<総説>

DHA の構造的意味

吉田 敏

岐阜大学フェロー・名誉教授

〒 501-1193 岐阜市柳戸 1-1 岐阜大学工学部

Email: xyosida@gifu-u.ac.jp

キーワード：ドコサヘキサエン酸（DHA）、柔軟性仮説、流動性仮説、
膜ダイナミックス、オキシリピン

Structural Significance of Docosaheaxaenoic Acid

Satoshi Yoshida

Gifu University Fellow, Professor Emeritus

Fac. Eng., Gifu University, 1-1 Yanagito, Gifu 501-1193, Japan

Email: xyosida@gifu-u.ac.jp

Summary

Docosaheaxaenoic acid (C22:6n-3, DHA) plays a special role in biological membrane dynamics, and especially affects human health and various diseases. I try to review the structural significance of DHA in two points, membrane dynamics and oxidative metabolites, to realize the action mechanisms of DHA on health and diseases. It has been believed that polyunsaturated fatty acids, such as arachidonic acid (C20:4n-6) and DHA, in bio-membranes may increase fluidity of the membrane (“fluidity hypothesis”) and thus modulate mobility of membrane proteins, however, it is proved recently that the fluidity hypothesis is not always true for DHA. It has been shown that DHA could have quite various conformations

under physiological conditions for free or ester forms, as determined by simulations and X-ray crystallography of DHA-bound proteins, and this high flexibility of DHA conformation may be a key point to realize the action mechanism of DHA-containing phospholipids on membrane dynamics with high resilience and adaptability (“flexibility hypothesis”). With this “flexibility hypothesis”, it could be uniformly recognized how DHA is important for rapid membrane dynamics (fission and fusion), for lipid-receptors interactions, for modulation of lipid raft size, and for regulation of nuclear receptors and expression of genes. The reason why DHA is enriched in retina, brain, testes, and heart, which tissues are all active in membrane dynamics and oxygen metabolism, may be realized with the flexibility hypothesis. The second point, why DHA is metabolized to quite various oxidative/oxygenative derivatives (docosanoids), may be realized under the view of whole oxylipin metabolism including eicosanoids. Oxylipin metabolism is recently summarized as oxygenated polyunsaturated fatty acids, however, it may be more rational to categorize “Oxylipin” as oxidative metabolites of lipids widely including terpenoids, to realize the structural resemblance between DHA and retinoids, and the function of medium chain oxygenated fatty acid metabolites. The view of co-regulation in various oxylipin metabolites including docosanoids and eicosanoids may be needed for realizing the fine regulation mechanism of active tissue metabolism and pathophysiology. The structure-based theory of the effect of DHA and its oxidative metabolites on bio-membrane dynamics and lipid-protein interactions may help largely to realize the action-mechanism of DHA on human health and diseases.

Key words: docosahexaenoic acid (DHA), flexibility hypothesis, fluidity hypothesis, membrane dynamics, oxylipin.

1. はじめに

Docosahexaenoic acid (C22:6n-3, DHA) は、特殊で、実に個性的な脂肪酸でありながら、多かれ少なかれ人体の各細胞にほとんど遍く存在して機能している脂肪酸でもある。そして、特に脳神経系や、網膜、精巣、そして心筋に豊富に存在し、多くはリン脂質の一部として存在していることが知られている。DHA の特殊性とは、その炭

化水素鎖の長さ (C22) と不飽和結合の多さ (6) とその位置 (n-3)、であり、その構造は Hammond と Lundberg によって 1953 年明らかにされた¹⁾。また、それが個性的であるということは、他に代え難い必須脂肪酸の一つであるということであり、1930 年代の G.O. Burr らの先駆的仕事や 70 年代の Dyerberg & Bang によるエスキモーの研究などにより Eicosapentaenoic acid (C20:5n-3, EPA) や DHA の生理的役割と必須性が明確になった²⁾。それだけでなく、さらに哺乳類におけるその生合成システムが 1991 年の Sprecher らの報告により明らかにされると (Sprecher Pathway)³⁾、細胞での DHA 合成系の一部にはペルオキシソームでの β 酸化という分解過程が必要であるという、他の脂肪酸の合成系ではあまり見られない特徴 (ハイコスト!) があることも分かってきた (ただしミトコンドリアでは Δ 4 不飽和化酵素が働いて C22:5n-3 から直接 C22:6n-3 が生成される系がある⁴⁾)。最近では、DHA などの ω 3 系不飽和脂肪酸の摂取が、様々な病気の治療や予防に有効であるという臨床研究のデータも蓄積されてきて、その適応範囲はアルツハイマー病や精神神経疾患のみならず、心疾患、糖尿病や様々な炎症性疾患にまで及んでいる。

なぜ DHA がそのような多様な病態に効果があるのか、またなぜ DHA は脳神経、網膜、精巣、心筋により多く含まれているのか。なぜ ω 6 系高度不飽和脂肪酸 (アラキドン酸など) は ω 3 系の代わりにはならないのか。このような基本的な疑問には、現在でも未だ明快には答えられていないと思われるが、今一度基本に立ち返って、生体膜における DHA の構造的意味を捉えなおす必要があるだろう。また、さらに DHA の酸化代謝物 (Docosanoid) の多様さの意味についても考察する必要がある。これまで、近年でも DHA など ω 3 系不飽和脂肪酸の役割に関して多数の優れた総説が著されてきているが^{5, 6, 7)} (筆者もかつて ω 3 系脂肪酸の役割について総説を執筆したが⁸⁾)、DHA の本質的役割と共通する働きに関して、可能性の列举が多く腑に落ちる説明がなされているものは少ないように思われる。この小論は、その合理的説明のためのささやかなチャレンジである。

