

脂質ラフトに存在する糖脂質の詳細な構造解析

Structural analyses of glycosphingolipids in lipid rafts

東海大学 糖鎖科学研究所 准教授 樺山 一哉

Kazuya Kabayama (Associate Professor)

Institute of Glycoscience, Tokai University

立命館大学 生命科学部 助教 小島 寿夫

Hisao Kojima (Assistant Professor)

College of Life Sciences, Ritsumeikan University

日本大学 理工学部 助教 鈴木 佑典

Yusuke Suzuki (Assistant Professor)

College of Science and Technology, Nihon University

1. はじめに

シアル酸を含むスフィンゴ糖脂質であるガングリオシドは、疎水性の脂質部分であるセラミドと親水性の糖鎖から構成され、さらに、セラミド部分はスフィンゴイド塩基と脂肪酸から構成されている。この細胞膜に埋め込まれているセラミド部分は、スフィンゴミエリン、コレステロール等と疎水性相互作用に基づいて互いに会合し、様々な情報伝達分子が集積している微小領域(脂質ラフト)の形成に重要な役割を果たしていると考えられている。そして、セラミド部分の構造変化、特に脂肪酸組成変化は、膜の流動性や膜マイクロドメインへの細胞内情報伝達因子の集積を変化させることにより、脂質ラフトを介した情報伝達や特異的部位への膜輸送を調節し、細胞の内外を繋ぐ様々な生命現象を制御していると考えられている。

現在我々が進めているガングリオシドが形成する生体膜の微小領域が膜受容体の局在及びシグナリングに影

響を及ぼすメカニズムの解明研究において、蛍光顕微鏡を用いた分子動態解析と並行して、従来から用いられてきた生化学的手法により得られた脂質ラフトに存在するガングリオシドの構造解析を行い、多角的に得られたデータをすり合わせた考察を展開していくことを目標としている。

脂質ラフトの分離精製の生化学的解析手段としては、Triton X-100, Lubrol 98, Brij 58/97, NP-40等の非イオン性界面活性剤を用いて、低温下でショ糖密度勾配超遠心により界面活性剤不溶性画分(DRM)として分画する方法が一般的に用いられている(図1)。しかし、得られたDRM中のガングリオシドの構造解析において、界面活性剤の除去は必須であり、各種カラムクロマトグラフィーによる精製法等が報告されているものの、簡便な操作で完全にガングリオシドから界面活性剤を分離・除去できる方法は未だ報告されていない。この問題を解決するために以下の実験を行った。

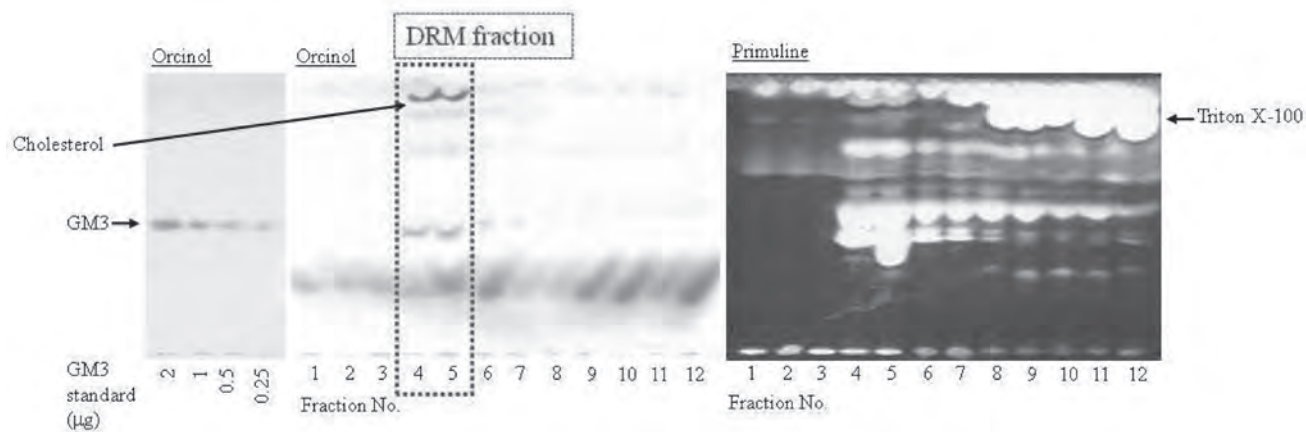


図1 ショ糖密度勾配超遠心による界面活性剤不溶性画分(DRM)の分画法

2. 各種カラムクロマトグラフィーによる界面活性剤除去¹⁾

ショ糖密度勾配超遠心による脂質ラフト分画システムの確認、及び分画後に残存する界面活性剤のMSスペクトル測定への影響を確認するため、脂肪前駆細胞(3T3-L1)を材料とし、ショ糖密度勾配超遠心分離及びSepPak C18カートリッジによる脱塩後、薄層クロマトグラフィー(TLC)解析及びマトリックス支援レーザー脱離イオン化四重極イオントラップ飛行時間型質量分析法(MALDI-QIT-TOF MS)によるMSスペクトル測定を行った。TLC解析の結果、DRMはコレステロール及びガングリオシドGM3が集積しているフラクションNo.4及び5であり、Triton X-100濃度はショ糖濃度勾配に伴って分配されていることが明らかになった(図1)。また、MALDI-QIT-TOF MSスペクトル測定結果では、すべてのフラクションでTriton X-100に起因する44 Da間隔のピークのみが検出され、GM3由来ピークを検出することはできなかった(図2)。そこで、Triton X-100の希釈倍列を作製し、MSスペクトル測定時にGM3のイオン化を阻害しないTriton X-100濃度

