



お茶の水女子大学基幹研究院 市 育 代

脂肪酸の栄養状態で変化する生体応答の制御機構に関する研究

はじめに

超高齢社会にあるわが国において栄養状態の改善は重要な課題である。わが国は栄養障害の二重負荷にあり、低栄養と栄養過剰が混在している。哺乳動物の重要なエネルギー源である脂肪酸は生体膜の主要な構成成分であり、生体の恒常性維持に必要な栄養素である。我々はこれまで、脂肪酸の欠乏と過剰状態に着目し、脂肪酸の栄養状態で変化する生体応答に関する研究を行ってきた。本講演では、それらの研究成果について紹介する。

1. 多価不飽和脂肪酸欠乏における生体応答の制御機構

1-1. 多価不飽和脂肪酸欠乏時に増加するミード酸の産生酵素の同定

哺乳動物において多価不飽和脂肪酸 (PUFA) は生体膜の主要な構成成分であり、その代謝物は免疫応答など生体の恒常性維持に必要である。生体において食事由来の PUFA が欠乏すると、皮膚障害や易感染症、脂肪肝などがみられることが報告されている。同時に、生体内に存在するオレイン酸 (18:1n-9) からミード酸 (20:3n-9) という n-9系 PUFA が内因的に産生されるが、その産生酵素は明確にはされていなかった。我々はこれまで、ミード酸が存在する培養細胞を用いて、脂肪酸の不飽和化酵素と鎖長伸長酵素の siRNA による網羅的な遺伝子発現抑制を行い、ミード酸の産生酵素の同定を行った。その結果、ミード酸は n-3系脂肪酸の α -リノレン酸から EPA, n-6系脂肪酸のリノール酸からアラキドン酸と同様の酵素 (FADS1, FADS2, ELOVL5) と経路でオレイン酸から産生されることを明らかにした¹⁾ (図1)。

1-2. ミード酸のリン酸化修飾を介した産生機構

ミード酸は n-6系及び n-3系 PUFA が欠乏することで産生されるが、我々はその産生機構に脂肪酸伸長酵素 ELOVL5 の翻訳後修飾が関わっていることを見出している。ELOVL5 は小胞体に局在する膜タンパク質で脂肪酸伸長反応の律速酵素である。哺乳動物の ELOVL5 には7つのサブタイプが存在し、脂肪酸の鎖長や不飽和度によって基質特異性が異なる。これまでの研究において ELOVL5 は C18PUFA や C20PUFA に対して伸長活性を有する酵素であることが報告されている。一方、我々はミード酸が存在する PUFA 欠乏細胞の膜タンパク質を用いた Elon-

gation assay において、ELOVL5 が一価不飽和脂肪酸であるオレイン酸 (18:1n-9) に対しても伸長活性を有し、ミード酸の産生に関与していることを明らかにしている (図1)。そして、PUFA が十分に存在する細胞では、ELOVL5 のオレイン酸に対する伸長活性は消失し、ミード酸の産生が抑えられることを示している。

ELOVL5 は7つある脂肪酸伸長酵素のうち、唯一リン酸化部位が存在することが報告されている。また、酵母の脂肪酸伸長酵素 ELO2 にもリン酸化タンパク質が存在し、GSK3 の欠損株でリン酸化が消失することが報告されている。我々はこれまで、ELOVL5 においても PUFA を添加した細胞でリン酸化タンパク質が存在し、そのリン酸化は PUFA 欠乏細胞で消失することを見出した (図2)。そこで、PUFA を添加した細胞に GSK3 の阻害剤を添加したところ ELOVL5 のリン酸化タンパク質が消失し、PUFA が十分存在するにも関わらず 18:1n-9 に対する活性の消失もみられなくなった (図2)。また、ELOVL5 のリン酸化部位と予想される C末端のアミノ酸領域をアラニンに置換した変異体 ELOVL5 を導入した細胞においても、PUFA を添加しているにも関わらず 18:1n-9 の活性消失はみられなかった。したがって、GSK3 を介したリン酸化修飾は PUFA 欠乏時に生じる ELOVL5 の基質特異性の変化の要因であることがわかった (図2)。このような ELOVL5 のリン酸化を介した基質特異性の変化は、PUFA 欠乏時に長鎖の PUFA を補うための新奇的な産生機構であることが示唆された。

