

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1部 リン脂質代謝酵素

哺乳動物細胞におけるグリセロリン脂質の生合成とその制御

河 野 望, 井 上 貴 雄, 新 井 洋 由

グリセロリン脂質はグリセロール骨格を有するリン脂質の総称であり、生体膜を構成するリン脂質の主要成分である。哺乳動物細胞には1,000種類以上のグリセロリン脂質が生体膜に存在するといわれており、その合成は新規合成経路とそれに続く脂肪酸鎖リモデリング経路によって行われている。これらのグリセロリン脂質合成に関わる酵素の多くは膜タンパク質であるため、その精製・同定は困難であったが、酵母やCHO-K1細胞変異株を用いた優れた遺伝学的手法によりグリセロリン脂質の新規合成に関わる遺伝子のほとんどが明らかとなっている。またゲノムデータベースの充実により、脂肪酸鎖リモデリング経路に関わる遺伝子の同定は近年目覚ましい発展を遂げている。本稿ではグリセロリン脂質の生合成経路とその制御について、活性を担う遺伝子とその細胞内局在を中心に概説する。

はじめに

グリセロリン脂質はグリセロール骨格を有するリン脂質の総称であり、生体膜を構成するリン脂質の主要成分である。グリセロリン脂質はグリセロールの三つの水酸基に二つの脂肪酸鎖とリン酸を含む極性基が結合しており、極性基の違いによりクラス分けされる。代表的なグリセロリン脂質として、ホスファチジルコリン (PC)、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)、ホスファチジルイノシトール (PI)、ホスファチジルグリセロール (PG)、カルジオリピン (CL) が知られている。極性基の違いに加え、脂肪酸鎖についても様々な脂肪酸が結合しているため、グリセロリン脂質は非常に大きな構造多様性を有する。哺乳動物細胞の場合、微量な分子を含め

ると1,000種類以上のグリセロリン脂質が生体膜に存在するといわれている。さらに、細胞膜や細胞内の各オルガネラ膜は、互いに異なるリン脂質組成を示す。これら各生体膜のグリセロリン脂質の量と種類はどのような機構で決定されているのだろうか？ この基本的かつ重要な疑問に答えるためには、各グリセロリン脂質分子の生合成機構、並びにその調節因子を明らかにする必要がある。

グリセロリン脂質生合成経路について、1956年にKennedyらにより新規合成経路が、次いで1958年にLandsにより脂肪酸鎖リモデリング経路が提唱された^{1,2)}。これらにより、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。すなわち、解糖系で得られるグリセロール 3-リン酸 (G3P) に二つの脂肪酸が結合することで生成するホスファチジン酸 (PA) を前駆体として、まず様々な極性基を持つグリセロリン脂質が合成(新規合成)された後、各グリセロリン脂質に特異的な脱アシル化・再アシル化反応により各グリセロリン脂質に特徴的な脂肪酸鎖に入れ替わる (リモデリング反応) というものである。これらのグリセロリン脂質合成に関わる酵素の多くは膜タンパク質であったため、その精製・同定は困難であったが、酵母やチャイニーズハムスター卵巣由来細胞株 (CHO-K1) 細胞変異株を用いた優れた遺伝学的手法により、グ

東京大学大学院薬学系研究科衛生化学 (〒113-0033 文京区本郷 7-3-1)

The metabolism of glycerophospholipid and its regulation in mammalian cells

Nozomu Kono, Takao Inoue and Hiroyuki Arai (Department of Health Chemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, the University of Tokyo, Hongo 7-3-1, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan)

リセロリン脂質の新規合成に関わる遺伝子のほとんどが明らかとなっている。またゲノムデータベースの充実により、リモデリング経路に関わる遺伝子の同定は近年目覚ましい発展を遂げている。本稿ではグリセロリン脂質の生合成経路について、活性を担う遺伝子とその細胞内局在を中心に概説する。またグリセロリン脂質の合成制御について、これまでに報告されている知見を紹介したい。

1. 新規合成経路

すべてのグリセロリン脂質生合成の出発となる物質は PA であり、G3P に 2 分子の脂肪酸が導入されて生合成さ

れる (図 1)。PA はその後、二つの経路を経てさまざまなリン脂質の生合成に利用される。一つは PA とシチジン三リン酸 (CTP) から生成するシチジン二リン酸-ジアシルグリセロール (CDP-DAG) を利用する経路であり、PG, CL および PI などがこの経路で生成される (図 2)。もう一つの経路は、PA が脱リン酸化されて生成する 1,2-ジアシルグリセロール (DAG) を利用する経路であり、DAG と CDP-コリンまたは CDP-エタノールアミンから PC または PE がそれぞれ生合成される。PS は、PC 又は PE の塩基交換反応により生成する (図 3)。