を確認した結果、1ng以下まで除去する必要があることが判った(Data not shown)。

次に、Triton X-100(4μg)-GM3(4μg)混合物を作製し、従来から界面活性剤の除去に用いられているSepPak C18、DEAE-sephadex A-25、Iatrobeads、及びFlorisilカラム(オープン)によるTriton X-100の除去率をTLC及びMALDI-QIT-TOF MSスペクトル測定によって確認した。その結果、TLC展開後のプリムリン発色結果では、それぞれ90%以上のTriton X-100の除去は可能であったものの、MALDI-QIT-TOF MSスペクトルでは残存するTriton X-100のためにGM3由来ピークを検出す

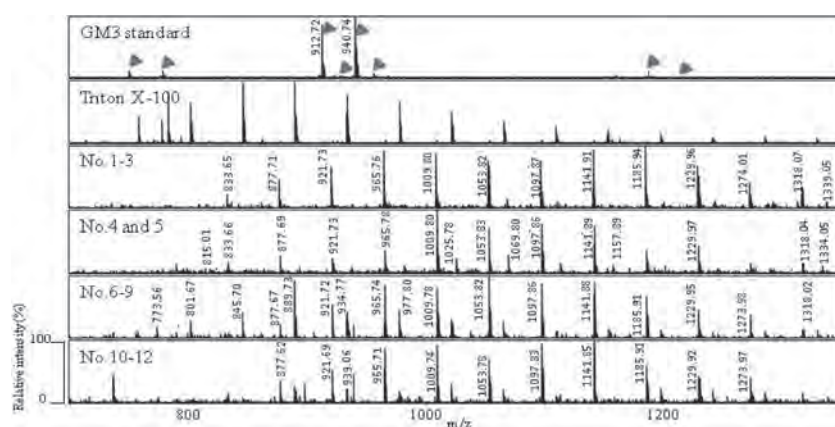


図2 超遠心画分(脱塩後)のMALDI-QIT-TOF-MS解析
ポジティブイオンモード測定。▶がガングリオシドGM3に起因するフラグメント。DRM画分(No.4 and 5)にGM3由来ピークが検出されない。

表1 本研究に使用した有機溶媒の諸性質

Solvent	Molecular formula	Polarity	Solubility for H ₂ O	Permittivity (20°C)
Acetonitril	CH ₃ CN	Polar	Arbitrarily soluble	37.5
Methanol	CH ₃ OH	Polar	Arbitrarily soluble	31.2
Acetone	CH ₃ COCH ₃	Polar	Arbitrarily soluble	21.45
1-Butanol	C ₄ H ₁₀ O	Polar	77 g/L	18
Pyridine	C ₅ H ₅ N	Polar	Arbitrarily soluble	13.3 (25°C)
Tetrahydrofuran	C ₄ H ₈ O	Polar	Arbitrarily soluble	7.5 (25°C)
Methyl acetate	CH ₃ COOCH ₃	Both	250 g/L	7.03
Diethyl ether	(C ₂ H ₅) ₂ O	Nonpolar	69 g/L	4.197
Hexane	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	Nonpolar	13 mg/L	1.89
Cyclohexane	C ₆ H ₁₂	Nonpolar	Immiscible	2.052
Heptane	H ₃ C(CH ₂) ₅ CH ₃	Nonpolar	Immiscible	1.924 (25°C)
Toluene	C ₆ H ₅ CH ₃	Nonpolar	0.47 g/L	2.24
Benzene	C ₆ H ₆	Nonpolar	1.75 g/L	2.283
Xylene	C ₆ H ₄ C ₂ H ₆	Nonpolar	0.2 g/L	2.3
Diisopropylether	C ₆ H ₁₄ O	Nonpolar	9.4 g/L	4.49 (25°C)
Chloroform	CHCl ₃	Nonpolar	8.2 g/L	4.9
Dichloromethane	CH ₂ Cl ₂	Nonpolar	20 g/L	9.1
1,2-Dichloroethane	ClCH ₂ CH ₂ Cl	Nonpolar	8.1 g/L	10.45

ることはできなかった。またカラムへのガングリオシドの吸着が生じるため、完全に回収できていないことが判った (Data not shown)。それ故、新たな界面活性剤除去法を確立するために以下の実験を行った。

3. 各種有機溶媒洗浄による界面活性剤の除去¹⁾

GM3-Triton X-100 混合物を TLC により展開すると、GM3 の R_f 値は約 0.5 であるが、Triton X-100 は溶媒先端部まで移動し、GM3 と Triton X-100 は TLC 上で完全に分離することから、TLC 上のシリカゲルの水酸基と Triton X-100 は相互相関しないと考えられた (図 1)。TLC 上のシリカゲルと同様に、ガラス表面には水酸基が露出していることから、GM3-Triton X-100 混合物をガラス製試験管内に乾固し、各種有機溶媒による洗浄を検討し、水酸基と相互相関しない Triton X-100 のみを除去できるか確認を行った。検討はアセトニトリル、メタノール、アセトン、1-ブタノール、ピリジン、テトラヒドロフラン、酢酸メチル、ジエチルエーテル、ヘキサン、シクロヘキサン、ヘプタン、トルエン、ベンゼン、キシレン、ジイソプロピルエーテル、クロロホルム、ジクロロメタン、1,2-ジクロロエタン (DCE) の性質の異なる有機溶媒、計 18 種類で行った (表 1)。

