

平成 27 年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	■奨励研究助成金	□研究成果刊行助成金
	□21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	□21世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	エイコサペンタエン酸は内皮間葉移行を抑制することで糖尿病性腎症進展抑制効果をもたらすか？	
研究者所属・氏名	研究代表者：近畿大学農学部食品栄養学科 安澤俊紀 共同研究者：	

1. 研究目的・内容

糖尿病性腎症の進展における腎線維化の一因として内皮間葉移行 (EndMT) が関与していると考えられている。糖尿病性腎症における EndMT を抑制することで、腎症の増悪化予防が可能であると考え、本研究では EndMT に着目し、糖尿病モデル動物および培養血管内皮細胞を用いてエイコサペンタエン酸 (EPA) の腎保護作用について検討した。

2. 研究経過及び成果

糖尿病モデル動物における EPA の腎保護作用の検討

糖尿病モデル動物は 11 週齢雄性 C57BL/6N マウスを脂肪エネルギー比 60% の高脂肪食 (HFD-60 : オリエンタル酵母工業株式会社) で飼育し、これらのマウスにストレプトゾトシン (STZ ; 50 mg/kg BW/day, 5 days) を腹腔内投与し作製した。正常 Control は標準飼料を用いて飼育した。糖尿病群は、高脂肪食を摂取させ STZ を投与した HF・STZ 群と EPA を投与した HF・STZ・EPA 群 (EPA; 1000 mg/kg BW/day) に分け、STZ 投与による血糖値上昇を確認した 13 週齢時より EPA を投与し、19 週間後の 32 週齢時に解剖に供した。STZ を投与したマウスは Control 群と比較して有意な空腹時血糖の上昇を認め、また、25 週齢時に実施した IPGTT においても STZ 投与マウスにおいて糖負荷後の急激な血糖上昇を認め、血糖曲線下面積においても有意な高値が認められた。空腹時血糖および IPGTT において EPA 投与による有意な変化は認められなかった。腎機能は、尿中アルブミン排泄量を測定し評価した。実験開始 11 週齢時の尿中アルブミン排泄量は各群において有意な差は認められなかった。28 週齢時では、HF・STZ 群において Control 群と比較して有意な尿中アルブミン排泄量の増加が認められ、腎機能の悪化が示された。しかし、EPA を投与した HF・STZ・EPA 群では、HF・STZ 群と比較して尿中アルブミン排泄量の増加は有意に抑制され、EPA による腎保護作用が示唆された (Figure 1)。

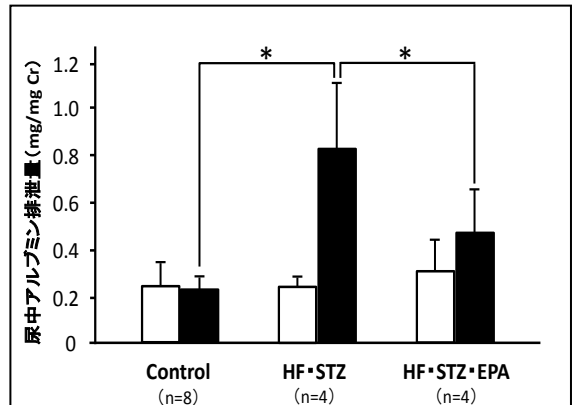


Figure 1. 尿中アルブミン排泄量

実験開始 11 週齢時 (□) および 28 週齢時 (■) の尿中アルブミン排泄量は 24 時間蓄尿を行い測定した (mean ± SD, *p<0.05)。

培養血管内皮細胞を用いた EndMT に及ぼす EPA の影響

糖尿病などの病態により血管内皮細胞が刺激を受け、血管内皮細胞が線維芽細胞に転換することで腎線維化をきたし腎症が悪化する。培養血管内皮細胞 (bEnd.3) を、遊離脂肪酸としてパルミチン酸を添加した培地で培養したところ、血管内皮細胞の指標である CD31 タンパク質発現量は低下傾向を示し、遊離脂肪酸の添加が EndMT を引き起こす可能性が考えられた。しかし、EPA はパルミチン酸添加による CD31 発現量の減少を抑制する傾向が示された (Figure 2)。

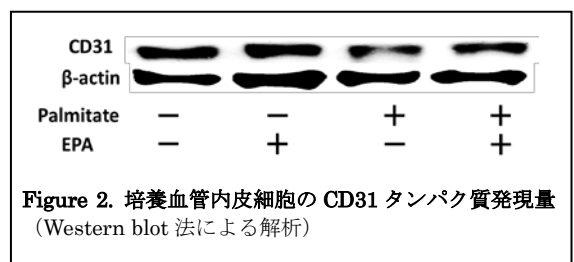


Figure 2. 培養血管内皮細胞の CD31 タンパク質発現量 (Western blot 法による解析)

3. 本研究と関連した今後の研究計画

糖尿病モデル動物において EPA の腎保護作用が示唆されたことから、腎臓の免疫組織学的解析により、CD31 陽性血管内皮細胞における線維芽細胞マーカーの発現を検討し EPA の抗 EndMT 効果を明らかにする。次にそのメカニズムの解析として EPA 投与により変化する microRNA の発現を検討し、EPA の腎保護作用と関連のある microRNA を探る。培養血管内皮細胞においても引き続き、脂肪酸添加あるいは高血糖によって EndMT が起こることを血管内皮細胞の指標である CD31 および線維芽細胞の指標である SM22 α の発現変化により確認するとともに、EPA の添加が EndMT に及ぼす影響を検討する。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
第 14 回日本栄養改善学会 近畿支部学術総会	口頭	平成 27 年 12 月 6 日