

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22481

研究課題名（和文）疾患誘導因子トランス脂肪酸のライブイメージングによる体内産生機構と病理作用の解明

研究課題名（英文）Elucidation of in vivo production mechanisms and pathological effects of trans-fatty acids inducing various diseases by live imaging

研究代表者

松沢 厚（Matsuzawa, Atsushi）

東北大学・薬学研究科・教授

研究者番号：80345256

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：顕微ラマン分光分析を利用したライブセルイメージングにより、トランス脂肪酸は、様々なストレス条件下で産生される活性分子種を介した非酵素的な反応により、細胞内の脂肪滴のような局所的な場所で産生されることが明らかになった。また、そのようなストレス刺激時に、アラキドン酸やDHAのような高度不飽和脂肪酸（PUFA）がトランス異性化することで、ある特定のプログラム細胞死の誘導が強力に抑制されることが示唆され、本機構が、がんなどの病態増悪に寄与する新たな可能性が見出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

活性分子種と脂質との関連性については、活性酸素による酸化脂質産生に関して古くから解析されてきた一方で、非古典的な活性分子種（活性イオウや活性窒素等）による生体内での脂質修飾や代謝制御に関する知見そのものが乏しいことから、本研究では、“非古典的な活性分子種による生体内脂質の変換反応とその病態生理学的作用”という新しい概念の提示が可能である。さらに、従来は「外来性の毒性物質」と考えられてきたトランス脂肪酸について、「内因性の疾患リスク因子」としての新規作用が見出されたことから、本研究の更なる進展によって、新規疾患マーカーとしての利用や関連疾患の新たな予防・治療法の提案に繋がる。

研究成果の概要（英文）：Live cell Raman imaging revealed that trans-fatty acids are produced in localized areas, such as lipid droplets, possibly through non-enzymatic reactions mediated by reactive molecular species (RMS) produced under various stress conditions. We also found that trans-isomerization of polyunsaturated fatty acids (PUFAs), including arachidonic acid and DHA, strongly inhibits the induction of a certain programmed cell death under stress conditions where RMS are produced, which may contribute to pathogenesis and development of various diseases, such as cancer.

研究分野：分子生物学

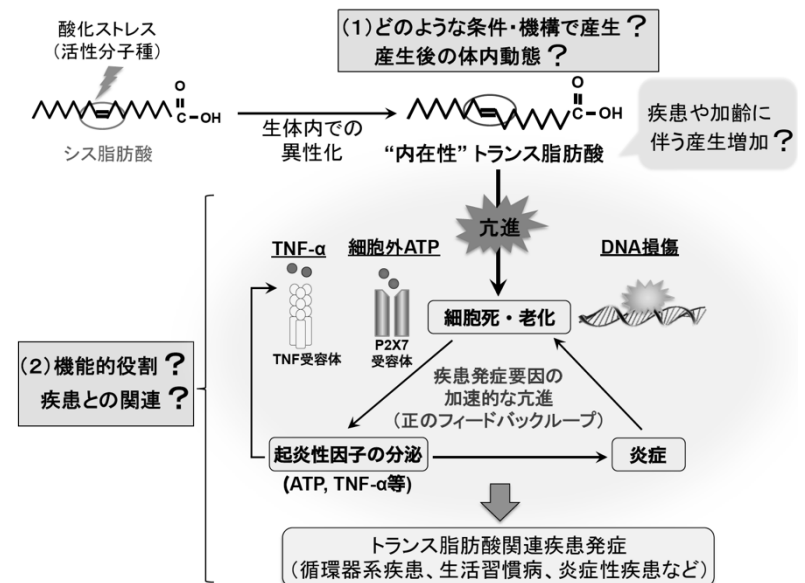
キーワード：トランス脂肪酸 ライブイメージング 疾病予防 ラマン分光解析 活性分子種