その結果、極性の高い有機溶媒で洗浄した場合、Triton X-100 と同時に GM3 もガラス試験管表面 (Residue, R) から除去され、洗浄画分 (Wash fraction, W) に移行してしまう傾向が観察された (図 3)。逆に非極性の有機溶媒による洗浄では GM3 は試験管表面に保持され、Triton X-100 のみが除去される傾向が観察された。一方で、検討した非極性有機溶媒の中で、誘電率の低いヘキサン、シクロヘキサン、ヘプタンによる洗浄では、Triton X-100 が試験管表面に残存することが確認された。

その他の非極性有機溶媒による洗浄や Svennerholm 分配法で、Triton X-100 の除去が可能であったが、多少

の GM3 の損失が確認された (図 3)。しかし TLC による解析において、DCE による洗浄では GM3 の損失なく Triton X-100 のみを完全に除去できることが確認された。さらに、MALDI-QIT-TOF MS スペクトル測定を行った結果では、DCE 洗浄により Triton X-100 は 1 ng の検出限界以下まで完全に除去され、GM3 由来ピークが検出されることが確認された (図 4)。

4. DCE による各種界面活性剤の除去¹⁾

上述のように、DCE 洗浄により、ガラス試験管内で乾固した GM3-Triton X-100 混合物から完全に Triton X-100 のみを除去することが可能であったことから、次に、脂質ラフト分画に用いられる他の非イオン性界面活性剤である Brij 58、Brij 97、及び NP-40 や、糖脂質の糖転移酵素・糖加水分解酵素反応に用いられる 3-[(3-Cholamidopropyl)-dimethylammonio]

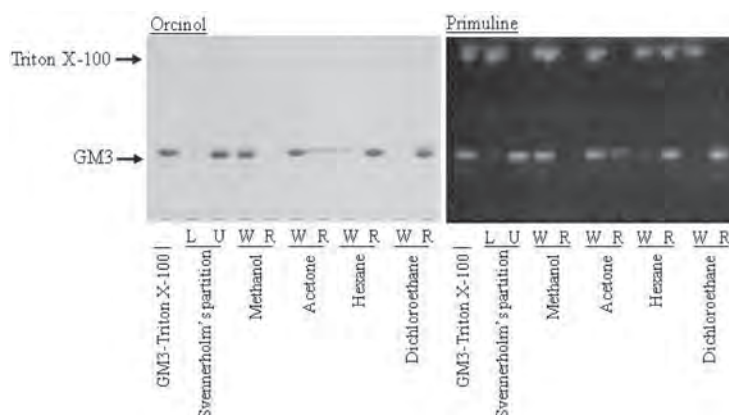


図 3 各種有機溶媒で洗浄後の界面活性剤 TritonX-100 と GM3 複合体の TLC 解析

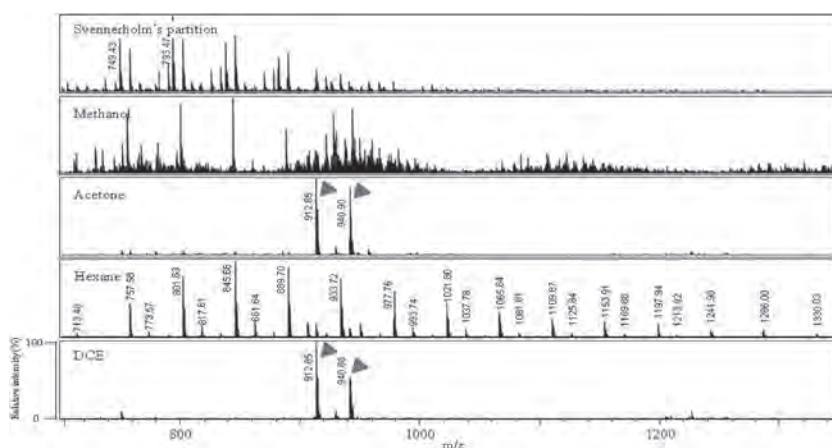


図 4 各種有機溶媒で洗浄後の界面活性剤 TritonX-100 と GM3 複合体の MS 解析
▶ がガングリオシド GM3 に起因するフラグメント。

表2 本研究に使用した界面活性剤の諸性質

Name	Polarity	Critical Micelle Concentration (CMC)	hydrophile-lipophile-Balance (HLB) values	Structure
Triton X-100	Non ionic surfactant	0.24 mM	13.5	
Brij 58	Non ionic surfactant	0.007 mM	15.7	$\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{20}\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$
Brij 97	Non ionic surfactant	0.400 mM	15	$\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_9\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$
Nonidet P40 (NP-40)	Non ionic surfactant	0.29 mM	13.1	
CHAPS	Zwitterionic	4~10 mM	-	
Taurocholic acid	Anionic	3~11 mM	-	
Deoxycholic acid	Anionic	2.4~6 mM	16	

