

## 序論

リン脂質は生体膜の構成成分であり、極性基の種類によってホスファチジルコリン (PC) やホスファチジルエタノールアミン (PE) などに分類される。加えて、各リン脂質に結合する脂肪酸の種類も豊富なため、生体内には数多くのリン脂質分子が存在する。このリン脂質の「質」の多様性は、生体膜の流動性や細胞内膜輸送、受容体やチャネルといった膜タンパク質の機能に影響を及ぼし、生体機能の恒常性に深く関わっている。骨格筋は、環境に応じて性質や機能を適応させる。運動トレーニングは、筋線維タイプの遅筋化やミトコンドリア生合成などを促進させて、筋持久力を高める。絶食時には、エネルギー枯渇に対応するため代謝が異化へとシフトする。こうした適応反応は細胞の形態やオルガネラ機能の変化を伴うため、同時に生体膜の特性も変化すると予想される。骨格筋のリン脂質については、PCやPEの総量や、リン脂質分子を加水分解して得られた脂肪酸の解析が、運動トレーニングや筋疾患のモデルにおいて行われている[1][2]。しかし、個々のリン脂質分子をインタクトな状態で分析した例はほとんどなく、骨格筋の適応反応におけるリン脂質の「質」変化の実態は不明である。どのリン脂質分子がどのような機序で変化し、骨格筋機能にどのように影響するのかは明らかにされていない。本研究では、液体クロマトグラフ質量分析計を用いたリン脂質分子の網羅的解析を行い、骨格筋の適応反応に伴うリン脂質の「質」変化を正確に把握するとともに、この変化を調節する分子機序の解明に取り組んだ。

## 第一章： PGC-1 $\alpha$ を介した運動トレーニングによる骨格筋PC、PE分子種の変化

運動トレーニングによる骨格筋の適応変化の多くは、転写共役因子peroxisome proliferators-activated receptor- $\gamma$  co-activator 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ )の発現増加が引き金となって生じる。骨格筋特異的にPGC-1 $\alpha$ を過剰発現させたマウスは、筋線維タイプの遅筋化やミトコンドリア生合成の促進、持久力向上といった表現型を示す[3]。本章では、生体膜に豊富に存在するPCとPEに焦点を当て、運動トレーニングによりこれらがどう変化するのか、この変化にPGC-1 $\alpha$ は関与するか否かを検討した。

骨格筋特異的にPGC-1 $\alpha$ を過剰発現させたマウスでは、アラキドン酸やドコサヘキサエン酸(DHA)などの多価不飽和脂肪酸を含むPCとPEが増加した。これらのリン脂質量は、野生型マウスにおいては速筋よりも遅筋に多く含まれていた。これらのリン脂質量は、5週間の運動トレーニングにより野生型マウスでは増加したが、骨格筋特異的なPGC-1 $\alpha$ 欠損マウスでは増加しなかった。以上より、多価不飽和脂肪酸を含むPCとPEは運動トレーニングによりPGC-1 $\alpha$ 依存的に増加すること、この変化は運動トレーニングによる遅筋化に伴う変化であることが明らかになった。

## 第二章： PGC-1 $\alpha$ による骨格筋カルジオリピン生合成の制御

カルジオリピン(CL)は脂肪酸が4つ結合したリン脂質である。CLはミトコンドリア内膜に局在し、膜構造の形成・維持や呼吸鎖関連タンパク質などの機能調節に関わる。CL生合成酵素の一つtafazzinを欠損したBarth症候群では、リノール酸を含むCLが減少し[4]、ミトコンドリアの機能異常や筋力低下が生じる[5]。PGC-1 $\alpha$ はミトコンドリア生合成を促進するため、同時にCLの量や質を調節している可能性があるが、CL生合成へのPGC-1 $\alpha$ の関与には不明な点が多い。本章では、PGC-1 $\alpha$ が骨格筋CLの量と質に及ぼす影響、CL生合成に果たす役割を検討した。

