

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明」研究開発領域  
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation (AMED-CREST),  
Studies on Specific Activities and Functions of Lipid Molecules to Develop  
Innovative Medical Technologies

研究開発課題名： (日本語) グルコース関連脂質の作動機序を基軸とした疾患メカニズムの解明  
(英語) Understanding disease mechanisms based on glucosylated lipid functions

研究開発担当者 (日本語) 理化学研究所脳科学総合研究センター シニア・チームリーダー 上口裕之  
所属 役職 氏名： (英語) RIKEN Brain Science Institute, Senior Team Leader, Hiroyuki Kamiguchi

実施期間： 平成 28年 10月 1日 ~ 平成 29年 3月 31日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

上口裕之チームリーダー (理化学研究所脳科学総合研究センター) は、松尾一郎教授 (群馬大学大学院理工学府) らの研究グループとともに、化学合成した LysoPtdGlc 構造類似体の神経軸索への生物活性を評価した。また、 $[^{35}\text{S}]\text{GTP}\gamma\text{S}$  による GPCR 活性検出系を構築するため、関連遺伝子の取得を開始し本年度中に完了した。さらに、松尾一郎らが開発した方法により LysoPtdGlc を 1 mg 合成するとともに、既報の 1000 倍スケールでの合成が可能であることを確認した。また、PtdGlc と LysoPtdGlc を合成するためのグリセロール誘導体をグラムスケールで合成した。

抗 PtdGlc 抗体 DIM21 は前骨髄性白血病細胞株 HL-60 を分化誘導し、アポトーシス誘導を起こすことが知られていた。岩渕和久教授 (順天堂大学大学院医療看護学研究科) らの研究グループは、PtdGlc を介した好中球系細胞への分化誘導過程の分子機構を解析した。その結果、PtdGlc 発現上昇ならびに PtdGlc と会合した Fas を介するシグナルが、好中球にアポトーシスを誘導することが示唆された。また同グループは、イオンモビリティデバイスとナノ LC を組み合わせて用いることで、質量分析計による LysoPtdGlc の高感度検出を可能にする条件を見いだした。微量シグナルではあるが、定量的に検出する方法を検討中である。

津田誠教授 (九州大学 大学院薬学研究院) らの研究グループは、グルコース関連脂質とその受容体によ

る感覚情報伝達の変化について、GPR55 の内因性リガンドである LysoPtdGlc を用いて検討した。正常マウスの脊髄くも膜下腔内へ LysoPtdGlc を投与し、その後の感覚情報伝達系行動を解析し、LysoPtdGlc 投与マウスが軽度機械刺激に対する疼痛様行動（アロディニア）を発症することを見出した。一方、自発痛様行動は出現しなかった。また、LysoPtdGlc 投与 60 分後の脊髄後角におけるグリア細胞の形態学的変化を免疫組織染色法にて解析したが、ミクログリアとアストロサイトに変化は認められなかった。以上から、LysoPtdGlc が脊髄後角において体性感覚情報プロセッシングを変調させる可能性が示唆された。

平林義雄チームリーダー（理化学研究所脳科学総合研究センター）らは、PtdGlc 合成に重要な酵素のノックアウトマウス由来のマウス胎児線維芽細胞を調整し、PtdGlc 生合成活性の制御機構の解析を行った。そして、PtdGlc 生合成酵素と相互作用する制御因子の候補を同定した。

Hiroyuki Kamiguchi (RIKEN Brain Science Institute), Ichiro Matsuo (Gunma University) and their colleagues evaluated the activity of chemically synthesized LysoPtdGlc and its structural analogs on neuronal axons. Also, the researchers prepared gene constructs that are necessary for ligand-GPCR binding assays using [<sup>35</sup>S]GTPγS. Ichiro Matsuo synthesized 1 mg of LysoPtdGlc with his new method, which corresponds to 1000 times the amount of LysoPtdGlc synthesized with previous methods. His group also prepared several grams of glycerol analogs for the synthesis of PtdGlc and LysoPtdGlc.

