

第1回 機能油脂懇話会
第12回 CLA懇話会

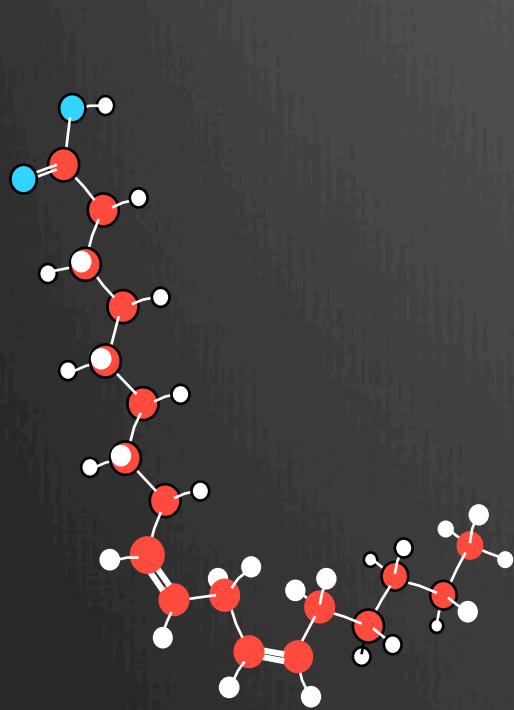
平成22年10月2日

CLAの制がん機能

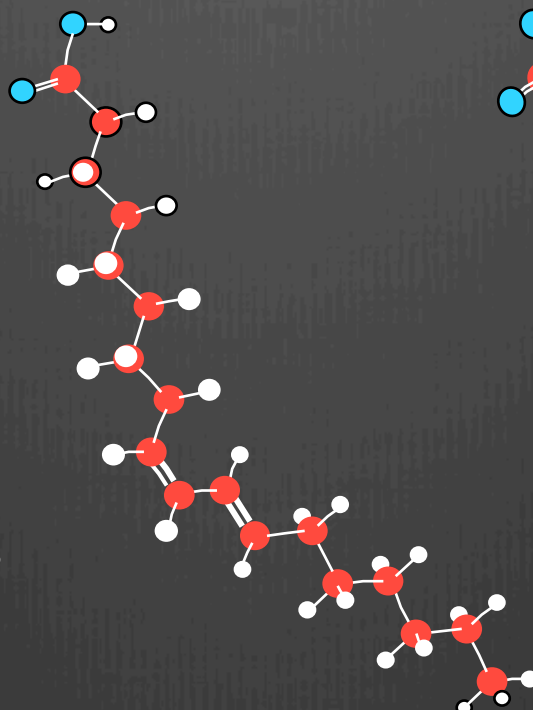
宮崎大学農学部応用生物科学科

山崎正夫

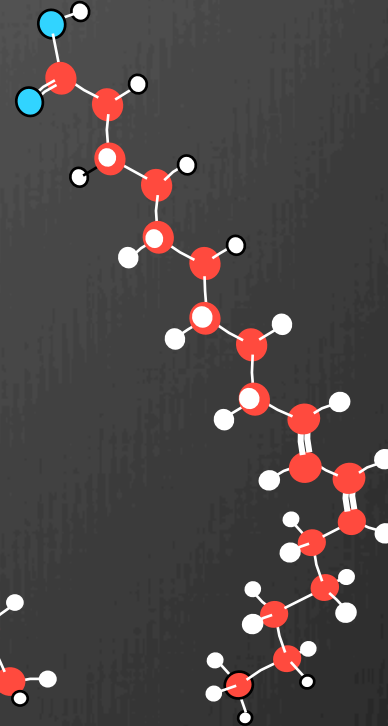
共役リノール酸 (CLA)



リノール酸



9シス、11トランス-CLA



10トランス、12シス-CLA

CLA研究の歴史

1966年 反すう動物中の腸内細菌中による生合成 (9c, 11t型)

1980年代後半-1990年代前半 CLAの抗変異原性、化学発ガン予防

異性体混合物型のCLAによる生理機能探索の時代

CLA異性体分離精製技術の開発

現在のCLAの研究対象

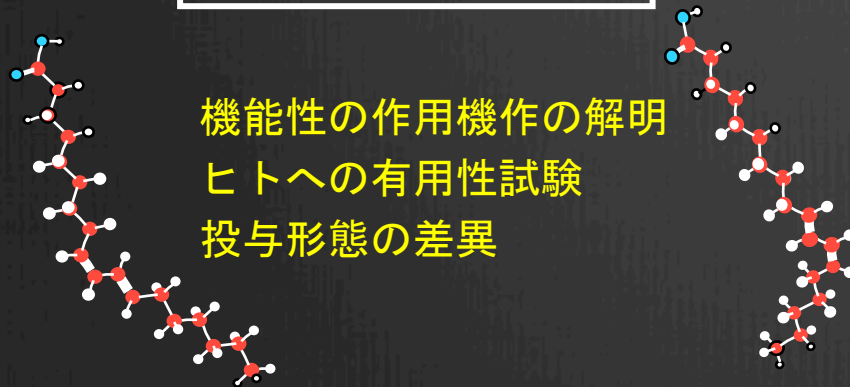
機能性の作用機作の解明
ヒトへの有用性試験
投与形態の差異

典型的な合成CLAの組成

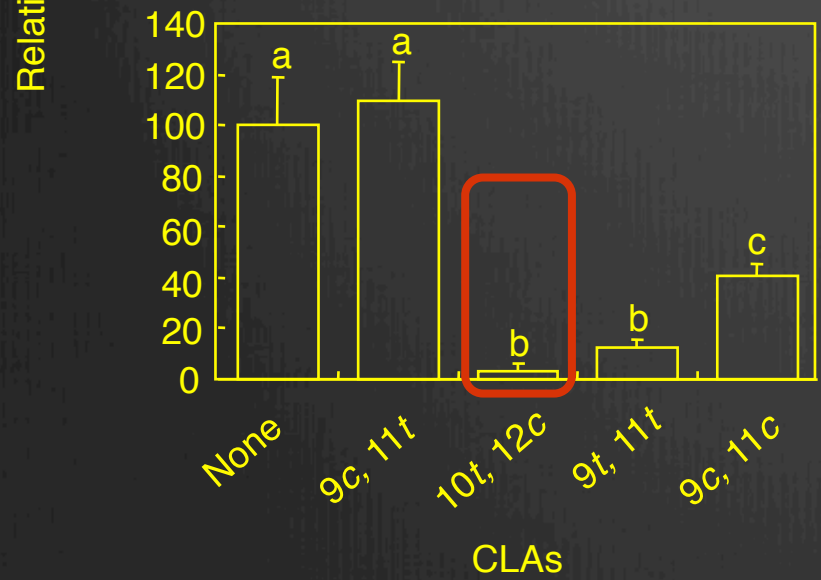
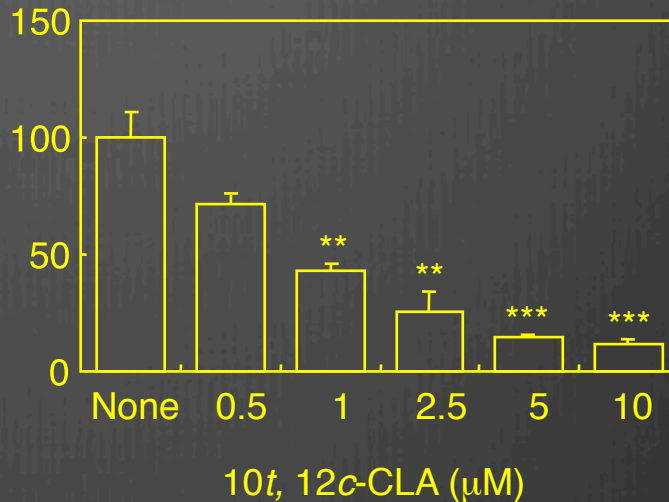
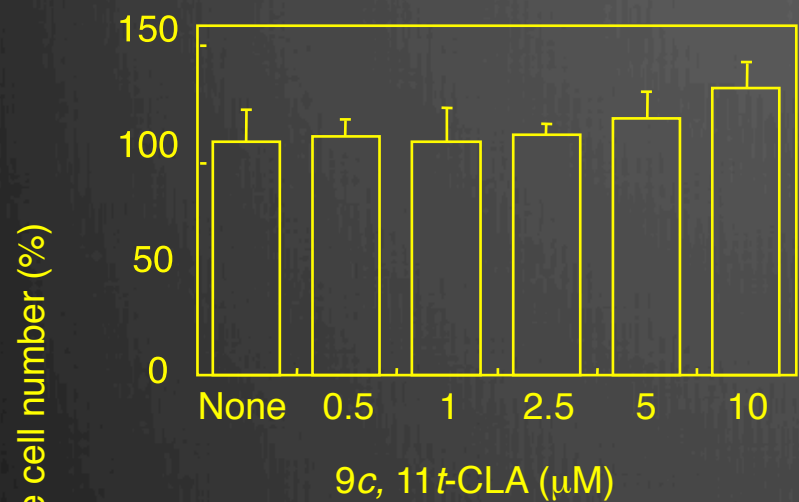
9c, 11t	46.1%
10t, 12c	47.7%
9c, 11c/10c, 12c	2.9%
9t, 11t/10t, 12t	3.5%

主なCLAの機能性

体脂肪減少効果、インスリン抵抗性の改善
化学発ガン予防、腫瘍増殖抑制
動脈硬化予防
血圧上昇抑制
免疫機能調節



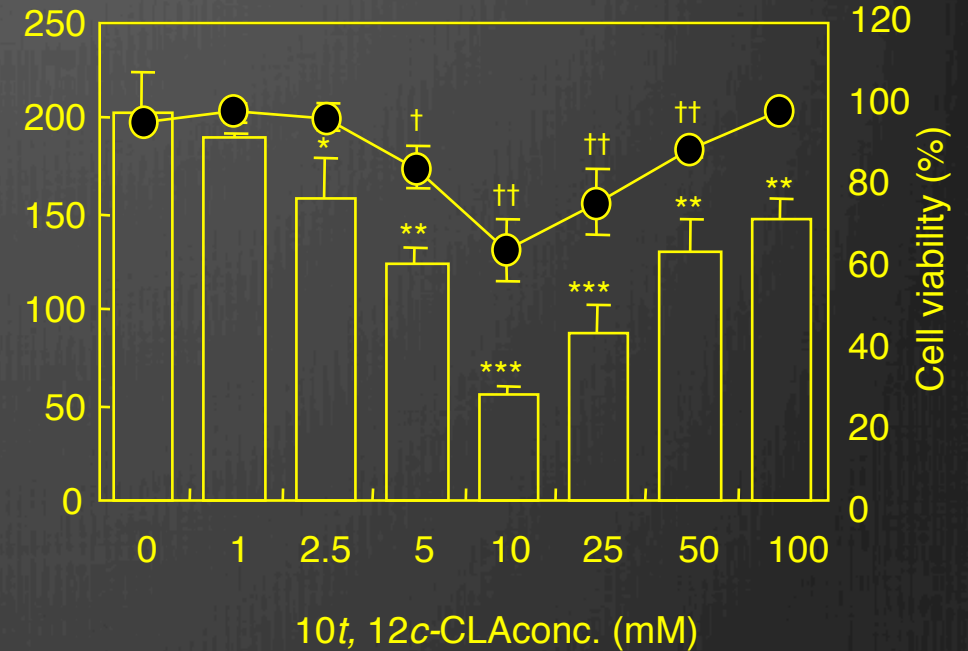
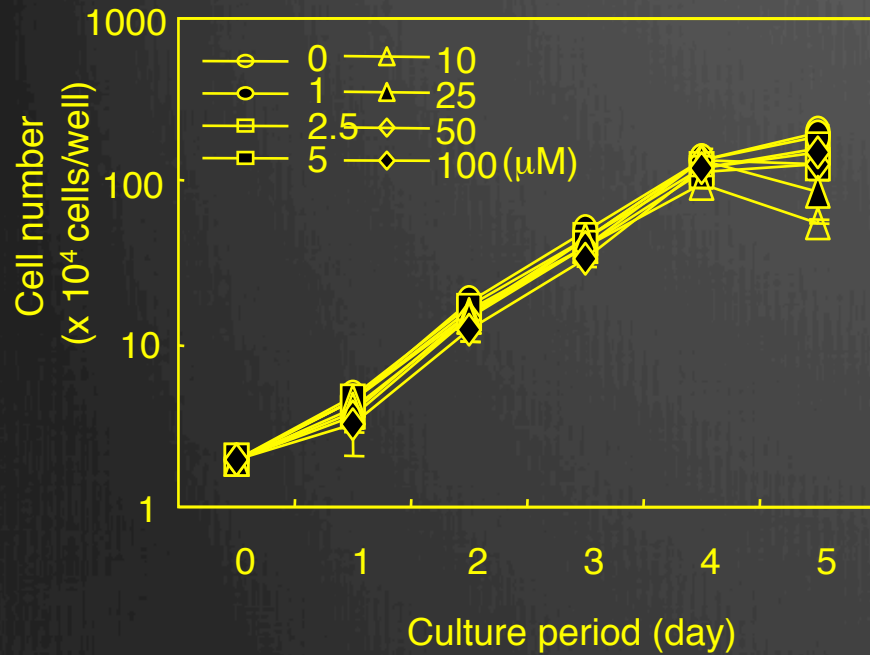
CLAの肝ガン細胞に対する細胞毒性



