脂肪酸リモデリング, 脂肪滴形成と脂肪毒性

Fatty Acid Remodeling, Lipid Droplet Formation and Lipotoxicity

芦部文一郎

明治薬科大学生化学教室
〒204-8588 東京都清瀬市野潮 2-522-1

Bun-ichiro ASHIBE
Department of Biochemistry, Meiji
Pharmaceutical University
2-522-1 Noshio, Kiyose, Tokyo 204-8588,
JAPAN

本島清人

明治薬科大学生化学教室
〒204-8588 東京都清瀬市野潮 2-522-1

Kiyoto MOTOJIMA
Department of Biochemistry,
Meiji Pharmaceutical University
2-522-1 Noshio, Kiyose, Tokyo 204-8588,
JAPAN

論文要旨: ゲノム解析が進み、脂肪酸代謝に関わる酵素と調節因子の数の多さと、多様性と多重性が明らかになった。遺伝子産物である酵素の発現と活性、それらの調節の詳細については今後の研究を待たなければならないが、現時点でも食物由来の飽和および不飽和脂肪酸の体内脂質代謝に及ぼす影響を分子レベルで考察を始めることが可能となった。中でも、過剰な脂質が細胞機能を障害する脂肪毒性は、多くの疾患の原因と考えられており、その発生機構については多くの研究がなされている。本総説では、まず脂肪酸リモデリング系について、その食物由来の脂質に対する適応システムとしての重要性和柔軟性を概説する。次いで脂肪毒性の発生機構として提出されている代表的な仮説の検証を行いながら、防御機構としての脂肪酸リモデリング系と脂肪滴形成の組織特異的な意義について述べる。

Abstract: Genome analysis has made great progress in our understanding of a large number of diverse and overlapping enzymes and regulators involved in fatty acid metabolism. Although investigation on the regulation of expression and activities of these enzymes has to await further progress, it is becoming possible to consider the effect of dietary saturated and unsaturated fatty acids on whole-body lipid metabolism at the molecular level. Based on this progress, several mechanisms have been proposed to explain how an excess fat impair the cellular functions (so-called lipotoxicity). In this review, we will present and discuss the regulation of fatty acid remodeling system and lipid-droplet formation and their tissue-specific roles in fatty acid-induced lipotoxicity.

Key words: lipotoxicity, fatty acid remodeling, ER stress, lipid droplet

1 はじめに

脂肪酸は生体にとって重要なエネルギー源であり、膜機能維持のための必須の構成成分であり、シグナル分子生成の材料であり、さらにはシグナル分子そのものでもある、という構造的にも機能的にも多面性をもつ。動物(ヒト)の場合は、この脂肪酸を体内で生合成するとともに、食物からも脂質の形で大量に取り込む。ヒトが摂る食物の脂質組成は、ヒトの体内とは異なり、ヒト体内にはほとんど存在しない脂質成分や高度不飽和脂肪酸が

含まれる。これら多様な脂質分子を体内に取り込むヒトは、不要な分子を代謝解毒し、利用可能な分子はその分子型と量比を整える(リモデリング)必要がある。今まで総体としてしか捉えられなかった脂肪酸リモデリングが、ゲノム解析の進展にともない、脂肪酸リモデリングを触媒する酵素アイソファームの存在が明確となったために、これら酵素の発現調節や生理的意義を解析し考察することが可能となった。一方、細胞内脂肪滴については、プロテオーム解析技術の発展にともない脂肪滴付着タンパク質の同定が可能になったのを契機に、脂肪細胞以外の脂肪滴の役割に関する研究も進んできた。そこで本総説では、脂肪毒性を脂肪酸リモデリングと脂肪滴形