2. 生体膜における DHA の構造的意味

ω 3 系不飽和脂肪酸といっても、厳密には、 α リノレン酸 (C18:3n-3, ALA) や EPA や DHA を同列に扱うことはできない。ヒトにおいても、それらの脂肪酸の各臓器への取りこまれ方や代謝様式や病態への効果などに顕著な差があるためである。そのため、ここでは DHA に焦点を絞って論を展開する。

2-1. DHA の分子構造とその解明の歴史

DHA は、生体膜の中ではどのような構造をとるのか。この構造を明らかにする方法は、これまではコンピュータシミュレーションと DHA 結合タンパク質の X 線結晶構造解析によって行われてきた。生体膜中の DHA の立体構造の研究は、当初は Singer-Nicolson の膜の流動モザイクモデル⁹⁾によって理解されていた膜の「流動性仮説」が、DHA でも当てはまるのかという問題意識によって進められていた。オレイン酸 (C18:1n-9) やリノール酸 (C18:2n-6) などのように、不飽和度の高い脂肪酸ほど膜の流動性を上げるという「流動性仮説」は、蛍光偏光解消法や NMR 法、赤外分光法などの手法によって様々な不飽和脂肪酸に対して 20 年以上にわたって研究されてきたが、DHA に関しては必ずしも流動性を上げる効果があるわけではない（上げない場合も多い）、といった研究が報告されてきた¹⁰⁾。実際、「流動性仮説」が適用できる脂肪酸としては、C18:1n-9, C18:2n-6, C18:3n-3 であり、せいぜい C20:4n-6 ぐらいまでであることがおおむね一致して考えられているが、C22:6n-3 は「流動性」は上げないという報告が多くあり、また環境によっては上げるという報告もあり完全に一致した見解とはなっていない。

Applegate と Glomset による DHA 構造のシミュレーション研究は、1986 年と 1991 年にミニコンピュータを使って報告され、C18:0 と DHA のジアシルグリセロールの構造の中で DHA の構造はほぼ「真っ直ぐでタイトな」形状（コンホメーション）をとることが予想された^{11, 12)}。この 80 年代の終わりごろのコンピュータの力は最近のスーパーコンピュータよりもかなり劣っていたので十分な構造予想はできなかったと考えられるが、2008 年ごろに Feller は、スパコンを用いたシミュレーションにより、いくつかの環境条件の下での DHA 構造の取りうる確率を計算できることを報告した¹³⁾。それによると、DHA 構造は非常にフレキシブルで、形を変える（異性体を作る）スピードも速いことが示された。この構造の変化は、基本的には C-C 単結合軸の回転によってもたらされるが、要は、飽和脂肪酸の単結合の場合は *+gauche* と *-gauche* の 2 段階の中間状態を経て変わるが、2 重結合を一つ挟んだ C-C 単結合の回転の場合は *skew* 状態という 1 段階を経て変わるだけなので素早く効率よく変わりうる、ということである。6 カ所に 2 重結合があるという、この DHA の構造変化の柔軟さ (Flexibility)こそが、今後の論の肝となる。

脳の Retinoid X Receptor (RXR) という核内受容体に、DHA が結合している場合

があることが、2000年のScience誌に報告された¹⁴⁾。そして、2002年にDHAが結合している状態でのRXR蛋白質のX線結晶構造解析結果が報告されて¹⁵⁾、DHAの立体構造が明らかになった。元々は9-cis retinoic acidが基質として結合していることが多い受容体であるが、ほぼその立体構造と重なるようにDHAが、メチル末端が環状化した形状で存在していることが明らかになったのである。一方、FABP7という脂肪酸結合蛋白質の場合は、2014年DHAが結合している状態での結晶構造が報告され¹⁶⁾、DHAの構造は大きならせん構造のような形状で存在しており、RXRで見られたようなDHAのメチル末端付近の環状化は見られていない。この2つの例からも、DHAの構造はかなり異なり、先に述べたシミュレーションによるDHAの「柔軟さ」が実際の構造でも証明されている。

では、生体膜の中で起こる脂質-蛋白質間相互作用においてDHA構造の柔軟性はどのような意味を持つのだろうか。Antonnyらは2015年網膜にあるロドプシンの構造変化と脂質との相互作用についてシミュレーションした結果を報告した¹⁷⁾。それによると、網膜に入った光によってロドプシンの構造が大きく変化すると、その周りにあるDHAを含むリン脂質も大きく歪むがその歪みによって生じたスペース（ギャップ）をDHAの炭化水素鎖が埋めるように変化する。また膜の大きな曲率変化（Curvature）が起こると¹⁸⁾、この場合もDHAがそこにあれば、生じたギャップをDHAの鎖が埋めるように変化して膜構造を安定化することができる。このように、DHAの構造が高度に柔軟であれば、膜の中に生じたギャップを補完するようにDHAが適応的に変化できることが理解される。一方、2016年受容体同士の会合へのDHAの効果のMolecular Dynamics (MD) シミュレーション研究が報告された¹⁹⁾。それによると、アデノシン A2A 受容体とドーパミン D2 受容体の会合のしやすさはDHAによって影響され、DHAが多くなると会合スピードが上昇することが示された。これらの受容体の会合によってProtein kinase A (PKA) を介した細胞内シグナル伝達が影響されることが分かっているが、DHAによって膜を介したシグナル伝達が調節されうることがこのシミュレーションによって理解できるようになった。A2A 受容体や D2 受容体の結晶構造も明らかになっていて^{20, 21)}、それらが膜の中に存在しているとその周りの脂質（Annular lipids）に大きな歪みが生ずることが予想されるが、この場合もDHAがその歪みによって生じた膜中のギャップを埋めて受容体同士の会合がし易くなるだろうということが理解される。（図1）

