

## 食事あるいは腸内細菌に由来する非動物型脂肪酸の代謝

田中 保

森戸 克弥

### 1. はじめに

樺（カヤ）はイチイ科カヤ属の常緑針葉樹で日本特有の裸子植物である。カヤの実（カヤド実）は食用とされ、江戸時代にその油は高級天ぷら油に利用されたとの言い伝えがある。また、カヤは縄文時代前期（6800 年前）から弥生時代中期とされる宮城県里浜貝塚からクリなどと一緒に出土する(1)。現代ではあまり食されることはないが、長い食経験を持つ日本固有の食用種子の 1 つである。

カヤの実油にはシアドン酸とよばれる脂肪酸が含まれている。通常、哺乳動物やダイズおよびナタネなど被子植物に含まれる脂肪酸は二重結合と二重結合との間にメチレンを 1 個挟むメチレン中断型脂肪酸であるが、裸子植物の油脂には二重結合間にメチレンを 2～4 個挟むタイプの脂肪酸が存在し、これらはポリメチレン中断型脂肪酸と呼ばれる。裸子植物のカヤに含まれるシアドン酸は代表的ポリメチレン中断型脂肪酸であり、その構造は 20:3 ( $\Delta$ -5,11,14)である(2)。筆者らは、動物細胞を構成するメチレン中断型不飽和脂肪酸とは異なる構造をもつシアドン酸の動物細胞における代謝を調べてきた(3-8)。その結果、シアドン酸は動物細胞の膜リン脂質やトリグリセリドの構成脂肪酸になるものの、やがてペルオキシソームと小胞体で連続的に代謝され、必須脂肪酸であるリノール酸に変換されることを見出した(図 1)。この代謝変換は、非動物型のポリメチレン中断型脂肪酸を部分的改変により動物型多価不飽和脂肪酸に変換するという食の有効利用という意義がある(7)。完全に代謝消去するのではなく、 $\Delta$ 5 位の二重結合を含むメチレン数個分の部分変換で済ませているところが興味深い。この代謝反応はげっ歯類だけでなく、ヒトの細胞においても活発に機能し

ていることも確認された(8)。

これまで、ペルオキシソームはミトコンドリアにおける脂肪酸酸化の補助器官に位置づけられていたが、このようにペルオキシソームがミクロソームとの連携によって脂肪酸を再合成していること、ペルオキシソームはミトコンドリアのように ATP 産生系を持たないことを考えるとペルオキシソームにおける脂肪酸酸化はエネルギー産生を補助するだけでなく、脂肪酸の作り替えのための原料供給の役割があるのかもしれない(9)。

我々が摂取している非動物型脂肪酸はポリメチレン中断型脂肪酸の他にもある。腸内細菌の1つの乳酸菌はリノール酸をオレイン酸へ還元する過程で 10-hydroxy-*cis*-12-octadecenoic acid(HYA)や 10-hydroxy-octadecanoic acid(HYB)などのヒドロキシ脂肪酸や、カルボニル基が導入された 10-oxo-*cis*-12-octadecenoic acid や 10-oxo-octadecanoic acid などのオキソ脂肪酸を相当量産生する(10)。腸内細菌で産生されたこれらの脂肪酸は小腸粘膜を介して動物体内に侵入し、ヒトの体内で検出される(10)。このような腸内細菌が産生する非動物型脂肪酸(図2)はホストの動物細胞に作用して、脂肪細胞の分化を誘導することなどが報告されているが(11)、ホストがこれらをどのように代謝するのかは未解明のままであった。そこで、本研究では腸内細菌が産生する非動物型脂肪酸であるヒドロキシ脂肪酸の代謝について調べた。

## 2. 実験方法

### 2-1 培養細胞を用いた脂肪酸の取り込み実験

チャイニーズハムスター卵巣 (Chinese Hamster Ovary; CHO) 細胞 (CHO-K1) は RIKEN セルバンク (つくば) より入手した。ペルオキシソーム欠損型チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO-zp102) は以前報告したように(7)、*Pex5* 遺伝子を欠失させることにより作出した。CHO 細胞の培地には 10% ウシ胎仔血清 (fetal bovine serum; FBS) 及び 1% ペニシリン-スト

