

特集：リン脂質代謝と脂質メディエーター研究の最新の成果
第2部 リゾリン脂質を中心とした脂質メディエーター

リゾホスファチジン酸の生理学的役割および疾患との関連

清水 嘉文, 徳村 彰

リゾホスファチジン酸 (LPA) は6種類以上の特異的受容体を介して多彩な生理作用を発揮する重要な脂質メディエーターとして確固たる地位を得た。哺乳類では細胞内外の複数の代謝経路で常時 LPA が産生・分解されており, その代謝異常ががん悪性化, 動脈硬化や線維症などの病態の誘因と推定されている。最近, 国内外の数グループが, LPA 構造類似合成品から多種の LPA 受容体アンタゴニストやオートタキシン (ATX) 阻害性物質を見出している。また, 動物体内吸収や血中滞留性に優れた多環式合成化合物が有力な医薬品候補として前臨床試験が行われており, LPA を標的とする創薬開発競争は激しさを増してきている。近い将来, 幾つかの候補物質が臨床試験へ進むと期待される。

1. はじめに

微量で特殊な生理活性を発揮しメディエーターとして機能する最初のリゾリン脂質はリゾホスファチジン酸 (LPA) であり, その研究の源流を遡ると1960年代の Darmstoff の研究に辿りつく¹⁾。Darmstoff の活性成分は腸のアルケニルアシルリン脂質のアルカリ加水分解で生じるアセタールホスファチジン酸 (LPA のアルケニルサブクラスの環状体) であり, その構造類似体としてアシル LPA が試験され摘出ウサギ空腸片を収縮することが明らかにされた¹⁾。15年以上の空白期を経て, 健康食品素材の大豆レシチン中の血圧上昇成分²⁾と保温動物血漿の血圧下降性因子³⁾が LPA と同定された。これらが契機となり LPA 研究が再開され, 幾つかの先駆的な知見が得られた⁴⁾。後の, LPA による線維芽細胞の増殖の発見や G タンパク質の関与の証明⁵⁾, LPA 受容体や代謝酵素の相次ぐ発見を経て⁶⁻¹¹⁾,

現在の活発な研究に至る¹²⁻¹⁵⁾ (表1)。

2. LPA 受容体の生理機能解析

LPA 受容体の生理機能に関して優れた総説が報告されているので詳細はそれらを参照されたい^{16,17)}。ここでは, 遺伝子改変マウスでの発現型解析とヒト疾患と関連する話題を中心に最新の知見を解説する。

2.1. LPA₁ (vzq-1, EDG2)

LPA₁ 欠損マウスでは嗅覚神経の発達異常により授乳行動が障害され新生仔で約半数が死亡するが, 生存できた欠損マウスは野生マウスに比べて小型であり, 頭骨顔面異形症や胚性前部頭蓋血腫などの表現型を示す⁷⁾。この欠損マウスでは骨体積が減少し, 胸骨や肋骨の形態異常をきたし, 柱状骨や皮質性骨の骨粗鬆症が生じていた¹⁸⁾。LPA₁^{-/-}マウスでは胎生7.5日で内皮と中皮の間に小さな頭腔の形成が見られ, 胎生8.5日では滲出液の蓄積を伴い拡大しており¹⁹⁾, LPA 産生酵素のオートタキシン (ATX) は頭蓋の神経胚形成や中脳後脳境界部の確立に必須の役割を果たしているようだ²⁰⁾。最近, LPA₁ の単一スクレオチド多型がヒト骨関節炎の患者で発見された²¹⁾。

2.2. LPA₂ (EDG4)

LPA₂ は大腸がんの悪性化に関与している²²⁾。LPA₂ 欠損マウスでは, アゾキシメタン誘発大腸腫瘍の形成率が低下していた²³⁾。また, *Adenoma polyposis coli* 遺伝子に点突然

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部衛生薬学分野 (〒770-8505 徳島市庄町1丁目78-1)

Physiological role of lysophosphatidic acid and its relevance to diseases

Yoshiyumi Shimizu and Akira Tokumura (Department of Pharmaceutical Health Chemistry, Institute of Health Bioscience, University of Tokushima Graduate School, 1-78-1 Shomachi, Tokushima 770-8505, Japan)

表 1 生理活性リン脂質としての LPA 研究を前進させた重要な発見

年代	発見の概要	文献
1960	摘出腸管平滑筋を収縮する Darmstoff (アセタール PA) の活性類似体として発見	1
1978	大豆レシチン中の血圧を上昇し心拍数を調節する血管作動性因子として同定	2
1979	保温血漿中の血圧下降性因子・血小板凝集因子 (<i>in vivo</i> , <i>in vitro</i>) として同定	3
1993	線維芽細胞増殖作用に G タンパク質が関与	5
1996	EDG 型 LPA 受容体 (LPA_1) の cDNA クローニング	6
2000	LPA 受容体を欠損するマウスでの表現型異常の解析	7
2002	細胞の外側でホスファチジン酸から LPA を産生する酵素の cDNA クローニング	8
2002	血漿・血清の LPA 産生酵素を腫瘍細胞運動性促進タンパク (ATX) と同定	9, 10
2003	非 EDG 型 LPA (LPA_4) の cDNA クローニング	11
2006	ATX の欠損マウスの作成と表現型異常の解析	12, 13
2010	ATX の立体構造の解明	14, 15

変異を含むため腸に腺腫が多発しやすい $APC^{Min/+}$ マウスに LPA を経口投与すると腸腺腫の数が 2 倍に増え、その LPA_2 遺伝子を欠損させると腸の腺腫数が半減し、大きさも減少することが報告されている²⁴⁾。

2.3. LPA_3 (EDG7)

LPA_3 欠損マウスでは胞胚の着床が遅延し、着床部位の位置取りやタイミングが異常となり、胎仔成長が遅れ子宮内胎仔死亡となるため産仔数が減少する²⁵⁾。この遺伝子欠損マウスの子宮着床部の周囲でコラーゲンⅢとⅥの代謝遅延が生じていること²⁶⁾、ヒトでは正常受胎患者に比べ反復性着床不全患者の子宮内膜円窓における LPA_3 の mRNA 発現量が有意に低いことが示された²⁷⁾。

2.4. LPA_1 (GPR23, P2Y9)

欠損マウスから調製した胚性線維芽細胞の遊走性が LPA_1 により負に制御されること以外、 LPA_1 欠損マウスは著明な発現系の異常を示さないと報告されたが²⁸⁾、胎生 10.5 日から皮下出血のリンパ管や血管の形成異常が見られ多臓器で出血や浮腫が生じており、一部が胎仔や新生仔で死亡することが明らかとなった²⁹⁾。ラットやウサギ血小板遊液に LPA を添加しても血小板凝集は観察されない^{3, 4)}、ヒト単離血小板の中には LPA に対する凝集応答が低い標品が存在した^{30, 31)}。この低応答性は、凝集阻害性 G_s と共役する LPA 受容体の高発現のためであると推定されており³²⁾、事実、LPA 低応答血小板では正常応答の血小板と比べて 6.6 倍高い LPA_4 の mRNA が発現していた³³⁾。また、マウス血小板では凝集阻害性 G_s 共役 LPA 受容体の方が凝集誘導性 $G_{12/13}$ や G_q と共役する LPA 受容体よりも優勢に発現しており生理学的凝集応答を阻害していることが示された³³⁾。

2.5. LPA_5 (GPR92/93)

当初、この受容体 GPR92 はタンパク質の加水分解物に応答するので、小腸分泌細胞からコレシストキニンを分泌する栄養素に感受性のある受容体と考えられていたが³⁴⁾、ラット腸管上皮細胞の管腔側膜に存在し粘膜構造の維持や³⁵⁾、マウスモデルで Na^+/H^+ exchanger regulatory factor 2

(NHERF2) を介して管腔側膜の Na^+/H^+ exchanger 3 を活性化し液体吸収に寄与する³⁶⁾ことが明らかとなった。アシル LPA に比べてアルキル LPA の方がネコやヒトの血小板凝集作用が強いことが知られていた⁴⁾。 LPA_5 に選択性が高いアゴニスト (オクタデセニルリン酸) がアルキル LPA (18:1) と同等の血小板形態変化を誘導し、 LPA_5 選択的アンタゴニスト (H2L 5987411, H2L 5765834) がアシル LPA (18:1) による血小板形態変化の阻害作用を示すので、アルキル LPA を好む受容体の有力候補として LPA_5 が浮上してきた³⁷⁾。事実、ヒト血小板には LPA_1 と並んで LPA_5 の mRNA 発現量が高く³²⁾、血小板前駆細胞のヒト巨核球性株細胞でアシル LPA (16:0) による細胞の形態変化が LPA_5 の siRNA 干渉でのみ抑制されたと報告されている³⁸⁾。 LPA_4 と同様、 LPA_5 も cAMP 濃度の上昇を導く G_s と共役できるが、血小板や巨核球では主として Rho 活性化と関連する $G_{12/13}$ と共役しているのであろう。

2.6. LPA_6 (P2Y5)

家族性常染色体劣性遺伝の縮毛や遺伝性脱毛症が LPA_6 や LIPH (ホスファチジン酸特異的ホスホリパーゼ A_1 , PA-PLA₁) をコードする遺伝子の変異によることが示されている^{16, 17)}。 LPA_6 のリガンド特異性は *sn*-1-アシル LPA では 18:1>16:0>18:0>14:0、不飽和脂肪酸を持つ LPA 分子種では 18:2>18:1>20:4、また 18:1 を持つ分子種では、2-アシル-LPA>1-アシル-LPA であった³⁹⁾。 LPA_6 は、 LPA_3 と同様、2-不飽和アシル LPA を好む LPA 受容体と思われる。2-不飽和アシル LPA を産生する PA-PLA₁ は、LPA と共に毛胞内根鞘の Huxley 層に発現していることが示されている^{16, 17)}。 LPA_6 の mRNA はヒト臍帯静脈血管内皮細胞に高発現しており Rho 依存性に細胞収縮を起こし内皮単層の透過性を調節し³⁹⁾、また、ラット小腸粘膜に沿って発現しておりラット小腸粘膜上皮細胞のコラーゲン塗布マトリックスへの接着を誘導することから、陰窩から絨毛先端への小腸粘膜細胞の分化・移行に関与していることが推定されている⁴⁰⁾。

2.7. GPR87

ヒト扁平がん細胞[肺, 子宮頸管, 皮膚, 頭頸部(咽頭, 喉頭, 咽頭蓋)や膀胱の移行性細胞がん, 肺の大細胞や腺がん]に発現しているGPR87を遺伝子操作でチャイニーズハムスター卵巣細胞に発現させLPAを作用させると Ca^{2+} 動員が認められ, その応答が $\text{LPA}_{1,3}$ のアンタゴニストKi16425(図1)で選択的に抑制されることからLPA受容体候補と提案されている⁴¹⁾. マウスではGPR87は胎盤, 卵巣, 精巣, 前立腺などの生殖系組織や脳, 骨格筋に豊富に発現している⁴¹⁾.