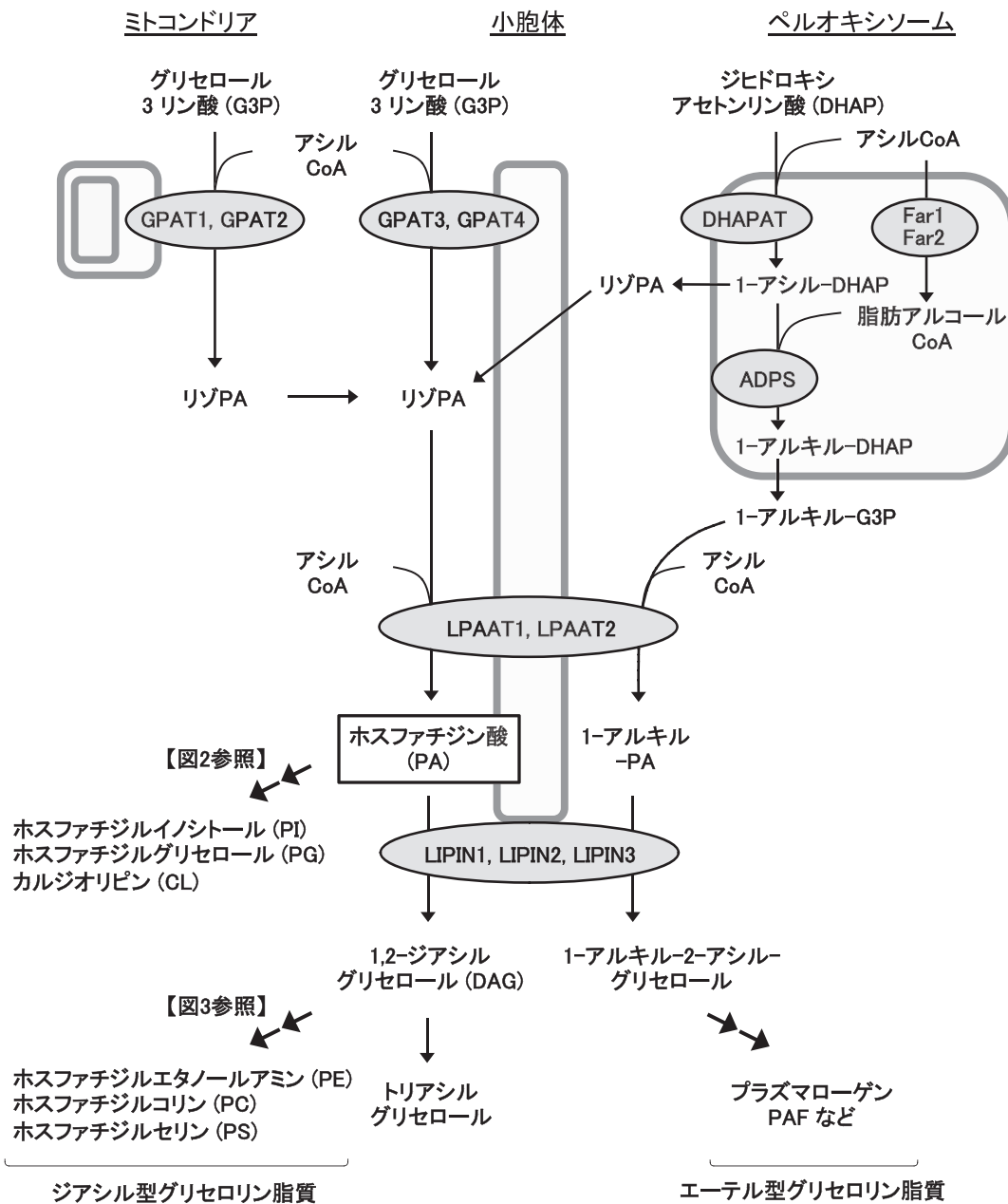


図 1 PA の新規合成経路

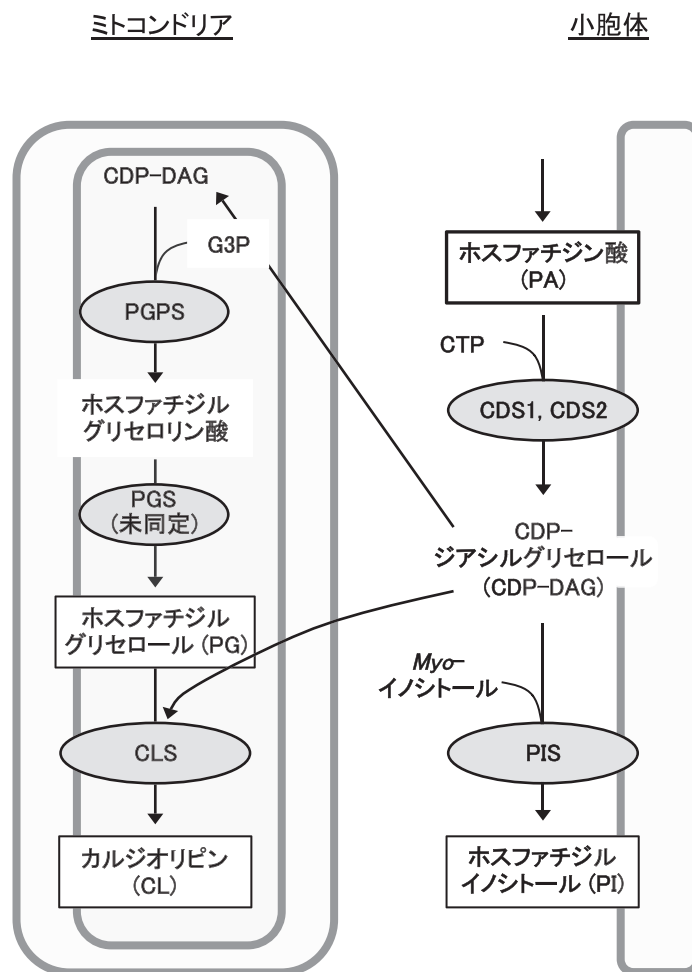


図2 PI, PG, CLの新規合成経路

1-1. ホスファチジン酸 (PA) の合成

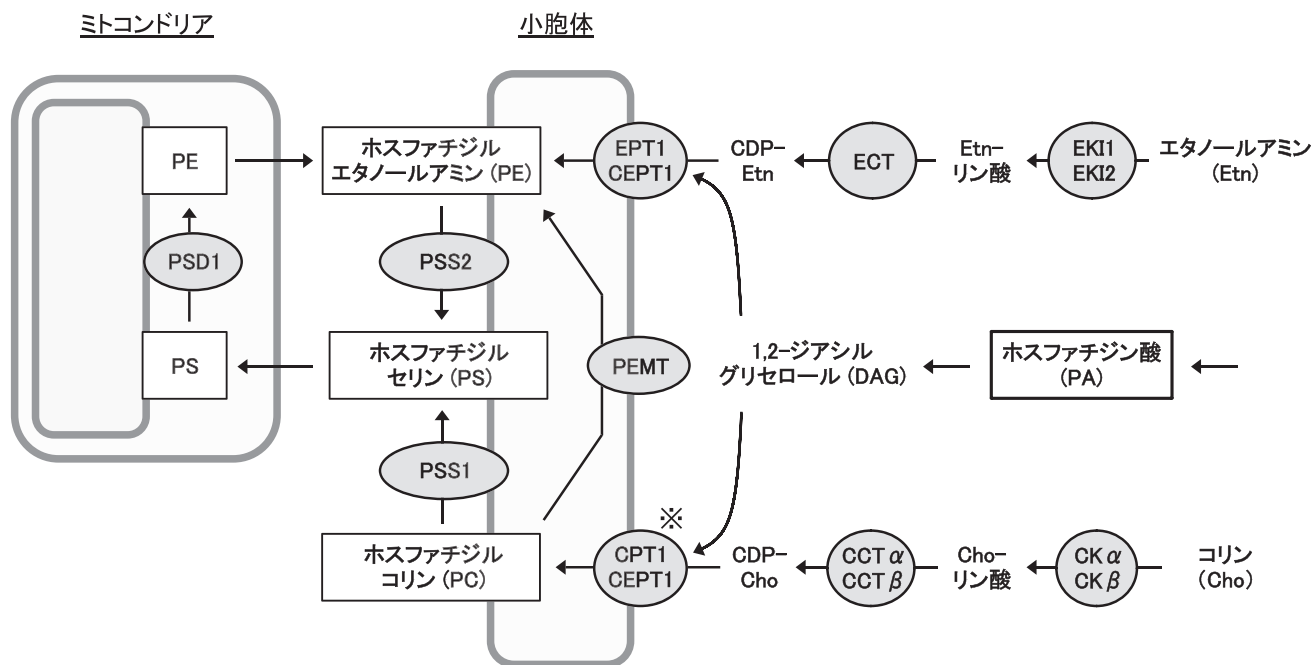
PAの生合成は解糖系で得られるG3P 1分子に脂肪酸が2分子導入されることによりなされる。まずG3Pのグリセロール骨格の1位 (*sn*-1位) がG3Pアシルトランスフェラーゼ (GPAT) によりアシル化されることでリゾPAが生成し、次いでリゾPAアシルトランスフェラーゼ (LPAAT) により *sn*-2位がアシル化され、PAが生成する (図1)。

GPATやLPAATは、脂肪酸の活性化体である脂肪酸 (アシル)-CoAを基質にし、ATP依存的に脂肪酸鎖を導入するアシル転移酵素であり、現在までにGPATとしてGPAT1~GPAT4が、また主なLPAATとしてLPAAT1, LPAAT2が同定されている^{3~10)}。いずれもアシルグリセリン酸アシルトランスフェラーゼ (AGPAT) ファミリーというアシル基転移酵素の遺伝子ファミリーに属し、特徴的なAGPATモチーフを有する¹¹⁾。通常、膜リン脂質の生合成は小胞体で行われるが、GPAT1とGPAT2はミトコンドリア外膜に、GPAT3とGPAT4は小胞体膜に存在する^{6, 12~14)}。GPAT1は転写制御やリン酸化による活性制御が

よく調べられているものの (表1)¹⁵⁾、GPAT1やGPAT2がミトコンドリア外膜に存在する意義は明らかとなっていない。一方、小胞体に局在するGPAT3, GPAT4は細胞内の主要なGPAT活性を担うと考えられており、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) γ やPPAR δ 、糖質コルチコイドによる転写制御が知られている^{16~18)}。また最近、インスリン刺激によりリン酸化され、活性上昇することも報告された¹⁹⁾。

一方、LPAAT1, LPAAT2はともに小胞体膜に局在しており、その制御に関する報告は少ない。またLPAAT1, LPAAT2以外にもLPAAT活性を有する遺伝子が報告されている (LPAAT3^{20, 21)}, LPAAT4²⁰⁾, LPAAT5^{20, 22)}, LPCAT1²³⁾, LPCAT4²⁴⁾, CGI-58²⁵⁾)。これらの遺伝子のPA合成に対する寄与は現在のところ不明であるが、その中にはゴルジ体 (LPAAT3), ミトコンドリア (LPAAT5), 細胞質および脂肪滴 (CGI-58) など小胞体以外にも局在する分子も存在し (表2)^{22, 26, 27)}、今後の更なる解析が待たれる。

リゾPAはペルオキシソームでも合成されることが知られている (図1)。解糖系から得られるジヒドロキシアセ



※CPT1はゴルジ体に局在することも報告されている

図3 PC, PE, PSの新規合成経路

トンリン酸 (DHAP) に DHAP アシルトランスフェラーゼ (DHAPAT) の作用でアシル基が導入され、次いでアルキル DHAP シンターゼ (ADAPS) によりアシル基とアルキル基の交換反応が起こり、1-アルキル DHAP が生成する。1-アルキル DHAP が還元されることで生成する 1-アルキルリゾ PA は、小胞体にて LPAAT により 1-アルキル PA となり、アルキル型リン脂質やアルケニル型リン脂質 (プラズマローゲン) の合成に利用される²⁸⁾。DHAPAT と ADAPS はそれぞれ 1 種類ずつ同定されており、両分子ともペルオキシソームに存在する^{29~31)}。ADAPS の反応に使用される脂肪アルコール-CoA を合成する酵素、アシル-CoA レダクターゼも 2 種類同定されており (Far1, Far2), それらもペルオキシソームに局在する³²⁾。1-アルキル DHAP から 1-アルキルリゾ PA を合成する酵素は、ペルオキシソームや小胞体の細胞質側に存在すると考えられているが、分子実体は未同定である。

上記の PA の生合成経路の他に、PA はジアシルグリセロールキナーゼ (DGK) やホスホリパーゼ D (PLD) の作用によっても生成する。これらの代謝経路に関わる遺伝子とその生理的意義に関しては他の優れた総説を参照して頂きたい^{33, 34)}。

1-2. シチジンリン酸-ジアシルグリセロール (CDP-DAG), ジアシルグリセロール (DAG) の合成

PA から生成する CDP-DAG と DAG はそれぞれ異なる

リン脂質種の合成に利用される重要な中間体である (図 2, 3)。また DAG はトリアシルグリセロールの前駆体でもある。

CDP-DAG は PA と CTP から CDP-DAG シンターゼ (CDS) によって合成され、その活性は小胞体膜とミトコンドリア内膜に存在することが知られている³⁵⁾。CDS として CDS1, CDS2 の 2 遺伝子が同定されており、CDS1 を細胞に強制発現すると小胞体に局在することが明らかになっている³⁶⁾。また CDS1 はヌクレオチドによる活性上昇、PI (4, 5)P₂ による活性阻害が報告されている³⁶⁾。

DAG は PA のリン酸基が PA ホスファターゼ (PAP) によって脱リン酸化されることで生成する (図 1)。この活性を担う分子として lipin が同定されており、lipin1~3 の三つのアイソフォームが存在する^{37, 38)}。lipin1 は膜貫通領域を持たず、サイトゾル、小胞体膜および核に存在する。その局在性は lipin1 のリン酸化状態によって影響を受け、インスリン刺激は lipin1 のリン酸化を亢進し、小胞体膜への局在を減少させる。一方、オレイン酸は lipin1 のリン酸化を減少させ、小胞体膜への局在を増加させる³⁹⁾。また lipin1 と lipin2 は有糸分裂時に Cdk1 リン酸化モチーフがリン酸化され、PAP 活性が抑制されることも報告されている⁴⁰⁾。

上述の PAP としての機能以外に、lipin1 は核内においてコアクチベーターとして機能し、脂質代謝酵素の発現を制御することも明らかとなっており、lipin1 は単なる酵素を

