

生理活性脂質 LysoPS の受容体と代謝酵素

井上 飛鳥, 上水 明治, 青木 淳賢

リゾホスファチジルセリン (LysoPS) はグリセロール骨格に1本のアシル基と極性頭部にリン酸基とセリンを有するリゾリン脂質である。LysoPSに特異的に応答するGタンパク質共役型受容体が、ヒトでは3種類同定されている。産生系としては、ホスファチジルセリンの脱アシル化反応を担う酵素 (ホスホリパーゼA₁またはA₂) が複数同定されている。質量分析計を用いた解析から、血中のLysoPS濃度は定常時にはきわめて低値であり、炎症時などにその濃度が上昇することが判明している。受容体や産生酵素も炎症刺激や免疫応答の活性化により発現量が増えることから、LysoPSシステムは炎症応答に寄与することが想定される。本稿では近年のLysoPSの研究動向を概説し、その創薬標的の可能性を議論する。

1. はじめに

リゾリン脂質メディエーターとして、リゾホスファチジン酸 (LPA) とスフィンゴシン1-リン酸 (S1P) の研究が先行しており、受容体や産生酵素、輸送体が同定され、その遺伝子欠損 (KO) マウスや遺伝子変異を有する疾患患者から、LPAやS1Pの多様な生理機能が明らかとなっている。一方、リゾホスファチジルセリン [LysoPS, 本稿ではリポポリサッカライド (LPSと略されることが多い) と区別するためLysoPSの略語を用いる] は、その受容体や産生酵素の全容がいまだ明らかとなっていない。しかし、LPAやS1Pとは異なる生理機能に関与することが示唆されており、LysoPSは近年着目を集めつつあるリゾリン脂質メディエーターである。

2. LysoPSの構造

LysoPSの分子構造はグリセロール骨格にアシル基を1本

と極性頭部にリン酸基とセリンを含有する。LPAと同様に、アシル基の脂肪酸種は多様であり、その結合位置はグリセロール骨格のsn-1位 (1-アシル型) とsn-2位 (2-アシル型) の2種類がある。LysoPSに含有するアシル基の種類は、体内に多い脂肪酸種である炭素数16から22、不飽和度は0から6の脂肪酸である (以下、LysoPSに含有される脂肪酸分子種を炭素数: 不飽和度で表す)。生体内にはLysoPSを*de novo*で合成する経路は存在せず、後述するように、LysoPSの前駆体はアシル基を2本有するホスファチジルセリン (PS) であると考えられている。他の多くのリン脂質と同様、PSのsn-1位とsn-2位にはそれぞれ飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸の非対称的な分布があることから、対応するLysoPSも1-アシル型が飽和脂肪酸を含有し、2-アシル型が不飽和脂肪酸を含有する場合が多い。LPAではアシル基の種類やグリセロール骨格の結合位置の違いにより、薬理作用や受容体活性化作用が異なることが知られている¹⁻³⁾。LysoPS受容体に関しては、LPS₁が不飽和脂肪酸を含有するLysoPSに対して反応性が高い⁴⁾。

3. LysoPSの存在量

近年の質量分析計の発達により、さまざまな臨床サンプル中のLysoPS量を測定することが可能となった。多くの臨床サンプルを測定した結果、血漿中には数~10nMのLysoPSが存在することがわかっている。この濃度は、LPA (~数10nM)、S1P (~1μM) と比較してやや少なく、また、LysoPS受容体 (7節参照) を活性化する濃度に達して

東北大学大学院薬学研究科分子細胞生化学分野 (〒980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉6-3)

Receptors and metabolic enzymes of lysophosphatidylserine

Asuka Inoue, Akiharu Uwamizu and Junken Aoki (Department of Molecular and Cellular Biochemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University, 6-3, Aoba, Aramaki, Aoba-Ku, Sendai, Miyagi 980-8578 Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2018.900614

© 2018 公益社団法人日本生化学会

いない。このことは、LysoPSが全身性よりも局所的なメデイエーターとして機能する可能性を示唆している。血液以外では、胃がん患者の腹水中において18:0-, 18:1-LysoPSの濃度が増加しており、LysoPS濃度とLysoPS産生酵素であるPS-PLA₁濃度に正の相関性があることが報告されている⁵⁾。LysoPSは組織中にも検出され、急性冠症候群の病変部位で検出されるLysoPSはPS-PLA₁ (5節参照)の濃度との間に正の相関性があることが見いだされている⁶⁾。