レプトマイシンを含む Ham's F-12 培地を用いた。この培地に懸濁した細胞を  $5 \times 10^5$  cells/60 mm dish で播種し、 $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  下で培養、実験に使用した。細胞の接着を確認後、種々濃度の HFAs またはリノール酸を BSA 複合体として培地に添加した。添加する脂肪酸と BSA のモル比が 3:1 となるように調製した。

## 2-2 脂質分析

培養上清または培養細胞中の脂質は Bligh & Dyer 法により抽出した。抽出時、一定量の 1,2-Diarachidoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DAPC) を内部標準物質として加えた。抽出した脂質を 1 mL の 5% 塩酸-メタノール試薬に溶解して  $100^\circ\text{C}$  で 1 時間加熱し、脂肪酸メチルエステル (FAME) を調製した。得られた FAME は既報に従い、ガスクロマトグラフィー (Shimadzu GC-15A (島津製作所、京都)) で分析した。

## 2-3 非動物型脂肪酸のペルオキシソーム増殖効果

細胞を 35 mm のガラスボトムディッシュに  $2 \times 10^5$  cells で播種し、 $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  下で接着するまで維持した。溶媒、50  $\mu\text{M}$  HYA、または 50  $\mu\text{M}$  リノール酸で 3、6、または 24 時間処理した細胞は、4% パラホルムアルデヒド溶液を用いて  $37^\circ\text{C}$  で 20 分処理して固定した。1% BSA 含有 PBS で 3 回洗浄した後、固定した細胞を透過処理するために 1% BSA-0.1% Triton X-100 含有 PBS を加え、 $37^\circ\text{C}$  で 20 分インキュベートした。1% BSA 含有 PBS で洗浄後、抗 PMP70 抗体 (1:600、1% BSA 含有 PBS で希釈) で  $37^\circ\text{C}$  で 1 時間処理した。1% BSA 含有 PBS で 3 回洗浄した後、Alexa Fluor® 488 標識化ヤギ抗ウサギ抗体 (1:500、1% BSA 含有 PBS で希釈) でさらに  $37^\circ\text{C}$  で 1 時間処理した。再度 1% BSA 含有 PBS で 3 回洗浄した後、DAPI (1  $\mu\text{g/mL}$  in PBS) で  $37^\circ\text{C}$ 、15 分処理して核を染色し、PBS で洗浄したものをサンプルとして観察した。観察は 63 倍の油浸対物レンズを搭載した共焦点レーザー顕微鏡 (Zeiss LSM 700) により実施した。

## 2-4 統計解析

2 群間の比較は Student の  $t$  検定で行った。3 群間以上の場合は、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) 後に Tukey の方法で多重比較を行った。

## 3 実験結果

### 3-1 HFAs 処理した CHO 細胞の細胞内 HFA レベル

CHO 細胞を 50  $\mu$ M リノール酸 (250 nmol/dish) と共に 24 時間インキュベートすると、野生型細胞 (CHO-K1)、ペルオキシソーム欠損型細胞 (CHO-zp102) とともに顕著にリノール酸を蓄積した。このとき、両細胞間で蓄積したリノール酸量に差はみられなかった (図 3A, D)。一方、HYA や HYB のようなヒドロキシ脂肪酸の場合、野生型細胞でもペルオキシソーム欠損細胞でもリノール酸ほどの細胞内蓄積は見られなかった (図 3B, C)。両細胞間で比較すると、野生型細胞よりも、ペルオキシソーム欠損細胞の方が、HYA、HYB 共に細胞脂質への蓄積量が多かった (図 3E, F)。また、リノール酸は TG に多く分布していたが、HYA や HYB は TG には分布せず、リン脂質画分に取り込まれていた。(図 3G, H, I)。