10t, 12c-CLAが強い細胞毒性を有する
細胞死の誘導には48-72時間程度かかる

P<0.01, *P<0.001

10*t*, 12*c*-CLAにより誘導される細胞死 (MH134細胞の場合)



作用濃度にはピークがある

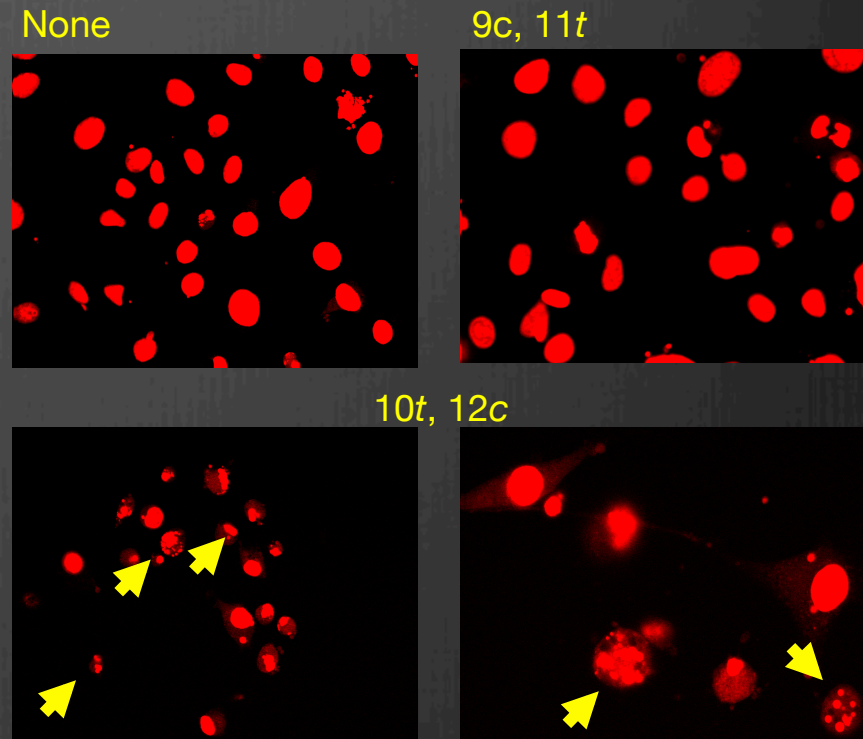
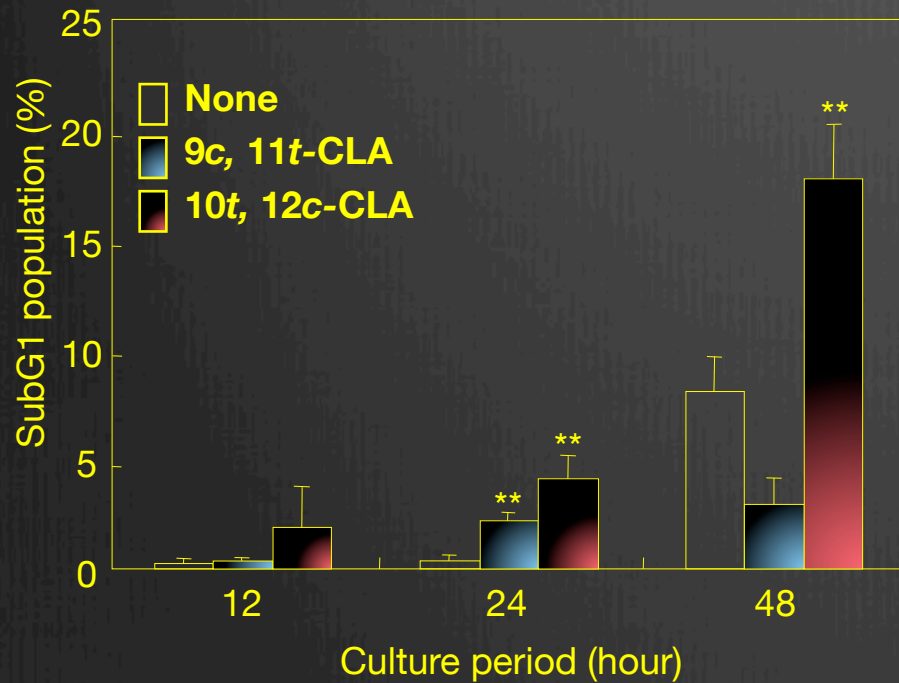
細胞死を誘導できるまでの時間が長い

細胞密度により細胞死に至るまでの時間が異なる

†,* $p < 0.05$

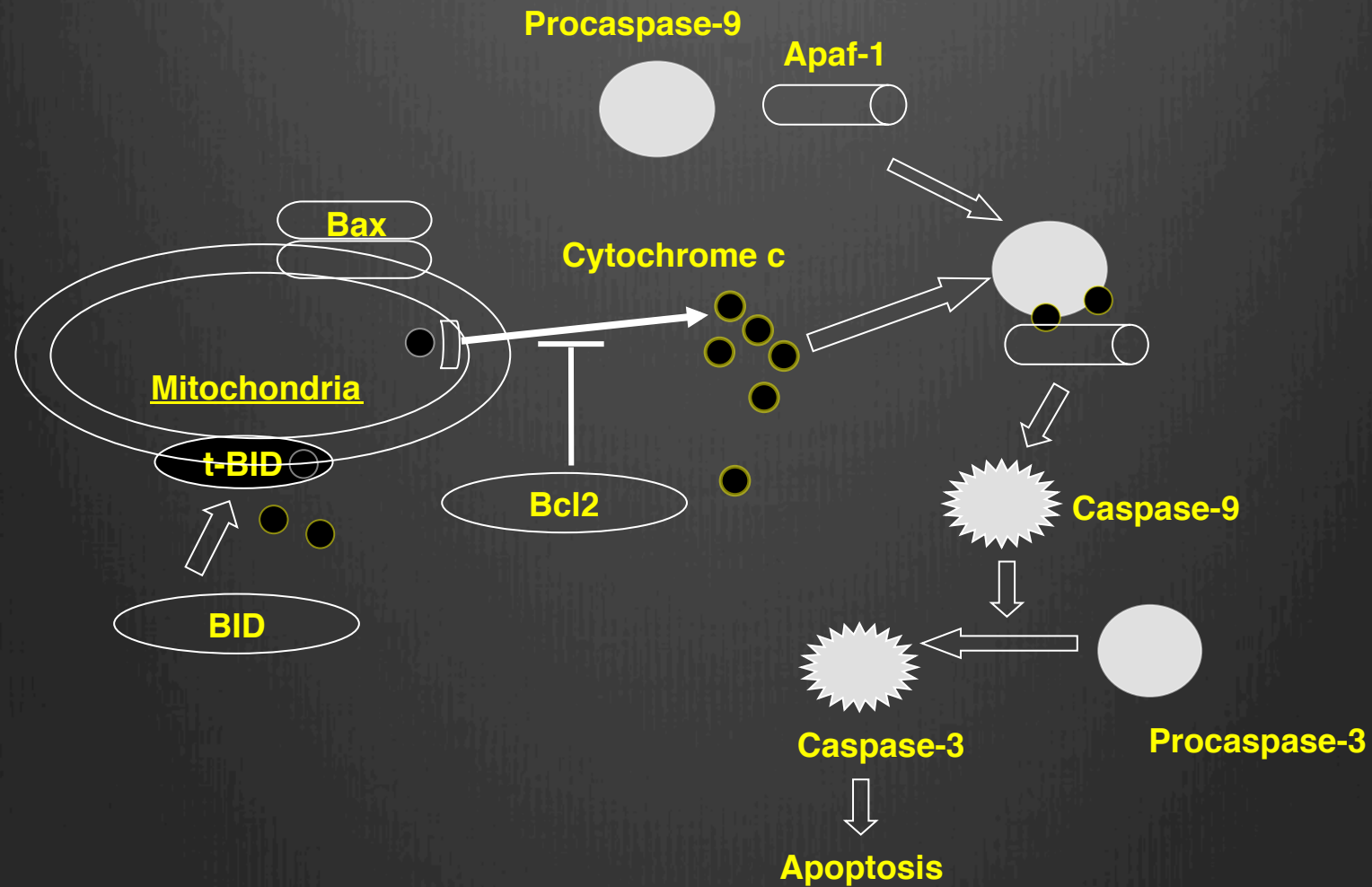
††,** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$ (n=3)

