

## 乳中に存在する脂肪酸のヒストンアセチル化修飾促進作用の解明

山梨大学大学院総合研究部生命環境学域（生命環境学部地域食物科学科）・准教授 望月 和樹

### ■ 目的

短鎖脂肪酸である酪酸は、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害活性があることが報告されている。HDAC 阻害剤は、エピゲノムの一つであるヒストンのアセチル化修飾を促進することによって遺伝子発現の増大をもたらす。さらに、中鎖脂肪酸(カプリル酸)は、小腸においてヒストンアセチル化酵素(HAT)の一つである CBP/p300 の遺伝子発現を劇的に増大させる作用を持つことを、申請者らは報告した(Mochizuki et al 2008 BJN)。それゆえ、乳製品に多く存在する脂肪酸は、ヒストンアセチル化修飾を促進することによって遺伝子発現を増大させる可能性が高いと考えられる。短鎖・中鎖脂肪酸は、人および牛の乳に多く含まれ乳・幼児期の発育に重要であるとともに、経腸栄養剤にも含まれる。それゆえ、短鎖・中鎖脂肪酸は、組織が未成熟および機能が低下している状態において、ヒストンアセチル化修飾の促進を介して、組織機能を成熟させる可能性がある。そこで、本研究では、短鎖・中鎖脂肪酸のヒストンアセチル化修飾促進作用を培養細胞でスクリーニングし、その作用を確認する研究を行うことを目的とした。

### ■ 方法

1. サブコンフレントの小腸様 Caco-2 細胞に各種脂肪酸[短鎖脂肪酸(酪酸)、中鎖脂肪酸(カプリル酸)、合成短鎖脂肪酸(バルプロ酸ナトリウム)]を 1mM になるように 10%FBS を含む DMEM 培地で 48 時間培養し、小腸の消化吸収関連遺伝子(CRBPII, GLUT5)およびアセチル化ヒストン結合タンパク質遺伝子の発現をリアルタイム RT-PCR によって観察した。
2. サブコンフレントの小腸様 Caco-2 細胞に、p44/42MAPK の阻害剤である PD098059 を 50 $\mu$ M になるように 10%FBS を含む DMEM 培地で 48 時間培養し、小腸の消化吸収関連遺伝子(GLUT5、SI)の発現をリアルタイム RT-PCR によって観察した。さらに、GLUT5 遺伝子上流域におけるヒストンのアセチル化修飾およびヒストンアセチル化酵素(CBP、p300)の結合をクロマチン免疫沈降法で観察した。

### ■ 結果および考察

短鎖脂肪酸である酪酸およびバルプロ酸は、CRBPII の遺伝子発現を増大(酪酸)もしくは増大させる傾向(バルプロ酸)があることが明らかとなった。一方、GLUT5 も同様の上昇傾向が観察されたが、有意な上昇ではなかった。また、カプリル酸は、これら遺伝子の発現の増大傾向が観察されたが有意ではなかった。これまでの研究により小腸のこれら遺伝子発現の増大時には、p44/42MAPK の不活性化が関与することが報告されている。さらに酪酸の Caco-2 細胞への投与は、p44/42MAPK を不活性化することが報告されている。そこで、p44/42MAPK 阻害剤 PD098059 を Caco-2 細胞に投与し、消化吸収関連遺伝子の発現を調べた。その結果、PD98059 の投与によって GLUT5 および SI 遺伝子の有意な発現上昇が観察された。さらに、GLUT5 遺伝子上流域におけるヒストン H3 リジン 9 番目(K9)および K14 のアセチル化修飾、ヒストン H3 の K5 および K8 のアセチル化修飾およびヒストンアセチル化酵素 p300 の結合が増大することが明らかとなった。これらの成果は、乳中に含まれる短鎖脂肪酸は、ヒストンアセチル化修飾の促進を介し小腸の消化吸収関連遺伝子の発現を増大させている可能性が示唆された。今後、短鎖脂肪酸が小腸における消化吸収関連遺伝子周辺のヒストンアセチル化修飾を促進するかを調べる必要があると考えられる。

### ■ 結語

乳中に含まれる短鎖・中鎖脂肪酸は、小腸の消化吸収能を増大させる可能性が示唆された。