



北海道大学大学院農学研究院 村井 勇太

化学的アプローチによるスフィンゴ脂質関連分子の新しい生理機能の解明

はじめに

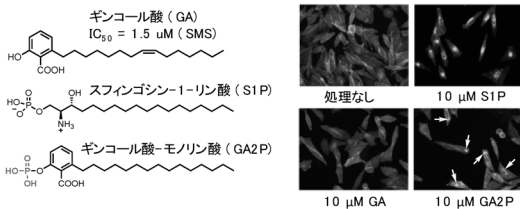
スフィンゴ脂質とは、長鎖アミノアルコール（長鎖塩基）を基本骨格とした必須生体脂質であり、皮膚バリア機能や脂質メデイエーター、エピトープといった重要な生命維持活動を担っている。特にスフィンゴ脂質はタンパクと異なりセントラルドグマに支配されないことからスフィンゴ脂質の生体内での働きは未だ不明瞭な点が多く存在する。最近では、スフィンゴ脂質と癌、痴呆症、糖尿病といった疾患関連研究が盛んに行われており、アンメットメディカルニーズ関連分子としても注目を浴びている。本研究ではこのスフィンゴ脂質病に関する医療応用と学術展開の両立を指向し、化学の面からスフィンゴ脂質関連分子の生体分子への影響を明らかにしてきた。

1. スフィンゴミエリン合成酵素阻害剤開発と肥満抑制効果

細胞膜に存在するスフィンゴミエリン合成酵素2 (SMS2) はマイクロドメイン中のスフィンゴミエリン量を調節する役割を担うとされるが、より詳細な働きは未だ不明な点が多い。SMS2欠損マウスの表現系は『肥満抑制』が確認され、生命維持活動にはほとんど影響がないことから創薬の標的となっている。筆者はSMS2の阻害剤について北方圏生息の薬草抽出物から探索を行い、ダウリクロメニク酸（ムラサキツツジ）<sup>1)</sup> やギンコール酸（イチョウ）が阻害作用を示すことを発見した。またギンコール酸骨格がスフィンゴシン-1-リン酸（脂質メデイエーター）と同様の作用を示すことも証明した<sup>2)</sup>。これに加え、ナツメグに含まれるマラバリコーンCについてもSMS2阻害能を発見し、これについては高脂肪食下のマウス実験においてマラバリコーンC摂取による肥満抑制効果および血糖値

ギンコール酸の"スフィンゴ脂質ミミック"としての生理活性

GA2PIによるS1P受容体の内在化を誘導



マラバリコーンCによる肥満抑制効果

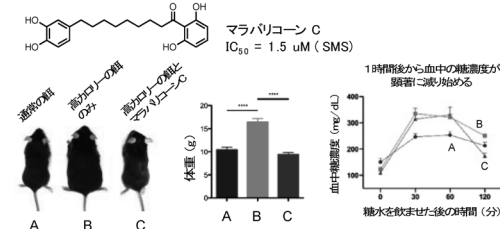


図1. 天然由来のスフィンゴミエリン合成酵素阻害剤とその生理的機能

減少を世界で初めて証明した<sup>3)</sup>。

2. 特異的な植物性セラミドによるアルツハイマー病予防

神経細胞由来エクソソームはアルツハイマー病 (AD) 原因物質アミロイドβ (Aβ) の除去が可能であり、またスフィンゴ脂質の1種、セラミドはこのエクソソーム産生を促進することが知られている。従って、セラミド摂取は未だ根本的な治療がないADの新規予防法と期待される。そこで筆者は植物がもつセラミドにも同様の効果が示されれば普段の食事摂取によってAD予防が期待できると考え、植物性セラミドのエクソソーム産生効果を評価した。その結果、特定の脂肪酸鎖長 (C16,18) を持つ植物性セラミドにエクソソーム産生効果があることを突き止め、さらに哺乳性セラミドよりも高い産生効果があることを発見した。さらに植物セラミドによるエクソソーム産生促進機構については重水素ラベル標識した植物セラミドを初めて合成し、リピドミクス解析に適用することで後期エンドソームに存在するLAPTM4Bタンパクと相互作用することで引き起こされることを証明した<sup>4)</sup>。

