

## Molecular Mechanisms for Disorders Associated with Abnormalities of Membrane Phospholipid Metabolism

森田 真也 (Shin-ya MORITA)

滋賀医科大学医学部附属病院薬剤部 (Department of Pharmacy, Shiga University of Medical Science Hospital)

### 1. はじめに

リン脂質とは、細胞膜やリポタンパクを構成する両親媒性物質であるが、その状態や挙動の評価あるいは定性定量分析には困難を伴う。しかし、本研究では、薬剤学・物理化学・生化学・分子生物学など異なる視点からの様々なアイデアと実験手法を駆使し、さらには新たな定量法を自ら開発することによって、リン脂質の代謝異常によって引き起こされる疾患の発症メカニズムについて分子レベルで追究してきた。

### 2. 膜リン脂質によるリポタンパク代謝調節と動脈硬化の発生

動脈硬化の脂質危険因子について検討し、リン脂質の一種であるスフィンゴミエリン (SM) が、アポリポタンパクEのリポタンパクへの結合を低下させることにより、リポタンパクの肝細胞への取り込みを減少させることを明らかにした。一方で、動脈内皮下において、スフィンゴミエリナーゼによってSMからセラミドが産生すると、三次元セラミドドメインが粒子内で形成し、マクロファージへ過剰に取り込まれることで泡沫細胞形成が導かれることを示した。この結果から、セラミドが動脈硬化発生性分子として働くことを見出した。

### 3. リン脂質合成酵素とトランスポーターによる肝細胞胆汁酸耐性の獲得

毛細胆管内に存在する胆汁酸の界面活性作用により、肝細胞膜が崩壊すると、胆汁鬱滞から深刻な肝炎が生じる。しかし、どのようにして肝細胞が高濃度の胆汁酸に対する耐性を獲得しているのかは、解明されていない。そこで、トランスポーターのABCB4による胆汁酸界面活性作用 (攻撃因子) の低下と、ホスファチジルエタノールアミンメチル基転移酵素 (PEMT) による細胞膜整合性 (防御因子) の維持をその要因に考え、検討を行った。その結果、まず、ABCB4によるリン脂質排出が、胆汁酸によって引き起こされることを示した。続いて、細胞膜上の脂質ラフト (コレステロールとSMが濃縮したマイクロドメイン) の外に局在するABCB4が、リン脂質の中でも特にホスファチジルコリン (PC) を優先的に排出していることを明らかにした。ABCB4により排出されたPCは、毛細胆管内で胆汁酸と混合ミセルを形成し、胆汁酸の界面活性作用から肝細胞を保護する役割を有している。一方、ホスファチジルエタノールアミン (PE) をPCへと変換するPEMTが、細胞膜リン脂質組成と微絨毛構造を変化させ、肝細胞の抱合型胆汁酸に対する耐性を上昇させていることを明らかにした。本研究によるABCB4とPEMTの両側面からの成果により、肝細胞膜胆汁酸耐性メカニズムに対する理解が大きく前進したと言える。

### 4. リン脂質酵素蛍光定量法の開発

リン脂質と疾患の関係についての研究を行うにあたり、適切なリン脂質定量法が無いことを常に不便に感じていた。そこで、リン脂質クラスの酵素蛍光定量法の網羅の開発に着手し、これまでにPC・PE・SM・ホスファチジルセリン (PS)・ホスファチジン酸 (PA)・ホスファチジルグリセロール (PG)・カルジオリピン (CL) に対する定量法を確立している。酵素蛍光定量法とは、複数の酵素反応を組み合わせることで、特定の分子から特異的に蛍光物質を生成させ、蛍光強度測定により定量を行う方法である。従来法と比べて、これらの定量法は、操作が非常に簡便で、高感度かつ高精度であり、短時間でハイスループット定量が可能である。さらに全リン脂質クラスに対する酵素蛍光定量法の完成を達成することで、動物実験や植物・微生物実験を含む生命科学分野全般に及ぶインパクトをもたらすことが期待できる。

**[謝辞]** 本研究の遂行にあたり、御指導・御支援を賜りました半田哲郎先生 (京都大学教授、現鈴鹿医療科学大学教授)、植田和光先生 (京都大学教授)、北河修治先生 (神戸薬科大学学長)、寺田智祐先生 (滋賀医科大学教授)、ならびに御協力いただきました関係者の皆様に心より感謝申し上げます。