

課題番号 : 24指001
研究課題名 : 生体膜脂質生合成メカニズム解明と脂質バイオマーカーの探索
主任研究者名 : 清水孝雄
分担研究者名 :

キーワード : 生体膜リン脂質、リゾリン脂質アシル転移酵素、生理活性脂質、脂質バイオマーカー
研究成果 :

平成29年度には合計10報の英文原著論文を発表した。
代表的な論文の要約を以下に示す。

DHA含有リン脂質低下による視覚機能異常

Shindou et al. (2017) J. Biol. Chem. 292. 12054-64

生体膜の役割は細胞の膜としての機能の他に、シグナル伝達や脂質メディエーター前駆体貯蔵としての役割も担う。その主成分の一つがグリセロリン脂質（以下、リン脂質）であり、グリセロール骨格sn-1位と2位に脂肪酸、3位に極性基を保有している。2本の脂肪酸は炭素数や二重結合の数、結合様式が異なるため、様々な分子種のリン脂質が存在する。

本研究では、ドコサヘキサエン酸（DHA）含有リン脂質に注目した。私たちは既にDHA含有リン脂質を生合成するリゾホスファチジン酸アシル転移酵素3（LPAAT3）を報告している（Yuki et al. J. Lipid Res. 2009, Koeberle et al. FASEB J. 2010）。LPAAT3欠損マウス網膜では、DHA含有リン脂質低下に伴い、視覚機能を失っていることが網膜電図（electroretinogram, ERG）解析によりわかった。質量顕微鏡（Imaging MS）解析によりDHA含有リン脂質は視細胞の層に多く、またLPAAT3欠損マウスの視細胞外節膜や外顆粒層は薄くなっていた。詳細な電子顕微鏡観察より視細胞のdiscの構造や配置に異常があることがわかった。LPAAT3が生合成するDHA含有リン脂質は視細胞disc形成や維持に重要であることがわかった。

DHA含有リン脂質低下による雄性生殖不妊

Hishikawa-Iizuka et al. (2017) J. Biol. Chem. 292. 12065-76

LPAAT3欠損マウス精巣でのDHA含有リン脂質低下に伴い、精子形態異常が確認された。欠損マウスは異常精子数が多く、自然交配や人工授精もほぼ成功しない雄性生殖不妊であった。LPAAT3は精子やライディッシュ細胞に発現し、精子成熟に伴い上昇してDHA含有リン脂質も増やす。この成熟過程では精子の細胞質成分がセルトリ細胞のエンドサイトーシス（tubulobulbar complex, TBCを形成）によって除去される。このステップにDHA含有リン脂質の柔軟性が重要であると推測している。

以上の2報はDHA含有リン脂質の視覚と生殖における分子機能の一端の報告となった。

Hori, T., et al. (2017) Nature Chemical Biology. 14, 262-269

ロイコトリエンB4は白血球遊走他炎症に深く関わる生理活性脂質であり、清水等のグループが単離し、Nature (1997)に発表したものである。当研究室と理研、順天堂大などとの共同研究により、逆アゴニスト（inverse agonist）を結合した状態の受容体結晶構造を明らかにした。逆アゴニストは現在、最も強力な受容体拮抗薬と考えられており、本構造の解明により新たな抗炎症剤、抗線維症薬などの開発が期待されている。なお、本受容体はアラキドン酸由来のエイコサノイド受容体としては初めての立体構造の解明であり、その波及効果は非常に大きい。

Subject No. : 24-001

Title : Analysis of cellular membrane phospholipid biosynthesis and screening of lipid biomarkers

Researchers : Takao Shimizu

Key word : Cellular membrane phospholipid, Eicosanoid, Lipid biomarker

Abstract :

Totally, 8 original articles and 2 review articles were published in 2017

Among them, representative articles are shown here.

