

日本学士院賞 受賞者

清水孝雄



専攻学科目 生化学・医学

生年 昭和二十二年 四月
略歴 昭和四八年 三月
同 五四年 二月
同 五六年 三月
同 五七年 四月
同 五九年 三月
平成 三年 四月
同 九年 四月
同 一九年 四月

東京大学医学部医学科卒業

京都大学医学部助手

医学博士

スウェーデンカロリンスカ研究所客員研究員

東京大学医学部助教授

東京大学医学部教授

東京大学大学院医学系研究科教授（現在に至る）

東京大学大学院医学系研究科長・医学部長（現在に至る）

医学博士清水孝雄氏の「生理活性脂質と

膜脂質代謝に関する研究」に対する授賞

審査要旨

清水孝雄氏は、現在まで三〇年にわたり、一貫して脂質代謝、脂質メデイエーターの研究に従事し、数々のエポックメイキングな業績を挙げ、この分野の研究の発展に大きく貢献した。

1. 脂質メデイエーター産生酵素の研究—ロイコトリエン合成経路の発見と酵素の同定

ロイコトリエンは炎症物質、気管支喘息の発症物質として、ロイコトリエン B₄とロイコトリエン C₄が知られていたが、その生合成経路と合成酵素は明らかでなかった。

清水氏はアラキドン酸のカルボン酸から数えて五番目の炭素に二原子の酸素を添加する5-リポキシゲナーゼを初めて単離精製することに成功し、この酵素が単に酸素添加し、ヒドロペルオキシドを作るだけでなく、連続的に脱水反応を触媒し、ロイコトリエン A₄ (エポキシド化合物で、ロイコトリエン B₄、C₄産生の共通の中間

体)を産生するという大きな発見を行った。清水氏は続いてロイコトリエン A₄に水分子を導入し、ロイコトリエン B₄を合成するロイコトリエン A₄水解酵素の精製、cDNAクローニングにも成功した。こうして白血球の遊走作用を持つロイコトリエン B₄の産生経路が明らかとなった後に、清水氏はこのロイコトリエン B₄受容体の単離にも成功している。また、一連のcDNAクローニングの成功はアラキドン酸カスケード研究で最初の報告となった。

2. 脂質メデイエーター産生酵素の研究—ホスホリパーゼ A₂の制御と機能解析

清水氏は脂質メデイエーターの機能を明らかにする目的で初発酵素であるホスホリパーゼ A₂の研究に移った。ホスホリパーゼ A₂、特にカルシウムイオンで活性化され、各種のリン酸化酵素で活性制御を受ける細胞質型ホスホリパーゼ A₂ (cPLA₂; cytosolic PLA₂)に注目し、本酵素の細胞での活性制御を詳細に解析した。その結果、刺激によりカルシウムイオンが増加すると酵素は細胞質から核膜、ゴルジ小体に移行し、ここで膜リン脂質を切り出すことを明らかにした。さらにリン酸化で活性が増加すると共に、細胞内のカルシウムレベルが低下しても、膜に結合を続け、脂質メデイエーターの産生を継続することを明らかとした。さらに個体レベルでの

本酵素の役割を明らかにするため、cPLA₂欠損マウスの作製を行い、ノックアウトマウスは生殖機能や神経可塑性に異常が見出され、他方、気管支喘息、関節リウマチ、多発性硬化症、血栓症、肺線維症、大腸ポリープ症、虚血再灌流障害などの病態モデルではないずれもその症状が顕著に軽減していることを明らかにした。この事はcPLA₂により産生される各種の脂質メディエーターが生理機能に加えて、アレルギーや炎症、血栓などに深く関わっていることを示すこととなった。

3. 脂質メディエーター受容体と機能の研究

清水氏は脂質メディエーターが多くの多彩な作用を発揮する機構を明らかにする目的で、受容体の同定を一九八〇年代の後半から着手し、一九九一年、生体内に微量に存在するPAF（血小板活性化因子）受容体のクローニングに成功した。本研究は脂質メディエーターもアミンやペプチドと同じく細胞膜受容体に結合することを示した最初の例として、高く評価された。その後、サブトラクション法を駆使して、ロイコトリエンB₄受容体のクローニングにも成功した。清水氏はさらにPAF受容体、ロイコトリエンB₄受容体を初め、リゾホスファチジン酸受容体などの欠損マウスも作製し、これら脂質メディエーターの個体レベルでの作用を明らかにした。

