多価不飽和脂肪酸による大動脈平滑筋細胞の増殖制御*

森 崎 信 尋** 斎 藤 康** 吉 田 尚**

David G. CORNWELL***

I. はじめに

多価不飽和脂肪酸 (PUFA) の代謝産物 (プロスタグランジンや過酸化脂質など) やその代謝を修飾する物質 (インドメサシンやビタミン E など) が, *in vivo*, *in vitro* の系で, 細胞増殖と密接な関係のある成長・再生・分化・創傷治癒・腫瘍発育などに様々な影響を及ぼすことが報告されている (総説¹⁾ 参照). これらの膨大な情報の集積は PUFA が細胞増殖と密接な関係のあることを示している. ところで, 動脈硬化巣ではアラキドン酸を中心としてリン脂質中の PUFA 含量が減少している¹⁾. この状態を“細胞内必須脂肪酸欠乏症”と命名した¹⁾. 本研究はこの欠乏症が平滑筋細胞 (SMC) の増殖に与える影響と動脈硬化症の発症と進展に果たす役割について報告する.

II. 実験方法

材料: 購入先はすでに報告した^{2,3)}.

細胞培養: モルモット胸部大動脈よりすでに報告した方法で SMC を培養し実験を行った^{2,3)}.

III. 結果と考察

1) SMC 内での PUFA の代謝

SMC がシクロオキシゲナーゼ活性を持つことは周知の事実である²⁾. この経路の基質となる

PUFA はジホモ- γ -リノレン酸とアラキドン酸であり, 前者より PGE₁ が, 後者より PGI₂ と E₂ が主として産生された²⁾. 一方これらの脂肪酸を含むすべての PUFA は acyclic lipid peroxide 産生の基質となった. そして, 二重結合の数に依存して産生量が上昇した²⁾. この経路は抗酸化剤で抑制されるが, ETYA や Esculetin で抑制されず, 血小板などで報告されているリポキシゲナーゼとは性質が異なっている³⁾. また, PG は細胞外に放出されるが, この経路の産物は細胞内に蓄積する¹⁾. 一般に, いわゆる 12-リポキシゲナーゼ活性は SMC で低いが特に小動物では痕跡程度である^{1,4)}. ロイコトリエンの報告はみられない. 本研究でみられた経路は便宜上第二経路と名づけることにする.

2) PUFA と細胞増殖

PUFA と SMC を 7~10 日間培養するとアラキドン酸を除く他の 11 種類の PUFA はすべて濃度依存性に細胞増殖を抑制した²⁾ (1~120 μ M). この効果は第二経路の代謝を抑制する抗酸化剤でブロックできることから, 第二経路の代謝産物が細胞増殖を抑制していると考えられる. アラキドン酸は 16.6 μ M までの低濃度では細胞増殖を促進し, 30 μ M 以上の高濃度では抑制した. 前者は, シクロオキシゲナーゼ抑制剤であるインドメサシンでブロックされること⁵⁾, 内因性に PG 合成を促進する薬剤が細胞増殖を促進すること⁵⁾, PGE₂ にも低濃度で細胞増殖促進効果があること¹⁾ から, PG そのものが増殖促進に関与していると考えられる. 一方後者はやはり抗酸化剤でブロックでき

* 1986 年 1 月, 日本動脈硬化学会 昭和 60 年度冬季大会において発表

** 千葉大学医学部第二内科

*** オハイオ州立大学生理生化学部

Fig. 1 多価不飽和脂肪酸による細胞増殖制御と動脈硬化。

ることから第二経路の代謝産物が関与していると推測できる。Nilsson ら⁶⁾ は静止期の SMC に対しては PGE₁, E₂ が抑制効果のみを示すことを報告しているが、本研究での成績との違いは、種差に加えて、SMC の cell cycle の違いによる可能性がある。PGE₂ に比べ、PGI₂ の増殖への作用は、in vitro でさえも知られていない。

3) SMC 増殖制御を介した PUFA の抗動脈硬化作用 (Fig. 1) —仮説—

内膜傷害を契機として血小板や内皮細胞より SMC に対する増殖因子が放出される^{7,8)}。また、内膜に侵入したマクロファージからも増殖因子が放出される⁹⁾。これらの結果として初期に反応性に SMC が増殖する。これらの増殖因子によって促進される PG 合成も細胞増殖に関与する可能性はある。しかし PUFA の代謝が進行するにつれて第二経路の代謝産物が蓄積してくる。この結果として SMC の増殖には負の信号が働き、やがて分裂が停止し、内膜病変は硬化巣を残さずに治癒する。しかし、“細胞内必須脂肪酸欠乏症”ではこのような制御機構が働かず SMC は無制限に増殖し、動脈硬化巣が進展する。この仮説に従えば、外因性に PUFA を十分に補給すること、PUFA を円滑に代謝させること、PUFA を消費減少させる因子の除去が、動脈硬化症の有力な予防と治療の手段となろう。