図1 アデノシン A2A 受容体とドーパミン D 2 受容体の構造と生じる膜内ギャップの説明

2-2. 神経系等における DHA の存在理由 (raison d'être)

DHA は、脳神経、網膜、精巣、そして心筋の組織に多く含まれていることが知られている。これらの組織は、どれも他組織よりも活発な膜動態（ダイナミクス）と酸素代謝を示すという共通の性質がある。膜の融合や分裂などの膜のダイナミクスと膜代謝が活発なところは、通常エネルギー代謝も活発になるのでミトコンドリアが多く集まっていて、その結果酸素代謝も活発になることはよく知られていることであるので、まず DHA と膜ダイナミクスとの関係を考察するのが合理的である。

我々は、1997 年 J. Neurochem. 誌に発表した論文によって、 ω 3 系脂肪酸の欠乏したラット脳の海馬 CA1 領域のシナプスにおいて、シナプス小胞密度が減少することを、電子顕微鏡を用いて明らかにした²²⁾。この研究によって、DHA など ω 3 系脂肪酸がシナプス膜小胞の代謝・ダイナミクスに影響を及ぼすことが判明したが、その後の継続研究によって、シナプスに存在する NCAM 神経細胞接着分子の糖鎖構造も影響を受けることを明らかにして²³⁾、DHA など ω 3 系脂肪酸は明確にシナプスの構造と機能を変化させることが分かった。この研究は、その後フランスの Zimmer らによって 2000 年に確認されたが、そこではやはりドーパミン神経のシナプス小胞の代謝も DHA によって影響されることが明らかにされている²⁴⁾。またさらに、2010 年には Noradrenaline のエクソサイトーシスが DHA によって影響されることも報告された²⁵⁾。

これらの研究によって、DHA は神経系の膜ダイナミクスに影響を与えること

が示されたが、これらとは独立に、2012年 Nakamura らによって精子先体の小胞 (Acrosome) の代謝も DHA によって影響されることが示された²⁶⁾。この精子先体小胞の融合による小胞内酵素の放出は、精子が卵子の透明体を溶かして合体するプロセスで必須の現象である。

これらの研究によって得られた共通する認識は、DHA は膜の融合・分裂といった膜代謝・ダイナミックスにおいて重要な役割をしているということであり、次の一つの仮説を考えざるを得なくなる。即ち、内分泌等に関与する適度な大きさの膜小胞 (～40-100 nm) の膜代謝プロセス (fission/fusion) に重要な膜曲率変化に、DHA は効果的な柔軟性 (弾力性、適応力) を与えるのではないか、ということである。

この新しい仮説をもとに、網膜にある桿体外節のディスク膜 (DHA 含有量が全脂肪酸の 35% にもおよぶ²⁷⁾) の構造を見ると、この膜は極端なほど押しつぶされた円盤状をしておりその縁 (Disc rim) では大きな曲率変化が起きているので、そこに DHA があれば、その大きな曲率変化による膜の不安定化に対応できるだろうと考えることができる。むしろ、DHA が網膜のディスク膜に非常に多い理由というのもこの仮説によってはじめて理解されるのである。一方、このディスク膜を含む光受容細胞と直近にある色素上皮細胞の素早く頻回なりニューアルという膜代謝に、DHA 由来の酸化的代謝物である Neuroprotectin D1 (10, 17-dihydroxy-docosahexaenoic acid, NPD-1) が重要な役割をしていることが N. Bazan によって提唱されている²⁸⁾。ただ、この NPD-1 の詳細な作用機構についてはまだよくわかっていない。

以上のように、この新しい仮説をもとに、DHA が脳神経、網膜、精子 (心筋細胞も) という活発な膜ダイナミックスを示す組織細胞に多く存在する理由を説明できるのではないか、と思われる。心筋細胞も頻回な細胞膜の機械的伸縮という膜のダイナミックスが顕著な組織であり、神経系と同程度に DHA の含有率が高い。つまり、素早く頻回なる膜のダイナミックな変化にうまく対応できる膜の脂肪酸として DHA があり、それ以外では対応できないほど DHA 構造は特殊でもあり、合成するのがハイコストであるにも関わらず、多くの生物が必須な膜の脂肪酸として採用し続けている理由なのではないだろうか。

この仮説をもとに過去の研究を見ると、例えば Insulin 分泌が DHA を加えると増強されるといったデータ²⁹⁾ も説明できるようになるし、またある癌細胞に DHA 含有リン脂質のリポソームが融合しやすくなるといったデータも³⁰⁾ も理解できるようになる。