連絡者: 本島清人
E-mail: motojima@my-pharm.ac.jp

成の観点から考えてみる。

2 脂肪酸と脂肪酸を含む脂質の存在状態

脂肪酸は細胞内で遊離型ではほとんど存在せず、多くはエステル体として存在する。遊離脂肪酸は脱共役活性や界面活性化作用の毒性を持ちうるため、細胞内では速やかに CoA 体に変換され、残る遊離脂肪酸も細胞質にもっとも豊富に存在するタンパク質のひとつである脂肪酸結合タンパク質 (fatty acid binding protein, FABP) にトラップされている。この脂肪酸利用のための初発過程を触媒する acyl-CoA synthetase は、ヒトゲノム中に独立した 26 個の遺伝子にコードされており、脂肪酸の炭素数と不飽和度の違いによる基質選択性はあるものの、機能的には多重に overlap していることが知られている¹⁾。速やかな脂肪酸の CoA 体への変換が細胞にとっていかに重要であるかが推察できる。acyl-CoA からホスファチジン酸を経て合成される主要な脂質分子型は、極性をもたないトリアシルグリセロールと、極性をもつグリセロリン脂質の二つである。さらにコレステロールエステル中では非極性脂質の構成成分として、またスフィンゴリン脂質やスフィンゴ糖脂質中ではエステル体としてではなくスフィンゴシンとアミド結合し極性脂質の構成成分として存在する。脂肪酸が極性脂質分子の成分として存在するか、それとも非極性脂質分子の成分として存在するかの違いはきわめて重要である。極性をもたない脂質分子は、水環境の中では孤立し、生体膜の成分ともならないため、いわば生体反応系から隔離された環境にある。そのためこれらの分子中で存在する脂肪酸は貯蔵型あるいは不活性型であり、脂肪酸の分子型はリパーゼによって切り出されるまでは、さほど重要な意味をもたない。脂肪酸負荷の場合に細胞内で形成される脂肪滴は、中性脂質をリン脂質が取り囲む形で存在し、大量の脂肪酸を隔離する役目を果たしている。それに対し、極性脂質分子はその両親媒性のために、生体膜を構成し、非極性分子と水の界面にも存在する。したがってその分子型と電荷は、極性脂質と相互作用し生体反応を触媒するタンパク質の活性に多大な影響を与えうる。

3 膜脂質成分としての飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸

膜の極性脂質の脂肪酸組成変化は、コレステロール含量とともに膜の流動性を左右し、膜の機能発現に重大な影響をもつ。一般に脂肪酸の炭素鎖が長くなるほど、不飽和度が低いほど、膜の流動性は低下する。膜に存在するタンパク質の機能発現のためには膜の流動性を一定に維持すること、すなわち膜内コレステロール含量と膜脂質の脂肪酸組成を、細胞に流入する脂質の質と量のいか

んにかかわらず、一定の範囲内に保つ機構をもつことが生命維持に必須である。さらに細かく言えば、同一膜内にあっても、ミクロドメインの脂質組成を維持するという精密な調節が重要である。そのため、脂肪酸を含む脂質を食物から大量に摂取する動物は、外来脂肪酸の鎖長や不飽和度を、自らに適した脂肪酸組成に変える脂肪酸リモデリングシステムを進化の過程で発展させる必要があった。さらに、植物や微生物などのみが生合成し、動物の体内では合成されることのない鎖長や不飽和の位置が異なる、あるいは分岐した脂肪酸 (異型脂肪酸) への対応システムも、動物は持つ必要があった。ただ、食物から入る脂質は一過的であることと、食物により脂肪酸組成の偏りは著しくても、必ず混合物であることに留意する必要がある。また、食物から流入する脂質組成を、直ちにリモデリングしなければならないわけでもない。上述のように、とりあえず活性をもたない非極性分子に変換し、後に述べる脂肪滴として隔離してから徐々に代謝利用することが可能である。

4 脂肪酸リモデリング

動物の生存のために必須である脂肪酸リモデリングシステムは、組織ごとに異なる意味合いをもち、基質特異性の overlap する多重のシステムが進化の過程で構築されてきた。動物体内での脂肪酸生合成は、まず細胞質において脂肪酸合成酵素 (fatty acid synthase, FAS) によって C16:0 パルミチン酸まで合成される。つづく小胞体膜上での延長反応も細胞質と同様に acyl-CoA と malonyl-CoA の 4 段階の縮合反応が進むが、FAS による合成とは異なり acyl carrier タンパク質を必要とせず、CoA 誘導体として鎖長が延長される。すなわち、食事脂肪酸由来の acyl-CoA はこの系でリモデリングを受ける。この律速過程である鎖長延長反応を触媒するのが elongase で elongation of very long chain fatty acid から ELOVL で略記され、ヒトやマウスでは 7 種類が知られる²⁾。不飽和度と鎖長によって各 ELOVL が良い基質とする脂肪酸が異なることが知られており、飽和あるいは一価不飽和脂肪酸の鎖長延長反応を触媒する ELOVL 1, 3, 6 と、多価不飽和脂肪酸を鎖長延長する ELOVL 2, 4, 5 の 2 グループに大別される。なお、ELOVL 7 については解析されていない。