4. LysoPSの生理活性・薬理活性

LysoPSの生理活性はラットの腹腔マスト細胞の脱顆粒反応を促進する作用として見いだされた⁷⁾。マスト細胞はIgE依存的な脱顆粒応答を引き起こす免疫細胞の一種であり、ヒスタミンの放出などを介してアレルギー疾患を引き起こす細胞として知られる。IgEを感作させたマスト細胞に対して、抗原とLysoPSを添加すると、抗原単独添加に比べて顕著な脱顆粒反応の促進がみられる。その後のLysoPS誘導体を用いた薬理学的な解析から、この脱顆粒促進作用は極性基のセリンの立体構造を厳密に認識していることがわかり^{8,9)}、LysoPSを特異的に認識する受容体の存在が想定されている。後述のように、LPS₁/GPR34がマスト細胞のLysoPS受容体として着目されたが、LPS₁遺伝子KOマウスのマウス細胞はLysoPSに応答して脱顆粒促進作用を示すことから、LPS₁以外の分子が脱顆粒促進作用を担うと考えられる¹⁰⁾。

LysoPSはマスト細胞の脱顆粒促進作用以外にも、T細胞の増殖抑制作用¹¹⁾、細胞遊走能の促進作用^{4,12)}、マクロファージの貪食能促進作用^{13,14)}、PC12細胞の神経突起伸長作用¹⁵⁾、シトクロムP450の機能制御¹⁶⁾を有することが報告されている。

5. LysoPS産生経路

LysoPSの産生経路として、PSの脱アシル化（ホスホリパーゼA₁もしくはA₂反応、以下それぞれの反応を触媒する酵素をPLA₁、PLA₂と略記）が想定されている。細胞内で*de novo*で合成されるLPAとは異なり、LysoPSを含む他のグリセロリゾリン脂質は*de novo*で合成されない。また、細胞内外にはPSに作用しLysoPSを産生しうるさまざまなPLA₁/PLA₂分子が存在する。このうち細胞外でPSの脱アシル化反応を担う酵素が我々のグループにより精製・同定されている。

PSは通常、脂質二重膜の内層に分布し、その非対称性はフリッパーゼにより積極的に維持されている。アポトーシスや血小板の活性化などの特殊な環境下においては、PSが脂質二重膜の外層に露出する。この露出したPSは、アポトーシス細胞のイートミーシグナル（貪食細胞による除去の目印）としての機能や、血小板上における血液凝固因子の結合促進の機能が知られる。

我々はこれらのPS自体の機能に加えて、PSのアシル基が積極的に分解を受けてLysoPSとして別の機能を発揮すると想定している。物性の違いから、PSは細胞膜にとどまって機能する一方、LysoPSは両親媒性化合物として細胞膜から細胞間隙に移行し、拡散して周囲の細胞に達することができる。細胞外でのLysoPS産生の律速段階は、PSの脱アシル化よりもPSの膜表面への輸送であると考えられる。血小板の活性化時やアポトーシス時にPSを内膜から外膜へ輸送するスクランブラーゼとして、TMEM16FやXkr8が同定されているものの^{17,18)}、LysoPS産生と共役しているかは明らかとなっておらず、この点は今後の研究課題である。

我々は以前の研究において、活性化血小板からLysoPSが産生されることに着目し、PSに対するホスホリパーゼA₁活性を指標（実際の実験はLysoPSに対するリゾホスホリパーゼA₁活性）にセリン含有リン脂質を選択的な基質とする酵素を精製・同定し、PS-PLA₁と命名した¹⁹⁾。遺伝子クローニングにより、このタンパク質の全長のアミノ酸配列を決定したところ、PS-PLA₁はトリアシルグリセロールを基質とするリパーゼファミリー（腭リパーゼやリボタンパク質リパーゼなどがメンバーに含まれる）と相同性を有することがわかった。これらのリパーゼはトリアシルグリセロールの*sn*-1位と*sn*-3位のアシル基を加水分解して、それぞれ腸管内や血中リボタンパク質のトリアシルグリセロール代謝に関与する。その後の研究により、リパーゼファミリーにはリン脂質を基質とする複数のメンバーが含まれることが判明している。たとえば肝リパーゼと内皮リパーゼは血中リボタンパク質のリン脂質代謝に関わる²⁰⁾。肝リパーゼはトリアシルグリセロールも基質とするが、PS-PLA₁と2種類のホスファチジン酸選択的PLA₁（PA-PLA_{1α}とPA-PLA_{1β}）は、トリアシルグリセロールに対する活性を示さず、リン脂質のみを基質とする。

PS-PLA₁は細胞外に分泌され、好中球に作用しLysoPSを産生することでマスト細胞の脱顆粒に関与しうることが示されている²¹⁾。しかし、PS-PLA₁はLysoPSを分解する活性も有しているため（次節参照）、PS-PLA₁がLysoPS産生酵素として機能するかについては慎重に考えなければならない。

PS-PLA₁と最も相同性の高いタンパク質はPA-PLA_{1α}（アミノ酸配列上77%の類似度、33%の一致度を示す）であるものの、極性頭部（それぞれホスホセリン基とリン酸基）とアシル基（PS-PLA₁はリン脂質とリゾリン脂質を基質とし、PA-PLA_{1α}はリン脂質のみ）の選択性が異なる。我々は基質認識機構に興味を持ち、この分子機構を理解すべく、基質選択性に関わるアミノ酸残基の同定を試みた²²⁾。腭リパーゼの構造解析の知見から基質ポケットを覆う三つのループに着目し、酵素のキメラ体を作製してその酵素活性を測定したところ、このうちβ5ループがPS-PLA₁のリゾホスホリパーゼ活性とPA-PLA_{1α}のリン酸基認識に寄与していることがわかった。特にPS-PLA₁の広いア

