

# 新規リゾリン脂質アシル転移酵素群の発見と解析

進藤 英雄

細胞は脂質二重膜である生体膜で外界と内部を隔てている。この膜の形成によって生命は多様に進化してきたと考えられている。生体膜はリン脂質の「海」であり、その中に動く島のようなタンパク質分子などが存在し、細胞や環境に応じて多種多様である。リン脂質の多様性を形成する生合成経路は1950年代に提唱され、50年以上を経た現在になりようやく最終ステップの酵素遺伝子群、リゾリン脂質アシル転移酵素が発見された。複数のリゾリン脂質アシル転移酵素が様々な基質特異性や発現分布を示し、実際の膜組成に特徴をつけているようである。近年、生体膜生合成研究は分子同定から生物学的解析へと飛躍的に進みつつある。

## 1. はじめに

すべての生物は細胞からなり、それは生体膜で囲まれている。この膜は内容物の拡散を防ぎ、電位差を生み出す壁としての単純な役割だけでなく、シグナル分子産生、シグナルの授受、形態、膜の柔らかさなど多様な細胞機能へ影響している。この生体膜は2種類の非対称性を持っている。一つは膜の内側と外側を構成するグリセロリン脂質の非対称性分布である。細胞膜外側には、ホスファチジルコリン(PC)、スフィンゴミエリンなどが多く、内側にはホスファチジルエタノールアミン(PE)、ホスファチジルセリン(PS)が多い。細胞内(主に小胞体)で作られたグリセロリン脂質はランダムに配置しているが、その後、行き先である膜に到達するとフリッパーゼやフロッパーゼにより特定の脂質が反転し非対称性分布を示す。他にもグリセロリン脂質にはホスファチジン酸(PA)、ホスファチジルグリセロール(PG)、ホスファチジルイノシトール(PI)、カルジオリピン(CL)など数種類が存在し、様々な組織

分布や細胞内局在を示す<sup>1,2)</sup>。もう一つの非対称性はこれらグリセロリン脂質の脂肪酸組成にある。グリセロール骨格のsn-1位には主に飽和脂肪酸あるいは単価不飽和脂肪酸(オレイン酸など)、sn-2位には多価不飽和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)がエステル結合している。これらの脂肪酸種は炭素数や不飽和結合数などの違いから数多くある。また、sn-1位とsn-2位の組み合わせや、sn-3位の極性基の違いなどから約1000種類のグリセロリン脂質が存在している(図1)<sup>1,2)</sup>。これらは、それぞれの組織に特徴的に組み合わせたり、膜の柔軟性や生理活性脂質産生、そして細胞機能に大きく関与している。

## 2. 生合成経路

### 2-1. グリセロリン脂質生合成

生体膜グリセロリン脂質は恒常的に生合成され続ける必要がある。また、細胞が何らかの刺激を受けることによって生じる膜リン脂質組成の変化、酸化など傷害を受けた脂肪酸の修復、さらには生理活性脂質の貯蔵、産生など、代謝は厳密にコントロールされている。1950年代にグリセロリン脂質生合成について2種類の経路が報告された。まずはケネディー経路<sup>3)</sup>と言われる*de novo*合成系であり、解糖系で得られるグリセロール3-リン酸(G3P)から合成される。G3PはG3Pアシル転移酵素(GPAT)によってリゾPA(LPA)に変換され、続いてLPAアシル転移酵素(LPAAT)によりPAになる<sup>4)</sup>。PAはジアシルグリセロール(DAG)またはCDP-DAGへと変わる。DAGからはPC、

東京大学大学院医学系研究科細胞情報(〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1)

Discovery and characterization of novel lysophospholipid acyltransferases

Hideo Shindou (Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Medicine, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan)

本総説の一部は2009年度奨励賞を受賞した

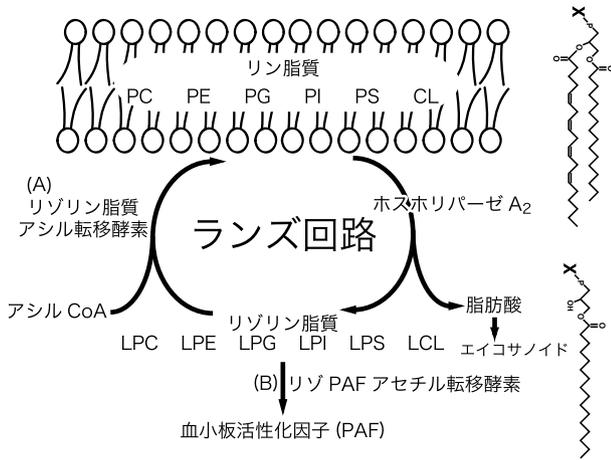


図1 ランズ回路

リン脂質の多様性は50年前に報告されたランズ回路のリゾリン脂質アシル転移酵素群で形成される (A)。また、似た反応でリゾ PAF アセチル転移酵素によって PAF が作られる (B)。右上がグリセロリン脂質、右下がリゾリン脂質。Xによって、ホスファチジルコリン (PC)、-エタノールアミン (PE)、-グリセロール (PG)、-イノシトール (PI)、-セリン (PS) と CL；カルジオリピンが存在する。リゾリン脂質のLは脂肪酸が一つ無く、代わりに水酸基 (リゾ) があることを表す。

PE, PS または トリアシルグリセロール (TAG) が, CDP-DAG から は PL, PG, CL が 合成される (図2)。しかし, この経路だけでは PA を 除く グリセロリン脂質の sn-2 位の脂肪酸は 入れ替わることなく一定であるため, 全ての生体膜グリセロリン脂質の脂肪酸組成の多様性や非対称性を説明できない。つまり, グリセロリン脂質の脂肪酸組成に違いを作りにくくなる。そこで, もう一つのランズ回路 (リモデリング経路) の存在が発表された<sup>9)</sup>。この回路では, ケネディー経路だけでは生合成しにくかった sn-2 位に PUFA を持つグリセロリン脂質を生合成できる。ケネディー経路で作られたグリセロリン脂質の sn-2 位の脂肪酸は, ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) によって切断され, リゾリン脂質になる<sup>6)</sup>。PC であればリゾ PC (LPC) である。次にアシル転移酵素 (AT; この場合 LPCAT) によって LPC に脂肪酸が再結合し PC になる (図1, 2)。LPCAT はアシル CoA の脂肪酸を LPC に結合させる活性を持つため, アシル CoA に対する基質特異性によって sn-2 位に様々な脂肪酸が結合した PC が生合成されることになる<sup>1,7,8)</sup>。細胞内で基質として供給されるアシル CoA の脂肪酸種によ

