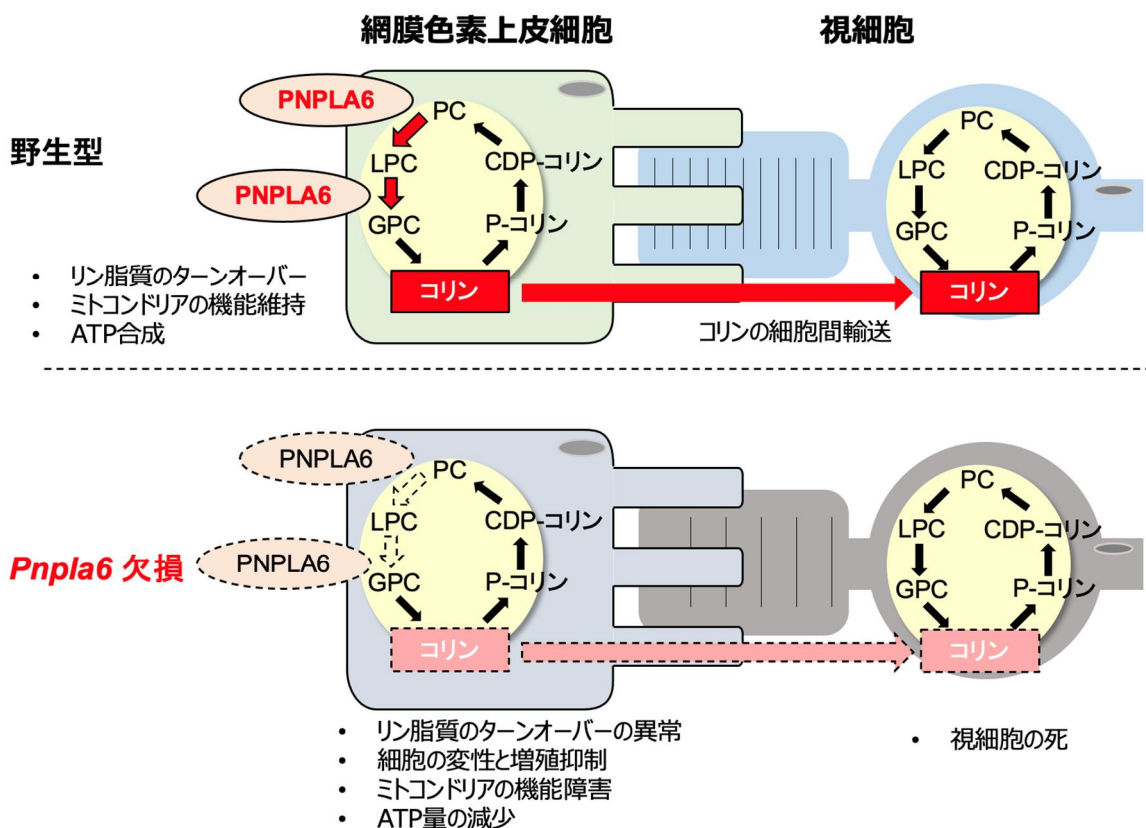


## 網膜の脂質代謝異常が網膜色素変性症を起こす

### 発表のポイント

- ◆脂質は細胞を構成する大事な要素ですが、眼の奥の網膜においてどのような脂質代謝が起きていて、病気に関与しているかについての理解はこれまで不十分でした。
- ◆リン脂質を分解する脂質代謝酵素の一つである PNPLA6 は、網膜色素上皮細胞において、ホスホリパーゼ B 活性によりグリセロリン脂質を分解して、細胞膜からのコリンの取り出しとその再利用（リサイクル）に関わっていました。
- ◆このコリンは作り出された網膜色素上皮細胞の増殖や機能に重要であるだけでなく、隣接する視細胞へと受け渡されて、視細胞でも利用されることが分かりました。
- ◆この脂質代謝経路が障害されると、網膜は変性し、光に対する反応が低下します。
- ◆PNPLA6 欠損により生じる網膜変性は、コリンの点眼によって進行が妨げられることから、本経路を標的とした創薬は網膜変性疾患の予防治療法の開発につながることを期待されます。