2.8. GPR35

キヌレン酸が内在性リガンドとされていたGPR35をヒト胎児腎臓細胞に発現させると, LPAに強く応答し Ca^{2+} 動員が誘導された⁴²⁾. LPA_3 や LPA_6 と同様, 2-アシルLPA(18:1, 18:2, 20:4)の方が1-アシルLPA(16:0, 18:1)よりはるかに低濃度で奏効する. GPR35は神経興奮性の調節, 疼痛, 血圧調節, 指短縮・精神遅滞症候群の病態発現や胃がんの進行に関与することが示されており⁴²⁾, ヒトでは, 小腸, 大腸や胃の消化器系や脾臓や末梢

白血球に多く存在している⁴³⁾.

3. LPAの代謝酵素の分布と機能解析

3.1. LPA産生酵素

哺乳類の細胞内でLPAは, (1) $\text{L-}\alpha$ -グリセロール3-リン酸とアシル-CoAの縮合, (2)PAの PLA_1 やホスホリパーゼ A_2 (PLA_2)による加水分解, (3)リゾリン脂質のホスホリパーゼDによる加水分解, (4)モノラジルグリセロール(monoradyl-glycerol)のリン酸化などの複数の経路で生成する⁴⁾. LPA受容体への効率良い供給という意味では, 細胞表面や細胞外でのLPA産生経路の方が重要であり, PA-PLA_1 活性とATXのリゾホスホリパーゼD(lysoPLD)活性が関与している⁴⁴⁾. ここでは, 研究進展が著しいATX(ATX-melanoma, 915アミノ酸; ATX-teratocarcinoma, 863アミノ酸; brain specific ATX, PD-1 α , 887アミノ酸)を取り上げる. その一次構造, 酵素学的性質, 生理学的意義については総説を参照されたい^{45~47)}. 本総説では, その後の進展が著しいATX遺伝子改変マウスでの発現型解析及び二次・三次構造と触媒機能に関する研究成果を解説する.

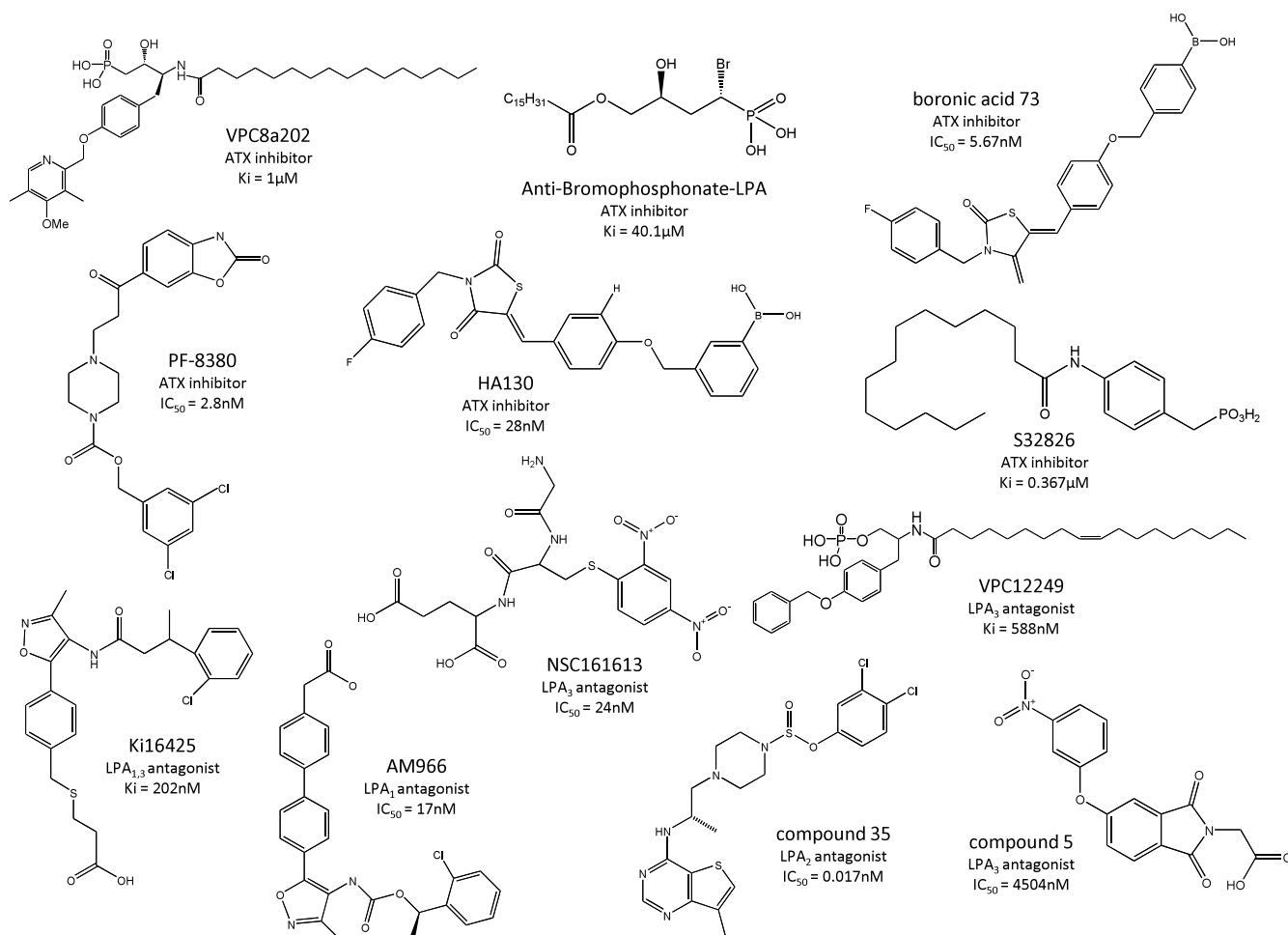


図1 LPA受容体アンタゴニストとATX/lysoPLD阻害剤の構造

ATX は正常時の循環血液のみならず、尿、脳脊髄液、卵胞液の体液に存在することから、これら体液と接する多様な細胞（血管内皮細胞、中皮細胞、脂肪細胞、組織型肥満細胞など）が恒常的に ATX を分泌していると思われるが、血漿を含め動物体液中の産生源は十分には明らかにされていない⁴⁵⁻⁴⁷⁾。マウスの静脈内に放射標識 ATX を注入すると速やかに肝臓血管内皮細胞に取り込まれ分解されていることから、ATX 産生・分泌と ATX 排出・分解のバランスで血液などの体液 ATX 濃度が調節されていると予想される⁴⁸⁾。一方、悪性腫瘍細胞（黒色腫、奇形腫、肺癌、乳がん、前立腺がん、甲状腺がん、神経芽腫、多型性神経膠芽腫、EB 陽性ホジキンリンパ腫）では ATX の mRNA が過剰発現し、悪性がんに伴う悪液質（腹水、胸水）の ATX/lysoPLD 活性は高値であり、広範囲の細胞が LPA 過剰シグナルを受け病態が悪化していくものと思われる⁴⁵⁻⁴⁷⁾。

ATX 欠損マウスや触媒中心の Thr210 を Ala に置換した遺伝子を導入したマウスでは、胎生 9.5 日で卵黄嚢の血管形成や安定性の異常や尿膜や神経管の形成異常が、胎生

10.5 日で心嚢滲出液や体表面に滲出液が観察され、胎生致死に至る^{13,14,49)}。LPA₁ 欠損マウスでも同じ時期に類似の滲出液が生成されることから²⁹⁾、ATX/LPA/LPA₁ の機能的連関が推定された。近年、 α -1 抗トリプシン阻害剤プロモーターを用いて肝での ATX 発現を高め、血漿 ATX、LPA 濃度や lysoPLD 活性を約 2 倍、3 倍と 2 倍にそれぞれ増加させたマウスが作成され、*in vivo* で尾切断後の出血時間が延長していることが確認されている³³⁾。この研究グループは ATX のヘテロ欠損マウスでも上記と同様の研究を行い、塩化第二鉄溶液をマウス頸動脈内に注入し血管内皮細胞を傷害すると、野生型では血流低下が 12% なのに対し、ATX 遺伝子のヘテロ欠損マウスでは 70% 以上の血流低下を認めている。マウスの硝子体血管の出生後の退縮過程で VEGF (vascular endothelial growth factor)・ホスホリパーゼ C の下流シグナルとして ATX/lysoPLD の分泌が関与していることも報告されている⁵⁰⁾。

マウスのリンパ節やパイエル板の丈の高い内皮細胞性小静脈に ATX が高発現し頂端側に ATX を分泌すること、RGD 配列や $\alpha 4\beta 1$ インテグリン結合モチーフを介してリ