It has been known that the anti-PtdGlc antibody DIM21 induces differentiation and apoptosis of human promyelocytic leukemia HL-60 cells. In this fiscal year, Kazuhisa Iwabuchi (Juntendo University) and his colleagues studied molecular mechanisms of PtdGlc-mediated neutrophil differentiation. Their results suggest that the PtdGlc-mediated neutrophil apoptosis depends on PtdGlc upregulation and signaling by Fas associated with PtdGlc clusters. They also developed a supersensitive detection method for LysoPtdGlc using LC-MS/MS system equipped with nanoflow liquid chromatography combined with ion mobility device. Although LysoPtdGlc signals are still very low, the researchers will try to improve this system for quantitative detection of LysoPtdGlc.

Makoto Tsuda (Kyusyu University) and his colleagues aim to investigate the modulation of somatosensory information by glucosylated lipids and their cognate receptors, especially LysoPtdGlc and GPR55, respectively. In this fiscal year, they showed that intrathecal administration of LysoPtdGlc to normal mice produces a decrease in the withdrawal threshold of the hindpaw to light mechanical stimulation evoked by von Frey filaments. On the other hand, LysoPtdGlc-injected mice did not produce spontaneous pain-like behaviors. Furthermore, the morphology of microglia and astrocytes in the spinal dorsal horn was not changed 60 min after intrathecal LysoPtdGlc. These results suggest that LysoPtdGlc may modulate the processing of somatosensory information in the spinal dorsal horn.

Yoshio Hirabayashi (RIKEN Brain Science Institute) and his colleagues prepared mouse embryonic fibroblasts derived from knockout animals that lack key enzymes for PtdGlc biosynthesis. The researchers investigated regulatory mechanisms of PtdGlc biosynthesis using this experimental system and identified candidate regulators that interact with the enzymes.

### Ⅲ. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 0件）  
該当無し
  
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
該当無し
  
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当無し
  
- (4) 特許出願  
該当無し

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明」研究開発領域  
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation (AMED-CREST), Studies on Specific Activities and Functions of Lipid Molecules to Develop Innovative Medical Technologies
- 研究開発課題名： (日本語) グルコース関連脂質の作動機序を基軸とした疾患メカニズムの解明  
(英語) Understanding disease mechanisms based on glucosylated lipid functions
- 研究開発担当者  
所属 役職 氏名： (日本語) 理化学研究所脳科学総合研究センター シニア・チームリーダー 上口裕之  
(英語) RIKEN Brain Science Institute, Senior Team Leader, Hiroyuki Kamiguchi
- 実施期間： 平成28年10月1日 ～ 平成29年3月31日
- 分担研究  
開発課題名： (日本語) ホスファチジルグルコシドおよびその関連分子の白血球分化・免疫応答における役割の解明  
(英語) Understanding roles of phosphatidylglucoside and its metabolites on differentiation and immunological functions of leukocytes
- 研究開発分担者  
所属 役職 氏名： (日本語) 順天堂大学大学院医療看護学研究科・教授・岩渕和久  
(英語) Juntendo University, Graduate School of Health Care and Nursing, Professor, Kazuhisa Iwabuchi

## II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：国立研究開発法人 理化学研究所 脳科学総合研究センター 上口裕之 総括研究報告を参照。

## III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1件、国際誌 2件）

1. Nakayama H, Kurihara H, Morita YS, Kinoshita T, Mauri L, Prinetti A, Sonnino S, Yokoyama N, Ogawa H, Takamori K, Iwabuchi K. Lipoarabinomannan binding to lactosylceramide in lipid rafts is essential for the phagocytosis of mycobacteria by human neutrophils. *Sci Signal*. Oct 11;9(449):ra101, 2016
2. 中山仁志、岩渕和久: スフィンゴ糖脂質の脂質ラフトの構造と機能: ラクトシルセラミドの脂質ラフトを介した自然免疫応答, *生化学* 第 89 巻 第 1 号, 2017
3. Nakayama H, Iwabuchi K: Molecular mechanisms underlying the immunological activities of glycosphingolipid-enriched lipid rafts in phagocytes. Reference Modules entitled Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Elsevier 2017, in press

