

氏 名 山 田 和 代
 学位の種類 薬 学 博 士
 学位記番号 論 薬 博 第 234 号
 学位授与の日付 昭 和 55 年 5 月 23 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
 学位論文題目 リン脂質分子種組成の決定におけるアシルトランスフェラーゼ系の関与の機構

(主 査)
 論文調査委員 教 授 富田謙吉 教 授 山科郁男 教 授 高木博司

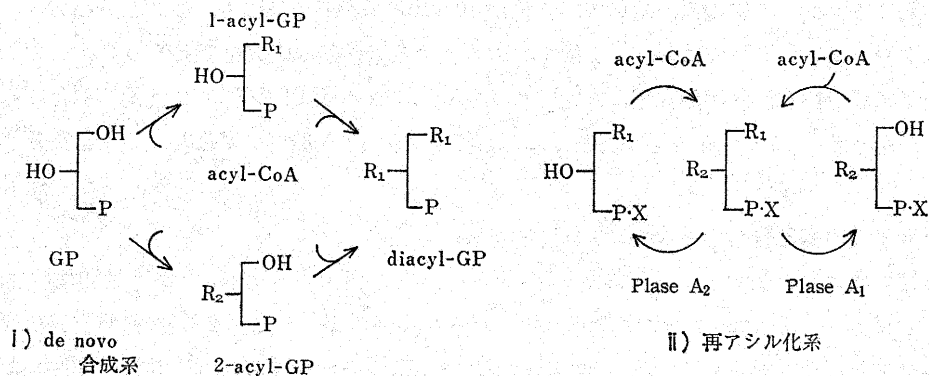
論 文 内 容 の 要 旨

本論文で扱う acyltransferase はアシル CoA の形に活性化された脂肪酸をグリセロール骨格の水酸基に転移する一連の酵素群であり, i) glycerophosphate (GP) をアシル化する *de novo* 合成系と ii) できあがったリン脂質のリゾ体にアシル基を再導入する再アシル化系とがある。これら酵素系はいずれも膜に結合しており, 現在のところ数種の acyl donor や acceptor の組合せに対し, いくつの酵素タンパクがあるかは不明である。

リン脂質は結合している塩基の違いによる分類のほか, 1, 2 位に結合している脂肪酸の組成と結合位置によりさらに種々の分子種に分けることができる。このリン脂質分子種の組成は生体膜の流動性を決める重要な因子の一つであり, 通常生物の種類, 臓器, リン脂質の種類により一定に保たれている。しかしリン脂質の分子種組成は一つの細胞においても必ずしも固定的ではなく, 細胞内外の条件によりある範囲で変動がみられる。本論文ではこのリン脂質分子種の組成が決められる機構を acyltransferase 系の性質との関連で明らかにすることを目的とした。

Phosphatidic acid の合成経路

リン脂質 *de novo* 合成の最初の段階であるグリセロリン酸 (GP) のアシル化反応において通常得られる



product は diacyl-GP であるが、1-acyl-GP と 2-acyl-GP のいずれを中間体として合成されるかは未解決であった。いくつかの生物で acyltransferase 系を調べた結果、抗酸菌 *Mycobacterium* に *in vitro* で 1-不飽和、2-飽和型の diacyl-GP を主な product とする acyltransferase 系を見出した。この系では、中間体としての 2-palmitoyl-GP 生成がみられ、また oleoyl-CoA に特異的な 2-acyl-GP acyltransferase 活性が強いことから 2-acyl-GP を主な中間体としていることがわかった。この系と比較することにより、従来議論の分かれていた大腸菌やラット肝臓のほか、新たに調べた単細胞生物のテトラヒメナや酵母でも、1-acyl-GP を中間体とする経路が主であることがわかった。

Acyltransferase 系のアシル基選択性

大腸菌やラット肝臓ミクロゾームの 1-acyl-GP を中間体とする diacyl-GP 合成系は、いずれもアシル-CoA に対する特異性が比較的低く、膜リン脂質の 1, 2 位への脂肪酸の分布が脂肪酸の種類によって非常に片よっていることを十分に説明できなかった。

in vivo のアシル化反応の特徴を acyltransferase 系の性質と関連づけるためには、アシル-CoA に対する特異性だけでなく、*in vivo* での状況のように基質が数種類共存するときのアシル基選択性を考慮しなければならない。

大腸菌は通常の培養条件では 1-飽和、2-不飽和型分子種を主につくる。この菌の acyltransferase 系は 1 位、2 位のアシル化ともに、飽和、不飽和のアシル-CoA に対する特異性は低い。しかし飽和、不飽和のアシル-CoA が共存し、acceptor 濃度が低いときは基質に対する親和性の差にもとづき、1 位は飽和アシル-CoA で、2 位は不飽和アシル-CoA で選択的にアシル化され、結果として、1-飽和、2-不飽和型 diacyl-GP がつくられることが判明した。またアシル基選択性は 2 つのアシル-CoA の存在比が変わるとそれに応じて変わり、1,2-ジ飽和分子種や、1,2-ジ不飽和分子種も多く合成される。これが *in vivo* の培養温度のシフトアップ時、シフトダウン時に対応する。