表1 新規合成経路に関わる酵素の局在と制御

反応生成物	酵素活性	遺伝子名	Official symbol	局在	遺伝子発現制御	翻訳後制御
LPA	G3P acyltransferase	<i>GPAT1</i>	GPAM	ミトコンドリア(12)	・ SREBP-1cによる転写制御(123)	・ カゼインキナーゼ2によるリン酸化による活性上昇(124, 125)
		<i>GPAT2</i>	GPAT2	ミトコンドリア(13)		
		<i>GPAT3</i>	AGPAT9	小胞体(6, 16)	・ PPAR γ , PPAR δ , グルココルチコイドによる転写制御(16-18)	・ インスリン刺激によるリン酸化、活性上昇(19)
		<i>GPAT4</i>	AGPAT6	小胞体(14)	・ グルココルチコイドによる発現制御(18)	・ インスリン刺激によるリン酸化、活性上昇(19)
PA	LysoPA acyltransferase	<i>LPAAT1</i>	AGPAT1	小胞体(126, 127)		
		<i>LPAAT2</i>	AGPAT2	小胞体(127, 128)	・ PPAR α , PPAR γ による発現制御(20, 129)	
		<i>LPAAT4</i>	AGPAT4	小胞体		
		<i>CGI-58</i>	ABHD5	サイトソル、脂肪滴(27)、ラメラ顆粒(153)		
DAG	PA phosphatase	<i>LIPIN1</i>	LPIN1	サイトソル、小胞体、核(40, 130)	・ 糖質コルチコイド受容体、PGC1 α 、SREBP-1による転写活性化(131-133) ・ リボ多糖、TNF α シグナルによる転写抑制(135)	・ インスリン-mTOR経路によるリン酸化(39) ・ オレイン酸、エピネフリンによる脱リン酸化(39) ・ リン酸化による14-3-3との結合を介したサイトソルへの移行(134) ・ リン酸化 (Cdk1リン酸化配列)による活性抑制(40) ・ SUMO化による核移行(136)
		<i>LIPIN2</i>	LPIN2	サイトソル、小胞体(40)		・ リン酸化 (Cdk1リン酸化配列)による活性抑制(40)
		<i>LIPIN3</i>	LPIN3	サイトソル、小胞体、核(137)		
CDP-DAG	CDP-DAG synthase	<i>CDS1</i>	CDS1	小胞体(36, 137)		・ スクレオチドによる活性上昇、PI(4,5)P ₂ により活性抑制(36, 139)
		<i>CDS2</i>	CDS2	小胞体(138)、ミトコンドリア?		
PI	PI synthase	<i>PIS</i>	CDIPT	小胞体		・ PIによる活性の非競合阻害(42)
PG	PGP synthase	<i>PGS1</i>	PGS1	ミトコンドリア(44)	・ Mfn-2過剰発現によるmRNA発現上昇(46) ・ セラミドによるStARD13依存的なmRNA発現上昇(45)	
CL	CL synthase	<i>CRLS1</i>	CRLS1	ミトコンドリア(47)		
コリン-リン酸	Choline kinase	<i>CK α</i>	CHKA	サイトソル	・ c-junによる転写活性化(52) ・ ATF6 α による発現上昇(119)	
		<i>CK β</i>	CHKB	サイトソル	・ ATF6 α による発現上昇(119)	
CDP-コリン	CTP:phosphocholine cytidyltransferase	<i>CCT α</i>	PCYT1A	サイトソル、小胞体、核(55)	・ CSF-1によるmRNAの安定化(140) ・ 細胞周期依存的な転写制御 (CCT α) (56) ・ Sp1, Ets1, TEF-4による転写活性化 (CCT α) (56)	・ リン酸化による活性/膜移行抑制(110, 112) ・ TNF α によるタンパク質分解(110) ・ NGFによる活性上昇 (膜画分) (141)
	CTP:phosphocholine cytidyltransferase	<i>CCT β</i>	PCYT1B	サイトソル、小胞体(55)	・ Net1による転写抑制 (CCT α) (56) ・ NGFによる発現上昇 (CCT β 2) (141)	・ 脂質 (酸性リン脂質、脂肪酸、DAG、不飽和PE、酸化PC、酸化ステロール)による膜移行(110, 142) ・ 高浸透圧刺激による核スペクルへの局在(143)
PC	Choline phosphotransferase	<i>CPT1</i>	CHPT1	ゴルジ体(60)		・ LPCAT1過剰発現によるタンパク質分解(117)
	PE methyltransferase	<i>PEMT</i>	PEMT	小胞体、MAM(63)	・ Sp-1による転写抑制(64)	
エタノールアミン-リン酸	Ehtanolamine kinase	<i>EKI1</i>	ETNK1	サイトソル		
		<i>EKI2</i>	ETNK2	サイトソル		
CDP-エタノールアミン	CTP:phosphoethanolamine cytidyltransferase	<i>ECT</i>	PYCT2	小胞体(67)	・ EGR1による転写活性化(69) ・ Sp1による転写抑制(70) ・ オキシステロールによる発現抑制(144)	
PE	Ethanolamine phosphotransferase	<i>EPT1</i>	EPT1	小胞体		
	PS decarboxylase	<i>PSD</i>	PISD	ミトコンドリア(74)		
PC/PE	Choline/ethanolamine phosphotransferase	<i>CEPT1</i>	CEPT1	小胞体(60)		
PS	PS synthase	<i>PSS1</i>	PTDSS1	MAM(78, 79)	・ N-myc, Spによる転写活性化(145)	・ PSによる活性の阻害(113, 115)
		<i>PSS2</i>	PTDSS2	MAM(78)		・ PSによる活性の阻害(114, 146)
1-アシル-DHAP	DHAP acyltransferase	<i>DHAPAT</i>	GNPAT	ペルオキシソーム(29)		
1-アルキル-DHAP	alkyl DHAP synthase	<i>ADAPS</i>	AGPS	ペルオキシソーム(31)		
脂肪アルコール CoA	Fatty acyl-CoA reductase	<i>FAR1</i>	FAR1	ペルオキシソーム(32)		・ プラズマローゲン量増加によるタンパク質分解促進(116)
		<i>FAR2</i>	FAR2	ペルオキシソーム(32)		

() 内の数字は文献番号を示す。

超えた多機能分子であると考えられている³⁸⁾。また lipin1 自身も糖質コルチコイド受容体や SREBP1 により転写制御を受け、様々な刺激で発現変動することが知られている³⁸⁾。

1-3. ホスファチジルイノシトール (PI) の合成

PI は、その含量は全リン脂質の数パーセントと少ないものの、様々な生理機能を示すホスホイノシチドの前駆体として非常に重要なリン脂質である。PI は CDP-DAG と myo-イノトールから PI シンターゼ (PIS) により合成される (図2)。PIS 活性は主に小胞体膜のサイトソル側に存在

表 2 脂肪酸リモデリング経路に関わる酵素の局在と制御

ファミリー	遺伝子名	Official symbol	基質とするリゾリン脂質	局在	遺伝子発現制御	翻訳後制御
AGPAT	<i>LPGAT1</i>	LPGAT1	LysoPG	小胞体(83)		
	<i>ALCAT1</i>	LCLAT1	LysoPI, LysoPG, LysoCL, LysoPA	小胞体(80), MAM, ミトコンドリア(151)	・甲状腺ホルモンによるmRNA発現上昇(152) ・酸化ストレス、高脂肪食負荷によるmRNA発現上昇(151)	・ATP, ADPIによる活性抑制(152)
	<i>LPCAT1</i>	LPCAT1	LysoPC, LysoPA, LysoPG	小胞体(84)		・リボ多糖刺激時におけるリン酸化、プロテアソーム系による分解(147)
	<i>LPCAT2</i>	LPCAT2	LysoPC	小胞体、ゴルジ体(148)	・リボ多糖、TLR9リガンドによるmRNA発現上昇(148)	・リボ多糖刺激時におけるSer34のリン酸化による活性上昇(149)
	<i>LPEAT2</i>	LPCAT4	LysoPE, LysoPS, LysoPG	小胞体(86)		
	<i>LPAAT3</i>	AGPAT3	LysoPA, LysoPC, LysoPI, LysoPS	小胞体(22)、ゴルジ体(26)	・PPAR α 、 β エストラジオールによる発現制御(21)	
MBOAT	<i>LPAAT5</i>	AGPAT5	LysoPA, LysoPE, LysoPC, LysoPI, LysoPS	小胞体、ミトコンドリア(22)		
	<i>LPCAT3</i>	LPCAT3	LysoPC, LysoPE, LysoPS	小胞体(93, 98)	・PPAR α によるmRNA発現上昇(98) ・LXRによる転写活性化(150) ・SCD1発現抑制によるmRNA発現上昇(121)	
	<i>LPCAT4</i>	MBOAT2	LysoPC, LysoPE, LysoPA	小胞体(93)		
	<i>LPEAT1</i>	MBOAT1	LysoPE, LysoPS	小胞体(93)		
その他	<i>LPIAT1</i>	MBOAT7	LysoPI	小胞体		
	<i>MLCLAT-1</i>	HADHA	LysoCL	ミトコンドリア(95)		

() 内の数字は文献番号を示す。

しているが、形質膜画分にも PIS 活性が検出されている。哺乳動物の PIS 遺伝子は酵母 *pis* 変異株を用いた機能相補スクリーニングによってラット cDNA ライブラリーから同定された⁴¹⁾。PIS の制御に関しては報告例が少ないが、PIS 活性は PI により非競合的に阻害されることが報告されている⁴²⁾。

1-4. ホスファチジルグリセロール (PG), カルジオリピン (CL) の合成

哺乳動物細胞において PG と CL はミトコンドリアに特徴的にみられるリン脂質である。その合成は CDP-DAG と G3P からホスファチジルグリセロリン酸 (PGP) シンターゼ (PGPS) により PGP が生成し、次いで PGP が脱リン酸化されることで PG が生成する。CL は PG と CDP-DAG から CL シンターゼ (CLS) により合成される。これらの反応過程は主にミトコンドリアで行われる (図 2)。