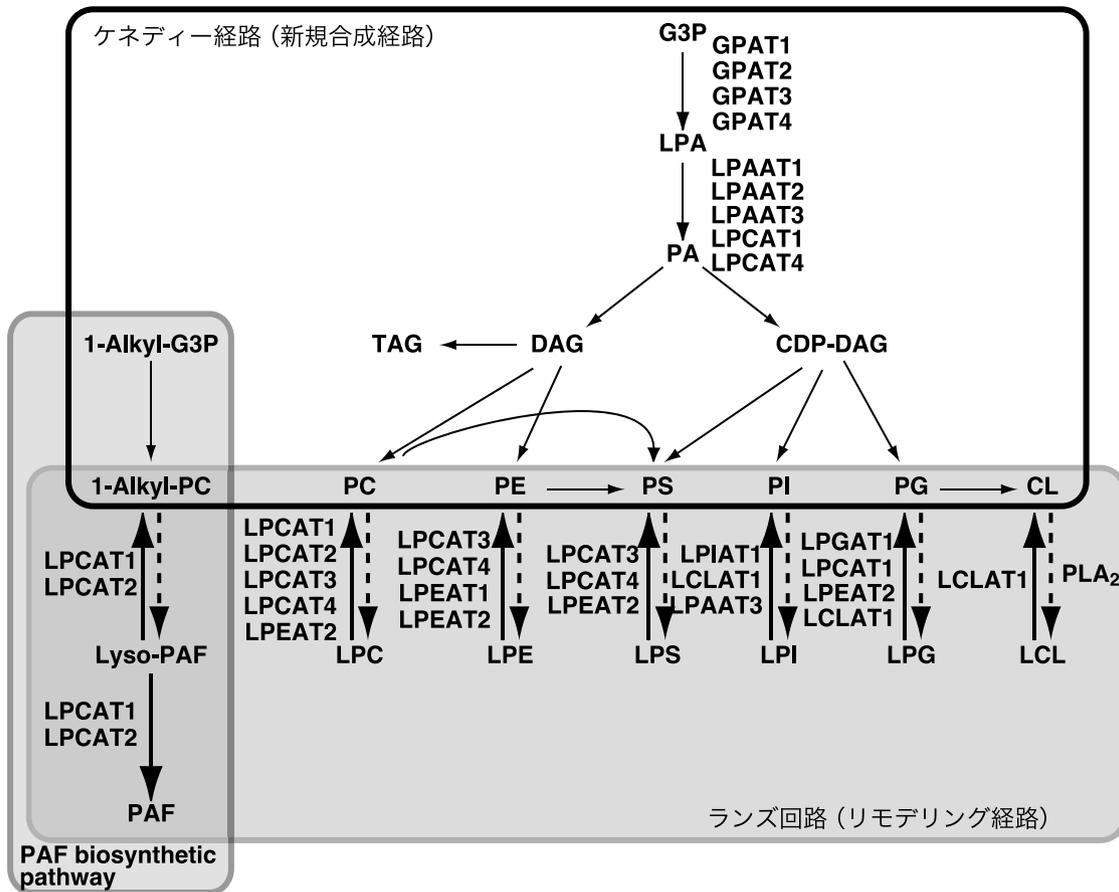


図2 グリセロリン脂質代謝合成経路

*in vitro* の活性に基づいて酵素を表記した。破線矢印は PLA<sub>2</sub>。他にも未知の酵素が存在するだろう。一つの酵素が複数の活性を持つ。J. Biol. Chem. 284 (2009) 1-5 を改変。

でも合成されるグリセロリン脂質に違いが生じるであろう。

2-2. 血小板活性化因子 (platelet-activating factor, PAF) 生合成

上記のグリセロリン脂質には強力な生理活性を持つ PAF も含まれる<sup>9)</sup>。PAF は定常時にはほとんど検出されず、細胞が刺激を受けたときに急激に産生が誘導される<sup>10,11)</sup>。G タンパク質共役受容体である PAF 受容体 (PAFR) を介してシグナルを伝え、血小板凝集だけでなく、白血球遊走、血管透過性亢進、血圧低下等様々な作用を及ぼす<sup>10)</sup>。主に炎症系の細胞で産生され、非常に低濃度 (nM オーダー) で働く。PAF はその構造から PC のグループに属し、sn-1 位はエーテル結合した主に C16 や C18 の脂肪酸、sn-2 位はアセチル基そして sn-3 位はホスホコリンである。特に sn-2 位のアセチル基が活性に重要である。PAF の生合成経路は *de novo* 経路とリモデリング経路と呼ばれる 2 種類が存在するが、急性炎症時の生合成ルートはリモデリング経路であると考えられている<sup>9)</sup>。この時、PLA<sub>2</sub> によってアルキル PC (sn-1 位がエーテル結合) からリゾ PAF ができ、続いてリゾ PAF アセチル転移酵素 (lysoPAFAT) によって PAF に変換される。リゾ PAF は sn-1

位がエーテル結合している LPC である。lysoPAFAT は上述のリゾリン脂質アシル転移酵素のグループに属し、炎症時の PAF 生合成の最終ステップを担っている (図 1, 2)<sup>12)</sup>。

PAF の生合成は、リゾリン脂質アシル転移酵素である LPCAT によっても調節されていると考えられる。sn-2 位にアラキドン酸を持つアルキル PC を増やせば、PLA<sub>2</sub> (この場合細胞質型 PLA<sub>2</sub>, cPLA<sub>2</sub>) の良い基質となり、lysoPAF が増え、lysoPAFAT が PAF へと変換する。一方のアラキドン酸はロイコトリエンやプロスタグランジンなどの前駆体として働く<sup>6)</sup>。つまり、LPCAT は、アラキドン酸を PC に蓄えることによって、生理活性脂質であるエイコサノイドと PAF の前駆物質を貯蔵する役割も果たしている。

3. グリセロリン脂質生合成の歴史

3-1. リゾリン脂質アシル転移酵素の歴史

生体膜の研究は古く、19 世紀後半には膜の脂質性について発表されている。そして、1956 年にグリセロリン脂質生合成経路についてケネディー経路 (*de novo* 経路)<sup>3)</sup>、続いて 1958 年にランズ回路 (リモデリング経路)<sup>5)</sup> が提唱された (図 3)。これらの発表で複雑なグリセロリン脂質の生合成経路が説明できるようになった。ランズ回路に直接関与する酵素 2 種類のうち PLA<sub>2</sub> は水溶性タンパク質と

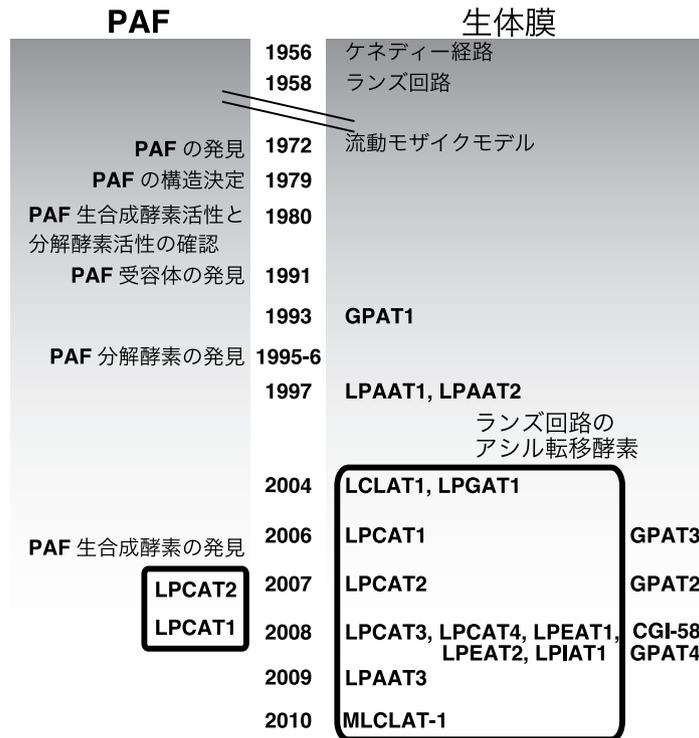


図 3 生体膜研究の歴史  
生体膜グリセロリン脂質研究 (右) と PAF 研究 (左) の歴史。ランズ回路の概念や、PAF 生合成活性 (lysoPAFAT 活性) は既に数十年前から報告されていた。生体膜研究の歴史は長いことがわかる。

ということもあり、解析が進み現在複数のグループから多くの遺伝子が報告されている<sup>6,13)</sup>。一方のリゾリン脂質アシル転移酵素は膜タンパク質ということもあり、多くの研究者が精製を試みたが同定が困難であった。1972年には Singer, S.J. と Nicolson, G.L. によって流動モザイクモデルが提唱され<sup>14)</sup>、生体膜はグリセロリン脂質の「海」であり、そこを様々なタンパク質が漂っている、と考えられるようになったが、それらを形成するランズ回路のリゾリン脂質アシル転移酵素は未同定であった。ケネディー経路のアシル転移酵素 (GPAT と LPAAT) は少し早く1993年と1997年にそれぞれ発表された。そして、ランズ回路の酵素としては2004年にリゾPGAT1 (LPGAT1) とリゾCLAT (LCLAT1) が同じグループから報告され<sup>15,16)</sup>、我々を含む複数のグループが次々と発見し現在11種類報告されている。我々はこのうちLPCAT1, LPCAT2, LPCAT3, LPCAT4, リゾPEAT1 (LPEAT1), LPAAT3<sup>17~20)</sup>の6種類の同定に成功している。他にはリゾPIAT1 (LPIAT1) やLPEAT2がある (表)<sup>21,22)</sup>。これらの研究はゲノムデータベースの充実により爆発的に進んだと考えられる。また、これらは大きく分けて2種類のファミリーを形成している。一つはケネディー経路の酵素群も属しているAGPAT (1-acylglycerol-

3-phosphate *O*-acyltransferase) ファミリーで、当初はここからランズ回路の酵素が見つかったが、後に我々は新しくMBOAT (membrane bound *O*-acyltransferase) ファミリーにリゾリン脂質アシル転移酵素が存在することを発見し、生化学的性質が異なる様々な分子がそろい始めた。さらに、近年これらのファミリー以外からモノリゾCLAT (MLCLAT-1) や水溶性LPAAT酵素 (CGI-58) が新しく報告された<sup>23,24)</sup>。