CLAによる細胞死はアポトーシス誘導によるものである

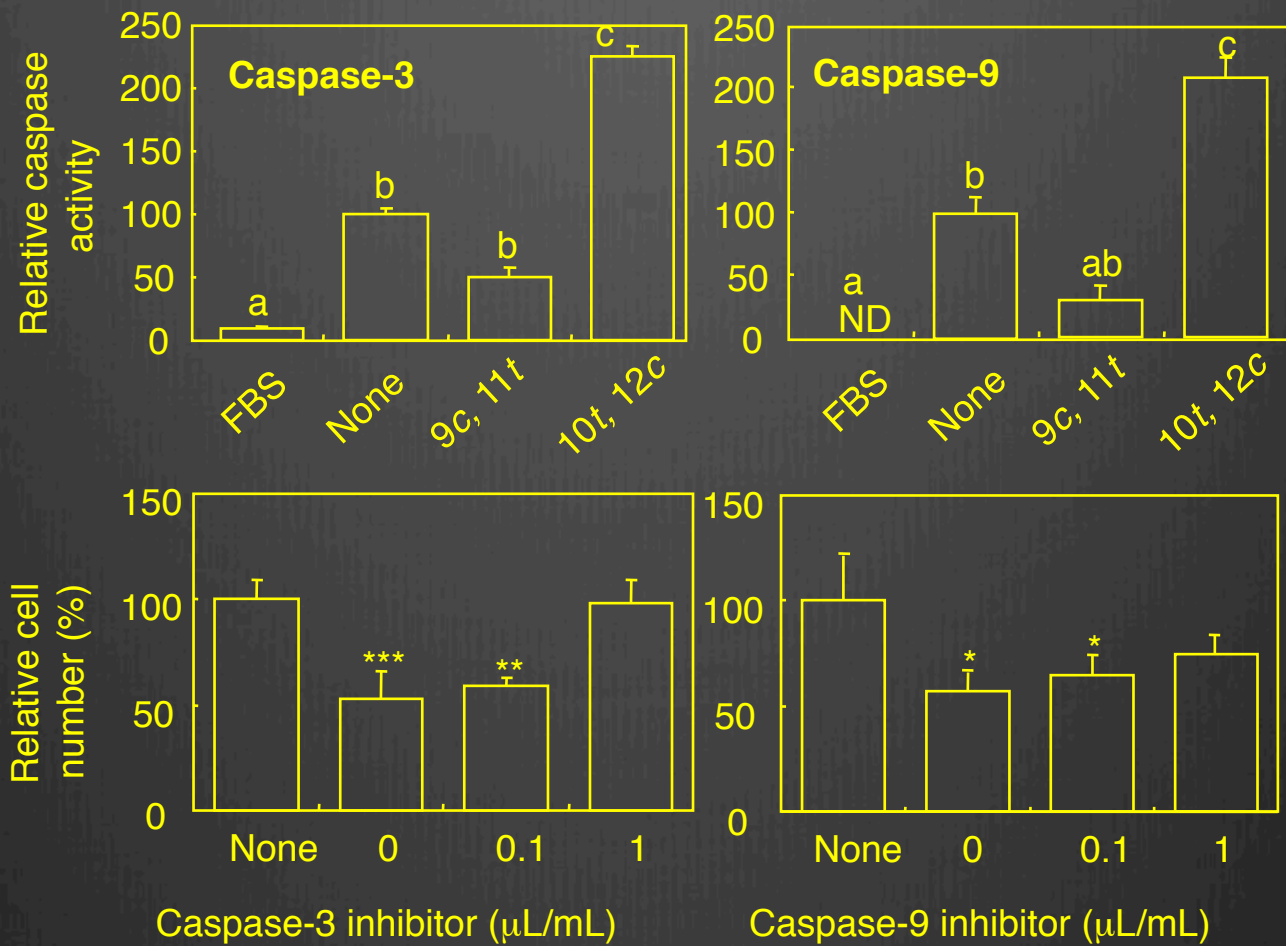


** $P < 0.01$

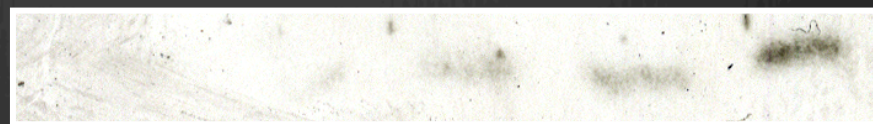
ミトコンドリアを介したアポトーシス誘導機構



10t, 12c-CLAによるアポトーシス誘導



cytochrome c



10% FBS

None

CLA

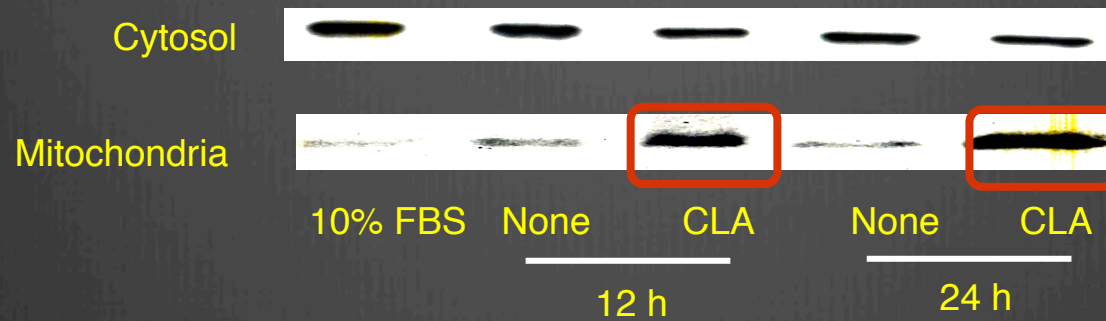
None

CLA

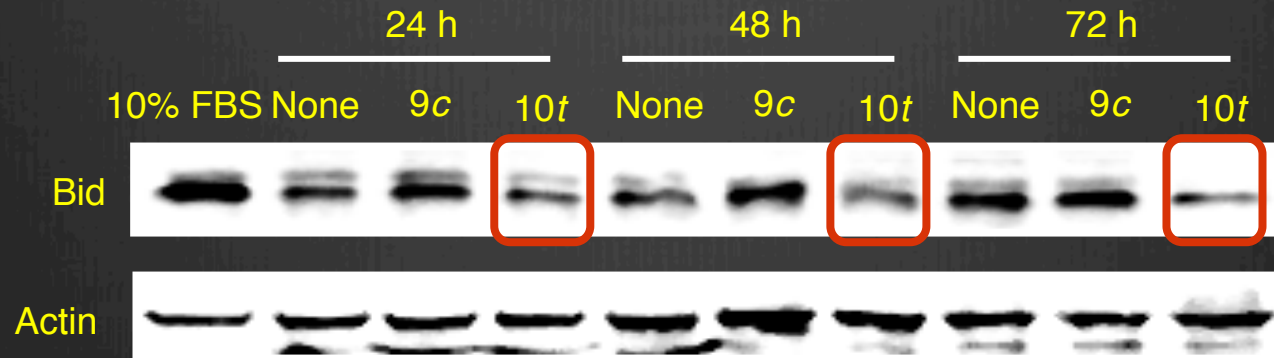
12 h

24 h

10*t*, 12*c*-CLAによるアポトーシス誘導



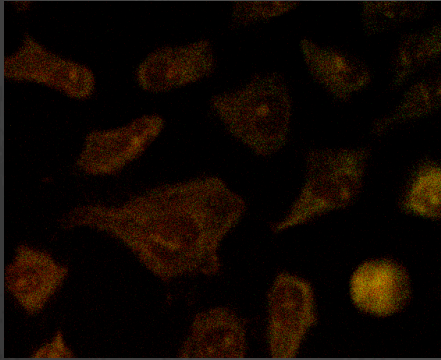
CLAはBaxのミトコンドリアへの集積を誘導する



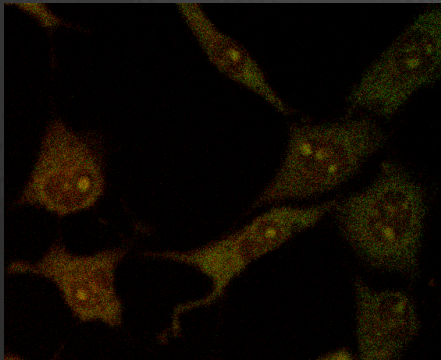
CLAはBidの分解を誘導する

10*t*, 12*c*-CLAはリソソーム崩壊を誘導する

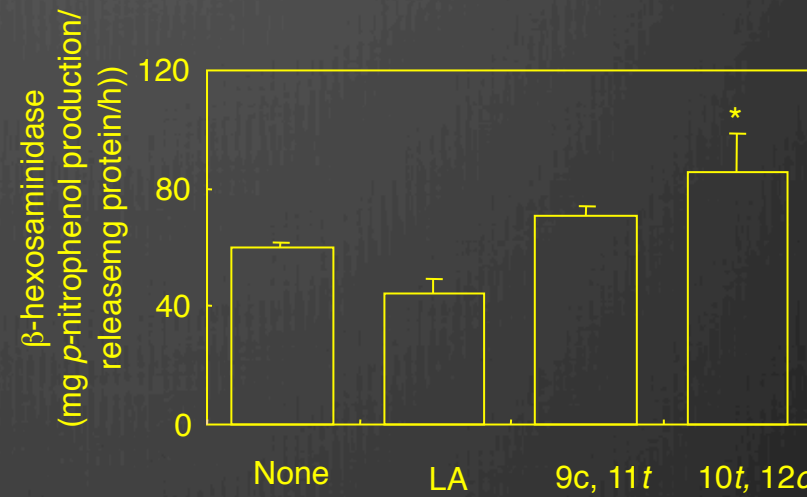
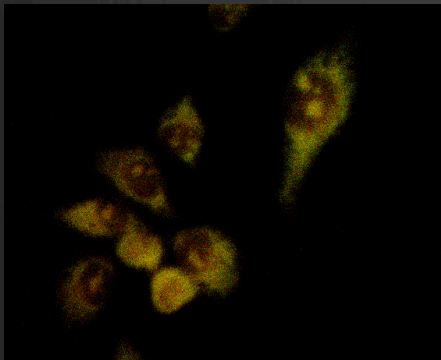
1% FBS



9*c*, 11*t*-CLA



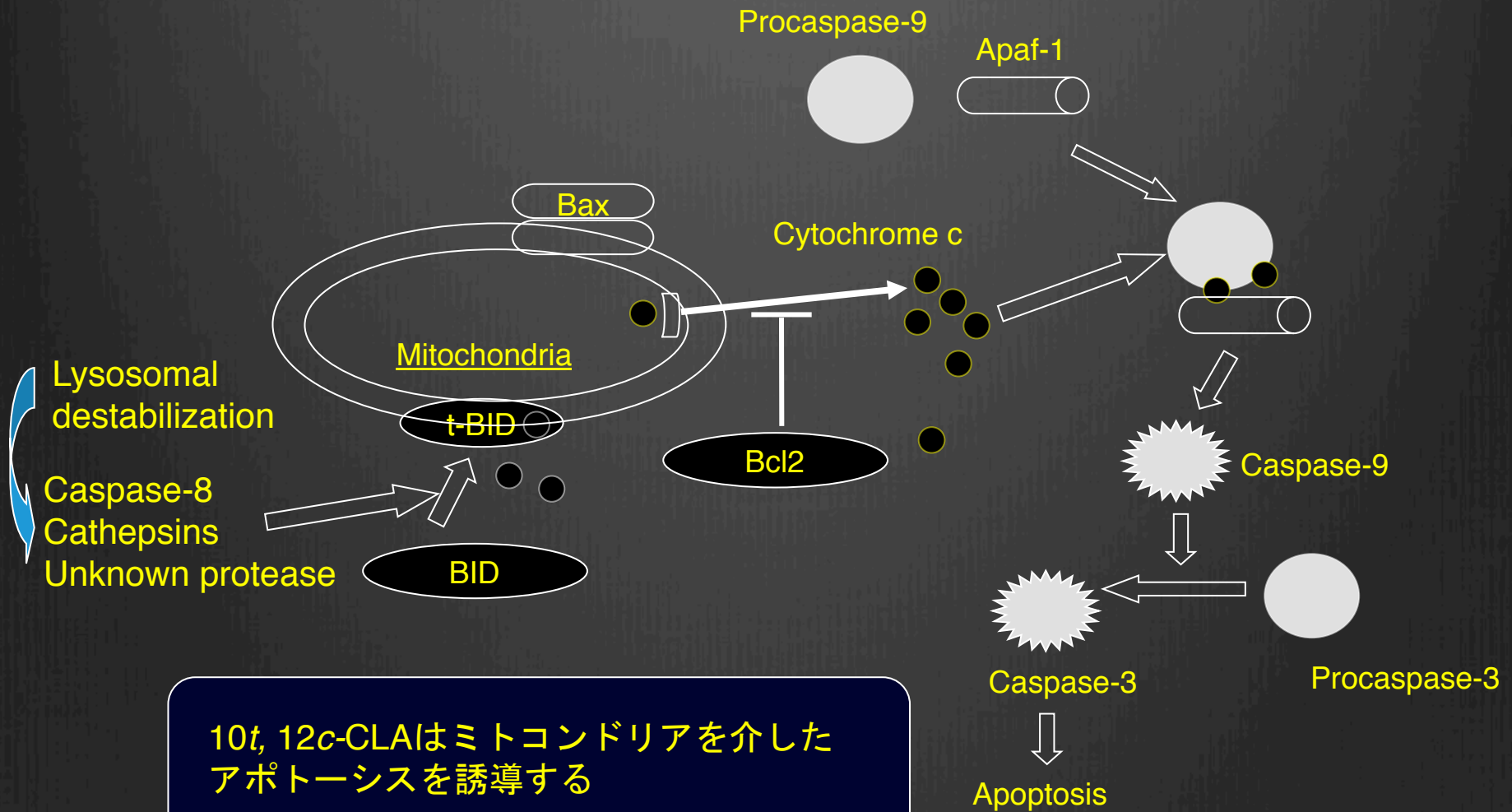
10*t*, 12*c*-CLA



* $P < 0.05$

50 μ m

10t, 12c-CLAによるアポトーシス誘導機構 1



10*t*, 12*c*-CLAはなぜ細胞毒性を持つのか？

D9 不飽和化酵素 (Stearoyl-CoA desaturase; SCD)

