

ω3系脂肪酸由来の抗炎症性代謝物の構造と機能

1. はじめに

分子中に二重結合を多く含む多価不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) の多くは、酵素的な酸化反応によって生理活性を獲得し、脂質メディエーターとして重要な機能を果たしている。PUFAはメチル端から数えた二重結合の位置によりそれぞれω3系列とω6系列に分けられる。ω6系列のアラキドン酸からはエイコサノイド (プロスタグランジンやロイコトリエン) と呼ばれる一連の脂質メディエーターが産生され、とくに炎症反応の初期過程における血管透過性の亢進や好中球の浸潤、活性化におい

て中心的役割を果たしている。一方、魚油や健康食品などに多く含まれるエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) などのω3PUFAには古くから抗炎症作用、心血管保護作用、脳神経系保護作用などが知られているが、その分子レベルでの作用機構は未だ不明な点が多い。ω3系列のEPAやDHAがω6系列のアラキドン酸代謝系と拮抗することで起炎症性エイコサノイドの産生と作用を抑制するというのが従来の解釈であったが、最近ω3PUFA由来の抗炎症活性を有する代謝物の存在が明らかになった (図1)。レゾルビン、プロテクチンと名付けられたω3PUFA由来の活性代謝物は、炎症収束を促進する新しいタイプの抗炎症性脂質メディエーターとして注目されている¹⁾。