-1-propanesulfonate (CHAPS), Taurocholic acid, Deoxycholic acidに関して、DCE 洗浄によってこれらの界面活性剤が除去可能であることをMALDI-QIT-TOF MSにより確認した(表2)。

その結果、Brij 58 及び CHAPS は界面活性剤由来ピークが検出されたが、大部分が除去可能であり、すべての界面活性剤を含むサンプルで、GM3由来ピークが検出されることを確認した(図5)。

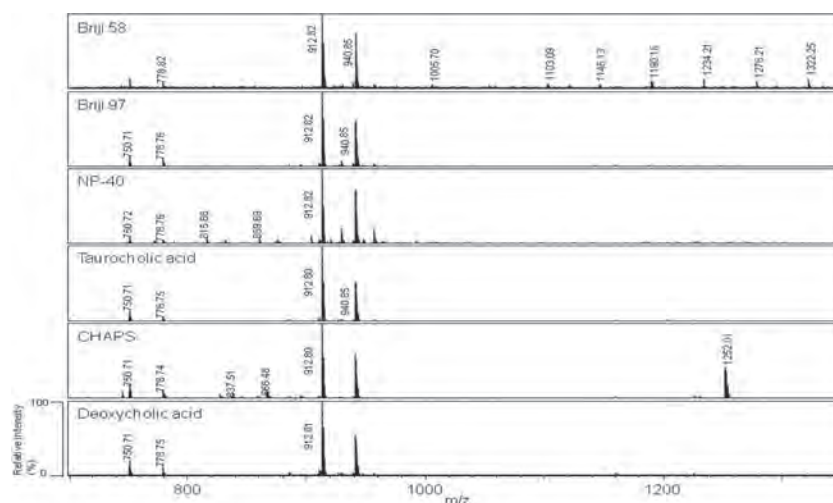


図5 各種界面活性剤とGM3複合体におけるDCE洗浄後のMS解析

5. 脂肪前駆細胞の脂質ラフト画分からのTriton X-100の除去¹⁾

次に当初の目的であった脂質ラフト画分の糖脂質の構造解析を行うために、3T3-L1 脂肪前駆細胞を材料とし、シヨ糖密度勾配超遠心による脂質ラフト画分及び脱塩後、さらにSvennerholm分配及びDCE洗浄後、MALDI-QIT-TOF MSを行った。その結果、界面活性剤由来ピークは検出されず、フラクションNo.4-5及びNo.6-9でGM3の分子種に由来するピークを検出した(図6)。

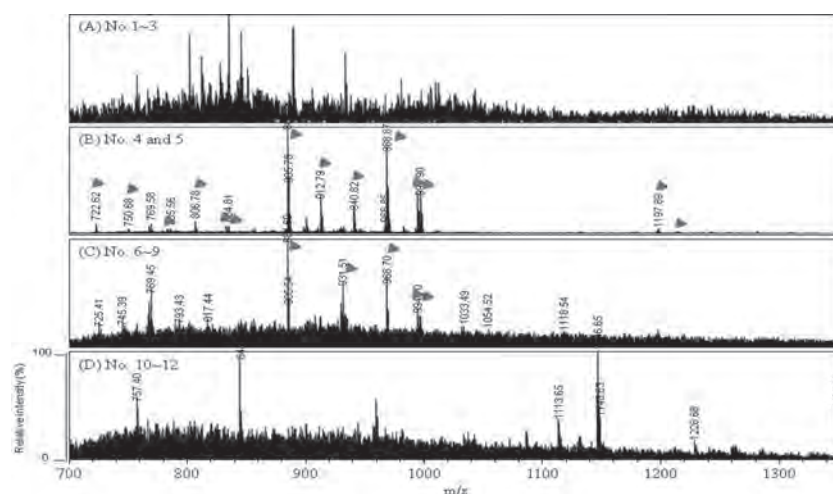


図6 超遠心画分(DCE洗浄後)のMALDI-QIT-TOF-MS解析
ポジティブイオンモード測定。▶がガングリオシドGM3に起因するフラグメント。No.4および5(DRM画分)とNo.6-9にGM3由来ピークが検出された。

そして、MALDIイオン化質量分析法よりも界面活性剤によるサンプルのイオン化が抑制されやすい液体イオン化質量分析法においても、これらGM3分子種由来イオンが検出されることを確認した(Data not shown)。さらに、上記サンプルのネガティブイオンモードによるMALDI-QIT-TOF MSスペクトル解析結果から、脂肪前駆細胞の脂質ラフト上に存在するGM3の分子種はd18:1(スフィンゴイド塩基)-C16:0(脂肪酸)、-C18:0、-C20:0、-C22:0、-C22:1、-C23:0、-C24:0、及び-C24:1であることを確認した(図7)。

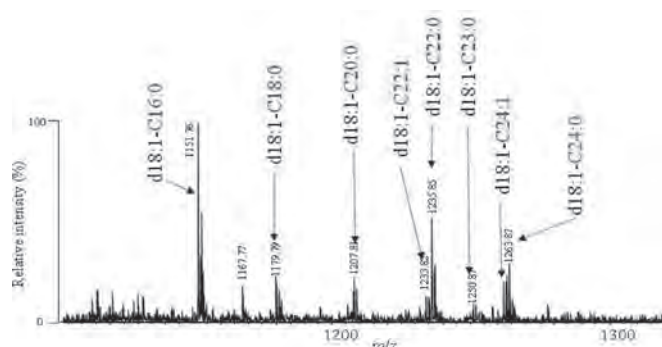


図7 3T3-L1 脂肪前駆細胞のDRM画分に存在するGM3のセラミド構造(MS²から推定)

