

課題番号 : 29指 1033
研究課題名 : 新たな脂質代謝異常症治療薬の創出を目的としたオメガ3脂肪酸欠乏センサーの探索
主任研究者名 : 菱川 大介
分担研究者名 :

キーワード : ω 3 脂肪酸、脂質代謝関連疾患、生体膜リン脂質、心血管系障害、ドコサヘキサエン酸

研究成果 :

我々は生体膜リン脂質代謝が生体機能や疾患に影響するメカニズムの解明を目指している。これまで、全身性にドコサヘキサエン酸(DHA)を含むリン脂質を欠いている LPAAT3 欠損マウスの肝臓において、DHA の合成や取り込みに関与する遺伝子の発現が誘導されていることがわかった。本研究課題では、肝細胞が ω 3 脂肪酸もしくは DHA 欠乏のセンサーを有する仮説を立て、その分子機構の解明を試みるものである。

LPAAT3 欠損マウスは全身性に DHA 含有リン脂質を減少(ほぼ欠損)するため、DHA の合成や取り込みに関与する遺伝子群を LPAAT3 が高発現している脳、小腸、褐色脂肪組織、白色脂肪組織においても解析した。肝臓での誘導とは異なり、これらの組織では DHA の合成や取り込みに関与する遺伝子群の明らかな誘導は見られなかった。これらの臓器においても DHA 含有リン脂質は肝臓と同様に減少しているため、DHA 含有リン脂質欠乏による遺伝子発現の変化は全ての臓器に備わっているものではないことが示唆された。

この分子メカニズムを明らかにするため、培養細胞においても DHA の欠乏が認識されるかどうかについて解析することとした。これまでの報告から、DHA などの多価不飽和脂肪酸の合成に関与する遺伝子群は、培養細胞において DHA をはじめとした多価不飽和脂肪酸添加によりその発現が抑制される事が知られている。この結果は、本研究においても確認することができた。そこで本研究では現在、LPAAT3 欠損細胞を用い、DHA 欠乏の認識機構の有無とそのメカニズムについて検討を行なっている。

さらに本研究では、肝細胞が DHA 欠乏センサーを有する生物学的意義についても解析を行う。肝臓は全身に脂質を供給する機能を有する臓器の1つであるため、肝臓特異的 LPAAT3 欠損マウスを作成し、肝臓における DHA 含有脂質を欠損させた状況における他の臓器の脂質組成の変化などを解析することにより、肝臓において DHA 欠乏を認識する生体における意義と重要性についても明らかにする予定である。現在本研究では、肝臓特異的 LPAAT3 欠損マウスを作成するために必要な LPAAT3 Cre-floxed マウスの産出に成功しており、今後肝臓特異的 LPAAT3 を作成する予定である。

Subject No. : 29 指 1033

Title : A study of hepatic DHA-deficiency sensor as a novel therapeutic target for dyslipidemia

Researchers : Daisuke Hishikawa

Key word : omega-3 fatty acids, dyslipidemia, membrane phospholipids, cardiovascular diseases, docosahexaenoic acid

Abstract :

We have recently identified lysophosphatidic acid acyltransferase 3 (LPAAT3) as a critical enzyme to produce docosahexaenoic acid (DHA)-containing phospholipids. In the course of the phenotypic analysis of LPAAT3 knockout (KO) mice, we found that genes which involved in DHA synthesis and incorporation are up-regulated in the liver of LPAAT3 KO mice. Since DHA-containing phospholipids are dramatically decreased in LPAAT3 KO mice, these observations led us to hypothesize that hepatic cells possess the sensor for DHA (or omega-3 fatty acid) depletion. Therefore, the aim of this study is to uncover the molecular mechanisms and importance of DHA-deficiency sensor in the liver.

