

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462815

研究課題名(和文)炎症性メディエーターが引き起こす細胞死を不飽和脂肪酸が抑制する機構を解明する

研究課題名(英文) Analysis of how polyunsaturated fatty acids attenuate cell death induced by inflammatory mediators.

研究代表者

張 京浩 (Chang, Kyungho)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50302708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：炎症性サイトカインによって惹起される炎症性細胞死がどのような長鎖不飽和脂肪酸で抑制されるかを検討し、オメガ3系、オメガ6系に関わらず、広く二重結合を持つことが細胞保護作用に関連していることを確認した。また、リボキシゲナーゼやシクロキシゲナーゼがこの系で細胞保護的に作用せず、一方アスピリンが細胞保護作用を示すことも確認した。以上の知見は、アラキドン酸カスケードの活性化が炎症の増幅に重要であるという従来の考え方に一石を投じるものとして脂質バイオロジーにおいて極めて興味深いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We investigated which polyunsaturated fatty acids were cytoprotective or not against cell death induced by proinflammatory cytokines. We found that the existence of double bonds in fatty acids was much more important, irrespective of whether they were omega3- or omega6-derived. The cytoprotective effects of polyunsaturated fatty acids were observed in macrophage-related culture cells such as raw.264 cells, as well as human lung epithelial like-A549 cells. Among the long chain polyunsaturated fatty acids investigated, oleic acid is the most promising in terms of its broad safety margin. These findings are to raise a doubt with respect to the major role of arachidonic acid cascade in lipid-mediated proinflammatory pathophysiology.

研究分野：麻酔・集中治療医学

キーワード：不飽和脂肪酸 細胞保護作用 炎症性サイトカイン アラキドン酸カスケード 抗炎症作用

1. 研究開始当初の背景

救急・集中治療・周術期医学の領域でも、不飽和脂肪酸の中で 3 系脂肪酸については、急性期患者の予後改善の可能性に関心がもたれ、患者の病態を改善したという報告も多い。しかしながら、急性期炎症に対する有効性は、慢性炎症を背景とした病態に対する効果ほど確立していない。最近の臨床介入においても、急性肺障害患者に 3 系主体の脂肪酸を投与して EPA の血中濃度を十分高めたにも関わらず、むしろ患者の病態は悪化したという報告がある。生理活性脂質の急性病態における効果の基礎的検討はまだ不足している。3 系脂肪酸に限っても、どのような組み合わせ、用量が適切なのか知見が乏しい。更に 3 系以外の不飽和脂肪酸となるとその急性期病態改善効果の検討は一層不十分である。

2. 研究の目的

敗血症では過剰な炎症性メディエーターにより細胞機能が障害され、アポトーシスを含めた細胞死が生じる事が多臓器不全の一因と想定されている。我々は、生理活性脂質の中で、長鎖不飽和脂肪酸が、炎症により引き起こされる細胞死を抑制することを見いだした。この不飽和脂肪酸の細胞保護作用の機構を、(a) どのような不飽和脂肪酸がどのような強度で細胞保護作用を持つのか、(b) アポトーシスに関連するシグナル経路のどこを抑制するのか、(c) 細胞への作用が (脂肪酸をリガンドとする) G 蛋白共役型膜受容体を介しているのかどうか、に焦点をあてて解明する。

3. 研究の方法

- (1) 炎症性サイトカインで惹起される細胞障害モデルを重要臓器に由来する様々な培養細胞系で設定し、そこで不飽和脂肪酸の細胞保護作用の強さについての活性順位を決定する。
- (2) 不飽和脂肪酸が細胞障害シグナルのどのステップを阻害するのかを、主にアポトーシス経路に焦点を当てて決定する。
- (3) 不飽和脂肪酸の細胞保護作用が特異的な細胞膜受容体を介するのか否かを、GPCR に焦点を絞り、GPCR によって活性化されるシグナルの変化を多面的に測定することで推定する。

4. 研究成果

- (1) 炎症性サイトカインによって惹起される炎症性細胞死がどのような長鎖不飽和脂肪酸で抑制されるかを検討し、オメガ 3 系、オメガ 6 系に関わらず、広く二重結合を持つことが細胞保護作用に関連していることを確認した。また、リポキシゲナーゼやシクロキシゲナーゼがこの系で細胞保護的に作用せず、一方アスピリンが細胞保護作用を示すことも確認した。以上の知見は、アラキドン酸カスケードの活性化が炎症の増幅に重要であるという従来の考え方に一石を投じるものとして脂質バイオロジーにおいて極めて興味深いと考えられる。
- (2) ヒト肺胞上皮細胞由来 A549 における不飽和脂肪酸の細胞保護作用につい

ては高い再現性をもって確認でき、さらに、適応できる濃度が極めて広範囲であるという（毒性が少ない）点で、臨床的に最も期待できる脂肪酸としてはオレイン酸と決定することができた。一方 DHA や EPA は同様の細胞保護作用を発揮するも安全な濃度範囲は狭く、サプリメント等を介しての安易な摂取は好ましくない可能性も示唆された。

- (3) 不飽和脂肪酸の細胞保護機構については未知の G 蛋白共役型受容体 (GPCR) を仮定して検討を行ったが、結論としては GPCR に由来するシグナルの動きは確認できなかった。
- (4) 一方 A549 細胞以外の培養細胞で不飽和脂肪酸の細胞保護作用を検討し、マクロファージ系の細胞 (RAW264.7 細胞) でも同様の細胞保護作用を見いだした。このマクロファージ系の細胞における知見は、従来長鎖不飽和脂肪酸の抗炎症作用と理解されていたものであるが、今回、細胞保護作用という視点で切り込むことができた。この点は、不飽和脂肪酸による抗炎症作用に新たな視点（マクロファージ系の細胞寿命を延ばすことで系全体での抗炎症作用を発揮している可能性）を付与するものとして期待できる。
- (5) ただし、不飽和脂肪酸単剤では炎症性サイトカインによる細胞死のレスキュー効果は必ずしも十分とは言えなかった。そこで、不飽和脂肪酸との共投与によって細胞保護効果を増

強しうる薬剤を検討した。平行して、臨床使用可能な抗炎症薬として、デキサメサゾンとラパマイシンの共投与が炎症性細胞死を劇的に抑制することを見いだしていたが、そこに長鎖不飽和脂肪酸を加えることで、いっそうの細胞保護作用を持つことを見いだした。これまで、ともすると栄養学的な視点から捉えられていた長鎖不飽和脂肪酸を、明確に抗炎症薬剤として位置づけることが出来たという点で一定の研究成果を達成できたと考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 2 件)

- (1) Chang K, Yamada Y, Kuwajima K
Co-treatment with dexamethasone and rapamycin attenuated cytokine-induced cell death in A549.
the 17th Joint Annual Scientific Congress of the KSCCM and JSICM (第 17 回日韓合同集中治療学会) 2017 年 4 月 22 日 Seoul (韓国)

(2) 張京浩、山田芳嗣

「炎症性サイトカインで誘導される細胞障害に対する長鎖不飽和脂肪酸の細胞保護作用とその作用機序の検討」

第 7 回癌・炎症と抗酸化研究会

2016 年 11 月 25 日 大分 (別府)

6 . 研究組織

- (1) 研究代表者：張京浩 (CHANG, Kyungho)
東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50302708

(2) 研究分担者：山田 芳嗣 (YAMADA,
Yoshitsugu)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：30166748