4. 膜リン脂質動的代謝の研究

各種の脂質メディエーターは細胞膜グリセロリン脂質のsn位に存在する不飽和脂肪酸を切断するホスホリパーゼにより、その産生カスケードが開始する。グリセロリン脂質は一、二位の脂肪酸の組み合わせと三位の極性基（コリン、エタノールアミン、セリン、イノシトールなど）の多様性を合わせると、一〇〇〇種類近く存在すると考えられる。この多様性や非対称性の存在は一九五〇年代に明らかとなっていたが、その分子機構や酵素実態は不明のままであった。清水氏はリゾリン脂質に各種の脂肪酸の活性化体（アシルCoA）を取り入れる酵素の単離精製を試みLPAアシル転位酵素をクローニングした。その後、ヒトやマウスの全ゲノム構造が解明されたことを契機に、詳細にアミノ酸配列を解析すると、一連のアシル転位酵素には四つのモチーフが存在し、さらにそのアミノ酸配列に一定のルールがあることを発見した。こうして、約二〇〜三〇種類に及ぶアシル転位酵素遺伝子ファミリーを発見し、その性質を詳細に解析した。その結果、現在までにホスファチジルコリンを合成する四種類の酵素、ホスファチジルエタノールアミンを合成する二種類の酵素、ホスファチジルイノシトールを合成する二種類の酵素の同定に成功した。この様な「多対多」の重複する認識機構で多様なリン脂質を限られたアシル転位酵素で作製出来る、というモデル

ルを提唱している。

5. リン脂質と脂質メデイエーターの網羅的解析法の確立

清水氏は細胞機能、また、ホスホリパーゼA2欠損マウスの各種の表現形を明らかにするには膜リン脂質の動態を明らかにする必要があり、という発想を持ち、また、多数存在する脂質メデイエーターを個別にはなく網羅的に、かつ時間的に解析する必要があり、という発想で、液体クロマトグラフィー質量分析系を駆使して、脂質分子を総体として定量する手法を確立した。現在、各種のリン脂質を脂肪酸分子種に分けて測定し、また、二〇種類近い脂質メデイエーターを一〇分程度で感度良く測定する方法を確立した。本方法を用いて、細胞や臓器の刺激時、また、各種病態モデルや患者サンプルなどでの一斉定量を進めている。こうした中で、アレルギー性脳脊髄膜炎（多発性硬化症）の発症にプロスタグランディンE2が産生増加すること、プロスタグランディンE2産生酵素を欠損させたモデルでは本症の発生が顕著に抑制されることなどを示した。また、病態の慢性期にはPAFが産生され、回復を遷延化していることを質的分析とPAF受容体欠損マウスより明らかにした。

主要な著書及び論文の目録

1. Shimizu, T., Radmark, O., and Samuelsson, B. (1984) Enzyme with dual lipoxygenase activities catalyzes leukotriene A4 synthesis from arachidonic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 81: 689-693
2. Shimizu, T., Izumi, T., Seyama, Y., Tadokoro, K., Radmark, O., and Samuelsson, B. (1986) Characterization of leukotriene A4 synthase from murine mast cells. Evidence of its identity to arachidonate 5-lipoxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 83: 4175-4179
3. Minami, M., Ohno, S., Kawasaki, H., Radmark, O., Samuelsson, B., Shimizu, T., Seyama, Y., and Suzuki, K. (1987) Molecular cloning of a cDNA coding for human leukotriene A4 hydroxylase: complete primary structure of an enzyme involved in eicosanoid synthesis. *J. Biol. Chem.* 262, 13873-13878
4. Honda, Z., Nakamura, M., Miki, I., Minami, M., Watanabe, T., Seyama, Y., Okado, H., Toh, H., Ito, K., Miyamoto, T., and Shimizu, T. (1991) Cloning by functional expression of platelet-activating factor receptor from guinea-pig lung. *Nature* 349, 342-346
5. Uozumi, N., Kume, K., Nagase, T., Nakatani, N., Ishii, S., Tashiro, F., Komagata, Y., Maki, K., Ikuta, K., Ouchi, Y., Miyazaki, J., and Shimizu, T. (1997) Role of cytosolic phospholipase A2 in allergic response and parturition. *Nature* 390, 618-622
6. Ishii, S., Nagase, T., Tashiro, F., Ikuta, K., Sato, S., Waga, I., Kume, K., Miyazaki, J., and Shimizu, T. (1997) Bronchial hyperactivity, increased endotoxin lethality and melanocytic tumorigenesis in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor. *EMBO Journal* 16, 133-142
7. Yokomizo, T., Izumi, T., Chang, K., Takawa, Y., and Shimizu, T. (1997) A G-protein-coupled receptor for leukotriene B4 that mediates chemotaxis. *Nature* 387, 620-624
8. Hirabayashi, T., Kume, K., Hirose, K., Yokomizo, T., Ino, M., Itoh, H., and