3. スフィンゴ脂質の立体化学による神経突起伸長促進効果

ガングリオシド GM3 は神経芽細胞腫細胞株において神経突

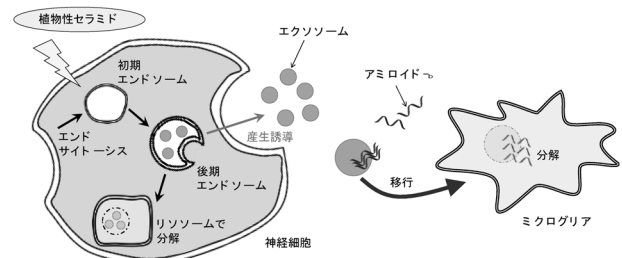


図2. 特定の植物セラミド刺激による神経細胞からのエクソソーム産生誘導とエクソソームによるアミロイドβ捕捉 & ミクログリアへ移行後の分解

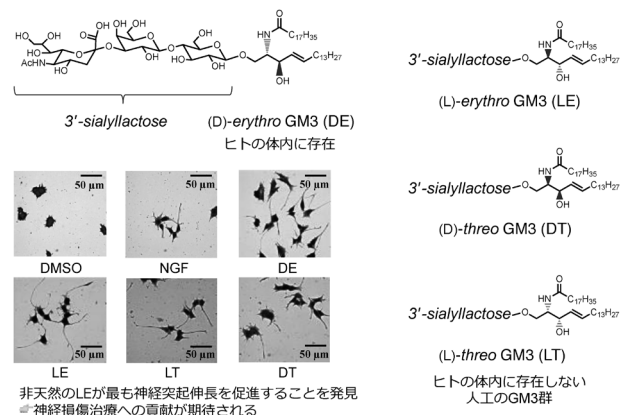


図3. 四つの立体異性体スフィンゴ脂質におけるGM3構造と各GM3による神経突起伸長促進効果への影響

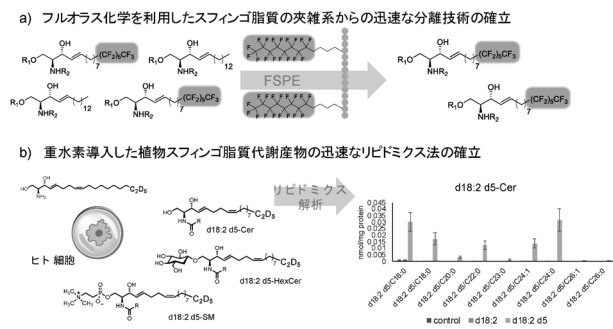


図4. 代謝トレーサーとしてのスフィンゴ脂質の創成

起伸長を促進する。神経突起伸長は機能的な神経細胞回路の発達や神経損傷後の神経再生における重要なプロセスであり、神経組織中の GM3 レベルを調節することはこれらの潜在的な治療法となりうる。GM3 に関する生理学的な研究は糖鎖関連に集中しており、スフィンゴ脂質骨格に着目された例はなかった。筆者はスフィンゴ脂質に存在する二カ所の不斉中心に着目し、天然 GM3 (1種) および非天然 GM3 (3種) を網羅的に合成することで神経突起伸長の効果について検討を行った。その結果、非天然型である (L)-erythro-GM3 が最も神経突起伸長を促進することが判明した。この成果により GM3 の働きについて糖鎖だけでなく、スフィンゴ脂質の構造も重要なファクターであることを証明した<sup>5)</sup>。

#### 4. 外因性スフィンゴ脂質の代謝トレーサーの創成

外因性あるいは異種のスフィンゴ脂質は哺乳類のさまざまな生理機能に影響を与える。従って、その代謝機構を明らかにすることはその分子メカニズムを解明することにも繋がる。しかし、内在性脂質との区別は分子量や極性が類似し HPLC 等の分離作業に大変な手間を要していた。そこで筆者はフルオラス化学の特徴を利用し、スフィンゴ脂質のアルキル鎖を適切な長さのフルオラスに置換した新規フルオラススフィンゴ脂質の創成を行うことで内在性脂質や生体分子との簡便な分離・解析法を確立した<sup>6)</sup>。また本脂質は脂質代謝酵素の基質になることも確認されており、スフィンゴ脂質の新しい代謝解析ツールとして期待されている (図4a)。いっぽう重水素ラベル法もリポミクスにおいて迅速な解析をサポートする強力な手法である。植物性スフィンゴ脂質は哺乳性スフィンゴ脂質と異なる生理活性を示すことからヒト生体内での代謝機構解明は大変興味深い。筆者は重水素を導入した植物性スフィンゴ脂質の創成を行い、それがヒト細胞内で代謝されることを数分程度の質量分析で解析できることに成功した。これは初めて植物スフィンゴ脂質がヒト代謝酵素の基質になることを証明するものであり、また複雑な HPLC 操作なしに簡便にリポミクス解析できる方法論の創出になった (図4b)<sup>7)</sup>。