### 3-2 CHO 細胞におけるペルオキシソーム依存的なヒドロキシ脂肪酸の消失

野生型及びペルオキシソーム欠損型細胞にヒドロキシ脂肪酸を取り込ませ、脂肪酸を含まない培地に置き換えた後、細胞からの消失を追跡した (図 4)。野生型細胞を 50  $\mu$ M のリノール酸 (250 nmol/dish) で 3 時間処理した時の細胞内に蓄積したリノール酸は、約 15 nmol/dish であった。この細胞をリノール酸不含培地でさらに 24 時間まで培養した時、細胞内のリノール酸レベルはほとんど変化しなかった。同様の結果がペルオキシソーム欠損細胞を用いた実験でも得られた。これに対し、3 時間の 50  $\mu$ M HYA 処理によって野生型細胞に蓄積した HYA (約 2.2 nmol/dish) は、その後 18 時間のインキュベートで約 80% が消失した。しかし、ペルオキシソーム欠損細胞で同様の実験を行った場合、細胞中に取り込んだ HYA (2.5

nmol/dish) は、その後 24 時間まで変わらず残存していた (図 4B)。このペルオキシソームの有無による脂肪酸消失の差は HYB を用いた実験でも得られた (図 4C)。以上より、リノール酸とは異なり、HYA や HYB のようなヒドロキシ脂肪酸はペルオキシソーム依存的に代謝消去されることが示唆された。

### 3-3 CHO 細胞からのペルオキシソーム依存的なヒドロキシ脂肪酸の消失

脂肪酸を添加した培地で CHO 細胞をインキュベートし、一定時間後に残存する添加脂肪酸を定量した。野生型 CHO-K1 細胞にリノール酸を添加した時、インキュベート時間依存的に培地からリノール酸が消失した。この減少量は細胞内で増加したリノール酸量とほぼ一致しており、24 時間のインキュベーションでこの培養系中から消失したリノール酸量は添加量 (250 nmol) の約 5% 程度であった (図 5A, ○)。同様の結果がペルオキシソーム欠損型 CHO-zp102 細胞を用いた実験でも得られた (図 5A, ■)。このことより、図 3 で観察されたように、細胞内に取り込まれたリノール酸の代謝にペルオキシソームはあまり関与しておらず、そのほとんどが細胞脂質へアシル化され、維持されていると思われた。一方、培養上清からのヒドロキシ脂肪酸の減少の推移は、野生型とペルオキシソーム欠損型間で大きく異なっていた。HYA を添加したペルオキシソーム欠損細胞において、24 時間後の培地からの減少量と細胞内の増加量はそれぞれ、40 nmol と 15 nmol で、消失量 (25 nmol) は添加した HYA (250 nmol) の 10% 程度であった (図 5B, ■)。これに対し、野生型細胞の培養系からの消失量は 110 nmol で添加した HYA の約 44% に相当する値であった。これは、培地からの減少量 (120 nmol) がリノール酸のそれよりも多いにもかかわらず、細胞内の蓄積量が 10 nmol 以下と、ほとんど蓄積していないことに起因する。(図 5B, ○)。HYB を用いた実験からも同様の結果が得られた (図 5C)。これらの結果から、腸内細菌が産生するヒドロキシ脂肪酸の動物細胞への取り込みはリノール酸と同等か、それ以上の効率だが、ペルオキシソーム依存的に消去されるために、細胞脂質にほとんど蓄積していないこ

とが示唆された。驚くべきことに、培地から消失した HYA 量 (120 nmol) は細胞脂質を構成する脂肪酸の総量 (118 nmol, 図 5B) と同等であった。すなわち、この実験条件下ではペルオキシソームは自身の細胞総脂肪酸量に相当する量のヒドロキシ脂肪酸を消去していることになる。