パルミチン酸
(PA; 16:0)
ステアリン酸
(SA; 18:0)



SCD

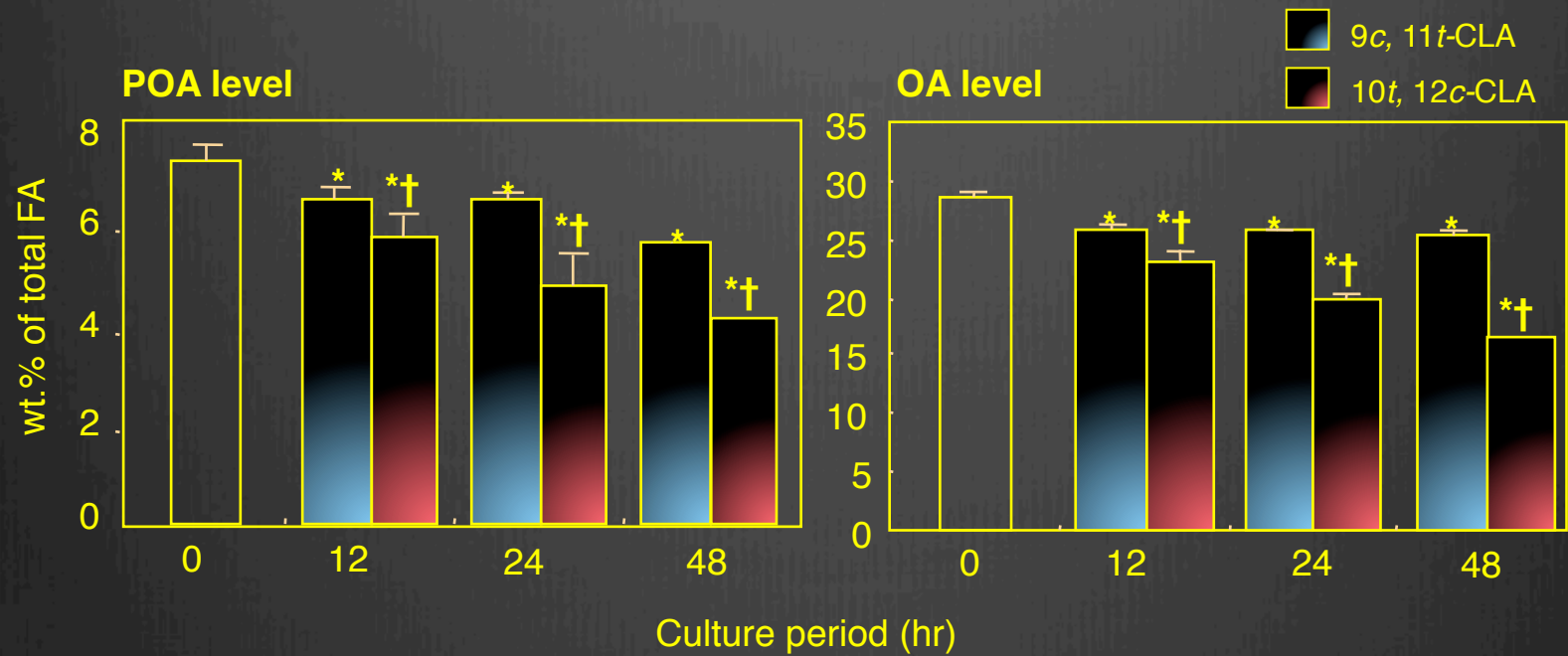
パルミトレイン酸
(POA; 16:1)
オレイン酸
(OA; 18:1)

9*c*, 11*t*-CLA < 10*t*, 12*c*-CLA

SCDの阻害

→ PA, SAレベルの上昇、POA, OAレベルの低下

CLA処理後の細胞内モノ不飽和脂肪酸レベルの変化

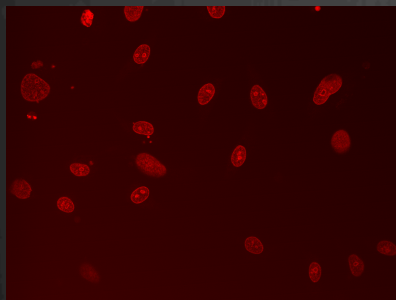


†,* $P < 0.05$

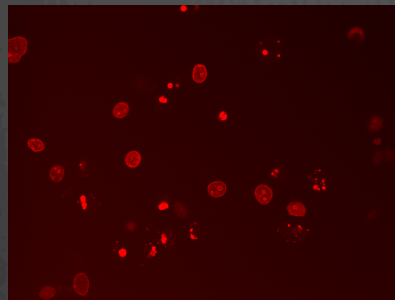
10*t*, 12*c*-CLA処理後の細胞内モノ不飽和脂肪酸レベルは著しく低下する

オレイン酸はCLAのアポトーシスを阻害する

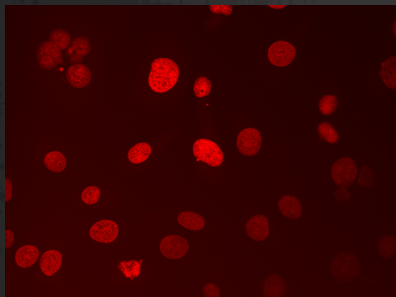
None



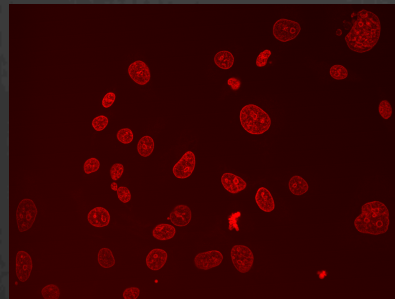
10*t*, 12*c*-CLA



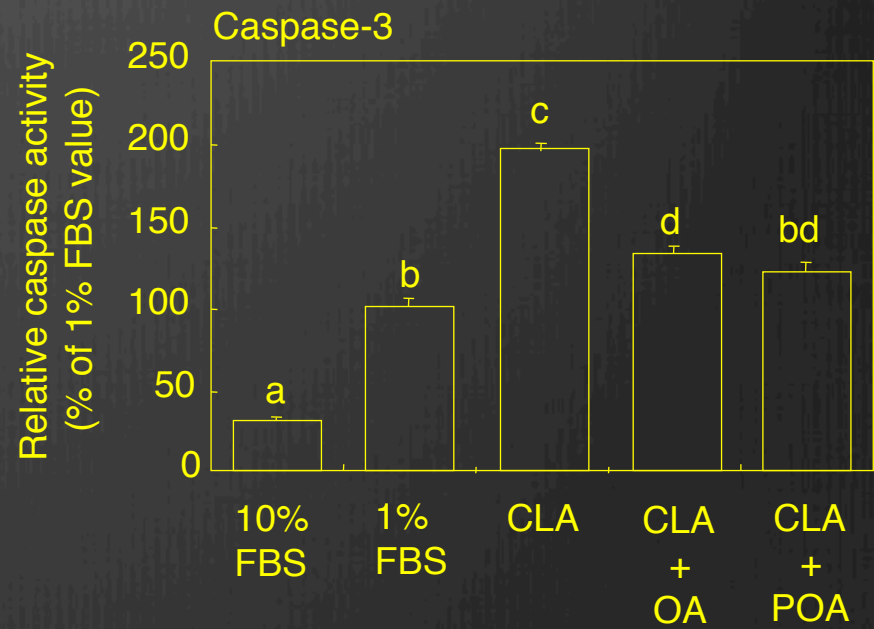
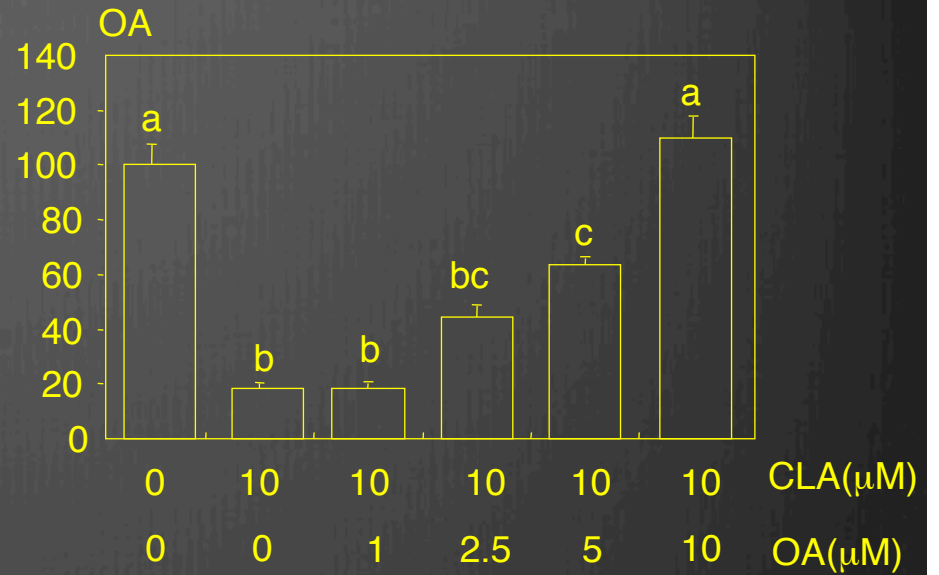
10*t*, 12*c*-CLA
+ OA



