<総説>

Fads2 ノックアウトマウスによるアラキドン酸とドコサヘキサエン酸の新機能の発見

中村 学

イリノイ大学アーバナシャンペーン校、食品栄養学科

アメリカ合衆国イリノイ州アーバナ市

TEL:217-333-1267, FAX: 217-265-0925, E-mail: mtnakamu@illinois.edu

キーワード: デルタ6不飽和化酵素、多価不飽和脂肪酸、皮膚炎、雄不妊症、脂肪肝

A new insight into functions of arachidonic acid and docosahexaenoic acid using Fads2-null mice

Manabu T. Nakamura

Department of Food Science & Human Nutrition, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, Illinois, USA. TEL:217-333-267, Fax 217-265-0925, E-mail: mtnakamu@illinois.edu

Summary

In mammals, arachidonic acid (ARA) and docosahexaenoic acid (DHA) play important physiological roles as precursors of eicosanoids and docosanoids, respectively. However, a full scope of the function of these fatty acids is yet to be elucidated. A major obstacle is endogenous synthesis of ARA and DHA from precursors. It is not possible to create ARA deficiency by dietary manipulation without depleting linoleic acid, which is an essential component of skin ceramides. Also, DHA deficiency cannot be created without a compensatory increase in 22:5 n-6. To overcome these obstacles, mice lacking the Fads2 gene that encodes the first step of ARA and DHA synthesis were created. When Fads2-null mice were fed a diet lacking ARA and DHA but containing sufficient linoleic and alpha-linolenic acid, they exhibited previously undocumented phenotypes. The Fads2-null mice developed ulcerative dermatitis after 4 months of age, which was distinct from dry, scaly dermatitis observed in classic linoleic

acid deficiency. Fads2-null males exhibited complete arrest of sperm development at the stage of acrosome biogenesis. Intestinal ulcer was observed at duodenum and the ileo-cecal junction. In liver, lipid droplets were primarily localized in a periportal area. Dietary ARA prevented dermatitis and intestinal ulcer, whereas dietary DHA was ineffective. The male fertility and sperm formation were fully recovered by dietary DHA, whereas ARA was only partially effective. Either ARA or DHA supplementation prevented fatty liver. Although some of these phenotypes are likely due to reduced eicosanoid formation, the exact mechanism is yet to be elucidated.

Key words: delta-6 desaturase, polyunsaturated fatty acids, dermatitis, male infertility, steatosis

1. はじめに

哺乳類にとってアラキドン酸とドコサヘキサエン酸はアイコサノイドとドコサノイドを通じて重要な生理機能を担っているが、その機能の全要はまだ明らかにされていない。図1に示すように、ヒトおよび実験動物はアラキドン酸とドコサヘキサエン酸をリノール酸と α -リノレン酸から合成することができる¹⁾。この体内合成能力が食餌中の脂肪酸組成を変えることによるアラキドン酸とドコサヘキサエン酸欠乏症を研究する方法の限界となっていた。例えば n-6 脂肪酸を食餌から除くとアラキドン酸欠乏の起こる前にリノール酸欠乏による皮膚障害と成長障害が起こるため²⁾、アラキドン酸欠乏症の解明は困難になる。同様に n-3 脂肪酸を食餌から除くとドコサヘキサエン酸の減少に伴い n-6 脂肪酸 22:5 n-6 が増加し³⁾、

図1. 多価不飽和脂肪酸の体内合成系路と食品からの供給

ドコサヘキサエン酸の機能を一部分補うと見られる。この障害を克服するために当研究室は *Fads2* 遺伝子ノックアウトマウス(*Fads2*^{-/-})を作成した⁴⁾。*Fads2* はアラキドン酸とドコサヘキサエン酸生成の最初の二重結合とドコサヘキサエン酸生成の最後の二重結合を導入する酵素デルタ6不飽和化酵素の遺伝子である(図1)。