### 3-2. PAF 合成の歴史

1972年にPAFはウサギ好塩基球由来の血小板凝集因子として発見された (図3)<sup>25)</sup>。その後、1991年に本研究室では7回膜貫通型受容体であるPAFRのクローニングに成功し、PAFの作用はこの受容体を介して惹起されることがわかった<sup>26)</sup>。続いて、1995-6年にPAF分解酵素は東大薬学部<sup>27)</sup>と米国<sup>28)</sup>のグループによって別々に同定された。そしてPAF合成酵素のlysoPAFATは我々が2007年と2008年になりようやく同定に成功した<sup>18,29)</sup>。1980年にlysoPAFATの存在が確認<sup>12)</sup>されて以来30年弱を経ていた。lysoPAFATも上記のリゾリン脂質アシル転移酵素同様に膜タンパク質であったため、組織からの精製は活性の維持

表 様々なアシル転移酵素名

経路	ファミリー	名称	他の名称	活性	マウス	ヒト			
ケネディー 経路	AGPAT	<b>GPAT1</b>	GPAT1		GPAT	NP_032175	NP_065969		
		<b>GPAT2</b>	GPAT2	xGPAT1	GPAT	NP_001074558	NP_997211		
		<b>GPAT3</b>	GPAT3	AGPAT8	AGPAT9	LPAATθ	GPAT	NP_766303	NP_116106
		<b>GPAT4</b>		AGPAT6	LPAATζ	GPAT	NP_061213	NP_848934	
		<b>LPAAT1</b>		AGPAT1	LPAATα	LPAAT	NP_061350	AAB96378	
		<b>LPAAT2</b>		AGPAT2	LPAATβ	LPAAT	NP_080488	AAC51649	
		<b>CGI-58</b>	Abhd5			LPAAT	NP_080455	NP_057090	
ランズ 回路	AGPAT	<b>LPGAT1</b>	LPGAT1		LPGAT	NP_758470	NP_055688		
		<b>LCLAT1</b>	ALCAT	AGPAT8	LCLAT	Q3UN02	NP_001074540		
		<b>LPCAT1</b>	LPCAT1	AGPAT9	AT like 2	LPIAT			
					LPGAT				
					LPCAT	BAE94687	BAE94688		
					lyso-PAFAT				
					LPAAT				
		<b>LPCAT2</b>	LysoPAFAT/LPCAT2		AT like 1	LPGAT			
					LPCAT	BAF47695	BAF47696		
					lyso-PAFAT				
		<b>LPEAT2</b>	LPEAT2	AGPAT7	LPAATη	AT like 3	LPEAT	NP_997089	NP_705841
		<b>LPAAT3</b>		AGPAT3	LPAATγ	LPIAT	NP_443747	NP_001032642	
						LPAAT			
				AGPAT4	LPAATδ	unknown	NP_080920	NP_064518	
		AGPAT5	LPAATε	unknown	NP_081068	NP_060831			
				AT Like 1B	unknown	NP_081875			
	<b>MBOAT</b>	<b>LPCAT3</b>	LPCAT3	MBOAT5	LPCAT	BAG12120	NP_005759		
		<b>LPCAT4</b>	LPCAT4	MBOAT2	LPEAT				
					LPSAT				
					LPCAT	BAG12122	NP_620154		
					LPEAT				
		<b>LPEAT1</b>	LPEAT1	MBOAT1	LPAAT				
					LPEAT	BAG12121	NP_001073949		
					LPSAT				
		<b>LPIAT1</b>	MBOA-7	MBOAT7	LPIAT	NP_084210	ABV66273		
		<b>MLCLAT-1</b>			LCLAT				

が非常に困難であり成し遂げられなかった。筆者自身もブタ脾臓からの精製を試みていたが、可溶化後もかろうじて維持できていた活性は、分離のためのカラムクロマトグラフィーを行うたびに減少し、同定には至らなかった。

*lysoPAFAT* 遺伝子同定以前でも、強力な活性を持つ炎症性メディエーター PAF の生合成酵素ということもあり、活性調節の研究は盛んであった。白血球などの膜画分を用いた研究で、*lysoPAFAT* は細胞外からの様々な刺激によって活性化されることが報告されている。細菌内毒素リポ多糖、低 pH によるプロトン刺激、また PAF そのものによっても活性化される<sup>30-32</sup>。例えば、マウスチオグリコレート誘導マクロファージをリポ多糖または PAF で刺激すると、前者では p38 MAP キナーゼ依存的に約 30 分で、後者では 30 秒程度で活性化された<sup>30</sup>。一部は後に同定した *lysoPAFAT* である LPCAT2 の特徴で説明できる現象であった。

#### 4. モチーフ

##### 4-1. AGPAT モチーフ

GPAT1 や LPAAT1 を用いたミュータント解析により AGPAT モチーフが詳細に検討された<sup>33,34</sup>。AGPAT ファミリーメンバーには、4 種類のモチーフが高い相同性を持ち保存されている (図 4)。我々も LPCAT1 の AGPAT モチーフ解析を詳細に行い、モチーフ 2 がアシル CoA との結合に重要であると推測できた<sup>29</sup>。また、トポロジーを検討した報告では、LPAAT1 はモチーフ 1 が細胞質側、モチーフ 2 と 4 は膜内、モチーフ 3 は小胞体内腔にあると推測されている<sup>34</sup>。

##### 4-2. MBOAT モチーフ

MBOAT モチーフは AGPAT モチーフとは全く異なる。配列から相同性の高い領域は予測されていた。また、ヒト LPIAT1 の His350 は、このファミリーに保存されており、Ala に置換すると酵素活性が無くなると報告されていた<sup>21</sup>。

### AGPAT モチーフ



### MBOAT モチーフ



図 4 モチーフ

AGPAT ファミリーと MBOAT ファミリーアシル転移酵素活性に必要なモチーフ。これらはアミノ酸点変異解析を中心に解析された。今後の結晶構造解明によって、より詳細な情報が明らかになるであろう。

我々は LPCAT3 を用いて詳細に検討した結果、モチーフ A, B, C, D の四つを同定した (図 4)<sup>35</sup>。また、この中でモチーフ B はタンパク質 O-アシル転移酵素であるグレリン O-アシル転移酵素 (GOAT)<sup>36</sup> にも保存されていたが、他の三つは保存されていない。つまり、モチーフ A, C, D はリゾリン脂質との反応に重要な部位かもしれない<sup>35</sup>。AGPAT モチーフでも同様であるが、あくまでも一次配列から変異体解析を行った予測であって、結晶構造が解析されれば詳細が明らかになるであろう。

#### 5. ケネディー経路のアシル転移酵素：GPAT1-4 と LPAAT1-3；AGPAT ファミリー

まず、ケネディー経路のアシル転移酵素について簡単に述べる。これまで、GPAT は 4 種類、LPAAT は 3 種類同定されている。いずれも AGPAT ファミリーメンバーで、AGPAT モチーフを持つ。酵素名は複雑なので表にまとめた。

GPAT が G3P を LPA に、続いて LPA は LPAAT によって PA に変換される。通常、膜リン脂質の生合成は小胞体で行われるが、GPAT1 と GPAT2 はミトコンドリア膜に、GPAT3 と GPAT4 は小胞体膜に存在するため、それぞれミトコンドリア型 GPAT とマイクロソーム型 GPAT とも呼ばれている<sup>37-41</sup>。GPAT1 と GPAT2 は基質として調べられている範囲では、16:0-CoA を好むが、GPAT3 と GPAT4 は広範囲 (12:0-CoA~18:2-CoA) を認識する。細胞内 GPAT 活性において、マイクロソーム型の割合がミトコンドリア型よりも大きい<sup>41</sup>。2010 年に GPAT3 と GPAT4 はインスリン刺激によってリン酸化されると報告された<sup>42</sup>。

1997 年ヒト *LPAAT1* (従来 *AGPAT1* または *LPAATα*) と *LPAAT2* (*AGPAT2* または *LPAATβ*) は酵母や大腸菌やココナッツの AGPAT 相同遺伝子としてクローニングされた<sup>43-46</sup>。共に広範囲なアシル CoA を認識できるが、*LPAAT1* は 16:0-CoA や 18:2-CoA を好み、*LPAAT2* は 20:4-CoA も認識できる。これらの酵素がケネディー経路で *sn-2* 位に主に飽和脂肪酸や単価不飽和脂肪酸をエステル結合させる。しかし、この経路でも 20:4-CoA を用いてアラキドン酸を *sn-2* に位結合させることもできる。特に 3 番目の *LPAAT* として 2009 年に同定された *LPAAT3* は 20:4-CoA に対して高い特性を示した<sup>20</sup>。*LPAAT3* はランズ回路で働く *LPIAT* 活性も持つ。*LPAAT3* mRNA は主に精巣に発現し、週齢依存的に誘導される。実際に 20:4-CoA を基質とした *LPAAT* 活性も精巣の膜画分で同様に上昇する。性成熟など、何らかの精巣機能に関係するのかもしれない。また、別のグループは *LPAAT3* はゴルジに局在し、ゴルジ形成を調節していると発表した<sup>47</sup>。これまでアシル転移酵素の研究は生化学的な解析が中心であったが、実際に細胞内において機能していることを示す興味深