1. 研究開始当初の背景

トランス脂肪酸は、炭素・炭素原子間にトランス型2重結合を有する脂肪酸の総称で、多くの疫学的知見から循環器系疾患、炎症性疾患、認知症などのリスクファクターとされてきた。これまで申請者らは、上記疾患の発症・進展の要因となるトランス脂肪酸特異的な細胞死・炎症・老化の促進作用を見出し、その作用点や分子機構を詳細に明らかにしてきた【図1】(Hirata, Matsuzawa *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 292, p8174, 2017 & *Sci. Rep.*, 10, 2743, 2020)。

生体内の脂肪酸代謝系により酵素的に生成される不飽和脂肪酸はシス型(シス脂肪酸)のみであることから、生体内に存在するトランス脂肪酸は、食物由来の「外来性」のものと考えられてきた。しかし最近、生体内で産生されるトランス脂肪酸の存在や、疾患や加齢に伴う血中トランス脂肪酸濃度の増加が報告されている。その産生機構として、活性分子種(RS・やNO₂・などのラジカル)によるシス脂肪酸からトランス脂肪酸への異性化反応による非酵素的な産生が唯一想定されるが、生体内での具体的な産生実態や産生経路、および疾患発症との因果関係は全く不明である。

【図1】想定される内在性トランス脂肪酸の産生機構および関連疾患の発症機序



トランス脂肪酸は、細胞外ATP、DNA損傷、TNF-αによって誘導される細胞死や老化の促進により、起炎症性因子の分泌および炎症を亢進することで、これら一連の応答をさらに加速し、関連疾患発症に寄与する。本研究では、生体内で産生される「内在性」トランス脂肪酸の産生機構、およびその機能解析によって、疾患発症との関連性を明らかにする。

2. 研究の目的

上記背景を踏まえ、本研究課題では、トランス脂肪酸の生体内での産生機構・体内動態や分子標的を明らかにし、その「内因性病態関連脂質」としての病態生理学的作用と役割の解明を目指した。活性分子種と脂質との関連性については、活性酸素による酸化脂質産生については古くから解析されてきた一方で、非古典的な活性分子種(活性イオウや活性窒素等)による生体内での脂質修飾や代謝制御に関する知見そのものが皆無であることから、“非古典的な活性分子種による生体内脂質の変換反応とその病態生理学的作用”という新しい概念の提示が可能である。さらに、従来は「外来性の毒性物質」と考えられてきたトランス脂肪酸の概念を覆し、その生体内での産生実態や疾患発症との関連を明らかにして、トランス脂肪酸を「内因性の疾患リスク因子」と定義付けすることができれば、新規疾患マーカーとしての利用や関連疾患の新たな予防・治療法の提案が可能となり、学術的・社会的インパクトは非常に大きい。

3. 研究の方法

(1) 内在性トランス脂肪酸の産生機構の解析

(A) 産生条件の探索・同定：同研究科の中林孝和教授らが世界に先駆けて開発した (*Phys. Chem. Chem. Phys.*, 22, p21646, 2020)、生きた細胞内でのトランス脂肪酸産生が短時間で簡便に検出可能なハイスループット検出系(顕微ラマン分光分析法：トランス型C=C結合の検出系)を利用し、細胞種や刺激条件(特に活性分子種の産生刺激条件)の網羅的な検討を行った。なお、本検出系では、細胞内に存在する脂肪滴(Lipid droplet)中のシス-トランス異性化を検出・評価した。

(B) 脂質解析：(A)の条件検討を基に、細胞・個体レベルで産生される内在性トランス脂肪酸について、分子種や量、存在様式(遊離型およびリン脂質・中性脂質導入型等)や代謝過程について、同研究科の佐藤恵美子准教授、および東京大学大学院薬学系研究科の青木淳賢

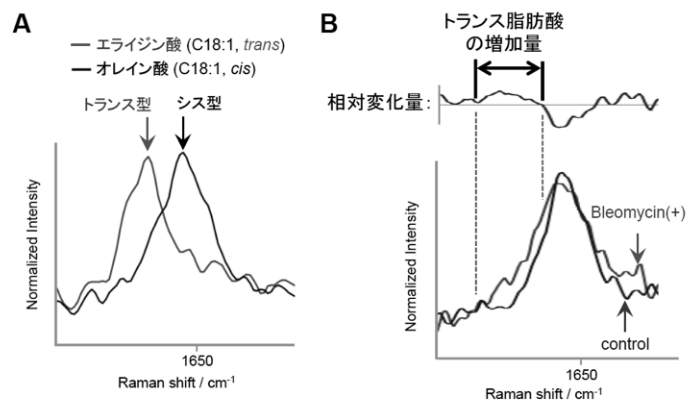
教授との共同研究により、最新鋭の質量分析装置（GC-MS/MS・LC-MS/MS）による詳細な脂質解析を行った。