シル基選択性は β 5ループ上の一つのアミノ酸残基 (A93) で説明されることがわかった。

近年, 新規LysoPS産生酵素として α/β ヒドロラーゼファミリーの一種であるABHD16Aが同定された²³⁾. ABHD16Aは脳および活性化マクロファージにおいて高発現し, これに対応するようにABHD16A KOマウスの脳および活性化マクロファージ培養上清中のLysoPS量が減少していた. ABHD16Aを過剰発現させたHEK293の膜画分を用いた*in vitro*の解析から, ABHD16AはPSを基質としてLysoPSを産生することがわかった. 他のジアシルリン脂質についても検討しており, ホスファチジルコリン, ホスファチジイルノシトール, ホスファチジルグリセロール, ホスファチジン酸も代謝され, それぞれのリゾ体を産生することもわかった. 培養細胞レベルの解析では, チオグリコレート誘導性マクロファージにおいて, ABHD16Aがリポポリサッカライド活性化刺激時のTNF α 産生の促進作用を示すことがわかった. この論文において, ABHD16Aに対する選択性の高い阻害剤KC-01が開発されており, このツール化合物を用いた今後の研究の発展が期待される. 一方, 別のグループの論文では, ABHD16AはLysoPSやモノアシルグリセロール, プロスタグランジン結合型グリセロールを基質とし, 脂肪酸やプロスタグランジンを産生することが示されており, 個体内で本酵素の主要な基質がPSであり, LysoPS産生酵素として生理的な役割を発揮しているかどうかについてはさらなる解析が必要である²⁴⁾.

6. LysoPS分解経路

LysoPSの分解活性を有する酵素が複数報告されている. まず, 上述したPS-PLA₁はPSのsn-1位のアシル基を加水分解するだけでなく, LysoPSのsn-1位のアシル基も加水分解する^{19, 25)}. 我々の予備的知見では, 血清産生時に産生される不飽和型のLysoPSはPS-PLA₁ KOマウスで著減するが, 逆に, 飽和型LysoPSの産生はPS-PLA₁ KOマウスで増加する. このように, グリセロール骨格に結合する脂肪酸の違いにより生じる2-アシル型LysoPS (不飽和脂肪酸を有する) と1-アシル型LysoPS (飽和脂肪酸を有する) でその産生系, 消去系は大きく異なるようである.

一方, Cravattのグループはケミカルバイオロジーの手法により, いくつかのLysoPS分解酵素を同定している. ABHD12遺伝子は失聴・運動失調等を特徴とする遺伝疾患 (polyneuropathy, hearing loss, ataxia, retinitis pigmentosa, and cataract: PHARC) の原因遺伝子として同定されており²⁶⁾, 当初その基質として2-アラキドノイルグリセロールが想定されていた²⁷⁾. ABHD12 KOマウスはPHARCの病態を示したが, 脳内の2-アラキドノイルグリセロールの量に顕著な差は認められなかった²⁸⁾. 質量分析計を用いた網羅的脂質解析により, ABHD12 KOマウスではLysoPSが蓄積し, 特に長鎖脂肪酸を有するLysoPSが顕著に増加した.

*in vitro*の解析で, リコンビナントABHD12はLysoPSのアシル基を加水分解する活性を示した. 彼らは*in viro*の解析からABHD6もLysoPS分解酵素であると報告している. しかし, 上述のABHD16と同様, ABHD6, 12とも*in vitro*ではさまざまなリン脂質, 中性脂質の脂肪酸を加水分解する活性を示す²⁹⁾. したがって, これらが真のLysoPS分解酵素であることを示すためにはさらなる解析, 特に, 次に述べるLysoPS受容体との共役実験が必要であると著者らは考える.