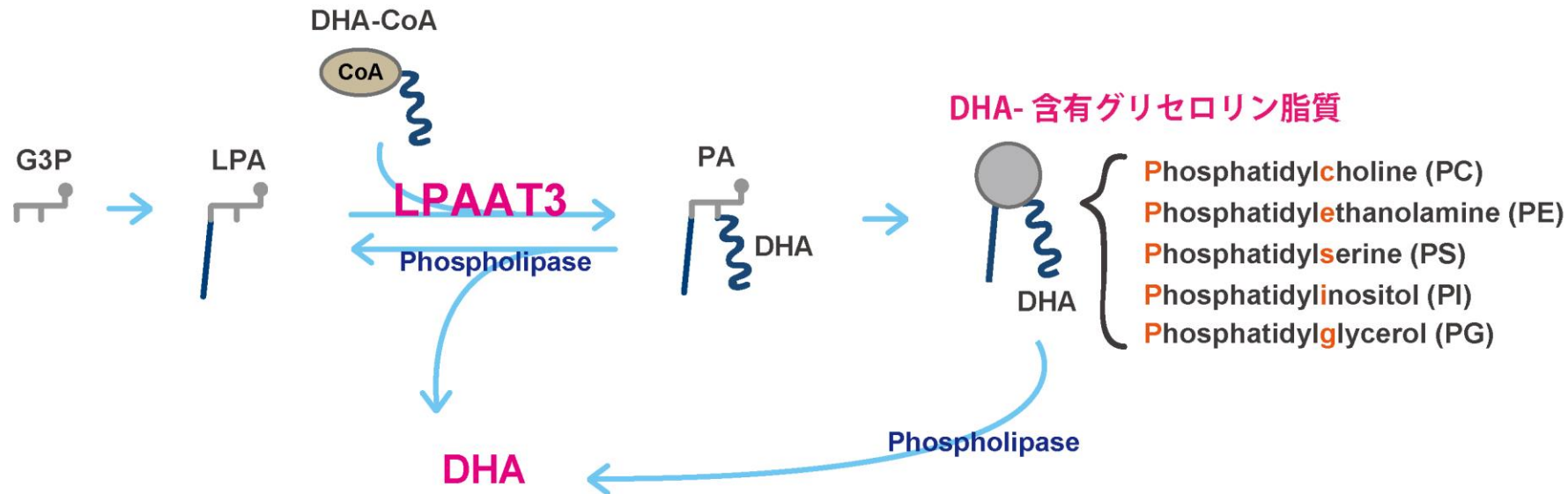
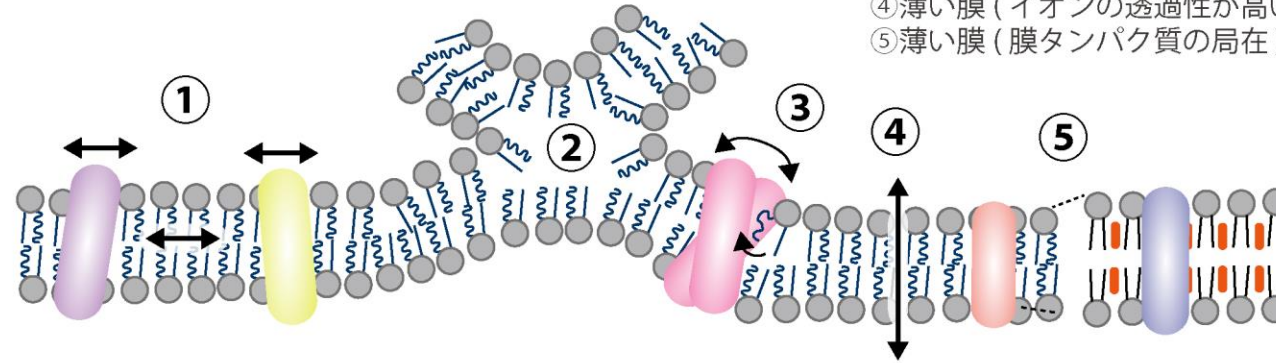
The induced expression of DHA-related genes was seen in LPAAT3 KO liver, but not white adipose tissue, brown adipose tissue, brain, small intestine, regardless of DHA-containing phospholipid depletion in these tissues.