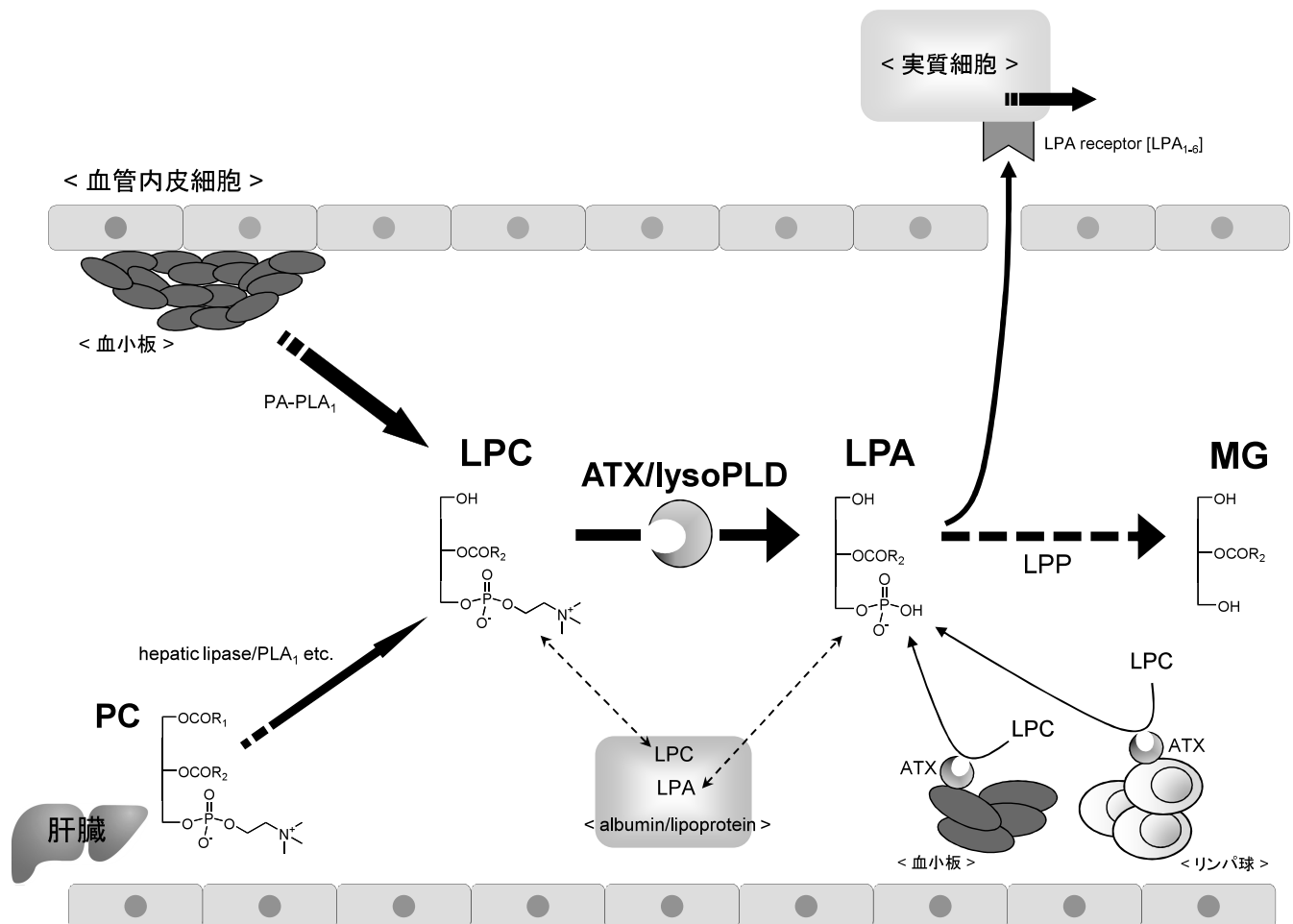


図2 循環血中での LPA の産生系および分解系に関する模式図

ンパ球に接着しそのリンパ節の血管内皮下への浸潤を誘導することが示された^{51,52)} (図2)。また、活性化された血小板はリコンビナント ATX に結合するが、静止状態の血小板はあまり結合しないと報告されている³³⁾。中枢神経系のミエリン化の過程でオリゴデンドロサイトから遊離する ATX が細胞外マトリックスとの接着を促進しオリゴデンドロサイトの形態的成熟に関与していることが示された⁵³⁾。ATX の活性中心を含まない C 末端側のドメインのみでもこの作用は発揮されるという。ATX には、糖鎖が3個のアスパラギン残基に結合しているが、C 末端部から近いヌクレアーゼ様ドメイン上の Asn410 と Asn524 の糖鎖が触媒活性の発現に必須であり^{54,55)}、ヌクレアーゼ様ドメインの Cys805 と触媒ドメイン上の Cys413 の間でのジスルフィド結合が活性発現に必須であると報告されている⁵⁶⁾。これらの結果から、ヌクレアーゼ様ドメインが基質の結合や産物の酵素からの離脱に関与していることが強く示唆されていた。最近、二つの研究グループから ATX の三次元構造の研究結果が報告され、上述の仮説が強化された^{14,15)} (図3)。ソマトメジン B ドメインが基質との結合のみならず産物 LPA の標的細胞表面への放出にも関するとの魅力的な仮説である。

3.2. LPA 分解酵素

細胞表面や細胞外での LPA 代謝経路としては、リゾホスホリパーゼ活性による脂肪酸部の切断とエクト型脂質リン酸ホスファターゼ (LPP) によるリン酸部の切断の二つが良く研究されている⁵⁷⁾。本項では、LPP に関するこの数年の知見を紹介する。LPP1 の過剰発現マウスの血漿 LPA 濃度は対照マウスの値とほぼ同じであったが、毛の発育に異常が見られ⁵⁸⁾、LPP3 遺伝子欠損マウスでは胎生 9.5 日で脈管形成の異常で胚致死となる⁵⁹⁾。生体局所での有効 LPA 濃度が高すぎても正常な脈管が形成できないと思われる。

4. LPA の体内分布と動態

動物体液での LPA 濃度は、上述の分泌性 LPA 産生酵素やエクト型 LPA 分解酵素のバランスにより左右されるが、体液が浸している様々な細胞による LPA 産生と続く遊離、及び、それら細胞による LPA 取り込みと続く分解のバランスも加味しなければならない (図2)。ヒト臨床試料を用いた研究成果を表2に示す。

4.1. 循環血液

ATX のヘテロ欠損マウスの血漿 LPA 濃度は野生型マウスの約半分に低下している^{13,14)}。正常マウス循環血での LPA の半減時間は3分程度であるが、LPP1 の発現を低下させたマウスでは12分に延長された⁶⁰⁾。サルに経口投与する実験において、代謝的に安定な LPA アゴニスト (オクタデシルチオリン酸) は循環血で7.66時間の半減時間を示すと報告されている⁶¹⁾。妊娠に伴い循環血液中の LPA 濃度や LPA 産生酵素 ATX の lysoPLD 活性が生理学的に徐々に高まるが、切迫早産や妊婦中毒症患者⁶²⁾、肝内胆汁酸分泌停止を伴う妊娠患者⁶³⁾の血清 ATX/lysoPLD 活性が正常妊娠患者に比べ高いことが示された。興味深いことに、鼻からの胆汁排出処置を施した重症患者では、血清 ATX の lysoPLD 活性も掻痒強度も低下し、処置後数週間で元の高値に戻るという⁶³⁾。胆汁分泌停止に伴う病態に共通しているのが全身性皮膚掻痒症であり、循環血中での LPA 濃度増加はその有力要因かもしれない。血液中の LPA 濃度調節を目指す食事介入試験も行われ、4週間のエイコサペンタエン酸 (20:5) とドコサヘキサエン酸 (22:6) 摂取で、血漿 20:5-LPC と 22:6-LPC 濃度は増加するが 20:5-LPA と 22:6-LPA 濃度の上昇には至らず ATX の lysoPLD 活性は変動しなかった⁶⁴⁾。

4.2. 滲出液

卵巣がんや子宮がん患者の腹水で ATX による lysoPLD 活性が高値であり、高濃度の腹水 LPA が腹膜中皮へのがん転移を促進すると推定されている⁶⁵⁻⁶⁷⁾。リウマチ性関節

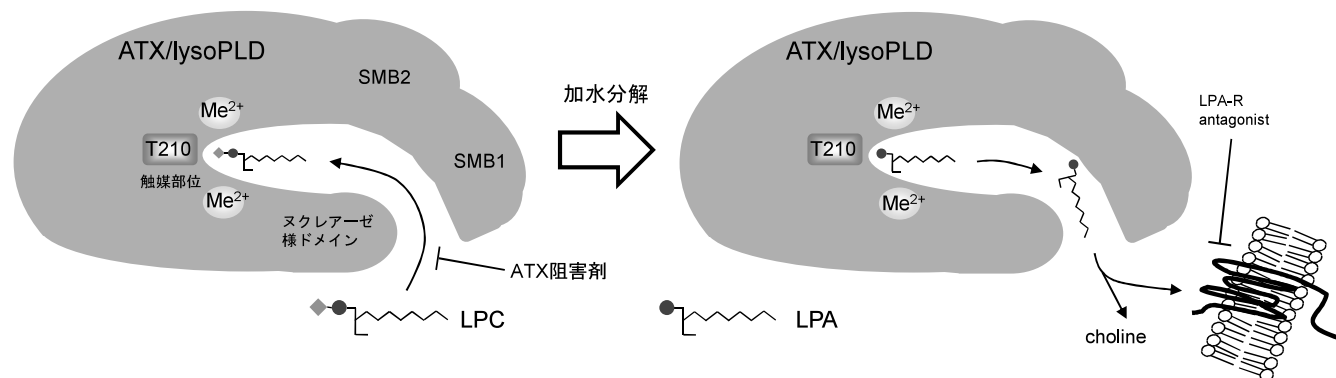


図3 ATXによる基質結合と生成物放出に関する模式図
Me²⁺: 2価金属陽イオン。

表2 ヒト疾患時の組織や体液での LPA 濃度と LPA 代謝酵素活性の変動

組織/体液	病 態	LPA 濃度	LPA 代謝酵素活性	文献
血漿	卵巣がん, 子宮がん	LPA ↑	lysoPLD ↑	115
血清	多発性骨髄腫	LPA3.1 倍		116
血清	切迫早産		ATX/lysoPLD ↑	62
血漿・血清	C 型ウイルス性肝炎	LPA ↑	ATX/lysoPLD ↑	117
血清	卵巣腫瘍	LPA2.7 倍		118
血清	虚血性脳疾患	LPA1.8 倍		119
血清	強皮症	20:4-LPA ↑	ATX→	120
血清	胆汁酸分泌停止 (男性, 非妊娠女性, 妊娠女性)		ATX ↑, ATX/lysoPLD ↑	63
血漿・血清	濾胞性リンパ腫 (B 細胞性腫瘍)		ATX ↑	121
腹水	卵巣がん (肝がんの腹水と比較)	LPA ↑		65
腹水	卵巣がん	LPA3 倍		66
腹水	卵巣がん		ATX/lysoPLD ↑	67
肝臓	C 型ウイルス性肝炎, 肝細胞がん		ATX/mRNA ↑	122
肺洗浄液	アレルゲン感作	LPA3 倍		123
	突発性肺線維症	LPA ↑		110
疱疹液	水疱性皮膚病	LPA9 倍 (血漿)		124
皮膚	水疱性皮膚病		ATX/mRNA4 倍 ↑	124
卵胞液	体外受精処置 (過排卵刺激)	LPA1.6 倍 (血清)		125