PGS 活性を担う遺伝子 (*PGS1*) は酵母 *pgs1* 遺伝子の配列を元にクローニングされた⁴³⁾。PGS1 に対する抗体を用いた解析から、PGS1 はミトコンドリア画分に存在することが示されている⁴⁴⁾。PGS1 mRNA はセラミドによって脂質結合タンパク質である StARD13 依存的に発現上昇すること⁴⁵⁾、またミトフュージン (Mfn)-2 の過剰発現によるミトコンドリアの融合時に発現上昇することが報告されている⁴⁶⁾。PGP の脱リン酸化を担う遺伝子 (PGP ホスファターゼ) は、現在のところ明らかとなっていない。

CLS 活性を担う遺伝子 (*CLS1*) は、酵母 *cls* 遺伝子の配列を元にクローニングされた⁴³⁾。CLS1 は複数回膜貫通型のタンパク質であり、CLS1 の強制発現による解析か

ら、ミトコンドリアに局在することが明らかとなっている⁴⁷⁾。興味深いことに、最近 CLS1 が CLS 活性のみならず、リゾ PG アシルトランスフェラーゼ活性を有することが報告され、CLS1 が後述のリモデリング経路にも寄与することが示唆されている⁴⁸⁾。

PG からは後期エンドソームに多く存在するリゾビスホスファチジン酸 (LBPA) も合成される⁴⁹⁾。LBPA は PG の構造異性体であるが、*sn*-1-グリセロホスホ-*sn*-1'-グリセロールの骨格を有する点で大きく異なっている。LBPA の詳細な生合成経路、および生合成に関わる遺伝子はよく分かっていない。

1-5. ホスファチジルコリン (PC), ホスファチジルエタノールアミン (PE) の合成

PC および PE は動物細胞における主要な膜リン脂質であり、どのオルガネラにも普遍的に存在する。PC は CDP-コリン経路と PE メチル化経路の二つの経路により生合成されるが、ほとんどの組織や細胞では CDP-コリン経路が主な PC 合成経路である (図 3)。

CDP-コリン経路では①コリンキナーゼ (CK) によるコリンのリン酸化、②ホスホコリンシチジリルトランスフェラーゼ (CCT) による CDP-コリンへの変換、③コリンホスホトランスフェラーゼ (CPT) による DAG との縮合、の 3 段階の反応によって PC が合成される。CK はサイトゾルに存在し、CK α と CK β の二つの遺伝子が知られている^{50, 51)}。CK α , CK β の mRNA は activating transcription factor 6 α (ATF6 α) の活性化により発現上昇すること (3-2 参照)、また CK α は四塩化炭素投与肝において c-jun を介した転

写活性化が起こることが報告されている⁵²⁾。CCTはPC合成の律速段階であり、*CCT α* 、*CCT β* の二つの遺伝子にコードされている^{53,54)}。*CCT α* 、*CCT β* ともにサイトゾルおよび小胞体膜に存在しており、*CCT α* については核にも存在する⁵⁵⁾。CCTは膜に局在することで活性化することが知られており(詳細は3-1参照)、CDP-コリンの合成は主に小胞体膜上で行われていると考えられている。CCTの転写制御に関しては最近の優れた総説を参照して欲しい⁵⁶⁾。CPTは小胞体膜のみならず、ゴルジ体やミトコンドリア、核膜にもその活性が認められている⁵⁷⁾。CPT活性自体は40年以上前より知られていたものの、その精製は困難であり、長らく分子実体が不明であった。しかしながら、酵母の遺伝学からCPTが同定され、その相同性から*CPT1*と*CEPT1*の二つの遺伝子がクローニングされた^{58,59)}。CPT、CEPTともに複数回膜貫通型のタンパク質であり、強制発現系による解析から、CPTはゴルジ体に、CEPTは小胞体に局在することが報告されている⁶⁰⁾。CEPTはCDP-コリンに加えてCDP-エタノールアミンも基質にすることができる⁶¹⁾。

もう一つのPCの合成経路であるPEメチル化経路ではPEメチルトランスフェラーゼ(PEMT)によりPEが段階的にメチル化される。PEMTはラット肝から精製・クローニングされ⁶²⁾、小胞体とMAM(mitochondria-associated membrane)に存在することが明らかとなっている⁶³⁾。またPEMTの制御としてSp1による転写抑制が報告されている⁶⁴⁾。

PEはCDP-エタノールアミン経路とPS脱炭酸経路の二つの合成経路が知られており、これらの経路のPE合成に対する寄与は細胞の種類によって異なる。CDP-エタノールアミン経路は前述のCDP-コリン経路と同様にDAGからPEが合成され、エタノールアミンキナーゼ(EK)、ホスホエタノールアミンシチジルトランスフェラーゼ(ECT)、エタノールアミンホスホトランスフェラーゼ(EPT)が反応に関わる(図3)。前述のCKはEK活性も有していたため、EKはCKと同一の酵素と考えられていたが、2001年にエタノールアミン特異的キナーゼEKI1とEKI2がクローニングされたことから⁶⁵⁾、生体内においてこれらの反応は別々の酵素によって触媒されと考えられるようになった。ECT活性を担う遺伝子は、酵母*ect*変異株を用いた機能相補スクリーニングによって同定された⁶⁶⁾。ECTは主にサイトゾルに存在するが、粗面小胞体にも検出される⁶⁷⁾。またCCTとは異なり、ECTは脂質の存在下で活性化はみられない⁶⁸⁾。ECTは転写因子であるEGR1やSp1によって転写制御される^{69,70)}。EPT活性を持つ遺伝子は前述のCEPTが知られていたが、2007年にCDP-エタノールアミンに特異的な酵素であるEPT1がクローニングされた⁷¹⁾。

もう一つのPE合成経路であるPS脱炭酸経路は、PSデカルボキシラーゼ(PSD)によりPSが脱炭酸されることにより産生される(図3)。PSD活性はミトコンドリアの内膜に局限しており、この経路でPEが合成されるには小胞体で合成されたPSがミトコンドリア内膜に輸送されなければならない、この輸送過程がこの経路の律速段階となっている⁷²⁾。PSDはCHO-K1細胞のPS要求性変異株の表現型を回復させるCHO-K1ゲノム断片のスクリーニングにより同定された^{73,74)}。PSDはミトコンドリアに局在し、翻訳後にプロセッシングを受けることが知られている⁷⁴⁾。

1-6. ホスファチジルセリン(PS)の合成

PSは膜リン脂質の5-15%を占め、形質膜での含量が高い。PSは通常、形質膜の細胞質側に存在するが、細胞表面側に移行することで、血液凝固カスケードの促進やアポトーシスを起こした細胞のマクロファージによる貪食に関与することが知られている。

哺乳動物細胞のPSは既存のリン脂質(PC, PE)と遊離セリンを基質とするセリン塩基交換反応により生合成され、この反応はPSシンターゼ(PSS)により触媒される(図3)。PSS活性を担う遺伝子として*PSS1*と*PSS2*の二つが同定されている^{75,76)}。*PSS1*と*PSS2*は基質特異性が異なり、*PSS1*がPCを基質にするのに対し、*PSS2*はPEを基質にする⁷⁷⁾。*PSS1*、*PSS2*はともに複数回膜貫通型タンパク質であり、MAMに局在することが報告されている^{78,79)}。

2. 脂肪酸鎖リモデリング経路

上述のようにグリセリン脂質の共通の前駆体はPAであり、生合成されたリン脂質は基本的にはPAと同じ脂肪酸組成を持っていると予想される。「リモデリング経路」とは、生合成されたリン脂質の脂肪酸鎖を各リン脂質に選択的な脱アシル化・再アシル化反応により入れ替える機構であり、これによりそれぞれのリン脂質に適した特徴的な脂肪酸分子種が形成されと考えられている。ここでは、最近分子実体が明らかになってきた「再アシル化」を担うと考えられるアシル転移酵素を中心に概説する。ここで挙げるアシル転移酵素は、リゾPC、リゾPE、リゾPS、リゾPI、リゾPG、リゾCLのいずれかに対し、アシル転移活性を有する分子であり、上述のGPATやLPAATと同様にアシルCoAを基質とする。「再アシル化」を担うアシル転移酵素は、リゾCLアシル転移酵素(ALCAT1, 2004年)⁸⁰⁾の同定を皮切りに、近年、その分子実体が次々と明らかにされている(表2)。以下に述べるアシル転移活性は特に記述がない場合、1-アシル-2-リゾリン脂質の*sn*-2位に脂肪酸鎖を転移する活性を示す。哺乳動物では*sn*-1位に脂肪酸鎖を導入する酵素の実体は不明であったが、最近我々

はリゾ PI の *sn*-1 位に脂肪酸を導入するアシル転移酵素を同定した⁸¹⁾。これについては、2-3 で紹介する。

2-1. 「脂肪酸鎖リモデリングに関わるアシル転移酵素」の分類：AGPAT ファミリーと MBOAT ファミリー

リン脂質の脂肪酸鎖リモデリングに関わるアシル転移酵素は、構造的に AGPAT (1-acylglycerol-3-phosphate *O*-acyltransferase) ファミリーと MBOAT (membrane bound *O*-acyltransferase) ファミリーに大別される (表 2)⁸²⁾。AGPAT ファミリーは、上述の GPAT1-4 や LPAAT1, 2 を含む遺伝子ファミリーであり、GPAT, LPAAT とのホモロジーからリモデリングに関わるアシル転移酵素がこれまでに 7 種類同定されている (ALCAT1⁸⁰⁾, LPGAT1⁸³⁾, LPCAT1⁸⁴⁾, LPCAT2⁸⁵⁾, LPEAT2⁸⁶⁾, LPAAT3^{21, 22)}, LPAAT5²²⁾)。一方、MBOAT ファミリーは、Wnt やヘッジホッグ等の分泌タンパク質に脂肪酸鎖を転移する酵素やコレステロールに脂肪酸鎖を転移する酵素が含まれる遺伝子ファミリーである^{87, 88)}。MBOAT ファミリー分子においてリン脂質に対するアシル転移活性が初めて報告されたのは、酵母 ALE1/LPT1/SLC4 である⁸⁹⁻⁹²⁾。基質特異性の広いアシル転移酵素で、様々なリゾリン脂質を認識することが示されている。哺乳動物の MBOAT ファミリーでは、LPCAT3, LPCAT4, LPEAT1⁹³⁾, LPIAT1⁹⁴⁾ の 4 種類がリン脂質のアシル転移酵素として同定されている (LPIAT1 については後述)。AGPAT ファミリー、MBOAT ファミリーのいずれにも属さないアシル転移酵素としては、ミトコンドリアに局在する MLCLAT-1 が報告されている⁹⁵⁾。

