

ω-3 脂肪酸の新しい抗炎症機序の解明と動脈硬化治療への応用

大石由美子

日本医科大学 生化学 分子生物学(代謝・栄養学)

【研究の背景】

動脈硬化や生活習慣病は、慢性炎症を基盤として発症し、その病態形成にマクロファージが重要な役割を担う。マクロファージは多彩な機能を持ち、異なる分化を遂げた M1/M2 マクロファージがそれぞれ炎症の促進と収束とを司ると考えられてきた。ところが私は、マクロファージの機能が想定以上にダイナミックに調節されることを見いだした。Toll-like receptor (TLR) 4 活性化による炎症応答の初期に、マクロファージは一過性に炎症促進形質を示すが、後期には炎症収束形質を示した。この細胞自律的な機能制御は、マクロファージ自身による不飽和脂肪酸(ω-3,6,7,9)の合成と連携し、転写因子 SREBP1 の活性とエピゲノム変化によって調節されることを明らかにした。

Srebp1 欠損マウスは不飽和脂肪酸の合成が低下し、炎症応答が遷延した。ところが、不飽和脂肪酸 EPA を前投与すると、炎症応答の遷延は回避された。すなわち、マクロファージが作る不飽和脂肪酸は炎症応答の適切な制御に必須である。興味深いことに、細胞内の ω-3 不飽和脂肪酸量が低下した Srebf1 欠損細胞では、炎症の主要制御因子である NF-κB のリクルートメントは野生型と同等であったにもかかわらず、炎症関連遺伝子の制御領域で、転写活性と相関するヒストンのアセチル化がグローバルに亢進し、炎症応答が遷延していることを見いだした。この結果は、細胞内の ω-3 不飽和脂肪酸の低下が、転写・エピゲノムによる制御に直接影響を及ぼし、炎症応答を遷延させた可能性を示唆する。ところが、ω-3 不飽和脂肪酸の低下が炎症関連遺伝子群の制御領域において、選択的にヒストンのアセチル化を亢進し、転写を活性化する分子機序は明らかではない。

【目 的】

慢性炎症は、生活習慣病や心血管病に共通した基盤病態である。炎症の慢性化に重要なマクロファージは、多様な生理活性脂質を産生する。このうちオメガ-3 不飽和脂肪酸は抗炎症作用を示し、動脈硬化の進展を抑制するが、その機序は明確ではない。本研究は ω-3 脂肪酸(EPA, DHA)による、エピゲノム制御を基盤とした新しい炎症制御メカニズムを解明し、動脈硬化における ω-3 脂肪酸合成の病態生理学的な意義を明らかにする。動脈硬化の病態理解を深め、分子機序に裏打ちされた ω-3 脂肪酸の抗炎症機序を提示することを目的として実施した。

【方 法】

細胞内オメガ-3 脂肪酸量の低下した *Srebf1* 欠損マクロファージと野生型コントロールマクロファージを用いる。ω-3 不飽和脂肪酸(EPA/DHA)の補充が、マクロファージの機能や炎症応答に与える影響を、転写・エピゲノム・トランスクリプトームの観点から明らかにする。

【結 果】

オメガ-3 不飽和脂肪酸の低下によるエピゲノム変化が生じるゲノム部位の特徴をつかむため、まず、*Srebf1* 欠損細胞において転写活性化の指標となるヒストンのアセチル化が増加した領域についての網羅的な解析を行った。遺伝子発現(Gene Ontology)とモチーフの解析の結果、自然免疫応答に関わる遺伝子群の IRF(interferon responsive element)結合配列にお

いて、選択的にヒストンのアセチル化が生じていることを見いだした。IRF は TLR の下流で活性化されて炎症応答を進める。さらに興味深いことに、核内受容体 PPAR γ は、 ω -3 不飽和脂肪酸およびその代謝産物 (13-HODE、15-HETE など) により活性化されると、IRF3 の結合を低下させて炎症応答を抑制する (Zhao, J. Biol. Chem. 2011)。これらの知見から私は、細胞内 ω -3 不飽和脂肪酸が低下すると、PPAR γ 依存的な IRF3 の抑制が外れ、炎症関連遺伝子の制御領域におけるヒストンのアセチル化と転写活性化が起こるのではないかと想定した。

細胞内オメガ-3 不飽和脂肪酸 (EPA, DHA) 量の低下した *Srebf1* 欠損マクロファージと野生型コントロールマクロファージにおける、PPAR γ の発現レベルは同等であった。そこで、PPAR γ の標的遺伝子への結合を ChIP-seq 法を用い、全ゲノムスケールで網羅的に解析した。PPAR γ は、リガンドが結合すると活性化されて標的遺伝子上へリクルートされることが知られている。CHIP-seq 解析の結果、通常培養条件において *Srebf1* 欠損マクロファージでは、PPAR γ のリクルートメントが野生型マクロファージに比べて有意に低下していることが明らかとなった。しかし、合成 PPAR γ アゴニスト (Rosiglitazone, 1 μ M) を投与すると、*Srebf1* 欠損マクロファージでも、野生型細胞と同等の PPAR γ のリクルートメントが観察された。

【考 察】

今回の結果から、マクロファージの細胞内不飽和脂肪酸が低下した *Srebf1* 欠損マクロファージでは、PPAR γ リクルートメントの有意な低下がみられた。このひとつの理由として、細胞内の不飽和脂肪酸が、内因性の PPAR γ リガンドとして作用している可能性があると考えられる。今後は、細胞内不飽和脂肪酸の多寡が IRF3 機能に与える影響を明らかにし、炎症応答への効果を明確にしてゆく計画である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

脂質異常症に対する治療薬として臨床応用されている ω -3 脂肪酸の、プレイオトロピック (preiotropic) 効果としての抗炎症作用は古くから知られている。しかし、そのメカニズムは解明されておらず、炎症の主要制御因子 NF- κ B の抑制では説明できない機序が残されている。今後は、 ω -3 脂肪酸によるエピゲノム制御を基盤とした新しい炎症制御メカニズムを明らかにし、分子機構に裏打ちされた ω -3 脂肪酸の抗動脈硬化作用を社会に向けて発信してゆきたい。

【参考・引用文献】

1. Oishi Y, Spann NJ, Link VM, Muse ED, Strid T, Edillor C, Kolar MJ, Matsuzaka T, Hayakawa S, Tao J, Kaikkonen M, Lam MT, Manabe I, Shimano H, Saghatelian A and Glass CK. SREBP1 contributes to resolution of pro-inflammatory TLR4 signaling by reprogramming fatty acid metabolism. *Cell Metab.* 25: 412-427. 2017.
2. Oishi Y, Hayashi S, Isagawa T, Oshima M, Iwama A, Shimba S, Okamura H and Manabe I. (2017) Bmal1 regulates inflammatory responses in macrophages by modulating enhancer RNA transcription. *Sci Rep.* 7:7086. 2017.
3. Oishi Y. and Manabe I. Macrophages in inflammation, repair and regeneration. *International Immunology.* 30:511-528, 2018.
4. Oishi Y. and Manabe I. Kruppel-like factors in metabolic homeostasis and cardiometabolic diseases. *Frontiers in Cardiovascular Medicine.* 2018. doi: 10:3389/fcvm.2018.00069