10*t*, 12*c*-CLA
+ POA

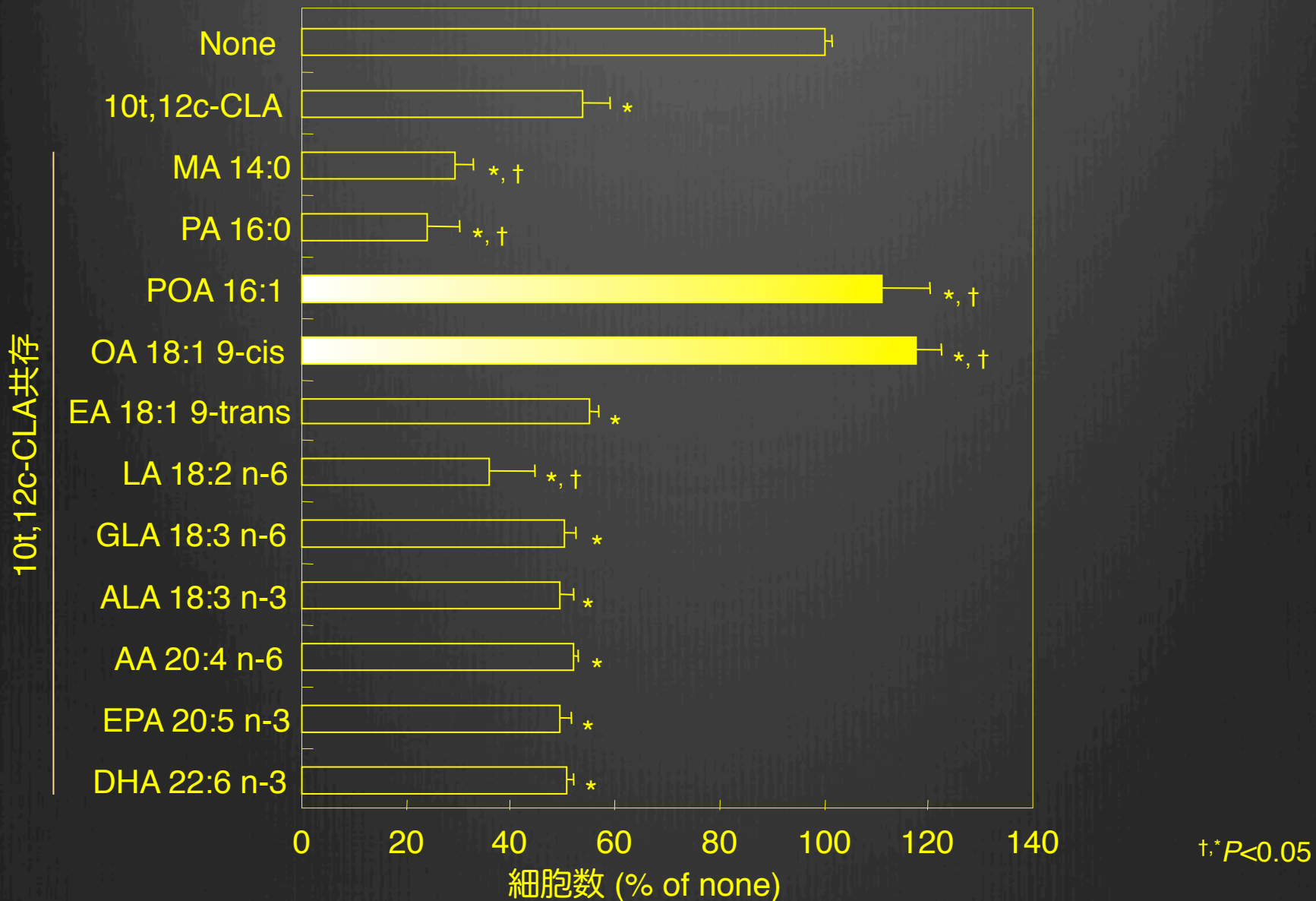


50 μm

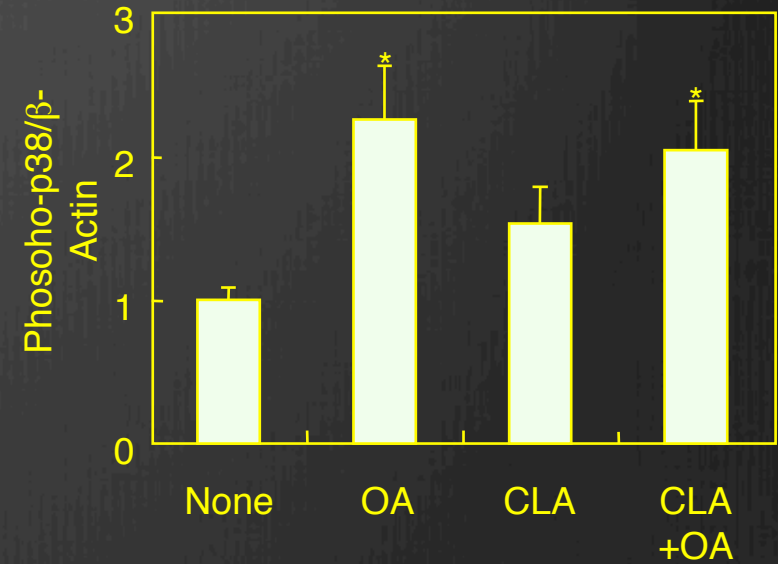
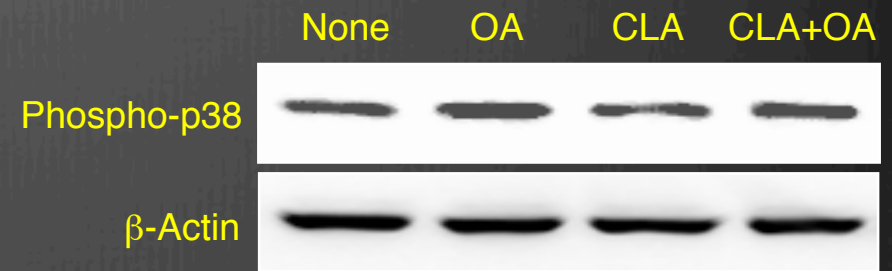
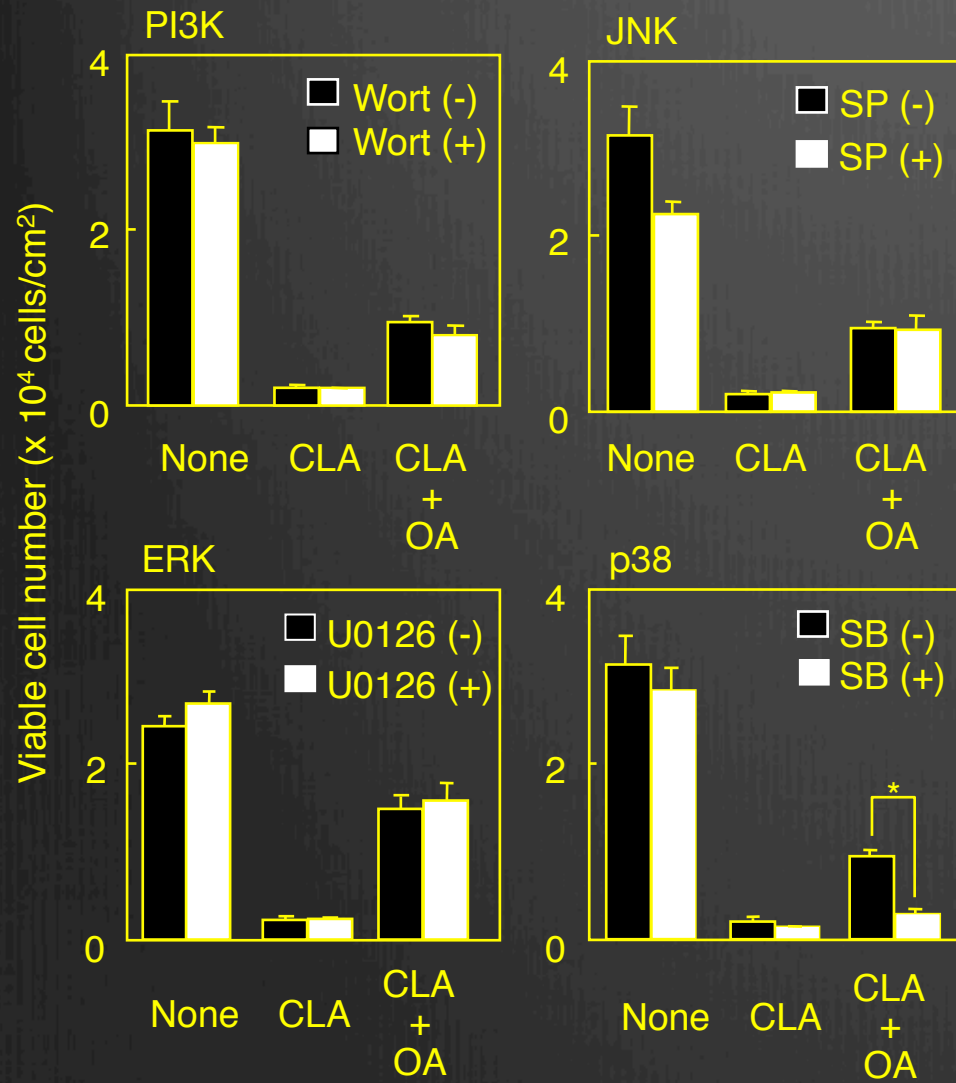


異なる文字間で有意差あり $p < 0.05$

CLA細胞毒性に及ぼす他脂肪酸の影響

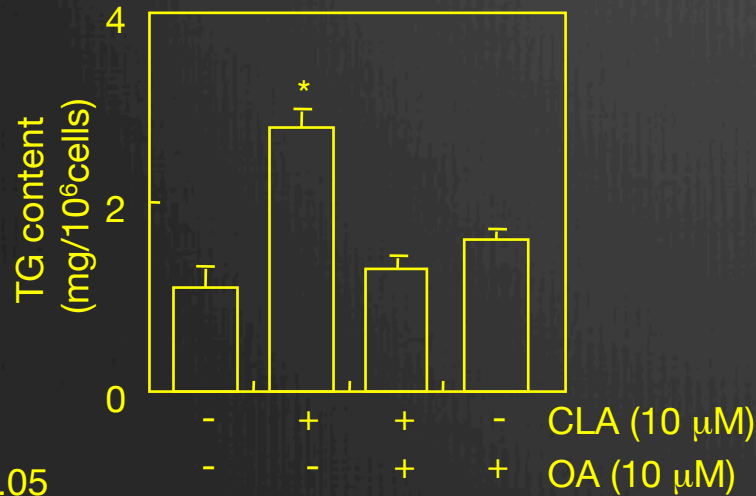
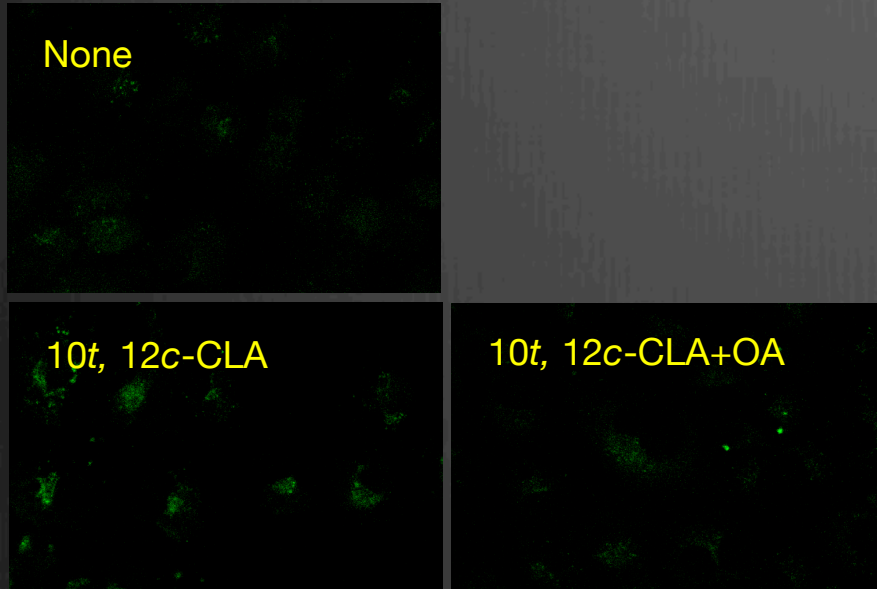