文 献

- 1) Cornwell, D. G. and Morisaki, N.: Fatty acid paradoxes in the control of cell proliferation: Prostaglandins, lipid peroxides, and cooxidation reactions. In “Free radicals in biology, VI,” Pryor, W. A., ed., pp. 95–148, Academic Press, Inc., New York (1984).
- 2) Morisaki, N., Sprecker, H., Milo, G. E. and Cornwell, D. G.: Fatty acid specificity in the inhibition of cell proliferation and its relationship to lipid peroxidation and prostaglandin biosynthesis. *Lipids*, **17**: 893–899 (1982).
- 3) Morisaki, N., Lindsey, J. A., Stitts, J. M., Zhang, H. and Cornwell, D. G.: Fatty acid metabolism and cell proliferation. V. Evaluation of pathways for the generation of lipid peroxides. *Lipids*, **19**: 381–394 (1984).
- 4) 森崎信尋, 斎藤 康: ビタミン E と血管壁代謝 (ビタミン E—基礎と臨床—). pp. 363–376, 医歯薬出版株式会社, 東京 (1985).
- 5) Morisaki, N., Lindsey, J. A., Milo, G. E. and Cornwell, D. G.: Fatty acid metabolism and cell proliferation. III. Effects of prostaglandin biosynthesis either from exogenous fatty acid or endogenous fatty acid release with hydralazine. *Lipids*, **18**: 349–352 (1983).
- 6) Nilsson, J. and Olsson, A. G.: Prostaglandin E, inhibits DNA synthesis in arterial smooth muscle cells stimulated with platelet-derived growth factor. *Atherosclerosis*, **53**: 77–82 (1984).
- 7) Ross, R., Glomset, J., Kariya, B. and Harker, L.: A platelet dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **71**: 1207–1210 (1974).

- 8) Gajdusek, C., DiCorleto, P., Ross, R. and Schwartz, S.: An endothelial cell-derived growth factor. J. Cell Biol., **85**: 467-472 (1980).
- 9) Wall, R. T., Harker, L. A., Quadracci, L. J. and Striker, G. E.: Factors influencing endothelial cell proliferation in vitro. J. Cell. Physiol., **96**: 203-214 (1978).

Summary

Growth Control of Aortic Smooth Muscle Cells (SMC) by Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA)

Nobuhiro MORISAKI*, Yasushi SAITO*, Sho YOSHIDA*
and David G. CORNWELL**

*The Second Department of Internal Medicine, School of Medicine, Chiba University

**Department of the Physiological Chemistry, Ohio State University

Although PUFA have been reported to have an antiatherogenic effect, the mechanism is not yet fully understood. This paper investigated the direct actions of PUFA on the arterial SMC from the view point of growth control.

The effects of 12 PUFA on the proliferation of cultured SMC from rabbit thoracic aortas were studied in the growing condition. Arachidonic acid stimulated cell proliferation at low concentrations ($<16.6 \mu\text{M}$) and inhibited it at higher concentrations ($30\text{--}120 \mu\text{M}$). The stimulation was blocked by indomethacin. Drugs which stimulate prostaglandin synthesis from arachidonic acid in SMC also stimulated cell proliferation which was again blocked by indomethacin. Exogenous PG E_2 stimulated cell proliferation at low concentrations. These results indicate that stimulation of cell proliferation by low concentration of arachidonic acid was mediated by prostaglandins synthesized from arachidonic acid in SMC. The inhibitory effects of high concentrations of arachi-

donic acid were blocked by 7 antioxidants tested which inhibit acyclic lipid peroxides synthesis from PUFA in SMC. Other PUFA than arachidonic acid all showed inhibitory effects on cell proliferation which were blocked by antioxidants. These results indicate that inhibition of cell proliferation by PUFA was mediated by acyclic lipid peroxides synthesized from PUFA in SMC.

Available PUFA contents (in phospholipids) such as arachidonic acid, di-homo- γ -linoleic acid, and adrenic acid were decreased in atheromatous lesions. Thinking of the results above, this decrease suggests that SMC rapidly proliferate in atheromatous lesions because SMC are released from growth control by PUFA. Thus PUFA may prevent the initiation and progression of atheroma formation through the control of cell proliferation.

Key words: Cell proliferation, Guinea pig, Polyunsaturated fatty acid, Prostaglandin, Lipid peroxides.