

食事性脂質を起点とする脂質代謝と免疫制御・疾患

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所
ワクチンマテリアルプロジェクト
國澤 純

1. はじめに

食物の主な代謝、吸収の場である消化管は、多くの免疫担当細胞を有する最大の免疫臓器でもあり、各種疾患との関連も含めた免疫制御の中核システムとして機能している。これらの免疫制御に生体内・外の様々な因子が関わる事が知られているが、その中で脂質の重要性が注目されている。

日常生活で我々が摂取する食用油は多くの脂肪酸から構成されている。中でもほ乳類の生体内では合成できない必須脂肪酸である ω 3脂肪酸と ω 6脂肪酸は、食事から摂取する必要がある。これまでの研究から、食用油として摂取した ω 6/ ω 3バランスが生体内の同バランスを制御し、その結果、循環器系疾患やアレルギー疾患などの発症に関与することが示唆されているが、その実体や作用機序については未解明の部分が多く残っている。

申請者はこれまでに、 ω 3脂肪酸である α リノレン酸を豊富に含んだ亜麻仁油を用いた飼料を摂取すると、 ω 6脂肪酸であるリノール酸を多く含む大豆油を用いた飼料を与えたマウスに比べ、食物アレルギーの発症が抑制されることを明らかにしている。さらにこれらマウスの腸管組織における脂肪酸代謝物を網羅的に調べた結果、亜麻仁油を摂取することで α リノレン酸を起点に産生される脂質代謝物が増加し、その中でも、エイコサペンタエン酸 (EPA) の代謝物の一つである17, 18-エポキシエイコサテトラエン酸 (17, 18-EpETE) が顕著に増加することがわかった。さらに大豆油で飼育したマウスに17, 18-EpETEを投与すると、亜麻仁油摂取の場合と同様に食物アレルギーの発症が抑制された。これらの結果により、17, 18-EpETEが亜麻仁油摂取による抗アレルギー活性の本体であることを見出している。

本事業ではこれらの知見を基盤に、17, 18-EpETEの皮膚炎に対する有効性評価と標的細胞・分子の同定を目標とした作用機序の解明を行った。

2. 方法

皮膚炎モデル

ジニトロフルオロベンゼン (DNFB) 誘導性の接触性皮膚炎モデルを適用し、皮膚の腫れを指標に病態を評価した。17, 18-EpETEはCayman chemicalより購入したものを扱い、腹腔内投与 (100 ng/mouse)、経口投与 (1 μ g/mouse)、あるいは塗布 (1 μ g/mouse) を行い、17, 18-EpETEの有効性評価を行った。

標的細胞の同定

組織学的解析やフローサイトメトリー解析、*in vivo*イメージング解析、*in vitro*解析によって17, 18-EpETEの標的細胞を同定した。

3. 結果

DNFBの塗布によりマウスに接触性皮膚炎を誘導する際に、17, 18-EpETEを腹腔内投与することにより皮膚の腫れを軽減できることがわかった (図1)。

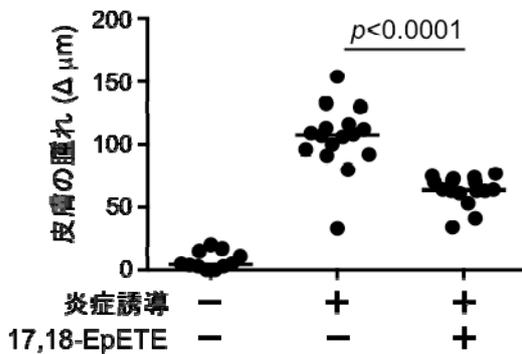


図1. 17,18-EpETEによる接触性皮膚炎の抑制
マウスにDNFBを塗布することで接触性皮膚炎を誘導し皮膚の腫れを測定した。DNFBを塗布する際に17,18-EpETEを腹腔内投与することで皮膚の腫れが軽減された。

また本抑制効果は腹腔内投与だけではなく、経口投与や塗布によっても腹腔内投与と同等の抗炎症効果が確認された。さらに誘導時の投与だけではなく、皮膚炎誘導後に17, 18-EpETEを腹腔内投与あるいは塗布した場合においても、皮膚の腫れに代表される炎症症状が軽減できることが示された。また17, 18-EpETEは、生体内においてエポキシ化合物加水分解酵素の作用によりエポキシ環が開裂した17, 18-ジヒドロキシエイコサテトラエン酸 (17, 18-diHETE) へと代謝されるが、17, 18-diHETEを投与したマウスでは皮膚の腫れの抑制は認められなかったことから、皮膚炎に対する抗炎症効果は17, 18-EpETEが主要エフェクター脂質であることが示された。