オレイン酸による細胞死の緩和はp38経路に依存する

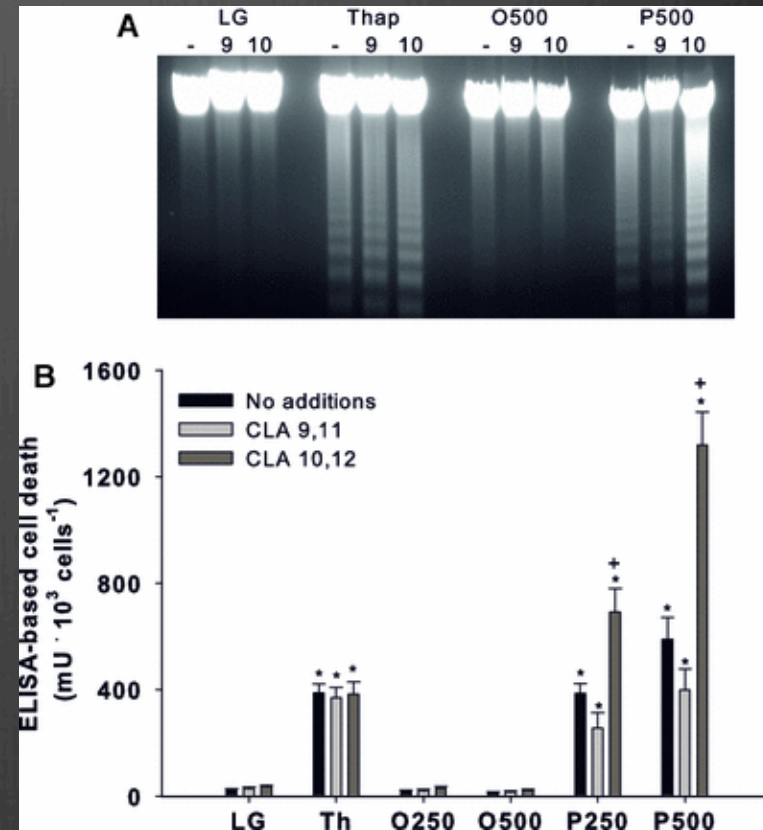


*P<0.05

細胞内脂質蓄積と細胞死の関連



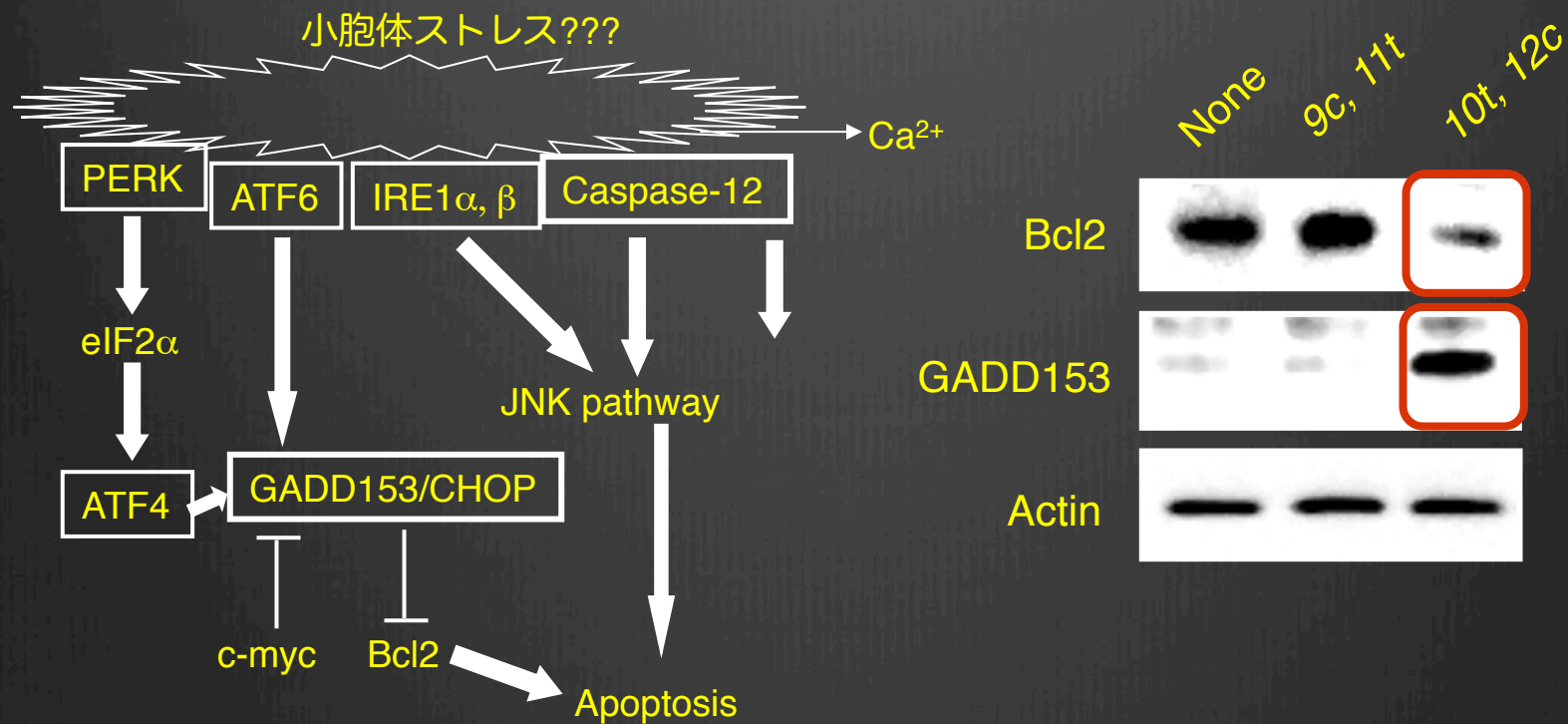
飽和脂肪酸による脂肪毒性



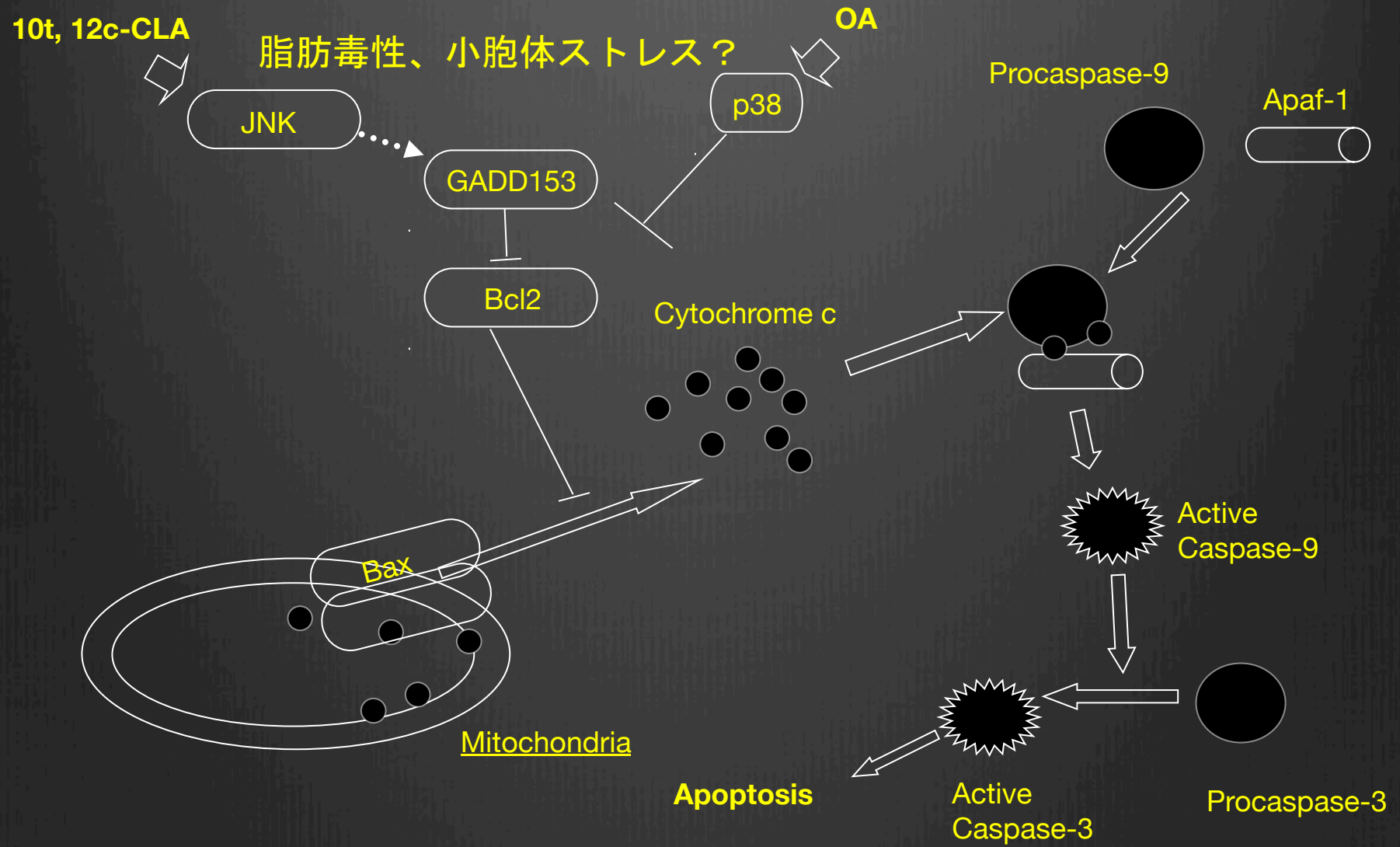
Wei et al., *Mol Cell Biochem*, 303, 2007

細胞内での飽和、モノ不飽和脂肪酸のバランスが細胞の生存を制御する。
CLAによる脂肪毒性誘導の可能性
小胞体ストレスの可能性?