- Shimizu, T. (1999) Critical duration of intracellular Ca^{2+} response required for continuous translocation and activation of cytosolic phospholipase A2. *J. Biol. Chem.* 274, 5163–5169
9. Nagase, T., Uozumi, N., Ishii, S., Kume, K., Izumi, T., Ouchi, Y., and Shimizu, T. (2000) Acute lung injury by sepsis and acid aspiration: a key role for cytosolic phospholipase A2. *Nature Immunology* 1, 42–46
10. Yokomizo, T., Kato, K., Terawaki, K., Izumi, T., and Shimizu, T. (2000) A second leukotriene B(4) receptor, BLT2: A new therapeutic target in inflammation and immunological disorders. *Journal of Experimental Medicine* 192, 421–432
11. Nagase, T., Uozumi, N., Ishii, S., Kita, Y., Yamamoto, H., Ohga, E., Ouchi, Y., and Shimizu, T. (2002) A pivotal role of cytosolic phospholipase A2 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Nature Medicine* 8, 480–484
12. Miyaura, C., Inada, M., Matsumoto, C., Ohshiba, C., Uozumi, N., Shimizu, T., and Ito, A. (2003) An Essential Role of Cytosolic Phospholipase A2 α in Prostaglandin E2-mediated Bone Resorption Associated with Inflammation. *Journal of Experimental Medicine* 197, 1303–1310
13. Heggen, M., Sun L., Uozumi N., Kume K., Goad, E.M., Nickerson-Nutter L.C., Shimizu T., and Clark D.J. (2003) Cytosolic Phospholipase A2 α deficient Mice Are Resistant to Collagen–induced Arthritis. *Journal of Experimental Medicine* 197, 1297–1302
14. Hishiji, H., Ishii, S., Shindou, H., Takato, T., and Shimizu, T. (2004) Absence of platelet-activating factor receptor protects mice from osteoporosis following ovariectomy. *Journal of Clinical Investigation* 114, 85–93
15. Marusic, S., Leach, M.W., Pelker, J.W., Azoitel, M.L., Uozumi, N., Cui, J., DeClercq, C.M., Shen, M.W.H., Miyashiro, J.S., Carito, B.A., Thakker, P., Simmons, D.L., Leonard, J.P., and Shimizu, T. (2005) Cytosolic phospholipase A2 α -deficient mice are resistant to experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Experimental Medicine* 202, 841–851
16. Kita, Y., Takahashi, T., Uozumi, N., and Shimizu, T. (2005) A multiplex quantitation method for eicosanoids and platelet-activating factor using column-switching reversed-phase liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Biochem.* 342, 134–143
17. Nakamishi, H., Shindou, H., Hishikawa, D., Harayama, T., Ogasawara, R., Suwaib, A., Taguchi, R., and Shimizu, T. (2006) Cloning and characterization of mouse lung-type acyl-coa : lysophosphatidylcholine acyltransferase I (LPCATI) : Expression in alveolar type II cells, and possible involvement in surfactant production. *J. Biol. Chem.* 281, 20140–20147
18. Shindou, H., Hishikawa, D., Nakamishi, H., Harayama, T., Ishii, S., Taguchi, R., and Shimizu, T. (2007) A single enzyme catalyzes both PAF production and membrane biogenesis of inflammatory cells: cloning and characterization of acetyl-CoA:lyso-PAF acetyltransferase. *J. Biol. Chem.* 282, 6532–6539
19. Taguchi, R., Nishijima, M., and Shimizu, T. (2007) Basic Analytical Systems for Lipidomics by Mass Spectrometry in Japan. *Methods Enzymol.* 432, 185–211
20. Mashimo, M., Hirabayashi, T., Murayama, T., and Shimizu, T. (2008) Cytosolic PLA2 α activation in Purkinje neurons and its role in AMPA-receptor trafficking. *Journal of Cell Sciences* 121, 3015–3024
21. Tsujimura, Y., Ohata, K., Mukai, K., Shindou, H., Yoshida, M., Nshikado, H., Kawano, Y., Miregeishi, Y., Shimizu, T., and Karasuyama, H. (2008) Basophils play a pivotal role in IgG-, but not IgE-mediated systemic anaphylaxis in contrast to mast cells. *Immunity* 28, 581–589
22. Hishikawa, D., Shindou, H., Kobayashi, S., Nakamishi, H., Taguchi, R., and Shimizu, T. (2008) Discovery of a lysophospholipid acyltransferase family essential for membrane asymmetry and diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 2830–2835

23. Shimizu, T. Lipid mediators in health and diseases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 49 (in press, 2009)