

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	病態関連膜脂質代謝の最先端研究 —医薬応用への戦略的展開—
研究機関・部局・職名	秋田大学・大学院医学系研究科・教授
氏名	佐々木 雄彦

【研究目的】

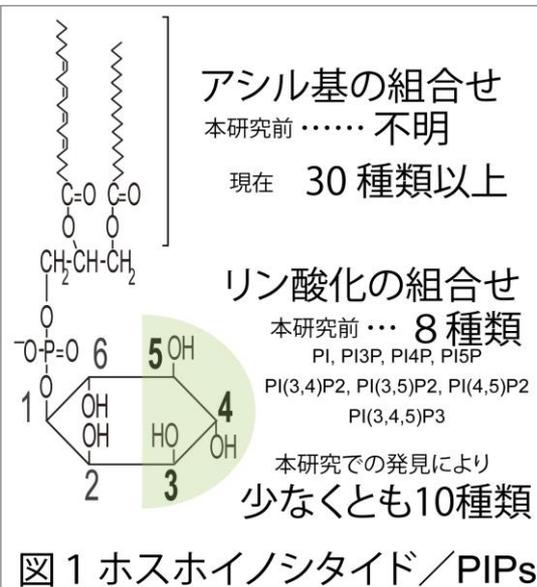
本研究は、細胞膜リン脂質ホスホイノシタイド (PIP_s) の生命機能解明を目的とし、ライフ・イノベーション推進への寄与を意図したものである。

ホスファチジルイノシトールのイノシトール環は、その3、4、5位水酸基に可逆的なリン酸化を受ける。その結果、ホスホイノシタイド (PIP_s) と総称される8種類のリン脂質が細胞膜に生成される (注：本研究によりこの記述は改められ、アシル基多様性はもとより、より多様なリン酸化体が存在すると考えられる (図1))。

がん遺伝子産物と会合する脂質キナーゼとして phosphoinositide 3-kinase

(PI3K) が発見され、この酵素により生成されるホスファチジルイノシトール 3, 4, 5-三リン酸 [PI(3, 4, 5)P₃: 以下 PIP₃] が、多様な標的分子を制御することが知られている。現在、PIP_s の中でその生理機能が最もよく理解されているのは、この PIP₃ である。発がんや炎症における PIP₃ 代謝の重要性や関連分子の生理機能解明に申請者も携わり、成果を世界に発信してきた (被引用数 11, 695、h-index 46)。特に、ポストドクとして海外で進めた PIP₃ の生成と分解に関する初期の研究成果 (Sasaki T. *et al.*, *Science* 287, 2000, 被引用数 729 件、Stambolic V. *et al.*, *Cell* 95, 1998, 被引用数 1409 件) は、その後多くの製薬企業が取り組んだ PI3K 阻害剤の医薬開発の原点となり、社会的課題の解決にも貢献しうる基礎研究であったと考えられる。2000年代に欧米で多くのベンチャー企業が興り、後に大手製薬企業が参入した開発が進み、現在、複数の PI3K 阻害剤の臨床試験が行われている。そのうちの一つは 2014 年中に B 細胞リンパ腫治療薬として FDA から認可される見込みとなっている。

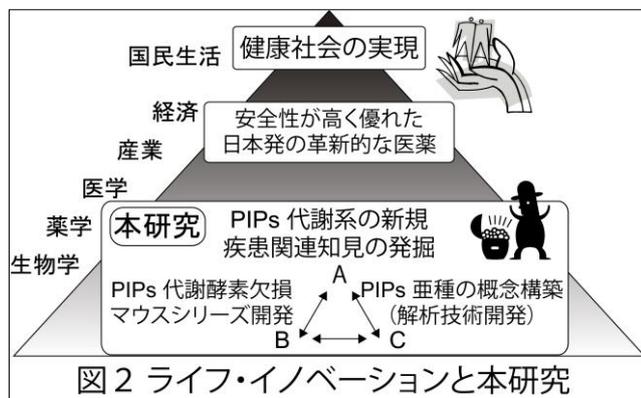
一方 PIP₃ 以外のいくつかの PIP_s についても、まだ不明な点は多いながら、それら自身が細胞内シグナル分子として機能することが示されている。生化学的解析では、様々な細胞機能発現の素過程に参与する 400 以上のタンパク質が、PIP_s と結合する