この仮説は、ここでは「柔軟性仮説」と呼ぶことにする。これによって、DHA に関

するこれまでの「流動性仮説」からの脱却を促し、生体膜システムにおける DHA の本質的役割を理解するためのパラダイムシフトとなるのではないと思われる。

2-3. DHA の構造変化のし易さ (柔軟性仮説) を基盤とした膜現象の理解

DHA に関する「柔軟性仮説」は、その構造の変化のし易さを表すものであるが、「柔軟」という言葉からは「柔らかい・軟らかい」という印象が強い。しかし、この仮説の意味するところは、単に DHA の構造は「柔らかい」ということだけではなく、膜脂質のギャップ発生に由来する膜の脆弱性を補い、DHA の柔軟な鎖で補強して恒常性の維持に寄与するという側面も強いので、「柔勁 (けい) 性」あるいは「柔韌 (じん) 性」という方が、柔らかさと強さの両方の意を含んでいるので、相応しいかもしれない。しかし、あまり馴染みのない言葉なのでここでは「柔軟性」という言葉を使うことにする。また英語では、Flexibility とともに、Resilience (弾力性) や Adaptability (適応力) の言葉を使って、DHA の「柔軟性仮説 (Flexibility Hypothesis)」を表すのが適当と思われる。

ここで DHA の構造変化のし易さ、ということのアラキドン酸 ($C_{20}:4n-6$, ARA) の構造と比較しながらモデル的に再度解説し、理解の助けとしたい。図 2 に示したのは、DHA のメチル末端の環状化のし易さを ARA と比較した解説図である。

DHA の場合、メチル末端の $n-3$ 位に 2 重結合があるので、それを挟む C-C 単結合

図2 炭化水素鎖メチル末端の環状化のしやすさの比較

の軸周りの回転が、すべて単結合の場合よりもし易くなり、2段階あるいは1段階で環状化が起こる。そして、n-7位の単結合の周りの回転も起こりやすくなり、膜の深部でのギャップの補完がしやすくなる。これはロドプシンの構造変化などに対応するギャップ補完に相当する。一方、ARAの場合は、末端からn-5位まではすべて単結合であるため環状化が起こるためには3段階、あるいは2段階のステップが必要であり、明らかにARAはDHAよりも末端は環状化しにくいことが理解される。またその環状化が起こった場合n-10位の単結合の周りで回転が起こっても、膜のごく浅いところでのギャップしか補完できないし、深部でのギャップには対応できない。このように理論的にも ω 3系のDHAは、 ω 6系のARAより末端の環状化が起こりやすく、より膜深部でのギャップに対応し易いことが理解される。EPAは、 ω 3系なのでメチル末端の環状化は起こりやすく、C20なのでより浅いところのギャップを補完する場合はARAよりもし易いことになる。EPAとDHAの膜動態における差は、その構造変化のし易さと共に変化の起こる場所の違いに由来するのかもしれない。

DHAの柔軟性仮説によって、いくつかの膜現象が説明可能となる。

例えば、マイクロRNA (miRNA) の細胞外の運搬体 (小胞) として働いているExosomeを考えると、2015年に「乳癌細胞をDHAで処理すると、miR-23bなどの抗癌作用、抗造血管作用をもつmiRNAを含むExosomesが増える」ことが報告されている³¹⁾。Exosomeには、通常DHAなどの高度不飽和脂肪酸は含まれないので、この場合のDHAの働きは、膜ダイナミックスの中で比較的初期の膜の分裂 (fission) によるExosomeの形成過程で理解されるかもしれない。即ち、膜のfissionや、fusionといった膜代謝が起こるとき、DHAがあるとギャップの補完作用が効いて相分離も起こりやすくなり、membrane fission (budding) が起こりやすくなると考えられる。つまり、DHAを増やしてやると膜分裂が起こりやすくなり、Exosomeが形成し易くなると理解される。

別の膜現象として、膜のラフト (Lipid raft) 形成とDHAの働きについて考える。最近、アルツハイマー病 (AD) の発症とも関係する β アミロイドのオリゴマー形成が神経系細胞の脂質ラフトの大きさ (サイズ) と関係があり³²⁾、DHAはラフトのサイズを変えることができるのではないかという報告が出てきた³³⁾。特に、2016年に発表されたSantosらの報告によれば³³⁾、ADモデルマウスを使った実験と数学的モデルを使って解析した結果、「Raft部位の大きさ (Size) と Non-raft部位の動きやすさ (Mobility) の増大が β アミロイドの形成し易さと関係があり、コレステロール

(Chol) と DHA のバランスが重要で Raft サイズなどに影響する」ことが明らかにされた。DHA 含有リン脂質は、これまでの研究でラフト部位にも、非ラフト部位にも両方の部位に入り込む (Chol と相互作用しながら) ことができることが知られているので^{34, 35)}、この現象を DHA の「柔軟性仮説」によって解釈すると次のようになる。即ち、DHA 含有リン脂質が非ラフト部位に入り込むと、むしろその動きやすさは低下する (ように DHA が構造変化する) と考えることができる。そして、DHA がラフト部位に入り込むときは、Chol を含む Boundary (Annular) Lipid が多くなるとその Lipid の拡散定数 (Dw) が増大し³⁶⁾ 移動し易くなったところで、DHA 含有リン脂質と Chol 分子等が会合・移動することでラフト構造を分断し分散させることができるのかもしれない。DHA 含有リン脂質と Chol 分子の会合のし易さは、網膜のロドプシンの周りにある Annular Lipids として DHA 含有リン脂質と Chol 分子が集まってきて一つのドメインを形成するという報告³⁴⁾ からも推定される。