Shindou et al. (2017) *J. Biol. Chem.* 292. 12054-64

Cellular membranes contain several classes of glycerophospholipids, which possess one polar head and two fatty acids. Polyunsaturated fatty acids such as docosahexaenoic acid (DHA) are located at the sn-2 position of glycerophospholipids in an asymmetrical manner. Although DHA has essential roles in the retina and the testis, little information on the molecular mechanism is available. We previously identified lysophosphatidic acid acyltransferase 3 (LPAAT3) as a PL-DHA biosynthetic enzyme (Yuki et al. *J. Lipid Res.* 2009, Koeberle et al. *FASEB J.* 2010). Here, using LPAAT3-knock-out (LPAAT3-KO) mice, we found that LPAAT3-KO mice showed abnormalities in the retinal layers and impaired visual function, as well as disordered disc morphology in photoreceptor cells. Comprehensive phospholipid analyses and imaging mass spectroscopy revealed loss of phospholipid containing DHA (PL-DHA) in the retina especially outer segment of the retina. Our results indicate that PL-DHA contributes to visual function by maintaining the disc shape in photoreceptor cells.

Hishikawa-Iizuka et al. (2017) *J. Biol. Chem.* 292. 12065-76

PL-DHA is also important for testicular function. In this study, we showed that LPAAT3-KO mice display severe male infertility with abnormal sperm morphology. Deficiency of LPAAT3 decreased PL-DHA in spermatids that led to excess cytoplasm around its head, which is normally removed by Sertoli cells via endocytosis at the final stage of spermatogenesis. PL-DHA may function the efficient removal of sperm content through endocytosis. We conclude that PL-DHA biosynthesized by LPAAT3 endows these membranes with physicochemical properties needed for spermatogenesis.

These two studies indicate DHA molecular function in the retina and testis.

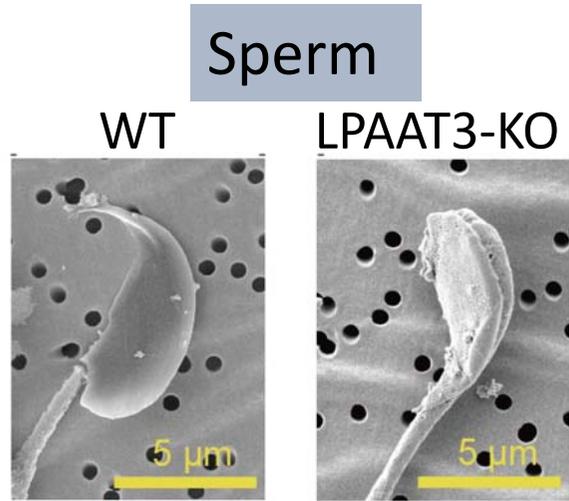
Hori, T., et al. (2017) *Nature Chemical Biology.* 14, 262-269

Leukotriene B4 is a potent chemoattractant and inflammatory mediator derived from arachidonic acid. We previously cloned BLT1 (a high affinity receptor for leukotriene B4, *Nature* 1997). In collaboration with Riken and other institutions, we have recently succeeded in obtaining crystal of this membrane spanning protein bound with an inverse agonist. This is the first demonstration of receptor structures of eicosanoids (arachidonic acid derived mediators) and will enhance the rational design of anti-inflammatory and anti-fibrotic compounds.