PGC-1 $\alpha$ を過剰発現させた骨格筋ではCL量が著しく増加した。特にリノール酸を含むCLが顕著に増加した。また、CL生合成に関わる遺伝子のうちCDP-DAG合成を担うCds1、リノール酸をリン脂質に組み込むLPAAT2の発現が、PGC-1 $\alpha$ 過剰発現により増加した。CL生合成の律速であるCDP-DAG合成は、3種類の酵素(Cds1, Cds2, Tamm41)が触媒する。CDP-DAGはCLのほかにホスファチジルイノシトール (PI)の前駆体でもあり、合成されたCDP-DAGの使われ方には、各酵素の細胞内局在が関係すると考えられている。CL生合成に利用されるCDP-DAGの合成には、ミトコンドリア内膜に局在するTamm41が寄与することが指摘されている[6][7]。一方、小胞体に局在するとされるCds1の役割については不明な点が多い。そこで、Cds1をC2C12細胞に強制発現させ、Cds1がCL生合成に寄与するか否かを調べた。その結果、Cds1の単独発現ではCL量は増えず、Cds1とPGC-1 $\alpha$ を同時に発現させたとき、CL量とミトコンドリア膜電位が増加し、内膜構造も劇的に変化した。従って、PGC-1 $\alpha$ は、Cds1の発現調節に加えてCDP-DAGの利用にも関わる可能性が示され、これらの協調作用は、CL生合成の促進、ミトコンドリア機能の向上につながると考えられた。以上より、PGC-1 $\alpha$ は、Cds1とLPAAT2の発現、ならびにCDP-DAG利用に関わる何らかの機能を調節することによって、CLの量と質を制御し、ミトコンドリア生合成に適応させていることが示唆された。

## 第三章： 絶食時の骨格筋リン脂質組成の変化とインスリンの関与

絶食時の骨格筋では、インスリンなどのホルモンによる調節を受けてタンパク質分解や脂肪酸利用が高まる。その際、細胞内膜動態は劇的に変化するため、併せてリン脂質が変化している可能性がある。しかし、絶食時に骨格筋のリン脂質がどう変化するかを示した報告はない。本章では、絶食による骨格筋リン脂質の変化を明らかにするとともに、その調節機序をインスリンに着目して検討した。

絶食により、リノール酸を含むPCとDHAを含むPCが増加した。これらのPCは、ストレプトゾトシンを投与したインスリン分泌不全マウスにおいても増加したが、インスリン治療によって減少した。従って、絶食時によるリン脂質変化の一

部にインスリンが関与することが示された。さらに、DHAをリン脂質に組み込む酵素LPAAT3[8]の発現は、絶食とインスリン分泌不全に共通して増加し、インスリン治療によって減少した。これらの結果から、絶食によるDHAを含むPCの増加は、インスリンによるLPAAT3発現制御を介して生じている可能性が考えられた。

本研究は、運動トレーニングまたは絶食による骨格筋リン脂質の「質」変化、ならびにその調節機序の一端を明らかにした。本研究で得られた情報は、骨格筋におけるリン脂質の生物学的役割を解明する上で極めて重要である。

## 参考文献

1. Andersson, A., Sjödín, A., Hedman, A., Olsson, R., Vessby, B.: Fatty acid profile of skeletal muscle phospholipids in trained and untrained young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 279, E744–E751 (2000)
2. Tuazon, M.A., Henderson, G.C.: Fatty acid profile of skeletal muscle phospholipid is altered in mdx mice and is predictive of disease markers. *Metabolism.* 61, 801–811 (2012)
3. Tadaishi, M., Miura, S., Kai, Y., Kano, Y., Oishi, Y., Ezaki, O.: Skeletal muscle-specific expression of PGC-1alpha-b, an exercise-responsive isoform, increases exercise capacity and peak oxygen uptake. *PLoS One.* 6, e28290 (2011)
4. Schlame, M., Toebin, J.A., Heerdt, P.M., Jehle, R., DiMauro, S., Blanck, T.J.J.: Deficiency of tetralinoleoyl-cardiolipin in Barth syndrome. *Ann Neurol.* 51, 634–637 (2002)
5. Barth, P.G., Wanders, R.J.A., Vreken, P., Janssen, E.A.M., Lam, J., Baas, F.: X-linked cardioskeletal myopathy and neutropenia (Barth syndrome): An update. *Am J Med Genet.* 126A, 349–354 (2004)
6. Tamura, Y., Harada, Y., Nishikawa, S., Yamano, K., Kamiya, M., Shiota, T., Kuroda, T., Kuge, O., Sesaki, H., Imai, K., Tomii, K., Endo, T.: Tam41 is a CDP-diacylglycerol synthase required for cardiolipin biosynthesis in mitochondria. *Cell Metab.* 17, 709–718 (2013)
7. Blunsom, N.J., Gomez-Espinosa, E., Ashlin, T.G., Cockcroft, S.: Mitochondrial CDP-diacylglycerol synthase activity is due to the peripheral protein, TAMM41 and not due to the integral membrane protein, CDP-diacylglycerol synthase 1. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids.* 1863, 284–298 (2018)
8. Harayama, T., Eto, M., Shindou, H., Kita, Y., Otsubo, E., Hishikawa, D., Ishii, S., Sakimura, K., Mishina, M., Shimizu, T.: Lysophospholipid acyltransferases mediate phosphatidylcholine diversification to achieve the physical properties required in vivo. *Cell Metab.* 20, 295–305 (2014)