(2) 内在性トランス脂肪酸の機能解析

食品中には存在せず、内在性トランス脂肪酸の最有力候補とされているトランスアラキドン酸やトランス DHA などの高度不飽和脂肪（PUFA：polyunsaturated fatty acids）がトランス異性化したトランス PUFA については、商業的入手が不可能である。そこで、それらの有機合成を世界で唯一手掛けている Chatgililoglu 教授（イタリア ISOF）との共同研究により、いずれか 1 箇所の 2 重結合がトランス異性化されたモノトランス PUFA を入手し、様々な培養細胞株に処置して取り込ませた際の、細胞死・炎症・細胞老化などのストレス応答に対する影響を網羅的に解析した。何らかの影響が認められた場合には、その作用機構について、詳細な解析を行った。

4. 研究成果

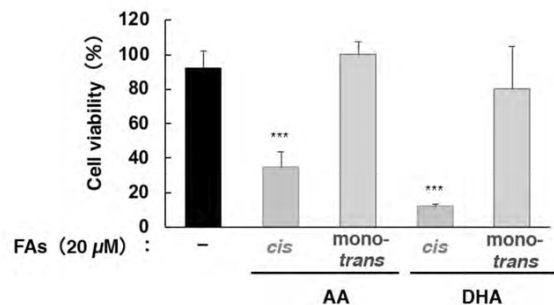
3. (1)に関連して、顕微ラマン分光分析を利用し、培養細胞に様々な活性分子種産生剤を処置した際のトランス脂肪酸の産生の有無を検討したところ、そのうちの 1 つである Bleomycin の処置時に、実際に産生が確認でき、検出系の確立に至った【図 2】。さらに、脂質解析によって、このとき産生された分子種の検出を試みたが、GC-MS/MS および LC-MS/MS のいずれの解析においても、著明な産生が確認できなかった。その理由として、Bleomycin 刺激時のトランス脂肪酸の産生量が微小である可能性、また、このときの産生が、細胞内全体ではなく、脂肪滴などの局所に限定されていた可能性が想定される。これらの可能性については、今後さらに検証を行い、その産生実態をより正確に捉えていきたいと考えている。



【図2】細胞内トランス脂肪酸のライブセルイメージング（顕微ラマン分光分析）

A) エライジン酸（代表的なトランス脂肪酸）またはオレイン酸（そのシス異性体）を添加したHeLa細胞の脂肪滴のラマン分光分析による脂肪酸由来シグナルの解析結果。C=C由来のシグナルは、トランスとシスの幾何異性の違いで分離する。
B) 活性分子種の誘導剤Bleomycinに伴うトランス脂肪酸の産生。上のデータは、Bleomycin(+)のデータからcontrolのデータを引いた相対変化量を表す。Bleomycin処置に伴い、約12%のシス脂肪酸がトランス脂肪酸に変換している。