6. 脂肪組織/細胞におけるトリグリセリドの簡便な除去法の検討

1993年にSpiegelmanら²⁾により肥満マウス脂肪組織でのTNF α 産生の亢進が報告されて以降、脂肪細胞の分子細胞生物学的な研究が進展したことにより、脂肪細胞は多彩な生理活性物質(アディポサイトカイン)を産生・分泌し、糖・脂質代謝および動脈壁の恒常性維持に重要な役割を果たす器官であることが分かってきた。肥満による脂肪の蓄積でアディポサイトカインの産生が異常になることで、糖尿病を始めとする種々の生活習慣病を発症することが明らかとなっている。

我々の研究室では、2型糖尿病における糖脂質の役割の解明を上述したような様々なアプローチで進めており、現在までに、3T3-L1脂肪細胞をTNF α 処理した2型糖尿病の病態において、発現が亢進するガングリオシドGM3³⁾が細胞膜上の負電荷のクラスターを形成し、インスリン受容体の細胞膜直上のリジン残基と相互作用することでインスリン受容体をカベオラ構造から引き剥がすためにインスリンシグナルが伝達されなくなることを示している⁴⁾。一方、肥満モデル動物の脂肪組織においてもGM3の発現亢進が報告されているが、脂肪組織はエネルギー貯蔵臓器として大量のトリグリセリドを蓄積していることから、同じように極性の低い脂質である糖脂質全般の分析がトリグリセリドの妨害を受けるために困難であり、そのために特に中性糖脂質については明確にその構造やプロファイルを明らかにした報告はない。しかしながら、近年、グルコシルセラミド(GlcCer)の合成阻害剤であるAMP-Deoxynojirimycin (AMP-DNM)がTNF α

処理によりインスリン抵抗性に惹起した3T3-L1脂肪細胞のインスリン感受性を高めることが報告された⁵⁾ことから、脂肪細胞の糖脂質全般の重要性が認識されつつある。そこで、TNF α 処理によりインスリン抵抗性に惹起した3T3-L1脂肪細胞において簡便にトリグリセリドを除去する方法を検討することで、脂肪細胞の糖脂質全般の分析を行った。

7. 脂肪組織でのDCE洗浄によるトリグリセリドの除去

上述したように、ショ糖密度勾配遠心法で調製した界面活性剤不溶性画分(DRM)からの界面活性剤の効率的かつ簡便な除去法が開発された¹⁾。この方法ではTriton X-100を始めとして生化学的な研究に一般的に多用される数種の界面活性剤についても有用であり、固相抽出の前処理カラムおよび各種のカラムワークでは除去しきれず質量分析でイオン化妨害を引き起こす界面活性剤をほぼ完全に除去できることが明らかとなった。これらの界面活性剤は順相系の薄層クロマトグラフィー(TLC)では溶媒先端付近まで展開される物質であることから、同様に溶媒先端付近まで展開されるトリグリセリドへの応用の可能性が考えられた。

そこで、マウス(C57BL/6J)の副睾丸脂肪組織より総脂質を抽出し、これをトリグリセリドとみなしてDCE洗浄による除去を試みた。総脂質と中性糖脂質の標準品を混合したもので試した結果、脂肪量に関わらずトリグリセリドは洗浄画分(Wash fraction, W)に移行し、ガラス表面(Residue, R)には残らないことが分かった(図8A)。また、副睾丸脂肪を大量に用いてDCE洗浄を行ったとこ

ろ、副睪丸脂肪由来の脂質がバンドとして可視化できた(図8B)。

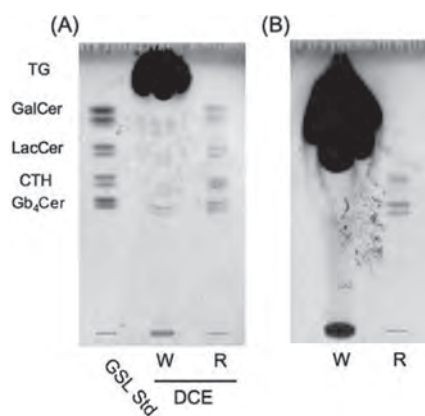


図8 マウス副睪丸脂肪のDCE洗浄
(A) トリグリセリドは完全にW画分に移行し、中性糖脂質は大半がR画分に残留する。
(B) 大量の副睪丸脂肪をDCE洗浄するとR画分に副睪丸脂肪由来の脂質が見えてくる。

8. 脂肪細胞でのDCE洗浄によるトリグリセリドの除去

DCE洗浄によりトリグリセリドの効果的な除去が可能であることが示されたので、次に、TNF α 処理によりインスリン抵抗性を惹起した3T3-L1脂肪細胞を用いて総脂質を抽出し、一部(0.1mg protein相当)を用いてDCE洗浄によるトリグリセリドの除去効果を検証した(図9)。その結果、副睪丸脂肪での場合と同様に、トリグリセリドはW画分に完全に移行し、糖脂質はR画分に残留したことから同洗浄により効果的に分画が行えた。