網膜の恒常性を制御する新規脂質代謝経路とその破綻による網膜色素変性の発症

## 概要

東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センターの村上誠教授、武富芳隆講師、同大学院医学系研究科眼科学教室の相原一教授、小野喬助教らのグループは、網膜における脂質代謝異常が網膜色素変性症を起こすことを明らかにしました。本研究成果は、米国の医学・生物学を扱うシュプリンガー・ネイチャー社（Springer Nature）が発行する学術雑誌『Nature Communications（ネイチャー・コミュニケーションズ）』のオンライン版に 2025 年 3 月 13 日（英国時間）に公開されました。

## 発表内容

### 1) 研究の背景

難病指定されている網膜色素変性症は進行性で、暗いところで見えにくくなったり、視野が狭くなったりと、徐々に視力が失われていきます。遺伝性の網脈絡膜疾患の中でも最も多く、残念ながら、まだ効果的な治療法は十分に見つかっていません。網膜色素変性症は、光を感知する視細胞（注 1）と、その視細胞を支える網膜色素上皮細胞（注 2）の両方がうまく機能しなくなることで起こります。100 種類以上の遺伝子がこの病気に関わっていることが分かっていますが、一体何が原因で視細胞や網膜色素上皮細胞がだめになってしまうのか、そのメカニズムは良く理解されていませんでした。

私たちの体の中には様々な種類の脂質が存在し、これらの脂質が作られたり分解されたりする一連の反応（リサイクル）を介して、体の中で重要な役割を果たしています。私たちは、脂質代謝酵素の中でも、グロセロリン脂質（以下リン脂質）（注 3）を分解して脂肪酸とリゾリン脂質（注 4）を生成する「ホスホリパーゼ A<sub>2</sub>（PLA<sub>2</sub>）」（注 5）という分子群を中心に解析を進めており、その中でも本研究では特に PNPLA6 という酵素に注目しました。PNPLA6 遺伝子の異常は、網膜色素変性症だけでなく、神経障害や運動失調などを伴う様々な遺伝性疾患で見つかっています。これらの疾患はまとめて「PNPLA6 関連疾患」と呼ばれています。これまでのマウスを使った実験では、PNPLA6 が全くないと胎児のうちに死んでしまうこと、また、神経細胞で PNPLA6 が不足すると神経変性が起こることが分かっています。つまり、PNPLA6 は生命維持に不可欠な脂質代謝を担っていると考えられます。しかし、PNPLA6 が網膜において具体的にどのような脂質を分解し、それがどのように細胞の働きを調節しているのか、詳しいことは分かかっていませんでした。

### 2) 研究内容

研究チームはまず、PNPLA6 がヒトおよびマウスの網膜色素上皮細胞において高く発現していることを明らかにしました。さらに質量分析を利用した脂質の網羅解析（リピドミクス、注 6）を通じて、PNPLA6 がホスホリパーゼ B（注 7）としての活性を持ち、細胞膜の主成分であるリン脂質のうち最も豊富なホスファチジルコリン（PC）から 2 つの脂肪酸を順次切り出し、リゾリン脂質を経てグリセロホスホコリン（GPC（注 8））を生成することが明らかになりました。ヒト網膜色素上皮細胞株において PNPLA6 を人為的にノックダウン（発現抑制）すると、細胞内の GPC とその代謝物であるコリン（注 9）の濃度が低下し（図 1）、ミトコンドリアに異常が生じました（図 2）。また、ミトコンドリアの機能と関連する代謝物やエネルギー（ATP）の産生も減少し、細胞の増殖や接着に異常が見られました。これらの異常は、培地にコリンを補充することで改善されました。さらに、コリンから PC を新たに合成するケネディ経路（注 10）の関連分子をノックダウンしたところ、PNPLA6 ノックダウンと同様の細胞増殖の異常が確認されま

した。このことから、PNPLA6 が PC の新陳代謝（古いリン脂質から新しいリン脂質へのリサイクル）に深く関わっていることが示唆されました。また、網膜色素上皮細胞は PNPLA6 に依存してコリンを細胞外に放出しており、PNPLA6 をノックダウンした細胞の上清を用いて視細胞を培養すると、増殖が抑制され、細胞死が見られました。この培地にコリンを補充すると、細胞増殖が回復し、細胞死が抑えられました。これは、PNPLA6 が網膜色素上皮細胞から視細胞へのコリンの供給に重要であることを示しています。