これらのアシル転移酵素はいずれも膜貫通タンパク質であり、動物細胞等に過剰発現させた膜画分を用いて基質特異性が検討されている。LPGAT1⁸³⁾, LPCAT2⁸⁵⁾, LPIAT1^{24, 94)}, MLCLAT-1⁹⁵⁾ については、それぞれリゾ PG, リゾ PC, リゾ PI, リゾ CL を特異的に認識することが報告されているが、その他のアシル転移酵素は基質特異性が広い。例えば ALCAT1 はリゾ PI, リゾ PG, リゾ CL, リゾ PA といった酸性リン脂質に^{80, 96, 97)}, LPCAT3 はリゾ PC, リゾ PE, リゾ PS に対するアシル転移活性を有する^{93, 98-101)}。「生体において膜リン脂質の脂肪酸組成の決定にどれくらい寄与するか」については解析が始まった段階であり、今後ノックアウトや RNAi による機能阻害の結果が待たれる。アシル転移酵素の基質特異性の詳細に関しては優れた総説が発表されているので、合わせて参照して頂きたい¹⁰²⁾。

2-2. 1-アシル-2-リゾ PI アシル転移酵素, *mboa-7*/LPIAT1 の同定

PI は生体膜リン脂質の中でも、特に特徴的な脂肪酸組成を有することが知られており、*sn*-1 位にステアリン酸 (18:0), *sn*-2 位にアラキドン酸 (20:4) を持つ分子種

(18:0/20:4 PI) の割合が圧倒的に多い。我々は線虫 *C. elegans* を用いたユニークな手法で、PI の脂肪酸鎖リモデリングに関わる酵素群を世界に先駆けて同定することに成功した。PI の *sn*-2 位にアラキドン酸を導入するアシル転移酵素 (*mboa-7*/LPIAT1) はバイオアッセイを利用した RNAi スクリーニングにより、PI の *sn*-1 位にステアリン酸を導入するアシル転移酵素 (*acl-8, 9, 10*/ALCAT1) は線虫変異体のメタボローム解析により、それぞれ同定した^{81, 94)}。まず、*mboa-7*/LPIAT1 の同定について紹介したい。

線虫は酵母やショウジョウバエとは異なり、内在的に高度不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid: PUFA) を有しており、PUFA 合成酵素の変異により PUFA が欠乏した線虫 (PUFA 欠乏変異体) では神経機能や生殖、上皮形成などに異常が生じる¹⁰³⁾。この PUFA 欠乏変異体にアラキドン酸などの PUFA を添加すると、PUFA がリン脂質に取り込まれ、それに伴い表現型が著しく回復する。我々はこの現象に注目し、表現型の回復を指標としたバイオアッセイにより、アシル転移酵素を同定するためのスクリーニング系を構築した。すなわち、アラキドン酸を添加した条件下で、PUFA 欠乏線虫に対して網羅的な RNAi を行い、アラキドン酸存在下においても表現型が回復しない RNAi クローンを探索した。もし、アラキドン酸をリン脂質に導入するアシル転移酵素が発現抑制されると、アラキドン酸による表現型の回復が減弱することが予想される。このストラテジーに基づき、スクリーニングを行ったところ、「F14F3.3」という候補分子を得た。「F14F3.3」は進化的に広く保存された機能未知遺伝子であり、膜タンパク質をコードすると予想された。さらに、「F14F3.3」は上述の MBOAT のモチーフ構造を持っていたことから、アシル基を何らかの分子に転移する活性を持つと考えられた。我々はこの分子を *mboa-7* と名付け、さらに解析を行った。

まず、*mboa-7* 欠損変異体を解析したところ、*mboa-7* 変異体では放射標識したアラキドン酸およびエイコサペンタエン酸 (eicosapentaenoic acid: EPA) (20:5) の PI への取り込みが特異的に減少すること (*in vivo*)、リゾ PI にアラキドン酸および EPA を導入するアシル転移活性が消失すること (*in vitro*) が分かった。一方、*mboa-7* を過剰発現するトランスジェニック体ではリゾ PI にアラキドン酸を導入する活性が特異的に上昇しており、MBOAT 分子の活性中心と考えられるヒスチジン残基に変異を導入するとこの活性が消失した。また、ヒトの *mboa-7* 相同分子もリゾ PI 特異的にアラキドン酸を導入する活性を有していた [哺乳動物の *mboa-7* 相同分子を lysoPI acyltransferase 1 (LPIAT1) と命名]。上述のように哺乳動物における PI は 18:0/20:4 の分子種が多く存在するが、線虫ではアラキドン酸の含有量が少なく、EPA が豊富に含まれることか

ら、18:0/20:5 PI の分子種が最も多い。線虫 *mboa-7* 変異体では EPA を含む PI の分子種が減少しており、代わりに 16:0 や 18:1 などの不飽和度の低い脂肪酸を含む PI 分子種が増加していた。また、LPIAT1 の欠損マウスでは、PI のアラキドン酸が減少することを見出している（未発表）。以上の結果から、*mboa-7*/LPIAT1 はリゾ PI 特異的に PUFA を導入するアシル転移酵素であり、「リモデリング経路」が実際に PI の脂肪酸組成を規定することが初めて明らかになった。

2-3. 2-アシル-1-リゾ PI アシル転移酵素, *acl-8, 9, 10*/ALCAT1 の同定

PI の *sn*-1 位には 18:0 が選択的に結合しており、*sn*-1 位についても脂肪酸リモデリングが起こっていると考えられている¹⁰⁴⁻¹⁰⁸。しかしながら、*sn*-1 位の脂肪酸鎖に関しては他のリン脂質を含め、脂肪酸鎖リモデリングを担う分子は明らかになっていない。我々は線虫のホスホリパーゼ A₁ の解析から、PI の *sn*-1 位の脂肪酸リモデリング機構を解明する糸口を得た^{81,109}。線虫 *ipla-1* は DDHD ドメインと呼ばれるモチーフ構造を有するホスホリパーゼ A₁ であり、進化的に広く保存されている。我々はこれまでに、*ipla-1* 変異体が上皮系幹細胞の非対称分裂に異常が生じることを見出してきた¹⁰⁹。*ipla-1* 変異体では、分裂前の幹細胞においてタンパク質の非対称分布が正常に起こらず、分裂後の娘細胞の細胞運命決定に異常が生じる（すなわち、分化すべき娘細胞が幹細胞の性質を維持する）。この表現型は、幹細胞に *ipla-1* を導入すると回復するが、活性中心に変異を導入した *ipla-1* では回復しないことから、幹細胞において何らかの脂質分子を切断することが非対称分裂の制御に重要であると考えられた。そこで、*ipla-1* 変異体の脂肪酸組成を解析したところ、*ipla-1* 変異体では PI の脂肪酸組成が顕著に変化しており、PI の *sn*-1 位に結合する 18:0 が 18:1 に置き換わることが分かった。一方、その他のリン脂質に関しては大きな変化は見られなかった。従って、*ipla-1* は線虫体内で PI を基質としており、PI の *sn*-1 位の脂肪酸リモデリングに関わるホスホリパーゼ A₁ と考えられた。

ipla-1 変異体の示す幹細胞の異常が、PI の脂肪酸リモデリングが破綻したことに起因すると仮定すると、PI の *sn*-1 位に 18:0 を導入するアシル転移酵素の変異体でも幹細胞の非対称分裂に異常が生じると考えられる。我々は線虫変異体ライブラリーを用いて表現型の解析を行い、AGPAT ファミリーに属する *acl-8*, *acl-9*, *acl-10* を欠失した三重変異体が *ipla-1* 変異体と同様に幹細胞の非対称分裂に異常を示すことを見出した。*acl-8*, *acl-9*, *acl-10* は哺乳動物において ALCAT1 と高い相同性を有する分子で、AGPAT ファミリー内で一つのサブファミリーを形成

している。*acl-8, 9, 10* 三重変異体の脂質組成を解析したところ、*ipla-1* 変異体と同様に PI の *sn*-1 位の脂肪酸鎖が特異的に変化しており、PI の 18:0 が 18:1 に置き換わっていた。さらに、幹細胞での発現が高い *acl-10* の酵素活性を調べたところ、PI の *sn*-1 位に 18:0 を導入するアシル基転移活性を有することが分かった⁸¹。

上述のように、哺乳動物の ALCAT1 はリゾ PI, リゾ PG, リゾ CL, リゾ PA の *sn*-2 に脂肪酸鎖を導入する活性が報告されている^{80,96,97}。我々はマウス ALCAT1 がリゾ PI の *sn*-1 位にも脂肪酸鎖を導入する活性を有すること、また、マウス ALCAT1 の導入により、*acl-8, 9, 10* 三重変異体の幹細胞の異常が回復することを明らかにしている⁸¹。*ipla-1* 変異体と *acl-8, 9, 10* 三重変異体の共通性（脂質変動の共通性、表現型の共通性）を考慮すると、*acl-8, 9, 10* 三重変異体における幹細胞の非対称分裂異常は、PI の *sn*-1 位の脂肪酸鎖リモデリングが破綻したことが直接の原因と考えられる。従って、少なくとも線虫個体内においては、マウス ALCAT1 が PI の *sn*-1 位に 18:0 を導入するアシル基転移酵素として機能することが強く示唆される。