7. LysoPS受容体

以前に同定されていたLPA受容体とS1P受容体がいずれもGタンパク質共役型受容体 (GPCR) であったことから, LysoPS受容体もGPCRであると想定されていた. LPA受容体とS1P受容体は1990年代後半に同定されたが, その約10年後, 初めてのLysoPS受容体としてGPR34 (その後筆者らのグループがLPS₁と呼ぶことを提唱) が報告された³⁰⁾. しかし, Schönebergのグループは, GPR34はLysoPSには反応しないと主張し, GPR34がLysoPS応答性受容体であるかは議論的となった³¹⁾. 同論文ではヒトとマウスのGPR34はLysoPS応答性が検出されないものの魚類 (コイ) 由来のGPR34はLysoPS応答性があると報告している. 我々は, GPR34を強制発現させたGPR34がLysoPS依存的にカルシウム応答と細胞遊走を引き起こすこと⁹⁾, 当研究室で開発されたGPCR活性化測定法TGF α 切断アッセイを用い, GPR34がLysoPSに応答する⁴⁾ことを示している. 特記すべきは, GPR34はLysoPSの化学構造にきわめて高い特異性を示すことである. たとえば, LysoPSのセリン残基が少しでも修飾されているLysoPS誘導体 (たとえば, L-セリンの代わりにホモセリン, D-セリン, L-トレオニン, エタノールアミンを極性頭部に持つリゾリン脂質) は, まったくGPR34には応答しない³²⁾. また, GPR34発現細胞に上述のLysoPS産生候補酵素であるPS-PLA₁を添加すると, LysoPSの産生とともに, GPR34の活性化が観察される⁴⁾. これらの結果はGPR34がLysoPS応答性の受容体であることを強く示唆している.

我々はLPS₂/P2Y₁₀, LPS_{2L}/A630033H20Rik (ヒトでは偽遺伝子), LPS₃/GPR174を新規LysoPS受容体として同定した³³⁾. LPS₂については, LPAおよびS1Pに応答すると報告されているが³⁴⁾, 我々はLPS₂のLPAやS1P応答を確認できていない.

LysoPS受容体の中でも, LPS₁とその他の受容体 (LPS₂, LPS_{2L}, LPS₃) では特徴が異なっている. LPS₁はG_iに共役し, 発現が全身で検出され, 特にマスト細胞上で高く発現している. 一方で, LPS₂, LPS_{2L}, LPS₃はいずれもG_{12/13}に共役し (LPS₃はG_sにも共役し), 発現が免疫系細胞に局限しているため, 生体内における機能が重複している可能性が考えられる. LPS₂, LPS_{2L}, LPS₃の機能解析には, LPS_{2/2L/3}遺伝子を同時に欠失させたマウスが必要であると

考えられるが、いずれの遺伝子もX染色体上の近接した位置に存在しており、シングルKOマウスどうしの交配では、トリプルKOマウスの作製は困難である。高効率ゲノム編集技術であるCRISPR-Cas9システムを用いることにより、我々はトリプルKOマウスおよびLPS_{2/2L}ダブルKOマウスを作製しており、今後これらの遺伝子改変マウスを用いたLysoPS受容体の機能解明に興味を持たれる。

8. LysoPS受容体の薬理ツール

我々は各LysoPS受容体に対して選択性・親和性が高いアゴニストの開発を目指し、LysoPSの類似化合物を有機化学的に合成し、そのLysoPS受容体アゴニスト活性を指標に合成展開してきた。LysoPSの極性頭部とグリセロール骨格を修飾した化合物から、LPS₁は他の受容体よりも極性頭部を厳密に認識すること、LPS₃はグリセロール骨格中のヒドロキシル基を厳密に認識していることなどを見だし、受容体ごとにLysoPSを認識している部位が大きく異なることがわかった³²⁾。これまでおよそ400種のLysoPS構造類似体を合成し、各LysoPS受容体に対して選択性が高く、高親和性のアゴニストを開発している³⁵⁻³⁷⁾。

我々は、LysoPS構造類似体を用いることにより、マスト細胞の強力な脱顆粒活性を有する化合物の開発についても成功している^{9,38)}。本化合物は、18:1-LysoPSの数十倍の脱顆粒促進作用を有していたが、LPS₁、LPS₂、LPS₃のいずれに対してもアゴニスト活性を示さなかった。このことから、マスト細胞の脱顆粒促進作用に未同定のLysoPS受容体が関与しているものと筆者らは想定している。

9. LysoPS受容体KOマウス、ヒト疾患との関連

これまで、LPS₁/GPR34に関してKOマウス¹⁰⁾の知見が、LPS₃/GPR174に関してKOマウス³⁹⁻⁴¹⁾からの知見に加えてヒトの疾患とSNPの関連が報告されている。

LPS₁/GPR34 KOマウスは顕著な表現型は示さないものの、免疫刺激した際、さまざまな血球細胞やサイトカインレベルが野生型マウスと比べて顕著に増減した¹⁰⁾。また、マスト細胞の活性化には影響がないことから、上述したマスト細胞に存在するLysoPS受容体はLPS₁/GPR34ではないことが証明された。上記のKOマウスの解析では、LPS₁/GPR34がどの細胞に発現し、どのような細胞機能を担うのかは明らかになっていない。しかし、脳内ではLPS₁/GPR34はミクログリアに高発現していることが判明しており、ミクログリアにおける何らかの機能が想定される。

LPS₃/GPR174 KOマウスに関しては、抑制性の制御性T細胞(Treg)の機能が亢進している可能性が示唆されている³⁹⁾。興味深いことに、LPS₃/GPR174はさまざまなT細胞に比較的高い発現を示し、T細胞が活性化された際、Gsシグナルを介し、Tregの増殖促進因子であるIL-2産生を抑制することが示された^{40,41)}。