2. ω3PUFAの抗炎症作用

ω3PUFAの生理機能が注目されはじめたのは、1970年

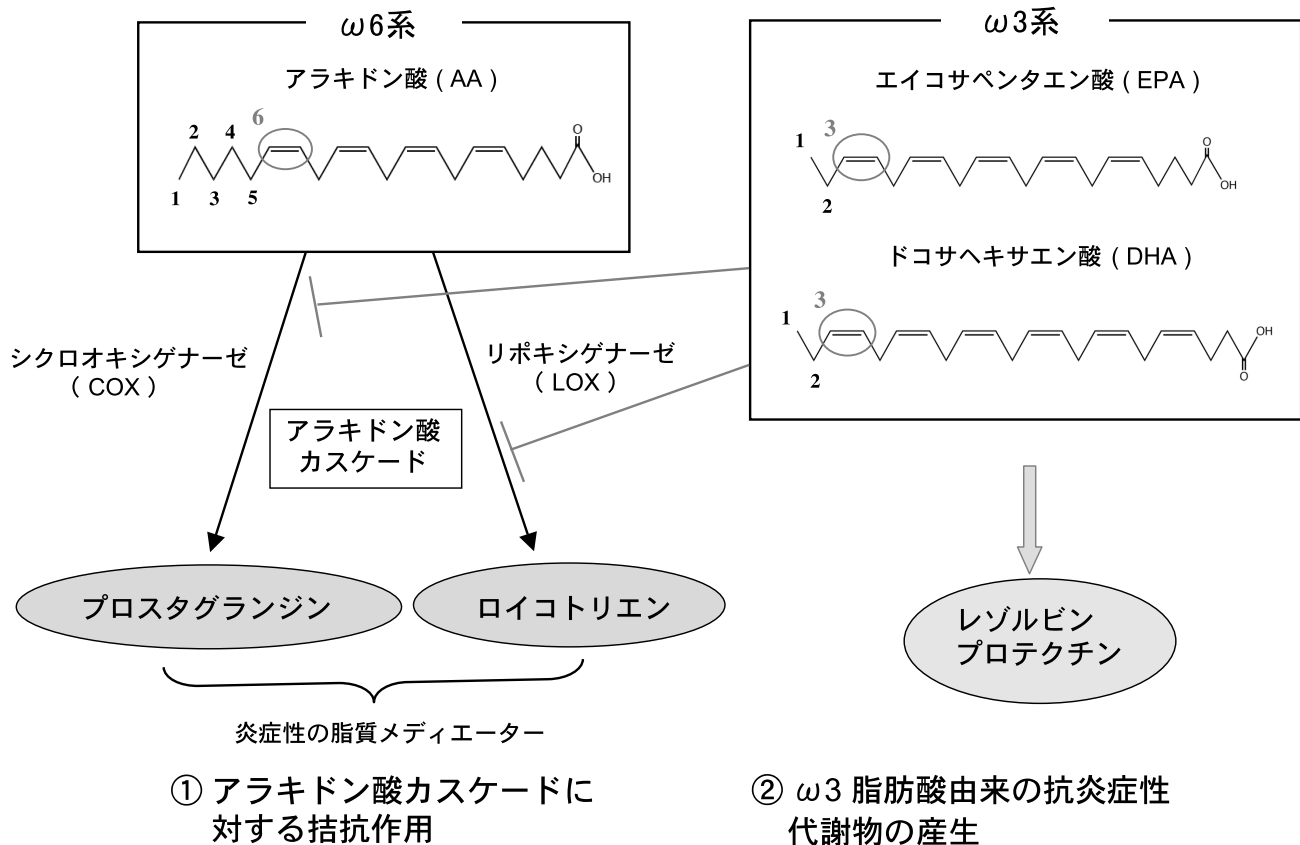


図1 ω3PUFAの抗炎症作用機序

ω3系列のEPAやDHAはω6系列のアラキドン酸代謝系と拮抗的に働くことで、起炎症性のエイコサノイドの産生および作用を抑制するということがこれまでの一般的な解釈であったが、最近新たにω3PUFA由来の抗炎症活性を有する代謝物が存在することが明らかになった。

代の Dyerberg と Bang らによるグリーンランドでの疫学調査の報告 (抗動脈硬化作用, 抗血栓作用)²⁾ からであり, それ以来 ω 3PUFA を摂取することによる疾病予防効果について数多くの研究がなされてきた. その中から次第に ω 3PUFA に抗炎症作用があることが推測されるようになり, ω 3PUFA の白血球機能に対する影響および炎症性疾患に対する投与実験等が盛んに行われ, その有効性が確認されてきた. また近年, 線虫の ω 3PUFA 合成酵素 FAT-1 を全身性に高発現したトランスジェニックマウスが Kang らにより作製され, 炎症性大腸炎や肝炎などに対する抗炎症作用や, B16 メラノーマや phosphatase and tensin homolog (PTEN) 欠損前立腺がんに対する抗がん作用等のフェノタイプが報告された^{3,4)}. この FAT-1 トランスジェニックマウスは, 従来行われてきた魚油の投与実験などとは異なり, 遺伝学的に体内の ω 3PUFA 量が高いレベルで維持さ

れており, ω 3PUFA の機能をより選択的に解析するのに適したモデル動物である. 実際に炎症浸出液中の脂質組成を分析した結果, FAT-1 マウスではアラキドン酸レベルには大きな変化が見られないものの, EPA が約 20 倍, DHA は約 3 倍に増えていた (筆者ら, 未発表). 高等動物が健康な状態を保つ上での ω 3PUFA の重要性が, 今改めて注目を集めている.

3. ω 3PUFA 由来のメディエーター

EPA や DHA がアラキドン酸と同様にリポキシゲナーゼ (LOX), シクロオキシゲナーゼ (COX), シトクロム P450 などの酵素の基質となることは以前より知られていたが, その代謝物の構造と機能についての詳しい解析はなかった. Serhan らは炎症の収束期に存在する脂肪酸代謝物の包括的メタボローム解析から, EPA 由来のレゾルビン E1

