




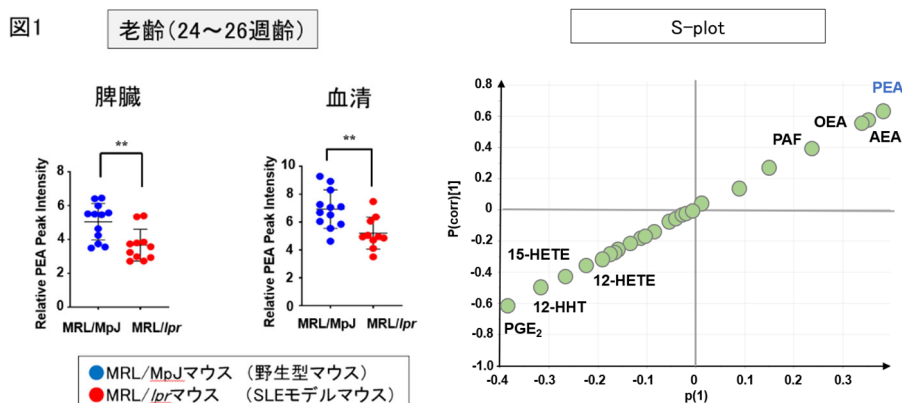
## Comprehensive lipidomics of lupus-prone mice using LC-MS/MS identifies the reduction of palmitoylethanolamide that suppresses TLR9-mediated inflammation

Takashi Ozaki<sup>1,2</sup> | Naganori Kamiyama<sup>1</sup> | Benjawan Saechue<sup>1</sup>  | Yasuhiro Soga<sup>1</sup> | Ryo Gotoh<sup>1</sup> | Tatsuya Nakayama<sup>1</sup> | Chiaki Fukuda<sup>1</sup> | Astri Dewayani<sup>1</sup> | Thanyakorn Chalalai<sup>1</sup> | Shimpei Arika<sup>1</sup> | Sotaro Ozaka<sup>1</sup> | Akira Sonoda<sup>1</sup>  | Haruna Hirose<sup>1</sup> | Yoshiko Gendo<sup>1</sup> | Kaori Noguchi<sup>1</sup> | Nozomi Sachi<sup>1</sup> | Shinya Hidano<sup>1</sup> | Keisuke Maeshima<sup>2</sup> | Koro Gotoh<sup>2</sup> | Takayuki Masaki<sup>2</sup> | Koji Ishii<sup>2</sup> | Yoshio Osada<sup>3</sup> | Hirotaka Shibata<sup>2</sup> | Takashi Kobayashi<sup>1</sup> 

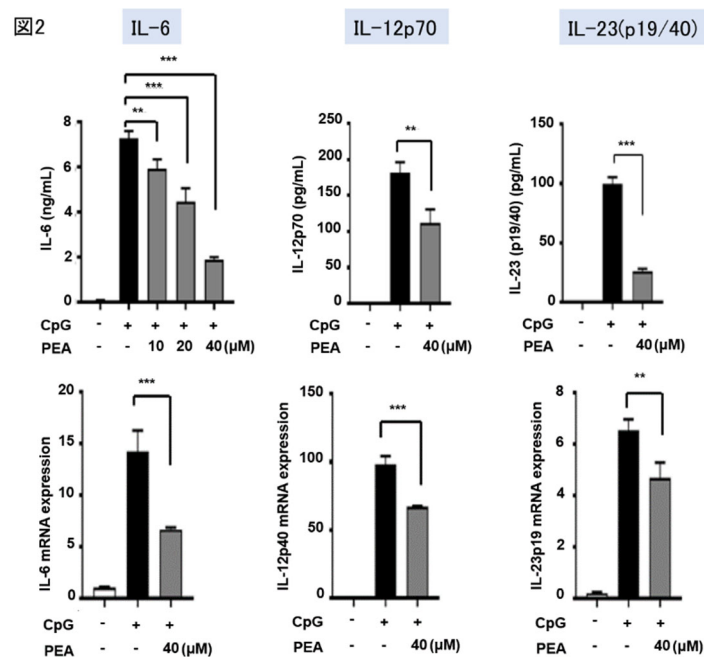
<論文の概要>

近年、オメガ 3 脂肪酸由来の抗炎症作用を持った新たな脂質メディエーターが複数同定されるなど、炎症と脂質に関する研究が盛んに行われています。本研究では全身性エリテマトーデス (SLE) に関連する炎症病態を抑制する作用も有する脂質メディエーターを同定することを目的としました。