### 3-4 HFA 処理が CHO 細胞のペルオキシソームの数に及ぼす作用の解析

図 5 において、HFAs の消失速度は前半 (0~6 時間) よりも後半 (6~24 時間) においてその消失が加速しているように思われた。この観察から HFAs 処理によってペルオキシソーム数が増加するのではないかと考え、その可能性を検討した。ペルオキシソーム膜に局在するトランスポータータンパク質の PMP70 に特異的な抗体を用いて蛍光免疫染色を実施したところ、HYA 処理した野生型細胞においてペルオキシソーム数 (緑のドット) が増加したように思われた。この増加は特に、細胞核近傍で顕著であった (図 6A-D)。本研究で使用したペルオキシソーム欠損型細胞 (CHO-zp102) は PMP70 を含有するがペルオキシソーム機能を有さない膜構造物、いわゆるペルオキシソームゴーストを有することが報告されている。本研究においても CHO-zp102 細胞は PMP70 陽性の構造体を有していたが、これらの数は HYA 処理によって変化しなかった (図 6F-I)。野生型 CHO-K1 細胞のペルオキシソーム数に対するリノール酸の作用は、HYA の作用と比較して弱かった (図 6E)。また、ペルオキシソーム欠損 CHO-zp102 細胞におけるペルオキシソームゴーストの数は、リノール酸処理においても変化しなかった (図 6J)。これらの結果から、ヒドロキシ脂肪酸はペルオキシソームの生合成を増強することが示唆された。

### 3-5 ヒト消化管細胞の培養系中からのペルオキシソーム依存的な HFAs の消失

腸内細菌が放出するヒドロキシ脂肪酸が最初に接触するのは消化管上皮細胞である。ヒト消化管細胞におけるヒドロキシ脂肪酸の代謝を調べるため、ヒト消化管由来の培養細胞のうち、中分化型管状胃腺がん由来

MKN74 細胞及び結腸がん由来 Caco-2 細胞を用いて実験を行った。MKN74 細胞の培地にリノール酸を添加した時、リノール酸の培地からの減少量と細胞内の増加量はほぼ一致しており、添加後 24 時間で培養系から完全に消失したリノール酸量は添加量の 8%程度であった (図 7A, ○)。一方、HYA はリノール酸と同様に培地から消失していったが、細胞内にはほとんど蓄積せず、24 時間のインキュベート時間中に培養系から完全に消失した HYA は添加量の 41%になった。これはリノール酸消失量の 5 倍である (図 7A, ●)。同様の結果が Caco-2 細胞を用いた実験からも得られた (図 7B)。これらの結果より、げっ歯類細胞 (CHO-K1) だけでなくヒト消化管細胞においても、ヒドロキシ脂肪酸は細胞に効率よく取り込まれるが、蓄積することなく、素早くペルオキシソームで代謝消去されることが明らかとなった。

#### 4. 考察

現代に生きる我々はダイズやナタネなど被子植物を主な油として摂取している。これは食品加工技術の発達や流通機構の発展に負うところが大きい。例えば、縄文時代の遺跡からカヤの実が出土することなどからもわかるように、古代の日本人にとって裸子植物の種子油は重要な脂質源の 1 つになっていた可能性がある (1)。我々は、以前、カヤの実に含まれるポリメチレン中断型不飽和脂肪酸のシアドン酸が高等動物にとって必須脂肪酸のリノール酸に変換されることを見出した (7,8)。この代謝はペルオキシソームが関与していることから、ペルオキシソームは脂肪酸の消去装置ではなく、脂肪酸再生装置としての役割があるのではないかと考えている。

本研究では腸内細菌由来の脂肪酸であるヒドロキシ脂肪酸の代謝とペルオキシソームの関連について研究を行った (12)。その結果、非動物型脂肪酸である HYA および HYB は共にペルオキシソームで代謝されることがわかった。実験当初、HYA や HYB は細胞内にほとんど蓄積しないことから、細胞が取り込まないのではないかと考えたが、細胞上清からは HYA や HYB がリノール酸と同等に減少していることがわかり、取り込んで素早く代謝していることが考えら

れた。驚くことに、細胞のヒドロキシ脂肪酸の代謝量は細胞総脂質と同等であった。すなわち、ペルオキシソームは 24 時間で自身の細胞脂質をすべて酸化消去するほどの代謝能力があり、その酸化的代謝能力をもって HYA や HYB を消去しているのである。この代謝はヒト消化管の胃由来 MKN74 細胞、腸由来 Caco2 細胞でも観察された。腸内細菌の乳酸菌由来のヒドロキシ脂肪酸は最初に接触する消化管上皮細胞のペルオキシソームが素早く代謝している可能性が考えられる。