以上のように、線虫を用いた解析から PI の脂肪酸鎖リモデリングに関わる酵素群が明らかになってきた。本研究で同定した分子は哺乳動物まで高度に保存されており、線虫と同様に PI の脂肪酸組成を規定することが明らかになりつつある（未発表）。哺乳動物においても、PI における特徴的な脂肪酸組成の生物学的意義が明らかになっていくものと期待される。

3. グリセロリン脂質合成の制御機構

これまでに取りあげたグリセロリン脂質合成に関わる遺伝子の制御に関しては、表 1 および表 2 にまとめた。それらのうち、いくつかのトピックについて以下に紹介する。

3-1. グリセロリン脂質合成系の生成物によるフィードバック制御機構

PC の生合成制御機構については、PC 生合成の律速酵素である CCT について詳細な解析が行われている^{110,111}。前述のように CCT はサイトゾルと小胞体膜との間を行き来しており、膜に局在した酵素がその活性を発揮する。この CCT の膜移行に関して、脂質によるフィードフォワード制御およびフィードバック制御が知られている。すなわち、PC の前駆体となる DAG は CCT の小胞体膜画分への移行を促進し CCT 活性が上昇する。DAG の他にも脂肪酸や PE および酸性リン脂質も CCT の膜移行を促進することが知られている。一方、PC を添加すると逆に CCT は膜から離れて細胞質へと移行し、CCT 活性は減弱する。CCT は C 末端にリン酸化を多く受けるドメインを持っており、膜に局在している CCT は、サイトゾルに存在する

CCT に比べ、脱リン酸化の程度が大きいことが報告されている。細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK) によって CCT がリン酸化されると PC 合成が減弱することから、リン酸化修飾は CCT の活性を制御しうと考えられている¹¹²⁾。

PS 合成のフィードバック調節機構も精力的に解析されている。CHO-K1 株を PS 添加培地で培養すると、細胞内の PS 生合成速度が特異的に低下する。この PS 合成の制御に損傷を持つ変異株の解析から、PS による PS 合成のフィードバック制御のターゲットは PS 合成酵素である PSS1 であることが明らかとなっている¹¹³⁾。PSS2 も PSS1 と同様に PS によって阻害され、PS が直接 PSS2 の酵素に作用して活性を阻害することも示されている^{114,115)}。

最近、エーテル型グリセロリン脂質の合成に重要な Far1 のタンパク質量が、最終産物であるプラズマローゲンの量によりフィードバック制御を受けることが示された¹¹⁶⁾。小胞体に存在するプラズマローゲンがどのようにペルオキシソームに局在する Far1 を制御しているのか、その制御機構の解明が待たれる。また PC のリモデリング酵素である LPCAT1 の過剰発現により PC の新規合成に関わる CPT1 がユビキチン化されリソソーム経路で分解されることも報告されている¹¹⁷⁾。LPCAT1 の生成物が CPT1 の制御に関与しているかは不明であるが、リモデリング酵素と新規合成酵素のクロストークという意味で興味深い知見である。

3-2. 小胞体ストレス応答によるリン脂質合成の制御

小胞体ストレス応答は、小胞体内にフォールディングが未完了なタンパク質 (unfolded protein) が蓄積することで誘導される細胞応答である。小胞体ストレス応答が活性化すると、翻訳抑制や、小胞体シャペロンの発現誘導、小胞体関連タンパク質分解経路の亢進が起こり、小胞体内の unfolded protein を減少させる方向に働く。一方で、小胞体ストレス応答はリン脂質合成を促進することで、小胞体膜を拡大し、小胞体のキャパシティーを増大させることが知られている。

その分子機構として、小胞体ストレスにより活性化する転写因子である X-box binding protein 1 (XBP1) や ATF6 α の活性化体を強制発現させると、PC の合成速度が増加するとともに、PC と PE の総量が増加することが報告されている^{118,119)}。XBP1 活性化体の発現では、CK 活性は変化しないものの、CCT と CPT の活性が上昇する。また、CCT と CPT の mRNA レベルは変化しなかったことから、これらの活性上昇は転写後制御もしくは翻訳後の制御によるものと考えられ、実際 CCT α のタンパク質量と合成量が XBP1 活性化体の強制発現により上昇することが報告されている¹²⁰⁾。

一方、XBP1 の場合とは異なり、活性化型 ATF6 α の強

制発現では CK および CPT 活性の上昇が起こり、CCT 活性には変化がみられない。また、CK α と CK β の mRNA 発現が上昇することも明らかとなっている。以上のように、小胞体ストレスにより活性化する XBP1 や ATF6 α によって PC の新規合成経路が活性化されるが、その制御機構は少し異なっているようである。

最近、我々は、リン脂質脂肪酸鎖の不飽和度が減少すると小胞体ストレス応答が活性化することを見出した¹²¹⁾。飽和脂肪酸の不飽和化酵素である stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1) を HeLa 細胞において発現抑制すると、リン脂質中の飽和脂肪酸鎖の増加、一価不飽和脂肪酸鎖の減少が起こり、小胞体ストレス応答のセンサータンパク質である inositol-requiring 1 (IRE1) や double-stranded RNA-activated kinase-like kinase (PERK) の活性化がみられた。この小胞体ストレス応答の活性化は不飽和脂肪酸の添加により完全に抑制され、またリン脂質に不飽和脂肪酸を導入する LPCAT3 の発現抑制により相乗的に増強された。このリン脂質脂肪酸鎖の不飽和度の減少による小胞体ストレス応答の活性化の意義は現在のところ不明であるが、上述のリン脂質新規合成経路と同様に、リン脂質脂肪酸鎖のリモデリング経路も小胞体ストレス応答の下流で制御されていたら興味深い。

おわりに

以上のように、哺乳動物のグリセロリン脂質合成の反応を担う分子実体のほとんどが分かってきた。今後これらの遺伝子欠損マウスの解析により、各遺伝子のリン脂質合成系に対する寄与が明らかになってくるものと思われる。また生合成系の遺伝子が多様なオルガネラに局在することから、リン脂質のオルガネラ間の移動過程も生合成およびその制御に重要な過程である。スフィンゴ脂質合成におけるセラミド輸送タンパク質 CERT の機能¹²²⁾はその一つの例となるが、グリセロリン脂質の合成における CERT のような分子はまだみつかっていない。このようなオルガネラ間のグリセロリン脂質の輸送を担う分子実体が解明されれば、グリセロリン脂質の生合成経路とその制御の全容の解明において大きなブレイクスルーとなるとと思われる。

