

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 30 年 5 月 1 日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 関西学院大学 理工学部 生命医化学科
職 名 助教
研究代表者名 大黒 亜美

下記のとおり平成29年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号: 292002)

1. 共同利用研究 課題名	不飽和脂肪酸生体内酸化物の抗炎症作用効果の検討			
2. 共同利用研究 目的	アラキドン酸やドコサヘキサエン酸(DHA)などの不飽和脂肪酸は、生活習慣病の抑制など様々な効果があるとしてサプリメントとしても販売されているが、その作用機序は十分には明らかでない。本研究ではチトクローム P450 やエポキシド加水分解酵素によるこれら脂肪酸の生体内酸化物に着目し、それらの生理作用解明を目的とする。			
3. 共同利用研究 期間	平成 29 年 4 月 1 日 ～ 平成 30 年 3 月 31 日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 大黒 亜美	関西学院大学	助教	実験を主に遂行する。	
(分担研究者) 今石 浩正 今岡 進	神戸大学 関西学院大学	教授 教授	疾患モデル動物の作製を行う。 実験アドバイスをを行う。	
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル分子応答研究 部門	氏 名	今石 浩正 教授

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同利用研究計画

DHA やその酸化体、及び EET の持つ炎症抑制効果を検討するため、炎症を伴う様々な疾患モデル動物を作製し、これらの脂肪酸の投与が炎症や病態に与える影響を検討する。今石先生はこれまでに炎症を伴う糖尿病や潰瘍性大腸炎、肝炎など様々な疾患のモデル動物を作製した経験がある。そこで本研究では、本モデル動物作製系を利用する。また申請者らはこれまでに EET または DHA 代謝に関与する P450 が、CYP2C、2E、3A、4A であることを明らかにしている(Imaoka et al. 2005, Oguro, unpublished data)。そこで、これらの P450 阻害剤やエポキシド加水分解酵素の阻害剤を用いることで、内在性の不飽和脂肪酸酸化体を変化させた際の炎症への効果を検討する。また申請者らは、先の研究から多くの P450 分子種やエポキシド加水分解酵素類(I-IV)に対して特異的に反応する抗体を取得している。そこで、これらの抗体を用いて疾患に伴う P450 やエポキシド加水分解酵素の発現量の変動、及び酵素活性の変化を評価する。またマクロファージの培養細胞を用いることで炎症応答における DHA 酸化体の作用を分子レベルで検討する。

7. 共同利用研究の成果

本研究において、炎症を伴う疾患モデル動物としてデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘発性潰瘍性大腸炎モデルマウス、及びロテノン投与によるパーキンソンモデルラットの作製を行い、DHA 投与が疾患の症状に与える影響を検討した。潰瘍性大腸炎モデルマウスにおいては、DSS のマウスへの投与により体重減少、及び結腸の収縮が見られたことから、潰瘍性大腸炎の発症が確認できたが、DHA 投与によるこれらの症状への影響や、IL-1 β などの炎症性サイトカインの発現量の変化は見られなかった。またマウスマクロファージ様細胞である RAW364.7 細胞を用いて、LPS により誘導される炎症性サイトカインの発現に DHA やその酸化体が与える影響についても検討したが、顕著な作用は見られなかった。一方で、ロテノン投与によるパーキンソン病モデルラットにおいては、脳において、炎症メディエーターである活性酸素種(ROS)や一酸化窒素(NO)の量を制御する Nrf2 や NO 合成酵素の発現が、ロテノンにより誘導されることが確認でき、さらにこれらの因子が DHA の投与により抑制されることを明らかにした。また DHA のエポキシ化に関与する CYP2C の発現の脳における発現も確認できた。ラットの神経モデル細胞である PC12 細胞において、ロテノンによる細胞死に DHA 及びその酸化体が与える影響について検討した。その結果 DHA は影響を与えなかった一方で、DHA 酸化体は、ロテノンによる細胞死を顕著に抑制した。また ROS や NO により誘導されることが知られている α -synuclein の凝集がロテノン投与により観察され、この凝集は DHA 酸化体により抑制されることが示された。本研究により DHA 酸化体の神経細胞障害の抑制における新たな生理活性を見出すことができ、今後、そのメカニズムについて解析を行う予定である。

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

1. 大黒亜美、今岡進「アラキドン酸エポキシド(EET)の神経細胞における生理作用解析」第 59 回 日本脂質生化学会 2017 年 6 月 15 日
2. 大黒亜美、今岡進「チトクローム P450 によるアラキドン酸代謝物の神経細胞における生理機能解析」2017 年度生命科学系学会合同年次大会 2017 年 12 月 8 日
3. 山本 龍一、荒井 啓輔、福本 巧、今石浩正「炎症性疾患の新規診断技術の開発」2017 年度生命科学系学会合同年次大会 2017 年 12 月 7 日

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。