

「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

新井 洋由

東京大学大学院薬学系研究科  
教授

生体膜リン脂質を基軸とした医療基盤技術開発

## § 1. 研究実施体制

### (1)「新井」グループ(研究機関別)

① 研究代表者:新井 洋由 (東京大学薬学系研究科, 教授)

② 研究項目

- ・ 生体膜リン脂質の脂肪酸鎖の恒常性維持機構の解明
- ・ 膜リン脂質脂肪酸鎖の異常および飽和脂肪酸毒性による病態発症とその分子機構の解明
- ・ 脂質代謝関連遺伝子 SNPs 解析による生活習慣病リスク因子の解明とリン脂質バイオマーカーの探索
- ・ 高感度膜リン脂質分析系の確立

### (2)「進藤」グループ(研究機関別)

① 主たる共同研究者:進藤 英雄 (国立国際医療研究センター, 副プロジェクト長)

② 研究項目

- ・ 膜リン脂質生合成酵素活性の包括的な解析
- ・ 膜リン脂質生合成酵素欠損による膜リン脂質組成および脂質メディエーター産生変化の解析

### (3)「山内」グループ(研究機関別)

① 主たる共同研究者:山内 敏正 (東京大学大学院医学系研究科, 講師)

② 研究項目

- ・ 膜リン脂質脂肪酸鎖を規定する酵素の遺伝子改変マウスの肥満・糖尿病に関連する表現型解析

- ・ 膜リン脂質脂肪酸鎖を規定する酵素群の肥満・糖尿病における遺伝素因としての意義の解明
- ・ 肥満・糖尿病マウス及びヒト血液・尿を用いた脂肪毒性のリン脂質バイオマーカーの探索

(4)「佐々木」グループ(研究機関別)

① 主たる共同研究者:佐々木 雄彦 (秋田大学大学院医学系研究科, 教授)

② 研究項目

- ・ 包括的イノシトールリン脂質解析技術の確立
- ・ イノシトールリン脂質代謝酵素欠損による病態解析
- ・ 臨床検体を用いたリン脂質プロファイリング

(5)「深見」グループ(研究機関別)

① 主たる共同研究者:深見 希代子 (東京薬科大学生命科学部, 教授)

② 研究項目

- ・ がん細胞悪性化におけるリン脂質代謝の機能解明
- ・ 炎症性皮膚疾患におけるリン脂質代謝酵素の機能解明

(6)「羽渕」グループ(研究機関別)

① 主たる共同研究者:羽渕 友則 (秋田大学大学院医学系研究科, 教授)

② 研究項目

- ・ 泌尿器がん臨床検体の収集, 臨床病理学的解析, データバンク作製
- ・ 腎がんおよび腎実質正常組織内のイノシトールリン脂質の定量測定
- ・ 前立腺癌患者における血清, 組織内の脂質解析
- ・ 膀胱癌患者における組織内, 尿中の脂質解析
- ・ 候補 PIPs の細胞, 動物を用いた機能解析

(7)「田川」グループ(研究機関別)

① 主たる共同研究者:田川 博之 (秋田大学大学院医学系研究科, 講師)

② 研究項目

- ・ 悪性リンパ腫臨床検体と細胞株のリン脂質のプロファイリング
- ・ リン脂質定量的プロファイルによるクラスタリング
- ・ リン脂質プロファイルで層別化されたサブタイプと, miRNA・遺伝子発現プロファイル, 網羅的ゲノムコピー数解析などのデータや臨床データとを組み合わせた新たな病型分類解析
- ・ 同定されたリンパ腫サブタイプに最も効果的な薬剤の同定

## § 2. 研究実施の概要

### 1. 生体膜リン脂質の脂肪酸多様性形成メカニズムの一端を解明<sup>1)</sup>

リン脂質は生体膜の主成分であり、その組成は体の部位によって大きく異なっています。また、様々な疾患時にリン脂質の組成に変化が見られることが知られています。このような多様性を説明できるような酵素群、リゾリン脂質アシル基転移酵素が近年多く発見されていますが、具体的にリン脂質の組成をどのように調節しているかは不明でした。今回、リゾリン脂質アシル基転移酵素の活性とそれがもたらすリン脂質の組成変化を詳細に調べることで、主要なリン脂質であるホスファチジルコリンの組成を調節する因子を同定しました。また、このような調節が破綻した場合に生じる影響を調べるために、リゾリン脂質アシル基転移酵素の一種である LPCAT1 を欠損したマウスを作製したところ、急性肺障害での死亡率が高まることがわかりました。本研究成果は生体膜ホスファチジルコリンが多様性を獲得するメカニズムの一部を明らかにし、それが正しく働くことが生物の生存に重要であることを示しました。また、呼吸に関与する界面物質(肺サーファクタント)の異常によって低体重出生児で発生する呼吸の障害や成人の急性呼吸窮迫症候群に対して、新たな治療法の可能性が期待されます。