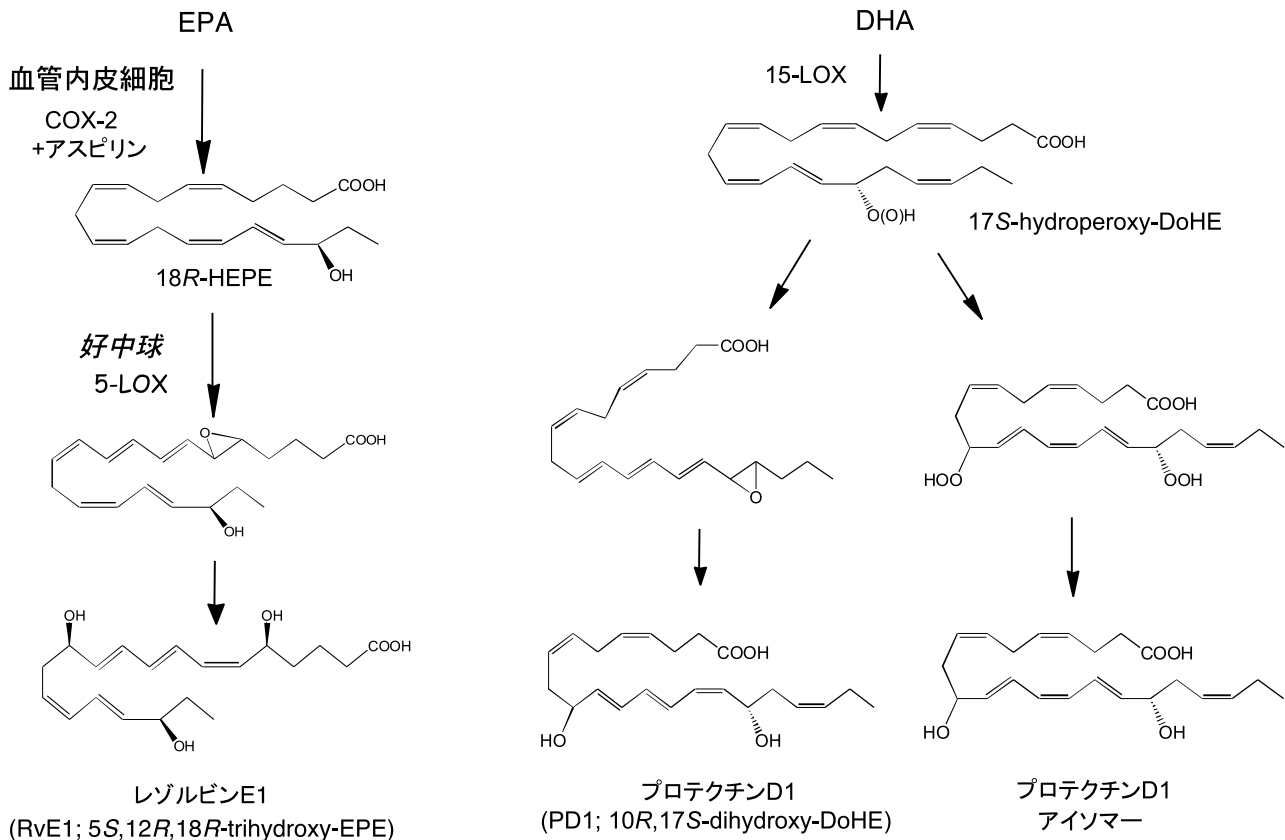


図2 レゾルビンとプロテクチンの生合成経路

血管内皮細胞の COX-2 がアスピリンでアセチル化されると EPA から 18R-HEPE が生成し, これが好中球の 5-LOX によって酸化, エポキシド中間体を経て, RvE1 (5S, 12R, 18R-trihydroxy-EPE) が生成する. PD1 (10R, 17S-dihydroxy-DoHE) は, DHA が 15-LOX によって酸化され, 17S-hydroperoxy-DoHE からエポキシド中間体を経て生成する. PD1 アイソマー (10S, 17S-dihydroxy-DoHE) は DHA から double dioxygenation 反応により生成する.

