

チン構造変換がオリゴデンドロサイトの分化に寄与していることを示唆している。

5. 終わりに

本稿では紙面の都合上ごく少数しか紹介できなかったが、最近では、上述のようなエピジェネティクス制御による神経幹細胞分化に関する報告は数多くなされている。しかし、それらの報告は未だ部分的な解明が多く、神経幹細胞の時空間的な運命決定機構の全体像の把握には至っていないのが現状である。最近ではChIP on Chipなど細胞のゲノム上のクロマチン状態を網羅的に明らかにする手法や、それらから得られた膨大な情報を解析するシステムバイオロジーなどが発達してきている。それらの手法を用いた神経幹細胞分化におけるクロマチン動態の全体的な把握、同時に特異的発現遺伝子の網羅的解析が、神経幹細胞の運命決定機構の統合的理解には必要であろう。さらにそれらに加え、神経幹細胞をとりまく細胞外環境の解析を含めることにより、詳細な神経幹細胞の運命決定機構のメカニズムの解明がなされることが期待できる。そこから得られた知見をもとに、それぞれの時期、場所に適切な神経幹細胞を準備することが可能になれば、各症状・病状に合わせた適切な組織の移植が求められる再生医療に大きく貢献できると考えられる。

- 1) Gage, F.H. (2000) *Science*, **287**, 1433–1438.
- 2) Gottlicher, M. (2004) *Ann. Hematol.*, **83 Suppl 1**, S91–92.
- 3) Hsieh, J., Nakashima, K., Kuwabara, T., Mejia, E., & Gage, F. H. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 16659–16664.
- 4) Ballas, N., Grunseich, C., Lu, D.D., Speh, J.C., & Mandel, G. (2005) *Cell*, **121**, 645–657.
- 5) Lessard, J., Wu, J.I., Ranish, J.A., Wan, M., Winslow, M.M., Staahl, B.T., Wu, H., Aebersold, R., Graef, I.A., & Crabtree, G.R. (2007) *Neuron*, **55**, 201–215.
- 6) Kuwabara, T., Hsieh, J., Nakashima, K., Taira, K., & Gage, F. H. (2004) *Cell*, **116**, 779–793.
- 7) Takizawa, T., Nakashima, K., Namihira, M., Ochiai, W., Uemura, A., Yanagisawa, M., Fujita, N., Nakao, M., & Taga T. (2001) *Dev. Cell*, **1**, 749–758.
- 8) Namihira, M., Nakashima, K., & Taga, T. (2004) *FEBS Lett.*, **572**, 184–188.
- 9) Fan, G., Martinowich, K., Chin, M.H., He, F., Fouse, S.D., Hutton, L., Hattori, D., Ge, W., Shen, Y., Wu, H., ten Hoeve, J., Shuai, K., & Sun, Y.E. (2005) *Development*, **132**, 3345–3356.
- 10) Song, M.R. & Ghosh, A. (2004) *Nat. Neurosci.*, **7**, 229–235.
- 11) Setoguchi, H., Namihira, M., Kohyama, J., Asano, H., Sanosaka, T., & Nakashima, K. (2006) *J. Neurosci. Res.*, **84**, 969–979.
- 12) Shen, S., Li, J., & Casaccia-Bonnel, P. (2005) *J. Cell Biol.*, **169**, 577–589.
- 13) Marin-Husstege, M., Muggironi, M., Liu, A., & Casaccia-

- Bonnefil, P. (2002) *J. Neurosci.*, **22**, 10333–10345.
- 14) He, Y., Dupree, J., Wang, J., Sandoval, J., Li, J., Liu, H., Shi, Y., Nave, K.A., & Casaccia-Bonnel, P. (2007) *Neuron*, **55**, 217–230.

波平 昌一, 中島 欽一
(奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科
分子神経分化制御学講座)

Epigenetic regulation of neural stem cell fate specification
Masakazu Namihira and Kinichi Nakashima (Laboratory of
Molecular Neuroscience, Graduate School of Biological Sciences,
Nara Institute of Science and Technology, 8916-5
Takayama-cho, Ikoma, Nara 630-0101, Japan)

リゾリン脂質アシル転移酵素と血小板活性化因子 (PAF) 生合成酵素

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。当初、細胞内(主に小胞体)で作られたグリセロリン脂質はスクランブラーゼによってランダムに配置している。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)など数種類が存在する。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オレイン酸、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。この脂肪酸種はグリセロリン脂質の極性基や細胞種により多様な組成比を示し、膜の柔軟性や生理活性脂質産生に大きく関与している。

1950年代に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¹⁾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-リン酸か