LPS₃/GPR174とバセドウ病の関連がヒトのゲノムワイド関連解析から示唆されている。バセドウ病患者では、LPS₃/GPR174遺伝子のコード領域(GPCRの細胞外ループ)にSNP(rs3827440)によるミスセンス変異(S162P)があり、バセドウ病の発症と相関を示す^{42,43)}。このSNPはアリル頻度が高く(44%)、メジャーアリル(S162, 56%)が疾患のリスクアリルであり、そのオッズ比は約1.6倍である。末梢血の血球細胞では、リスクアリルを有する検体はGPR174 mRNA量が有意に高く、GPR174がバセドウ病を正に誘導することが想定される。一方、我々の予備的検討では、同アミノ酸変異は受容体活性化へ明確な差を示さず、この変異はシグナルには影響しないようである。しかし、バセドウ病が自己免疫疾患に位置づけられることから、これらの知見は免疫制御因子としてのLysoPS-LPS₃/GPR174軸の役割を暗示しているものと考えられる。

LPS₂/P2Y₁₀とLPS_{2L}に関しては明確な機能は報告されていないが、ごく最近、LPS₂/P2Y₁₀が好塩基球の脱顆粒反応に関与する可能性が報告された⁴⁴⁾。

10. まとめと今後の展望

LysoPSは古くから生理・薬理作用が知られていたものの、その産生酵素や分解酵素、受容体は最近の10年程度でようやくその一端がわかってきた。これらLysoPSの代謝や標的に関わる遺伝子の改変マウスを用いた個体レベルの解析が可能となり、生体内のLysoPSの意義が判明しつつある。一方、これらLysoPS関連遺伝子のKOマウスは一見、マイルドな表現型にとどまることから、複数の遺伝子が重複した機能を有していることや、産生系・分解系が単純ではないこと、LysoPSシステムは炎症時などの特定の状況下で作動することが想定される。1点目の例としては、LPS₂、LPS_{2L}、LPS₃があげられる。これらは、同一組織に発現し、互いに類似した下流シグナルを誘導することで相補的な機能を発揮していると考えられる。我々が作製したLPS₂、LPS_{2L}、LPS₃のトリプルKOマウスの解析により重複した受容体機能についての新たな知見が得られると期待される。2点目の例としてはPS-PLA₁がある。この酵素はPSとLysoPSの両者を脱アシル化反応の基質とし、それぞれLysoPSの産生と分解に寄与する。PS-PLA₁のKOマウスとLysoPS受容体KOマウスの表現型を比較することやPS-PLA₁とLysoPS受容体KOマウスの多重KOマウスを作製することなどによって、PS-PLA₁がどの程度LysoPSの産生を介して機能を果たしているかを丁寧に調べることが望まれる。また、ABHDファミリーの一群は基質特異性が比較的広く、KOマウスの表現型がLysoPSの代謝変化による影響なのか、他の脂質代謝によるものかを一段と慎重に調べることが必要である。

LysoPSの代謝・標的タンパク質の同定により、有用な薬理ツールが開発されてきている。LysoPS受容体については、それぞれの受容体を選択的かつ高親和性に活性化で

きる LysoPS 誘導体が開発されている。ABHD16A 阻害剤である KC-01 は選択性の高い阻害剤としての利用が期待される。LPA や S1P の研究分野でもこのような薬理ツールを研究者が容易に入手・実験できるようになったことで、さまざまな知見が報告されたこともあり、今後の LysoPS 研究の発展には必須の研究ツールである。遺伝子改変や遺伝子導入を行うことが難しい初代培養を用いた実験での解析での活用が見込まれる。現状ではこれら化合物の動物投与実験の報告はほとんどないが、今後薬物動態の良好な化合物が開発された際には、個体レベルでの解析が加速することが期待される。

近年、発展の著しい質量分析計による LysoPS の測定解析から LysoPS の新たな機能に迫る研究も展開されている。我々は血漿中 LysoPS をサブ nM レベルで分子種ごとに定量可能なシステムを立ち上げ、種々の疾患患者由来の臨床検体の LysoPS レベルを測定し、LysoPS が変動する病態を絞り込み、その病態における LysoPS の意義を明らかにするという研究を進めている (AMED, LEAP 研究課題「リゾリン脂質メディエーター研究の医療応用」など)。たとえば、LysoPS が胃がん患者の腹水で増加することを見いだしており、胃がんの形成・進展に LysoPS がどのような寄与を示すかを今後興味を持たれる。我々はイメージング質量分析計による組織切片における LysoPS の分布の解析も試みており、このような手法を種々の病理組織に適用することで、LysoPS の画像情報からこれまでのすりつぶしの実験では平均化されて見逃されてきた局所的な LysoPS 濃度変化を検出することができ、その現象の意義の解明に近づくことができると期待している。

