



Title	Eicosapentaenoic Acid Induced Changes in Membrane Fluidity and Cell Adhesion Molecules in Cultured Human Keratinocytes
Author(s)	陸, 瑞
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38977">https://hdl.handle.net/11094/38977</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	陸 瑶
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11798 号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学位論文名	Eicosapentaenoic Acid Induced Changes in Membrane Fluidity and Cell Adhesion Molecules in Cultured Human Keratinocytes (エイコサペンタエン酸による培養ヒト表皮細胞の膜流動性及び接着因子の変動)
論文審査委員	(主査) 教授 吉川 邦彦 (副査) 教授 三木 直正 教授 岡本 光弘

## 論文内容の要旨

## 【目的】

Eicosapentaenoic acid (EPA) は魚脂に多く含まれる  $\omega$ -3系の多価不飽和脂肪酸で、化学構造が  $\omega$ -6系の脂肪酸 arachidonic acid (AA) と類似している。尋常性乾癬に対する EPA の有効性は乾癬病変部において過剰に産出される AA 及びその代謝産物 LTB<sub>4</sub>, HETE 等の炎症惹起物質と、EPA が拮抗して、炎症性メディエーターの遊離を抑制するためと考えられている。しかし一方では、EPA は経口摂取されると、ケラチノサイト、白血球、血小板等の細胞膜に取り込まれ、直接に膜の動態に変化を与えることが推測される。細胞膜の流動性は構成脂肪酸の不飽和度に左右され、その変動は膜関連蛋白の機能に影響を及ぼすことが示唆されるため、本研究では培養ヒトケラチノサイトを用いて EPA がその脂質構成、膜流動性の変動と同時に tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) 存在下での細胞接着因子 ICAM-1 の発現に及ぼす作用に関して検討を行った。

## 【方法ならびに成績】

無血清培地で培養した正常ヒト由来ケラチノサイトを  $3\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$  の EPA と AA で夫々 72 時間処理することにより細胞の脂質構成は変化した。Gas chromatography 法でその脂肪酸分画を測定したところ、EPA 処理した細胞では EPA, DHA などの  $\omega$ -3系多価不飽和脂肪酸が有意に増加した。同様に AA 処理した細胞では  $\omega$ -6系の AA の含量が上昇した。細胞膜流動性の分析は、ACAS470 ワークステーションを用いて Fluorescence Recovery of After Photobleaching (FRAP) 法を行った。脂質親和性の蛍光標識プローブ 1, 6-diphenyl-1, 3, 5-hexatriene で細胞膜を  $21^\circ\text{C}$  30 分ラベルし、細胞の一部分にレーザー光線を照射して蛍光を退色させ、その回復速度を測定することにより膜の脂質流動性を検索した結果、未処理細胞の膜流動性が  $1.77 \times 10^{-8}\text{ cm}^2/\text{sec}$  ( $n=91$ ) であったが、 $\omega$ -3系と  $\omega$ -6系の多価不飽和脂肪酸 EPA 及び AA で処理した細胞の膜流動性はそれぞれ  $2.23 \times 10^{-8}\text{ cm}^2/\text{sec}$  ( $n=51$ ) と  $2.16 \times 10^{-8}\text{ cm}^2/\text{sec}$  ( $n=49$ ,  $P < 0.001$ ) といずれも著明に上昇した。又、EPA と AA によるリンパ球に対する細胞膜接着因子 ICAM-1 の変化を検索するために  $3\text{ }\mu\text{g}/\text{ml}$  の EPA と AA で 5 日間前処理した細胞を TNF- $\alpha$  500 U/ml, IFN- $\gamma$  10 U/ml で 24 時間活性化させ、抗 ICAM-1 抗体で蛍光染色後 FACS で解析した。TNF- $\alpha$  と IFN- $\gamma$  で活性化すると、未処理細胞では ICAM-1 陽性細胞は 8% から 47% に上昇したが、EPA 及び AA 処理した細胞ではいずれも ICAM-1 の発現がそれぞれ 79% ( $P < 0.005$ ), 68% ( $P < 0.05$ ) とともに更に上昇を認めた。EPA 及び AA の前処理のみでは ICAM-1 の発現は誘導されなかった。

## 【総括】

EPA は AA と同様に直接培養ヒトケラチノサイト中に取り込まれて、構成脂肪酸の不飽和度を上昇させ、同時に膜流動性を増加させた。TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  で活性化することにより、EPA は AA と同様に白血球に対する接着因子 ICAM-1 の発現を未処理細胞に比べて著明に亢進させた。EPA の乾癬に対する作用が今一つ明瞭でないのは、一方で抗炎症的作用する反面リンパ球の活性化、局所への浸潤を助長しているためと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は  $\omega$ -3 系多価不飽和脂肪酸 EPA の乾癬への薬理作用機序を解明するために、EPA と  $\omega$ -6 系の AA によりケラチノサイトの膜動態及び接着因子の発現に対する影響を検討したものである。

培養ケラチノサイトを用い、FRAP 法により初めてケラチノサイトの膜流動性を解析し、EPA と AA が共に膜動態に変化を与えていたことが明らかにした。EPA 処理した細胞では膜流動性は上昇し、サイトカインの活性化を介して接着因子 ICAM-1 の細胞膜上の発現を亢進させることを示した。又、この作用は  $\omega$ -6 系の AA でも同様に認められ、乾癬の発症には AA 由来の炎症性メディエーターの遊離だけでなく、サイトカイン存在下で AA が細胞膜の ICAM-1 の発現を亢進させ、炎症を更に促進させることも示唆された。また、本研究によって EPA が AA 由来の炎症惹起物質と拮抗する一方で AA と同様に ICAM-1 の発現を介して、炎症を起こさせる方向に作用していることによるものと考えられ、EPA の乾癬への薬理作用の解明にも大いに寄与するものであり、学位論文に値するものである。