まずはじめに、SLE モデルマウス (MRL/*lpr* マウス) と野生型マウス (MRL/MpJ マウス) の脾臓や血清に含まれる脂質メディエーターを、液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて網羅的に測定しました。その結果、腎炎を発症した老齢 MRL/*lpr* マウスと老齢 MRL/MpJ マウスの脾臓や血清中では *N*-アシルエタノールアミドの一種であるパルミトイルエタノールアミド (PEA) の濃度が MRL/*lpr* マウスで有意に低く、多変量解析を行うと脾臓に含まれる脂質メディエーター関連物質の中で PEA 濃度が両マウス群の差異に最も寄与する物質であることがわかりました (図 1)。



そこで、SLE 病態に関与する Toll 様受容体 9(TLR9)を介した炎症に対して、PEA がどのように作用するかを検討しました。マウスマクロファージ様細胞(RAW 264.7 細胞)、マウス骨髄由来樹状細胞、マウス脾臓 B 細胞のそれぞれに TLR9 刺激 (CpG-ODN) を加え、分泌される炎症性サイトカインを測定したところ、蛋白および mRNA の両レベルにおいて PEA は炎症性サイトカインの産生を抑制することがわかりました(図 2：マウス骨髄由来樹状細胞の ELISA、RT-PCR 結果)。



また、TLR9 刺激による骨髄由来樹状細胞や B 細胞の表面活性化マーカーの発現レベルや、B 細胞による IgM 抗体産生、B 細胞増殖能に対して、PEA はいずれも抑制することを明らかにしました (図 3：骨髄樹状細胞の FACS 結果、図 4：B 細胞の ELISA、FACS 結果)。

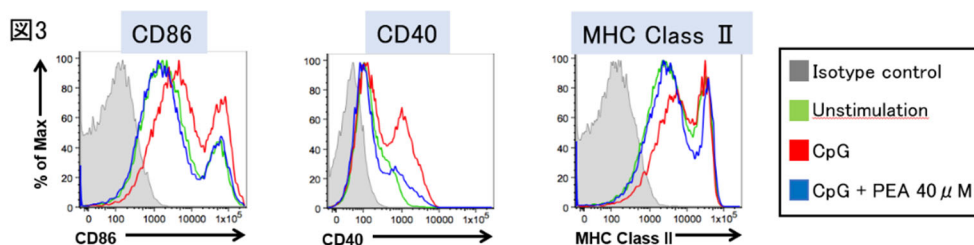
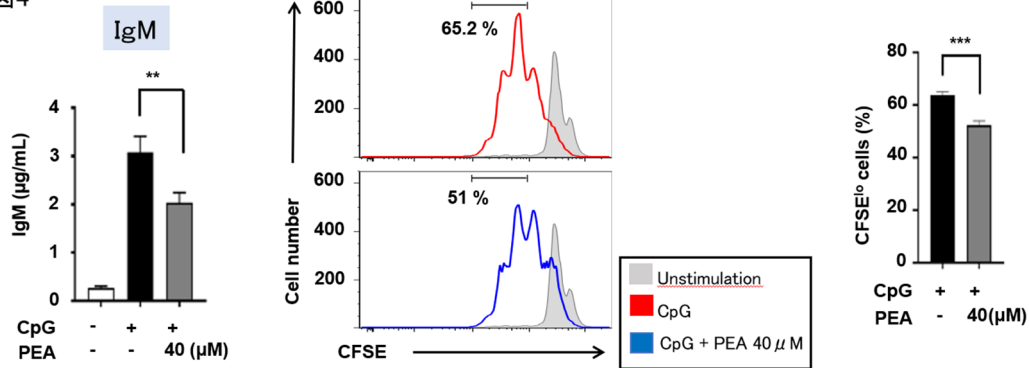
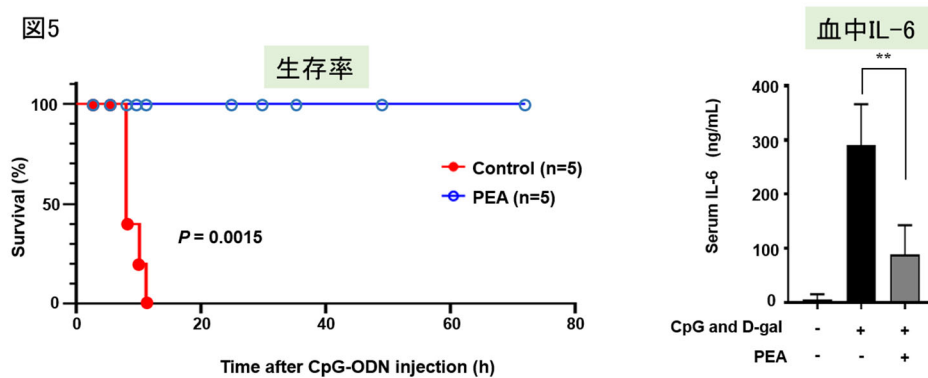