しかしながら、0.1mg protein相当分では、糖脂質としてはGM3とGD1aのバンドしかオルシノール試薬で呈色が見られなかった。これら2種類のガングリオシドに関しては、トリグリセリドが大量に存在する条件下でもシアル酸残基の負電荷を利用した陰イオン交換(DEAE)カラムクロマトグラフィーを行ってトリグリセリドから分離が可能であることから、既に報告がなされている。よって、より大量(1mg protein相当)に処理することで未報告の中性糖脂質のバンドが検出できるかを試みた(図10)。

その結果、CMH(セラミドモノヘキシシド)と考えられる R_f 値のバンドを確認した(図10左)ものの、CDH(セラミドジヘキシシド)の移動度からGM3の移動度までの間にリン脂質と考えられる複数のバンドを認めたため(図10右)、最終目標である糖脂質の一斉質量分析のためにはリン脂質の分解除去が必要と考えられた。そこで、アルカリメタノリシスお

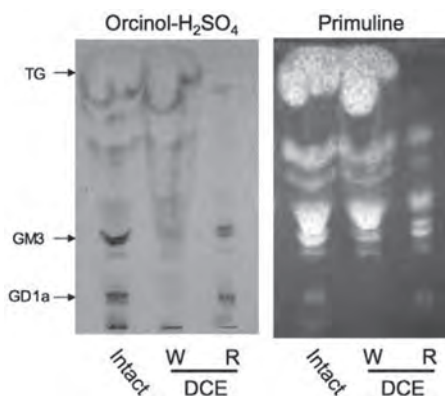


図9 TNF α 処理した3T3-L1脂肪細胞でのDCE洗浄によるTGの除去(0.1mg protein相当)

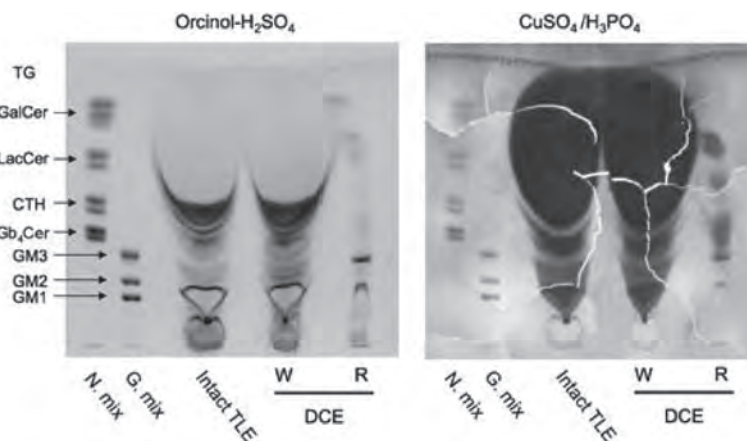


図10 TNF α 処理した3T3-L1脂肪細胞でのDCE洗浄によるTGの除去(1mg protein相当)

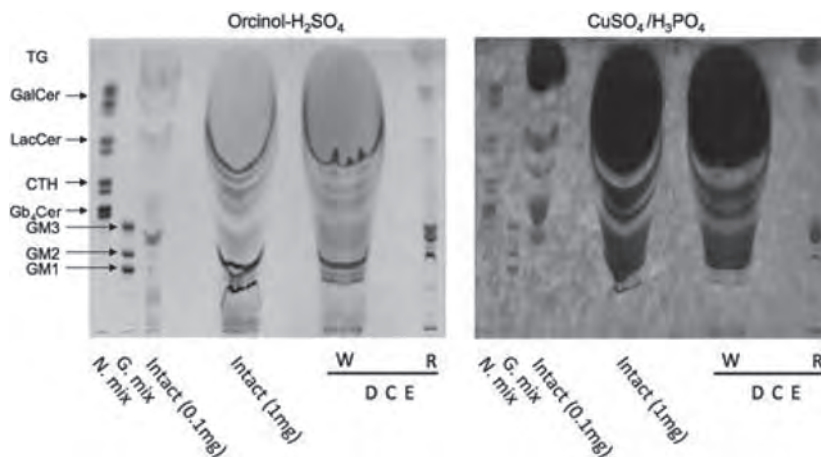


図11 TNF α 処理した3T3-L1脂肪細胞でのDCE洗浄によるTGの除去(1mg protein相当)とリン脂質の分解除去

よび Sep-pak C18 による脱塩を行って TLC 分析に処した。その結果、溶媒先端付近にやや夾雑物が見られるものの上述のリン脂質を除去することが出来、質量分析に供しうると考えられる試料を調製することが出来た。(図 11)

9. 脂肪細胞における中性糖脂質の検出と構造解析

上述の 1,2-ジクロロエタン(DCE)洗浄法により脂肪細胞のトリグリセリドを効果的に除去しえたことから、さらにリン脂質を弱アルカリ処理して分解除去し、Sep-pak C18 による脱塩の後、液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS)でネガティブイオンモードにて糖脂質の分子種の解析を試みた。本実験では MS² による構造解析が可能な装置(島津 LCMS-IT-TOF)を用い、MS³ でセラミドの分子量を設定し、脂肪酸および長鎖塩基由来のフラグメントの出現を確認す