一方、ヒトでの脂肪酸の不飽和化は、飽和脂肪酸であるパルミチン酸あるいはステアリン酸の $\Delta 9$ 位に、最初のシス型二重結合を導入する stearoyl-CoA desaturase (SCD) と、すでに存在する二重結合とカルボキシ基の間を不飽和化する fatty acid desaturase (FADS) に大別される³⁾。ヒト SCD には 2 種類のアイソフォームが知

られるが、マウスでは4種類報告され、複雑な遺伝子進化が示唆されている。またヒトFADSとしてFADS1からFADS6まで報告されているが、これ以外に他生物遺伝子との相同性から不飽和化活性が推定されるものもあり、活性との対応を含め、命名も今までのところ十分には整理されていない。いずれにしても多数の脂肪酸リモデリング酵素が存在し、内因性と食物由来の脂肪酸の延長反応と不飽和化が脂肪酸利用系とのバランスの中で進められる。

5 脂肪酸リモデリングシステムの多様性と多重性

脂肪酸リモデリング酵素にみられる多様性とは、個々の酵素が高い基質特異性を持ち固有の反応にかかわる厳密なリモデリング経路が複数存在する、という意味ではない。ELOVL4の欠損がある種の黄斑変性症の原因であることが明らかにされ⁴⁾、この酵素が網膜に多く発現していることと対応するが、他組織でも発現している。脳のミエリンのスフィンゴ脂質に重要な極長鎖脂肪酸合成に関わるとされるELOVL1も、脳以外での組織での発現レベルは高く、同じELOVLが発現している組織によって異なる役割を演じていると考えられる。また、最近のScd1⁵⁾やElovl6⁶⁾遺伝子ノックアウトマウスの解析でも、これら酵素の特異的な働きが判明したというよりは、遺伝子完全欠損のわりには通常食飼育下での脂肪酸組成への影響が小さい。無脂肪食や高脂肪食、肥満マウスとのかけ合わせ等、過大なストレスを与えた時に野生型との差がみられている。これらの結果は、脂肪酸リモデリングシステムが、1過程が1酵素によって担われる独立した経路の集まりから成り立っているのではなく、最終的なバランスを保つように補完しあう多重なシステムによっていることを示している。

6 脂肪酸リモデリング酵素群の組織での発現パターン

代表的な脂肪酸リモデリング酵素のヒト組織での分布の概略をTable 1に示す³⁾。各リモデリング酵素が重複

する組織特異性をもって発現し、組織ごとに固有の組み合わせを持っていることがわかる。これは、各組織に流入しうる脂肪酸の種類と量、そこで必要とする脂肪酸に違いがあることを反映している。ただし、Table 1に示すのは、mRNAの発現量であり、各酵素のタンパク質量さらには酵素活性量については解析が進んでいない。

7 脂肪酸リモデリング系の調節

脂肪酸合成系とリモデリング系の調節の研究は、従来はフィードバックを中心とする翻訳後の酵素活性調節が主体であった。決してこの段階の調節が重要でなくなったわけではないが、昨今の遺伝子発現解析技術の進歩によって、生化学的な速度論的解析よりも遺伝子転写調節レベルの研究が飛躍的に容易になった。その結果、さまざまな実験系を用いて、脂肪酸代謝系酵素遺伝子の発現調節の報告がなされ、今後もこうした状態が続くものと予想される。報告される実験結果は、生物種、組織、細胞株などがさまざま、各々の系での脂肪酸リモデリングは異なる生理的意味をもつため、統一的な調節の仕組みは考えにくい。Fig. 1には、肝臓を中心とした脂肪酸リモデリング系酵素の発現調節を示した。この機構が、他の組織細胞にもそのまま当てはまるわけではないことに留意する必要がある。