2016 年度のノーベル医学生理学賞がオートファジー (Autophagy) 研究の Dr. Yoshinori Ohsumi に贈られたのは記憶に新しいが、このオートファジー現象も膜ダイナミックスの一つであり、オートファゴソームという膜小胞の形成とリソソーム膜との融合を主たるプロセスとする重要な細胞現象であり膜代謝現象である。最近、この Autophagy が、癌細胞において、DHA によって引き起こされやすくなるという報告がでている^{37, 38)}。ただ、これらは Autophagy の膜ダイナミックスに DHA 含有リン脂質が直接影響を与えるという研究ではなく、癌細胞の p53 などを含むシグナル伝達系や Apoptosis への DHA の影響の研究が主体である。しかし、DHA による Autophagy 亢進のメカニズムの全容が明らかになっているわけではないが、今後 Autophagy 研究においても、この膜形成と融合に及ぼす DHA の影響など多面的な研究が重要になるのではないかと考えられる。

3. DHA の酸化的代謝物 (オキシリピン ; Oxylipin) の多様性の意味

DHA は活発な膜ダイナミックスを示す組織細胞に多いという意味について上記のように論及してきたが、網膜などのように膜代謝が活発なところには通常ミトコンドリアが多くあってエネルギー代謝も活発なので、酸素代謝も盛んである。その結果、ラジカルと反応しやすい C=C 2 重結合を 6 個も持っている DHA は活性酸素とも反応しやすく、また P450 などの酸素化酵素とも反応し、酸化的 (酸素化的) 代謝物を生成しやすいはずである。そのため、以前は DHA など ω 3 系脂肪酸を摂取すると過酸

化脂質が生じやすくなり細胞ダメージも強くなるので、控えた方がいいのではないかと、というような論調もあったが、近年では組織細胞中の DHA などとはさほど心配するほど過酸化脂質を生じることもなく、むしろ DHA の酸素化代謝物 (Docosanoid) の中には発がんを抑制したり、抗炎症作用など体にとって「良い」働きをするものが多く発見されるようになってきた。最近、 $\omega 3$ 系と $\omega 6$ 系高度不飽和脂肪酸の酸素化代謝物を、総合的に Oxylin として総括されるようになってきた³⁹⁾。この中には従来から知られているプロスタグランディン類やロイコトリエンなども含まれており、比較的新しい $\omega 3$ 系由来の Docosanoid や、C18 リノール酸や α リノレン酸由来の酸素化代謝物が含まれている。

特に、DHA 由来の Docosanoid は近年研究が進んだものの、 $\omega 6$ 系のアラキドン酸由来の Eicosanoid の成分の豊富さと解明の歴史と比べると、まだまだ研究途上という印象が強い。本来、C20:4n-6 というアラキドン酸の分子構造と比較して C22:6n-3 という DHA の不飽和結合の多さからは、Eicosanoid よりももっと多様な酸素化代謝産物があるはずであるが、まだ同定され解明された Docosanoid の成分の数は Eicosanoid のレベルまでは達していないようである。その理由の一つとして、単に研究の歴史の浅さだけでなく、エポキシド体など酸素化中間体の不安定さがあるのかもしれない。よく研究されている C18 の Oxylin では、通常最初は Hydroperoxy 体 (OOH) が生成し、一部は Hydroxy 体 (OH) に変化し、また他は Epoxy 体 (あるいはそれと Hydroxy 体との混合) に変化しさらに C-C 結合が切れ Ether 結合 (C-O-C) に変化した後、さらに OH が付加して C-C 結合が切れて短鎖と中鎖のアルデヒド体 2 分子が生成され则认为られている⁴⁰⁾。

3-1. Oxylin の多様性

Oxylin は、元々の定義では C18、C20、C22 の $\omega 3$ & $\omega 6$ 系高度不飽和脂肪酸の酸素化代謝産物の総称として考えられているが³⁹⁾、ここでは「脂質の酸化的代謝産物」として、多様性をもっと広げて (拡張 Oxylin) 考えてみたい。そうすると、酸素化だけではなく、ニトロ化 (NO)、チオール (Thiol) 化、アミド化などの DHA の修飾産物も対象になり、DHA-cysteine adduct や DHA-ethanolamide adduct などが報告され^{41, 42, 43)}、その生理作用 (抗炎症作用や神経発達作用) も研究されている。さらに、中鎖脂肪酸の酸化代謝物である植物の Jasmonic acid (C12) や蜂蜜の Royal jelly acid (C10) など、拡張 Oxylin の範疇に入ることになる。さらに、脂肪酸の

誘導体だけでなく、Vitamin A などのテルペノイド (Terpenoid) の誘導体もその範疇に入れると、Oxylipin の世界は極めて広くなり、多様性ととともに類似性と共通性が視野に入ってくる。