3. (2)に関連して、トランス PUFA を細胞に処置した際の、様々なストレス応答（細胞死・炎症など）への影響を網羅的に解析した。その結果、興味深いことに、これまで我々がトランス脂肪酸（特にエライジン酸などの外来性トランス脂肪酸）の新規作用として見出してきた、細胞外 ATP あるいは DNA 損傷などで誘導される細胞死・炎症には全く影響しなかった一方で、非典型的プログラム細胞死「フェロトーシス」に対する抑制的な作用を新たに見出した【図 3】。フェロトーシスとは、鉄（フェロ）依存的な生体膜リン脂質中のシス PUFA の過酸化が起点となって誘導される、最も最近発見されたプログラム細胞死である（Cell, 149, p1060, 2012）。特に、鉄を豊富に含むがん細胞は、全般的にフェロトーシスに脆弱であることから、近年有望な新規がん治療戦略として着目されている。通常、シス PUFA の添加によって著しいフェロトーシスが誘導される条件下でトランス PUFA を細胞に添加しても、フェロトーシスが全く誘導されなかったことから【図 3】、生体内には、膜リン脂質酸化時に、一部の PUFA がトランス異性化することで、フェロトーシス誘導を妨げる防御機構が存在し、がん促進的に作用していることが想定される。現在、フェロトーシス誘導時のトランス PUFA 産生の有無や、トランス PUFA によるエフェクター分子の発現・機能への影響など、そのフェロトーシス抑制機構についての詳細な分子機構を解析中で、今後、その全容の解明を目指したい。