1-3. 多価不飽和脂肪酸欠乏時のミード酸の生理作用

食事由来の PUFA が欠乏すると内因的に産生されるミード酸は、アラキドン酸や EPA と同じ高度不飽和脂肪酸である。高度不飽和脂肪酸はリン脂質膜の流動性を確保する物理的特性があることから、PUFA 欠乏時のミード酸は生体膜の機能維持に重要な可能性がある。ミード酸の生理作用に関しては、いくつか報告されているが、PUFA 欠乏下でのミード酸の作用は不明である。脂肪酸不飽和化酵素 FADS2 の機能不全では、C18PUFA の不飽和化が行えないことから C20PUFA が生成されず、高度不飽和脂肪酸の欠如をもたらす。また、FADS2 はミード酸の産生酵素でもあることから、PUFA 欠乏時の FADS2

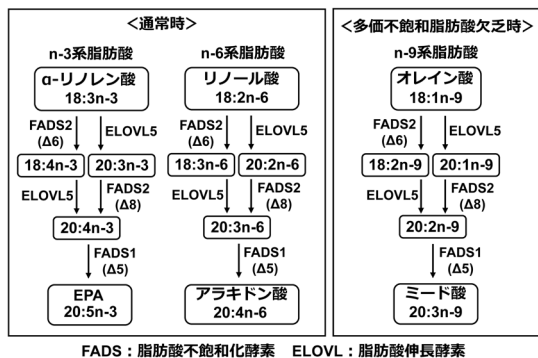


図1. 多価不飽和脂肪酸の脂肪酸代謝

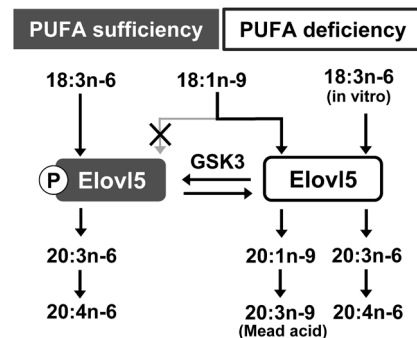


図2. 多価不飽和脂肪酸欠乏時の ELOVL5 のリン酸化修飾を介した基質特異性の変化

の機能不全ではミード酸も産生されないことが予想される。そこで、食事由来のPUFA欠乏食を与えたマウスにFADS2の阻害剤を与え、肝臓における表現型を調べた。すると、PUFA欠乏時にFADS2の阻害剤を与えたマウスの肝臓ではミード酸のみが減少し、中性脂肪やコレステロールの蓄積が観察された。また、その要因として肝臓から血中への脂質の移行を担うVLDLの分泌障害があることを明らかにしている²⁾。したがって、PUFA欠乏時に産生されるミード酸は肝臓の脂肪蓄積に対して抑制的に作用し、食事由来のPUFAの代替作用を担っている可能性が示唆された。さらに、FADS2欠損マウスにPUFA欠乏食を与えるとミード酸は全く検出されず、肝臓の脂肪蓄積がより顕著であった。現在、このマウスを用いてミード酸を含めた高度不飽和脂肪酸の欠乏下における新たな生理作用について検討を行っている。

2. 脂肪滴の肥大化における膜リン脂質の脂肪酸鎖の生物学的意義の解明

脂肪細胞では過剰な脂肪酸が中性脂肪となって蓄積することで脂肪滴が大型化し、脂肪細胞の肥大化がみられる。そして肥大化した脂肪細胞は、様々な疾患の憎悪因子となることが知られている。生体膜におけるリン脂質の脂肪酸鎖は栄養状態に応じて変化するが、その変化が細胞機能にもたらす影響はよく分かっていない。多くの細胞小器官はリン脂質の二重膜で囲まれているが、脂肪滴は中性脂肪がリン脂質の一重膜で覆われた特徴的な構造をしている。近年、脂肪滴は単なる脂肪の貯蔵庫ではなく、脂肪滴自身が脂質の合成・分解を調節するオルガネラであることが明らかになってきた。我々はこれまで脂肪蓄積に伴う脂肪滴サイズの大型化に着目し、大型化脂肪滴に特徴的なリン脂質膜の脂肪酸組成を明らかにした³⁾。

また、脂肪滴膜における脂肪酸鎖の不飽和度の違いが脂肪蓄積においてどのような意義を持つか検討を行った。脂肪酸の不飽和度の異なる合成リン脂質を用いてoil-in-water型のエマルションを作成すると、飽和脂肪酸が結合したリン脂質DSPC (18:0-PC)のエマルションは不飽和脂肪酸が結合したリン脂質DOPC (18:1-PC)のエマルションに比べて、大型のものが多く観察された(図3A)⁴⁾。また、蛍光分子のLaurdanで脂肪滴の

