- ① 主たる共同研究者:杉本 幸彦 (熊本大学大学院生命科学研究部、教授)
- ② 研究項目
 - ・PLA₂-PG パスウェイ破綻による疾患発症機構解析

(3)「小林」グループ

- ①主たる共同研究者:小林 拓也(京都大学大学院医学研究科、准教授)
- ②研究項目
 - ・脂質シグナルの構造生物学的理解と制御分子探索への応用

(4)「久木山」グループ

- ①主たる共同研究者:久木山 清貴(山梨大学大学院医学工学総合研究部、教授)
- ②研究項目
 - ・PLA₂の循環器・呼吸器疾患の発症・病態における役割の解明

§ 2. 研究実施の概要

本研究では、脂質代謝の最上流酵素ホスホリパーゼ A₂(PLA₂)分子群とその下流の酵素・受容体の遺伝子改変マウスを網羅的に活用し、これにメタボロミクス、一細胞テクノロジー、構造生物学を応用展開することにより、疾患固有の脂質パスウェイを同定するとともに、これを通じて特定の脂質パスウェイを標的とした新たな疾患制御技術を創成することを目標とする。

村上グループは、PLA₂分子群の遺伝子改変マウスに病態モデルを適用し、その表現型解析とリピドミクスを通じて、難治性疾患に関与する新規脂質代謝経路の同定を目指している。平成 25 年度は、①肥満と②皮膚恒常性に関わる sPLA₂ならびにその責任脂質代謝経路を同定した。

①PLA₂G5とPLA₂G2Eは肥満の脂肪細胞に発現誘導されるsPLA₂である(Metabolic sPLA₂)。PLA₂G5はリポタンパク質 LDL の主要リン脂質(ホスファチジルコリン)を分解して不飽和脂肪酸を遊離し、飽和脂肪酸による M1 マクロファージ誘導に拮抗的に作用することで、脂肪組織の慢性炎症に対して防御的に働く。一方、PLA₂G2E はリポタンパク質の微量リン脂質(ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン)を分解して肥満に促進的に作用する。②PLA₂G2F は表皮角化細胞の分化に伴い発現誘導される sPLA₂ であり(Epidermal sPLA₂)、表皮角化細胞が分泌するリン脂質(ホスファチジルエタノールアミン)を分解し、既存のアラキドン酸代謝経路とは異なるユニークな脂質代謝産物を動員することで、表皮角化細胞の分化ならびに活性化を促進する。

杉本グループは、村上・久木山グループが見出した免疫・代謝性疾患に関わる PLA₂ やその下流で働く脂質メディエーターが、いかにして疾患を発症・進展させるのかについて、分子機序を調べる。さらには、小林グループによる脂質受容体のX線結晶構造解析を支援し、これと連携して受容体の制御分子を探索することで医薬応用を図る。平成 25 年度は、PLA₂ 代謝産物である PGE₂ がマスト細胞上の EP3 受容体を介して皮膚炎症を惹起する分子機構を解明した。また PLA₂ 代謝産物の標的細胞で遺伝子発現変化を調べる方法の最適化を試みた。更に、特定の脂質受容体の構造-活性相関を調べるとともに、細胞内分子動態を追跡可能な受容体可視化系を構築し、結晶構造解析のための基礎データを蓄積した。

小林グループでは、村上、杉本グループと連携して構造生物学的解析を担当している。PLA₂ やその下流で役割を果たす脂質受容体の機能性抗体を作製し「結晶化リガンド」として利用することで、脂質受容体の X 線結晶構造解析を目指す。これにより、脂質代謝物の結合ドメインの立体構造、活性化シグナルの伝達機序を原子分解能レベルで理解し、受容体の作動薬あるいは阻害薬の開発に繋げる。平成 25 年度は、PLA₂ の哺乳類細胞、酵母、昆虫細胞を使った発現系の構築を試みた。また、作動薬(アゴニスト)や阻害剤(アンタゴニスト)の結合した脂質受容体発現細胞を抗原として、機能性抗体を取得したいと考え、その準備を進めている。

久木山グループでは、村上グループと連携しながら肺循環器疾患の発症・病態に関与する PLA₂ アイソザイムの役割について遺伝子改変マウスを用いて網羅的に解明するとともに、臨床サンプルを用いた PLA₂ と病態との関連性の解析を目指している。平成 25 年度は PLA₂ 受容体の心筋梗塞の病態における役割に関し検討を進め、さらに大動脈弁石灰化機序における PLA₂ の関与について、ヒト臨床サンプルを用いて解明した。また、ELISA キットを用いた循環器疾患症例の sPLA₂ の血中濃度測定の準備的検討を進めた。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

1 Kazushi Morimoto, Naritoshi Shirata, Yoshitaka Taketomi, Soken Tsuchiya, Eri Segi-Nishida, Tomoaki Inazumi, Kenji Kabashima, Satoshi Tanaka, Makoto Murakami, Shuh Narumiya and Yukihiro Sugimoto, “Prostaglandin E₂-EP3 signaling induces inflammatory swelling by mast cell activation.” *Journal of Immunology*, vol. 192, No. 3, pp.1130-1137, 2014. (DOI: 10.4049/jimmunol.1300290)。

(3-2) 知財出願

- ①特許出願件数 (国内1件)
- ②CREST 研究期間累積件数(国内1件)