LPAAT3-KO mice showed visual dysfunction and male infertility

LPAAT3-KO mice: DHA調節マウス

Decrease of phospholipids-DHA induced

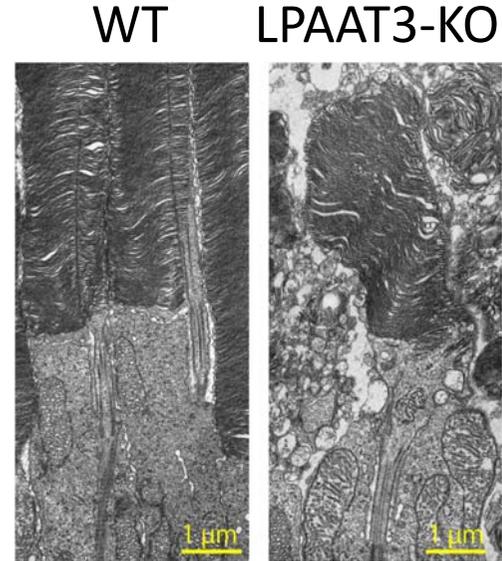


Abnormal sperm formation



Male infertility

Photoreceptor cells



Abnormal disc morphology/organization

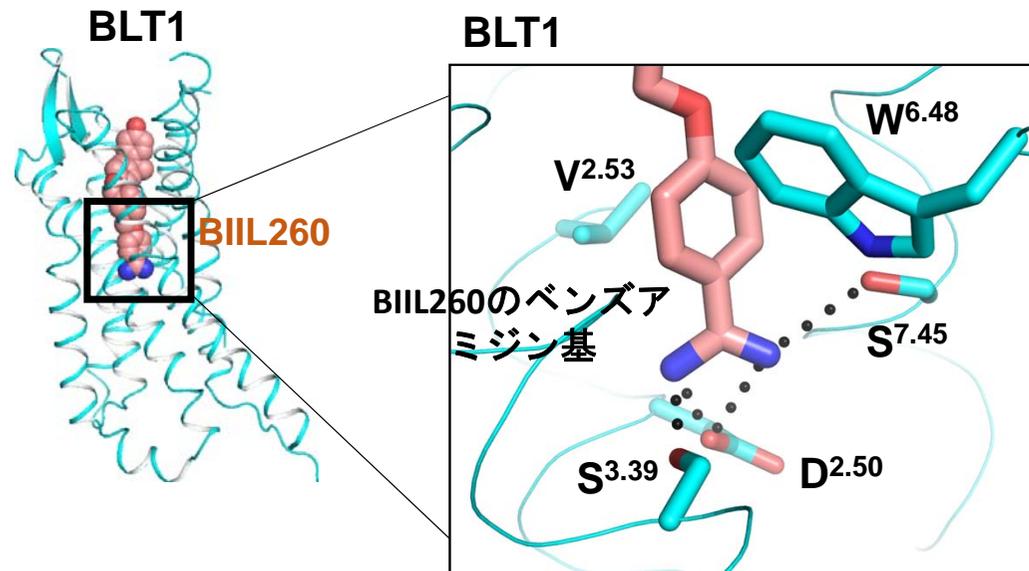


Visual dysfunction

Hishikawa-lizuka, Y.. et al. (2017) J. Biol. Chem. 292. 12065-12076.

Shindou H. et al. (2017) J. Biol. Chem. 292. 12054-12064.