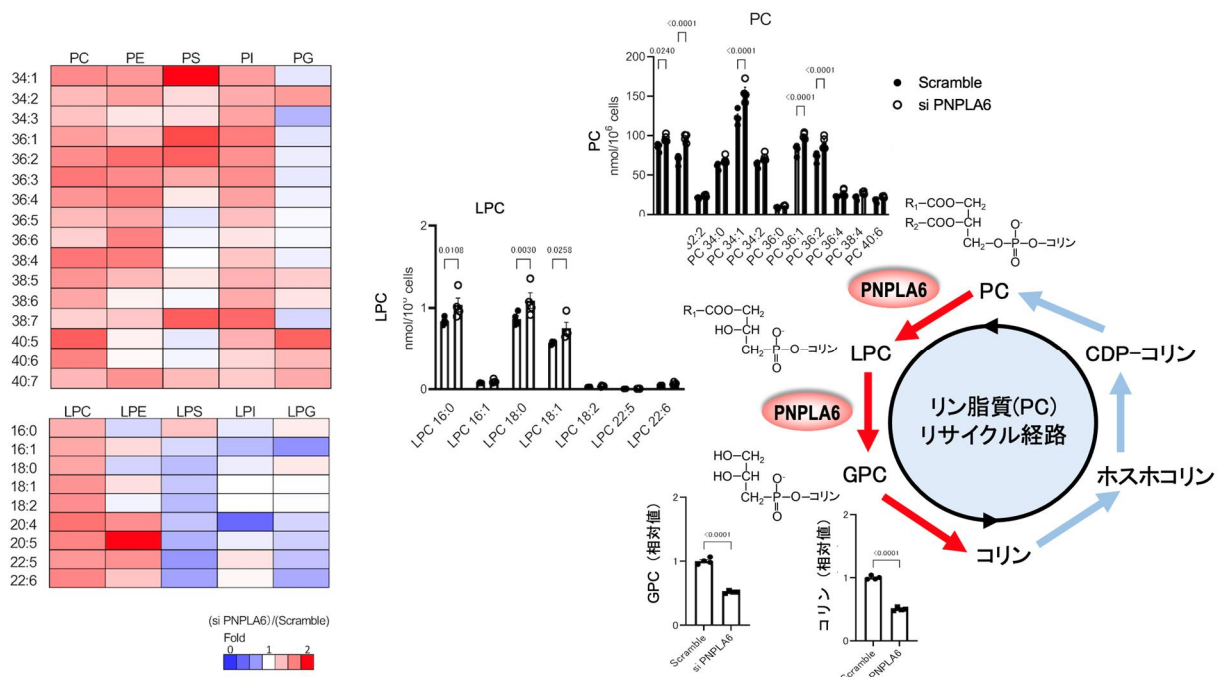


図 1：網膜色素上皮細胞における PNPLA6 を軸とした新規リン脂質代謝経路

ヒト網膜色素上皮細胞株 ARPE-19 において、PNPLA6 を siRNA によりノックダウン（発現抑制）した際のホスファチジルコリン (PC)、リゾホスファチジルコリン (LPC)、グリセロホスホコリン (GPC)、コリンの変化。PNPLA6 を発現抑制すると、PC から 2 本の脂肪酸 (R1、R2) が切り出されるため、LPC と GPC がともに増加し、その下流の GPC とコリンが減少する (PC 分解経路：赤矢印)。これに伴って、コリンからの PC の新規合成 (ケネディ経路：青矢印) の代謝流量も低下する。このことから、PNPLA6 は PC から GPC を生成するホスホリパーゼ B として働き、この酵素の発現を抑制すると PC の分解と合成 (リサイクル) が低下することがわかる。左のヒートマップは、ノックダウン細胞 (si PNPLA6) と対照細胞 (Scramble) のリン脂質とリゾリン脂質の各分子種の相対量を示している。ノックダウン細胞では PC→LPC→GPC の反応が止まるため、PC、LPC が全体的に増加する。さらに、それ以外のリン脂質やリゾリン脂質 (ホスファチジルエタノールアミン (PE)、ホスファチジルセリン (PS)、ホスファチジルイノシトール (PI)、ホスファチジルグリセロール (PG) と、それぞれに対応するリゾ (L-) リン脂質) にも変化が見られる。