前述したポリメチレン中断型脂肪酸のペルオキシソームにおける代謝は非動物型脂肪酸の動物型脂肪酸への作り替えという意義があった(7)。今回のヒドロキシ脂肪酸のペルオキシソーム代謝の意義の解明には最終代謝産物の構造の特定が必要である。残念ながら、本研究では最終産物を見出すことはできなかったが、鎖長が 2 あるいは 4 メチレン短縮された脂肪酸が培養上清から有意な量で検出されている(12)。これらの代謝物は培養上清から減少したヒドロキシ脂肪酸の一部を説明する量に過ぎないが、鎖長短縮物を細胞外に放出するという代謝動態は興味深い。これは、アシル鎖を短くすることによる水溶性の増加と、それによる尿中排泄の促進の意味があるのではないかと考えられる。

HYA で処理した細胞ではペルオキシソームの増加も観察された。このことはペルオキシソーム代謝産物がこの小器官の増殖を誘導していることを意味している。肥満は腸内細菌叢と関連していると言われる。乳酸菌由来の脂肪酸がペルオキシソームを増殖させることは、脂肪酸の酸化的代謝能力、すなわち太りやすさと腸内細菌叢との関連を示すものかもしれない。これについては今後の検討が必要であり、裸子植物由来のポリメチレン中断型脂肪酸にもそのような作用があるのか、興味深い。

今回調べた非動物型脂肪酸である乳酸菌由来ヒドロキシ脂肪酸は動物細胞の構成成分としては利用されずペルオキシソーム依存的に消去されることがわかった。この過程でこれらの脂肪酸が脂肪酸 $\beta$ 酸化の活性化をもたらしている可能性も示唆された。この結果は古来より日本人が食してきた油や腸内細菌由来の油が我々の脂質代謝活性を活発にしていることを示唆する。移動手段が発達し、食物の欧米化を伴った高度消費社会に生きる現代人は運動不足やエネルギーの



過剰摂取の状態に陥りやすい。この状況が直接的あるいは間接的に脂質代謝異常症や肥満症を引き起こしている。今では顧みられなくなった裸子植物由来の油や善玉菌が産生する油の脂質代謝に及ぼす効果はさらに調べる価値がある。

## 謝辞

本研究の遂行にあたり、研究助成をいただいた甲南大学総合研究所並びにプロジェクトリーダーの甲南大学今井博之教授にお礼申し上げます。また、乳酸菌由来の脂肪酸をご提供いただきました京都大学岸野重信准教授、小川順教授にお礼申し上げます。本研究の成果の多くは、徳島大学大学院薬科学教育部博士後期課程の大学院生である森戸克弥さんによって得られたものであり、森戸さんとの共著としてまとめております。

## 参考文献

1. 中野益男. 脂質分析を通して縄文人の食生活を探る. 脂質栄養学, 7(1), 23-30 (1998)
2. Tamotsu Tanaka, Kayo Shibata, Hidehiko Hino, Tomoko Murashita, Mitsuyoshi Kayama and Kiyoshi Satouchi, Purification and gas chromatographic-mass spectrometric characterization of non-methylene interrupted fatty acid incorporated in rat liver  
*J. Chromatogr. B*, **700**, 1-8 (1997)
3. Tamotsu Tanaka, Toshinori Hattori, Maki Kouchi, Kaoru Hirano and Kiyoshi Satouchi  
Methylene-interrupted double bond in polyunsaturated fatty acid is essential structure for metabolism by fatty acid chain elongation system of rat liver  
*Biochim. Biophys. Acta*, **1393**, 299-306 (1998)
4. Tamotsu Tanaka, Tatsunori Takimoto, Jun-ichi Morishige, Yasushi Kikuta, Takayuki Sugiura and Kiyoshi Satouchi, Non-methylene-interrupted

polyunsaturated fatty acids: Effective substitute for arachidonate of phosphatidylinositol

*Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **264**, 683-688 (1999)