LPA は総量を, ATX, ATX/mRNA, ATX/lysoPLD は, ATX のタンパク質量, mRNA, および lysoPLD 活性を, それぞれ示す。↑と→は, 増加および無変動をそれぞれ示す。

炎の患者滑膜液に ATX/lysoPLD やその基質 LPC が存在すること, この系で産生される LPA が滑膜細胞のシクロオキシゲナーゼ 2 を誘導しプロスタグランジン E₂ 産生を高め炎症の増悪に関与すること⁶⁸⁾, また *in vivo* で間葉幹細胞を遊走させ滑膜への回帰を促進していることが示された⁶⁹⁾。

5. LPA の生理学的作用を基盤とする疾患予防剤の探索

LPA は小腸粘膜に対し強力な創傷治癒作用を示すので, LPA を豊富に含有する食品素材は胃粘膜保護に有効かもしれない²²⁾。直腸からラットやマウスに LPA を投与すると, トリニトロベンゼンスルホン酸が誘導する大腸炎の組織傷害が軽減され⁷⁰⁾, コレラ毒素による二次的下痢症状が緩和されること⁷¹⁾が示されている。後者の研究では, 腸管上皮細胞の頂端側 (腸管腔側) 膜に選択的に発現している cAMP 依存性 Cl⁻チャネル (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR) の活性を, LPA₂ が NHERF2 への結合を介して抑制していることが明らかにされた (図 4)。マウスでは LPA を管腔側から灌流しておくでフォルスコリン誘導の十二指腸からの炭酸イオンの分泌刺激作用が抑制されたが, *Nherf2*^{-/-}マウスでは LPA の作用は観察されないため LPA₂ が NHERF2 と CFTR との共役を抑制的に調節していることが明らかとなった³⁶⁾。LPA 受容体の中では, LPA₂ のみがクラス I の PDZ ドメインと結合できる C 末端アミノ酸配列を有し, PDZ ドメインを持つ NHERF2 や membrane-associated guanylate kinase with inverted orientation-2 と相互作用しシグナルを伝達できることが明らかとなっている⁷²⁾。NHERF2 を高発現させた小腸刷子縁

の上皮細胞の管腔側から LPA を作用させると, ホスファチジルイノシトール-3-キナーゼ依存性の機構と, NHERF2 による Na⁺/H⁺ exchanger 3 の解離機構でこのイオン交換タンパク質を活性化すること⁷³⁾, 単層培養した小腸上皮細胞様 Caco-2 細胞に対して管腔側からの添加でも, あるいは基底膜側 (間質側) からの添加でも LPA は Na⁺/H⁺ exchanger 3 を活性化すること⁷⁴⁾が示された。下痢など大腸機能調整薬開発のリード化合物として, LPA₂ と NHERF2 の相互作用を阻害する細胞透過性の低分子化合物 CO-068 が見出された⁷⁵⁾。これらの成果は, 管腔内から作用する LPA が生理的役割を果たしていることを示唆している。

消化管の管腔内に存在している LPA の由来としては, 第 1 に食品を挙げることができる。血管作動性因子として見出された大豆レシチン由来の LPA は総リン脂質の 0.1% 程度であったが, 18:2 や 18:3 を多く含んでいた²⁾。鶏卵黄 (飽和アシル種が主体) や卵白 (不飽和アシル種が主体) にもかなり含まれているし⁷⁶⁾, 種々の緑色野菜は多価不飽和脂肪酸を持つ LPA を比較的多く含む⁷⁷⁾。第 2 の LPA 源は, 消化酵素による前駆体リン脂質分解である。その 1 例は, ストレス性胃腸潰瘍に効くキャベツの咀嚼過程でのホスホリパーゼ D による LPA 産生である⁷⁷⁾。キャベツ由来 LPA が培養胃粘膜上皮細胞の遊走を促進することから, LPA が管腔側から作用し胃粘膜の創傷治癒に寄与できるものと思われる。確かに, 大豆レシチン由来の LPA や不飽和脂肪酸を持つ合成 LPA の溶液をラット胃内に投与すると, 水浸拘束ストレスによる胃潰瘍形成は有意に抑制された⁷⁸⁾。胃潰瘍に有効とされる漢方薬 (安中散) の 7 生薬成分の中では, けし科植物由来の延胡索に最も高

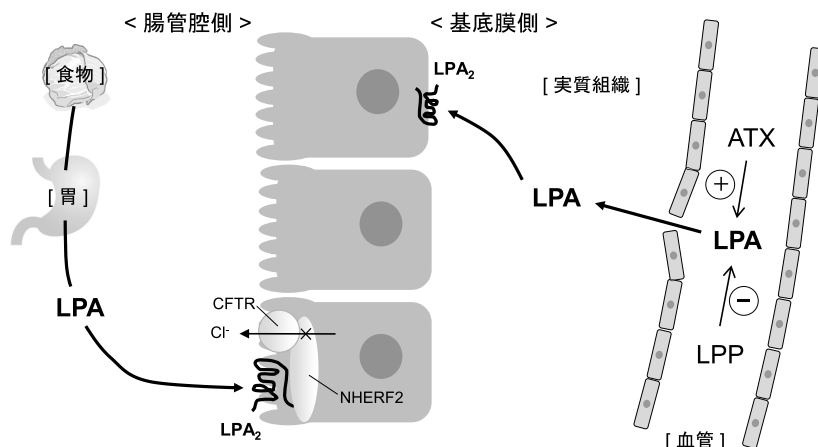


図4 LPA₂の小腸粘膜上皮細胞の管側膜での選択的発現と機能に関する模式図

い割合でLPAが含まれており、これを欠く安中散の胃潰瘍抑制作用は減弱することが明らかにされている⁷⁸⁾。これらの研究は和漢薬製剤の効能や食材選択にも新しい情報を提示し、長く伝承されてきた民間治療法の効能に科学的根拠を与えることにも繋がったといえよう。しかし、LPAを濃縮した加工食材を補充的に利用する試みにおいては、遺伝子変異体等が重なりとLPA₂が大腸がんの悪性化に関与しうることには留意すべきであろう。事実、LPAをマウスに4週間経口投与した実験では、腺腫が発生しやすい遺伝子変異体では大腸がんの進行が促進されている⁷⁹⁾。

6. LPA受容体アンタゴニストとlysoPLDインヒビターの臨床応用の可能性

6.1. 選択的LPA受容体アンタゴニスト

効能と副作用のバランスを考慮し、特定の受容体に対して選択的に高い親和性を示す薬物候補物質を探索していく必要がある。すでに優れた総説が報告されているので、それらを参考にされたい^{80,81)}。最近の報告では、選択的LPA₂アンタゴニスト⁸²⁾、LPA₃アンタゴニスト⁸³⁾、LPA₁アンタゴニスト⁸⁴⁾が開発途上にある(図1)。最近、LPA₁アンタゴニストAM095の経口投与や静脈内投与後の薬物動態学的及び薬理学的性質が調べられており、ラットとイス体内での血漿半減時間が比較的長く、LPAによるヒスタミン遊離を抑制し、またプレオマイシン誘発コラーゲン量の増加や肺胞液への炎症性細胞の滲出を抑制し、マウスでの片側尿管での腎繊維化を抑制すると報告されている⁸⁵⁾。Ki 16425はLPA₁とLPA₃に選択的なアンタゴニストとして多用され、LPA研究の進展に大きく寄与してきたが、Debio 0719として抗がん剤候補としての前臨床開発が行われていることが記されている⁸⁶⁾。

6.2. ATX阻害剤

ATXは生理的基質であるリゾホスファチジルコリン(LPC)よりも産物であるLPAの方に高い親和性を示すこ

とから⁸⁷⁾、LPAアンタゴニストやアゴニストとして探索されたLPA類似体がATX阻害剤として検討された。その結果、LPA構造類似体である環状ホスファチジン酸(cyclic PA)とそのカルバ類似体、LPA類似体として脂肪酸アルコールリン酸、アシルチオリン酸、LPAのβ-ケトおよびβ-ヒドロキシリン酸類似体、LPAのα-置換ホスホネート類似体、LPAのα-およびβ-置換ホスホネート類似体、LPAのsn-2-アミノオキシ類似体、Darmstoff類似体と、cyclic PAのホスホノチオエートおよびフルオロメチレンホスホネート類似体がlysoPLD阻害性化合物として報告された^{80,81,88,89)}。in vivoで十分に有効性を示す非脂質型阻害剤を開発するために、ATX触媒部位の構造モデルに基づくバーチャルスクリーニングが行われ、合成基質1 μM FS-3に対するlysoPLD活性を阻害する九つの化合物(IC₅₀値10 μM未満)が示された⁹⁰⁾。また、ハイスループットスクリーニング試験評価で見出されたS32826(10 mg/kg)を静脈内投与すると、5分後の血漿lysoPLD活性は70%抑制されたが、30分以降では作用が消失したと報告されている⁹¹⁾。次に、チアゾリジンジオン誘導体の構造活性相関が行われ、ボロン酸を分子内に導入し酵素のThr210と非可逆的に結合させ酵素を失活させる戦略がとられ、30 nMと6 nMのIC₅₀を持つ化合物HA130と構造類似体が見出された⁶⁰⁾。この化合物をマウスの静脈に注入すると、数分内に血漿LPA濃度は大きく低下した⁹²⁾。更に、精製ATXには2.8 nMのIC₅₀を、全血液を用いる検定系でも101 nMのIC₅₀値を示すPF-8380が開発された⁹³⁾。この化合物(100 mg/kg)の経口投与により、ラット血漿や炎症局所の体液(空気嚢)のATX/lysoPLD活性とLPA濃度が著しく低下しin vivoでのアジュバント投与による痛覚過敏が60%も抑制された⁹³⁾。