エイコサノイド（アラキドン酸代謝物）受容体の最初の構造決定



抗炎症、抗線維症薬開発の手がかりに

研究発表及び特許取得報告について

課題番号： 24指001

研究課題名：生体膜脂質合成メカニズム解明と脂質バイオマーカーの探索

主任研究者名：清水 孝雄

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Relief from neuropathic pain by blocking of platelet-activating factor-pain loop.	Shindou, H.*, Shiraishi, S.*, Tokuoka, M. S., Takahashi, Y., Harayama, T., Abe, T., Bando, K., Miyano, K., Kita, Y., Uezono, Y., Shimizu, T.	FASEB J.	31. 2973-2980	2017
Dioxin-induced increase in leukotriene B4 biosynthesis through the aryl hydrocarbon receptor and its relevance to hepatotoxicity owing to neutrophil infiltration.	Takeda, T., Komiya, Y., Koga, T., Ishida, T., Ishii, Y., Kikuta, Y., Nakaya, M., Kurose, H., Yokomizo, T., Shimizu, T., Uchi, H., Furue, M., Yamada, H.	JBC.	292. 10586-10599	2017
Docosahexaenoic acid preserves visual function by maintaining correct disc morphology in retinal photoreceptor cells.	Shindou, H., Koso, H., Sasaki, J., Nakanishi, H., Sagara, H., Nakagawa, M.K., Takahashi, Y., Hishikawa, D., Iizuka-Hishikawa, Y., Tokumasu, F., Noguchi, H., Watanabe, S., Sasaki, T., Shimizu, T.	J. Biol. Chem.	292. 12054-12064.	2017
Lysophosphatidic acid acyltransferase 3 tunes the membrane status of germ cells by incorporating docosahexaenoic acid during spermatogenesis.	Iizuka-Hishikawa, Y., Hishikawa, D., Sasaki, J., Takubo, K., Goto, M., Nagata, K., Nakanishi, H., Shindou, H., Okamura, T., Ito, C., Toshimori, K., Sasaki, T., Shimizu, T.	J. Biol. Chem.	292. 12065-12076.	2017
Orchestrating Role of Apoptosis Inhibitor of Macrophage in the Resolution of Acute Lung Injury.	Kimura, H., Suzuki, M., Konno, S., Shindou, H., Shimizu, T., Nagase, T., Miyazaki, T., and Nishimura, M.	J. Immunol.	199, 3870-3882.	2017
Lysophosphatidylcholine acyltransferase 4 is involved in chondrogenic differentiation of ATDC5 cells.	Tabe, S., Hikiji, H., Ariyoshi, W., Hashidate-Yoshida, T., Shindou, H., Shimizu, T., Okinaga, T., Seta, Y., Tominaga, K., and Nishihara, T.	Sci Rep.	7. 16701.	2017
Lysophosphatidic Acid Acyltransferase 3 Incorporates Docosahexaenoic Acid into Skeletal Muscle Cell Membranes and Is Upregulated by PPAR δ Activation.	Valentine WJ, Tokuoka SM, Hishikawa D, Kita Y, Shindou H, Shimizu T.	J Lipid Res.	59, 184-194	2017
Na ⁺ -mimicking ligands stabilize the inactive state of leukotriene B4 receptor BLT1.	Hori, T., Okuno T., Hirata, K., Yamashita, K., Kawano, Y., Yamamoto, M., Hato, M., Nakamura, M., Shimizu, T., Yokomizo, T., Miyano, M., Yokoyama, S.	Nature Chem. Biol.	14, 262-269	2017
Mediator lipidomics by liquid chromatography-tandem mass spectrometry.	Kita, Y., Tokuoka-M., S., and Shimizu, T.	BBA-Molecular and Cell Biology of Lipids.	1862. 777-781.	2017
Metabolism and functions of docosahexaenoic acid-containing membrane glycerophospholipids.	Hishikawa, D., Valentine, J.W., Iizuka-Hishikawa, Y., Shindou, H., Shimizu, T.	FEBS Lett.	591. 2730-2744.	2017

研究発表及び特許取得報告について

Stepwise phosphorylation of leukotriene B4 receptor 1 defines cellular responses to leukotriene B4.	Nakanishi, Y., Tan M., Ichiki, T., Inoue, A., Yoshihara, J., Maekawa, N., Takenoshita, I., Yanagida, K., Yamahira, S., Yamaguchi, S., Aoki, J., Nagamune, T., Yokomizo, T., Shimizu, T., Nakamura M.	Science Signaling.	In press.	2018
Therapeutic potential for leukotriene receptors.	Yokomizo, T., Nakamura, M., Shimizu, T.	J. Clin. Invest.	In press.	2018