10*t*, 12*c*-CLAによるアポトーシス誘導機構 2



10t, 12c-CLAによるアポトーシス誘導機構 3



共役リノール酸による低酸素ストレス応答の低減

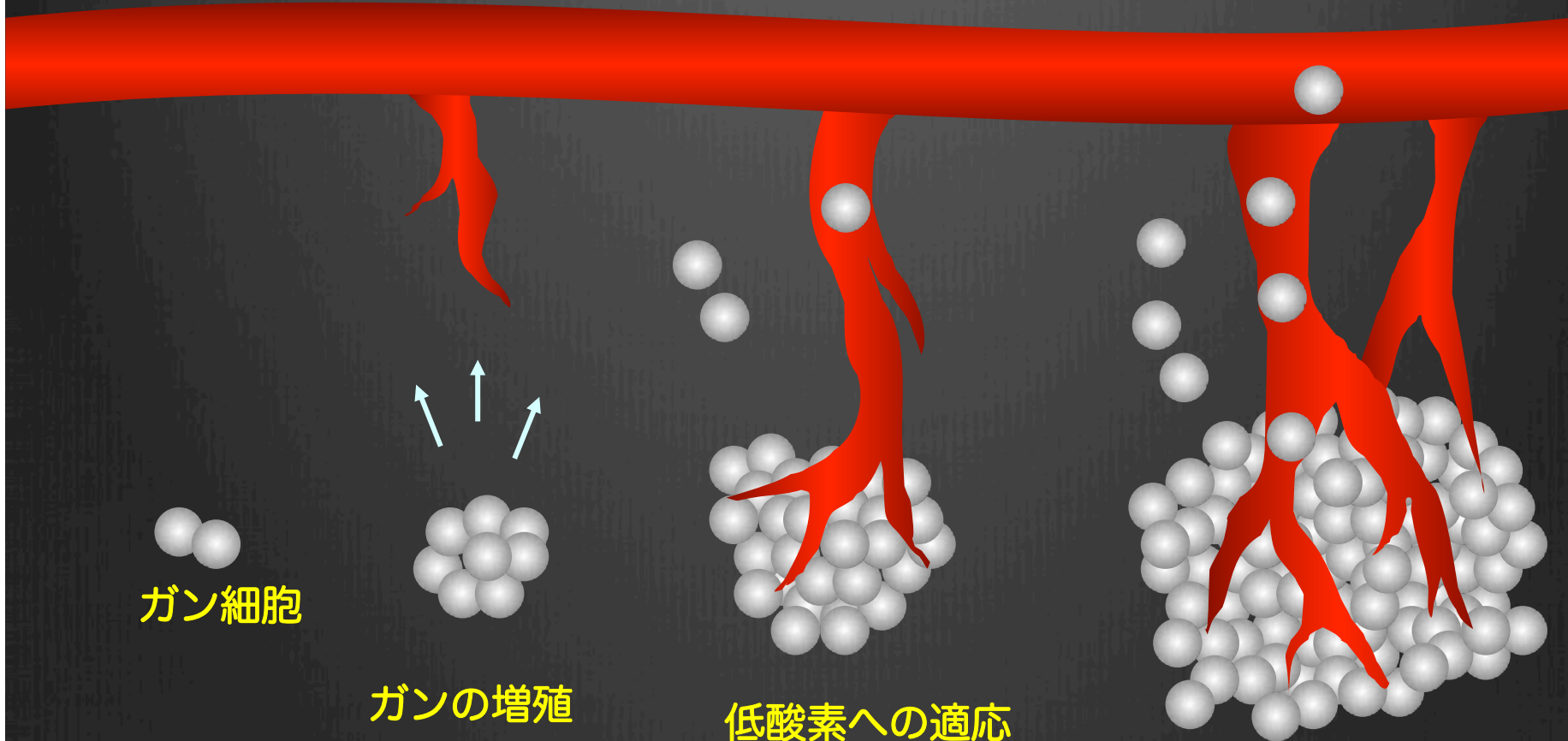
低酸素ストレスとは…

組織の肥大などに伴い、組織内の細胞へ十分な酸素が行き渡らなくなる状態。低酸素状態に陥った細胞は低酸素への適応を図る。

ガンの増殖による低酸素ストレス



血管



ガン細胞

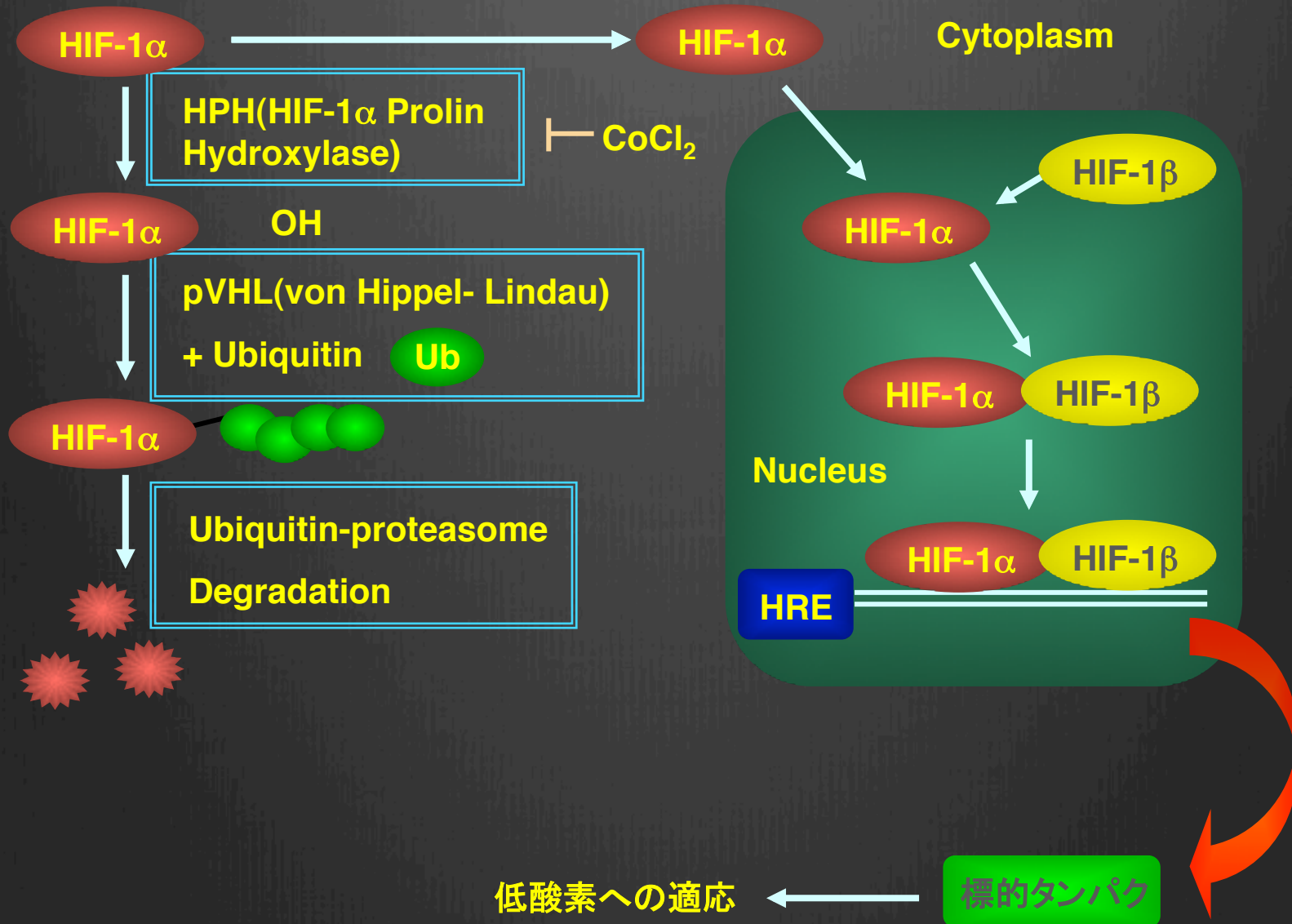
ガンの増殖

低酸素への適応

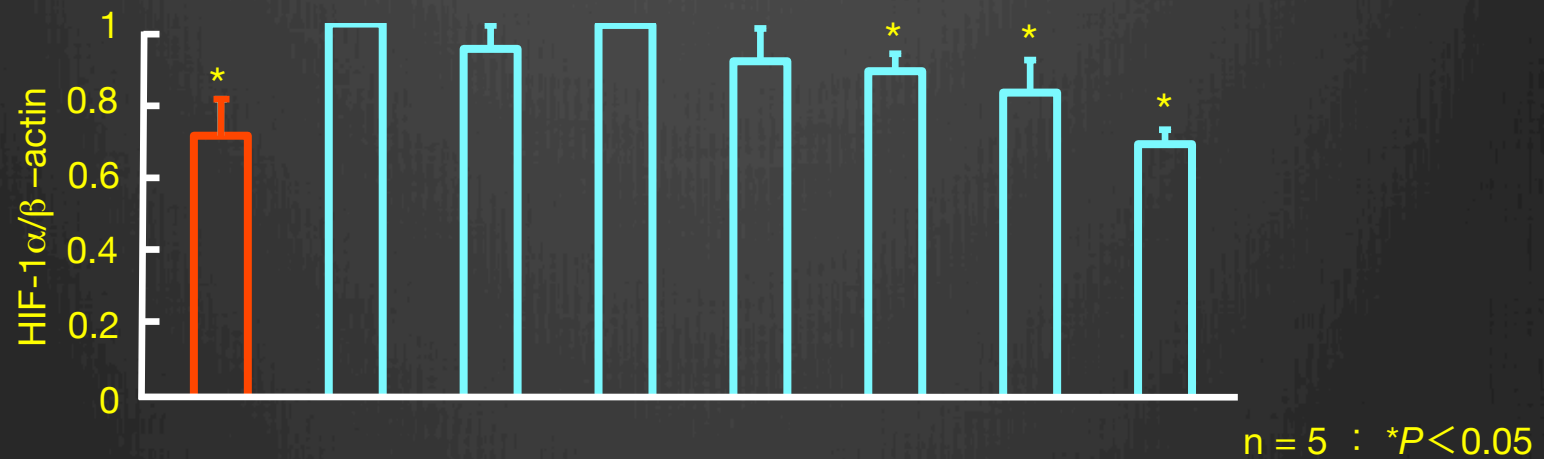
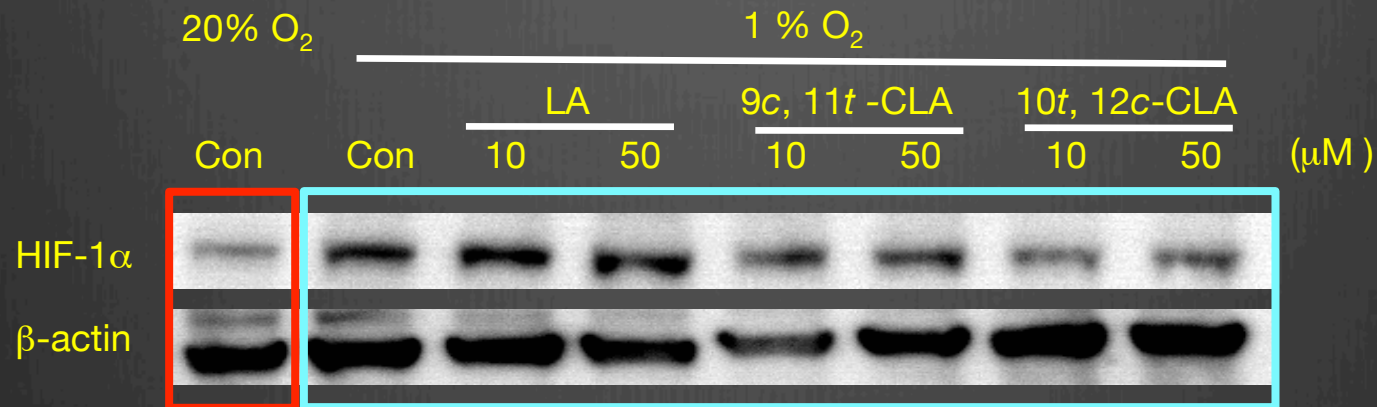
血管新生、転移浸潤