文 献

- 1) Kennedy, E.P. & Weiss, S.B. (1956) *J. Biol. Chem.*, **222**, 193–214.
- 2) Lands, W.E. (1958) *J. Biol. Chem.*, **231**, 883–888.
- 3) Takeuchi, K. & Reue, K. (2009) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **296**, E1195–1209.
- 4) Shin, D.H., Paulauskis, J.D., Moustaid, N., & Sul, H.S. (1991) *J. Biol. Chem.*, **266**, 23834–23839.
- 5) 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.
- 6) Tang, W., Yuan, J., Chen, X., Gu, X., Luo, K., Li, J., Wan, B., Wang, Y., & Yu, L. (2006) *J. Biochem. Mol. Biol.*, **39**, 626–635.
 - 7) Li, D., Yu, L., Wu, H., Shan, Y., Guo, J., Dang, Y., Wei, Y., & Zhao, S. (2003) *J. Hum. Genet.*, **48**, 438–442.
 - 8) 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.
 - 9) Kume, K. & Shimizu, T. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **237**, 663–666.
 - 10) Eberhardt, C., Gray, P.W., & Tjoelker, L.W. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 20299–20305.
 - 11) Lewin, T.M., Wang, P., & Coleman, R.A. (1999) *Biochemistry*, **38**, 5764–5771.
 - 12) Yet, S.F., Lee, S., Hahm, Y.T., & Sul, H.S. (1993) *Biochemistry*, **32**, 9486–9491.
 - 13) Wang, S., Lee, D.P., Gong, N., Schwerbrock, N.M., Mashek, D.G., Gonzalez-Baró, M.R., Stapleton, C., Li, L.O., Lewin, T. M., & Coleman, R.A. (2007) *Arch. Biochem. Biophys.*, **465**, 347–358.
 - 14) Beigneux, A.P., Vergnes, L., Qiao, X., Quatela, S., Davis, R., Watkins, S.M., Coleman, R.A., Walzem, R.L., Philips, M., Reue, K., & Young, S.G. (2006) *J. Lipid Res.*, **47**, 734–744.
 - 15) Coleman, R.A. & Lee, D.P. (2004) *Prog. Lipid Res.*, **43**, 134–176.
 - 16) Cao, J., Li, J.L., Li, D., Tobin, J.F., & Gimeno, R.E. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **103**, 19695–19700.
 - 17) Lu, B., Jiang, Y.J., Kim, P., Moser, A., Elias, P.M., Grunfeld, C., & Feingold, K.R. (2010) *J. Lipid Res.*, **51**, 3207–3216.
 - 18) Yu, C.Y., Mayba, O., Lee, J.V., Tran, J., Harris, C., Speed, T. P., & Wang, J.C. (2010) *PLoS One*, **5**, e15188.
 - 19) Shan, D., Li, J.L., Wu, L., Li, D., Hurov, J., Tobin, J.F., Gimeno, R.E., & Cao, J. (2010) *J. Lipid Res.*, **51**, 1971–1981.
 - 20) Lu, B., Jiang, Y.J., Zhou, Y., Xu, F.Y., Hatch, G.M., & Choy, P.C. (2005) *Biochem. J.*, **385**, 469–477.
 - 21) Yuki, K., Shindou, H., Hishikawa, D., & Shimizu, T. (2009) *J. Lipid Res.*, **50**, 860–869.
 - 22) Prasad, S.S., Garg, A., & Agarwal, A.K. (2011) *J. Lipid Res.*, **52**, 451–462.
 - 23) Chen, X., Hyatt, B.A., Mucenski, M.L., Mason, R.J., & Shannon, J.M. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **103**, 11724–11729.
 - 24) Gijón, M.A., Riekhof, W.R., Zarini, S., Murphy, R.C., & Voelker, D.R. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 30235–30245.
 - 25) Montero-Moran, G., Caviglia, J.M., McMahon, D., Rothenberg, A., Subramanian, V., Xu, Z., Lara-Gonzalez, S., Storch, J., Carman, G.M., & Brasaemle, D.L. (2010) *J. Lipid Res.*, **51**, 709–719.
 - 26) Schmidt, J.A. & Brown, W.J. (2009) *J. Cell Biol.*, **186**, 211–218.
 - 27) Yamaguchi, T., Omatsu, N., Matsushita, S., & Osumi, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 30490–30497.
 - 28) Nagan, N. & Zoeller, R.A. (2001) *Prog. Lipid Res.*, **40**, 199–229.
 - 29) Thai, T.P., Heid, H., Rackwitz, H.R., Hunziker, A., Gorgas, K., & Just, W.W. (1997) *FEBS Lett.*, **420**, 205–211.
 - 30) de Vet, E.C., Zomer, A.W., Lahaut, G.J., & van den Bosch, H. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 798–803.
 - 31) Biermann, J., Gootjes, J., Humbel, B.M., Dansen, T.B., Wanders, R.J., & van den Bosch, H. (1999) *Eur. J. Cell Biol.*, **78**, 339–348.
 - 32) Cheng, J.B. & Russell, D.W. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 37789–37797.
 - 33) Jenkins, G.M. & Frohman, M.A. (2005) *Cell Mol. Life Sci.*, **62**, 2305–2316.
 - 34) Sakane, F., Imai, S., Kai, M., Yasuda, S., & Kanoh, H. (2008) *Curr. Drug Targets*, **9**, 626–640.
 - 35) Mok, A.Y., McDougall, G.E., & McMurray, W.C. (1992) *FEBS Lett.*, **312**, 236–240.
 - 36) Saito, S., Goto, K., Tonosaki, A., & Kondo, H. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 9503–9509.
 - 37) Péterfy, M., Phan, J., Xu, P., & Reue, K. (2001) *Nat. Genet.*, **27**, 121–124.
 - 38) Bou Khalil, M., Blais, A., Figeys, D., & Yao, Z. (2010) *Biochim. Biophys. Acta*, **1801**, 1249–1259.
 - 39) Harris, T.E., Huffman, T.A., Chi, A., Shabanowitz, J., Hunt, D.F., Kumar, A., & Lawrence, J.C. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 277–286.
 - 40) Grimsey, N., Han, G.S., O'Hara, L., Rochford, J.J., Carman, G.M., & Siniosoglou, S. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 29166–29174.
 - 41) Tanaka, S., Nikawa, J., Imai, H., Yamashita, S., & Hosaka, K. (1996) *FEBS Lett.*, **393**, 89–92.
 - 42) Imai, A. & Gershengorn, M.C. (1987) *J. Biol. Chem.*, **262**, 6457–6459.
 - 43) Kawasaki, K., Kuge, O., Chang, S.C., Heacock, P.N., Rho, M., Suzuki, K., Nishijima, M., & Dowhan, W. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 1828–1834.
 - 44) Kawasaki, K., Kuge, O., Yamakawa, Y., & Nishijima, M. (2001) *Biochem. J.*, **354**, 9–15.
 - 45) Hatch, G.M., Gu, Y., Xu, F.Y., Cizeau, J., Neumann, S., Park, J.S., Loewen, S., & Mowat, M.R. (2008) *Mol. Biol. Cell*, **19**, 1083–1092.
 - 46) Xu, F.Y., McBride, H., Acehan, D., Vaz, F. M., Houtkooper, R. H., Lee, R. M., Mowat, M. A., & Hatch, G. M. (2010) *Biochim. Biophys. Acta*, **1798**, 1577–1585.
 - 47) Chen, D., Zhang, X.Y., & Shi, Y. (2006) *Biochem. J.*, **398**, 169–176.
 - 48) Nie, J., Hao, X., Chen, D., Han, X., Chang, Z., & Shi, Y. (2010) *Biochim. Biophys. Acta*, **1801**, 438–445.
 - 49) Hullin-Matsuda, F., Kawasaki, K., Delton-Vandenbroucke, I., Xu, Y., Nishijima, M., Lagarde, M., Schlame, M., & Kobayashi, T. (2007) *J. Lipid Res.*, **48**, 1997–2008.
 - 50) Uchida, T. & Yamashita, S. (1992) *J. Biol. Chem.*, **267**, 10156–10162.
 - 51) Aoyama, C., Nakashima, K., Matsui, M., & Ishidate, K. (1998) *Biochim. Biophys. Acta*, **1390**, 1–7.
 - 52) Aoyama, C., Ishidate, K., Sugimoto, H., & Vance, D.E. (2007) *Biochim. Biophys. Acta*, **1771**, 1148–1155.
 - 53) Kalmar, G.B., Kay, R. J., Lachance, A., Aebersold, R., & Cornell, R.B. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **87**, 6029–6033.
 - 54) Lykidis, A., Murti, K.G., & Jackowski, S. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 14022–14029.
 - 55) Lykidis, A., Baburina, I., & Jackowski, S. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 26992–27001.
 - 56) Sugimoto, H., Banchio, C., & Vance, D.E. (2008) *Prog. Lipid Res.*, **47**, 204–220.
 - 57) McMaster, C.R. & Bell, R.M. (1997) *Biochim. Biophys. Acta*, **1348**, 100–110.
 - 58) Henneberry, A.L., Wistow, G., & McMaster, C.R. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 29808–29815.

- 59) Chakraborty, A.K. & Das, S.K. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **312**, 1104–1110.
- 60) Henneberry, A.L. Wright, M.M., & McMaster, C.R. (2002) *Mol. Biol. Cell*, **13**, 3148–3161.
- 61) Henneberry, A.L. & McMaster, C.R. (1999) *Biochem. J.*, **339**, 291–298.
- 62) Cui, Z., Vance, J.E., Chen, M.H., Voelker, D.R., & Vance, D.E. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 16655–16663.
- 63) Shields, D.J., Lehner, R., Agellon, L.B., & Vance, D.E. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 2956–2962.
- 64) Cole, L.K. & Vance, D.E. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 11880–11891.
- 65) Lykidis, A., Wang, J., Karim, M.A., & Jackowski, S. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 2174–2179.
- 66) Nakashima, A., Hosaka, K., & Nikawa, J. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 9567–9572.
- 67) van Hellemond, J.J., Slot, J.W., Geelen, M.J., van Golde, L. M., & Vermeulen, P.S. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 15415–15418.
- 68) Vermeulen, P.S., Tijburg, L.B., Geelen, M.J., & van Golde, L. M. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 7458–7464.
- 69) Zhu, L., Johnson, C., & Bakovic, M. (2008) *J. Lipid Res.*, **49**, 2197–2211.
- 70) Zhu, L., Michel, V., & Bakovic, M. (2009) *Gene*, **447**, 51–59.
- 71) Horibata, Y. & Hirabayashi, Y. (2007) *J. Lipid Res.*, **48**, 503–508.
- 72) Voelker, D.R. (1989) *J. Biol. Chem.*, **264**, 8019–8025.
- 73) Kuge, O., Nishijima, M., & Akamatsu, Y. (1991) *J. Biol. Chem.*, **266**, 6370–6376.
- 74) Kuge, O., Saito, K., Kojima, M., Akamatsu, Y., & Nishijima, M. (1996) *Biochem. J.*, **319**, 33–38.
- 75) Kuge, O., Nishijima, M., & Akamatsu, Y. (1991) *J. Biol. Chem.*, **266**, 24184–24189.
- 76) Kuge, O., Saito, K., & Nishijima, M. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 19133–19139.
- 77) Saito, K., Nishijima, M., & Kuge, O. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 17199–17205.
- 78) Saito, K., Kuge, O., Akamatsu, Y., & Nishijima, M. (1996) *FEBS Lett.*, **395**, 262–266.
- 79) Stone, S.J. & Vance, J.E. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 34534–34540.
- 80) Cao, J., Liu, Y., Lockwood, J., Burn, P., & Shi, Y. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 31727–31734.
- 81) Imae, R., Inoue, T., Kimura, M., Kanamori, T., Tomioka, N. H., Kage-Nakadai, E., Mitani, S., & Arai, H. (2010) *Mol. Biol. Cell*, **21**, 3114–3124.
- 82) Shindou, H., Hishikawa, D., Harayama, T., Yuki, K., & Shimizu, T. (2009) *J. Lipid Res.*, **50** Suppl, S46–51.
- 83) Yang, Y., Cao, J., & Shi, Y. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 55866–55874.
- 84) Nakanishi, H., Shindou, H., Hishikawa, D., Harayama, T., Ogasawara, R., Suwabe, A., Taguchi, R., & Shimizu, T. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 20140–20147.
- 85) Harayama, T., Shindou, H., Ogasawara, R., Suwabe, A., & Shimizu, T. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 11097–11106.
- 86) 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.
- 87) Hofmann, K. (2000) *Trends Biochem. Sci.*, **25**, 111–112.
- 88) Chang, S.C. & Magee, A.I. (2009) *Mol. Membr. Biol.*, **26**, 104–113.
- 89) Riekhof, W.R., Wu, J., Jones, J.L., & Voelker, D.R. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 28344–28352.
- 90) Benghezal, M., Roubaty, C., Veepuri, V., Knudsen, J., & Conzelmann, A. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 30845–30855.
- 91) Jain, S., Stanford, N., Bhagwat, N., Seiler, B., Costanzo, M., Boone, C., & Oelkers, P. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 30562–30569.
- 92) 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.
- 93) Hishikawa, D., Shindou, H., Kobayashi, S., Nakanishi, H., Taguchi, R., & Shimizu, T. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **105**, 2830–2835.
- 94) 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.
- 95) Taylor, W.A. & Hatch, G.M. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 30360–30371.
- 96) Agarwal, A.K., Barnes, R.I., & Garg, A. (2006) *Arch. Biochem. Biophys.*, **449**, 64–76.
- 97) Zhao, Y., Chen, Y.Q., Li, S., Konrad, R.J., & Cao, G. (2009) *J. Lipid Res.*, **50**, 945–956.
- 98) 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.
- 99) Matsuda, S., Inoue, T., Lee, H.C., Kono, N., Tanaka, F., Gengyo-Ando, K., Mitani, S., & Arai, H. (2008) *Genes Cells*, **13**, 879–888.
- 100) Kazachkov, M., Chen, Q., Wang, L., & Zou, J. (2008) *Lipids*, **43**, 895–902.
- 101) Jain, S., Zhang, X., Khandelwal, P.J., Saunders, A.J., Cummings, B.S., & Oelkers, P. (2009) *J. Lipid Res.*, **50**, 1563–1570.
- 102) 進藤英雄 (2010) 生化学, **82**, 1091–1102.
- 103) Wallis, J.G., Watts, J.L., & Browse, J. (2002) *Trends Biochem. Sci.*, **27**, 467.
- 104) Nakagawa, Y., Rüstow, B., Rabe, H., Kunze, D., & Waku, K. (1989) *Arch. Biochem. Biophys.*, **268**, 559–566.
- 105) Darnell, J.C., Osterman, D.G., & Saltiel, A.R. (1991) *Biochim. Biophys. Acta*, **1084**, 269–278.
- 106) Darnell, J.C., Osterman, D.G., & Saltiel, A.R. (1991) *Biochim. Biophys. Acta*, **1084**, 279–291.
- 107) Holub, B.J. & Piekarski, J. (1979) *Lipids*, **14**, 529–532.
- 108) Darnell, J.C. & Saltiel, A.R. (1991) *Biochim. Biophys. Acta*, **1084**, 292–299.
- 109) Kanamori, T., Inoue, T., Sakamoto, T., Gengyo-Ando, K., Tsujimoto, M., Mitani, S., Sawa, H., Aoki, J., & Arai, H. (2008) *EMBO J.*, **27**, 1647–1657.
- 110) Cornell, R.B. & Northwood, I.C. (2000) *Trends Biochem. Sci.*, **25**, 441–447.
- 111) Kent, C. (2005) *Biochim. Biophys. Acta*, **1733**, 53–66.
- 112) Agassandian, M., Zhou, J., Tephly, L.A., Ryan, A.J., Carter, A.B., & Mallampalli, R.K. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 21577–21587.
- 113) Kuge, O., Hasegawa, K., Saito, K., & Nishijima, M. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 4199–4203.
- 114) Kuge, O., Hasegawa, K., Ohsawa, T., Saito, K., & Nishijima, M. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 42692–42698.
- 115) Tomohiro, S., Kawaguti, A., Kawabe, Y., Kitada, S., & Kuge, O. (2009) *Biochem. J.*, **418**, 421–429.
- 116) Honsho, M., Asaoku, S., & Fujiki, Y. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 8537–8542.