### 2. 生体膜リン脂質脂肪酸のバランスを維持するメカニズムの一端を解明

上記のように、生体膜には様々なリン脂質分子種が存在しており、それらによって生体機能は適切調節されていると考えられています。またリン脂質の脂肪酸鎖は食事由来の脂肪酸などによって絶えず影響を受けていますが、そのような変化に対して生体はどのようにリン脂質の脂肪酸鎖のバランスを保っているかは不明でした。今回、エイコサペンタエン酸などの”柔らかい”高度不飽和脂肪酸を細胞に加えて生体膜が過度に柔らかくなると、”固い”飽和脂肪酸であるパルミチン酸をもつリン脂質 (DPPC) が生成することを発見しました。この DPPC の生成を止めてしまうと、高度不飽和脂肪酸負荷による細胞ストレスが亢進し、著しい細胞死が起きました。網膜は、高度不飽和脂肪酸が豊富な組織であり、また DPPC を生成する酵素 (LPCAT1) の欠損により網膜変性が起こることが知られています。マウス網膜の脂質を調べると、高度不飽和脂肪酸を含むリン脂質の増加に伴い、DPPC の増加が見られました。本研究成果により、生体膜リン脂質脂肪酸のバランスを維持するメカニズムの一端が解明されるとともに、その破綻は網膜変性に関与することが示唆されました。

### 3. 大腸癌の進展にリン脂質代謝酵素が関与することを発見<sup>2)</sup>

大腸癌は世界中で最も死亡率の高い癌の一つであり、日本でも罹患率が上昇しています。大腸癌の約 40% の症例で活性型 KRAS 遺伝子変異がみつかっており、このような大腸癌に対して十分に有効な分子標的治療薬がないのが現状です。今回、ヒト大腸癌臨床検体を用いて、正常大腸上皮と比較し、大腸癌ではリン脂質代謝酵素 ホスホリパーゼ C  $\delta$  1 (PLC  $\delta$  1) の発現が減少していることを発見しました。PLC  $\delta$  1 の発現を大腸癌細胞で回復させると、がんの様々な悪性形質 (増殖, 浸潤, 造腫瘍) が減少すること、がん抑制因子である E カドヘリンの発現が回復することを見出しました。また、PLC  $\delta$  1 の発現低下はがん遺伝子 KRAS の活性型変異により誘発されてい

ることを見出し、この変異によるがん化の要因のひとつであることが示唆されました。本研究成果は、大腸癌に対してリン脂質代謝が治療のターゲットになるという新たな視点を提供するもので、新たな治療薬の開発につながることを期待されます。

#### 4. イノシトールリン脂質 (PIPs) 分析技術の開発と応用

PIPs は膜リン脂質の一つであるホスファチジルイノシトール (PI) のイノシトール環がリン酸化されることで生成し、そのリン酸化パターンの違いにより PI を含めて 8 種類の PIPs が生体内に存在します。PIPs は微量かつ多くの負電荷を持つため測定が難しいことで知られていますが、これまでに質量分析計を用いて PI と PI(3,4,5)P<sub>3</sub> の絶対定量系を確立しています。今回、PI3P, PI4P, PI5P 三種類の定量系を検討しました。その結果、PI(3,4,5)P<sub>3</sub> の定量系とは異なる分離技術を用いることにより、キラルカラムの適用では困難であった PIP1 アイソマーの分離に成功しました。この分離法とこれまでに開発してきた PIP1 の検出法をもとに PI3P, PI4P, PI5P の絶対定量系を確立できると考えています。また開発した PIPs 分析技術等を用いて、泌尿器がんや悪性リンパ腫の臨床検体のリン脂質プロファイルを作成しており、これに基づく新規診断技術の開発と創薬標的分子の同定を進めています。

代表的な原著論文

1. *Cell Metab.* 20, 295-305. (2014)
2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 111,13505-13510. (2014)