いデータであった。これらの他にも LPCAT1 と LPCAT4 が LPAAT 活性を持つと報告されているが、ランズ回路で働くアシル転移活性が強いため後に述べる。また、AGPAT ファミリーには相同性の高い機能未知の遺伝子 *AGPAT4* (*LPAATδ*), *AGPAT5* (*LPAATε*), *AT like 1B* が存在する。AGPAT4 と AGPAT5 は LPAAT 活性を持つと報告されているが、非常に弱いため、今後さらに慎重な解析が必要であろう。また、*AT like 1B* はマウスにあるが、ヒトには無い遺伝子である。この酵素も機能未同定である。これらがケネディー経路の酵素またはランズ回路の酵素として働くのかどうか、さらに詳細な基質特異性などがわかれば、生体膜形成メカニズムの解明がさらに前進するであろう。

組織や *sn*-3 位の極性基によって異なるグリセロリン脂質の脂肪酸組成はこれらのケネディー経路の酵素だけでは説明できず、続くランズ回路が必要となる。

## 6. ランズ回路のアシル転移酵素

### 6-1. LCLAT1 ; AGPAT ファミリー

CL は二つのグリセロール骨格と四つの脂肪酸（主にリノール酸, C18:2) を持つリン脂質である。CL を生合成する *LCLAT1* (別名 *ALCAT1*) はリモデリング経路のアシル転移酵素として初めてクローニングされた酵素である<sup>15)</sup>。心臓と肝臓を中心に広範囲に発現し、18:1-CoA や 18:2-CoA を基質として好む。マウス *LCLAT1* は AGPAT モチーフと小胞体に局在させる KKXX モチーフを C 末端に持ち、培養細胞に過剰発現させると小胞体に局在した。しかし、CL はミトコンドリアに多いリン脂質である。CL はミトコンドリアに存在する CL 合成酵素によって、まず *de novo* 経路で合成され、その後、リモデリング経路で *LCLAT* 酵素の働きによって CL の多様性が形成される。*LCLAT1* が小胞体に存在することから、どのように CL がミトコンドリアと小胞体を行き来するのか？ミトコンドリアに別の本当の *LCLAT* 酵素が存在するのか？が今後の課題である。その後、別のグループから *LCLAT1* は *LCLAT* 活性だけでなく *LPIAT* 活性と *LPGAT* 活性を持つことが報告された<sup>48,49)</sup>。上述の局在と合わせて考えると、*in vitro* では CL を合成できるが、細胞内では PI や PG 合成への寄与が大きいのかかもしれない。

### 6-2. LPGAT1 ; AGPAT ファミリー

ランズ回路では LPG から LPGAT によって PG に変換される。PG は CL の前駆体であり、プロテインキナーゼ CβII などのプロテインキナーゼ C ファミリーの活性化因子としても働く。酵素活性から発見者によって *LPGAT1* と名付けられた<sup>16)</sup>。LPGAT1 も AGPAT モチーフや KKXX モチーフを持つ。ヒト *LPGAT1* は広範囲の組織に分布し

ていた。また、16:0-CoA, 18:0-CoA, 18:1-CoA を基質として好み、生体内 PG の脂肪酸組成とある程度合致する。

2004 年に報告された *LCLAT1* と *LPGAT1* の発見以降、ランズ回路におけるリゾリン脂質アシル転移酵素が次々と同定された。

### 6-3. LPCAT1 ; AGPAT ファミリー

PC を合成する LPCAT を我々とアメリカのグループが 2006 年に別々に同定した<sup>17,50)</sup>。AGPAT ファミリーに保存された領域を鋳型にデータベース情報から候補遺伝子を探し、LPCAT 活性を持つ遺伝子を見つけたため *LPCAT1* と名付けた。この酵素も AGPAT モチーフと KKXX モチーフを持ち、小胞体に局在した。*LPCAT1* は肺の中でも特に II 型肺胞上皮細胞に強く発現していた。近年、網膜にも高い発現が確認されている<sup>51)</sup>。生化学的解析により、中鎖飽和脂肪酸-CoA (16:0-CoA など) を好み、グリセロール骨格の *sn*-1 位も *sn*-2 位も飽和脂肪酸である PC (di-saturated PC) を合成することがわかった。通常、生体膜の *sn*-2 位は不飽和脂肪酸が多いが、例外として II 型肺胞上皮細胞が分泌する肺サーファクタントは主成分が di-saturated PC であり、中でも *sn*-1 位も *sn*-2 位もパルミチン酸 (16:0) である di-palmitoyl PC が多い。

肺サーファクタントの約 80% はリン脂質でありタンパク質の複合体を形成し、肺胞上皮の換気能の維持とともに、外敵からの生体防御に重要な物質である<sup>52)</sup>。II 型肺胞上皮細胞が分泌し、細胞内ではラメラ小体に貯蔵されている。PC や PG などの分子種が多く、そのほとんどが di-saturated PC である。肺サーファクタントは、肺胞の表面張力を抑え肺胞を円滑に動かすために必須であるため、これが無くなると呼吸ができなくなる。未熟児に起こる胎児性呼吸窮迫症候群 (infant respiratory distress syndrome, IRDS) は、出生前に肺機能 (サーファクタント合成) の準備が間に合わないことが原因となる。成人に起こる急性呼吸窮迫症候群 (adult respiratory distress syndrome, ARDS) などでも肺サーファクタント産生あるいは機能異常が関係していると考えられている。この他にも、呼吸機能が低下する疾患にはサーファクタント量や質の変化が疑われている。また、主成分が di-saturated PC であることは、酸素に触れやすい肺胞内に分泌される肺サーファクタントが酸化されにくいというメリットがある。肺サーファクタントには di-saturated PC より少ないが、di-saturated PG や *sn*-2 位にリノール酸 (18:2) またはリノレン酸 (18:3) を含む PC や PG も少し存在する。実際に *LPCAT1* は *LPGAT* 活性も持ち di-saturated PG も合成できる。さらに基質として 18:2-CoA や 18:3-CoA も認識できた。以上の生化学的特徴から、ランズ回路では *LPCAT1* が肺サーファクタン

ト脂質のほとんどを生合成できるようである。勿論、他の酵素が関与している可能性もある。これまで、サーファクタントタンパク質（サーファクタントプロテイン A, B, C, D 等）の研究は進んでいたが、主成分である肺サーファクタント脂質の合成に関する知見がほとんど無かった。今後、LPCAT1 が肺サーファクタント研究に貢献できるであろう。

さらに *LPCAT1* 遺伝子は胎生末期に II 型肺胞上皮細胞で発現誘導され、出生直後にピークを迎える。これはサーファクタントタンパク質と同じような誘導であり、肺呼吸の準備をしているようにも思える。さらに、データベースを利用して多くの動物種における *LPCAT1* の保存性を調べると、肺と *LPCAT1* の進化は同調しているようである<sup>53</sup>。以上のことから *LPCAT1* は肺サーファクタント脂質生合成酵素であると推測できる。しかし、これらのことはまだ間接的な証拠にすぎず、直接的な証拠はまだ一つもない。今後、siRNA 導入実験やノックアウトマウスの作製により、*LPCAT1* のサーファクタント量や質の変化、呼吸機能への影響などを調べる必要がある。また、合成されたサーファクタント脂質がどのようにしてラメラ小体に運ばれ、肺胞内へ放出されるかなど、興味深い謎が多く残っている。

#### 6-4. *LPCAT2* ; *AGPAT* ファミリー

*LPCAT1* と同様に、機能未知のアシル転移酵素候補遺伝子として *AGPAT* ファミリーから *LPCAT2* が見つかった<sup>18</sup>。*LPCAT2* は血小板活性化因子 (platelet-activating factor, PAF) をリモデリング経路で生合成するリゾ PAF アセチル転移酵素活性 (lyso-PAF acetyltransferase, lysoPAFAT) と *LPCAT* 活性を持っていた。そのため、当初は LysoPAFAT/*LPCAT2* と名付けていたが、後に他の酵素名に倣って *LPCAT2* と改名した。