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
該当無し

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当無し

(4) 特許出願  
該当無し

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明」研究開発領域  
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation, Studies on Specific Activities and Functions of Lipid Molecules to Develop Innovative Medical Technologies

研究開発課題名： (日本語) グルコース関連脂質の作動機序を基軸とした疾患メカニズムの解明  
(英語) Understanding disease mechanisms based on glucosylated lipid functions

研究開発担当者 (日本語) 理化学研究所脳科学総合研究センター シニア・チームリーダー 上口裕之  
所属 役職 氏名： (英語) RIKEN Brain Science Institute, Senior Team Leader, Hiroyuki Kamiguchi

実施期間： 平成28年10月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 慢性疼痛における糖脂質シグナルの作動機序解明と創薬に向けた研究  
開発課題名： (英語) Research for mechanisms of chronic pain based on glucosylated lipid signals and for drug discovery

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人九州大学 大学院薬学研究院 教授 津田 誠  
所属 役職 氏名： (英語) Kyusyu University, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Professor, Makoto Tsuda

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者： 国立研究開発法人 理化学研究所 脳科学総合研究センター 上口裕之 総括研究報告を参照。

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）  
該当無し

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
該当無し

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当無し

(4) 特許出願  
該当無し

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明」研究開発領域  
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation (AMED-CREST), Studies on Specific Activities and Functions of Lipid Molecules to Develop Innovative Medical Technologies

研究開発課題名： (日本語) グルコース関連脂質の作動機序を基軸とした疾患メカニズムの解明  
(英語) Understanding disease mechanisms based on glucosylated lipid functions

研究開発担当者 所属 役職 氏名： (日本語) 理化学研究所脳科学総合研究センター シニア・チームリーダー 上口裕之  
(英語) RIKEN Brain Science Institute, Senior Team Leader, Hiroyuki Kamiguchi

実施期間： 平成 28年 10月 1日 ～ 平成 29年 3月 31日

分担研究 (日本語) ホスファチジルグルコシド生合成機構の解明と関連分子の代謝ストレス応答における役割の解明

開発課題名： (英語) Roles of PtdGlc synthetic mechanism in metabolic stress response

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 理化学研究所 脳科学総合研究センター 神経膜機能研究チーム チームリーダー 平林 義雄

所属 役職 氏名： (英語) RIKEN Brain Science Institute, Laboratory for Molecular Membrane Neuroscience, Team Leader, Yoshio Hirabayashi

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者： 国立研究開発法人 理化学研究所 脳科学総合研究センター 上口裕之 総括研究報告を参照。

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 0件）  
なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
なし

(4) 特許出願  
なし

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明」研究開発領域  
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation (AMED-CREST), Studies on Specific Activities and Functions of Lipid Molecules to Develop Innovative Medical Technologies

研究開発課題名： (日本語) グルコース関連脂質の作動機序を基軸とした疾患メカニズムの解明  
(英語) Understanding disease mechanisms based on glucosylated lipid functions

研究開発担当者 所属 役職 氏名： (日本語) 理化学研究所脳科学総合研究センター シニア・チームリーダー 上口裕之  
(英語) RIKEN Brain Science Institute, Senior Team Leader, Hiroyuki Kamiguchi

実施期間： 平成28年10月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 開発課題名： (日本語) グルコース関連脂質類似体の合成  
(英語) Systematic synthesis of Glycolipid derivatives

研究開発分担者 所属 役職 氏名： (日本語) 群馬大学大学院理工学府 教授 松尾一郎  
(英語) Gunma University Professor Ichiro Matsuo

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：国立研究開発法人 理化学研究所 脳科学総合研究センター 上口裕之 総括研究報告を参照。

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）  
なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
なし

(4) 特許出願  
なし