主要な転写因子は、SREBPとPPAR α である。はじめはコレステロール代謝調節の主要な転写因子として同定されたSREBPは、そのサブタイプSREBP2がコレステロール代謝を、SREBP1cが脂肪酸代謝を調節する。通常は前駆体の形で小胞体膜タンパク質として存在するSREBPは、膜脂質の変化を感知してゴルジ装置へ移動し、そこに局在するプロテアーゼによる切断を受け、リガンド結合に依存しない形で活性化され、核内に移行し転写因子として働く。脂肪酸リモデリングシステムのSCD1, ELOVL6, FADSはSREBP群のターゲット遺伝子である⁶⁾。後に述べる小胞体ストレスがSREBPを活性化するという報告が複数ある⁷⁾。脂肪酸の β 酸化系

Table 1 代表的な脂肪酸リモデリング酵素の各組織における発現³⁾

	脂肪酸リモデリング酵素						
	SCD1	SCD2	FADS5	FADS6	ELOVL2	ELOVL4	ELOVL5
肝臓	○		○	○			
胎児肝臓	○		○	○	○		○
精巣	○		○	○			○
全脳	○		○	○		○	○
神経							
肺	○			○			○
腎臓		○	○	○			
脾臓		○					
胸腺	○		○	○		○	○

Fig. 1 肝臓における主要な脂肪酸リモデリング系とその転写調節

酵素遺伝子の転写を活性化することが知られる PPAR α は、脂肪酸リモデリング系酵素遺伝子の転写も活性化する。PPAR α の活性化は長鎖不飽和脂肪酸あるいはその代謝物が良いリガンドとなって結合することによるとされている。脂肪酸の種類によってアゴニスト活性、場合によってはアンタゴニスト活性が異なり、それがリモデリング系の自己調節機構となっている可能性はある。また、PPAR α は小胞体膜の恒常性維持に重大な脅威となり得る植物由来脂質や生体外異物などの異型脂質分子の解毒代謝に関わる、P 450 群や ω 酸化経路の酵素遺伝子群の転写調節も行っている。

8 脂肪毒性と小胞体ストレス応答

脂肪細胞以外の細胞は、対処しきれない脂肪酸流入によって機能不全に陥るが、この過剰な脂肪酸が起す悪影響を脂肪毒性 (Lipotoxicity) と呼ぶ。高濃度の脂肪酸にさらされ続けると、骨格筋ではインスリン抵抗性、心筋では収縮不全、膵 β 細胞においてはインスリン分泌能の低下などが起こることが知られ、メタボリックシンドロームにかかわる糖尿病の発症と深い関わりをもっている。しかし脂肪酸が脂肪毒性を引き起こす機構は明らかになっておらず、以下に述べるように小胞体ストレス応答を介する経路と、それ以外の経路が存在すると考えられる。現在は小胞体ストレス応答を介する経路の解析が盛んである。小胞体ストレス応答が脂肪毒性の指標として簡便に測定できることから、いろいろな培養細胞系と代表的な脂肪酸を用いて、脂肪毒性発生の機構が研究

されている。

小胞体ストレス応答とは、哺乳動物細胞における小胞体でのタンパク質の折り畳み不全に対応する防御反応である。様々な原因により、小胞体でのタンパク質の合成反応は阻害される場合がある。小胞体ストレス応答を起こす要因を小胞体ストレスと呼ぶ。たとえば還元的な環境下では、タンパク質の SS 結合形成ができず、正しい折り畳みは阻害される。糖タンパク質の場合は小胞体内での糖鎖付加と糖鎖修飾が阻害されると、やはりタンパク質の正しい折り畳みは阻害される。こうした小胞体ストレスが小胞体内での折り畳まれていないタンパク質の増加を引き起こす。これを小胞体膜上に存在するセンサータンパク質が感知し、最終的に転写因子を介して、複数の遺伝子の発現を変化させる。その結果、全般的なタンパク質合成の抑制や小胞体シャペロン (タンパク質の正しい折り畳みを制御する) タンパク質の誘導のような、小胞体の状態を正常化しようとする反応が起きる。これが小胞体ストレス応答、または Unfolded Protein Response (UPR) である。Fig. 2 に小胞体ストレス応答と、これにかかわる因子の全体像を示した⁸⁾。