同定した *LPCAT2* は *AGPAT* モチーフと C 末端には KKXX モチーフを持つ。マウス *LPCAT2* は主に、マクロファージ、好中球に強く発現し、続いて脾臓、皮膚、大腸にも発現していた。*in vitro* の酵素活性を調べると *LPCAT2* は PAF 生合成活性を示した。つまり、リゾ PAF (アルキル LPC) にアセチル CoA からアセチル基を転移する活性 (リゾ PAF アセチル転移酵素活性) である。酵素反応産物を PAF 受容体結合実験や質量分析計を用いて検証し、生理活性を持つ PAF を生合成できることを確認した。また、酵素活性の強い HEK293 細胞に *LPCAT2* の siRNA を導入すると、mRNA 量の減少と相関してリゾ PAF アセチル転移酵素活性が減少した。以上のことから、*LPCAT2* は PAF 生合成活性を持ち、生体内でリゾ PAF アセチル転移酵素として機能していることが示された。

前述のように、アルキル PC からアラキドン酸が PLA<sub>2</sub>

によって切り出されてリゾ PAF (アルキル LPC) ができ、そこへリゾ PAF アセチル転移酵素によってアセチル基が転移し PAF になる。驚くべきことに、*LPCAT2* は、リゾ PAF からその前駆物質であるアルキル PC を合成する活性 (*LPCAT* 活性) も示した (図 2; PAF 生合成経路)。一つの酵素が PAF とその前駆物質であるアルキル PC をリゾ PAF から双方向に生合成できることになる。これら双方向の活性はどのように制御され、どのようなメリットがあるのだろうか? 以下は推測になるが、2 種類の活性を持つメリットは、sn-2 位にアラキドン酸を持つ PC の貯蔵が考えられる。そのおかげで炎症時には PLA<sub>2</sub> が働きリゾ PAF ができやすくなり、PAF 産生にもつながる。しかし、現在の所、二つの活性調節については詳細に解明されていない。

これまで、マクロファージをリポ多糖で 30 分間刺激するとリゾ PAF アセチル転移活性が上昇することが報告されていた<sup>30</sup>。*LPCAT2* 同定後、同様の実験を行うとこれまでの内在性酵素のデータと同じく活性化された。p38 MAP キナーゼの阻害剤で活性化を抑制できることから、その下流で何らかの調節を受けているのであろうと推測できる。

*LPCAT2* はマウスチオグリコレート誘導マクロファージにおいて発現誘導もされる<sup>18</sup>。マクロファージをバクテリア由来の成分がアゴニストとなる Toll-like 受容体 (TLR) TLR4 (リポ多糖) や TLR9 (CpG DNA, ODN1826) で 16 時間刺激すると、酵素遺伝子発現が誘導されたが、ウイルス由来の二本鎖 RNA がアゴニストの TLR3 (dsRNA, Poly:IC) 刺激では誘導されなかった。これらはウイルス感染時ではなく、バクテリア感染時に *LPCAT2* 発現量が上昇することを表している。さらに、この発現誘導は炎症作用を持つデキサメタゾンにより抑制された。これらの誘導は、先ほどの p38 MAP キナーゼの経路とは異なる。

以上のように *LPCAT2* は、炎症系の細胞に発現し、同じ刺激 (リポ多糖) により活性化および発現誘導される。これらは、同定前から予想されていたことと同じである。しかし、*LPCAT2* が *LPCAT* 活性を示したことは予想外であった。一つの酵素が、リゾ PAF から炎症性脂質 PAF と、膜構成成分であるアルキル PC (リゾ PAF 前駆物質) を産生することになる。これは定常時において炎症細胞の生体膜を作る役割を果たしているとも考えることもできる。今後は 2 種類の活性調節メカニズムの解明や阻害剤の開発などが重要になる。

#### 6-5. もう一つのリゾ PAF アセチル転移酵素 ; *LPCAT1*

内在性のリゾ PAF アセチル転移酵素の生化学的特徴と同様に、*LPCAT2* は酵素反応に Ca<sup>2+</sup> を必要とした<sup>18</sup>。しかし、マウス肺に Ca<sup>2+</sup> を必要としないリゾ PAF アセチル転移酵素が存在した。その酵素の部分精製を進めると、

LPCAT1が100  $\mu$ M アセチル CoA を基質とし  $\text{Ca}^{2+}$  非要求性リゾPAFアセチル転移酵素活性を持つことがわかった<sup>29)</sup>。詳細なミュータント解析により、LPCAT1のリゾPAFアセチル転移酵素活性とLPCAT活性のそれぞれに重要なアミノ酸を同定し、基質結合部位を予測した。また、LPCAT2と異なりLPCAT1はTLR3, 4, 9アゴニスト刺激で発現誘導も活性化もされない。発現場所が限局されているが、LPCAT1(主に肺)は恒常的に働く酵素で、LPCAT2(主にマクロファージ)は誘導型の酵素である。これらの関係はアラキドン酸からプロスタグランジン $\text{H}_2$ を合成するシクロオキシゲナーゼ(COX)-1とCOX-2の関わりと似ている。今後はLPCAT1の肺サーファクタント産生能だけでなく、PAF産生能の生物学的な意義が課題となる。母体の羊水中には胎児の発達に合わせてPAF量が増加し、胎児肺におけるPAF受容体も報告されている<sup>54,55)</sup>。LPCAT1は呼吸機能だけでなく、分娩にも関与している可能性がある。また、前述しているがLPCAT1は肺の進化と相関していると考えられる<sup>53)</sup>。さらに、LPCAT1がヒト大腸がんや網膜に高い発現をしているという報告もある<sup>51,56)</sup>。肺機能以外にもLPCAT1がPAF産生能を含めて何らかの影響を生体に及ぼしている可能性が示唆されている。

#### 6-6. LPEAT2; AGPATファミリー

アシル転移酵素の系統樹を描くとLPCAT1およびLPCAT2とクラスターを形成している遺伝子が存在した。AGPAT7やLPAAT $\eta$ と呼ばれ機能未知の候補遺伝子であったが、酵素活性が同定され2008年にLPEAT2と発表された<sup>22)</sup>。LPEAT2は主に脳に発現し、18:1-CoAや20:4-CoAを認識し、LPEAT, LPGAT, LPSAT, LPCAT活性を示した。しかし、報告によるとLPEAT2のsiRNAはHEK293T細胞においてLPEAT活性のみを減少させた。このことは、細胞内ではLPEAT2がLPEAT活性しか持たないのか？、または他のアシル転移酵素がLPGAT, LPSAT, LPCAT活性を十分補っているのか？、遺伝子導入によって何らかのアシル転移酵素を誘導したか？、現在のところ不明である。また、LPEAT2同定論文では、酵素活性測定に持ち込むタンパク質量が他のアシル転移酵素に比べて10倍程多いなど、今後慎重に解析する必要がある。また、別のグループが赤血球にLPEAT2が発現し、生化学的解析からLPCAT活性を持つと報告しているが、その活性は非常に弱い<sup>57)</sup>。

#### 6-7. LPCAT3, LPCAT4, LPEAT1; MBOATファミリー

これまで述べてきたAGPATファミリー遺伝子だけでは、全ての組織における全てのグリセロリン脂質組成を説明できない。LPCAT活性で考えた場合、LPCAT1は肺、LPCAT2は炎症性細胞を中心として発現している。他の細

胞にもPCは存在することから、未知のLPCATも存在するはずである。また、LPSATなどもまだ見つかっていない。そこで、我々は新しいアシル転移酵素ファミリーを探し、既にMBOATファミリーと名付けられている遺伝子群<sup>58)</sup>に注目した。その中にはタンパク質をアシル化する酵素とコレステロールアシル転移酵素が含まれていたが、機能未知のアシル転移酵素候補遺伝子が複数存在したため、我々はクローニングし、酵素活性を網羅的に調べていった。

その結果、MBOATファミリーの中から3種類の酵素の同定に成功し、酵素活性からLPCAT3(これまではMBOAT5と登録されていた)、LPCAT4(MBOAT2)、LPEAT1(MBOAT1)と名付けた<sup>19)</sup>。同時期に米国のグループがLPCAT3の生化学的特徴等について我々と同様の発表をしている<sup>59)</sup>。このグループも我々と同じくMBOAT5をLPCAT3と命名している。AGPATファミリーのランズ回路リゾリン脂質アシル転移酵素は2-4回膜を貫通していると一次構造から予測されている。一方、MBOATファミリーのLPCAT3は10回、LPCAT4は4回、LPEAT1は9回と予測された。予測するソフトが複数あり、これらによって結果は様々であるため、真の構造は結晶化されるまで不明であるが、高度に膜貫通しているのだろう。そのため組織からの精製は難しく、成し得なかったと考えられる。また、このメンバーはAGPATモチーフを持たず、MBOATモチーフを持っている<sup>35)</sup>。