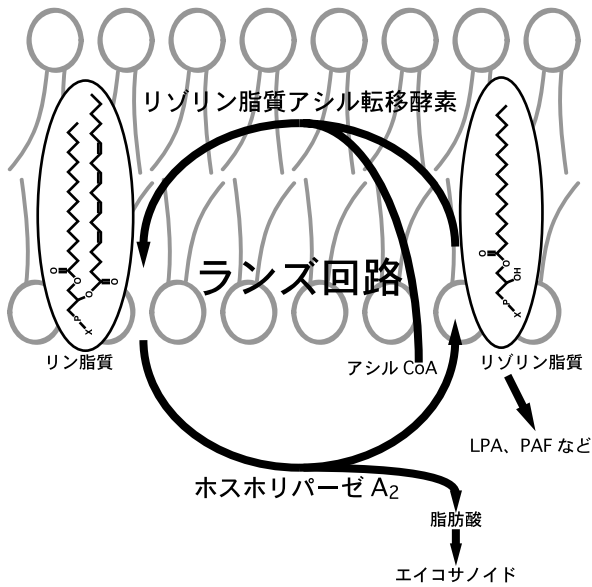


図1 ランズ回路

生体膜リン脂質からホスホリパーゼ A₂ によって sn-2 位の脂肪酸が遊離し、同時にリゾリン脂質ができる。脂肪酸はエイコサノイドに変換され、リゾリン脂質はリゾリン脂質アシル転移酵素によって再び脂肪酸が結合し、リン脂質になる。一部のリゾリン脂質は生理活性を示し (LPA など) たり、生理活性を持つ PAF に変換される。(Lands, W.E. 1958 より一部改変)

ら合成される。しかし、これだけでは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。そこで、もう一つのランズ回路 (リモデリング経路) が登場した²⁾。この回路では、ケネディー経路だけでは生合成できなかった sn-2 位に PUFA を持つグリセロリン脂質を生合成できる。例えば、ケネディー経路で作られた PC の sn-2 位脂肪酸は、ホスホリパーゼ A₂ によって切断され、リゾ PC (LPC) になる。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)。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。生体膜が持つ豊かな脂肪酸組成の特徴および生理活性を持つリン脂質; 血小板活性化因子 (PAF) やリゾ PA (LPA), などの生合成などは、このアシル転移酵素によっても調節されているだろう。また、この回路で切り出される脂肪酸の代表例はアラキドン酸であり、その後生理活性脂質として働く。つまりアシル転移酵素は生理活性脂質の貯蔵の役割も

果たしている。ケネディー経路およびランズ回路は既に 1950 年代に報告されていたが、近年ようやく分子同定がなされてきた状況である。我々は、脂質の多様性を産み出すランズ回路の酵素であるリゾリン脂質アシル転移酵素に注目した。

2. リゾリン脂質アシル転移酵素

これまで、リゾリン脂質アシル転移酵素として同定されているマウスおよびヒトの遺伝子は少ない。1997 年に我々の研究室を含む複数のグループから LPAAT³⁾ が報告された他に、2004 年にリゾ PGAT, リゾカルジオリピン AT 等が分子同定されている。しかし、生体膜リン脂質組成から考えると、他にもアシル転移酵素はグリセロリン脂質の数だけ存在するだろう。例えばアミノアシル tRNA 合成酵素は、アミノ酸の数と同じだけ 20 種類存在するが、リゾリン脂質アシル転移酵素の場合、脂肪酸鎖長や飽和度に対する特異性を考えるとグリセロリン脂質の極性基の数以上存在するかもしれない。このように遺伝子情報が未開の分野ではあるが、同定された酵素には保存されているドメインが存在する。我々はその情報を基に候補遺伝子をゲノムデータベースから探索した。その中から、2 種類の酵素を同定しそれぞれ LPCAT1⁴⁾, LysoPAFAT/LPCAT2⁵⁾ と名付けた。

3. LPCAT1

(1) LPCAT1 の酵素学的特徴

マウス LPCAT1 は肺の II 型肺胞上皮細胞に最も強く発現し、また、基質である LPC の sn-1 位とアシル CoA の脂肪酸は共に中鎖飽和脂肪酸を好んだ。一部、sn-2 位に不飽和脂肪酸 (C18:3) を持つ PC も合成できたがその活性は低く、この酵素は主に飽和型 PC を作るということがわかった。生体内では II 型肺胞上皮細胞に飽和型 PC が多く、特に炭素数 16 の dipalmitoyl PC (DPPC) が多い。DPPC は、この細胞が分泌する肺サーファクタントの主成分である。