As reported previously, treatment of polyunsaturated fatty acids including DHA suppressed the expression of genes involved in fatty acid unsaturation. To determine whether the incorporation of DHA into glycerolipids by LPAAT3 is involved in this suppression or not, I am currently establishing the LPAAT3 KO cells by using CRISPR/Cas9 system.

In this study, I also plan to clarify the impact of hepatic DHA-containing lipids on other tissues. To investigate this, I will generate the inducible liver-specific LPAAT3 KO mice. I have successfully generated the LPAAT3 Cre-floxed mice.

生体膜における DHA 含有グリセロリン脂質の機能

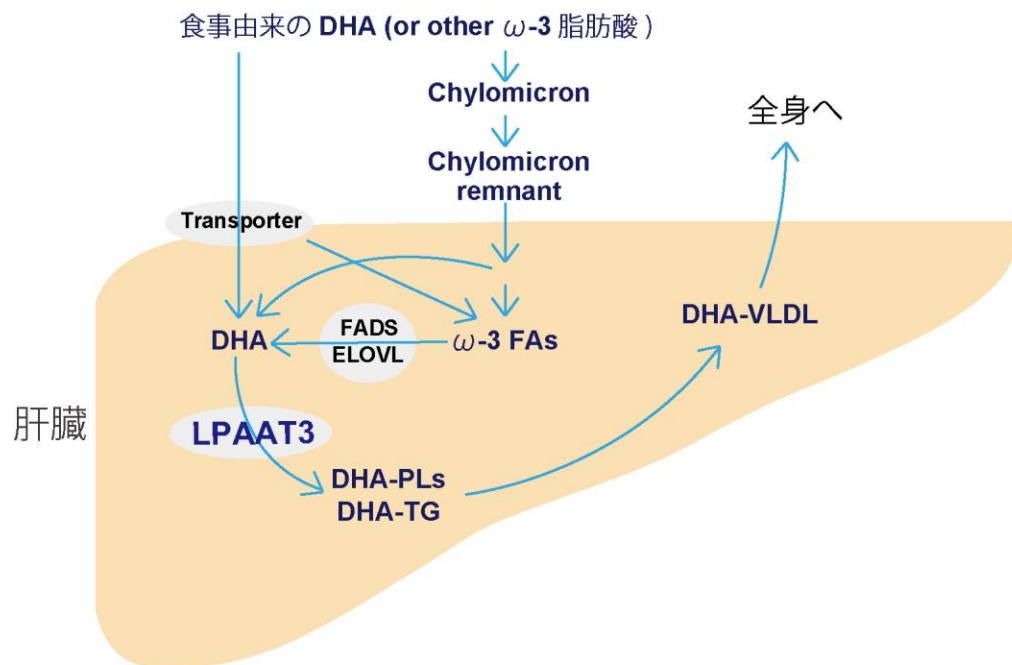
- ① 高い流動性
- ② 高い柔軟性 (膜融合 / 分裂に促進的)
- ③ 高い柔軟性 (膜タンパク質の構造変化に促進的)
- ④ 薄い膜 (イオンの透過性が高い)
- ⑤ 薄い膜 (膜タンパク質の局在)