ラット肝臓の diacyl-GP 合成系でも 2 倍のアシル化は大腸菌の場合と同様、アシル-CoA に対する特異性が低いにもかかわらず acceptor 濃度が低いとき不飽和アシル-CoA に対し選択性が高かった。1 位のアシル化 (GP acyltransferase 系) には 2 つの酵素系の存在が知られている。一つはミトコンドリア外膜に存在し、palmitoyl-CoA に特異的で、もう一つはミクロゾームに存在しアシル-CoA に対する特異性の低い系である。二つの系はアシル-CoA に対する親和性が異なるため、アシル-CoA 混合物の濃度が低いとき、主にミトコンドリアの系が働いて、1 位が palmitate でアシル化されることがわかった。ミクロゾーム系はアシル-CoA の組成により、1 位をアシル化する脂肪酸の組成を変えるので、ラット肝臓でも作られる分子種は 1-飽和、2-不飽和型に固定的ではなく、アシル-CoA プールの組成、濃度に応じて変化しうることを示された。*in vivo* でも栄養条件に応じてアシル-CoA 濃度は変化し、リン脂質分子種組成は変動する。

リン脂質分子種の臓器特異性と acyltransferase 系

動物では臓器により存在するリン脂質分子種に違いがある。肝では 1-飽和、2-不飽和型の phosphatidylcholine (PC) や、phosphatidylethanolamine が多いが肝の PC には 1,2-ジ飽和型分子種が多く、肺のガス交換に重要な役割を果している。acyltransferase 系のアシル-CoA に対する特異性には両臓器で

顕著な違いは見い出されなかった。しかし再アシル化系でのアシル基選択性は異なっていて、acceptor 濃度の低いとき肝では arachidonoyl-CoA が選択的に使われるのに対し、肺では palmitoyl-CoA も 2 位に導入されることがわかった。一方 *de novo* 合成系の 2 位のアシルも肝では飽和アシル-CoA が除外されるのに対し、肺では飽和アシル-CoA も使われる。このような acyltransferase 系の性質と細胞内の基質の状態から、従来、肺の飽和型 PC の合成にあまり寄与しないとされてきた acyltransferase 系が、飽和型 PC の合成に寄与しうると考えた。

以上いくつかの細胞でリン脂質分子種の組成が決定される上での acyltransferase 系の関与の機構を部分的に解明した。

論文審査の結果の要旨

リン脂質は生体膜においてその流動性の変化を通じ、また種々の蛋白の補欠因子として膜機能に重要な役割を演じている。リン脂質の特性はその結合塩基の違い以外にそのグリセロール部の 1, 2 位に結合する脂肪酸の組成と結合位置により左右され、その組成は生物の種類、臓器に特異的でこれが膜機能に重大な影響を及ぼしている。しかしながらリン脂質の脂肪酸組成の決定に、アシルトランスフェラーゼ系が如何に関与しているかその機構については不明の点が多かった。著者は種々の生物の膜画分のアシルトランスフェラーゼ系の特性を検討し以下の成果を得た。(I)リン脂質生合成経路のうち、グリセロリン酸(GP)のアシル化に関与する *de novo* 合成系については、従来議論の分れていた大腸菌やラット肝臓の他、新たに調べた単細胞のテトラヒメナや酵母でも 1-アシル-GP を中間体とする経路が主であることが判明した。また抗酸菌 *Mycobacterium* では 1-オレイル-2-パルミトイル-GP が主生成物で、中間体として 2-パルミトイル-GP を蓄積することから、2-アシル-GP 経路でジアシル-GP を合成する系もあることが初めて証明された。またリゾリン脂質を受容体とするアシルトランスフェラーゼ系(再アシル化系)の活性は原核細胞では非常に低く、真核細胞で高く、活性はミクロゾームに局在していることも判明した。(II)アシルトランスフェラーゼのアシル基選択性は、*in vitro* の実験系で、個々のアシル CoA に対する最大速度を比較する限りでは非常に低く、大腸菌、ラット肝臓のリン脂質の C-1, C-2 位の脂肪酸組成の非対称性や、これらを裏づける *in vivo* のトレーサー実験の結果を説明できない。著者は大腸菌で *in vivo* における如く受容体 GP の濃度を低く保ち、飽和、不飽和のアシル CoA が共存すれば *in vitro* でも 1-飽和-2-不飽和-GP が選択的に合成されることを証明した。大腸菌とラット肝臓においてアシルトランスフェラーゼのアシル基選択性は基質に対する特異性、親和性、基質の相対濃度に支配されて生成物が変化することが判明した。(III)肝臓と肺の臓器特異的なリン脂質の合成については、両者のアシルトランスフェラーゼのアシル CoA 特異性は似ているが、受容体濃度の低い時、アシル選択性が異なることを証明した。その結果、肺の飽和型レシチンの合成にもアシルトランスフェラーゼ系が寄与し得ることが明らかとなった。以上の成果は、リン脂質の脂肪酸組成決定の機構の一端を解明したもので、脂質生合成の仕組の理解に貢献するところ大である。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認定する。