(2) 肺サーファクタントと LPCAT1

肺サーファクタントは肺胞を円滑に動かす、呼吸に必須の脂質とタンパク質の複合体である。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であり、また、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異常が関係していると考えられている。肺サーファクタントの構成成分の約8割がPCやPGなどの脂質であり、そのほとんどが飽和型PC (DPPC) であるが、これまでその合成に関する知見はほとんど無かった。

我々が同定したLPCAT1は、その基質特異性や発現細胞、また胎生末期に発現誘導されることから、サーファクタント脂質合成酵素である可能性が非常に高いと考えられる。しかし、これらのことは間接的な証拠になり得るが、直接的な証拠は今のところ一つもない。今後、siRNA実験やノックアウトマウスの作製により、酵素の関与を明らかにする必要がある。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、なぜ細胞膜脂質に組み込まれないのか、など興味深い謎が多く残っている。

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

(1) これまでのPAF研究

PAFはsn-1位に脂肪酸がエーテル結合し、sn-2位にはアセチル基が結合したグリセロリン脂質で、強力な脂質メディエーターとして働く。PAFは1972年に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⁶⁾。その後、1991年に我々の研究室で、7回膜貫通型受容体であるPAF受容体のクローニングに成功し⁷⁾、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。PAFの合成酵素 (リゾPAFアセチル転移酵素) と分解酵素 (PAFアセチル水解酵素) は、1985年にその存在 (活性) が確認された。その後、1994-5年に日本⁸⁾とアメリカのグループ⁹⁾がPAF分解酵素を同定し、2007年になり我々はPAF合成酵素の同定に成功した⁵⁾。

(2) リゾPAFアセチル転移酵素の同定

リゾPAFアセチル転移酵素はリゾPAFにアセチル基を結合させPAFを合成する酵素である。我々は、アシル転移酵素の候補遺伝子の中からリゾPAFアセチル転移酵素を同定し、後述する理由もありLysoPAFAT/LPCAT2と名付けた⁵⁾。本酵素はマクロファージや好中球に強く発現し、さらにマウスチオグリコレート誘導マクロファージをバクテリア由来成分のリポポリサッカライド (TLR4アゴニスト) で刺激すると本酵素の遺伝子発現が誘導された。これは抗炎症作用を持つデキサメタゾンにより抑制された。同様にTLR9刺激で誘導されたが、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。以上の結果はウイルス感染時ではなく、バクテリア感染時にLysoPAFAT/LPCAT2発現量が上昇することを表している。酵素反応産物がPAFであることは、PAF受容体結合実験や質量分析計を用いるなど複数の方法で確認した。また、内在性のリゾPAFアセチル転移酵素活性が強いHEK293細胞にLysoPAFAT/LPCAT2のsiRNAをトランスフェクションすると、その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。

(3) 2種類の活性

驚くべきことに、LysoPAFAT/LPCAT2はリゾPAFからPAFを合成するだけでなく、アルキルPCを合成する活性 (LPCAT活性) も示した。一つの酵素がリゾPAFからPAFと、その前駆物質であるアルキルPCを生合成できることになる。このことからLysoPAFAT/LPCAT2と名付けた。では、LysoPAFAT/LPCAT2のリゾPAFアセチル転移酵素が活性化される時、LPCAT活性は変化するのだろうか? マクロファージ系の培養細胞であるRAW264.7にLysoPAFAT/LPCAT2を過剰発現させ、LPSで30分間刺激した。これまでの内在性リゾPAFアセチル転移酵素¹⁰⁾と同様に、LysoPAFAT/LPCAT2のリゾPAFアセチル転移酵

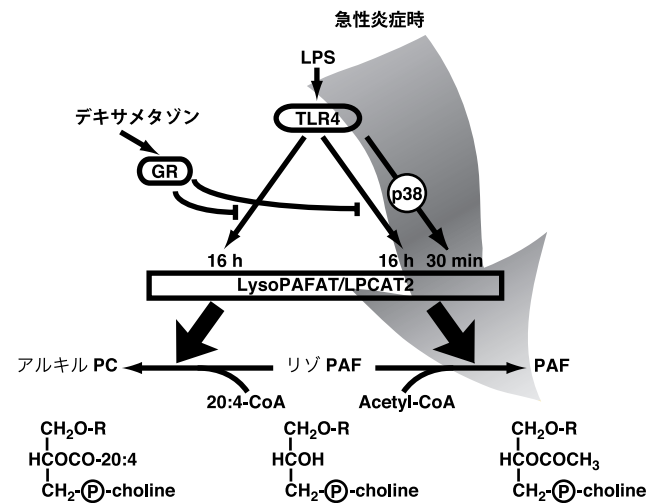


図2 LysoPAFAT/LPCAT2調節メカニズム

LysoPAFAT/LPCAT2はリゾPAFからPAFとアルキルPCの両方を生合成できた。リポポリサッカライドで長時間 (16時間) 処理すると酵素の発現量は上昇し、それはデキサメタゾンで抑制された。短時間 (30分) 刺激では、PAFを生合成するアセチル転移活性のみが上昇した。(Shindou, H. et al. 2007より引用)