膜密度を測定したところ、飽和脂肪酸のリン脂質DSPCのエマルションは不飽和脂肪酸のリン脂質DOPCのエマルションより膜密度が高いことがわかった⁴⁾。これらの結果より、膜密度の高い飽和脂肪酸のリン脂質では膜の側方移動が制限されるため、脂肪滴内部の中性脂肪が露出し、エマルションの安定性が低く融合しやすい状態にあることが示唆された(図3B)。したがって、脂肪滴において膜リン脂質の脂肪酸鎖は脂肪滴の大型化に関与している可能性があり、脂肪細胞の肥大化における新たなターゲットとなりうる可能性が示唆された。

おわりに

これまで我々は、脂肪酸の栄養状態による生体応答の違いに着目して研究を行ってきた。近年、低栄養による病態悪化が健康寿命の短縮を促し、わが国における医療費の増大を招いている。低栄養にはタンパク質の栄養が重要であることは周知されているが、それだけでは低栄養の症状に改善がみられないことが指摘されている。ヒトには食事から摂らなければならない必須の脂肪酸があるにも関わらず、低栄養における脂質栄養の重要性は明確にされていない。また、PUFA欠乏時の生体応答は十分に研究されておらず、欠乏症の要因は明確にされていない部分もある。今後、PUFA欠乏時に生じる代謝制御の違いを明らかにすることで、脂質栄養の観点から低栄養における病態悪化の予防および治療の解明に繋がる研究を行いたい。

(引用文献)

- 1) Ichi I, Kono N, Arita Y, Haga S, Arisawa K, Yamano M, Nagase M, Fujiwara Y, Arai H, Identification of genes and pathways involved in the synthesis of Mead acid (20:3n-9), an indicator of essential fatty acid deficiency, *Biochim. Biophys. Acta*, 1841, 204-213, (2014)
- 2) Hayashi Y, Shimamura A, Ishikawa T, Fujiwara Y, Ichi I, FADS2 inhibition in essential fatty acid deficiency induces hepatic lipid accumulation via impairment of very low-density lipoprotein (VLDL) secretion, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 496, 549-555, (2018)
- 3) Arisawa K, Ichi I, Yasukawa Y, Sone Y, Fujiwara Y, Changes in the phospholipid fatty acid composition of the lipid droplet during the differentiation of 3T3-L1 adipocytes, *J. Biochem.*, 154, 281-289, (2013)
- 4) Arisawa K, Mitsudome, H, Yoshida K, Sugimoto S, Isikawa T, Fujiwara Y, Ichi I, Saturated fatty acid in the phospholipid monolayer contributes to the formation of large lipid droplets, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 480, 641-647, (2016)

謝辞 本賞にご推薦頂きましたお茶の水女子大学教授藤原葉子先生には、研究においてこれまで多くのご助言、ご協力を賜りまして心より感謝申し上げます。また本研究を進めるにあたり、多くのご指導、ご鞭撻を賜りました元東京大学大学院薬学研究科教授(現：医薬品医療機器総合機構(PMDA)審査センター長)新井洋由先生には深く感謝申し上げます。また、数々の激励とご助言を賜りました奈良女子大学名誉教授小城勝相先生、本研究のご助言を頂きました東京大学大学院薬学研究科准教授河野望先生に厚く御礼申し上げます。そして、学生時代より細やかなご指導を賜りました九州大学名誉教授今泉勝己先生、東北大学教授池田郁男先生、九州大学教授佐藤匡央先生には深謝申し上げます。本研究は、お茶の水女子大学の大学院生および学部生の皆さんにより行われたものです。この場をお借りして改めて感謝申し上げます。

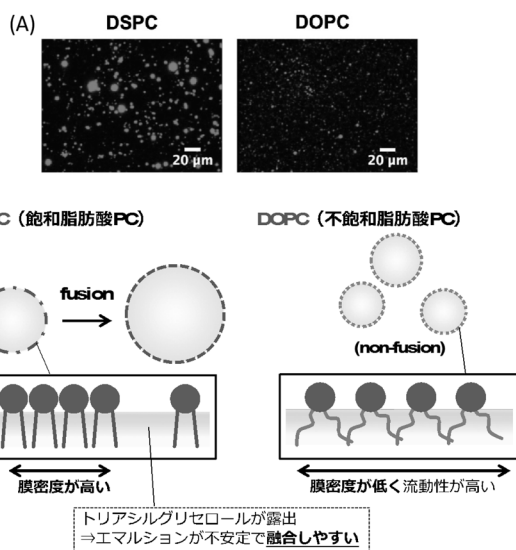


図3. 脂肪滴におけるリン脂質脂肪酸の不飽和度によるエマルションサイズの違い

(A) 脂肪滴エマルションを Nile Red にて染色

(B) 脂肪酸鎖の違いがエマルションの膜表面に及ぼす影響