次に、17, 18-EpETEの標的細胞を同定するための実験を行った。DNFB誘導性の接触性皮膚炎モデルは樹状細胞によるT細胞の活性化やサイトカイン産生の誘導、好中球の浸潤などが関与するモデルである。組織学的解析やフローサイトメトリー解析などによって、17, 18-EpETEは樹状細胞とT細胞の相互作用やT細胞の活性化、サイトカイン産生に影響を与えないことがわかった。具体的には、皮膚における樹状細胞とT細胞のクラスター形成、T細胞の増殖、T細胞からのサイトカイン産生 (IFN γ やIL17A)、血管透過性レベルに17, 18-EpETEは影響を与えなかった。一方、接触性皮膚炎の誘導により皮膚で増加する好中球が17, 18-EpETE投与により減少していることが判明した。そのメカニズムとして、17, 18-EpETEは好中球の増殖や生存に影響を与えないが、血液中からの遊走を抑制していることがわかった。さらにその後の解析から、17, 18-EpETEがある種のGPCRを介して好中球に直接作用し、Rac活性化とそれに連動するアクチンの重合、仮足形成を抑制することで好中球の動きを抑えることが明らかになった。

冒頭でも述べたように、17, 18-EpETEは亜麻仁油を摂取した際に腸管で産生される脂質代謝物として同定している。そこで最後に大豆油もしくは亜麻仁油を含む餌を摂取したマウスでの接触性皮膚炎の発症程度を比較した。その結果、食物アレルギーの場合とは異なり、皮膚の腫れは亜麻仁油摂取と大豆油摂取で大きな違いは認められなかった。

4. 考察

17, 18-EpETEは食物アレルギーだけでなく接触性皮膚炎に対しても有効な予防、治療効果を発揮したが、その代謝物である17, 18-diHETEでその活性は消失した。したがって、17, 18-EpETEの特徴であるエポキシ環構造が抗アレルギー炎症活性を発揮するために重要と考えられる。17, 18-EpETEから17, 18-diHETEへの代謝はエポキシ化合物加水分解酵素によって触媒されるため、本酵素の阻害剤を併用することで抗炎症活性効果が増強、持続する可能性が考えられる。

現在、様々な脂質代謝物の抗アレルギー活性が明らかになってきている。17, 18-EpETEは好中球に対する直接作用が判明しているが、その他にも樹状細胞に作用するような脂質代謝物の抗アレルギー活性が判明している。これら作用点の異なる脂質代謝物を用いることで、病態に応じたPrecision Medicineや相乗効果を目的とした創薬開発が可能になると期待される。

また食物アレルギーの場合とは異なり、亜麻仁油を摂取しても皮膚炎は軽減されなかった。これは、亜麻仁油で摂取したマウスの皮膚では大腸とは異なる脂質代謝経路が機能していることに起因するようである。亜麻仁油には17, 18-EpETEの前駆体となる α リノレン酸が豊富に含まれているが、 α リノレン酸

が体内に吸収された後、EPAを介して17, 18-EpETEが産生されるにはいくつかの酵素活性の発現が必要である。これまでに行った予備的検討により、大腸と皮膚で代謝酵素の発現パターンは異なっており、そのため、皮膚においては17, 18-EpETEとは別のEPA代謝物が顕著に増加することを確認している。これらの事実は、各種アレルギー炎症疾患に対しての予防や治療を考えた時には、有効成分17, 18-EpETEそのものを摂取することが重要であることを示唆している。

5. 発表論文

1. J. Kunisawa and H. Kiyono, Sphingolipids and epoxidized lipid metabolites in the control of gut immunosurveillance and allergy. *Front Nutrition* 3:3, 2016
2. 長竹貴広、國澤純、食物アレルギーの発症における食用油クオリティの影響 化学と生物 (印刷中)
3. 國澤純 腸内環境を介した免疫制御とアレルギー・炎症との関連 *Labcab* 17:5-7, 2016
4. 平田宗一郎、國澤純 脂質を介した腸管免疫の制御と疾患・生体防御 *生体の科学* 67(3): 242-246, 2016
5. 平田宗一郎、國澤純 動物モデルを用いた食物アレルギーの発症機序の解明と予防・治療法の開発に向けた研究展開 *アレルギーの臨床* 36: 37-40, 2016
6. 長竹貴広、國澤純 脂質を介した腸管免疫の制御と疾患 *実験医学*33: 94-99, 2015