体内で分解されやすい脂肪酸エステル結合を持たないN-アシルエタノールアミンリン酸がアルキルLPAに匹敵する血小板凝集活性を示し、エタノールアミン部をセリン

やチロシンに置換した類似体は LPA による血小板凝集作用を選択的に阻害することから、これを原型とする LPA アゴニストやアンタゴニストが数多く合成され、チロシリン酸体を基盤とする ATX 阻害性物質 VPC8a202 ($K_i = 1 \mu\text{M}$) が見出された⁹⁴⁾(図 1)。また、ATX/lysoPLD の阻害剤として *N*-アシルチロシン (NAT), LPA, 遊離脂肪酸 (FA) やフラボノールの構造活性相関が検討された。その結果、12:0 より長い炭化水素鎖を持つ NAT や FA は拮抗阻害を、短い炭化水素鎖を持つ 2:0-NAT や 2:0-FA やフラボノールは非拮抗阻害を、中間の鎖長を持つ 5:0-NAT や 6:0-FA は混合型阻害を示したので、ATX は触媒部位に加えて短鎖脂質やフラボノールを結合できる小さな窪みと、大きな触媒部位への入り口の窪みを有すると推定された⁹⁵⁾。3:0-NAT と 16:0-NAT の L 体と D 体も⁹⁵⁾、アルキル LPC (16:0, 18:0) 構造類似体の九つのエナンチオマーも⁹⁶⁾それぞれ同等に ATX/lysoPLD 阻害活性を示したので、ATX の触媒部位と阻害剤結合非触媒部の窪みの立体構造が柔軟性に富むことが推定される。もちろん、両部位が部分的に重なり合っている可能性も考えられる。

希釈ウシ胎児血清を用いる検定系では、LPA は 2-リノレオイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホ-*p*-ニトロフェノールに対する lysoPLD 活性を阻害したが、同じ濃度範囲で非希釈ウシ胎児血清の lysoPLD 活性は阻害できなかった⁹⁵⁾。この結果は、*in vivo* の循環血ではアルブミン等の何らかの血漿成分により LPA の lysoPLD 活性阻害作用が抑制されていることを意味する。種々の動物種由来の血清および血漿調製品を 25~37°C でインキュベートすると、1-2 日間ほぼ一定速度で LPA が蓄積することが知られていた^{3,4)}。しかし、脳脊髄液のようなタンパク質濃度の低い体液の場合にはこの lysoPLD 活性抑制機構は作動していないのかもしれない。そのため、LPA はある局所的な環境においては、ATX/lysoPLD による自身の産生を調節していると推定される。最近、明らかにされた ATX の X 線構造解析の結果は上記の仮説を裏付けている^{14,15)}。ヌクレオチド様ドメインとソマトメジン様ドメインが疎水性空洞を安定化させ、常時開き基質を受け入れ、かつ、生成物を受容体へ効率良く渡す役割を果たすとの提案である^{14,15)}。また、LPA は ATX のヌクレオチド合成基質に対する分解活性を強く抑制するが LPC 分解活性に対する阻害作用は弱いことから、LPA の阻害作用の生理学的意味は、*in vivo* で ATX がヌクレオチドではなくリゾリン脂質を選択的に利用することにあると推定された¹⁴⁾。確かに、ATX を高発現させたマウスでは血漿 LPA 濃度は増加するが、血漿 ATP, ADP やアデノシン量は変化しないことが報告されていた³³⁾。

7. LPA 標的薬が適用可能なヒト疾患

LPA の機能や体内動態を制御できる物質の開発は、

LPA の関与が疑われる疾患の治療に有用であろう。本項では、がん悪性化、動脈硬化と線維症に関する最近の研究成果に絞り解説する。

7.1. がん悪性化

ATX をコードする *Enpp2* を発現させた卵巣がん細胞に ATX 阻害性物質 (cyclic PA のカルバ類似体) を添加するとカルボプラチンにより誘導されるアポトーシスが增強されるので、ATX は卵巣がんの薬物耐性の機構に関与しているものと思われる⁹⁷⁾。Zhang らは、LPA の構造アナログのうち、LPA₁₋₅ に対する全アンタゴニスト活性および ATX 阻害活性を持つ化合物を見出し、その化合物が効果的に乳がん細胞の遊走を阻害し、腫瘍の大きさを縮小し、さらに血管新生を抑制することを報告している⁹⁸⁾。類似の実験が非小細胞肺癌細胞 A549 の皮下播種で行われ、3 週間後から上記の LPA 類似体を毎週投与すると腫瘍の大きさが減少することが示された⁹⁹⁾。また、ATX を発現させた乳がん細胞をマウスの静脈内に注入すると、破骨細胞の活性化を介して骨がん転移が生じると報告されている¹⁰⁰⁾。

7.2. 動脈硬化

ラットの頸動脈の一部をクリップで留め残存血液を生理食塩水で置換後、そこに 1~10 μM の不飽和脂肪酸含有 LPA (18:1) を注入し 1 時間滞留させるだけで組織血管には約 30 nmol/kg の LPA が蓄積し、3~4 週間後には、頸動脈の注入部の血管内皮部に血管平滑筋主体の動脈硬化プラークが形成されると報告されている¹⁰¹⁾。興味深いことに、peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) の特異的アンタゴニスト GW9662 はアルキル LPA や不飽和アシル LPA による動脈硬化プラーク形成作用を抑制すること¹⁰²⁾、及び PPAR γ のコンディショナルノックアウト (KO) マウスでの LPA によるプラーク形成には PPAR γ が深く関与することが示された¹⁰³⁾。

動脈硬化巣に蓄積する酸化低密度リポタンパク質 (LDL) 中のアルキル LPA 含量は未酸化 LDL の値と比較すると高いが、飽和アシル LPA の濃度は未酸化 LDL と同程度であり、多価不飽和アシル LPA 濃度は未酸化 LDL の値より低かった¹⁰²⁾。LPA の脂肪酸部が過酸化を受け濃度が減少していくと推定されるが、酸化ストレスの負荷で何故アルキル LPA 濃度が増加するのかは不明である。

マウスを用いたバルーン誘導血管内皮細胞傷害による新生内膜肥厚ラットでは、アルキル LPA の 1 時間注入により新生内膜肥厚が増強されたが、同じ処理の PPAR γ アゴニスト (ロシグリタゾン) は無効であった¹⁰⁴⁾。LPA₁ と LPA₂ の両方を欠損したマウスは野生型マウスと同様にアルキル LPA に応答するが、PPAR γ のコンディショナル KO マウスではアルキル LPA による新生内膜肥厚は大きく抑制されていた¹⁰⁴⁾。アポリポタンパク質 E 欠損マウスの頸動脈

血管内皮を傷害させ4週間後に新生血管内膜肥厚を誘導するモデルでは、ケモカイン (CXCL12) により平滑筋前駆細胞が血管内膜へ誘引され内膜肥厚が進展するが、この過程に LPA₁ と LPA₃ が関与することが報告された¹⁰⁵⁾。20:4-アシル LPA や 18:1-アルキル LPA を頸動脈に注入すると *ex vivo* で単球の血管内皮への接着が誘導され、1日後には頸動脈組織で hypoxia-inducible factor-1 α の発現が確認されている¹⁰⁵⁾。アテローム型動脈硬化への LPA の関与についての研究はまだ数少ない。ヒトのアテローム型動脈硬化のモデルとして多用されてきた高脂肪食で飼育したウサギの血清では LPC と LDL 濃度が著しく増大し、lysoPLD による LPA 産生も亢進しており、動脈硬化の誘因となることが推定され、LPA が単球に直接作用し血管内皮細胞と相互作用を行うことが示されていた¹⁰⁶⁾。西欧食で LDL 受容体を欠損しているマウスを飼育し、その頸動脈に輪をかけ動脈硬化プラークの発症を誘導させると、4週後に LPC が、8週後に LPA がアテローム中心部に蓄積していくこと、およびプラークを含む頸動脈片での細胞質 PLA₂ IVA と Ca²⁺非依存性 PLA₂ VIA の mRNA の発現が増加し、逆に LPA アシル転移酵素 α の mRNA の発現が減少していることが示された¹⁰⁷⁾。また、マクロファージや樹状細胞が血管内皮細胞単層を通過して血液に出る過程を LPA が抑制することも動脈硬化促進の一因と考えられている¹⁰⁸⁾。

7.3. 線維症

線維症への LPA の関与を示唆する研究が近年、相次いで報告されており、ヒト体内で LPA 濃度を調節できる物質は将来の有望医薬品候補になるであろう。片側尿管の結紮で誘導される腎線維症マウスでは総 LPA 濃度と LPA₁ の mRNA 量が増加し、LPA₃ の mRNA が減少しており、LPA₁ 遺伝子欠損マウスではこのモデルによる線維症の症状が緩和されていた¹⁰⁹⁾。同様に、ブレオマイシン誘発肺線維症マウスでは、肺組織障害後の肺洗浄液の LPA 濃度が上昇し線維芽細胞を引き寄せ肺線維症を誘導していると思われるが、Lpa₁^{-/-}マウスではその症状の度合いが有意に低下していた¹¹⁰⁾。LPA₁ の選択的アンタゴニストで経口薬候補物質である AM966 (図1) は、ブレオマイシン気管支内投与マウスでの血液の血管外漏出、炎症や肺線維症の症状を明らかに軽減した⁸⁴⁾。ヒト強皮症の皮膚の線維芽細胞の方が正常者の皮膚線維芽細胞と比べて平滑筋細胞様に分化しており LPA に対する Cl⁻チャネル開口応答性が高いこと¹¹¹⁾、および野生型マウスへ予防的および治療的に LPA₁ 特異的アンタゴニスト AM966 を投与すると平滑筋様細胞の数は低下する¹¹²⁾ことが報告されている。この LPA₁ アンタゴニストは線維症治療薬として開発可能かもしれない。