2. *Fads2*^{-/-}マウスにおける不飽和脂肪酸代謝

予測された通り *Fads2*^{-/-}マウスはデルタ6不飽和化酵素の活性を欠いており、リノール酸と α リノレン酸からアラキドン酸とドコサヘキサエン酸を合成できず、組織中のアラキドン酸とドコサヘキサエン酸は生後減少を続けた。更にアイソトープを使って生体内での不飽和脂肪酸代謝を調べたところ、*Fads2*^{-/-}マウスはアラキドン酸から n-6 ドコサペンタエン酸(22:5 n-6)を合成できなかった。この結果、図1に示す多価不飽和脂肪酸合成系の二つのデルタ6不飽和化酵素反応はアイソザイムによるものではなく、*Fads2*^{-/-}遺伝子由来の酵素がどちらの過程も触媒していることが確立された。*Fads2*^{-/-}マウスにおいては、デルタ6不飽和化酵素による競合がなくなるため、野生型には微量にしか存在しない、デルタ5不飽和化酵素によりリノール酸から産生された $\Delta 7,11,14$ -20:3 が組織内脂肪酸の中に増加するのが認められた⁴⁾。

3. *Fads2*^{-/-}マウスの表現型

AIN93G は十分な必須栄養素を含む精製飼料で十分なリノール酸と α リノレン酸を含むがそれ以外の多価不飽和脂肪酸は含まない。AIN93G で飼育された *Fads2*^{-/-}マウスは4ヶ月令までは順調に育ち、見かけ上は野生型との顕著な違いは見られなかったが、4ヶ月令を過ぎると例外なく重度の皮膚炎を発症した。その他の表現型としては雌雄とも生殖不能、腸潰瘍、脂肪肝、脾臓肥大、胸腺萎縮⁴⁾、マクロファージの機能異常⁵⁾等が観察された。ヘテロの *Fads2*^{+/-}マウスの表現型は肝臓のコレステロールエステルの脂肪酸組成を除いては野生型との違いは見られなかった⁴⁾。この総説ではこれらの表現型の内、皮膚炎、雄の生殖不能、腸潰瘍、脂肪肝に焦点をあてて記述する(図2)。

3-1. 皮膚炎

Fads2^{-/-}マウスはリノール酸の充分含まれた餌を与えられたにもかかわらず皮膚炎を発症した。皮膚炎は潰瘍性であり4ヶ月令をすぎると突然発症し急激に悪化する⁴⁾。この皮膚炎は痒みを伴うと見られ、皮膚を掻く行動を誘発し症状をさらに悪化させていると思われる。この症状はリノール酸欠乏による乾性の皮膚炎とは異なるものである。皮膚炎発症直前の *Fads2*^{-/-}マウスの皮膚においてア

Fads2ノックアウトマウスの表現型:

表現型抑制効果のある脂肪酸:

アラキドン酸

アラキドン酸

アラキドン酸
もしくはDHA

DHA

図2. Fads2 ノックアウトマウスの主要表現型およびアラキドン酸とドコサヘキサエン酸添加による予防効果

アラキドン酸は野生型の4分の1に減少しており、痒みを抑えるといわれるプロスタグランジン D2[®] は10分の1となっている。食餌への0.4%のアラキドン酸添加で皮膚炎は完全に防止されたが、ドコサヘキサエン酸の添加は全く効果が見られなかった⁴⁾。

3-2. 雄の生殖不能

離乳より AIN93G で飼育された雄の Fads2^{-/-}マウスは生殖不能となる。Fads2^{-/-}マウスにおいては精子数が激減すると共に精子はすべて形態異常を示し、運動能力を持たない。表1に示すようにドコサヘキサエン酸の添加で雄の生殖機能は正常に戻るが、アラキドン酸添加の効果はドコサヘキサエン酸より低く表現型は完全に正常化しない⁷⁾。電子顕微鏡と共焦点レーザー顕微鏡を用いた精巣組織の所見によると精子形成は円形精子細胞の段階までは進むがその直後にアクロゾーム新成の段階で停止し円形精子細胞のままで精細管に排出される。アクロゾームはゴルジ由来の小胞の融合によって形成されるが、Fads2^{-/-}マウスの円形精子細胞にはアクロゾーム前駆小胞は存在するがアクロゾームの形成は全くみられない⁸⁾。ドコサヘキサエン酸のアクロゾーム新成における役割は現段階では明らかでないが、これらの所見よりドコサヘキサエン酸は小胞融合の過程に必要で

あるかと推測される。
精子形成を制御する
遺伝子の発現には異
常は見られなかった⁷⁾。
Fads2^{-/-}マウスの精巣
組織は6週令ですで
に異常がみられるの
で、精巣におけるドコ
サヘキサエン酸の欠