5. Tamotsu Tanaka, Jun-ichi Morishige, Tatsunori Takimoto, Yoshimichi Takai and Kiyoshi Satouchi  
Metabolic characterization of sciadonic acid (5c,11c,14c-eicosatrienoic acid) as an effective substitute for arachidonate of phosphatidylinositol  
*Eur. J. Biochem.*, **268**, 4928-4939 (2001)
6. Jun-ichi Morishige, Yoshimichi Takai, Kaoru Hirano, Tamotsu Tanaka and Kiyoshi Satouchi  
Production and protein kinase C activation of diacylglycerols with polymethylene-interrupted PUFA residues  
*Lipids*, **40**, 155-162 (2005)
7. Tamotsu Tanaka, Jun-ichi Morishige, Dai Iwawaki, Terumi Fukuhara, Naomi Hamamura, Kaoru Hirano, Takashi Osumi and Kiyoshi Satouchi  
Metabolic pathway that produces essential fatty acids from polymethylene-interrupted polyunsaturated fatty acids in animal cells  
*FEBS J.*, **274**, 2728-2737 (2007)
8. Tamotsu Tanaka, Sachika Uozumi, Katsuya Morito, Takashi Osumi and Akira Tokumura  
Metabolic conversion of C20 polymethylene-interrupted polyunsaturated fatty acids to essential fatty acids  
*Lipids*, **49**, 423-429 (2014)
9. 田中保, 下澤伸行, ベルオキシソームにおける脂肪酸代謝と疾患生化学, **90**(1), 14-20, (2018)
10. Shigenobu Kishino, Michiki Takeuchi, Si-Bum Park, Akiko Hirata, Nahoko Kitamura, Jun Kunisawa, Hiroshi Kiyono, Ryo Iwamoto, Yosuke Isobe, Makoto Arita, Hiroyuki Arai, Kazumitsu Ueda, Jun Shimada, Satomi Takahashi, Kenzo Yokozeki, Sakayu Shimizu, Jun Ogawa

- Polyunsaturated fatty acid saturation by gut lactic acid bacteria affecting host lipid composition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 17808-17813 (2013)
11. Tsuyoshi Goto, Young Il Kim, Tomoya Furuzono, Nobuyuki Takahashi, Kanae Yamakuni, Ha-Eun Yang, Yongjia Li, Ryuji Ohue, Wataru Nomura, Tatsuya Sugawara, Rina Yu, Nahoko Kitamura, Si-Bun Park, Shigenobu Kishino, Jun Ogawa and Teruo Kawada. 10-Oxo-12(Z)-octadecenoic acid, a linoleic acid metabolite produced by gut lactic acid bacteria, potently activates PPAR $\gamma$  and stimulates adipogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **459**, 597-603 (2015)
12. Katsuya Morito, Ryota Shimizu, Nahoko Kitamura, Si-Bun Park, Shigenobu Kishino, Jun Ogawa, Tatsuya Fukuta, Kentaro Kogure, and Tamotsu Tanaka Gut microbial metabolites of linoleic acid are metabolized by accelerated peroxisomal  $\alpha$ -oxidation in mammalian cells. *Biochim. Biophys. Acta*, **1864**, 1619-1628 (2019)