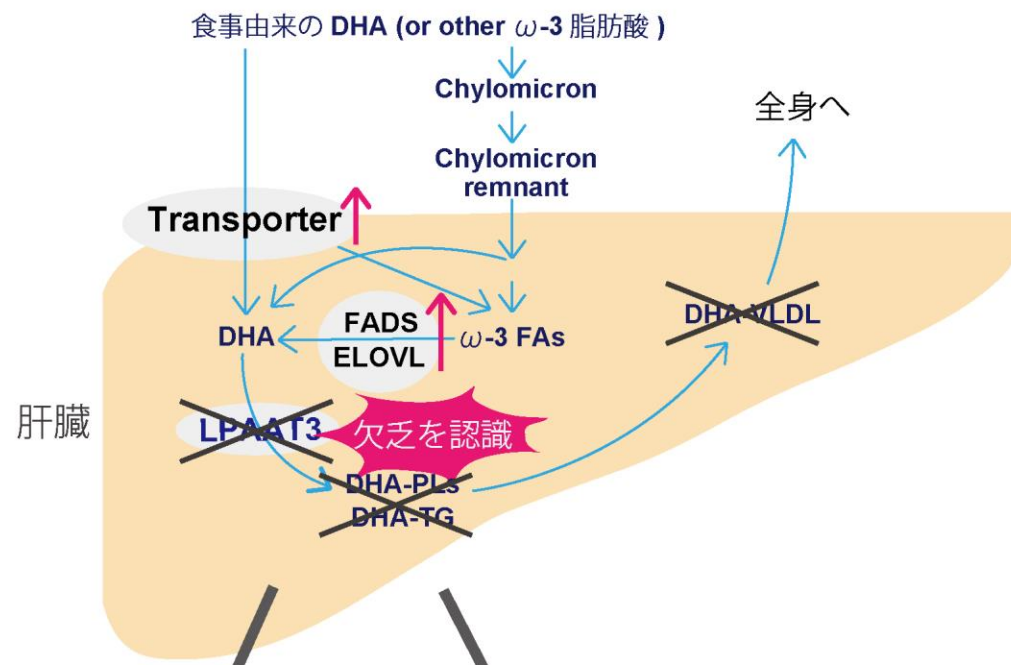
DHA の機能

- ① 核内受容体のリガンド (転写制御)
- ② 脂肪酸受容体のリガンド (細胞内シグナル伝達)
- ③ 膜タンパク質との相互作用 (チャンネル等の活性制御)

野生型マウス



LPAAT3 欠損マウス



肝臓における DHA 欠乏の生体における影響

DHA 欠乏認識メカニズム

FADS: 脂肪酸不飽和化酵素

ELOVL: 脂肪酸伸長酵素

DHA-PLs:

DHA 含有リン脂質

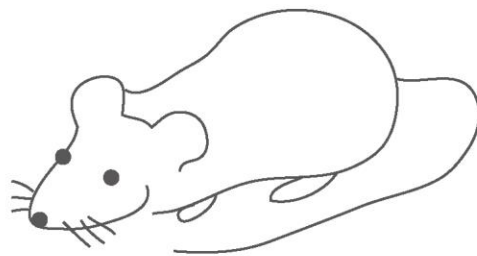
DHA-TG:

DHA 含有トリグリセリド

DHA-VLDL:

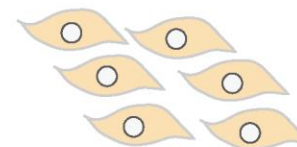
DHA 含有 VLDL

肝臓特異的 LPAAT3 欠損マウス



肝臓からの DHA 供給の欠乏が他の組織の脂質組成と機能に与える影響の解析

LPAAT3 欠損肝細胞



DHA 欠乏培地などにおける遺伝子発現の変動

sgRNA ライブラリを用いたスクリーニングによる

DHA 欠乏認識に関与する遺伝子の同定

研究発表及び特許取得報告について

課題番号：29指 1033

研究課題名：新たな脂質代謝異常症治療薬の創出を目的としたオメガ3脂肪酸欠乏センサーの探索

主任研究者名：菱川大介

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
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.	Journal of biological chemistry	292(29):12065-12076	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 KM, Takahashi Y, Hishikawa D, Iizuka-Hishikawa Y, Tokumasu F, Noguchi H, Watanabe S, Sasaki T, Shimizu T.	Journal of biological chemistry	292(29):12054-12064	2017
LPAAT3 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.	Journal of lipid research	59(2):184-194	2018
Metabolism and functions of docosahexaenoic acid-containing membrane glycerophospholipids.	Hishikawa D, Valentine WJ, Iizuka-Hishikawa Y, Shindou H, Shimizu T.	FEBS letters	591(18):2730-2744	2017

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
網膜視細胞におけるリン脂質組成の意義	菱川 大介, 進藤 英雄, 高祖 秀登, 佐々木 順子, 中西 広樹, 佐々木 雄彦, 渡邊 すみ子, 清水 孝雄	2017年度 生命科学系学会合同年次大会	神戸ポートアイランド	2017年12月

研究発表及び特許取得報告について

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
該当なし				

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。