

# STUDY OF THE EFFECTS OF DOCOSAHEXAENOIC ACID (DHA) AND A STRUCTURED PHOSPHOLIPID CONTAINING DHA ON PHYSIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS OF NEUROGENESIS IN VITRO

著者	Amanda LO VAN
号	86
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3674号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00123356">http://hdl.handle.net/10097/00123356</a>

氏名	アマンダ ロヴァン Amanda LO VAN
学位の種類	博士 (医学)
学位授与年月日	2017年3月24日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	STUDY OF THE EFFECTS OF DOCOSAHEXAENOIC ACID (DHA) AND A STRUCTURED PHOSPHOLIPID CONTAINING DHA ON PHYSIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS OF NEUROGENESIS <i>IN VITRO</i> (生理的ならびに卒中条件における神経新生に対するドコサヘキサエン酸 (DHA) およびそのリゾリン脂質体の影響)
論文審査委員	主査 教授 大隅 典子 教授 八尾 寛 教授 中澤 徹

## 論文内容要旨

Docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3) is an essential omega-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA). It is specifically enriched in the brain and the retina and it is required for visual acuity, proper brain development and cerebral functions. While DHA deficiency in the brain was shown to be linked to the emergence of cerebral diseases (i.e. Alzheimer's disease or Parkinson's disease), studies showed that a dietary intake of omega-3 PUFA could prevent or attenuate neurologic disturbances linked with ageing or neurodegenerative diseases. In this context, it is primary to deliver DHA efficiently to the brain. Targeting the brain with DHA might offer great promise in developing new therapeutics for neurodegenerative diseases. The French host laboratory previously synthesized a stabilized form of lysophosphatidylcholine-DHA, which is main vector of DHA transportation to the brain, of structure 1-acetyl,2-docosahexaenoyl-glycerophosphocholine, patented and named AceDoPC®. Injection of AceDoPC or DHA after experimental ischemic stroke showed that both molecules also had neuroprotective effects. These potential neuroprotective effects are expected to be due, in part, to DHA conversion into oxygenated metabolites. This study aims to investigate the beneficial effects of DHA and its derived metabolites either unesterified or esterified within structured phospholipids on a model of neurogenesis *in vitro* under physiological or pathological conditions.

The first objective of this work was then to synthesize the DHA-containing structured phospholipid AceDoPC®, DHA oxygenated derivative protectin DX (PDX) and a novel structured phospholipid of protectin: 1-acetyl,2-protectinDX-glycerophosphocholine (AceDoxyPC). The second objective was to investigate the effects of DHA, AceDoPC and PDX on neurogenesis using an *in vitro* model of neurogenesis, namely cultures of neural stem progenitor cells (NSPCs) derived from the adult mouse brain under physiological or pathological conditions (ischemic conditions). Following this, the third objective of this work was to identify the mechanisms involved in such response to stress induced under pathological conditions.

Synthesis of the novel structured phospholipid AceDoxyPC was successfully performed by double enzymatic lipoxygenation of AceDoPC and identification of the product was possible using advanced techniques of liquid chromatography (LC)/electrospray

(書式 1 2)

ionization (ESI)/mass spectrometry (MS). Future studies on this potential neuroprotective molecule transporter are to be investigated in the near future. Neurogenesis study of cell cultures with AceDoPC showed enhanced neurogenesis compared to addition of unesterified DHA or vehicle control, especially under pathological conditions. Preliminary studies of the potential mechanisms involved in neuroprotection hinted that AceDoPC neuroprotective and regenerative effects might be due in part to its anti-oxidative effects.

**Keywords:** docosahexaenoic acid, 1-acetyl,2-docoshexaenoyl-glycerophosphocholine, protectin, phospholipid, neuroprotection, neurogenesis, stroke, oxidation, brain

## 審査結果の要旨

博士論文題目

**STUDY OF THE EFFECTS OF DOCOSAHEXAENOIC ACID (DHA) AND A STRUCTURED PHOSPHOLIPID CONTAINING DHA ON PHYSIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS OF NEUROGENESIS *IN VITRO***

(生理的ならびに卒中条件における神経新生に対するドコサヘキサエン酸(DHA)およびそのリゾリン脂質体の影響)

所属専攻・分野名 ..... 医科学専攻 ..... 発生発達神経科学分野.....

学籍番号 B3MD5135 ..... 氏名 Amanda LO VAN.....

○ ドコサヘキサエン酸 (DHA) は、 $\omega$ -3 系多価不飽和脂肪酸の 1 種であり、栄養学的に必須であることが知られている。DHA は脳や網膜に多量に存在し、その発生や機能に重要である。また、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経疾患において脳内 DHA が減少していることや、食物からの DHA 摂取が加齢や神経変性疾患による神経機能の異常を改善することができる。したがって、脳内に DHA を輸送することにより、これらの疾患の新しい治療法に繋がる可能性がある。申請者はダブルディグリー・プログラムによる課程の間に、INSA-Lyon の研究室において、DHA の誘導体として 1-acetyl,2-docoshexaenoyl-glycerophosphocholine (特許取得、AceDoPC®)、プロテクチン DX (PDX)、および新たなプロテクチンのリン脂質体である 1-acetyl,2-protectinDX-glycerophosphocholine (AceDoxyPC) を合成することに成功した。また、これらの脂質の機能評価のために、本学において成体マウス脳より取り出した神経幹細胞を用いた初代培養実験系を習得し、共同研究を行った。その結果、AceDoPC はエステル化されていない DHA や溶媒よりも神経新生、すなわち神経幹細胞の増殖と分化を亢進した。また、神経新生亢進の傾向は、とくに培養下で 30 分の低酸素処理をした場合に顕著に認められた。この条件は生体の脳内における虚血状態を模倣したものであり、AceDoPC がこのような病的な脳の状態を改善できる可能性を示唆する興味深い知見と考えられる。さらに、AceDoPC の神経幹細胞に対する効果の背景となる分子メカニズムの一端として、Nrf2 を含む抗酸化シグナルの活性化の関与が伺われた。この点に関しては、さらなる検証が必要と考えられる。

以上のように、本研究は脳に多量に含まれる脂質として DHA に着目し、DHA よりも脳細胞に輸送されやすいことが期待されるリゾリン脂質が、アルツハイマー病等の脳疾患の治療に役立つ可能性を示唆しており、基礎医学研究として重要な知見を見いだしたものと言える。

よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。