嫌気代謝、アポトーシス耐性など。。。

HIF-1 α を中心とした低酸素ストレス応答

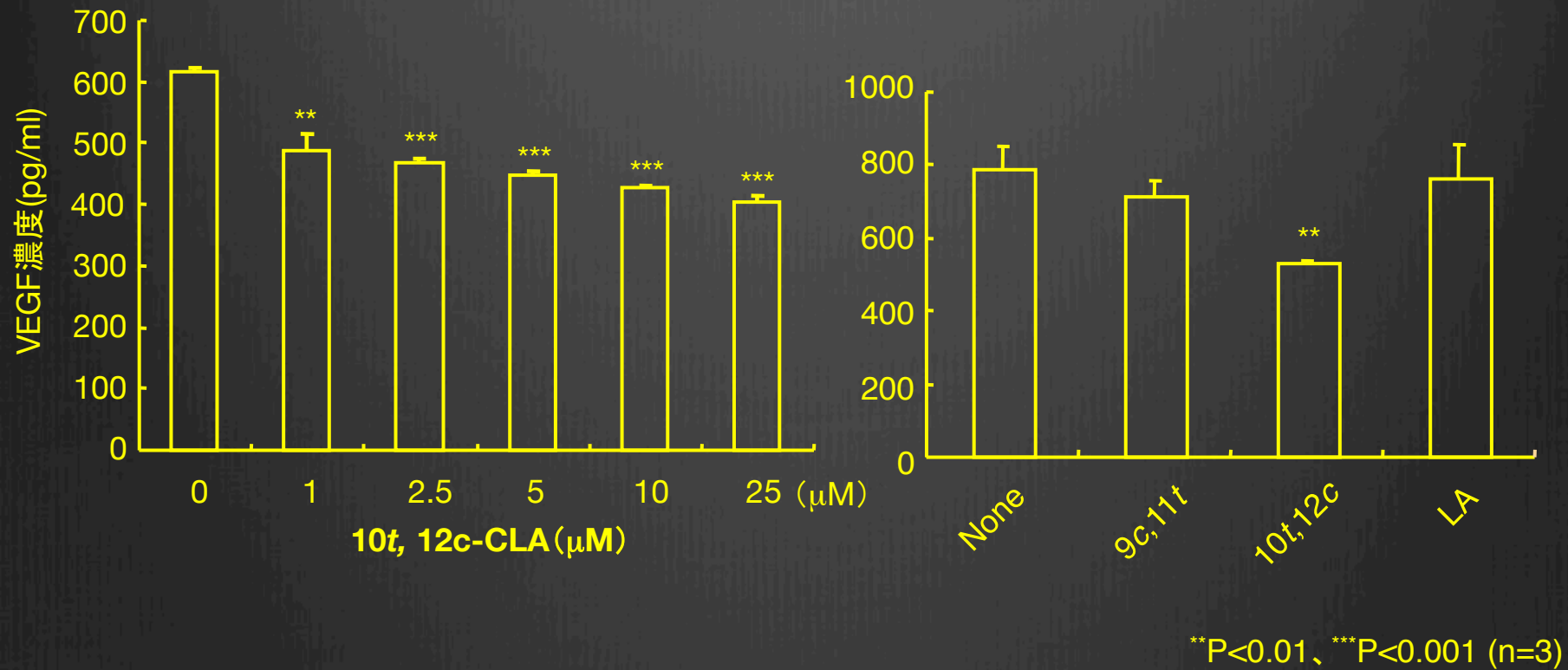


HIF-1 α 発現量への影響



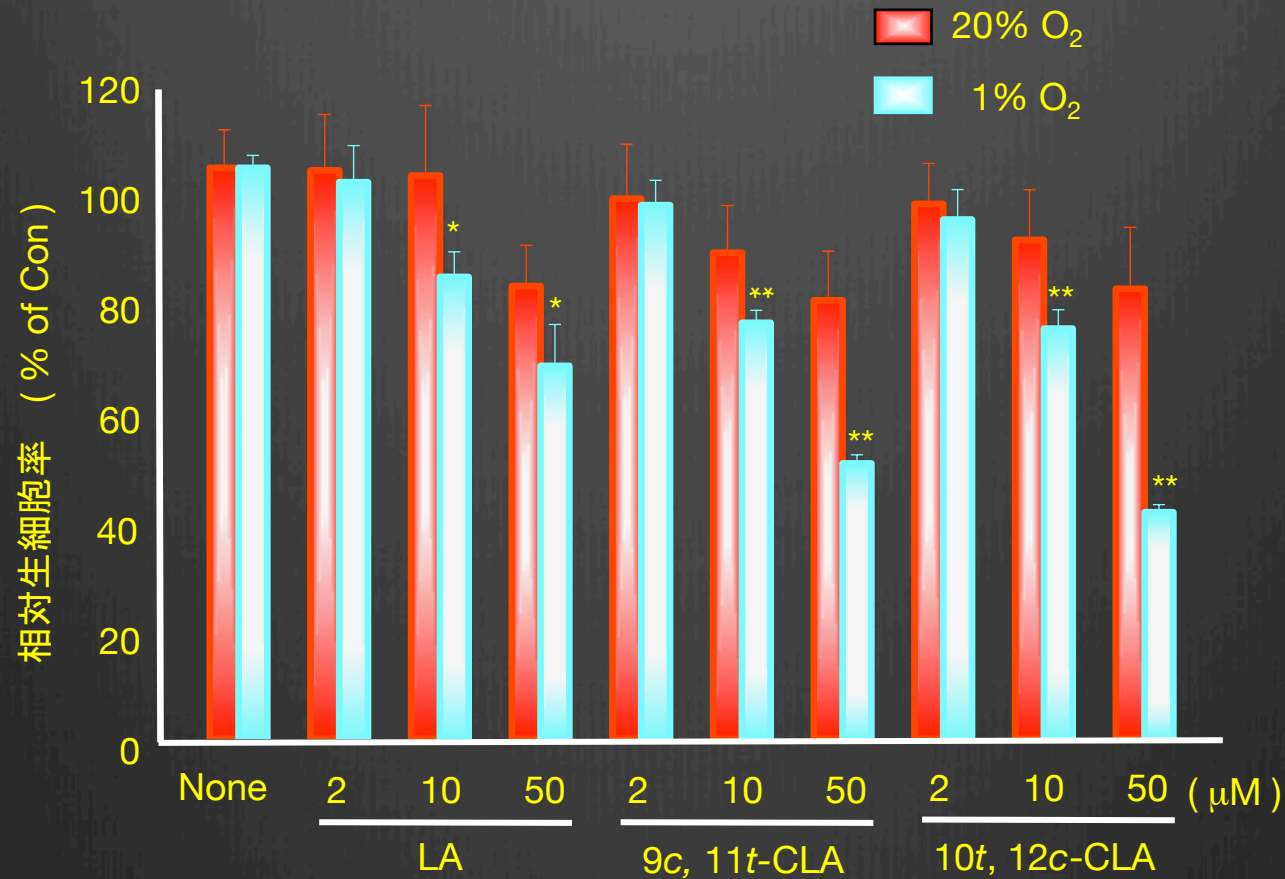
9c, 11t-CLA, 10t, 12c-CLAはHIF-1 α 安定化を抑制

10*t*,12*c*-CLAによるHIF-1 α 発現とVEGF産生抑制効果



10*t*,12*c*-CLAは低酸素下でVEGF産生抑制効果を示す

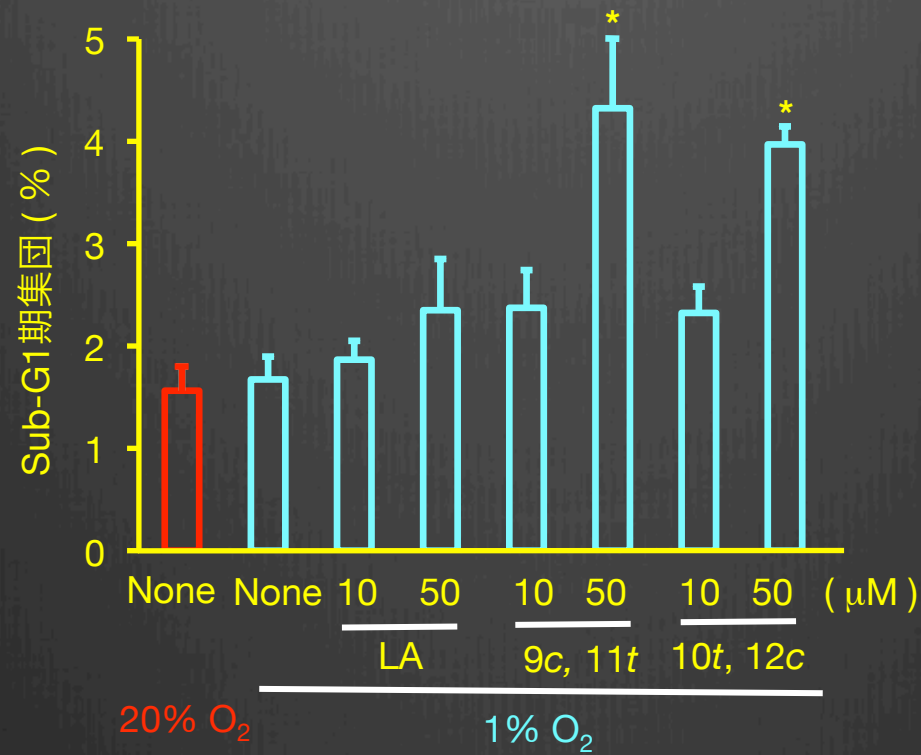
低酸素下での細胞増殖抑制効果



* $P < 0.05$

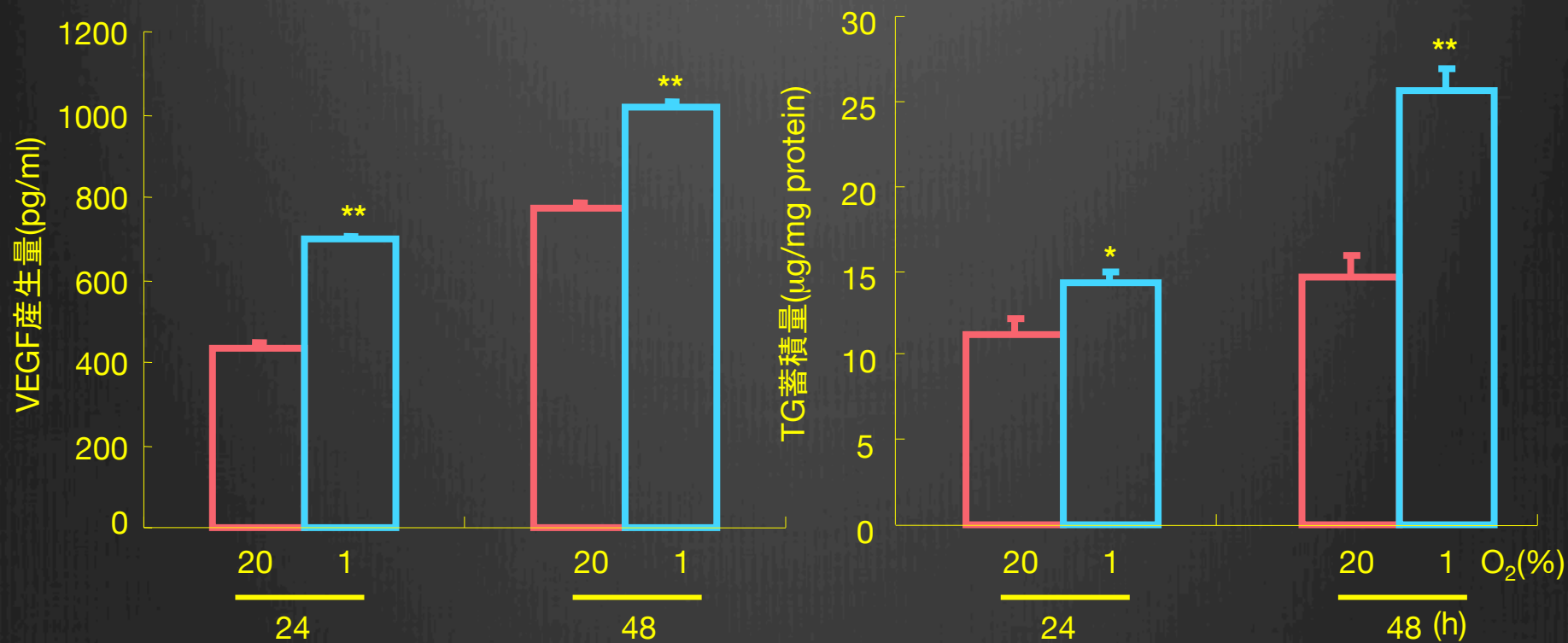
CLA の細胞増殖抑制効果は通常酸素下よりも低酸素下で強い

低酸素下での細胞増殖抑制効果(細胞死との関連)



CLA の細胞増殖抑制効果は細胞死を伴っている (アポトーシス?)
細胞周期への影響が見られない

低酸素ストレス研究の展開 脂肪細胞の機能



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

低酸素ストレスに応答するのはガン細胞だけではない

CLA研究の課題、応用

- ・ 10*t*, 12*c*-CLAは低濃度で肝がん細胞致死効果がある。
- ・ CLAのガン細胞致死作用の一部はモノ不飽和脂肪酸との共存により相殺される可能性がある。（逆に飽和脂肪酸は増強）
- ・ 低酸素刺激への応答抑制効果が期待できる。
- ・ 低酸素下ではCLAの作用が強く現れる可能性がある。



- ・ CLAの作用機構をより明確にすることが必要
- ・ CLAをリード化合物とした機能性物質（抗がん剤）の探索
- ・ CLAと多成分との相互作用を考慮する必要がある

謝辞

菅野道廣先生

山田耕路先生

立花宏文先生

食糧化学研究室の皆様

(九州大学農学部)

辻田英二先生

力丸達也先生

前原嘉彦先生

杉町圭蔵先生

(九州大学第2外科)

宮崎(中條)瞳先生

(中村学園大学)

オーム乳業株式会社

西山和夫先生と研究室の皆様
(宮崎大学農学部)



2010.7