

## The anti-inflammatory activity of a sulfated polysaccharide Fucoidan in innate immune cells

Yoshiyuki Miyazaki<sup>1, 2</sup>, Toshiya Satoyama<sup>1</sup>, Hayato Nakano<sup>3</sup>, Shugo Takeuchi<sup>4</sup>, Hideaki Takeuchi<sup>5</sup>, Daisuke Tachikawa<sup>2, 6</sup>.

1. Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka, Japan
2. R&D, NPO Research Institute of Fucoidan, Fukuoka, Japan
3. Product Development, Ventuno Co., LTD., Fukuoka, Japan
4. Product Development, Kaisou-science no kai Co., LTD., Tokyo, Japan
5. Product Development, Kamerycah Inc., CA, United States
6. Surgery, Wakamiya Hospital, Oita, Japan

Fucoidan is a series of natural sulfated polysaccharides derived from brown seaweeds and have reported to possess various biological activities such as anti-tumor, anti-virus, and immuno-modulatory effects. In previous study, we revealed that fucoidan derived from *Cladosiphon okamuranus* activated murine macrophage-like cell line RAW264 cooperatively with Zymosan, a *Saccharomyces cerevisiae*-derived  $\beta$ -glucan. On the other hand, several reports demonstrated that fucoidan inhibited lipopolysaccharide (LPS)-induced production of nitrogen oxide (NO) and inflammatory cytokines by RAW264 cells. Therefore, in this study, we investigated the potential of fucoidan derived from *Undaria pinnatifida* to regulate the excessive activation of RAW264 cells in response to overstimulation with pathogen components. RAW264 cells were inoculated at 20000 cells/well in 96-well culture plates, and after a recovery culture for 24 hr, the cells were treated with fucoidan with or without appropriate concentrations of each ligand for pattern recognition receptors (PRRs) including Toll-like receptors (TLRs). Whereas the production of NO was significantly enhanced with fucoidan alone, it was dose-dependently inhibited by fucoidan under stimulation with Pam3CSK4 (TLR1/TLR2 ligand), heat killed *Listeria monocytogenes* (HKLM, TLR2 ligand), LPS (TLR4 ligand), Pam2CGDPKHPKSF (FSL-1, TLR2/TLR6 ligand). These results suggested that fucoidan have beneficial ability to alleviate excessive inflammatory reaction during pathogenic infection and maintain suitable immune balance.

Session title: Molecular, metabolic and epigenetic regulation of innate immunity and inflammation (自然免疫と炎症の分子、代謝および後成学的な制御)

## 《日本語訳》

タイトル：

硫酸化多糖類フコイダンの自然免疫細胞における抗炎症活性

宮崎義之<sup>1,2</sup>, 里山俊哉<sup>1</sup>, 中野勇人<sup>3</sup>, 竹内秀吾<sup>4</sup>, 竹内秀晃<sup>5</sup>, 立川大介<sup>2,6</sup>

(<sup>1</sup>九州大学農学研究院, <sup>2</sup>NPO フコイダン研究所, <sup>3</sup>(株)ヴェントゥーノ,

<sup>4</sup>(株)海藻サイエンスの会, <sup>5</sup>Kamerycah Inc., <sup>6</sup>(医法)若宮病院)

要旨：

フコイタンは、褐藻類由来の天然硫酸化多糖類であり、抗腫瘍作用、抗ウイルス作用、免疫調節作用など様々な生物活性が報告されています。これまでの研究において我々は、オキナワモズク (*Cladosiphon okamuranus*) 由来のフコイタンが、サッカロミセス酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 由来の $\beta$ -グルカンである Zymosan と協調して、マウスマクロファージ様細胞株 RAW264 を活性化することを明らかにしました。その一方で、フコイタンは細菌の細胞壁成分であるリポ多糖 (LPS) に反応した RAW264 細胞による一酸化窒素 (NO) および炎症性サイトカインの産生を抑制することが報告されています。そこで、本研究では、メカブ (*Undaria pinnatifida*) 由来のフコイタンが、病原体成分による刺激に対する RAW264 細胞の過剰な活性化を制御する可能性を検討しました。RAW264 細胞を 96 穴培養プレートに 1 穴あたり 2 万個播種し、24 時間の回復培養後、マクロファージの病原体認識にはたらく Toll 様受容体 (TLR) などのパターン認識受容体 (PRR) に対する至適濃度のリガンド (病原体成分) の存在または非存在下でフコイタン処理を行いました。その結果、RAW 細胞における NO 産生は、フコイタン単独では有意に増加しましたが、Pam3CSK4 (TLR1/TLR2 リガンド)、*Listeria monocytogenes* 加熱死菌体 (HKLM、TLR2 リガンド)、LPS (TLR4 リガンド)、Pam2CGDPKHPKSF (FSL-1、TLR2/TLR6 リガンド) 刺激下では、フコイタンによって用量依存的に阻害されました。これらの結果から、フコイタンは適切な免疫バランスを維持するはたらきを持ち、病原性感染症における過剰な炎症反応を緩和に有効であると考えられます。