表1 レゾルビンとプロテクチンの抗炎症作用

病態モデル	種	作用
レゾルビンE1		
歯周病	ウサギ	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の播種による骨吸収の抑制、病巣部位の治癒亢進
腹膜炎	マウス	ザイモサン腹膜炎における好中球の浸潤抑制、貪食細胞のリンパへの消散促進
喘息	マウス	卵白アルブミン投与による気道炎症の抑制、炎症収束促進
エアポーチ	マウス	好中球の浸潤抑制
網膜症	マウス	網膜の血管喪失に伴う病的な血管新生の抑制
腸炎	マウス	TNBS 誘導炎症性大腸炎の抑制
プロテクチンD1		
腹膜炎	マウス	ザイモサン腹膜炎における好中球の浸潤抑制、貪食細胞のリンパへの消散促進
喘息	マウス	卵白アルブミン投与による気道炎症の抑制、炎症収束促進
腎臓虚血再灌流傷害	マウス	虚血再灌流による組織傷害の抑制、炎症細胞の浸潤抑制
網膜症	マウス	網膜の血管喪失に伴う病的な血管新生の抑制
脳梗塞	マウス	虚血再灌流による白血球の浸潤抑制、神経細胞の保護
アルツハイマー病	ヒト	アルツハイマー病患者の脳内における PD1 産生量の減少
細胞		作用
レゾルビンE1		
好中球		transmigration 抑制
マクロファージ		アポトーシス細胞のファゴサイトーシス促進
樹状細胞		トキソプラズマ soluble tachyzoite antigen (STAg) 刺激による IL-12 産生抑制
上皮細胞		CD55 発現促進
血小板		ADP 及びびトロンボキサン受容体アゴニスト刺激による凝集抑制
プロテクチンD1		
好中球		transmigration 抑制
マクロファージ		アポトーシス細胞のファゴサイトーシス促進
T 細胞		抗 CD3, CD28 抗体刺激による TNF α 及び IFN γ の分泌抑制、アポトーシス促進
ミクログリア		TNF α 刺激による IL-1 β 発現抑制
神経細胞		アミロイド β 42 による神経細胞死の抑制
上皮細胞		酸素ストレスによる網膜色素上皮細胞のアポトーシス抑制

(RvE1), DHA 由来のプロテクチン D1 (PD1) 等を新たに見いだした (図 2)⁵⁻⁷⁾. RvE1 と PD1 にはナノモルレベルで好中球の遊走抑制, 炎症性サイトカインの産生抑制などの活性が認められた (表 1). なお一般に生体内にごく微量にしか存在しない代謝物を検出することは容易でなく, ソフトイオン化法による高速液体クロマトグラフィー・タンデムマススペクトロメトリー (HPLC-MS/MS) を用いた微量分析システムの寄与は極めて大きい. また, 本研究ではフラグメントイオンから推定される候補分子の構造異性体を有機合成し, その生物学的, 物理化学的性質の相同性から化合物の構造を判断するなどの解析を行い, その結果として新規活性代謝物の同定に至った.

RvE1 (5S, 12R, 18R-trihydroxy-EPE) は, 炎症局所で

活性化した好中球が血管内皮細胞と接着した際に, 細胞間生合成経路 (transcellular biosynthesis) によって生成すると考えられている (図 2). 実際にヒト培養血管内皮細胞 HUVEC に EPA とアスピリンを加えると 18R-ヒドロキシエイコサペンタエン酸 (18R-HEPE) が産生され, さらにヒト好中球に 18R-HEPE を加えカルシウムイオノホア A23187 で刺激すると 5-LOX の作用により RvE1 が生成することが示されている⁹⁾. また, EPA とアスピリンを投与したマウスの腹腔内に酵母ザイモザンを注入し急性炎症反応を起こさせると, 腹腔内に RvE1 が産生されることも確認されている⁹⁾. 一方の PD1 (10R, 17S-dihydroxy-DoHE) は, まず DHA から 15-LOX によって 17S-ヒドロペルオキシドコサヘキサエン酸 (17S-hydroperoxy-DoHE) が生成し,