文 献

- Bandoh, K., Aoki, J., Hosono, H., Kobayashi, S., Kobayashi, T., Murakami-Murofushi, K., Tsujimoto, M., Arai, H., & Inoue, K. (1999) Molecular cloning and characterization of a novel human G-protein-coupled receptor, EDG7, for lysophosphatidic acid. *J. Biol. Chem.*, **274**, 27776–27785.
- Yoshida, K., Nishida, W., Hayashi, K., Ohkawa, Y., Ogawa, A., Aoki, J., Arai, H., & Sobue, K. (2003) Vascular remodeling induced by naturally occurring unsaturated lysophosphatidic acid in vivo. *Circulation*, **108**, 1746–1752.
- Yanagida, K., Masago, K., Nakanishi, H., Kihara, Y., Hamano, F., Tajima, Y., Taguchi, R., Shimizu, T., & Ishii, S. (2009) Identification and characterization of a novel lysophosphatidic acid receptor, p2y5/LPA6. *J. Biol. Chem.*, **284**, 17731–17741.
- Kitamura, H., Makide, K., Shuto, A., Ikubo, M., Inoue, A., Suzuki, K., Sato, Y., Nakamura, S., Otani, Y., Ohwada, T., et al. (2012) GPR34 is a receptor for lysophosphatidylserine with a fatty acid at the sn-2 position. *J. Biochem.*, **151**, 511–518.
- Emoto, S., Kurano, M., Kano, K., Matsusaki, K., Yamashita, H., Nishikawa, M., Igarashi, K., Ikeda, H., Aoki, J., Kitayama, J., et al. (2017) Analysis of glycerol-lysophospholipids in gastric cancerous ascites. *J. Lipid Res.*, **58**, 763–771.
- Kurano, M., Dohi, T., Nojiri, T., Kobayashi, T., Hirowatari, Y., Inoue, A., Kano, K., Matsumoto, H., Igarashi, K., Nishikawa, M., et al. (2015) Blood levels of serotonin are specifically correlated with plasma lysophosphatidylserine among the glycerol-lysophospholipids. *BBA Clin.*, **4**, 92–98.
- Martin, T.W. & Lagunoff, D. (1979) Interactions of lysophospholipids and mast cells. *Nature*, **279**, 250–252.
- Chang, H.W., Inoue, K., Bruni, A., Boarato, E., & Toffano, G. (1988) Stereoselective effects of lysophosphatidylserine in rodents. *Br. J. Pharmacol.*, **93**, 647–653.
- Iwashita, M., Makide, K., Nonomura, T., Misumi, Y., Otani, Y., Ishida, M., Taguchi, R., Tsujimoto, M., Aoki, J., Arai, H., et al. (2009) Synthesis and evaluation of lysophosphatidylserine analogues as inducers of mast cell degranulation. Potent activities of lysophosphatidylthreonine and its 2-deoxy derivative. *J. Med. Chem.*, **52**, 5837–5863.
- Liebscher, I., Muller, U., Teupser, D., Engemaier, E., Engel, K.M., Ritscher, L., Thor, D., Sangkuhl, K., Ricken, A., Wurm, A., et al. (2011) Altered immune response in mice deficient for the G protein-coupled receptor GPR34. *J. Biol. Chem.*, **286**, 2101–2110.
- Bellini, F. & Bruni, A. (1993) Role of a serum phospholipase A1 in the phosphatidylserine-induced T cell inhibition. *FEBS Lett.*, **316**, 1–4.
- Park, K.S., Lee, H.Y., Kim, M.K., Shin, E.H., Jo, S.H., Kim, S.D., Im, D.S., & Bae, Y.S. (2006) Lysophosphatidylserine stimulates L2071 mouse fibroblast chemotactic migration via a process involving pertussis toxin-sensitive trimeric G-proteins. *Mol. Pharmacol.*, **69**, 1066–1073.
- Frasch, S.C., Berry, K.Z., Fernandez-Boyanapalli, R., Jin, H.S., Leslie, C., Henson, P.M., Murphy, R.C., & Bratton, D.L. (2008) NADPH oxidase-dependent generation of lysophosphatidylserine enhances clearance of activated and dying neutrophils via G2A. *J. Biol. Chem.*, **283**, 33736–33749.
- Nishikawa, M., Kurano, M., Ikeda, H., Aoki, J., & Yatomi, Y. (2015) Lysophosphatidylserine has bilateral effects on macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. *J. Atheroscler. Thromb.*, **22**, 518–526.
- Fischer, D.J., Liliom, K., Guo, Z., Nusser, N., Virag, T., Murakami-Murofushi, K., Kobayashi, S., Erickson, J.R., Sun, G., Miller, D.D., et al. (1998) Naturally occurring analogs of lysophosphatidic acid elicit different cellular responses through selective activation of multiple receptor subtypes. *Mol. Pharmacol.*, **54**, 979–988.
- Cho, E.Y., Yun, C.H., Chae, H.Z., Chae, H.J., & Ahn, T. (2008) Lysophosphatidylserine-induced functional switch of human cytochrome P450 1A2 and 2E1 from monooxygenase to phospholipase D. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **376**, 584–589.
- Suzuki, J., Umeda, M., Sims, P.J., & Nagata, S. (2010) Calcium-dependent phospholipid scrambling by TMEM16F. *Nature*, **468**, 834–838.
- Suzuki, J., Denning, D.P., Imanishi, E., Horvitz, H.R., & Nagata, S. (2013) Xk-related protein 8 and CED-8 promote phosphatidylserine exposure in apoptotic cells. *Science*, **341**, 403–406.
- Sato, T., Aoki, J., Nagai, Y., Dohmae, N., Takio, K., Doi, T., Arai, H., & Inoue, K. (1997) Serine phospholipid-specific phospholipase A that is secreted from activated platelets. A new member of the lipase family. *J. Biol. Chem.*, **272**, 2192–2198.
- Aoki, J., Inoue, A., Makide, K., Saiki, N., & Arai, H. (2007) Structure and function of extracellular phospholipase A1 belonging to the pancreatic lipase gene family. *Biochimie*, **89**, 197–204.
- Hosono, H., Aoki, J., Nagai, Y., Bandoh, K., Ishida, M., Taguchi, R., Arai, H., & Inoue, K. (2001) Phosphatidylserine-specific phospholipase A1 stimulates histamine release from rat peritoneal mast cells through production of 2-acyl-1-lysophosphatidyl-