ることで分子種の同定を行った(表 3)。これまでは、脂肪組織の糖脂質については、ブタの後背部脂肪(ロインバック)を用いて大量のトリグリセリドをアセトン脱脂して古典的な糖脂質構造解析した報告⁶⁾、ブタ腹膜(大網)の内臓脂肪の糖脂質を TLC 解析した報告⁷⁾、マウス副睾丸脂肪の GlcCer 量を LC-MS 解析した報告⁸⁾、マウスの卵巣周囲脂肪および副睾丸脂肪のガングリオシド量を LC-MS 解析した報告⁹⁾などがあるが、糖脂質のセラミド組成を詳細に調べた報告は見られない。よって、本報告は脂肪細胞の糖脂質、特に中性糖脂質の詳細な構造解析を行った初の報告である。脂肪細胞では主要な糖脂質は GM3 であり、次いで GD1a、CMH、CDH が検出されたが、いずれも長鎖塩基は d18:1 を成分とした分子種が豊富で、脂肪酸は C16 から C24 の飽和脂肪酸が優勢であった。

表 3 3T3-L1 脂肪細胞における主な糖脂質とその分子種

CMH		CDH	
分子種	m/z	分子種	m/z
CMH 16:0	698.55	CDH 16:0	860.62
CMH 17:0	712.57		
CMH 18:0	726.58	CDH 18:0	888.67
CMH 19:0	740.60		
CMH 20:0	754.61	CDH 20:0	916.67
CMH 21:0	768.63		
CMH 22:1	780.62		
CMH 22:0	782.65	CDH 22:0	944.70
CMH 23:0	796.66		
CMH 23:1	794.64		
CMH 24:1	808.66	CDH 24:1	970.72
CMH 24:0	810.68	CDH 24:0	972.73
CMH 25:0	824.69		
CMH h24:0	826.67		

GM3		GD1	
分子種	m/z	分子種	m/z
		GD1 15:0	896.45
GM3 16:0	1151.70		
GM3 17:0	1165.71		
GM3 18:0	1179.73	GD1 18:0	917.47
GM3 19:0	1193.74		
		GD1 20:1	930.48
GM3 20:0	1207.76	GD1 20:0	931.49
GM3 21:0	1221.78		
GM3 22:1	1233.76		
GM3 22:0	1235.79	GD1 22:0	945.50
GM3 23:0	1249.81		
GM3 23:1	1247.80		
GM3 24:1	1261.81	GD1 24:1	958.51
GM3 24:0	1263.82	GD1 24:0	959.52

10. 脂肪細胞における DRM に集積する糖脂質の分子種解析

シヨ糖密度勾配遠心法で用いた Triton X-100 (1%) は質量分析に影響を及ぼすため、脂質ラフト分画後に氷冷 DCE 洗浄を行い、Triton X-100 を除去した(図 12)。DRM 画分をそのまま LC-MS 解析したところ、糖脂質以外の成分が多いために MS の検出器が飽和し、回避するために希釈するとベースラインノイズの影響が見られた。そこで、

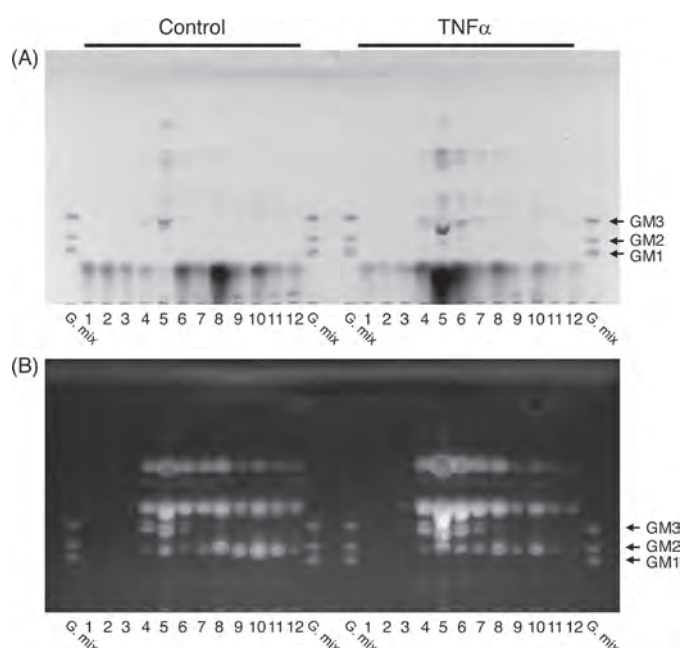


図 12 TNF α 処理前後での 3T3-L1 脂肪細胞をシヨ糖密度勾配遠心法による分画の後 DCE 洗浄・脱塩した TLC (サンプル量は 1mg protein 相当量) 呈色試薬はオルシノール硫酸(A) およびプリムリン(B)を用いた。糖脂質は No.5 画分を中心に No.4-6 (DRM 画分) に分画され、TNF α 処理によって GM3 の量が増加した。

Svennerholm 分配によって極性の低い物質を除去したのち、LC-MS 解析を行った(図13)。以前に100pM 96時間のTNF α 処理により脂肪細胞のGM3が約2倍に増加することを報告しているが、増加する際にセラミド鎖長の選択性は見られずほぼ一様に増加することが分かった。

