

[過程-2]

審査の結果の要旨

氏名 菱川 大介

本研究は、生体膜リン脂質のリモデリング機構を明らかにするため、リゾリン脂質の再アシル化に重要な酵素である、リゾリン脂質アシル基転移酵素の同定と機能解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. 新規アシル基転移酵素を同定するため、様々な基質未知の O-アシル基転移酵素を用いたスクリーニングの結果、これまで報告のあるリゾリン脂質アシル基転移酵素と相同生を持たない酵素ファミリーである Membrane bound O-acyltransferase (MBOAT)ファミリーの中から、MBOAT1, MBOAT2, MBOAT5 という3つの酵素がリゾリン脂質転移酵素である事が示された。
2. それらの酵素の酵素学的解析により、MBOAT1 はリゾホスファチジルエタノールアミン(LPE)、リゾホスファチジルセリン(LPS)にそれぞれオレオイル CoA(18:1-CoA)を、MBOAT2 はリゾホスファチジルコリン(LPC)、LPEに 18:1-CoA を、さらに MBOAT5 は LPC、LPE、LPS に対して、アラキドノイル CoA(20:4-CoA)を始めとした多価不飽和脂肪酸 CoA を転移する活性を持つ事が示された。この酵素学的基質特異性から、それぞれ MBOAT1 を LPEAT1、MBOAT2 を LPCAT4、MBOAT5 を LPCAT3 と名付けた。
3. LPCAT3、LPCAT4 および LPEAT1 の mRNA のマウスにおける組織分布を解析したところ、LPCAT3 は比較的広範囲な臓器で発現していたが、特に精巣や肝臓での高く発現しており、LPCAT4 は脳や精巣、卵巣などで高く発現している事が示された。また LPEAT1 に関しては、胃や大腸、精巣上体において高く発現している事が示された。
4. LPCAT3、LPCAT4 および LPEAT1 の細胞内局在を解析するために、それぞれの N 末端に FLAG タグをつけたコンストラクトを作成し CHO-K1 細胞に導入した結果、全ての酵素が ER に局在する酵素である事が示された。また、それぞれの酵素を過剰発現させる事により、細胞内に脂質二重膜状のものが折り畳まれたような構造体が数多く観察される事が示された。

5. LPCAT3, LPCAT4 および LPEAT1 が高発現しているマウスのメラノーマ細胞由来の Cell line である B16 細胞においてそれぞれの siRNA を導入した際の内在性のリゾリン脂質アシル基転移酵素活性を解析したところ、LPCAT3-siRNA 導入 B16 細胞では、コントロール siRNA の導入細胞に比べて 20:4-CoA をドナーとした際の LPC、LPE、LPS に対するアシル基転移酵素活性が有意に低下していた。しかしながら、LPCAT4 および LPEAT1 に対する siRNA を導入した細胞では、コントロールの細胞との間にアシル基転移酵素活性の違いは認められなかった。
6. LPCAT3-siRNA およびコントロール siRNA を導入した B16 細胞の細胞膜のリゾリン脂質組成を解析したところ、LPCAT3-siRNA 導入細胞の細胞膜では、LPCAT3 が基質とするアラキドン酸やリノール酸を sn-2 位に持つホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリンの含量が低下している事が示された。

以上、本論文は3種類の新規リゾリン脂質アシル基転移酵素を同定し、その機能解析から、同定した酵素群が生体膜のリモデリングを介して膜リン脂質の組成をコントロールしている可能性を示している。本研究は、これまでに知られていなかった新たなリゾリン脂質アシル基転移酵素ファミリーを同定しており、未だ不明な点を数多く残している生体膜リン脂質のリモデリング機構およびその意義の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。