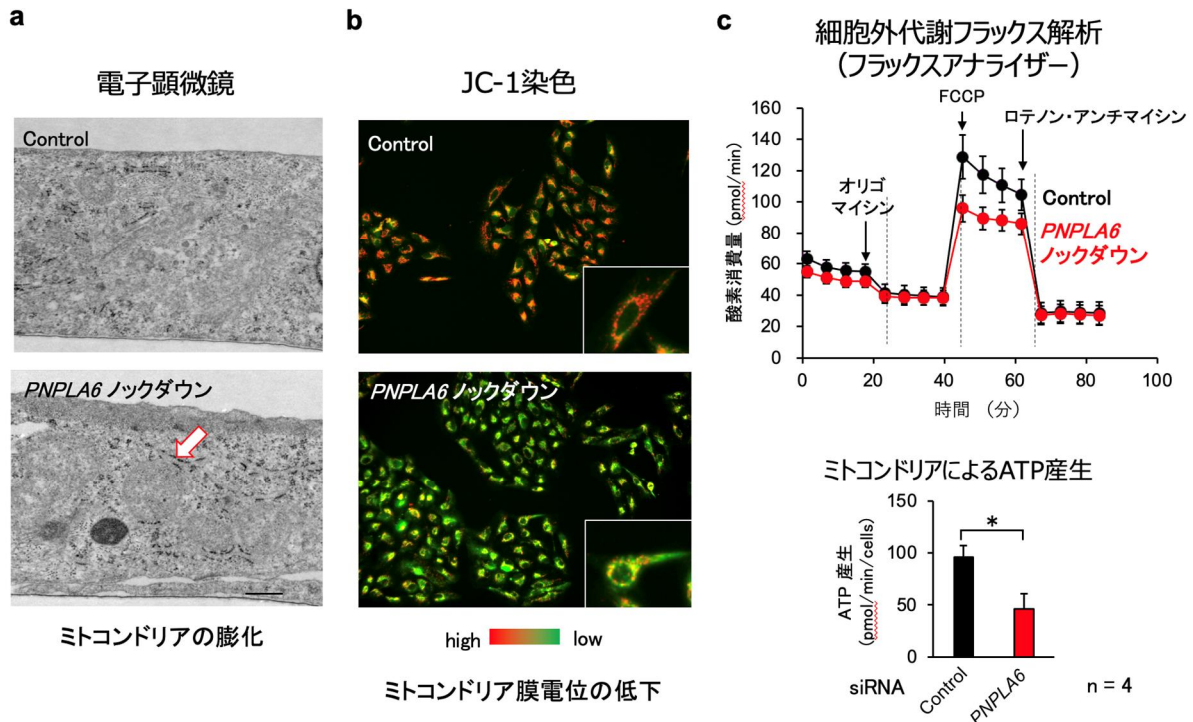


図 2 : PNPLA6 欠損による網膜のミトコンドリア異常

- a. ヒト網膜色素上皮細胞株 ARPE-19 において、PNPLA6 を siRNA によりノックダウン（発現抑制）した際の電子顕微鏡像。PNPLA6 ノックダウン細胞ではミトコンドリアが膨化している。
- b. PNPLA6 ノックダウン細胞の JC-1 試薬（ミトコンドリア膜電位を可視化する試薬）による染色。対照細胞は赤色、ノックダウン細胞は緑色に染色され、後者ではミトコンドリア膜電位が低下していることがわかる。
- c. 細胞外代謝解析装置によるミトコンドリア機能の評価。PNPLA6 ノックダウン細胞では酸素消費量が低下しており（上）、ミトコンドリアの ATP 産生量が低下している（下）。

さらに、PNPLA6 コンディショナル欠損マウス（注 11）にタモキシフェン（注 12）を点眼することで、眼全体でこの酵素を欠損させると、網膜の菲薄化やミトコンドリアの異常、視細胞の構造変性が確認され、光に対する反応が低下しました（図 3）。しかし、コリンを点眼補充すると、これらの網膜変性が正常化されました（図 4）。網膜色素上皮特異的に PNPLA6 を欠損させたマウスでも同様の結果が得られました。