	AIN93G	アラキドン酸添加	ドコサヘキサエン酸 添加
繁殖成功率	不妊	1/2	正常
精子数	1/10 (形態異常)	1/4 (形態正常)	正常
精子形成過程	円形精子細胞 の段階で停止	部分的に回復 一部に異常残存	正常

表1. Fads2 ノックアウトマウスの雄生殖不全の特徴とアラキドン酸とドコサヘキサエン酸添加の効果 注:繁殖成功率と精子数は野生型に比較した値

乏症状はアラキドン酸の欠乏による皮膚炎よりはるかに先立って発症していることがわかる。

3-3. 腸潰瘍

AIN93G で飼育された Fads2^{-/-}マウスは腸潰瘍を発症する。腸の潰瘍は局所的であり小腸盲腸結合部および十二指腸に発現する。胃潰瘍の発症は認められなかった。潰瘍に先立ち白血球の浸出、杯細胞の減少が観察される。腸潰瘍はアラキドン酸投与により完全に防止されるが、ドコサヘキサエン酸投与は効果がない⁴⁾。アラキドン酸から産生されるプロスタグランジン E2 は胃腸粘膜の保護機能のあることが知られているので⁹⁾、潰瘍の発現はアラキドン酸欠乏によるプロスタグランジン E2 産生の低下によるものと思われる。Fads2^{-/-}マウスの表現型の内、脾臓肥大と胸腺萎縮の原因は現時点では明らかでないが、潰瘍の進展に伴い炎症、感染が生じることが予測されるので脾臓肥大と胸腺萎縮は潰瘍に起因する二次的な症状の可能性はある。

3-4. 脂肪肝

AIN93G で飼育された Fads2^{-/-}マウスは肝臓のトリグリセリドが野生型の約2倍に増加した⁴⁾。図2に見られるように脂肪肝は主に肝小葉の門脈近辺に発達する。アラキドン酸とドコサヘキサエン酸のどちらの添加も脂肪肝減少に効果が見られた。この脂肪肝防止効果のメカニズムは不明である。

4. まとめ

Fads2^{-/-}マウスにより、デルタ6不飽和化酵素のアイソザイムの不在、および以前に知られていなかったアラキドン酸とドコサヘキサエン酸の生理機能が明らかにされた。図2において AIN93G で飼育された Fads2^{-/-}マウスの主要表現型と、アラキドン酸、ドコサヘキサエン酸の飼料添加による表現型

防止効果がまとめられている。*Fads2*^{-/-}によって新たに発見されたこれらの症状の一部にはアイコサノイドの不足が関与していると思われるが、それ以外の未知の機構の関与が推測される。*Fads2*^{-/-}は引き続きアラキドン酸とドコサヘキサエン酸の機能の解明に有用な役割を果たすことが期待される。

謝辞

現在と過去の中村研究室員に謝意を表します。

参考文献

1. Nakamura MT, Nara TY. *Annu Rev Nutr* 24 : 345-76, 2004.
2. Imokawa G, Yada Y, Higuchi K, Okuda M, Ohashi Y, Kawamata A. *J Clin Invest* 94 : 89-96, 1994.
3. Igarashi M, DeMar JC, Jr, Ma K, Chang L, Bell JM, Rapoport SI. *J Lipid Res* 48 : 1150-1158, 2007.
4. Stroud CK, Nara TY, Roqueta-Rivera M, Radlowski EC, Lawrence P, Zhang Y, et al. *J Lipid Res* 50 : 1870-80, 2009.
5. Rosenblat M, Volkova N, Roqueta-Rivera M, Nakamura MT, Aviram M. *Atherosclerosis* 210 : 414-421, 2009.
6. Arai I, Takano N, Hashimoto Y, Futaki N, Sugimoto M, Takahashi N, et al. *Eur J Pharmacol* 505 : 229-235, 2004.
7. Roqueta-Rivera M, Stroud CK, Haschek WM, Akare SJ, Segre M, Brush RS, et al. *J Lipid Res* 51 : 360-7, 2010.
8. Roqueta-Rivera M, Abbott TL, Sivaguru M, Hess RA, Nakamura MT. *Biol Reprod* 85 : 721-732, 2011.
9. Takeuchi K, Araki H, Umeda M, Komoike Y, Suzuki K. *J Pharmacol Exp Ther* 297 : 1160-5, 2001.