

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

青木淳賢

東北大学大学院薬学研究科
教授

疾患関連リゾリン脂質の同定と医療応用

§ 1. 研究実施体制

(1)「青木」グループ

- ① 研究代表者: 青木 淳賢 (東北大学大学院薬学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・心筋梗塞病態マーカーとしてのリゾホスファチジン酸(LPA)の分子種を測定
 - ・LPA 受容体ノックアウトマウス、受容体拮抗薬・作動薬、LPA 産生酵素オートタキシン阻害剤を用いた心筋梗塞モデルにおける LPA の意義解明
 - ・LPA 受容体 LPA3 作動薬の探索
 - ・各種病態サンプル中のリゾリン脂質の網羅的解析

(2)「矢富」グループ

- ① 主たる共同研究者: 矢富 裕 (東京大学大学院医学系研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・疾患関連リゾリン脂質の同定
 - ・ApoM 測定系の開発と S1P との共解析
 - ・疾患サンプルの収集
 - ・ApoM の治療応用

(2)「三枝」グループ

- ① 主たる共同研究者: 三枝 大輔 (東北大学大学院医学研究科、助教)
- ② 研究項目
 - ・リゾリン脂質解析法の開発

- ・マイクロダイセクションを利用した組織レベルでのリゾリン脂質の検出法の開発
- ・疾患サンプル中の微量リゾリン脂質の測定

§ 2. 研究実施の概要

1. 心筋梗塞病態マーカーとしてのリゾホスファチジン酸(LPA)の分子種の測定(青木・矢富)

心筋梗塞後の血漿サンプル中の各 LPA 分子種を LC-MS/MS により定量した。心筋梗塞後では 18:2, 20:4, 22:6 の脂肪酸を含む LPA が高値を示した。また、同様の脂肪酸を含む、リゾホスファチジルコリン(LPC)、リゾホスファチジルエタノールアミン(LPE)、リゾホスファチジルセリン(LPS)、リゾホスファチジルイノシトール(LPI)、リゾホスファチジルグリセロール(LPG)のレベルが上昇していた。

2. マウス心筋梗塞モデルにおける LPA の意義解明(青木)

マウス心虚血再還流モデルを作製し、LPA3 作動薬 T13 の効果を検討した。T13 を前処理することで、心虚血モデルの心筋細胞死が劇的に顕著に抑制された(図1)。

3. LPA 受容体 LPA3 作動薬・拮抗薬の探索(青木)

マウス LPA3 を発現するラット肝がん細胞 McA-Rh7777 を作製し、この細胞とカルシウム検出試薬 Fluo-4 を用い、LPA3 作動薬・拮抗薬の探索を行った。使用した化合物ライブラリーは東京大学創薬オープンイノベーションセンター由来のコアライブラリー(約 9,600 化合物)と東北大学薬学部化合物ライブラリー(約 6,000 化合物)である。HTSスクリーニング機器

として、創薬プラットフォーム事業で東北大学薬学部に導入された FLIPR-tetra と BioMek を使用した。拮抗薬に関して1次スクリーニングで約20のポジティブ化合物を得た。さらに、TGF α 切断アッセイによる反応性の確認を行い、さらに、6種類の LPA 受容体に対する反応性を検討した。最終的に、ヒット化合物として1化合物を得た。

4. 各種病態サンプル中のリゾリン脂質の測定(矢富)

疾患関連リゾリン質、および関連蛋白を同定するため、[1]冠動脈疾患症例、[2]糖尿病で網膜、腎臓、神経合併症のある症例の血液検体、[3]胃癌症例の腹水検体、[4]肝癌症例の手術組織の収集を行った。

5. S1P 結合タンパク ApoM に関する解析(矢富)

強力な善玉の生理活性脂質であるが、通常検体では代謝的に不安定であるスフィンゴシン 1-リン酸(S1P)の輸送体かつ代謝修飾物質であるアポ蛋白 M (ApoM) の測定系を確立し、前述の臨床検体を用いて測定を開始した。ApoM は S1P の代用マーカーとして期待される。さらには、この ApoM を用いて、様々な疾患に対する新しい治療法の開発も動物実験、細胞実験にて探索した。このうち、播種性血管内凝固症候群(DIC)、多臓器不全などの重篤な病態に対する治療法として期待できる結果が得られた。

6. リゾリン脂質測定系の高感度化(三枝・青木)

存在量が少ないリゾリン脂質を測定する目的で、カラム濃縮法を確立した。従来の1/100の濃

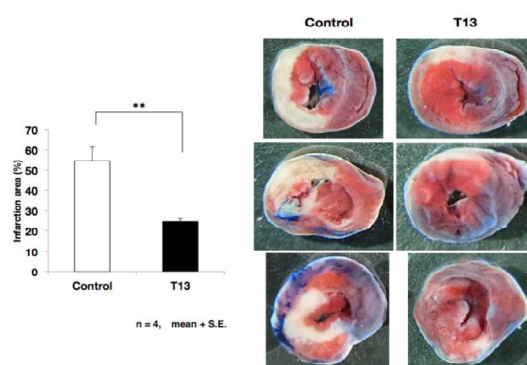


図1：心筋虚血再灌流障害に対するLPA3作動薬T13の効果

度のリゾリン脂質の測定が可能となった。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

1 Nakamura A, Ebina-Shibuya R, Itoh-Nakadai A, Muto A, Shima H, Saigusa D, Aoki J, Ebina M, Nukiwa T, Igarashi K, “Transcription repressor Bach2 is required for pulmonary surfactant homeostasis and alveolar macrophage function”, J Exp Med., Vol. 210, No. 11, pp2191-2204, 2013 (DOI: 110.1084/jem.20130028)

(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)