図4



さらに、野生型マウスに CpG-ODN を投与した敗血症モデルマウスにおいて、PEA を投与することで血中 IL-6 濃度が低下し、生存率が大幅に改善することを明らかにしました(図5)。

図5



本研究において、TLR9 刺激を介する炎症を PEA は *in vitro* 及び *in vivo* で抑制することが明らかとなり、SLE をはじめ TLR9 が関与する炎症性疾患の治療応用への発展が期待されます。

#### <謝辞>

本研究では、SLE への直接的な PEA の効果や、作用機序の詳細な分子メカニズムまでは明らかにできておらず、今後の課題と思います。最先端の免疫学の研究に従事する先生方に囲まれ、基礎医学の世界に一定期間浸ることができたのは、自分にとってとても貴重な経験となりました。今日に至るまで本当に多くの先生方のご協力、ご指導を頂き、最終的に論文化することができました。長い年月がかかってしまいましたが、貴重な機会を与えて頂き最後まで温かい御指導を賜りました感染予防医学講座の小林隆志教授と当講座の柴田洋孝教授、そしてこれまでご尽力頂いた全ての皆様方にこの場をお借りして心より御礼申し上げます。

## HIRO'S EYE

膠原病内科・助教 尾崎貴士先生

感染予防医学講座・教授 小林隆志先生



尾崎貴士先生、大作の論文アクセプトおめでとう！

この研究は、SLE モデルマウスにおける脾臓と血清に含まれる脂質メディエーターの中から palmitoylethanolamide (PEA) を同定し、SLE モデルで減少していることに着目してスタートした研究です。マウスマクロファージ様細胞、マウス骨髄由来樹状細胞、マウス脾臓 B 細胞を用いて、炎症を惹起した状態に対して PEA がいずれにおいても抗炎症作用を認めることを検証しました。さらに、野生型マウスに CpG-ODN を投与した敗血症モデルマウスに PEA を投与した結果、血清 IL-6 濃度を有意に低下させ、生存率を有意に改善しました。これらの結果から、TLR9 刺激を介する炎症を PEA は *in vitro* 及び *in vivo* で抑制することが明らかとなりました。

この研究のポイントは、まず第一に、既知の因子の影響を調べるのではなく、モデル動物とコントロールを用いて脾臓と血清中のメタボローム解析を行い候補因子として PEA の同定をしたことです。また、しばしばこれらの生物学的意義の証明に難渋することが多いですが、3 種類の細胞系で PEA の抗炎症作用を検証し、さらに最後の *in vivo* での生物学意義について短期間の実験ながら示すことができた点です。PEA の同定ができた後に、かなり進展に苦労していましたが、小林隆志教授および感染予防医学講座の先生方のご指導のおかげで、論文化につなげることができました。

今後、SLE モデルマウスでの PEA の抗炎症効果や、実際に SLE 患者さんをはじめとする膠原病症例において、血清などの臨床検体を用いた PEA の抗炎症効果を検証していくことで、新たな治療の確立に結びつけられることを期待しております。 (柴田洋孝)