マウスの各組織を調べると、LPCAT3は精巣、肝臓を中心に広範囲に、またLPCAT4は脳、精巣上体、精巣、卵巣に、そしてLPEAT1は胃、大腸、精巣上体に強く発現していた。酵素活性は複雑なため表にまとめた。LPCAT3はLPCAT活性、LPEAT活性、LPSAT活性の3種類、LPCAT4はLPCAT活性、LPEAT活性の2種類、LPEAT1はLPEAT活性、LPSAT活性の2種類の活性を示した。LPCAT3はそれぞれの活性において、高度不飽和脂肪酸を含む18:1-CoAや20:4-CoAなどを好んだ。一方、LPCAT4とLPEAT1は18:1-CoAのみに活性を示した。これらは放射ラベルされた基質を用いて測定しているため、入手困難な基質については調べられない。後に米国のグループが質量分析計(MS)を用いてより多くの基質で検証している<sup>60)</sup>。彼らは反応液中に複数種類の基質を混ぜて反応産物を検出するdual substrate choice acyltransferase assayを開発している。結果は放射基質の実験と大きくは変わらなかったが、LPCAT4がLPAAT活性も持つと述べられていた。この測定方法は基質濃度をどのように設定するかが問題になるが、従来の放射基質を用いた方法よりも、より生体に近い環境で測定でき、かつ一度に多くの基質を調べられるという利点がある。次に、アクセプター基質であるリゾリン脂質について少し細かく述べる。

LPCAT3とLPCAT4は共にLPCAT活性を持つ。sn-1位に脂肪酸がエステル結合した1-アシルLPCに対して強い活性を示したが、エーテル結合した1-アルキルLPCやビニル結合した1-アルケニルLPCには弱い活性であった。一方、上記3種類の酵素が共通して持つLPEAT活性では、1-アシルLPEと1-アルケニルLPEに対する活性に大きな差はなかった。つまり、LPCに関してはsn-1位の脂肪酸の結合様式を酵素が識別しているが、LPEについては識別していないことになる。どのアミノ酸(モチーフ)が見分けているのか興味深い点である。また、AGPATファミリーのLPCAT活性を持つ酵素、LPCAT1とLPCAT2は1-アシルLPCも1-アルキルLPCも認識できる。同じLPCAT活性を持つ酵素でも生化学的特徴には多様性がある。

B16メラノーマ細胞にLPCAT3-siRNAを導入すると、mRNA量の減少とともに、20:4-CoAを基質としたLPCAT活性、LPEAT活性、LPSAT活性が減少し、sn-2位にアラキドン酸を持つPC、PE、PS量も減少した。以上のことから、LPCAT3は実際に細胞内で20:4-CoAのような高度不飽和脂肪酸をLPCなどに転移する活性を持つことがわかった。LPCAT3は広範囲に発現するため、ランズ回路の代表的な(従来考えられていた)アシル転移酵素であるかもしれない。

他にもLPCAT3の線虫ホモログ(mboa-6)をノックダウンすると生育不良等の症状を示す<sup>61)</sup>。

### 6-8. LPIAT1; MBOATファミリー

MBOATファミリーからLPIAT1(文献ではMBOA-7と報告)がLPIAT活性を持つ酵素として初めて報告された<sup>21)</sup>。これはアラキドン酸を含むPIを合成する。この報告ではヒトLPIAT1だけでなく、線虫LPIAT1(線虫ではMboa-7)も同定されている。LPIAT1に変異が起きている線虫を作製すると、野生型に比べて成長が遅くなり、母体内で卵が孵化する割合も高かった。この表現型はシグナル分子としてのPI量の変化に伴うものであると思われる。現在同定されているLPIAT活性を持つアシル転移酵素はLPIAT1、LCLAT1、LPAAT3である<sup>20, 21, 48, 49)</sup>。これらは膜組成だけでなくイノシールシグナルへの影響も考えられる。

MBOATファミリー遺伝子はヒト、マウス、線虫以外にも出芽酵母で研究が進んでいる。酵母MBOAT酵素(LPT1, LCA1, SLC4等)は四つのグループが独立にほぼ同時に発表した<sup>62-65)</sup>。酵母には今のところ一つしか見つからず、それが複数の活性を持っているようである。

### 6-9. タンパク質アシル転移酵素; MBOATファミリー

MBOATファミリーからタンパク質アシル転移酵素も見

つかっている。2008年には、MBOATファミリーから新しくGOAT(グレリンO-アシル転移酵素)が同定された<sup>36)</sup>。これは従来MBOAT4と登録されていた遺伝子である。グレリンはSer3がオクタノイル化(C8)されると食欲増進ホルモンとして働く。GOATはグレリンのアシル化を行う酵素であった。MBOATファミリーはそれぞれがリゾリン脂質、タンパク質、コレステロールをO-アシル化する酵素群である。同じファミリーでありながら、このような異なるタイプの分子を認識するメカニズムや、モチーフ解析は興味深い。AGPATファミリーとMBOATファミリーともに結晶構造解析が待たれる。

### 6-10. 他のリゾリン脂質アシル転移酵素

AGPATファミリーとMBOATファミリー以外の遺伝子でリゾリン脂質アシル転移酵素が2種類同定されている。一つはケネディー経路で働くLPAAT活性を持つCGL-58で、水溶性の酵素である<sup>24)</sup>。もう一つはMLCLAT-1でランズ回路の反応を触媒し<sup>23)</sup>、CL合成に関与している。今後、新たなファミリーが同定されれば、生体膜生合成メカニズムの解明が進むであろう。

以上のリゾリン脂質アシル転移酵素は基質であるアシルCoAとリゾリン脂質を広範囲に認識する。それぞれの酵素が、脂肪酸鎖の違いを含めた複数の基質からグリセロリ

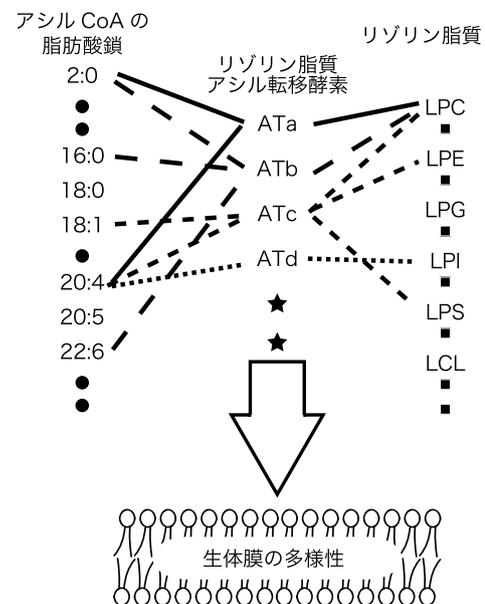


図5 リゾリン脂質アシル転移酵素による生体膜多様性形成  
一つのリゾリン脂質アシル転移酵素が、複数のアシルCoAと複数のリゾリン脂質を基質として様々なグリセロリン脂質を合成する。各組織に特徴的な生体膜多様性を生み出す。供給される基質の種類によっても変わるかもしれない。この図ではアシル転移酵素をATa, ATb, ★などと表記している。他のアシルCoAの脂肪酸鎖を●, 他のリゾリン脂質(結合様式, 脂肪酸種)を■と表記した。