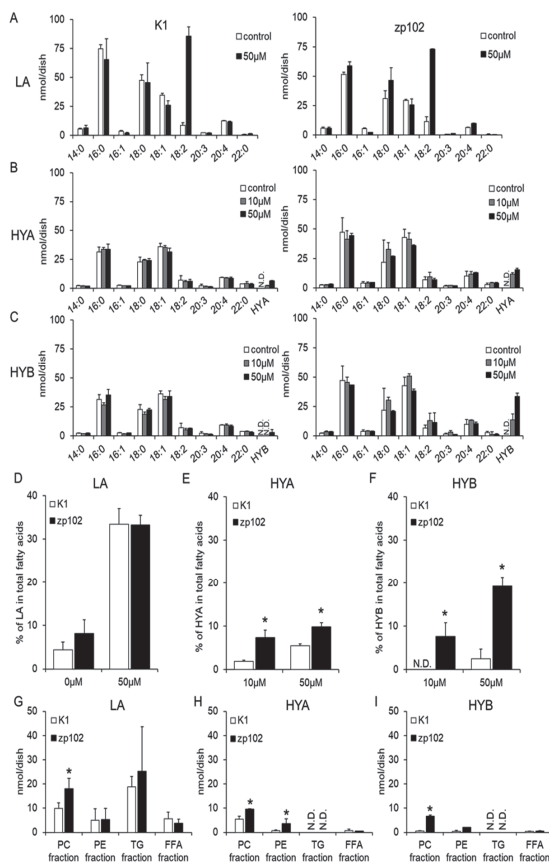


図3. リノール酸、HYA、またはHYBのCHO細胞野生型(K1)あるいはペルオキシソーム欠損型細胞への取り込み

野生型(CHO-K1)及びペルオキシソーム欠損型(CHO-zp102)細胞を種々の濃度のリノール酸(A)、HYA(B)、またはHYB(C)とともに24時間インキュベートした。細胞脂質の脂肪酸組成をGCによって定量した。

LA(D,G)、HYA(E,H)、HYB(F,I)を取り込んだ細胞脂質におけるHYAの取り込み量とホスファチジルコリン(PC)、ホスファチジルエタノールアミン(PE)、トリグリセリド(TG)および遊離脂肪酸画分における分布

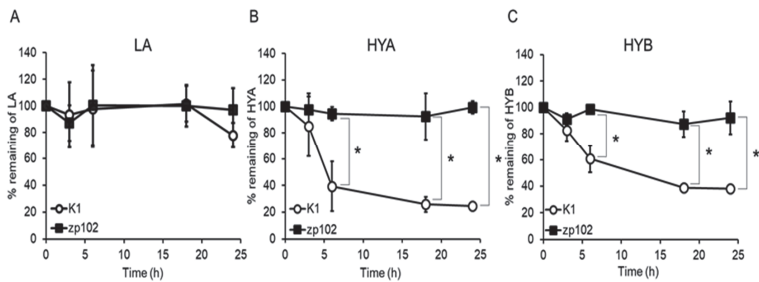


図 4 . CHO 細胞が取り込んだ脂肪酸の時間依存的な変動

野生型 (CHO-K1) 及びペルオキシソーム欠損型 (CHO-zp102) 細胞を 50  $\mu$ M のリノール酸 (A)、HYA (B)、もしくは HYB (C) 含有培地で 3 時間インキュベートし、これらの脂肪酸を取り込ませた。その後、脂肪酸不含培地に交換してさらに 24 時間までインキュベートした。グラフの横軸と縦軸の起点はそれぞれ、FA 不含培地に交換した時間、3 時間のインキュベートで蓄積した脂肪酸量に対する相対値とした。各点は平均値 $\pm$ 標準偏差 ( $n = 3$ ) で示す。P 値は Student の  $t$  検定で算出した (\* $P < 0.05$ )。