小胞体ストレス応答は段階的に変化し、ストレスが軽度であればタンパク質翻訳の抑制や、シャペロンタンパク質の誘導、折り畳み異常タンパク質の分解により、細胞機能を維持しようとするが、ストレスが強い場合はアポトーシスに至らしめ、個体の保護を優先する。現在までに、小胞体ストレス応答による細胞死は神経変性疾患や、癌、糖尿病、動脈硬化など多くの疾患に関与するこ

Fig. 2 小胞体ストレス応答とそれに関わる分子⁸⁾

とが知られている。こうした研究が盛んなのは、過剰な遊離脂肪酸の細胞への流入が、脂質合成の場である小胞体膜の脂質組成の異常を引き起こし、膜の流動性の変化と機能の異常につながり、小胞体ストレス応答を引き起こすと考えられるからである。

9 脂肪酸の種類と小胞体ストレス

小胞体ストレス応答を指標にした脂肪酸による細胞毒性の研究から、脂肪酸の種類により引き起こされる脂肪酸毒性の程度が異なること、また細胞の種類によっても大きく異なることがわかってきた。Diakogiannaki らによれば⁹⁾、ラット膵β細胞由来のBRIN-BD 11 培養細胞を用いた実験では、0.025 mM から 0.25 mM のパルミチン酸により、小胞体ストレス応答がみられたが、1 mM のパルミトレイン酸では小胞体ストレス応答は観測されなかった。一方でパルミチン酸とパルミトレイン酸を混合して添加すると、小胞体ストレス応答は抑制されることが示された。また、チャイニーズハムスター卵母細胞由来のCHO 細胞では、パルミチン酸添加では小胞体ストレス応答が生じるが、オレイン酸添加では生じないと報告されている。最近 Kato らは⁷⁾、マウスから得た膵島をパルミチン酸で処理すると、インスリン分泌能が障害されるが、エイコサペンタエン酸を加えるとインスリン分泌機能が回復することを示した。このように、一般的に飽和脂肪酸は不飽和脂肪酸よりも脂肪酸毒性が強いということ、不飽和脂肪酸は飽和脂肪酸の脂肪酸毒性を抑制することが報告されている¹⁰⁾。

一方、不飽和トランス脂肪酸であるエライジン酸は、肝や上皮の培養細胞系をアポトーシスに導くことが報告されている¹¹⁾。共役リノール酸 (trans-10, cis-12-linoleic acid) がマウス乳がん由来細胞において、小胞体ストレス応答を引き起こすという報告もある。Wei らも共役リノール酸が飽和脂肪酸により起きる小胞体ストレス応答を増強することを報告した¹²⁾。これらの知見は、脂肪酸が小胞体ストレス応答を引き起こすか否かには、脂肪酸の不飽和度よりも分子の形が重要であり、膜の流動性を下げる直鎖に近い脂肪酸は同じ影響を与えることを示唆していそうだが、流動性の低下が脂肪酸毒性の主たる原因であるとしても、より詳細な解析が必要である。なぜならば、これらの脂肪酸が膜脂質に取り込まれ、それ自身が膜の流動性を下げる可能性のほかに、Wei らが報告している共役リノール酸による SCD1 活性の低下の方が主たる原因である可能性がある。過剰な飽和脂肪酸による小胞体ストレス応答の誘導に対する共役リノール酸の増強効果や、低濃度の不飽和脂肪酸同時添加による抑制効果は、単純な飽和脂肪酸量の増加のみでは説明しにくい。共役リノール酸や同時添加の不飽和脂肪酸が、脂肪酸リモデリングや中性脂質の合成の活性あるいは発現量に影響を与えている可能性がある。Spiegelman らのグループは、食物由来の脂肪酸が、脂肪酸合成系リモデリング系、リポタンパク質合成分泌などにかかわる酵素遺伝子発現に対して、転写因子 SREBP とコアクチベーター PGC-1β を介して作用する、という実験結果を報告している (Fig. 3)¹³⁾。培養細胞と遺伝子改変動物を用い