さらにエポキシド中間体を経て生成することが示されている⁶⁾。PD1についてはこれまでに複数の有機合成化合物との物理化学的特性の比較から詳細な構造解析が行われており、マウス脳梗塞組織中から検出されたPD1に加えて、ザイモザン腹膜炎や喘息組織中からは *cis-trans* 位置異性体 (PD1 アイソマー) が検出されている⁷⁾ (図2)。また、前述の FAT-1 トランスジェニックマウスの炎症滲出液からも RvE1 や PD1 が検出されている。

4. レゾルビンとプロテクチンの抗炎症作用

生体にとって、一度誘発された炎症反応は適切に収束されなければならない、この制御機構が破綻すると慢性炎症や組織障害へと発展してしまう。実際に慢性炎症状態において何らかの原因から炎症の収束が適切に起こっていない可能性が指摘されている¹⁾。しかしながら、これまで炎症の収束は単に起炎反応の減弱化と考えられていたため、その積極的な分子機構についてはほとんど明らかにされてこなかった。

炎症収束期に発現する脂質代謝物として見いだされた RvE1 と PD1 について、その炎症収束に及ぼす効果について検討がなされた。酵母ザイモザンで誘導される急性腹膜炎において、RvE1 と PD1 はいずれも好中球の浸潤を抑制し、炎症性サイトカインの抑制、マクロファージの貪食能およびリンパへの移行、消散を促進することによって、一度誘発された急性炎症の収束を促進する機能を有することが明らかになった⁸⁾。

疾患モデル動物に対する RvE1 の作用としては、ヒトクローン病と同様に Th1 型炎症モデルとして知られるマウス 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) 誘導性大腸炎において、体重減少および死亡率を有意に低下させ、顕著な消化管粘膜組織の保護作用が認められた⁹⁾。また、ウサギの歯肉溝に *Porphyromonas gingivalis* を播種した歯周病モデルにおいても強力な抗炎症作用、組織保護作用を示した¹⁰⁾。また、卵白アルブミン誘発アレルギー喘息モデルにおいて、Th17 型反応を抑えることで気道炎症の収束を促進する効果が認められた¹¹⁾。細胞レベルでは、RvE1 は好中球の遊走阻害、マクロファージや樹状細胞からの炎症性サイトカインの放出抑制、血小板凝集を阻害する活性が報告されている¹²⁾。一方 PD1 は、マウス脳梗塞モデルにおいて、脳内に多く存在する DHA から合成され、梗塞巣の抑制および神経細胞の保護作用から、脳神経機能の改善効果が期待されている⁶⁾。脳神経系以外でも、喘息発作時の気道炎症や過敏症などアレルギー症状を軽減することや、

腎臓の虚血再灌流障害において腎機能保護作用が認められている^{13,14)}。

以上を含め、これまでに報告されている RvE1 と PD1 の作用について表1にまとめた。いずれの化合物も強力な抗炎症作用、組織保護作用が認められている。なお、RvE1 がナノモルレベルで結合し作用する受容体として、これまでに ChemR23 と BLT1 が報告されているが、*in vivo* における RvE1 の抗炎症作用への寄与については今後の解明が待たれる¹⁵⁾。また PD1 については、ヒト末梢白血球の膜画分に PD1 に特異的な結合部位が検出されている (筆者ら、未発表)。