Terpenoid には、 β カロテンやアスタキサンチンやルテインのような Carotenoid や、ビタミン A, D, E, K の脂溶性ビタミン類や、Oxysterol などステロール誘導体が含まれる。最小の Terpenoid は C10 の Monoterpene であるシトラールなどがある。これらの Terpenoid は、多くは Trans 型の 2 重結合を有し、酸化還元的代謝に関与することで、活性酸素除去などの抗酸化作用を持つことができる。 β カロテンの場合、酸素化的代謝を受けると半分に分裂し、2 分子の Retinal というアルデヒド体となり、さらに Retinoic acid という別の Terpenoid に変換されていく。Retinoic acid 類の一部は、先に述べように DHA と構造的類似性を持ち、同じような受容体・転写因子等にアゴニストとして働くことができる。ただし、これは DHA の構造的柔軟性が非常に高いので Retinoic acid に似てしまったということであり、その逆ではない。

また、コレステロールの酸化代謝物である Oxysterol も、拡張 Oxylipin の一群と考えられる。この中には、24, 25-Epoxycholesterol のように脳の LXR 受容体のリガンドとして働きドーパミン神経の発達を促すことができるものや⁴⁴⁾、3, 7-dihydroxycholesteroleic acid のように神経保護作用を示すものなどが知られており、Oxysterol にも様々な生理作用があることが分かっている⁴⁵⁾。

3-2. ω 3 系脂肪酸の酸化代謝物の存在理由 (raison d'être)

この前のセクションで、Docosanoid という DHA 由来の酸素化代謝産物でこれまで同定されたものは、本来の分子構造から予想されるよりも少ないことを指摘した。同様に、 α リノレン酸 (C18:3n-3) 由来の Oxylipin もリノール酸 (C18:2n-6) 由来のものよりも少ない。実際、2015 年の BBA の総説³⁹⁾ によれば、リノール酸由来の Oxylipin は 13 種なのに対して、 α リノレン酸由来のものは 4 種しか同定されていない。Docosanoid については、研究の歴史が浅くこれからの研究の発展に期待したいが、酸素化代謝産物自体の寿命の問題もあるかもしれない。Epoxy 体は、Ether 体を経てすぐ分解する方向に向かいやすい⁴⁰⁾。このことは、Docosanoid からさらに短縮した中鎖以下の酸素化脂肪酸代謝物が生ずる可能性を示唆している。このように、Oxylipin の研究は C18 ~ C22 の炭化水素鎖を持ったものだけでなく、より広い視点で、それからさらに代謝分解した中鎖以下の脂肪酸の酸化代謝物を含んだものの研究も必要で

ある。特に、我々は最近皮膚毛髪系のメラニン顆粒に含まれる特殊な脂質に、その一部として中鎖脂肪酸の水酸化物が含まれ、その構造から ω 3系脂肪酸由来のヒドロキシ体であることを示した⁴⁶⁾。これは、 ω 3系不飽和脂肪酸の酸化的代謝物が別の脂質と複合体を作って存在することを示唆していて、新しい ω 3系脂肪酸の役割である可能性がある。これはまた、なぜ α リノレン酸が優先的に皮膚毛髪系に取り込まれるのか⁴⁷⁾、という理由を説明できる可能性を示唆している。つまり、 α リノレン酸やEPA (DHAからもretroconversionによってEPAができることもある⁴⁸⁾)が β 酸化的に部分分解あるいはEpoxy体(EPAの場合)を経て半分に分解して、中鎖のトリヒドロキシデカン酸が生じて、皮膚毛髪系に重要なメラニン顆粒の脂質に取り込まれた、という可能性である。

このように、Oxylipinの概念を広くとると、極めて多様な、脂質由来の酸素化代謝物の姿が現れてきて、DHA由来のDocosanoidは、そのごく一部であるということになる。そして、重要なことは、これらの多様なOxylipinは、細胞代謝のほぼ同じ場所で同時的に存在して機能しているものが多い、という点である。これまでよく研究されてきたEicosanoidの場合でも、少し構造の違う異性体で逆の作用をするもの(例えば抗炎症や炎症促進など)も多いので、恐らく研究途上のDocosanoidについても同様のことがあるものと思われる。ただ、全体的にはEicosanoidにはPro-inflammatoryの傾向が強いが、DocosanoidにはAnti-inflammatoryな傾向が強いことを示すデータが多い。しかし、これらの研究では限定的なOxylipinについてのデータしか得ることができないので、もっと広い、多様なOxylipinが混在している状態での研究が必要であるし、実際の生理的条件の下での組織細胞でTerpenoidも含む広義のOxylipinの分布とそれらの経時変化などの基礎的研究が必要であろう。例えば、抗炎症性作用を持つOxylipinといっても ω 3系だけでなく ω 6系にもあるし、Terpenoid系にも色々知られている。それらが同時に存在していると相互作用して一部は競合的に働き、また一部は相乗的に働くことも考えられる。さらに、炎症促進作用を持つOxylipinも同時に存在しているときは、複雑な相互作用を通してネットワーク化された酵素反応系やシグナル伝達系が複雑に動作して、本来の系だけでなく別の代謝系にも作用し、どのような細胞現象が結果として起こるのかは、やって見なければ分からないほどの「複雑系」の現象となるはずである。実験的には、より高度な代謝シミュレーションによる解析が必要になるシステムである。