8. おわりに

LPA の sn-2 位の水酸基が sn-1 位のアルケニル基と脱水縮合し環状の部分構造を持つ Darmstoff は、今、LPA アンタゴニストのリード化合物として、また、sn-3 位のリン酸基とが縮合した cyclic PA は ATX/lysoPLD 阻害剤の候補化合物としてそれぞれ再評価されており、後続の医薬品候補物質も多数報告されている。cyclic PA は多くの活性評価系で、LPA とは反対の効果を示す^{113,114)}。将来、LPA や構造類似体のアゴニスト機能に着目した製品の開発や安全性試験が進展するであろう。現在、スフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) 受容体を介して奏効する多発性硬化症の治療薬として FTY720 (fingolimod) の臨床試験が終了し医薬品として発売されている。近い将来、S1P と同様、多機能性 LPA の異常産生や機能を視点とする選択的な治療薬候補の開発や臨床研究が大きく進展することが期待される。

文 献

- 1) Vogt, W. (1960) *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Pathol.*, **240**, 134-139.
- 2) Tokumura, A., Fukuzawa, K., Akamatsu, Y., & Tsukatani, H. (1978) *Lipids*, **13**, 468-472.
- 3) Schumacher, S.A., Classen, H.G., & Späth, M. (1979) *Thromb. Hemostas.*, **42**, 631-640.
- 4) Tokumura, A. (1995) *Prog. Lipid Res.*, **34**, 151-184.
- 5) van Corven, E.J., van Rijswijk, A., Jalink, K., van der Bend, R.L., van Blitterswijk, W.J., & Moolenaar, M.H. (1992) *Biochem. J.*, **281**, 163-169.
- 6) Hecht, J.H., Weiner, J.A., Post, S.R., & Chun, J. (1996) *J. Cell Biol.*, **135**, 1071-1083.
- 7) Contos, J.J.A., Fukushima, N., Weiner, J.A., Kaushal, D., & Chun, J. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 13384-13389.
- 8) Sonoda, H., Aoki, J., Hiramatsu, T., Ishida, M., Bandoh, K., Nagai, Y., Taguchi, R., Inoue, K., & Arai, H. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 34254-34263.
- 9) Tokumura, A., Majima, E., Kariya, Y., Tominaga, K., Kogure, K., Yasuda, K., & Fukuzawa, K. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 39436-39442.
- 10) Umezu-Goto, M., Kishi, Y., Taira, A., Hama, K., Dohmae, N., Takio, K., Yamori, T., Mills, G.B., Inoue, K., Aoki, J., & Arai, H. (2002) *J. Cell Biol.*, **158**, 227-233.
- 11) Noguchi, K., Ishii, S., & Shimizu, T. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 25600-25605.
- 12) Tanaka, M., Okudaira, S., Kishi, Y., Ohkawa, R., Iseki, S., Ota, M., Noji, S., Yatomi, Y., Aoki, J., & Arai, H. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 25822-25830.
- 13) van Meeteren, L.A., Ruurs, P., Stortelers, C., Bouwman, P., van Rooijen, M.A., Pradère, J.P., Pettit, T.R., Wakelam, M.J., Saulnier-Blache, J.S., Mummery, C.L., Moolenaar, W.H., & Jonkers, J. (2006) *Mol. Cell Biol.*, **26**, 5015-5022.
- 14) Nishimasu, H., Okudaira, S., Hama, K., Mihara, E., Dohmae, N., Inoue, A., Ishitani, R., Takagi, J., Aoki, J., & Nureki, O. (2011) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **18**, 205-212.
- 15) Hausmann, J., Kamtekar, S., Christodoulou, E., Day, J.E.,

- Wu, T., Fulkerson, Z., Albers, H.M.H.G., van Meeteren, L.A., Houben, A.J.S., van Zeijl, L., Jansen, S., Andries, M., Hall, T., Pegg, L.E., Benson, T.E., Kasiem, M., Harlos, K., Kooi, C.W.V., Smyth, S.S., Ovaa, H., Bollen, M., Morris, A.J., Moolenaar, W.H., & Perrakis, A. (2011) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **18**, 198–204.
- 16) Choi, J.W., Herr, D.R., Noguchi, K., Yung, Y.C., Lee, C.W., Mutoh, T., Lin, M.E., Teo, S.T., Park, K.E., Mosley, A.N., & Chun, J. (2010) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **50**, 157–186.
- 17) Ishii, S., Noguchi, K., & Yanagida, K. (2009) *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **89**, 57–65.
- 18) Gennero, I., Laurencin-Dalicieux, S., Conte-Auriol, F., Briand-Mesange, F., Laurencin, D., Rue, J., Beton, N., Malet, N., Mus, M., Tokumura, A., Bourin, P., Vico, L., Brune, G., Oreffo, R.O.C., Chun, J., & Salles, J.P. (2011) *Bone*, in press.
- 19) Koike, S., Keino-Masu, K., & Masu, M. (2010) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **400**, 66–71.
- 20) Koike, S., Yutoh, Y., Keino-Masu, K., Noji, S., Masu, M., & Ohuchi, H. (2011) *Dev. Dyn.*, **240**, 413–421.
- 21) Mototani, H., Iida, A., Nakajima, M., Furuichi, T., Miyamoto, Y., Tsunoda, T., Sudo, A., Kotani, A., Uchida, A., Ozaki, K., Tanaka, Y., Nakamura, Y., Tanaka, T., Notoya, K., & Ikegawa, S. (2008) *Hum. Mol. Genet.*, **17**, 1790–1797.
- 22) Tokumura, A. (2011) *J. Health Sci.*, **57**, 115–128.
- 23) Lin, S., Lee, S.J., Shim, H., Chun, J., & Yun, C.C. (2010) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **299**, G1128–G1138.
- 24) Lin, S., Wang, D., Iyer, S., Ghaleb, A.M., Shim, H., Yang, V. W., Chun, J., & Yun, C.C. (2009) *Gastroenterology*, **136**, 1711–1720.
- 25) Hama, K. & Aoki, J. (2010) *Prog. Lipid Res.*, **49**, 335–342.
- 26) Diao, H., Aplin, J.D., Xiao, S., Chun, J., Li, Z., Chen, S., & Ye, X. (2011) *Biol. Reprod.*, **84**, 255–265.
- 27) Achache, H., Tsafir, A., Prus, D., Reich, R., & Revel, A. (2010) *Fertil. Steril.*, **94**, 1271–1278.
- 28) Lee, Z., Cheng, C.T., Zhang, H., Subler, M.A., Wu, J., Mukherjee, A., Windle, J.J., Chen, C.K., & Fang, X. (2008) *Mol. Biol. Cell*, **19**, 5435–5445.
- 29) Sumida, H., Noguchi, K., Kihara, Y., Abe, M., Yanagida, K., Hamano, F., Sato, S., Tamaki, K., Morishita, Y., Kano, M.R., Iwata, C., Miyazono, K., Sakimura, K., Shimizu, T., & Ishii, S. (2010) *Blood*, **116**, 5060–5070.
- 30) Pamuklar, Z., Lee, J.S., Cheng, H.Y., Panchatcharam, M., Steinhubl, S., Morris, A.J., Charnigo, R., & Smyth, S.S. (2008) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **28**, 555–561.
- 31) Tokumura, A., Shinomiya, J., Tanaka, T., Kogure, K., Satouchi, K., & Fukuzawa, K. (2002) *Biochem. J.*, **365**, 617–628.
- 32) Khandoga, A.L., Fujiwara, Y., Goyal, P., Pandey, D., Tsukahara, R., Bolen, A., Guo, H., Wilke, N., Liu, J., Valentine, W. J., Durgam, G.G., Miller, D.D., Jiang, G., Prestwich, G.D., Tigyi, G., & Siess, W. (2008) *Platelets*, **19**, 415–427.
- 33) Pamuklar, Z., Federico, L., Liu, S., Umezū-Goto, M., Dong, A., Panchatcharam, M., Fulkerson, Z., Berdyshev, E., Natrajan, V., Fang, X., van Meeteren, L.A., Moolenaar, W.H., Mills, G.B., Morris, A.J., & Smyth, S.S. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 7385–7394.
- 34) Choi, S., Lee, M., Shiu, A.L., Yo, S.J., & Aponte, G.W. (2007) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **292**, G 98–112.
- 35) Choi, S., Lee, M., Shiu, A.L., Yo, S.J., Halldén, G., & Aponte, G.W. (2007) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **292**, G1366–1375.
- 36) Lin, S., Yeruva, S., He, P., Singh, A.K., Zhang, H., Chen, M., Lamprecht, G., de Jonge, H.R., Tse, M., Donowitz, M., Högema, B.M., Chun, J., Seidler, U., & Yun, C.C. (2010) *Gastroenterology*, **138**, 649–658.
- 37) Williams, J.R., Khandoga, A.L., Goyal, P., Fells, J.I., Peygin, D.H., Siess, W., Parrill, Tigyi, G., & Fujiwara, Y. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 17304–17319.
- 38) Amisten, S., Braun, O.O., Bengtsson, A., & Erlinge, D. (2008) *Thromb. Res.*, **122**, 47–57.
- 39) Yanagida, K., Masago, K., Nakanishi, H., Kihara, Y., Hamano, F., Tajima, Y., Taguchi, R., Shimizu, T., & Ishii, S. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 17731–17741.
- 40) Lee, M., Choi, S., Halldén, G., Yo, S.J., Schichnes, D., & Aponte, G.W. (2009) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **297**, G641–G645.
- 41) Tabata, K., Baba, K., Shiraishi, A., Ito, M., & Fujita, N. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **363**, 861–866.
- 42) Oka, S., Ota, R., Shima, M., Yamashita, A., & Sugiura, T. (2010) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **395**, 232–237.
- 43) Wang, J., Simonavicius, N., Wu, X., Swaminath, G., Reagan, J., Tian, H., & Ling, L. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 22021–22028.
- 44) Aoki, J., Inoue, A., & Okudaira, S. (2008) *Biochim. Biophys. Acta*, **1781**, 513–518.
- 45) 徳村 彰 (2006) 生化学, **78**, 1141–1154.
- 46) Nakanaga, K., Hama, K., & Aoki, J. (2010) *J. Biochem.*, **148**, 13–24.
- 47) Okudaira, S., Yukiura, H., & Aoki, J. (2010) *Biochimie*, **92**, 698–706.
- 48) Jansen, S., Andries, M., Vekemans, K., Vanbilloen, H., Verbruggen, A., & Bollen, M. (2009) *Cancer Lett.*, **284**, 216–221.
- 49) Ferry, G., Giganti, A., Cogé, F., Bertaux, F., Thiam, K., & Boutin, J.A. (2007) *FEBS Lett.*, **581**, 3572–3578.
- 50) Im, E., Motiejunaite, R., Aranda, J., Park, E.Y., Federico, L., Kim, T., Clair, T., Stracke, M.L., Smyth, S., & Kazlauskas, A. (2010) *Mol. Cell. Biol.*, **30**, 2401–2410.
- 51) Kanda, H., Newton, R., Klein, R., Morita, Y., Gunn, M.D., & Rosen, S.D. (2008) *Nat. Immunol.*, **9**, 415–423.
- 52) Nakasaki, T., Tanaka, T., Okudaira, S., Hirose, M., Umemoto, E., Otani, K., Jin, S., Bai, Z., Hayasaka, M., Fukui, Y., Aozasa, K., Fujita, N., Tsuruo, T., Ozono, K., Aoki, J., & Miyasaka, M. (2008) *Am. J. Pathol.*, **173**, 1566–1576.
- 53) Fox, M.A., Alexander, J.K., Afshari, F.S., Colello, R.J., & Fuss, B. (2004) *Mol. Cell. Neurosci.*, **27**, 140–145.
- 54) Pradère, J.P., Tarnus, E., Grés, S., Valet, P., & Saulnier-Blache, J.S. (2007) *Biochim. Biophys. Acta* **1771**, 93–102.
- 55) Jansen, S., Callewaert, N., Dewerte, I., Andries, M., Ceulemans, H., & Bollen, M. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 11084–11091.
- 56) Jansen, S., Andries, M., Derua, R., Waelkens, E., & Bollen, M. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 14296–14302.
- 57) Samadi, N., Bekele, R., Capatos, D., Venkatraman, G., Sariahmetoglu, M., & Brindley, D.N. (2010) *Biochimie*, **93**, 61–70.
- 58) Yue, J., Yokoyama, K., Balazs, L., Baker, D.L., Smalley, D., Pilquill, C., Brindley, D.N., & Tigyi, G. (2004) *Cell. Signal.*, **16**, 385–399.
- 59) Escalante-Alcalde, D., Hernandez, L., Le Stunff, H., Maeda, R., Lee, H.E., Jr-Gang-Chang, C., Sciorra, V.A., Daar, I.,