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
精子形成におけるDHA含有リン脂質の役割の解明	菱川 佳子	日本脂質生化学会	京都	2017年6月
LPAAT3 Incorporates DHA Into Phospholipids During Satellite Cell Differentiation and is Upregulated by PPAR α and AMPK Pathways	William Valentine	日本脂質生化学会	京都	2017年6月
新しい脂質生物学を目指して	清水 孝雄	東京薬科大学講義	東京	2017年9月
肺サーファクタント脂質—基礎と臨床	清水 孝雄	第53回 日本肺サーファクタント関連医学会	新潟	2017年9月
Functional roles of phospholipids rich in polyunsaturated fatty acids in vivo	Takao Shimizu	Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases	Puerto Vallarta, Mexico	2017年10月
Lysophosphatidic acid acyltransferase 3 incorporates docosahexaenoic acid into phospholipids of skeletal muscle cells and is upregulated by PPAR α activation	William Valentine, Hideo Shindou, Suzumi M Tokuoka, Daisuke Hishikawa, Yoshihiro Kita, Takao Shimizu	Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases	Puerto Vallarta, Mexico	2017年10月
Lipid metabolism in health and disease	清水 孝雄	The 4th International Symposium of Gunma University Initiative for Advanced Research (GIAR)	群馬	2017年11月
膜リン脂質中ドコサヘキサエン酸は視覚機能に必須である	進藤 英雄、清水 孝雄	第11回メタボロームシンポジウム	大阪	2017年11月
膜リン脂質操作による脂質機能解析～神経因性疼痛と視覚機能～	進藤 英雄、清水 孝雄	第90回日本生化学会ConBio2017	神戸	2017年12月
網膜視細胞におけるリン脂質組成の意義	菱川大介	第90回日本生化学会ConBio2018	神戸	2017年12月
精子形成におけるDHA含有リン脂質の役割	叶谷愛弓 菱川大介 菱川佳子 進藤英雄 清水孝雄	第90回日本生化学会ConBio2018	神戸	2017年12月
Critical roles of extracellular phospholipids in sexual differentiation of Plasmodium falciparum. 細胞外リン脂質は熱帯熱マラリア原虫性分化の重要因子である	Takeshi Q Tanaka, Suzumi M. Tokuoka, Daichi Nakatani, Fumie Hamano, Thomas E. Wellems, Shin-ichiro Kawazu, Kiyoshi Kita, Takao Shimizu, Fuyuki Tokumasu	第90回日本生化学会ConBio2018	神戸	2017年12月

研究発表及び特許取得報告について

Sjögren-Larsson症候群患者特異的iPS細胞を用いた病態解析	山口有、奥野博庸、徳岡涼美、北芳博、赤松和土、大中学、高橋孝雄、清水孝雄、小崎健次郎、岡野栄之	第40回日本小児遺伝学会学術集会	東京	2018年1月
リン脂質膜の多様性を考える	清水 孝雄	第五回東京未来医療フォーラム	東京	2018年2月
生活活性脂質と肥満	清水 孝雄	第9回臓器間ネットワークと血管生物学から読み解くメタボリックシンドローム研究会	東京	2018年2月
Composition-dependent alterations in thickness and physical properties of lipid bilayer film revealed by frequency modulation atomic force microscopy (FM-AFM)	Akinori Kogure, Yoshikazu Takahashi, Fuyuki Tokumasu, Hideo Shindou, Takao Shimizu	62nd Annual Meeting of Biophysical Society	San Francisco, CA, USA	2018年2月
生体膜リン脂質代謝が織りなす多様な生物機能脂質分泌から視覚まで	進藤英雄	大阪大学蛋白質研究所セミナー 生体膜上の生物化学	大阪	2018年3月
がん性疼痛克服を目指して ～新しい鎮痛薬開発候補～	進藤英雄	JCRP 平成29年度市民向け成果発表会 みつけるなおす いきるー最新がん研究から未来を描くー	東京	2018年3月
Characterizations of Lysophospholipid Acyltransferase in Plasmodium falciparum	Fuyuki Tokumasu, Suzumi M. Tokuoka, Hideo Shindou, Eizo Takashima, Takao Shimizu	第87回日本寄生虫学会大会	東京	2018年3月

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
鎮痛薬の候補 発見	進藤 英雄	日経産業新聞		2017/4/4
心臓負担 脳、腎臓に情報	清水 孝雄	読売新聞(栃木)		2017/7/31
DHA不足が視力低下や男性不妊を招く?	進藤 英雄、菱川 佳子、菱川 大介	毎日新聞医療プレミア		2017/8/8

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。