このように困難な解析ではあるが、「なぜそんなに多様なOxylipinがあるのか」と

いう意味論的考察は、研究の発展にとって重要なことではないかと思われる。現時点ではもちろん結論的な意味論的考察は不可能ではあるが、炎症や神経疾患などの「細胞現象」の背景にある分子的メカニズムは、組織細胞ごとに同じではなく、極めて多彩で相互作用もあり、その微細な調節に関わる分子群もさらに多彩であろう、ということとは基本的なこととして認識しておく必要がある。この極めて多彩な細胞現象に対応して、その微調整に関与する分子群の一部として Oxylin (拡張) があるとすれば、その多様さは決して不思議ではなく、必然的に必要とされたものなのかもしれない。

このことは、例えば抗炎症薬・抗癌薬等の創薬開発においても重要になるが、COX-2 選択的阻害薬の開発において得られた教訓を思い出す必要がある^{49, 50, 51)}。Cyclooxygenase-2 (COX-2) は、 ω 6 系 Oxylin の一種プロスタグランジン (PG) 類の、アラキドン酸からの生成を進める誘導性の酵素の一つであるが、ある刺激でこの COX-2 が増えると PGE2 や PGI2 という痛みなどの炎症症状を引き起こす PG が増大する。セレコキシブなどの COX-2 選択的阻害薬は、COX-1 を阻害せず胃潰瘍を引き起こさずに COX-2 による炎症症状 (や発癌等) を抑制すると考えられている。しかし、COX-2 選択的阻害薬は、血小板凝集も防ぐ作用もある PGI2 の産生を抑えて (凝集傾向増加)、かつ COX-1 による血小板凝集物質トロンボキサン A2 (TxA2; Oxylin の一種) の産生を抑制しなかったため (凝集傾向増加)、血栓症という副作用が強く現れ、心血管障害のリスクが高まることが明らかになって、薬の一部は市場から撤退せざるを得なかった。このような問題の背景には、関連する Oxylin の働きの多彩さに対する認識不足があったのかもしれない。

4. まとめ

本論では、生体膜における DHA の存在理由について、C22:6n-3 という構造の膜中の柔軟性のもつ意味 (「柔軟性仮説」) と、DHA の酸化的代謝物を含む Oxylin の多様性のもつ意味、という 2 つの視点から考察した。特に「柔軟性仮説」によって、2000 年代前半ぐらいまで主流であった膜の「流動性仮説」が必ずしも DHA の作用には当てはまらないことが次第に明らかにされ、2000 年代から大きく進展したシミュレーション技術によりその構造のフレキシビリティこそが DHA が持つ構造的本質ではないか、と考えられるようになってきた。この「柔軟性仮説」によって、様々な細胞膜現象における DHA の役割が理解できるようになり、膜の環境によってはそこに挿入された DHA は飽和脂肪酸のようにリン脂質のパッキングを強めモビリティを下げる

場合もあるし、また逆に適応的に膜蛋白質・受容体等の動きやすさを促進したりする場合もある、といったことも理解されるようになる。そして、 $\omega 3$ 系で共通の構造であるメチル末端の環状化のし易さは、他の $\omega 6$ 系や $\omega 9$ 系の脂肪酸では見られないもので、Terpenoid系との構造的類似性をもたらし、ある種の受容体や転写調節因子を制御できるようになり、膜構造の曲率変化や膜蛋白質の構造変化がもたらす膜深部でのギャップを補完し、膜に安定性をもたらす膜機能がスムーズに果たせるようになる、と考えられる。

一方、Oxylipinの多様性は、C18～C22の長い炭化水素鎖の酸素化代謝物だけでなく、もっと短い中鎖や短鎖の代謝物やTerpenoid系にまで広げて、拡張Oxylipinの中で捉えることに意味があり、Docosanoidの多様な役割も際立ってくると思われる。そして、Oxylipinの役割の理解のためには、互いの類似性への気付きとともに、それら同士の相互作用という観点から代謝シミュレーションをおこないながら、詳細な実験を進めていくことが重要であろう。特に、Oxylipinの安定同位体を用いて、複数のOxylipinが混在している組織細胞という条件下で、ある細胞現象が起こっていく時間経過と複数のOxylipinがどのようなタイムコースでどう代謝されていくのか、を対応させて見ていく包括的な実験が必要であろう。

ここで述べたDHAの「柔軟性仮説」は、まだ仮説である。今後の豊富でスマートな実験研究と深い考察によって、DHAの役割など脂質栄養についての概念が深まっていくことを切に願うものである。

謝辞

この総説は、第25回日本脂質栄養学会大会（秋田市）で著者に授与されたランズ賞（栄養功労賞）の受賞講演を基にまとめられたものである。発表の機会を頂いた小林哲幸理事長をはじめ学会事務局・理事会の方々に感謝したい。また岐阜大学在職中の研究に協力いただいた多くの学生と大学院生にも感謝したい。

参考文献

1. Hammond EG, Lundberg WO. J Am Oil Chem Soc. 30: 438-441, 1953.
2. Spector AA, Kim HY. J Lipid Res. 56: 11-22, 2015.
3. Voss A, Reinhart M, Sankarappa S, Sprecher H. J Biol Chem. 266: 19995-20000, 1991.