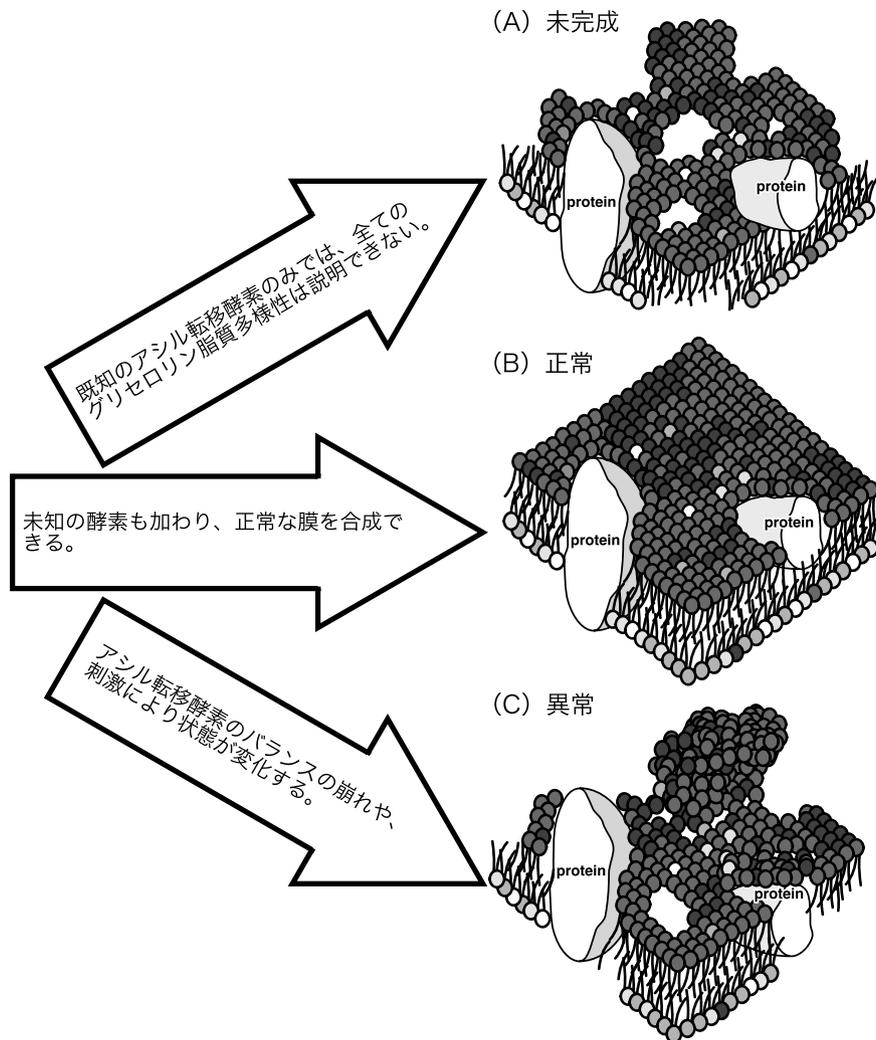


図6 生体膜グリセロリン脂質のモデル

(A) 既知のランズ回路酵素だけでは、完全な生体膜合成ができない。未知のアシル転移酵素も存在するであろう。(B) 全てが組織特異的にバランス良く働くと、その場所での正常な生体膜を合成できる。(C) アシル転移酵素のバランスが崩れたり、細胞が傷害を受けると生体膜の状態が変化し、細胞機能へ影響するだろう。リゾリン脂質アシル転移酵素が全て揃ったとしても、生体膜合成を説明できる訳ではない。分解酵素、基質合成酵素も関与する。また、この図はモデルであって (C) のような生体膜が正常な組織の場合もあるだろう。

ン脂質を合成できる。約 1000 種類のグリセロリン脂質合成するためには必要な機構であろうし、お互いがバックアップのような役割も果たしているかもしれない (図 5)。また、これまで同定された酵素群だけでは、生体膜グリセロリン脂質の生合成は説明できない。未知の酵素も加わり、組織特異的かつ適切な膜を合成できるのであろう。酵素遺伝子発現量のバランスが崩れたり、細胞が何らかの刺激を受ければ正常な機能を持った膜を維持できないかもしれない (図 6)。勿論、これらのリゾリン脂質アシル転移酵素だけでなく、PLA<sub>2</sub> やアシル CoA 合成酵素などとの協調が重要である。少し出遅れていたリゾリン脂質アシル転移酵素の解析や新規分子同定によって生体膜生合成研究の

発展が期待できるであろう。

## 7. 酵素命名について

これまで、多くのケネディー経路とランズ回路のアシル転移酵素が同定されてきた。特にランズ回路のアシル転移酵素に関しては、この 4 年間で飛躍的に進展した。また、近年はゲノムデータベース情報を基にしているため、遺伝子機能を同定したときには既に何らかの名前がついていることが多い。さらに、競争の激しさから一つの遺伝子に対して別のグループが異なる名前を発表することもある。この分野の研究が進んだ反面、酵素名については混乱を招くこととなった。例えば AGPAT1, 2…や AT like 1, 2…の

ように名前から酵素活性(基質特異性)が判断しにくく, またLPAAT $\eta$ がLPEAT酵素であるように, その酵素活性を持たない遺伝子に別の活性を示すような名前が付けられている。さらに酵素と名前が多対多の関係になってしまった。例えば, 表に示すように, LPCAT1はLPCAT1, AGPAT9, AT like 2と少なくとも3種類の名前を持つ。さらにGPAT3もAGPAT8やAGPAT9と登録されている。また, LCLAT1もAGPAT8と呼ばれる。これらはほんの一部である。一つの酵素が複数の名前を持ち, 一つの名前が複数の酵素を指す。さらに名前から酵素活性を推測すると誤解を与える組み合わせもある。そこで, 我々は, ほ乳類のリゾリン脂質アシル転移酵素名の統一を提案した(表)。名前から酵素活性がわかるように, かつ論文で報告された順に番号を付けた。しかし, この命名法も完全ではなく, 「複数の活性を持つ酵素はどうするのか?」, 「精製酵素で検討しなければ本当の活性はわからない」, 「*in vitro*の活性だけで判断してよいのか?」などと批判対象はいくらでもある。基質特異性を考慮しない名前の方がわかりやすいのかもしれない。现阶段での最善の命名法だと思うが, 今後より良く改名されるかもしれない。

## 8. おわりに

細胞には様々な形態があり, 様々な機能がある。それらに何らかの影響を生体膜グリセロリン脂質が与えているだろう(図6)。これらは細胞環境の変化や外部からの刺激に応じて組成を変化させ, またシグナルを伝達している。そして, 細かくは1000種類程度あると考えられている多様なグリセロリン脂質を生合成する酵素が, 近年次々と発見されている。生合成経路の存在が確認されランズ回路が発表されてから約50年を経ている。また, PAFの生合成酵素も現在2種類同定され, これらもその活性の発見から25年後である。今後は遺伝子欠損マウスの解析や質量分析計を用いた網羅的なグリセロリン脂質の解析が進むであろう。また, 疾患との関係も詳細に調べる必要があり, 阻害剤等から創薬開発につながるかもしれない。基質認識部位, 活性制御, 発現調節や生体内での役割など, まだまだ解明すべき点が多く残っている。急激に進展しつつある生体膜グリセロリン脂質研究から今後は, 細胞の理解へと発展していくであろう。

本稿の一部の研究は東京大学大学院医学系研究科細胞情報学教室で行われました。本研究に御協力いただいた, 岩手医科大学の諏訪部章先生, 小笠原理恵先生, 東京大学メタボローム講座の田口良先生, 中西広樹先生に感謝致します。また, 本教室の清水孝雄教授に感謝致します。共に解析を行った同研究室の菱川大介君, 原山武士君, 結城公一君, 森本亮君, 衛藤樹さんに感謝します。