Fig. 3 食物由来飽和脂肪酸による転写因子 SREBP とコアアクチベーター PGC-1 β を介した転写調節¹³⁾

たこの結果も、食物由来の脂肪酸がそのまま膜脂質の組成に影響するのではないことを示している。

10 細胞の種類と脂肪酸による小胞体ストレス応答

一方、細胞の種類によって、同じ脂肪酸でも小胞体ストレス応答を指標にした脂肪毒性の程度が異なるという結果も得られている。遊離脂肪酸の影響について盛んに研究がなされている膵 β 細胞では、代表的な飽和脂肪酸であるパルミチン酸の数 μ Mの添加により、顕著なアポトーシスと小胞体ストレス応答を引き起こすことが知られている。それに対して、初代培養肝細胞は、同様のパルミチン酸添加では、細胞死や小胞体ストレス応答は顕著ではない。また興味深いことに、ヒト胎児腎臓由来の上皮系細胞である HEK 293 細胞では、飽和脂肪酸のみならず不飽和脂肪酸であるリノール酸の添加でも小胞体ストレス応答が起きることをわれわれは見出している (Ashibe ら未発表)。このように、脂肪毒性に対する細胞の適応力は細胞の種類により大きく異なる。こうした違いは、体内では組織ごとに流入する脂肪酸の種類と量が大きく異なることの反映である。脂肪酸の酸化能力と脂肪酸リモデリングの必要性和能力が細胞ごとに異なる。そして、脂肪酸を中性脂肪として脂肪滴に隔離する能力の違いが脂肪毒性への耐性度の違いとなるものと考えられる。

11 脂肪滴形成と脂肪毒性

ほとんどの細胞は、余剰の脂肪酸を中性脂肪に変換し、脂肪滴に蓄えることができる。脂肪滴の中心はトリアシルグリセリド、コレステロールエステルといった中性脂質で、周りを両親媒性のリン脂質が取り囲み、そこに脂質の輸送や代謝、リモデリングにかかわる酵素タンパク質が付着している。こうした共通構造のほか、細胞によって異なる付着タンパク質存在し、これが細胞ごとに異なる脂肪滴の生理的役割を支えている¹⁴⁾。脂肪細胞

での脂肪滴形成は、体内の中長期的なエネルギー貯蔵機構の主体である。一方、肝臓には食物由来の種類の雑多な脂肪酸を含む脂質の一時的な大量流入に対して、迅速な脂肪滴形成能力が必須であり、脂肪酸をリモデリング後血中にリポタンパク質として分泌し、他の組織の負荷とならない組成の脂肪酸を分配する役目がある。このように肝臓と末梢とは接する脂肪酸の種類と量に大きな違いがあるため、いろいろな培養細胞を用いた実験結果の解釈には注意が必要である。

Borradaile らは、CHO 細胞を 500 μ M のパルミチン酸で処理すると、小胞体画分に存在するトリアシルグリセリド中の飽和脂肪酸の比率が約 3 倍に増加し、フォスファチジルコリン中の飽和脂肪酸の比率が約 1.5 倍に増加することを示した¹⁵⁾。この結果は、チャイニーズハムスターの卵巣から樹立された繊維芽細胞株でも、過剰なパルミチン酸に対処するために、脂肪滴形成を始めること、対処しきれない分がリン脂質に取り込まれ小胞体膜の流動性を下げている可能性を示している。脂肪滴形成は良いとして、過剰の飽和脂肪酸が膜脂質に取り込まれることを直接示す彼らの結果は、はたして生体内の応答を反映しているのか疑問が残る。CHO 細胞に培地成分として連続的に添加された高濃度飽和脂肪酸の影響を、生体内での飽和脂肪酸の脂肪毒性と同じとすることは疑問が残る。