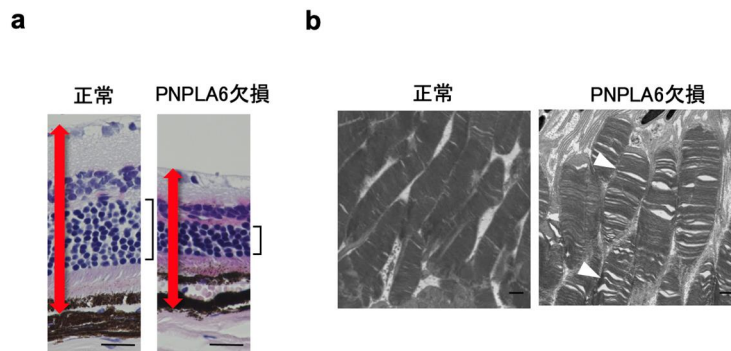


図 3 : PNPLA6 欠損による網膜の変性



- a. 眼で PNPLA6 を特異的にノックアウトしたマウスにおける網膜の組織染色像。PNPLA6 を欠損したマウス網膜は菲薄化し、特に視細胞の核が減少している。赤矢印は網膜の厚さを示す。スケールバー、50  $\mu\text{m}$ 。
- b. 電子顕微鏡による網膜の視細胞の超微細形態。正常マウスに認められる正常な視細胞の膜 (disc) 構造 (矢尻) が、右の PNPLA6 欠損マウスでは大きく乱れている。スケールバー、1  $\mu\text{m}$ 。