ことが示されている。この知見は、興味深い問題を提起している。それは、「多種多様な細胞内タンパク質と結合してこれらの機能を潜在的に調節する（調節してしまう）個々のPIPsが、いかにして、生命活動に合目的な特異性を持ったシグナル伝達機能を発揮しうるのか」という疑問である。この点について申請者は、「特定のPIPsがどの酵素によって生成・分解されるのかという過程が、そのPIPsが多様な局面で発揮する特異的な機能を担保する一つの機構であろう」という考えを提唱している。ヒトやマウスなどの哺乳動物の細胞において、PIPsのリン酸化・脱リン酸化による代謝／相互変換には18の反応が存在する。即ち、一つのPIPsが生成される反応が複数存在する。一方、PIPsのリン酸化・脱リン酸化酵素（以下代謝酵素）は47の遺伝子にコードされており、かつ、基質の重複も認められる。即ち、同一の代謝反応を触媒する酵素（アイソザイム）が複数存在し、多くの場合一つの細胞内に複数のアイソザイムが存在するのである。申請者は、PIPs代謝系を構成する個々のPIPs代謝酵素に特異的な生理機能を明らかにし、PIPs代謝系が生体調節系として動作する仕組みを理解することを目指して、研究を進めていた。

交付申請時までに申請者は、主宰する研究室でPIPs代謝酵素遺伝子欠損マウスを体系的に作製し、遺伝子にコードされない脂質であるPIPsの細胞内レベルや局在を変動させ、これに付随する細胞や個体内での生命現象の変化を続々と見出していた。その中には、社会的課題である、発がん・転移、神経変性、心機能異常、糖代謝異常、炎症などといった幅広い病態が含まれている。個々のPIPs代謝酵素がもつ多様な生体調節機能を目の当りにするにつ

け、PIPs代謝系の統合的理解は、将来の革新的な医薬への応用、開発に役立つのではないかと考えるようになった。“PIPs代謝酵素群の機能的な特異性と重複性”という生体に備わった“仕掛け”を紐解き、上手に利用して細胞機能制御に介入すれば、幅広い疾患に適用できる新しい医療へとつながるか



もしれない。この発想のもとに、PIPs代謝系の本態解明を着実に進め、有用な研究ツールとなるPIPs代謝酵素欠損マウスリソースの充実を図ることで、革新的な医薬開発の礎となる学術的新規知見を発掘すると同時に、応用研究への技術基盤を整えることを目的に、本研究を開始した（図2）。

研究期間内での達成を目指した具体的な目標は、以下の3項目である。

A. PIPs代謝系の新規疾患関連知見の発掘

PIPs代謝酵素欠損マウスで見出した、新しい疾患関連表現型をもとに、PIPs代謝酵素の病態生理的役割を解明する。具体的には、PI3P生成酵素の筋肉（心不全と突然死）、免疫系（T細胞分化と自己免疫）における役割、PI(3,4)P₂分解酵素の甲状腺発癌、神経系（虚血による神経細胞死と運動不全）における役割、PI(3,5)P₂生成酵素の神経系（脱髄と下肢麻痺・振せん）、消化器（栄養障害と炎症性腸病変）におけ

る役割など、病態の分子基盤を明らかにする。

B. PIPs 代謝酵素欠損マウスシリーズの開発

PIPs 代謝酵素をそれぞれに欠損するマウスを新規に 20 系統樹立する（採択後 4 系統を追加）。交付申請時までに、産学両者の研究者から、PIPs 代謝関連遺伝子欠損マウスの疾患関連表現型の問合せや分与依頼を非常に多く受けていたが、必ずしも要望に応えられていなかった。国内で自前の全 PIPs 代謝酵素欠損マウスシリーズを保有することで、PIPs 代謝系を包括した基礎研究と医薬応用研究への速やかな移行に役立ちたいと考え、14 の代謝酵素についてその欠損マウスを開発していた。本研究では、申請者も他のグループも着手していない PIPs 代謝酵素についてその欠損マウスを開発する。既に世界に目を向けても類を見ない充実を遂げつつある申請者独自のシリーズの完成に、大きく近づくことができる。

C. PIPs 亜種（PIPs サブグループ）の概念構築

各 PIPs 代謝酵素アイソザイムが生理機能において特異性と重複性をもつことは、遺伝子欠損マウスの表現型から明らかであるが、その原理は不明である。この点について、これまでイノシトール環のリン酸化パターンで 8 種類に分類・理解されてきた PIPs が、実は、脂肪酸構成の違いによって異なる生理活性を発揮しており、リン酸化・脱リン酸化酵素アイソザイムは個々に特定の脂肪酸をもつ PIPs を優先的に基質とすることで、固有の生理機能を発揮するのではないか、という仮説を掲げた（図 4）。このアイデアでは、PIPs の多様性が一気に増す。これを検証するために、質量分析計を用いて脂肪酸構成までわかる PIPs の定性、定量解析法を新たに確立する。さらにこの方法のもう一つの利点である、解析対象範囲の拡大を活かし、これまでに PIPs 定量が行えなかった生体試料を用いて、生命機能発現における PIPs 動態の意義を理解する。