12 脂肪毒性と脂質過酸化

脂肪毒性は小胞体ストレスの観点からの研究が始まる以前より脂質過酸化から論じられてきた。リノール酸、アラキドン酸のような多価不飽和脂肪酸 (PUFAs) は活性酸素種 (ROS) により、非酵素的で複雑な反応を介し、脂質過酸化反応を起こし、多種類の間体を生じた後、より低分子な化合物に分解される。PUFAs の脂質過酸化により、まず、ヒドロペルオキシドなどが生じ、最終的にヘキサナールやアクロレインなどの飽和または不飽和アルデヒド、グリオキサール、メチルグリオキサール、マロンジアルデヒドなどのジカルボニル、そして 4-ヒドロキシ-2-ノネナール (4-HNE)、4-ヒドロキシ-2-ヘキサナール (4-HHE) のアルデヒドが生じる¹⁶⁾。これらのアルデヒドは細胞のミトコンドリアの機能を障害し、また、アポトーシスを引き起こすことが知られている。これらのアルデヒドは組織中のタンパク質と結合して、付加体として高度脂質過酸化終末産物 (Advanced Lipid Peroxidation End Products; ALE) を形成する。タンパク質が ALE となることにより、タンパク質の機能は障害され、細胞障害へとつながると考えられている¹⁷⁾。ALE に変化したタンパク質はプロテア

ソームによる分解に抵抗性があるため、細胞内に凝集体を形成することもある。

アテローム性動脈硬化症の病巣部位のプラークにおける4-HNE付加体、マロンジアルデヒド付加体の存在は本疾患の分子的指標とされている。アルツハイマー型認知症、パーキンソン病などの神経変性疾患の病巣部で4-HNE付加体の存在が確認されている。しかしながら、培養細胞を用い、リノール酸を比較的高濃度で添加しても、数日程度の処理では、細胞に細胞死などの顕著な影響は観察されない。この結果の違いは脂質過酸化による脂肪毒性と小胞体ストレス応答を介した脂肪毒性とでは、その時間的スケールや脂肪毒性が生じる条件が、かなり異なることを示している。

Fig. 4は、パルミチン酸の脂肪毒性を説明したものはあるが、脂肪毒性における小胞体ストレス応答とROSの関与、そしてそれらに対して防御的に働く脂肪滴形成をひとまとめにしたモデル図である¹⁵⁾。各ステップは、個々の実験で得られた結果に基づいてはいるものの、生体内のひとつの細胞の中で起こることが示されているわけではなく、各ステップの詳細な機構説明はこれからである。

13 その他のアプローチ

脂肪毒性発生メカニズム解明のために、小胞体ストレス応答やALEの形成に焦点を絞らずに、異なる脂肪酸負荷に応答する遺伝子を網羅的に解析する、というアプローチもみられる。Lockridgeらは、ラット初代心筋細胞に飽和あるいは不飽和脂肪酸の負荷をかけ、応答する遺伝子を時間経過を追って調べた。その結果、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸では、同じ遺伝子でも発現誘導の持続性に差があること、異なる脂肪滴付着タンパク質を誘導することを見出した。心筋細胞では飽和脂肪酸のみが、他組織では主要な脂肪滴タンパク質であるADRP (adipocyte differentiation-related protein) の発現を誘

導することに注目し、乳腺上皮細胞ではADRPで覆われた脂肪滴がキサンチンオキシダーゼを特異的に活性化するという知見を参考にして、飽和脂肪酸がADRPの多い脂肪滴を形成し、キサンチンオキシダーゼが活性化しROSが生じ、細胞死に至るという、新たな仮説を提出した。これを検証する生化学的データが待たれるが、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸とでは、遺伝子誘導の時間経過に差があるという知見と、誘導形成される脂肪滴に質的な差がある可能性の指摘は興味深い。