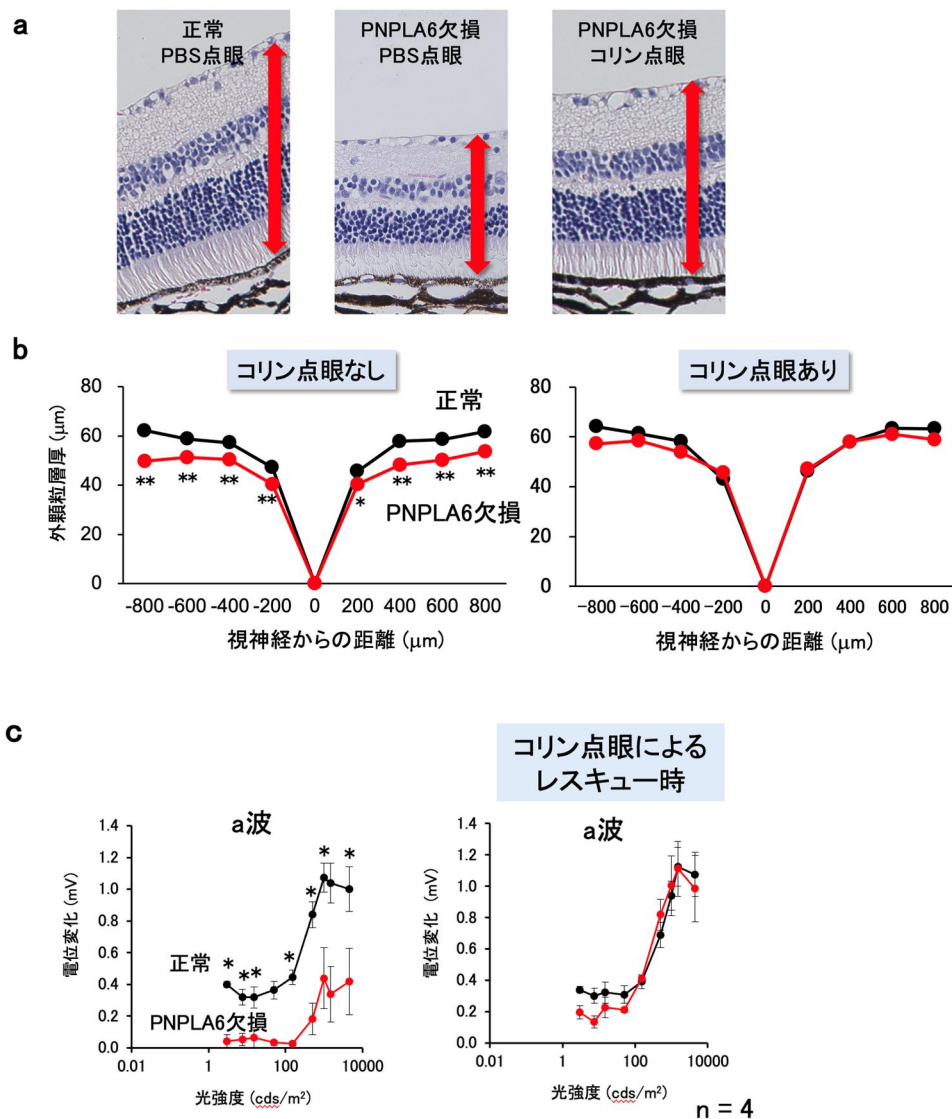


図 4 : コリン点眼による PNPLA6 欠損に伴う網膜変性の治療効果

- a. 左の正常マウスの網膜に対して、中央の PNPLA6 欠損マウスの網膜は菲薄化しているが、コリン点眼を行ったマウスは網膜が菲薄化せず正常マウスと同等に保たれている。赤矢印は網膜の厚さを示す。
- b. a で提示したマウス網膜の網膜厚の量化。コリン点眼を行わなかった場合は統計学的に有意に網膜が全体的に薄くなっているが、コリン点眼を行うと、菲薄化が予防されて正常マウスと同じ厚さに保たれている。
- c. 光に対する応答性を網膜電図を用いて評価したところ、PNPLA6 欠損マウスは応答が低下していたが (左図)、コリン点眼を行うと正常マウスと同等の光応答が保たれている (右図)。

この研究は、PNPLA6 が網膜色素上皮細胞において PC から GPC を生成し、コリンの動員を通じて PC の新陳代謝を促進することで本細胞の恒常性を保つとともに、隣接する視細胞へのコリン供給を通じて視細胞の健康を維持する役割を果たしていることを示しています。この発見は、網膜疾患の新たな治療法の開発に繋がる可能性を秘めています。

### 3) 本成果の意義・今後の展開

本研究は、研究チームが独自に開発した網膜特異的 PNPLA6 欠損マウスを用いることで、脂質代謝酵素 PNPLA6 が関与するリン脂質リサイクル経路が、どのようにして網膜の健康を維持し、その破綻が網膜色素変性症を引き起こすのかを明らかにしました。この研究の着眼点は、PNPLA6 によるリン脂質 (PC) 分解の下流で動員されるコリンの新陳代謝の重要性を明らかにした点にあります。網膜に異常のある患者の中に、PC の新規合成 (ケネディ経路) に関連する PCYT1A や、リン脂質の脂肪酸の入れ替え (ランズ回路) に関わる LPCAT1 の変異が確認されており、リン脂質の新陳代謝は網膜の恒常性維持に重要であると考えられます。哺乳動物におけるホスホリパーゼ B の生理的役割については、小腸の消化酵素としての役割以外はこれまでに報告がなく、PNPLA6 が PC の新陳代謝を調節するホスホリパーゼ B として網膜色素変性症の発症に関与することを示したことは、生化学的にも重要な意義を持ちます。

本研究の結果から、コリン補充法が網膜色素変性症の予防や治療に応用できる可能性や、血液や涙液中のコリン濃度が網膜変性の進行を示す指標となる可能性もあり、網膜色素変性症に対する新しい治療法の開発を通じて、社会的にも大きな貢献を果たすことが期待されます。

### 発表者・研究者等情報

東京大学

大学院医学系研究科 附属疾患生命工学センター 健康環境医工学部門

村上 誠 教授

武富 芳隆 講師

大学院医学系研究科 外科学専攻 感覚・運動機能医学講座 眼科学教室

相原 一 教授

小野 喬 助教

### 論文情報

雑誌名 : Nature Communications

題 名 : PNPLA6 regulates retinal homeostasis by choline through phospholipid turnover

著者名 : Takashi Ono, Yoshitaka Taketomi, Takayoshi Higashi, Hiroyasu Sato, Takashi Ueta, Takashi Miyai, Suzumi Tokuoka, Yoshiya Oda, Yasumasa Nishito, Tomio Ono, Choji Taya, Satoru Arata, Sumiko Watanabe, Tomoyoshi Soga, Tetsuya Hirabayashi, Makoto Aihara, Chika Mochizuki-Ono, Yuki Nagasaki, Makoto Murakami\*