- 117) Butler, P.L. & Mallampalli, R.K. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 6246–6258.
- 118) Sriburi, R., Jackowski, S., Mori, K., & Brewer, J.W. (2004) *J. Cell Biol.*, **167**, 35–41.
- 119) Bommiasamy, H., Back, S.H., Fagone, P., Lee, K., Meshinchi, S., Vink, E., Sriburi, R., Frank, M., Jackowski, S., Kaufman, R.J., & Brewer, J.W. (2009) *J. Cell Sci.*, **122**, 1626–1636.
- 120) Sriburi, R., Bommiasamy, H., Buldak, G.L., Robbins, G.R., Frank, M., Jackowski, S., & Brewer, J.W. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 7024–7034.
- 121) Ariyama, H., Kono, N., Matsuda, S., Inoue, T., & Arai, H. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 22027–22035.
- 122) Hanada, K., Kumagai, K., Yasuda, S., Miura, Y., Kawano, M., Fukasawa, M., & Nishijima, M. (2003) *Nature*, **426**, 803–809.
- 123) Ericsson, J., Jackson, S.M., Kim, J.B., Spiegelman, B.M., & Edwards, P.A. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 7298–7305.
- 124) Bronnikov, G.E., Aboulaich, N., Vener, A.V., & Strålfors, P. (2008) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **367**, 201–207.
- 125) Onorato, T.M., Chakraborty, S., & Haldar, D. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 19527–19534.
- 126) Aguado, B. & Campbell, R.D. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 4096–4105.
- 127) Eberhardt, C., Gray, P.W., & Tjoelker, L.W. (1999) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **469**, 351–356.
- 128) Gale, S.E., Frolov, A., Han, X., Bickel, P.E., Cao, L., Bowcock, A., Schaffer, J.E., & Ory, D.S. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 11082–11089.
- 129) Nielsen, R., Pedersen, T.A., Hagenbeek, D., Moulos, P., Siersbaek, R., Megens, E., Denissov, S., Børjesen, M., Francoijs, K.J., Mandrup, S., & Stunnenberg, H.G. (2008) *Genes Dev.*, **22**, 2953–2967.
- 130) Bou Khalil, M., Sundaram, M., Zhang, H.Y., Links, P.H., Raven, J.F., Manmontri, B., Sariahmetoglu, M., Tran, K., Reue, K., Brindley, D.N., & Yao, Z. (2009) *J. Lipid Res.*, **50**, 47–58.
- 131) Zhang, P., O’Loughlin, L., Brindley, D.N., & Reue, K. (2008) *J. Lipid Res.*, **49**, 1519–1528.
- 132) Finck, B.N., Gropler, M.C., Chen, Z., Leone, T.C., Croce, M. A., Harris, T.E., Lawrence, J.C., & Kelly, D.P. (2006) *Cell Metab.*, **4**, 199–210.
- 133) Ishimoto, K., Nakamura, H., Tachibana, K., Yamasaki, D., Ota, A., Hirano, K., Tanaka, T., Hamakubo, T., Sakai, J., Kodama, T., & Doi, T. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 22195–22205.
- 134) Péterfy, M., Harris, T.E., Fujita, N., & Reue, K. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 3857–3864.
- 135) Lu, B., Lu, Y., Moser, A.H., Shigenaga, J.K., Grunfeld, C., & Feingold, K.R. (2008) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **295**, E1502–1509.
- 136) Liu, G.H. & Gerace, L. (2009) *PLoS One*, **4**, e7031.
- 137) Liu, G.H., Qu, J., Carmack, A.E., Kim, H.B., Chen, C., Ren, H., Morris, A.J., Finck, B.N., & Harris, T.E. (2010) *Biochem. J.*, **432**, 65–76.
- 138) Inglis-Broadgate, S.L., Ocaka, L., Banerjee, R., Gaasenbeek, M., Chapple, J.P., Cheetham, M.E., Clark, B.J., Hunt, D.M., & Halford, S. (2005) *Gene*, **356**, 19–31.
- 139) Lykidis, A., Jackson, P.D., Rock, C.O., & Jackowski, S. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 33402–33409.
- 140) Tessner, T.G., Rock, C.O., Kalmar, G.B., Cornell, R.B., & Jackowski, S. (1991) *J. Biol. Chem.*, **266**, 16261–16264.
- 141) Carter, J.M., Waite, K.A., Campenot, R.B., Vance, J.E., & Vance, D.E. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 44988–44994.
- 142) Gehrig, K., Lagace, T.A., & Ridgway, N.D. (2009) *Biochem. J.*, **418**, 209–217.
- 143) Favale, N.O., Fernández-Tome, M.C., Pescio, L.G., & Sterin-Speziale, N.B. (2010) *Biochim. Biophys. Acta*, **1801**, 1184–1194.
- 144) Ando, H., Horibata, Y., Yamashita, S., Oyama, T., & Sugimoto, H. (2010) *Biochim. Biophys. Acta*, **1801**, 487–495.
- 145) Tasseva, G., Cole, L., & Vance, J.E. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 1061–1073.
- 146) Kuge, O., Saito, K., & Nishijima, M. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 23844–23849.
- 147) Zou, C., Butler, P.L., Coon, T.A., Smith, R.M., Hammen, G., Zhao, Y., Chen, B.B., & Mallampalli, R.K. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 2719–2727.
- 148) Shindou, H., Hishikawa, D., Nakanishi, H., Harayama, T., Ishii, S., Taguchi, R., & Shimizu, T. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 6532–6539.
- 149) Morimoto, R., Shindou, H., Oda, Y., & Shimizu, T. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 29857–29862.
- 150) Demeure, O., Lecerf, F., Duby, C., Desert, C., Ducheix, S., Guillou, H., & Lagarrigue, S. (2011) *Gene*, **470**, 7–11.
- 151) Li, J., Romestaing, C., Han, X., Li, Y., Hao, X., Wu, Y., Sun, C., Liu, X., Jefferson, L.S., Xiong, J., Lanoue, K.F., Chang, Z., Lynch, C.J., Wang, H., & Shi, Y. (2010) *Cell Metab.*, **12**, 154–165.
- 152) Cao, J., Shen, W., Chang, Z., & Shi, Y. (2009) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **296**, E647–653.
- 153) Akiyama, M., Sakai, K., Takayama, C., Yanagi, T., Yamanaka, Y., McMillan, J.R., & Shimizu, H. (2008) *Am. J. Pathol.*, **173**, 1349–1360.