- Spiegel, S., Morris, A.J., & Stewart, C.L. (2003) *Development*, 130, 4623–4637.
- 60) Albers, H.M., Dong, A., Van Meeteren, L.A., Egan, D.A., Sunkara, M. V.A., Tilburg, E.W., Schuurman, K., Van Telligen, O., Morris, A.J., Smyth, S.S., Moolenaar, W.H., & Ovaa, H. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 7257–7262.
 - 61) Deng, W., Shuyu, E., Tsukahara, R., Valentine, W.J., Durgam, G., Gududuru, V., Balazs, L., Manickam, V., Arsura, M., Van Middlesworth, L., Johnson, L.R., Parill, A.L., Miller, D.D., & Tigyi, G. (2007) *Gastroenterology*, 132, 1834–1851.
 - 62) Tokumura, A., Kume, T., Taira, S., Yasuda, K., & Kanzaki, H. (2009) *Mol. Human Reprod.*, 15, 301–310.
 - 63) Kremer, A.E., Martens, J.J.W.W., Kulik, W., Ruéff, F., Kuiper, E.M.M., van Buuren, H.R., van Erpecum, K.L., Kon-drackine, J., Preieto, J., Rust, C., Geenes, V.L., Williamson, C., Moolenaar, W.H., Beuers, U., & Oude Elferink, R.P.J. (2011) *Gastroenterology*, 139, 1008–1018.
 - 64) Block, R.C., Duff, R., Lawrence, P., Kakinami, L., Brenna, J. T., Shearer, G.C., Meednu, N., Mousa, S., Friedman, A., Harris, W.S., Larson, M., & Georas, L.S. (2010) *Prostaglandins Leukotriens Essential Fatty Acids*, 82, 87–95.
 - 65) Xiao, Y.J., Schwartz, B., Washington, M., Kennedy, A., Webster, K., Belinson, J., & Xu, Y. (2001) *Anal. Biochem.*, 290, 302–313.
 - 66) Baker, D.L., Morrison, P., Miller, D.D., Riely, C.A., Tolley, B., Westermann, A.M., Bonfre, J.M.G., Bais, E., Moolenaar, W., & Tigyi, G. (2002) *JAMA*, 287, 3081–3082.
 - 67) Tokumura, A., Kume, T., Fukuzawa, K., Tahara, M., Tasaka, K., Aoki, J., Arai, H., Yasuda, K., & Kanzaki, H. (2007) *Life Sci.*, 80, 1641–1649.
 - 68) Nochi, H., Tomura, H., Tobo, M., Tanaka, N., Sato, K., Shinozaki, T., Kobayashi, T., Takagishi, K., Ohta, H., Okajima, F., & Tamoto, K. (2008) *J. Immunol.*, 181, 5111–5119.
 - 69) Song, H.Y., Lee, M.J., Kim, M.Y., Kim, K.H., Lee, I.H., Shin, S.H., Lee, J.S., & Kim, J.H. (2010) *Biochim. Biophys. Acta*, 1801, 23–30.
 - 70) Sturm, A., Zeeh, J., Sudermann, T., Rath, H., Gerken, G., & Dignasse, A.U. (2002) *Digestion*, 66, 23–29.
 - 71) Li, C., Dandridge, K.S., Di, A., Maars, K.L., Harris, E.L., Roy, K., Jackson, J.S., Makarova, N.V., Fujiwara, Y., Farrar, P.L., Nelson, D.J., Tigyi, G.J., & Naren, A.P. (2005) *J. Exp. Med.*, 202, 975–986.
 - 72) Lin F.-T. & Lai, Y.J. (2008) *Biochim. Biophys. Acta*, 1781, 558–562.
 - 73) Cha, B., Zhu, X.C., Chen, W., Jones, M., Ryoo, S., Zachos, N.C., Chen, T.E., Lin, R., Sarker, R., Kenworthy, A.K., Tse, M., Kovbasnjuk, O., & Donowitz, M. (2010) *J. Cell Sci.*, 123, 2434–2443.
 - 74) Singh, A.K., Riederer, B., Krabbenhöft, A., Rausch, B., Bonhagen, I., Lehmann, U., de Jong, H.R., Donowitz, M., Yun, C., Weinman, E.J., Kocher, O., Hogema, B.M., & Seidler, U. (2009) *J. Clin. Invest.*, 119, 540–550.
 - 75) Zhang, W., Penmatsa, H., Ren, Z., Punchihewa, C., Lemoff, A., Yan, B., Fujii, N., & Naren, A.P. (2011) *Biochem. J.*, in press.
 - 76) Nakane, S., Waku, K., Tokumura, A., & Sugiura, T. (2001) *Lipids*, 36, 413–419.
 - 77) Tanaka, T., Horiuchi, G., Matsuoka, M., Hirano, K., Tokumura, K., Koike, T., & Satouchi, K. (2009) *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 73, 1293–1300.
 - 78) Adachi, M., Horiuchi, G., Ikematsu, N., Tanaka, T., Terao, J., Satouchi, K., & Tokumura, A. (2011) *Dig. Dis. Sci.*, in press.
 - 79) Lin, S., Wang, D., Iyer, S., Ghaleb, A.M., Shim, H., Yang, V. W., Chun, J., & Yun, C.C. (2009) *Gastroenterology*, 136, 1711–1720.
 - 80) Kano, K., Arima, N., Ohgami, M., & Aoki, J. (2008) *Curr. Med. Chem.*, 15, 2122–2131.
 - 81) Tigyi, G. (2010) *Br. J. Pharmacol.*, 161, 241–270.
 - 82) Beck, H.P., Kohn, T., Rubenstein, S., Hedberg, C., Schwandner, R., Hasslinger, K., Dai, K., Li, C., Liang, L., Wesche, H., Frank, B., An, S., Wickramasinghe, D., Jaen, J., Medina, J., Hungate, R., & Shen, W. (2008) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 18, 1037–1041.
 - 83) Fells, J.I., Tsukahara, R., Fujiwara, Y., Liu, J., Perygin, D.H., Osborne, D.A., Tigyi, G., & Parill, A.L. (2008) *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 6207–6217.
 - 84) Swaney, J.S., Chapman, C., Correa, L.D., Stebbins, K.J., Bunday, R.A., Prodanovich, P.C., Fagan, P., Baccei, C.S., Santini, A.M., Hutchinson, J.H., Seiders, T.J., Parr, T.A., Prasit, P., Evans, J.F., & Lorrain, D.S. (2010) *Br. J. Pharmacol.*, 160, 1699–1713.
 - 85) Swany, J.S., Chapman, C., Correa, L.D., Stebbins, K.J., Broadhead, A.R., Bain, G., Santini, A.M., Darlington, J., King, C.D., Baccei, C.S., Lee, C., Parr, T.A., Roppe, J.R., Seiders, T.J., Ziff, J., Prasit, P., Hutchinson, J.H., Evans, J.F., & Lorrain, D.S. (2011) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 336, 693–700.
 - 86) Noguchi, K., Herr, D., Mutoh, T., & Chun, J. (2009) *Curr. Opin. Pharmacol.*, 9, 15–23.
 - 87) van Meeteren, L.A., Brinkmann, V., Saulnier-Blache, J.S., Lynch, K.R., & Moolenaar, W.H. (2008) *Cancer Lett.*, 266, 203–208.
 - 88) Parrill, A.L. & Baker, D.L. (2010) *Expert Opinion Ther. Patent.*, 20, 1619–1625.
 - 89) Xu, X., Yang, G., Zhang, H., & Prestwich, G.D. (2009) *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, 89, 140–146.
 - 90) Parrill, A.L., Echols, U., Nguuyen, T., Parm, T.T., Hoeglund, A.B., & Baker, D.L. (2010) *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 1784–1795.
 - 91) Ferry, G., Moulharat, N., Pradère, J.P., Desos, P., Try, A., Genton, A., Giganti, A., Beucher-Gaudin, M., Lonchampt, M., Bertrand, M., Saulnier-Blache, J.S., Tucker, G.C., Cordi, A., & Boutin, J.A. (2008) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 327, 809–819.
 - 92) Albers, H.M.H.G., van Meeteren, L.A., Egan, D.A., van Tilburg, E.W., Moolenaar, W.H., & Ovaa, H. (2010) *J. Med. Chem.*, 53, 4958–4967.
 - 93) Gierse, J., Thorarensen, A., Beltey, K., Bradshaw-Pierce, E., Cortes-Burgos, L., Hall, T., Johnston, A., Murphy, M., Nemirovsky, O., Ogawa, S., Pegg, L., Pelc, M., Prinsen, M., Schnute, M., Wendling, J., Wene, S., Weinberg, R., Wittwer, A., Zweifel, B., & Masferrer, J. (2010) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 334, 310–317.
 - 94) East, J.E., Kennedy, A.J., Tomsig, J.L., De Leon, A.R., Lynch, K.R., & MacDonald, T.L. (2010) *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 20, 7132–7136.
 - 95) Ueda, K., Yoshihara, M., Nakao, M., Tanaka, T., Sano, S., Fukuzawa, K., & Tokumura, A. (2010) *J. Agric. Food Chem.*, 58, 6053–6063.
 - 96) North, E.J., Osborne, D.A., Bridson, P.K., Baker, D.L., & Parrill, A.L. (2009) *Bioorg. Med. Chem.*, 17, 3433–3442.
 - 97) Vidot, S., Witham, J., Agarwal, R., Greenhough, S., Bamrah, H.S., Tigyi, G.J., Kaye, S.B., & Richardson, A. (2010) *Cell. Signal.*, 22, 926–935.