DOI : 10.1038/s41467-025-57402-8

URL : <https://doi.org/10.1038/s41467-025-57402-8>

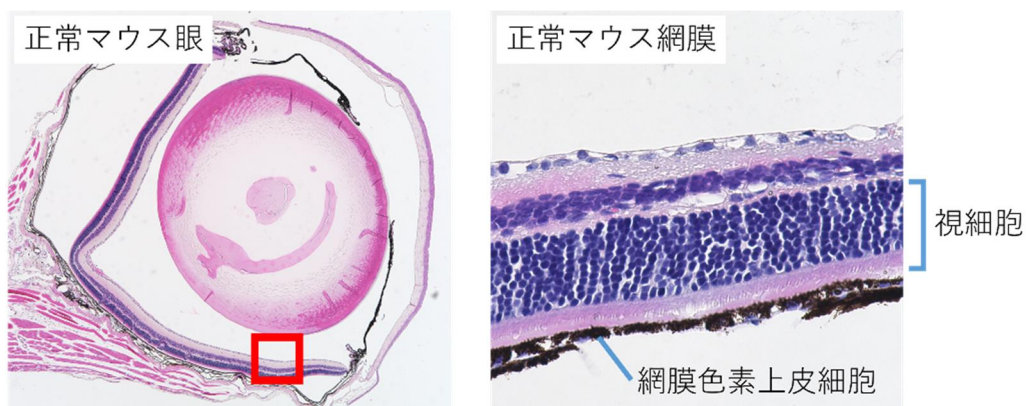
## 研究助成

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）の革新的先端研究開発支援事業（AMED-CREST）「生体組織の適応・修復機構の時空間的解析による生命現象の理解と医療技術シーズの創出」研究開発領域における研究開発課題「疾患脂質代謝に基づく生体組織の適応・修復機構の新基軸の創成と医療技術シーズの創出」（研究開発代表者：村上誠、課題番号：JP24gm1210013）、ならびに日本学術振興会科研費（課題番号：JP20H05691、JP22K20954、JP20J12307）、武田科学振興財団医学系研究助成などの支援により実施されました。

## 用語解説

### （注 1）視細胞

視細胞は網膜の内側に並んでおり（下図）、光が目に入るとまず網膜に届き、そこで視細胞が光を電気信号に変換します。これらの信号は神経細胞を通じて視神経に送られ、最終的に脳で「視覚」として認識されます。視細胞には錐体細胞と桿体細胞の2種類があり、これらが共に正常に働くことで、私たちは明るさや色、形状を認識して周りの世界を視覚的に理解することが可能になります。もし視細胞に障害があると、視力や色覚に問題が生じてしまいます。



### （注 2）網膜色素上皮細胞

網膜色素上皮細胞は、網膜の外層に位置する単層の細胞（上図）で、視細胞のすぐ下にあります。この細胞層は、視細胞の機能を支える重要な役割を担っています。眼の機能を守る多くの役割を担っており、主な役割は（1）光の吸収、（2）栄養供給と老廃物の排出、（3）視細胞の再生、そして（4）血液網膜関門（バリア）の形成です。網膜色素上皮細胞の機能不全は、様々な視覚障害や疾患の原因となるため、その健康を維持することは視力を保つ上で非常に重要です。

### （注 3）グリセロリン脂質（リン脂質）

細胞膜の主要な構成要素で、グリセロール骨格に2つの脂肪酸と1つのリン酸基が結合した構造を持ちます。ホスファチジルコリン（PC）は細胞膜で最も豊富なグリセロリン脂質です。細胞膜にはPC以外にもホスファチジルエタノールアミン（PE）、ホスファチジルセリン（PS）、ホスファチジルイノシトール（PI）、ホスファチジルグリセロール（PG）などのリン脂質が含まれています。

(注 4) リゾリン脂質

リゾリン脂質は、グリセロリン脂質から脂肪酸が 1 つ外れ、1 つの脂肪酸とリン酸極性基を持つ構造をしています。PC から生じるリゾリン脂質がリゾホスファチジルコリン (LPC) です。

(注 5) ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>)

グリセロリン脂質の 2 位のエステル結合を加水分解し、脂肪酸とリゾリン脂質を遊離する酵素群の総称です。哺乳動物では 50 種類以上の PLA<sub>2</sub> 分子種が見つっています。このうち、Ca<sup>2+</sup>非依存性に細胞内で機能する iPLA<sub>2</sub> (Ca<sup>2+</sup>-independent PLA<sub>2</sub>) は PNPLA1~9 の 9 種類の分子種が存在し、様々な脂質代謝に関わることが明らかとなってきました。PNPLA/iPLA<sub>2</sub> ファミリーは下等な真核生物にも広く分布することから、真核細胞の生命活動の根源となる脂質代謝を制御しているものと考えられます。

(注 6) リピドミクス

生体内の脂質成分を網羅的に分析する技術で、バイオマーカーの探索や、脂質の代謝を追跡することができます。近年、組織・細胞中の脂質を定量することに加えて、組織中での脂質の存在場所を可視化する質量分析イメージングの技術が開発されています。