- serine. *J. Biol. Chem.*, **276**, 29664–29670.
- 22) Arima, N., Inoue, A., Makide, K., Nonaka, T., & Aoki, J. (2012) Surface loops of extracellular phospholipase A(1) determine both substrate specificity and preference for lysophospholipids. *J. Lipid Res.*, **53**, 513–521.
 - 23) Kamat, S.S., Camara, K., Parsons, W.H., Chen, D.H., Dix, M.M., Bird, T.D., Howell, A.R., & Cravatt, B.F. (2015) Immunomodulatory lysophosphatidylserines are regulated by ABHD16A and ABHD12 interplay. *Nat. Chem. Biol.*, **11**, 164–171.
 - 24) Savinainen, J.R., Patel, J.Z., Parkkari, T., Navia-Paldanius, D., Marjamaa, J.J., Laitinen, T., Nevalainen, T., & Laitinen, J.T. (2014) Biochemical and pharmacological characterization of the human lymphocyte antigen B-associated transcript 5 (BAT5/ABHD16A). *PLoS One*, **9**, e109869.
 - 25) Higashi, S., Kobayashi, T., Kudo, I., & Inoue, K. (1988) Purification and characterization of lysophospholipase released from rat platelets. *J. Biochem.*, **103**, 442–447.
 - 26) Fiskerstrand, T., H'Mida-Ben Brahim, D., Johansson, S., M'Zahem, A., Haukanes, B.I., Drouot, N., Zimmermann, J., Cole, A.J., Vedeler, C., Bredrup, C., et al. (2010) Mutations in ABHD12 cause the neurodegenerative disease PHARC: An inborn error of endocannabinoid metabolism. *Am. J. Hum. Genet.*, **87**, 410–417.
 - 27) Blankman, J.L., Simon, G.M., & Cravatt, B.F. (2007) A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. *Chem. Biol.*, **14**, 1347–1356.
 - 28) Blankman, J.L., Long, J.Z., Trauger, S.A., Siuzdak, G., & Cravatt, B.F. (2013) ABHD12 controls brain lysophosphatidylserine pathways that are deregulated in a murine model of the neurodegenerative disease PHARC. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 1500–1505.
 - 29) Navia-Paldanius, D., Savinainen, J.R., & Laitinen, J.T. (2012) Biochemical and pharmacological characterization of human alpha/beta-hydrolase domain containing 6 (ABHD6) and 12 (ABHD12). *J. Lipid Res.*, **53**, 2413–2424.
 - 30) Sugo, T., Tachimoto, H., Chikatsu, T., Murakami, Y., Kikukawa, Y., Sato, S., Kikuchi, K., Nagi, T., Harada, M., Ogi, K., et al. (2006) Identification of a lysophosphatidylserine receptor on mast cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **341**, 1078–1087.
 - 31) Ritscher, L., Engemaier, E., Staubert, C., Liebscher, I., Schmidt, P., Hermsdorf, T., Rompler, H., Schulz, A., & Schoneberg, T. (2012) The ligand specificity of the G-protein-coupled receptor GPR34. *Biochem. J.*, **443**, 841–850.
 - 32) Uwamizu, A., Inoue, A., Suzuki, K., Okudaira, M., Shuto, A., Shinjo, Y., Ishiguro, J., Makide, K., Ikubo, M., Nakamura, S., et al. (2015) Lysophosphatidylserine analogues differentially activate three LysoPS receptors. *J. Biochem.*, **157**, 151–160.
 - 33) Inoue, A., Ishiguro, J., Kitamura, H., Arima, N., Okutani, M., Shuto, A., Higashiyama, S., Ohwada, T., Arai, H., Makide, K., et al. (2012) TGFalpha shedding assay: An accurate and versatile method for detecting GPCR activation. *Nat. Methods*, **9**, 1021–1029.
 - 34) Murakami, M., Shiraishi, A., Tabata, K., & Fujita, N. (2008) Identification of the orphan GPCR, P2Y(10) receptor as the sphingosine-1-phosphate and lysophosphatidic acid receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **371**, 707–712.