上記 A、B、C の研究を互いにフィードバックをかけながら統合して進め、PIPs 代謝系の本体解明により、新規疾患治療薬の開発などライフ・イノベーションへの道筋をつけることを大きな目的とした。

【総合評価】

○	特に優れた成果が得られている
	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

全体的に見て、研究の進捗状況は順調であり、特に基礎的な面では計画以上の新発見も得られているので、今後病態との関連を一層明確にする努力が求められる。

日本から発信できる独創性の高い本研究の成果が、具体的な疾患の発症機構の解明

とその疾患に対する新規治療薬の創製に繋がることを期待したい。また、今後も適切な研究支援が行われ、世界をリードする我が国の研究領域のひとつとして育てることが望まれる。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

当初計画にある **A. PIs 代謝酵素の病態生理学的役割の解明**については、新規癌抑制遺伝子産物 **INPP4B** が **PIP₃** の分解を介して甲状腺発がんを抑制すること、**Vps34** が心筋でのタンパク質品質管理を司り、その破綻が心肥大、心室性不整脈、突然死を招くこと、**PIPKIII** が神経軸索のミエリン化を正に制御しており、オリゴデンドロサイト（中枢）、シュワン細胞（抹消）での機能不全が髄鞘形成不全を背景とした震戦、下枝麻痺を導くこと、**SHIP1** がマクロファージの極性を制御し、肺炎の重篤化に関わること、**PLIP** が肝臓からの **IGF1** 分泌を促進することで新生児の成長を制御すること、骨格筋特異的 **PIPKIII** アイソフォームがインスリン感受性と血糖調節の制御因子であること、**PIP₃** 分解酵素多重欠損によるリンパ腫発症などの独自の新規知見を発見した。**B. PIPs 代謝酵素欠損マウスシリーズの開発**では、ターゲティングベクター完成 24 件、マウス胚性幹細胞での変異導入 22 件、キメラマウス 22 件、変異マウス系統樹立 19 件を達成し、計画以上の成果を得た。**C. PIPs 亜種**の概念構築では、生体試料の前処理、逆相クロマトグラフィーと三連四重極型質量分析装置での選択反応モニタリングにより、脂肪酸構成を異にする **PIP_s** 亜種の絶対定量解析法を確立した。この技術を用いて、**PIP₃** では、脂肪酸構成が異なる亜種が少なくとも 30 種類存在することを見出した。さらに、ヒト悪性リンパ腫に本新技术を適用し、各 **PIP_s** 亜種の定量解析を行い **PIP_s** サブクラスの定量値で表される「**PIP_s** プロファイル」によって、悪性リンパ腫を層別化できる可能性を示唆する知見を得た。さらに、未知の **PIP_s** 代謝産物が複数存在することを見出し、新規 **PIP_s** の 20 年ぶりの発見に至った。

以上のように、それぞれの計画について極めて順調に研究を進め、当初の計画以上の成果を得た。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

PIs 代謝酵素の病態生理学的役割に関して、海外グループとは別個の重要な新知見を得ており、**PIs 代謝酵素欠損マウス**を独自に多数開発し一括活用が可能である点では国際的に優位性を持ち、独自に開発した脂肪酸構成を異にする **PIs 亜種**の絶対定量解析法も検出感度や適用できる生体試料の範囲の面で海外グループに勝っている。

さらに、新規の PIs を発見し、その諸性質についての研究を世界に先駆けて進めている。

PIs 定量技術の開発と遺伝子改変マウスの作出、それらの活用により新しい PIs 亜種の概念構築は、今後の研究にとってブレークスルーとも呼べる成果と考えられる。

最近 20 年間なかった新規 PIs の存在を明らかにした点は、正にブレークスルーと呼ぶべき発見であると思われる。これは、当初の計画には無かったが、本研究で確立した PIs 亜種の絶対定量解析法を活用し、新規 PIs の存在を想定した測定系を組み立てて行なった実験により明らかにしたもので、その独創性は高く評価できる。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が

(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が

(見込まれる ・ 見込まれない)

本研究課題での成果は、従来の脂質解析技術に革新をもたらすものであり、基礎医学及び臨床医学の研究の進展に大きく寄与することが見込まれる。

種々の疾患に有効な「PIs 代謝酵素作用薬」とも言うべき革新的な医薬開発に繋がることが期待できる

ので、大きな社会的課題となっている疾病の治療への道が拓かれる可能性があり、その暁には大きな経済的効果をも生むであろう。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

研究計画は適切に実施され、指摘事項も有効に研究計画に反映された。論文発表は基本的に十分実施された。今後、知的財産権の出願・取得が期待される。中学生との交流、あるいは一般社会への情報発信などが積極的に行われた。他の研究室との共同研究も盛んに行われている。