(注 7) ホスホリパーゼ B

ホスホリパーゼ B は、ホスホリパーゼ A<sub>1</sub> と A<sub>2</sub> の活性を兼ね備えた酵素です。つまり、グリセロリン脂質の 1 位と 2 位のエステル結合を順次加水分解して 2 本の脂肪酸を切り出すと同時に、中間体としてリゾホスファチジルコリン、最終産物としてグリセロホスホコリンを生成します。

(注 8) グリセロホスホコリン (GPC)

LPC の加水分解によって生成される代謝物で、コリンがグリセロールリン酸に結合した化合物です。GPC の加水分解によりコリンが取り出されます。

(注 9) コリン

コリンは、私たちの体にとって非常に重要な栄養素のひとつであり、食事から摂取することができます。卵、肉、魚、大豆、ナッツなどに多く含まれています。コリンの生体内での代表的な役割は、以下のものがあります。(1)細胞膜の構成：細胞膜を作るために必要な PC の構成成分です。細胞中のコリンの大部分は PC の形で細胞膜に貯蔵されています。細胞膜はすべての細胞を取り囲む膜で、細胞の形を保ち、外部とのやり取りを管理します。(2)神経伝達物質の生成：脳神経系で重要な役割を果たすアセチルコリンという神経伝達物質の材料です。アセチルコリンは、記憶や学習、筋肉の動きなどに関与しています。このため、コリンの不足は神経機能の異常や筋力低下を引き起こします。(3)メチオニンの生成：肝臓において、コリンのメチル基は中間代謝物を経てメチオニンの生合成に利用されます。メチオニンはアミノ酸の一種であり、タンパク質の材料として使われるほか、メチル化反応を通じて様々な生命応答に関わります。コリンやメチオニンの不足は肝臓の脂肪代謝を妨げ、脂肪肝を引き起こします。

(注 10) ケネディ経路

ケネディ経路は、生体内でリン脂質を合成するための重要な生化学的経路です。PC の場合、コリンからホスホコリン、CDP-コリンを経て、PC が生合成されます。これに対し、できあがった



PC の脂肪酸を別の脂肪酸に置き換える反応はランズ回路と呼ばれます。ケネディ経路に関わる酵素である PCYT1A やランズ回路に関わる酵素である LPCAT1 の変異は網膜変性を引き起こすことが知られています。

#### (注 11) コンディショナル欠損マウス

コンディショナル欠損マウスは、特定の遺伝子を特定の時間や場所で選択的に欠損させることができる遺伝子改変マウスです。これにより、研究者はその遺伝子が特定の組織や発生段階でどのような役割を果たしているのかを詳しく調べることができます。全身での欠損が致死的な遺伝子でも、特定の組織でのみ欠損させることで生存可能なマウスを作ることができます。本実験のように、病気の進行に関わる遺伝子を部位特異的あるいは時期特異的に欠損させ、病態の詳細なメカニズムを解明することができます。

#### (注 12) タモキシフェン

タモキシフェンは、乳がんの治療にも用いられる選択的エストロゲン受容体調節薬です。本研究ではコンディショナル欠損マウスの作成のために使用しました。基本的な技術は Cre-loxP システムを使用します。Cre リコンビナーゼは、DNA 中の loxP 部位と呼ばれる特定の配列を認識し、その間に挟まれた DNA を削除します。本研究では、Cre リコンビナーゼにエストロゲン受容体 (ER) の特定の部分を融合した CreER を使用しました。これにより、Cre の活性はタモキシフェンによって制御されます。欠損したい遺伝子 (今回は PNPLA6) を loxP 配列で挟んでおく (floxed)、タモキシフェンを投与することで、通常は不活性状態にある CreER が活性化され、核内に移行して loxP 配列間の DNA を削除します。これにより、特定の遺伝子が特定の組織や時間においてノックアウトされます。

### 問合せ先

(研究内容については発表者にお問合せください)

東京大学大学院医学系研究科

教授 村上 誠 (むらかみ まこと)

Tel : 03-5841-1431 E-mail : makmurak@m.u-tokyo.ac.jp

東京大学大学院医学系研究科 総務チーム

Tel : 03-5841-3304 E-mail : ishomu@m.u-tokyo.ac.jp