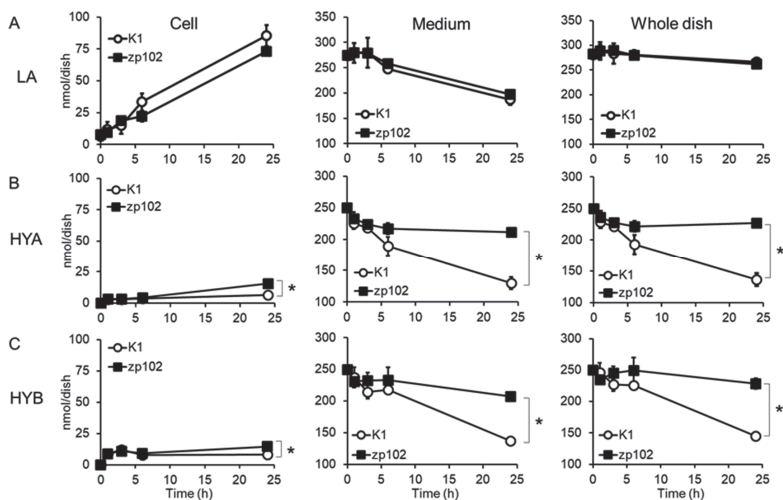


図5 CHO細胞内及び培養上清中HFAs量の時間依存的な変動

野生型 (CHO-K1) 及びペルオキシソーム欠損型 (CHJO-zp102) 細胞を 50  $\mu$ M のリノール酸 (A)、HYA (B)、もしくは HYB (C) 含有培地でインキュベートした。細胞と培養上清を別々に回収して脂質を抽出し、脂肪酸分析に供した。右の列 (Whole dish) は、各点における細胞内外の FA 量の和である。各点は平均値  $\pm$  標準偏差 ( $n=3$ ) で示し、 $P$  値は Student の  $t$  検定で算出した (\* $P<0.05$ )。

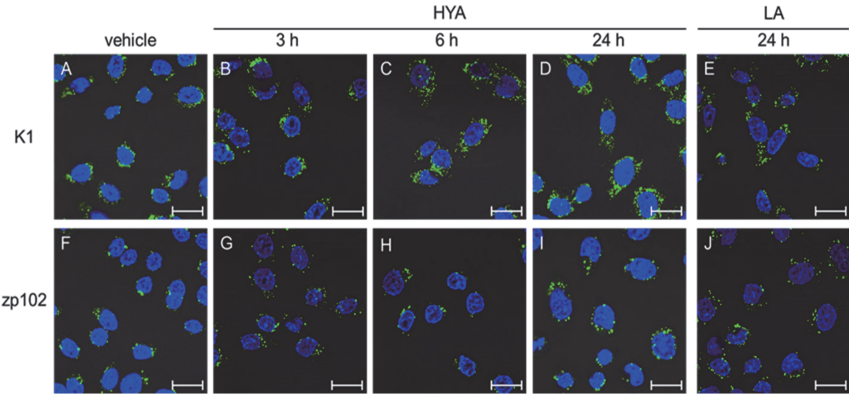


図 6 . CHO 細胞のペルオキシソーム数に対する FA の作用

野生型 (CHO-K1) 及びペルオキシソーム欠損型 (CHO-zp102) 細胞を溶媒 (A, F)、50 μM HYA (B-D, G-I)、または 50 μM リノール酸 (E, J) で示した時間処理した。ペルオキシソームマーカーとして PMP70 を抗 PMP70 抗体を用いて染色した (緑)。核は DAPI で染色した (青)。スケールバー：20 μm

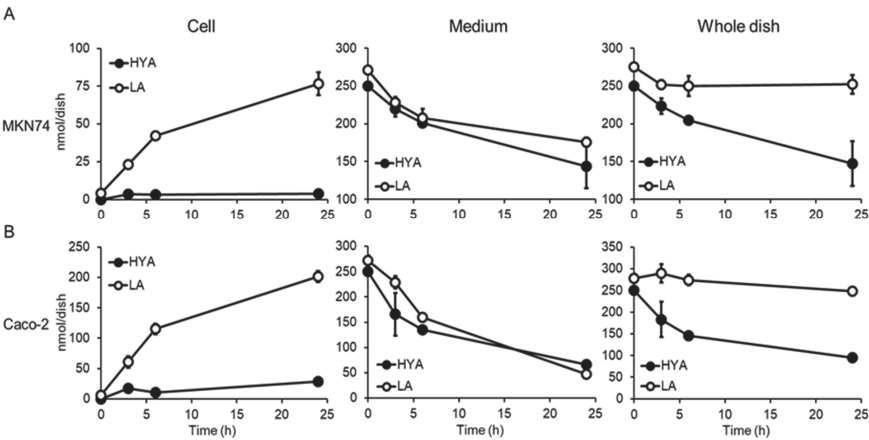


図 7 . ヒト消化管由来細胞の細胞内及び培養上清中 HFAs 量の時間依存的な変動

MKN74 (A) 及び Caco-2 (B) 細胞を 50 μM HYA またはリノール酸で処理し、一定時間後に細胞と培養上清を別個に回収した。それらから脂質を抽出し、メチルエステルへと変換後、GC に供した。右の列 (Whole dish) は、各点における細胞内外の FA 量の和である。各点は平均値±標準偏差 (n = 3) で示した。