5. おわりに

以上、 ω 3PUFA から産生される抗炎症性代謝産物の構造と機能について紹介した。これらは炎症部位で白血球の活性化にともなって一過性に生成し、局所的に効果を発揮しているものと考えられる。 ω 6 系列のアラキドン酸由来のプロスタグランジンやロイコトリエンが炎症の初期過程に関わるのに対し、 ω 3PUFA 由来のレゾルビンやプロテクチンは、EPA や DHA を前駆体として炎症部位で生成し、積極的に炎症収束へと導く方向に働いていると考えられる。これらの知見は、これまでに栄養学的に広く認知されていた ω 3PUFA の疾病予防効果について、活性代謝物の産生という全く新しい視点を生み出した。さらにレゾルビンやプロテクチンのような内在性の炎症収束性物質は、これまでにない新しいタイプの創薬ターゲットとして期待され、今後さらに作用機序の解明が待たれる。また、ここで紹介したレゾルビンやプロテクチン以外にも、 ω 3PUFA から産生される未知の活性代謝物が存在する可能性も考えられ、今後さらに代謝物の包括的メタボローム解析により明らかになることが期待される。

- 1) Serhan, C.N. (2007) *Annu. Rev. Immunol.*, 25, 101-137.
- 2) Dyerberg, J., Bang, H.O., Stoffensen, E., Moncada, S., & Vane, J.R. (1978) *Lancet*, 312, 117-119.
- 3) Kang, J.X., Wang, J., Wu, L., & Kang, Z.B. (2004) *Nature*, 427, 504.
- 4) Kang, J.X. (2007) *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 77, 263-267.
- 5) Arita, M., Bianchini, F., Aliberti, J., Sher, A., Chiang, N., Hong, S., Yang, R., Petasis, N.A., & Serhan, C.N. (2005) *J. Exp. Med.*, 201, 713-722.
- 6) Marcheselli, V.L., Hong, S., Lukiw, W.J., Tian, X.H., Gronert, K., Musto, A., Hardy, M., Gimenez, J.M., Chiang, N., Serhan, C.N., & Bazan, N.G. (2003) *J. Biol. Chem.*, 278, 43807-43817.

- 7) Serhan, C.N., Gotlinger, K., Hong, S., Lu, Y., Siegelman, J., Baer, T., Yang, R., Colgan, S.P., & Petasis, N.A. (2006) *J. Immunol.*, **176**, 1848–1859.
- 8) Schwab, J.M., Chiang, N., Arita, M., & Serhan, C.N. (2007) *Nature*, **447**, 869–874.
- 9) Arita, M., Yoshida, M., Hong, S., Tjonahen, E., Glickman, J. N., Petasis, N.A., Blumberg, R.S., & Serhan, C.N. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **102**, 7671–7676.
- 10) Hasturk, H., Kantarci, A., Goguet-Surmenian, E., Blackwood, A., Andry, C., Serhan, C.N., & Van Dyke, T.E. (2007) *J. Immunol.*, **179**, 7021–7029.
- 11) Haworth, O., Cernadas, M., Yang, R., Serhan, C.N., & Levy, B.D. (2008) *Nat. Immunol.*, **9**, 873–879.
- 12) Dona, M., Fredman, G., Schwab, J.M., Chiang, N., Arita, M., Goodarzi, A., Cheng, G., von Andrian, U.H., & Serhan, C.N. (2008) *Blood*, **112**, 848–855.
- 13) Levy, B.D., Kohli, P., Gotlinger, K., Haworth, O., Hong, S., Kazani, S., Israel, E., Haley, K.J., & Serhan, C.N. (2007) *J. Immunol.*, **178**, 496–502.
- 14) Duffield, J.S., Hong, S., Vaidya, V.S., Lu, Y., Fredman, G., Serhan, C.N., & Bonventre, J.V. (2006) *J. Immunol.*, **177**, 5902–5911.
- 15) Arita, M., Ohira, T., Sun, Y.P., Elangovan, S., Chiang, N., & Serhan, C.N. (2007) *J. Immunol.*, **178**, 3912–3917.

有田 誠^{1,2}, 磯部 洋輔¹

(¹ 東京大学大学院薬学系研究科衛生化学教室,

²JST さきがけ)

Structure and function of anti-inflammatory lipid mediators derived from omega-3 polyunsaturated fatty acids
Makoto Arita and Yosuke Isobe (Department of Health Chemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan)