

「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」

平成 25 年度採択研究代表者

H26 年度  
実績報告書

村上 誠

(公財) 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

PLA<sub>2</sub> 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
  - ・ PLA<sub>2</sub> 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
  - ・ PLA<sub>2</sub>-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
  - ・ PLA<sub>2</sub> 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 A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) 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、PLA<sub>2</sub> 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 26 年度は、肥満に関わる Metabolic sPLA<sub>2</sub> の機能を論文発表するとともに (図1)<sup>A-1)</sup>、表皮肥厚疾患に関わる Epidermal sPLA<sub>2</sub>、潰瘍性大腸炎の抑制に関わる Gastrointestinal sPLA<sub>2</sub> など、いくつかの PLA<sub>2</sub> アイソザイムの疾患における機能と動員する責任脂質パスウェイを解明しつつある。

杉本グループは、村上グループと連携し PLA<sub>2</sub> の代謝産物受容体を同定し、その作用発現機構の解明を目指すとともに、小林グループによる脂質受容体の構造解析を支援する。平成 26 年度は、肥満に関わる Metabolic sPLA<sub>2</sub> の下流で働く脂質受容体パスウェイを探索し、その候補受容体を同定するとともに、皮膚組織の特定細胞からのトランスクリプトーム解析を実践し、Epidermal sPLA<sub>2</sub> 解析に備えた。また特定の脂質受容体の  $\beta$ -arrestin 活性化シグナル測定系を構築し、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。PLA<sub>2</sub> やその下流で役割を果たす脂質受容体の X 線結晶構造解析を目指す。平成 26 年度は、PLA<sub>2</sub> の大腸菌を使った発現系の構築を試みた。その結果、IID 型、IIF 型、V 型 sPLA<sub>2</sub> は、いずれも folding した蛋白の発現量は低く、PNPLA1 型 iPLA<sub>2</sub> は、分子量が予想される値よりも小さく、発現の段階で分解されているか、翻訳が途中で止まっている可能性が示唆された。また、結晶化および抗体作製を目的として、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の発現、精製系を確立した。

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 PLA<sub>2</sub> 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 PLA<sub>2</sub> と病態との関連性の解析を目指している。平成 26 年度は大動脈弁置換手術時に得られるヒト大動脈弁サンプルを対象に検討した結果、IIE 型および V 型 sPLA<sub>2</sub> が大動脈弁石灰化の病態に関連することが明らかとなり<sup>D-1)</sup>、大動脈弁狭窄症の診断マーカーとなる可能性が示され、臨床応用への手がかりを得た。また、sPLA<sub>2</sub> 受容体 (PLA<sub>2</sub>R1) と細胞外マトリックスの相互作用について新たな知見を得た<sup>D-2)</sup>。

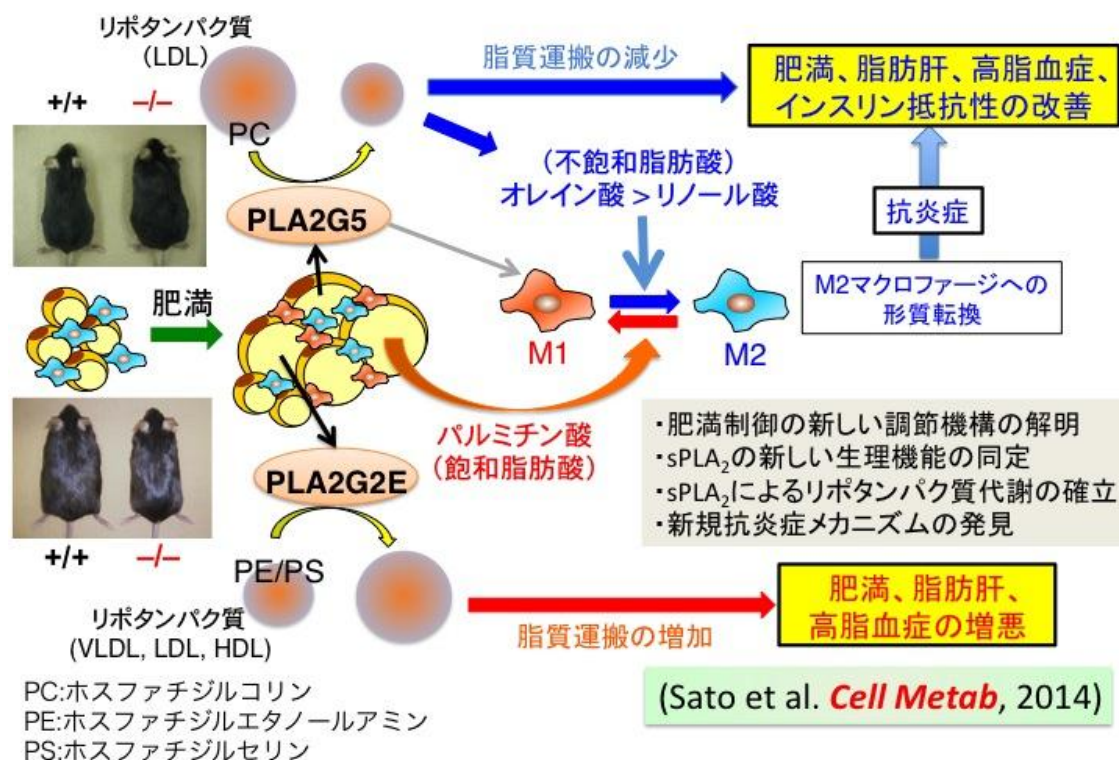
Hiroyasu Sato, Yoshitaka Taketomi, Ayako Ushida, Yuki Isogai, Takumi Kojima, Tetsuya Hirabayashi, Yoshimi Miki, Kei Yamamoto, Yasumasa Nishito, Tetsuyuki Kobayashi, Kazutaka Ikeda, Ryo Taguchi, Shuntaro Hara, Satoshi Ida, Yuji Miyamoto, Masayuki Watanabe, Hideo Baba, Keishi Miyata, Yuichi Oike, Michael H. Gelb, and Makoto Murakami (2014) The adipocyte-inducible secreted phospholipases PLA2G5 and PLA2G2E play distinct roles in obesity. *Cell Metabolism*, Vol. 20, No. 1, 119-132,

2015 (DOI: 10.1016/j.cmet.2014.05.002)

Koji Suzuki, Soichiro Takahashi, Kazuhiro Watanabe, Daisuke Fujioka, Takamitsu Nakamura, Jun-ei Obata, Kenichi Kawabata, Rhohei Katoh, Masahiko Matsumoto, and Kiyotaka Kugiyama. "The expression of groups IIE and V phospholipase A<sub>2</sub> is associated with an increased expression of osteogenic molecules in human calcified aortic valves". *J Atheroscler Thromb*. Vol. 21, No. 12, 1308-1325, 2014 (DOI: org/10.5551/jat.24273)

Soichiro Takahashi, Kazuhiro Watanabe, Yosuke Watanabe, Daisuke Fujioka, Takamitsu Nakamura, Kazuto Nakamura, Jun-ei Obata, Kiyotaka Kugiyama. "C-type lectin-like domain and fibronectin-like type II domain of phospholipase A<sub>2</sub> receptor 1 modulate binding and migratory responses to collagen". *FEBS Lett*, Vol. 589, No. 7, 829-835, 2015 (DOI: 10.1016/j.febslet.2015.02.016)

図1



## Metabolic sPLA<sub>2</sub>sによる代謝調節