

## 酸化脂肪酸のヒト急性単球性白血病由来株 THP-1 に対する影響

依馬 未佳<sup>\*1</sup>, 井内 勝哉<sup>\*2</sup>, 久富 寿<sup>\*3</sup>

Effect of oxidized fatty acids on proliferation in human acute monocytic leukemia cell line (THP-1)

Mika EMA<sup>\*1</sup>, Katsuya IUCHI<sup>\*2</sup>, Hisashi HISATOMI<sup>\*3</sup>

(Received May 31, 2017)

### 1. 背景

魚介類などの食品成分に多く含まれる多価不飽和脂肪酸は、抗炎症作用や抗がん作用など様々な生理活性を有すると報告されている<sup>1,2</sup>。多価不飽和脂肪酸は、酵素的な反応による酸化だけではなく、生体内で発生した Reactive Oxygen Species (ROS) やフリーラジカルからの暴露によって非酵素的にも酸化される。近年、多価不飽和脂肪酸のフリーラジカル連鎖反応(酸化)に起因する酸化脂肪酸における、生体内の脂質メディエーターとしての機能が解明されてきた<sup>3,5</sup>。しかし、これら酸化脂肪酸の細胞殺傷能などの生理活性は明らかになっていない。そこで本研究では、多価不飽和脂肪酸である Docosahexaenoic acid (DHA) および Linoleic acid (LA) の非酵素的な酸化により Oxidized DHA (OxDHA) および Oxidized LA (OxLA) を作製し、培養したがん細胞株に対する細胞殺傷能を確認した。

### 2. 材料と方法

ヒト急性単球性白血病細胞株 THP-1 を ATCC より入手した。THP-1 は、 $1.0 \times 10^5$  Cells/mL になるように 96 Well プレートに播種し、10% ウシ胎児血清、100 units/mL ペニシリン、50  $\mu$ g/mL ストレプトマイシン、0.25  $\mu$ g/mL アンフォテリシンを含んだ RPMI1640 培地で、5% CO<sub>2</sub> の条件下、37°C で培養した。OxDHA および OxLA の作製は DHA (funakoshi) および LA (funakoshi) (Figure 1-A) を 80% N<sub>2</sub> + 20% O<sub>2</sub> の混合ガスを充てんしたアルミパウチ中に入れ、25°C の条件下で 2 日間自動酸化させた。様々な

濃度 (0, 0.625, 1.25, 2.5  $\mu$ g/mL) の DHA, OxDHA, LA および OxLA で THP-1 細胞に処理した。処理をした 24 時間後の細胞生存率を測定し、DHA, OxDHA, LA および OxLA の細胞への影響を評価した。細胞生存率は Cell Counting Kit-8 (同仁化学) を用いて測定し、統計処理は Excel を用いて student の t 検定によりおこなった。

### 3. 結果

DHA, OxDHA, LA および OxLA を THP-1 細胞へ処理した 24 時間後の細胞生存率を示した (Figure 1-B)。THP-1 細胞において、DHA では細胞殺傷能はほとんど確認されなかったが、OxDHA では濃度依存的に生細胞数が減少した。具体的には、1.25  $\mu$ g/mL DHA 処理では細胞生存率の低下が確認できなかったが、1.25  $\mu$ g/mL OxDHA 処理では有意な細胞生存率の低下が確認された。また、2.5  $\mu$ g/mL OxDHA 処理により、2.5  $\mu$ g/mL DHA 処理と比較して、著しく細胞生存率が低下した。この結果は、DHA の非酵素的な酸化によって、生理活性が惹起する可能性を示唆する。また、LA および OxLA 処理における細胞殺傷能は DHA および OxDHA 処理と比較して著しく低下した。

### 4. 考察

Figure 1-B より、THP-1 細胞において 1.25  $\mu$ g/mL の DHA 処理では細胞生存率の低下が確認されなかったが、同濃度の OxDHA 処理により細胞生存率の明らかな低下が確認されたことから、DHA の酸化による細胞への毒性効果が推測された。また、OxLA 処理と比較して OxDHA 処理において細胞生存率が低下した理由として、二重結合には含まれたメチレン基の水素が多いほど酸化されやすいため、OxDHA では細胞死誘導活性の高い酸化物質の生成が予想された。これまでの研究で得られている DHA の抗

\*1: 理工学研究科理工学専攻博士前期課程

\*2: 物質生命理工学科助教

\*3: 物質生命理工学科教授 (hisatomi@st.seikei.ac.jp)