14 脂肪毒性研究の問題点

脂肪毒性は細胞の生存・機能に対して負に働くものである。非生理的条件下での脂質による毒性では、細胞にいくらダメージが観察されても、たとえその機構が解明されたとしても、何の生物学的意味もない。とくに培養細胞を用いて行う実験では、その点に十分留意する必要があるし、結果の解釈も慎重でなければならない。現在までの研究報告には、実験に用いている細胞がどの組織に由来し、その組織は体全体の脂質代謝においてどのような役割を担っているか、といった点を考慮に入れないものが散見される。培養細胞による比較的短期的な実験で観察することが可能であるため、最近では脂肪毒性の指標として小胞体ストレス応答がとり上げられることが多い。しかし、脂肪毒性と小胞体ストレス応答は同一ではない。実際の生体内での脂肪毒性において、小胞体ストレス応答がどれだけ重要であるか、慎重に検討する必要がある。飽和脂肪酸→膜の流動性減少→小胞体ストレス応答→脂肪毒性という図式は単純明快だが、脂肪酸による脂肪毒性発生の機構は決して明らかになったわけではない。動物の食物由来の脂質変動に対する適応能力は高い。われわれは、肝臓での脂質代謝の重要な調節因子であるPPAR α のノックアウトマウスと野生マウスの脂質プロファイルを比較して、一過的な脂肪負荷時には脂質プロファイルに大きな差がみられるが、通常食による長期飼育では、まったく差がないことを観察している。動物は重要な転写因子を欠いても、多重な代謝リモデリング系によって脂質恒常性を維持できる高い適応性をもっていると思われる。PPAR α の役割を、肝臓における脂肪酸異化代謝の亢進と脂質恒常性の維持が中心とする従来の考えに対して、われわれは、食物摂取による急激な脂質の質と量の変動に対する短期応答システムの調節を主要なものとする、と想像している。短期応答で見られる急激な変化は、必ずしもシステムの破たんの始まりや結果ではない。脂肪毒性のマーカーとして採用されているERストレス応答も、防御システムが稼働していることを示しているのであって、細胞が脂肪毒性を処

Fig. 4 パルミチン酸による脂肪毒性発生機構と脂肪滴形成による防御を示すモデル図¹⁵⁾

理できなくなったことを意味しない。脂肪毒性を疾病との関わりで考える場合でも、飽和脂肪酸や不飽和脂肪酸の短期的な影響を短絡的に解釈することは避けなければならない。最終的なシステムの破たん、疾病の発症に直接かわるか否かを、長期的な視点からの解析する必要があるだろう。

文 献

- 1) P.A. Watkins, D. Maiguel, Z. Jia & J. Pevsner, *J. Lipid Res.*, **48**, 2736-50 (2007).
- 2) A. Jakobsson, R. Westerberg & A. Jacobsson, *Prog. Lipid Res.*, **45**, 237-49 (2006).
- 3) K. Hashimoto, A.C. Yoshizawa, S. Okuda *et al.*, *J. Lipid Res.*, **49**, 183-191 (2008).
- 4) H. Sampath, M. Miyazaki, A. Dobrzyn & J.M. Ntambi, *J. Biol. Chem.*, **282**, 2483-93, (2006).
- 5) T. Matsuzaka, H. Shimano, N. Yahagi, T. Kato *et al.*, *Nat. Med.*, **13**, 1193-202 (2007).
- 6) D.B. Jump, D. Botolin, Y. wang *et al.*, *J. Nutr.*, **135**, 2503-6 (2005).
- 7) T. Kato, H. Shimano, T. Yamamoto, M. Ishikawa *et al.*, *Diabetes* (2008). (in press)
- 8) M. Schroder, *Cell Mol. Life Sci.*, **65**, 862-94(2008).
- 9) E. Diakogiannaki, H.J. Welters & N.G. Morgan, *J. Endocrinol.*, **197**, 553-63 (2008).
- 10) U. Riserus, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **11**, 100-5 (2008).
- 11) D. Zapolska-Downar, A. Kosmider & M. Naruszewicz, *J. Physiol. Pharmacol.*, **56**, 611-25 (2005).
- 12) Y. Wei, D. Wang & M.J. Pagliassotti, *Mol. Cell. Biochem.*, **303**, 105-13 (2007).
- 13) J. Lin, R. Young, P.T. Tarr, P.H. Wu *et al.*, *Cell*, **120**, 261-73 (2005).
- 14) S. Martin & R.G. Parton, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **7**, 373-8 (2006).
- 15) N.M. Borradaile, X. Han, J.D. Harp *et al.*, *J. Lipid Res.*, **47**, 2726-37 (2006).
- 16) C. Schneider, N.A. Porter & A.R. Brash, *J. Biol. Chem.*, **283**, 15539-43 (2008).
- 17) A. Negre-Salvayre, C. Coatrieux, C. Ingueneau & R. Salvayre, *Br. J. Pharmacol.*, **153**, 6-20 (2008).