 - 35) Ikubo, M., Inoue, A., Nakamura, S., Jung, S., Sayama, M., Otani, Y., Uwamizu, A., Suzuki, K., Kishi, T., Shuto, A., et al. (2015) Structure–activity relationships of lysophosphatidylserine analogs as agonists of g-protein-coupled receptors GPR34, P2Y10, and GPR174. *J. Med. Chem.*, **58**, 4204–4219.
 - 36) Jung, S., Inoue, A., Nakamura, S., Kishi, T., Uwamizu, A., Sayama, M., Ikubo, M., Otani, Y., Kano, K., Makide, K., et al. (2016) Conformational constraint of the glycerol moiety of lysophosphatidylserine affords compounds with receptor subtype selectivity. *J. Med. Chem.*, **59**, 3750–3776.
 - 37) Sayama, M., Inoue, A., Nakamura, S., Jung, S., Ikubo, M., Otani, Y., Uwamizu, A., Kishi, T., Makide, K., Aoki, J., et al. (2017) Probing the hydrophobic binding pocket of g-protein-coupled lysophosphatidylserine receptor GPR34/LPS1 by docking-aided structure–activity analysis. *J. Med. Chem.*, **60**, 6384–6399.
 - 38) Kishi, T., Kawana, H., Sayama, M., Makide, K., Inoue, A., Otani, Y., Ohwada, T., & Aoki, J. (2016) Identification of lysophosphatidylthreonine with an aromatic fatty acid surrogate as a potent inducer of mast cell degranulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **494**, 332–338.
 - 39) Barnes, M.J., Li, C.M., Xu, Y., An, J., Huang, Y., & Cyster, J.G. (2015) The lysophosphatidylserine receptor GPR174 constrains regulatory T cell development and function. *J. Exp. Med.*, **212**, 1011–1020.
 - 40) Barnes, M.J. & Cyster, J.G. (2018) Lysophosphatidylserine suppression of T-cell activation via GPR174 requires Galphas proteins. *Immunol. Cell Biol.*, **96**, 439–445.
 - 41) Shinjo, Y., Makide, K., Satoh, K., Fukami, F., Inoue, A., Kano, K., Otani, Y., Ohwada, T., & Aoki, J. (2017) Lysophosphatidylserine suppresses IL-2 production in CD4 T cells through LPS3/GPR174. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **494**, 332–338.
 - 42) Zhao, S.X., Xue, L.Q., Liu, W., Gu, Z.H., Pan, C.M., Yang, S.Y., Zhan, M., Wang, H.N., Liang, J., Gao, G.Q., et al.; China consortium for the genetics of autoimmune thyroid disease. (2013) Robust evidence for five new Graves' disease risk loci from a staged genome-wide association analysis. *Hum. Mol. Genet.*, **22**, 3347–3362.
 - 43) Chu, X., Shen, M., Xie, F., Miao, X.J., Shou, W.H., Liu, L., Yang, P.P., Bai, Y.N., Zhang, K.Y., Yang, L., et al. (2013) An X chromosome-wide association analysis identifies variants in GPR174 as a risk factor for Graves' disease. *J. Med. Genet.*, **50**, 479–485.
 - 44) Hwang, S.M., Kim, H.J., Kim, S.M., Jung, Y., Park, S.W., & Chung, I.Y. (2018) Chung, I. Y., Lysophosphatidylserine receptor P2Y10: A G protein-coupled receptor that mediates eosinophil degranulation. *Clin. Exp. Allergy*, **48**, 990–999.

著者寸描

●井上 飛鳥 (いのうえ あすか)

東北大学大学院薬学研究科准教授. 博士 (薬学).

■略歴 1981年神奈川県に生れる. 2004年東京大学薬学部卒業, 06年同研究科修士課程修了, 08年同博士課程中退, 同年より東北大学大学院薬学研究科助手, 14年より同助教, 16年より現職. 13~17年JST・さきがけ「疾患代謝」研究員, 16年よりAMED・PRIME「脂質」研究員.

■研究テーマと抱負 GPCRのアッセイツールの開発とその応用. シグナル伝達や構造研究を通じてGPCRの全体像を理解し, 次世代型のGPCR創薬につなげたい.

■ウェブサイト

<http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~seika/H28/index.html>

■趣味 子供と日々新たな発見をすること.