- 98) Zhang, H., Xu, X., Gajewiak, J., Tsukahara, R., Fujiwara, Y., Liu, J., Fells, J.I., Perygin, D., Parrill, A.L., Tigyi, G., & Prestwich, G.D. (2009) *Cancer Res.*, **69**, 5441–5449.
- 99) Xu, X., Yang G., Zhang, H., & Prestwich, G.D. (2009) *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **89**, 140–146.
- 100) David, M., Wanneq, E., Descotes, F., Jansen, S., Deux, B., Ribeiro, J., Serre, C.M., Grés, S., Bendriss-Vermare, N., Bollen, M., Saez, S., Aoki, J., Saulnier-Blache, J.S., Clézardin, P., & Peyruchaud, O. (2010) *Plos One*, **5**, e9741.
- 101) Hayashi, K., Takahashi, M., Nishida, W., Yoshida, K., Ohkawa, Y., Kitabatake, A., Aoki, J., Arai, H., & Sobue, K. (2001) *Circ. Res.*, **89**, 251–258.
- 102) Zhang, C., Baker, D.L., Yasuda, S., Makarova, N., Balazs, L., Johnson, L.R., Marathe, G.K., McIntyre, T.M., Xu, Y., Prestwich, G.D., Byun, H., Bittman, R., & Tigyi, G. (2004) *J. Exp. Med.*, **199**, 763–774.
- 103) Cheng, Y., Makarova, N., Tsukahara, R., Guo, H., Shuyu, E., Farrar, P., Balazs, L., Zhang, C., & Tigyi, G. (2009) *Cell. Signal.*, **12**, 1874–1884.
- 104) Panchatcharam, M., Miriyala, S., Yang, F., Rojas, M., End, C., Vallet, C., Dong, A., Lynch, K., Chun, J., Morris, A.J., & Smith, S.S. (2008) *Circ. Res.*, **103**, 662–670.
- 105) Subramanian, P., Karshovska, E., Reihard, P., Megens, R.T., Zhou, Z., Akhtar, S., Schumann, U., Li, X., van Zandvoort, M., Ludin, C., Weber, C., & Schober, A. (2010) *Circ. Res.*, **107**, 96–105.
- 106) Tokumura, A., Kanaya, Y., Kitahara, M., Miyake, M., Yoshioka, Y., & Fukuzawa, K. (2002) *J. Lipid Res.*, **43**, 307–315.
- 107) Bot, M., Bot, I., Lopez-Vales, R., van de Lest, C.H., Saulnier-Blache, J.S., Helms, J.B., David, S., van Berkel, T.J.C., & Biessen, E.A.L. (2010) *Am. J. Pathol.*, **176**, 3073–3084.
- 108) Llodré, J., Angeli, V., Liu, J., Trogan, E., Fisher, E.A., & Randolph, G.J. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 11779–11784.
- 109) Pradère, J.P., Gonzalez, J., Klein, J., Valet, P., Gres, S., Salant, D., Bascands, J.P., Saulnier-Blache, S.J., & Schanstra, J.P. (2008) *Biochim. Biophys. Acta*, **1781**, 582–587.
- 110) Tager, A.M., LaCamera, P., Shea, B.S., Campanella, G.S., Selman, M., Zhao, Z., Polosukhin, V., Wain, J., Karimi-Shah, B.K., Kim, N.D., Hart, W.K., Pardo, A., Blackwell, T.S., Xu, Y., Chun, J., & Luster, A.D. (2008) *Nat. Med.*, **14**, 45–54.
- 111) Yin, Z., Carbone, L.D., Gotoh, M., Postlethwaite, A., Bolen, A.L., Tigyi, G.J., Murakami-Murofushi, K., & Watsky, M.A. (2010) *Rheumatology (Oxford)*, **49**, 2290–2297.
- 112) Castellino, F.V., Seiders, J., Bain, G., Brooks, S.F., King, C. D., Swaney, J.S., Lorrain, D.S., Chun, J., Luster, A.D., & Tager, A.M. (2011) *Arthritis Rheum.*, **63**, 1405–1415.
- 113) Murakami-Murofushi, K., Uchiyama, Y., Fujiwara, Y., Kobayashi, T., Kobayashi, M., Mukai, H., Murofushi, H., & Tigyi, G. (2002) *Biochim. Biophys. Acta*, **1582**, 1–7.
- 114) Fujiwara, Y. (2008) *Biochim. Biophys. Acta*, **1781**, 519–524.
- 115) Xu, Y., Shen, Z., Wiper, D.W., Wu, M., Morton, R.E., Elson, P., Kennedy, A.W., Belinson, J., Markman, M., & Casey, G. (1988) *JAMA*, **280**, 719–723.
- 116) Sasagawa, T., Okita, M., Murakami, J., Kato, T., & Watanabe, A. (1999) *Lipids*, **34**, 17–21.
- 117) Watanabe, N., Ikeda, H., Nakamura, K., Ohkawa, R., Kume, Y., Aoki, L., Hama, K., Okudaira, S., Tanaka, M., Tomiya, T., Yanase, M., Tejima, K., Nishikawa, T., Arai, H., Omata, M., Fujiwara, K., & Yatomi, Y. (2007) *J. Clin. Gastroenterol.*, **41**, 616–623.
- 118) Pozlep, B., Meleh, M., Kobal, B., Verdenik, I., Osredkar, J., Kralj, L.Z., & Meden-Vrtovec, H. (2008) *Eur. J. Gynecol. Obstet.*, **28**, 394–399.
- 119) Li, Z-G., Yu, Z-C, Wang, D-Z., Ju, W-P., Zhan, X., Wu, Q-Z., Wu, X-J., Cong, H-M., & Man, H-H. (2008) *Neurol. Res.*, **30**, 366–369.
- 120) Tokumura, A., Carbone, L.D., Yoshioka, Y., Morishige, J., Kikuchi, M., Postlethwaite, A., & Watsky, M.A. (2009) *Int. J. Med. Sci.*, **6**, 168–176.
- 121) Masuda, A., Nakamura, K., Izutsu, K., Igarashi, K., Ohkawa, R., Jona, M., Higashi, K., Yokota, H., Okudaira, S., Kishimoto, T., Watanabe, T., Koike, Y., Ikeda, H., Kozai, Y., Kurokawa, M., Aoki, J., & Yatomi, Y. (2008) *Br. J. Haematol.*, **143**, 60–70.
- 122) Cooper, A.B., Wu, J., Lu, D., & Maluccio, M.A. (2007) *J. Gastroenterol. Surg.*, **11**, 1628–1634.
- 123) Georas, S.N., Berdyshev, E., Hubbard, W., Gorshokova, I.A., Usatyuk, P.V., Saatian, B., Myers, A.C., Williams, M.A., Xiao, H.Q., Liu, M., & Natarajan, V. (2007) *Clin. Exp. Allergy*, **37**, 311–322.
- 124) Mazereeuw-Hautier, J., Gres, S., Fanguin, M., Cariven, C., Fauvel, J., Perret, B., Chap, H., Salles, J-P., & Saulnier-Blache, J.S. (2005) *J. Invest. Dermatol.*, **125**, 421–427.
- 125) Tokumura, A., Miyake, M., Nishioka, Y., Yamano, S., Aono, T., & Fukuzawa, K. (1999) *Biol. Reprod.*, **61**, 195–199.