素活性は上昇したが、一方で LPCAT 活性は変化しなかった (図 2)。つまり、急性の炎症時には PAF を生合成する活性のみが上昇していたのである。すなわちこの酵素は定常時には膜を作る役割や PAF をはじめとする生理活性脂質の材料を貯蔵する役割を果たしていると考えられる。今後はそれぞれの活性に対する特異的な阻害剤の開発と、2 種類の酵素の活性制御メカニズムを解明しなければならない。

5. おわりに

LPCAT1 と LysoPAFAT/LPCAT2 の基質認識部位、活性制御、発現調節や生体内での役割などには、まだまだ解明すべき点が多く残っている。さらに、これら二つの酵素の他にも、生体膜を生合成するリゾリン脂質アシル転移酵素は数多く存在するはずである。それら未同定の酵素があと何種類あるのか予測もできない。今後、より多くの酵素が同定されれば、リン脂質の多様性や非対称性、細胞によって異なる形態および特徴、さらに生理活性脂質の貯蔵メカニズムなどが明らかになるだろう。

本研究に御協力いただいた、岩手医科大学の諏訪部章教授、小笠原恵助教、東京大学メタボローム講座の田口良教授、中西広樹研究員に感謝致します。こ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、本教室の清水孝雄教授に深謝致します。また、共に解析を行った同研究室大学院生の菱川大介君、原山武士君に感謝致します。

- 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) Kume, K. & Shimizu, T. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **237**, 663–666.
- 4) Nakanishi, H., Shindou, H., Hishikawa, D., Harayama, T., Ogasawara, R., Suwabe, A., Taguchi, R., & Shimizu, T. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 20140–20147.
- 5) Shindou, H., Hishikawa, D., Nakanishi, H., Harayama, T., Ishii, S., Taguchi, R., & Shimizu, T. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 6532–6539.
- 6) Benveniste, J., Henson, P.M., & Cochrane, C.G. (1972) *J. Exp. Med.*, **136**, 1356–1377.
- 7) 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.
- 8) Hattori, M., Adachi, H., Tsujimoto, M., Arai, H., & Inoue, K. (1994) *Nature*, **370**, 216–218.
- 9) 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.
 10) Shindou, H., Ishii, S., Yamamoto, M., Takeda, K., Akira, S., & Shimizu, T. (2005) *J. Immunol.*, **175**, 1177–1183.

進藤 英雄

(東京大学大学院医学系研究科細胞情報)

Lysophospholipid acyltransferase and platelet-activating factor (PAF) biosynthetic enzyme

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)

プロトン感知性 GPCR 研究の展開

1. はじめに

G タンパク質共役型受容体 (G protein-coupled receptor; GPCR) は、受容体の中で最大のファミリーを形成している。受容体にリガンドが結合すると共役する三量体型 G タンパク質が活性化され、細胞内にシグナルを伝達する。リガンドの種類は非常に多岐にわたっているが、近年、細胞外環境の酸性化、すなわちプロトン濃度の上昇を感知して細胞内にシグナルを伝達する GPCR サブファミリーが同定された。本稿では、プロトン感知性 GPCR ファミリーに属するメンバーについて、細胞内シグナル伝達経路、プロトン感知の分子メカニズム、想定される生理機能などをまとめた。また、筆者らは、このファミリーの一員である G2A が、酸化脂質の受容体として機能することを同定したので、G2A に関する筆者らの最近の研究成果についても紹介する。

2. プロトン感知性 GPCR ファミリー

現在、プロトン感知性 GPCR ファミリーに属していると考えられているのは、OGR1 (ovarian cancer G protein-coupled receptor 1, GPR68), GPR4, TDAG8 (T cell death-associated gene 8, GPR65), G2A (GPR132) の四つの受容体である (図 1A)。これらの受容体はいずれもオーファン GPCR として報告されていたが、OGR1 がスフィンゴシルホスホリルコリン (SPC) の受容体であるとする 2000 年の報告を皮切りに、GPR4 と G2A が SPC とリゾホスファチジルコリン (LPC) の、TDAG8 がガラクトシルホスホ