## 文 献

- 1) Yamashita, A., Sugiura, T., & Waku, K. (1997) *J. Biochem.*, **122**, 1-16.
- 2) van Meer, G., Voelker, D.R., & Feigenson, G.W. (2008) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **9**, 112-124.
- 3) Kennedy, E.P. & Weiss, S.B. (1956) *J. Biol. Chem.*, **222**, 193-214.
- 4) Coleman, R.A. & Lee, D.P. (2004) *Prog. Lipid Res.*, **43**, 134-176.
- 5) Lands, W.E. (1958) *J. Biol. Chem.*, **231**, 883-888.
- 6) Shimizu, T. (2009) *Annu. Rev. Pharmacol.*, **49**, 123-150.
- 7) Shindou, H. & Shimizu, T. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 1-5.
- 8) Shindou, H., Hishikawa, D., Harayama, T., Yuki, K., & Shimizu, T. (2009) *J. Lipid Res.*, **50**, S46-S51.
- 9) Prescott, S.M., Zimmerman, G.A., & McIntyre, T.M. (1990) *J. Biol. Chem.*, **265**, 17381-17384.
- 10) Ishii, S. & Shimizu, T. (2000) *Prog. Lipid Res.*, **39**, 41-82.
- 11) Shindou, H., Ishii, S., Uozumi, N., & Shimizu, T. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **271**, 812-817.
- 12) Wykle, R.L., Malone, B., & Snyder, F. (1980) *J. Biol. Chem.*, **255**, 10256-10260.
- 13) Kudo, I. & Murakami, M. (2002) *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **68-69**, 3-58.
- 14) Singer, S.J. & Nicolson, G.L. (1972) *Science*, **175**, 720-731.
- 15) Cao, J., Liu, Y., Lockwood, J., Burn, P., & Shi, Y. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 31727-31734.
- 16) Yang, Y., Cao, J., & Shi, Y. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 55866-55874.
- 17) Nakanishi, H., Shindou, H., Hishikawa, D., Harayama, T., Ogasawara, R., Suwabe, A., Taguchi, R., & Shimizu, T. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 20140-20147.
- 18) Shindou, H., Hishikawa, D., Nakanishi, H., Harayama, T., Ishii, S., Taguchi, R., & Shimizu, T. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 6532-6539.
- 19) Hishikawa, D., Shindou, H., Kobayashi, S., Nakanishi, H., Taguchi, R., & Shimizu, T. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 2830-2835.
- 20) Yuki, K., Shindou, H., Hishikawa, D., & Shimizu, T. (2009) *J. Lipid Res.*, **50**, 860-869.
- 21) Lee, H.C., Inoue, T., Imae, R., Kono, N., Shirae, S., Matsuda, S., Gengyo-Ando, K., Mitani, S., & Arai, H. (2008) *Mol. Biol. Cell*, **19**, 1174-1184.
- 22) Cao, J., Shan, D., Revett, T., Li, D., Wu, L., Liu, W., Tobin, J. F., & Gimeno, R.E. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 19049-19057.
- 23) Taylor, W.A. & Hatch, G.M. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 30360-30371.
- 24) Ananda, K. Ghosh, Geetha Ramakrishnan, Chitraju Chandramohan, & Rajasekharan, R. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 24525-24533.
- 25) Benveniste, J., Henson, P.M., & Cochrane, C.G. (1972) *J. Exp. Med.*, **136**, 1356-1377.
- 26) Honda, Z., Nakamura, M., Miki, I., Minami, M., Watanabe, T., Seyama, Y., Okado, H., Toh, H., Ito, K., Miyamoto, T., & Shimizu, T. (1991) *Nature*, **349**, 342-346.
- 27) Hattori, M., Adachi, H., Tsujimoto, M., Arai, H., & Inoue, K. (1994) *Nature*, **370**, 216-218.
- 28) Tjoelker, L.W., Wilder, C., Eberhardt, C., Stafforini, D.M., Dietsch, G., Schimpf, B., Hooper, S., Le Trong, H., Cousens, L.S., Zimmerman, G.A., Yamadat, Y., McIntyre, T.M.,

- Prescott, S.M., & Gray, P.W. (1995) *Nature*, **374**, 549–553.
- 29) Harayama, T., Shindou, H., Ogasawara, R., Suwabe, A., & Shimizu, T. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 11097–11106.
- 30) Shindou, H., Ishii, S., Yamamoto, M., Takeda, K., Akira, S., & Shimizu, T. (2005) *J. Immunol.*, **175**, 1177–1183.
- 31) Owen, J.S., Baker, P.R., O'Flaherty, J.T., Thomas, M.J., Samuel, M.P., Wooten, R.E., & Wykle, R.L. (2005) *Biochim. Biophys. Acta*, **1733**, 120–129.
- 32) Doebber, T.W. & Wu, M.S. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 7557–7561.
- 33) Lewin, T.M., Wang, P., & Coleman, R.A. (1999) *Biochemistry*, **38**, 5764–5771.
- 34) Yamashita, A., Nakanishi, H., Suzuki, H., Kamata, R., Tanaka, K., Waku, K., & Sugiura, T. (2007) *Biochim. Biophys. Acta*, **1771**, 1202–1215.
- 35) Shindou, H., Eto, M., Morimoto, R., & Shimizu, T. (2009) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **383**, 320–325.
- 36) Yang, J., Brown, M.S., Liang, G., Grishin, N.V., & Goldstein, J.L. (2008) *Cell*, **132**, 387–396.
- 37) Yet, S.F., Lee, S., Hahm, Y.T., & Sul, H.S. (1993) *Biochemistry*, **32**, 9486–9491.
- 38) Harada, N., Hara, S., Yoshida, M., Zenitani, T., Mawatari, K., Nakano, M., Takahashi, A., Hosaka, T., Yoshimoto, K., & Nakaya, Y. (2007) *Mol. Cell. Biochem.*, **297**, 41–51.
- 39) Cao, J., Li, J.L., Li, D., Tobin, J.F., & Gimeno, R.E. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 19695–19700.
- 40) Chen, Y.Q., Kuo, M.S., Li, S., Bui, H.H., Peake, D.A., Sanders, P.E., Thibodeaux, S.J., Chu, S., Qian, Y.W., Zhao, Y., Bredt, D.S., Moller, D.E., Konrad, R.J., Beigneux, A.P., Young, S.G., & Cao, G. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 10048–10057.
- 41) Nagle, C.A., Vergnes, L., Dejong, H., Wang, S., Lewin, T.M., Reue, K., & Coleman, R.A. (2008) *J. Lipid Res.*, **49**, 823–831.
- 42) Shan, D.L.J., Wu, L., Li, D., Hurov, J., Tobin, J.F., Gimeno, R. E., & Cao, J. (2010) *J. Lipid Res.*, **51**, 1971–1981.
- 43) West, J., Tompkins, C.K., Balantac, N., Nudelman, E., Meengs, B., White, T., Bursten, S., Coleman, J., Kumar, A., Singer, J. W., & Leung, D.W. (1997) *DNA Cell Biol.*, **16**, 691–701.
- 44) Stamps, A.C., Elmore, M.A., Hill, M.E., Kelly, K., Makda, A. A., & Finnen, M.J. (1997) *Biochem. J.*, **326** (Pt 2), 455–461.
- 45) Kume, K., Waga, I., & Shimizu, T. (1997) *Anal. Biochem.*, **246**, 118–122.
- 46) Eberhardt, C., Gray, P.W., & Tjoelker, L.W. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 20299–20305.
- 47) Schmidt, J. & Brown, W. (2009) *J. Cell Biol.*, **186**, 211–218.
- 48) Zhao, Y., Chen, Y., Li, S., Konrad, R., & Cao, G. (2009) *J. Lipid Res.*, **50**, 945–956.
- 49) Cao, J., Shen, W., Chang, Z., & Shi, Y. (2008) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **296**, E647–E653.
- 50) Chen, X., Hyatt, B.A., Mucenski, M.L., Mason, R.J., & Shannon, J.M. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 11724–11729.
- 51) Tummala, P., Mali, R., Guzman, E., Zhang, X., & Mitton, K. (2010) *Mol. Vis.*, **16**, 252–271.
- 52) Stevens, T.P. & Sinkin, R.A. (2007) *Chest*, **131**, 1577–1582.
- 53) Harayama, T., Shindou, H., & Shimizu, T. (2009) *J. Lipid Res.*, **50**, 1824–1831.
- 54) Billah, M. & Johnston, J. (1983) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **113**, 51–58.
- 55) Eguchi, H., Frenkel, R.A., & Johnston, J.M. (1994) *Arch. Biochem. Biophys.*, **308**, 426–431.
- 56) Mansilla, F.d.C.K., Wang, S., Kruhøffer, M., Lewin, T.M., Orntoft, T.F., Coleman, R.A., & Birkenkamp-Demtröder, K. (2009) *J. Mol. Med.*, **87**, 85–97.
- 57) Soupene, E., Fyrst, H., & Kuypers, F.A. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 88–93.
- 58) Hofmann, K. (2000) *Trends Biochem. Sci.*, **25**, 111–112.
- 59) Zhao, Y., Chen, Y.Q., Bonacci, T.M., Bredt, D.S., Li, S., Bensch, W.R., Moller, D.E., Kowala, M., Konrad, R.J., & Cao, G. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 8258–8265.
- 60) Gijón, M., Riekhof, W., Zarini, S., Murphy, R., & Voelker, D. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 30235–30245.
- 61) Matsuda, S., Inoue, T., Lee, H.C., Kono, N., Tanaka, F., Gengyo-Ando, K., Mitani, S., & Arai, H. (2008) *Genes Cells*, **13**, 879–888.
- 62) Riekhof, W.R., Wu, J., Jones, J.L., & Voelker, D.R. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 28344–28352.
- 63) Jain, S., Stanford, N., Bhagwat, N., Seiler, B., Costanzo, M., Boone, C., & Oelkers, P. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 30562–30569.
- 64) Benghezal, M., Roubaty, C., Veepuri, V., Knudsen, J., & Conzelmann, A. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 30845–30855.
- 65) Tamaki, H., Shimada, A., Ito, Y., Ohya, M., Takase, J., Miyashita, M., Miyagawa, H., Nozaki, H., Nakayama, R., & Kumagai, H. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 34288–34298.