#### おわりに

スフィンゴ脂質は哺乳類、植物、菌類の真核生物そして一部の細菌に存在が確認されています。スフィンゴ脂質は哺乳類の肌表皮や神経細胞の周りに存在するミエリン鞘のメジャーな構成成分であり、またエンベロープ型ウイルスの宿主細胞への侵

入 (感染) にも大きく関わっていることが知られています。他にも免疫賦活化やオートファジーといった生理機能の調節にも関わっており、未解明な機能もいまだ多くの残っていることから研究の対象として大変魅力的な生体分子として注目を浴びています。今回は天然物によるスフィンゴ脂質とその関連生体分子の制御による新たな疾病改善法の創成やスフィンゴ脂質の構造違いによる生理活性への影響などを紹介してきました。スフィンゴ脂質には未知の生理活性機能をもつものがまだまだたくさん眠っていると予測されています。今後はこのようなスフィンゴ脂質の生理活性機能を明らかにし、いまだ完全な治療法や予防法が確立されていない病気への応用にも迫っていきたいと思っている。

#### (引用文献)

- 1) Deepak, H. V., Swamy, M. M. M., Murai, Y., et al. Daurichromenic acid from the Chinese traditional medicinal plant *Rhododendron dauricum* inhibits sphingomyelin synthase and A $\beta$  aggregation. *Molecules* **25**, 4077 (2020).
- 2) Swamy, M. M. M., Murai, Y., et al. Structure-inspired design of a sphingolipid mimic sphingosine-1-phosphate receptor agonist from a naturally occurring sphingomyelin synthase inhibitor. *Chem. Commun.* **54**, 12758–12761 (2018).
- 3) Othman, M. A., Yuyama, K., Murai, Y., et al. Malabaricone C as natural sphingomyelin synthase inhibitor against diet-induced obesity and its lipid metabolism in mice. *ACS Med. Chem. Lett.* **10**, 1154–1158 (2019).
- 4) Murai, Y., et al. Evaluation of plant ceramide species-induced exosome release from neuronal cells and exosome loading using deuterium chemistry. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 10751 (2022).
- 5) Koolath, S., Murai, Y., et al. Stereochemistry of Sphingolipids in Ganglioside GM3 Enhances Recovery of Nervous Functionality. *ACS Med. Chem. Lett.* **14**, 1237–1241 (2023).
- 6) Saito, S., Murai, Y., et al. Synthesis of nontoxic fluorinated sphingolipids as molecular probes of exogenous metabolic studies for rapid enrichment by fluorinated solid phase extraction. *Eur. J. Org. Chem.* 1045–1051 (2017).
- 7) Murai, Y., et al. Penta-deuterium-labeled 4E, 8Z-sphingadienine for rapid analysis in sphingolipidomics study. *Chem. Phys. Lipids* **245**, 105202 (2022).

謝辞 本研究は、北海道大学大学院先端生命科学研究院、門出健次教授の研究室で行われたものであり、ご指導、ご協力いただいた門出健次先生、谷口透先生ならびに日夜研究に邁進していただいた学生の皆様の不断の努力に厚く御礼申し上げます。また、学生時代から現在も様々な場面でご指導を賜ります橋本 誠先生、故・橋床泰之先生、福士幸治先生、崎浜靖子先生、また隣研究室の松浦英幸先生 (北海道大学)、高橋公咲先生 (現・東京農業大学) に深く感謝を申し上げます。本奨励賞を励みに、さらにスフィンゴ脂質の研究を化学の視点から発展できるよう一層精進して参る所存です。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました日本農芸化学会北海道支部長・園山 慶先生 (北海道大学) ならびに日頃温かいご支援を賜っております北海道支部の先生がたに厚く御礼を申し上げます。