

新規生理活性脂質の探索と機能解析に関する研究

深野, 泰史

<https://hdl.handle.net/2324/1807111>

出版情報：九州大学, 2016, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 深野 泰史

論文題名 : 新規生理活性脂質の探索と機能解析に関する研究

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

細胞膜脂質やその代謝物が様々な生命現象において多彩な機能を発揮することが報告されている。本研究では、新規な生理機能を持つ脂質やその誘導体を探索し、それらの機能を解析した。GM1 ガングリオシド(シアル酸を持つスフィンゴ糖脂質)には神経突起の伸展作用などが知られている。今回、海洋微生物 *Pseudomonas sp.* YF-2 株を生体触媒とした GM1 の大量調製方法を開発した。また、YF2 株のシアリダーゼがポリシアロガングリオシドに作用して GM1 を生成するが、GM1 には作用しないことを示し、前述の GM1 調製法の基本原理を示した。さらに、スフィンゴ糖脂質からセラミドを切り離す酵素(エンドグリコセラミダーゼ)を作用させることで GM1 オリゴ糖を調製した。この GM1 オリゴ糖は、GM1 と同様に神経突起伸展作用及び神経細胞保護作用を有することを明らかにした。本研究結果より GM1 オリゴ糖は各種神経疾患の効果的な治療薬となる可能性が期待できる。また、糖脂質から脂肪酸を切り離す酵素(スフィンゴ脂質セラミド N-デアシラーゼ)を GM1 に作用して作製したリゾ GM1 にも神経突起伸展作用があることを見出した。

続いて、細胞膜脂質の 1 種であるホスファチジルイノシトールの代謝産物であるリゾホスファチジルイノシトール (LPI) 及びその受容体である GPR55 の免疫系における機能を解析した。先ず LPI-GPR55 経路を解析するツールとして、新規 GPR55 アンタゴニストを低分子化合物ライブラリーのハイスループットスクリーニングによって見出した。一方、LPI が脾細胞におけるリポポリサッカライド (LPS) 誘発 Interferon-inducible protein 10 の産生を増強することや混合グリア細胞における LPS 誘発インターロイキン-10 産生を抑制することを新たに見出した。これらの LPI の免疫応答増強作用は、今回見出した GPR55 アンタゴニストは影響を与えず、GPR55 欠損細胞においては増強作用は観察されなかったため GPR55 を介さない反応と考えられた。本研究結果より LPI が GPR55 を介さない免疫応答増強作用を有し、GPR55 以外の LPI 受容体の存在が示唆された。

次に、マウスミクログリアの遊走に関与する脂質をラベルフリーアッセイの 1 種であるインピーダンスベースドアッセイによって探索した。詳細な検討の結果、 $G\alpha_i$ タンパク質依存的にインピーダンスを上昇させるリガンドがミクログリアを遊走させることが示唆された。本アッセイを用いて 237 種の脂質ライブラリーをスクリーニングした結果、 $G\alpha_i$ を介してミクログリアのインピーダンスを上昇させる脂質として 5-oxo-6E,8Z,11Z,14Z-eicosatetraenoic acid (5-oxo-ETE) を同定した。期待通り 5-oxo-ETE はミクログリアの遊走を促進した。本研究によって、ミクログリアを遊走させる新たな生理活性脂質として 5-oxo-ETE が同定されるとともに、5-oxo-ETE の新規受容体の存在が示唆された。本研究は、インピーダンスベースドアッセイがミクログリア遊走に関与する GPCR のリガンド同定に有用であることも示している。