4. Infante JP, Huszagh VA. FEBS Lett. 468: 1-5, 2000.
5. Crawford MA, Broadhurst CL, Cunnane S, *et al.* Mil Med. 179: 61-75, 2014.
6. Calder PC. Biochim Biophys Acta. 1851: 469-484, 2015.
7. Hashimoto M, Hossain S, Al Mamun A, *et al.* Crit Rev Biotechnol. 17: 1-19, 2016.
8. Yoshida S, Sato A, Okuyama H. Jpn J. Pharmacol. 77: 11-22, 1998.
9. Singer SJ, Nicolson GL. Science. 175: 720-731, 1972.
10. Stubbs CD, Smith AD. Biochim Biophys Acta 779: 89-137, 1984.
11. Applegate KR, Glomset JA. J Lipid Res. 27: 658-680, 1986.
12. Applegate KR, Glomset JA. J Lipid Res. 32: 1635-1644, 1991.
13. Feller SE. Chem Phys Lipids 153: 76-80, 2008.
14. Urquiza, AMd, Liu S, Sjöberg M, Zetterström RH, Griffiths W, *et al.* Science 290: 2140-2144, 2000.
15. Egea PF, *et al.* in PDB, <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=1mv9>
16. Godbout R, *et al.* in AGCOH, http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC_FABP7.html
17. Antonny B, Vanni S, Shindou H, Ferreira T. Tr Cell Biol. 25: 427-436, 2015.
18. Bigay J, Antonny B. Dev Cell 23: 886-895, 2012.
19. Guixà-González R, Javanainen M, Gómez-Soler M, *et al.* Sci Rep. 6: 19839, 2016.
20. Lebon G, Warne T, Edwards PC, Bennett K, *et al.* Nature 474: 521-525, 2011.
21. Kalani MYS, Vaidehi N, Hall SE, Trabanino RJ, *et al.* Pro Nat Acad Sci. 101: 3815-3820, 2004.
22. Yoshida S, Yasuda A, Kawazato H, Sakai K, *et al.*, J Neurochem. 68: 1261-1268, 1997.
23. Yoshida S, Miyazaki M, Zhang QZ, Sakai K, Fujimoto I, Ikenaka K, Ikemoto A, Okuyama H. J Neurosci Res. 63: 185-195, 2001.
24. Zimmer L, Delpal S, Guilloteau D, *et al.* Neurosci Lett. 284: 25-28, 2000.
25. Mathieu G, Denis S, Langelier B, *et al.* Neurochem Int. 56: 94-100, 2010.
26. Roqueta-Rivera M, Abbott TL, Sivaguru M, *et al.* Biol. Reproduc. 85: 721-732, 2011.
27. Boesze-Battaglia K, Schimmel RJ. J Exp Biol. 200: 2927-2936, 1997.
28. Bazan NG. Invest Ophthal Vis Sci. 48: 4866-4881, 2007.

29. Wei D, Li J, Shen M, Jia W, *et al.* Diabetes 59: 471-478, 2010.
30. Kafrawy O, Zerouga M, Stillwell W, Jenski LJ. Cancer Lett. 132: 23-29, 1998.
31. Hannafon BN, Carpenter KJ, Berry WL, Janknecht R, *et al.* Mol Cancer 14: 133, 2015.
32. Rushworth JV, Hooper NM. Int J Alz Dis. Article ID 603052: 1-14, 2011. doi:10.4061/2011/603052.
33. Santos G, Diaz M, Torres NV. Front Physiol. 7: 90, 2016.
34. Stillwell W, Wassall SR. Chem Phys Lipids 126: 1-27, 2003.
35. Williams JA, Batten SE, Harris M, *et al.* Biophys J. 103: 228-237, 2012.
36. Kinoshita K, Kawato S, Ikegami A, Yoshida S, Orii Y. Biochim Biophys Acta 647: 7-17, 1981.
37. Jing K, Song KS, Shin S, Kim N, *et al.* Autophagy 7: 1348-1358, 2011.
38. Johansson I, Monsen VT, Pettersen K, Mildenerberger J, *et al.* Autophagy 11: 1636-1651, 2015.
39. Astarita G, Kendall AC, Dennis EA, Nicolaou A. Biochim Biophys Acta 1851: 456-468, 2015.
40. Christie W. *in* AOCS Lipid Library, Plant Oxylipins, 2014. (<http://lipidlibrary.aocs.org/content.cfm?ItemNumber=39315>)
41. Groeger AL, Cipollina C, Cole MP, *et al.*, Nat Chem Biol. 6: 433-441, 2010.
42. Kim HY, Moon HS, Cao D, *et al.* Biochem J. 435: 327-336, 2011.
43. The LipidHome: <http://www.lipidhome.co.uk/lipids/fa-eic/fa-nitro/index.htm>
44. Theofilopoulos S, Wang Y, Kitambi SS, *et al.* Nat Chem Biol. 9: 126-133, 2013.
45. Griffiths WJ, Abdel-Khalik J, Hearn T, *et al.* Biochem Soc Trans. 44: 652-658, 2016.
46. Takahashi T, Yoshida S. Lipids 49: 905-917, 2014.
47. Fu Z, Sinclair AJ. Pediatric Res. 47: 414-417, 2000.
48. Park HG, Lawrence P, Engel MG, *et al.* FEBS Lett. 590: 3188-3194, 2016.
49. Pitt B, Pepine C, Willerson JT. Circulation 106: 167-169, 2002.
50. Vioxx Recall Information, 2014. (<https://www.drugwatch.com/vioxx/recall/>)
51. 水谷民雄、新しい薬学をめざして 34: 1-9, 2005. (<http://pha.jp/shin-yakugaku/doc/W11-1.pdf>)