【図3】トランスPUFAはフェロトーシスを惹起できない

MEF細胞に低濃度のフェロトーシス誘導剤RSL3(0.3 μM, GPX4の阻害剤)と合わせて、各種脂肪酸(FAs)を20 μMで24時間処置した際の細胞生存率。cis: 二重結合が全てシス型; mono-trans: 二重結合がいずれか一箇所トランス異性化されたもの; AA: アラキドン酸。***, p < 0.001 (One-way ANOVA, Tukey's test)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Noguchi, T., Sekiguchi, Y., Kudoh, Y., Naganuma, R., Kagi, T., Nishidate, A., Maeda, K., Ishi, C., Toyama, T., Hirata, Y., Hwang, G. W., Matsuzawa, A.	4. 巻 12
2. 論文標題 Gefitinib initiates sterile inflammation by promoting IL-1 and HMGB1 release via two distinct mechanisms.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Death Dis.	6. 最初と最後の頁 49
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41419-020-03335-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Udagawa, T., Seki, M., Okuyama, T., Adachi, S., Natsume, T., Noguchi, T., Matsuzawa, A., Inada, T.	4. 巻 34
2. 論文標題 Failure to degrade CAT-tailed proteins disrupts neuronal morphogenesis and cell survival.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 108599
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2020.108599	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Luong, N. C., Abiko, Y., Shibata, T., Uchida, K., Warabi, E., Suzuki, M., Noguchi, T., Matsuzawa, A., Kumagai, Y.	4. 巻 45
2. 論文標題 Redox cycling of 9,10-phenanthrenequinone activates epidermal growth factor receptor signaling through S-oxidation of protein tyrosine phosphatase 1B.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Toxicol. Sci.	6. 最初と最後の頁 349-363
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2131/jts.45.807	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Hirata, Y., Nada, Y., Yamada, Y., Toyama, T., Fukunaga, K., Hwang, G. W., Noguchi, T., Matsuzawa, A.	4. 巻 43
2. 論文標題 Elaidic acid potentiates extracellular ATP-induced apoptosis via the P2X7-ROS-ASK1-p38 axis in microglial cell lines.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biol. Pharm. Bull.	6. 最初と最後の頁 1562-1569
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b20-00409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirata, Y., Inoue, A., Suzuki, S., Takahashi, M., Matsui, R., Kono, N., Noguchi, T., Matsuzawa, A.	4. 巻 10
2. 論文標題 trans-Fatty acids facilitate DNA damage-induced apoptosis through the mitochondrial JNK-Sab-ROS positive feedback loop.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 2743
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-59636-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsuchida, M., Yokozawa, T., Noguchi, T., Shimada, T., Yamada, M., Sekiguchi, Y., Hirata, Y., Matsuzawa, A.	4. 巻 45
2. 論文標題 Pro-apoptotic functions of TRAF2 in p53-mediated apoptosis induced by cisplatin.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Toxicol. Sci.	6. 最初と最後の頁 219-226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2131/jts.45.219	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計27件(うち招待講演 5件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 松沢厚
2. 発表標題 新たなストレス誘導性細胞死と疾患制御
3. 学会等名 日本薬学会第141年会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松沢厚
2. 発表標題 ストレス応答キナーゼによる細胞老化・細胞死の新たな制御機構
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松沢厚
2. 発表標題 内外環境ストレスに対する生体応答シグナルとその分子制御機構の研究
3. 学会等名 フォーラム2020衛生薬学・環境トキシコロジー（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松沢厚
2. 発表標題 活性酸素シグナルによる新たな細胞死パータナトスの誘導制御機構
3. 学会等名 フォーラム2020衛生薬学・環境トキシコロジー（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田侑杜, 井上綾, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸のDNA損傷様式によって異なる細胞死促進作用の分子機構
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田侑杜, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸によるDNA損傷時の新規細胞死促進機構
3. 学会等名 第59回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平田祐介, 井上綾, 蘆田諒, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸の細胞老化促進作用による関連疾患発症機序の解明
3. 学会等名 第59回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上綾, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸によるDNA損傷時の細胞死促進作用とその分子機構の解明
3. 学会等名 第59回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 蘆田諒, 灘雄貴, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 新たな生体作用機序に基づくトランス脂肪酸の毒性リスク評価
3. 学会等名 第59回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平田祐介, 井上綾, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸によるミトコンドリアROS産生を介したDNA損傷誘導性細胞死の促進機構
3. 学会等名 第73回日本酸化ストレス学会・第20回日本N0学会合同学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田侑杜, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸によるシスプラチン誘導性細胞死の促進作用機構
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田侑杜, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸によるシスプラチン誘導性細胞死の促進作用機構
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上綾, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸による DNA損傷時の細胞死促進機構の解明
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田侑杜, 井上綾, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸のDNA損傷様式によって異なる細胞死促進機構
3. 学会等名 フォーラム2020衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 蘆田諒, 瀨雄貴, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸の新たな生体作用機序に基づく毒性リスク評価
3. 学会等名 フォーラム2020衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平田祐介, 井上綾, 蘆田諒, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸による細胞老化促進作用を介した関連疾患発症機構の解析
3. 学会等名 フォーラム2020衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平田祐介, 井上綾, 蘆田諒, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸による細胞老化の促進作用機構および関連疾患発症機序の解明
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上綾, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸によるDNA損傷誘導性細胞死の促進作用機構の解明
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上綾, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸によるDNA損傷誘導性細胞死の促進作用とその分子機構の解明
3. 学会等名 日本生化学会東北支部 第86回例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平田祐介, 蘆田諒, 井上綾, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸による細胞老化促進作用とその分子機構の解明
3. 学会等名 日本生化学会東北支部 第86回例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸による毒性発現の分子メカニズムと関連疾患の発症予防
3. 学会等名 日本薬学会第140年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Aya Inoue, Yusuke Hirata, Miki Takahashi, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa
2. 発表標題 Molecular mechanism underlying the pro-apoptotic effect of trans-fatty acids during DNA damage
3. 学会等名 Forum 2019 Pharmaceutical Health Science, Environmental Toxicology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miki Takahashi, Yusuke Hirata, Saki Suzuki, Ryosuke Matsui, Takuya Noguchi, Atsushi Matsuzawa
2. 発表標題 Elucidation of the molecular mechanisms underlying proapoptotic effect of trans-fatty acid in response to DNA damage
3. 学会等名 The International Union of Toxicology (IUTOX) 15th International Congress of Toxicology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平田祐介, 高橋未来, 井上綾, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸によるDNA損傷誘導性細胞死の促進作用機構
3. 学会等名 第58回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 灘雄貴, 平田祐介, 高橋未来, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸の新規分子基盤に基づく毒性リスク評価
3. 学会等名 第58回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 灘雄貴, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 新規分子基盤に基づくトランス脂肪酸の毒性リスク評価
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井上綾, 高橋未来, 平田祐介, 野口拓也, 松沢厚
2. 発表標題 トランス脂肪酸による細胞老化促進作用とその分子機構の解析
3. 学会等名 フォーラム2019衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東北大学薬学部衛生化学分野 http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~eisei/eisei.HP/
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	平田 祐介 (Hirata Yusuke)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
イタリア	ISOF		