今回解析した3T3-L1 脂肪細胞ではTNF α 処理によってGM3は分子種に関わらず2倍に増加する結果を得たが、高脂肪食を与えた高齢肥満マウス(C57BL/6J) 副睪丸脂肪や高齢の糖尿病モデルマウス(KKおよびKKAy)の卵巣周囲脂肪において詳細な分子種は報告されていないながら短鎖脂肪酸(C16やC18)の割合が増加することが報告されている⁹⁾。また、高齢ob/obマウスの脂肪組織において短鎖脂肪酸(C16)を含むスフィンゴミエリン(SM)が増加し、長鎖脂肪酸(C24)のSMが減少することが示されている¹⁰⁾。このように肥満状態でスフィンゴ脂質のセラミド鎖長変化が報告されていることから、今後、若齢の肥満モデルマウスを用いてGM3をはじめとする糖脂質のLC-MS解析を行うことで、肥満を引き金とする2型糖尿病の病態のさらなる解明を行う予定である。

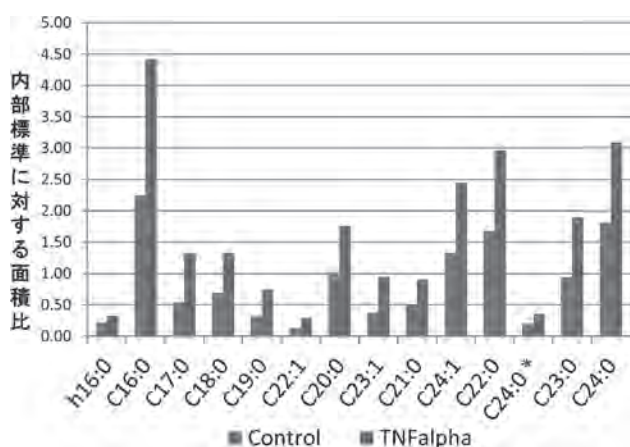


図13 脂肪細胞のDRM画分のGM3分子種
DRM画分をSvennerholm分配で粗精製し、LC-MSで解析した。TNF α 処理でGM3が約2倍に増加するが、セラミド分子種の選択的な増加は見られなかった。

11. おわりに

近年、体内の脂質代謝に対する医療分野の注目度はさらに増していると感じる。コレステロールの代謝抑制はもちろんのこと、最近では糖脂質の生合成を抑制したり、糖脂質分子そのものを補充したりすることで、生活習慣病や癌、腎臓および神経疾患に対する研究開発が進行している。しかしながらその作用機序としては、個体レベルでの表現

型解析やリスクファクターとしての定量解析が報告されるばかりであり、上記分子を構成成分とする細胞膜表面上でどのような変化が起こっているのか(細胞膜上のシグナル伝達分子にどのような影響を及ぼすのか)に関しては、依然として明確な説明は成されていない。

我々の研究において細胞膜脂質の体系的な解析法が確立しつつある。細胞膜の流動性および細胞膜受容体の側方拡散についての情報を数値化するためには、ライブセルイメージング技術が非常に適しており、細胞膜構成脂質の構造解析にはLC-MSを主力とする各種質量分析技術が不可欠であると考えている。これらの技術を併用して様々な病態モデルを解析することが、細胞膜脂質の矯正療法が未来の治療戦略になっていくことを願い、より一層研究に邁進していきたい。

参考文献

- 1) Suzuki, Y.; Kabayama, K. Journal of lipid research. 2012, 53, 599-608.
- 2) Hotamisligil, G.S.; Shargill, N.S.; Spiegelman, B.M. Science. 1993, 259, 87-91.
- 3) Tagami, S.; Inokuchi, J.; Kabayama, K.; Yoshimura, H.; Kitamura, F.; Uemura, S.; Ogawa, C.; Ishii, A.; Saito, M.; Ohtsuka, Y.; Sakaue, S.; Igarashi, Y. J. Biol. Chem. 2002, 277, 3085-3092. Epub 2001 Nov 3013.
- 4) Kabayama, K.; Sato, T.; Saito, K.; Loberto, N.; Prinetti, A.; Sonnino, S.; Kinjo, M.; Igarashi, Y.; Inokuchi, J. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2007, 104, 13678-13683.
- 5) Aerts, J.M.; Ottenhoff, R.; Powlson, A.S.; Grefhorst, A.; van Eijk, M.; Dubbelhuis, P.F.; Aten, J.; Kuipers, F.; Serlie, M.J.; Wenekes, T.; Sethi, J.K.; O'Rahilly, S.; Overkleeft, H.S. Diabetes. 2007, 56, 1341-1349.
- 6) Ohashi, M.; Yamakawa, T. Journal of biochemistry. 1977, 81, 1675-1690.
- 7) McCluer, R.H.; Evans, J.E.; Kamarei, A.R.; Williams, M.A. Lipids. 1989, 24, 951-956.
- 8) Wu, D.; Ren, Z.; Pae, M.; Guo, W.; Cui, X.; Merrill, A.H.; Meydani, S.N. J. Immunol. 2007, 179, 4829-4839.
- 9) Tanabe, A.; Matsuda, M.; Fukuhara, A.; Miyata, Y.; Komuro, R.; Shimomura, I.; Tojo, H. Biochemical and biophysical research communication. 2009, 379, 547-552.
- 10) Samad, F.; Hester, K.D.; Yang, G.; Hannun, Y.A.; Bielawski, J. Diabetes. 2006, 55, 2579-2587.