

平成 30 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	血管新生調節を介した神経再生機序の解明	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部薬理学教室 助教 西中 崇 共同研究者：なし	

1. 研究目的・内容

糖尿病性神経障害では、血管新生の低下に基づく神経再生システムの破綻が認められる。マクロファージは、周囲の環境に応じて分化誘導がおこり、ある環境においては血管新生と神経再生(ユニット再生)を促進する。慢性的な高血糖では、血液・組織中に終末糖化産物(advanced glycation end-products、AGEs)が蓄積し、マクロファージの機能を傷害する。本研究では、AGEs によるマクロファージの機能障害の機序を検討して保護作用を示す候補化合物の作用について比較した。

2. 研究経過及び成果

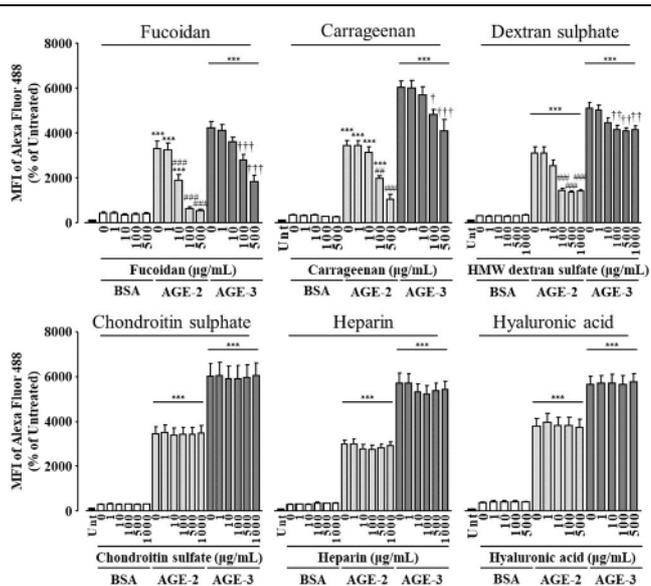
マウス由来単球細胞の RAW264.7 細胞を用いて AGEs の中でも毒性の高い AGE-2、AGE-3 の細胞内取り込みを評価した。これまでに海藻由来の硫酸化多糖類である Fucoidan は AGEs の取り込みを阻害することを確認している。その他の硫酸化多糖類として、Carrageenan、Dextran sulphate、Chondroitin sulphate、Heparin と Hyaluronic acid について AGEs 取り込みの比較検討を行った。

図 1 上段の Fucoidan、Carrageenan および Dextran sulphate は AGE-2、AGE-3 の取り込みを抑制した。図 1 下段の Chondroitin sulphate、Heparin ならびに Hyaluronic acid(多糖類)は取り込みに対して影響はなかった。

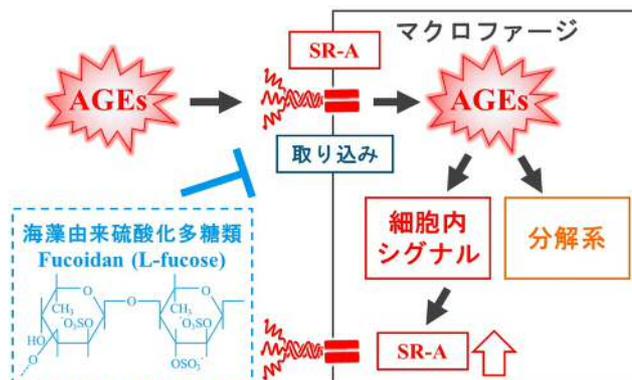
RAW264.7 細胞による AGE-2 ならびに AGE-3 の細胞内取り込みには AGE 受容体である CD204/scavenger receptors class A (SR-A)が関与することから、SR-A 発現に対する各種硫酸化多糖類の効果を評価した。

AGE の細胞内取り込みを抑制した硫酸化多糖類のうち、Fucoidan のみ AGE-2 と AGE-3 による SR-A 発現上昇を抑制した。一方、AGE の細胞内取り込みには影響しなかった硫酸化多糖類のうち、Chondroitin sulphate は AGE-3 による SR-A 発現上昇を抑制した。

Fucoidan は AGE-2、AGE-3 の細胞内取り込みと SR-A 発現上昇を抑制した。よって、Fucoidan は SR-A に対するアンタゴニスト活性に加えて、SR-A を介した細胞内シグナルを調節する作用をもつ可能性がある(図 2)。



(図 1) AGEs 取り込みに対する硫酸化多糖類の効果



(図 2) AGEs によるマクロファージの機能障害に対する Fucoidan の効果

3. 本研究と関連した今後の研究計画

AGE の細胞内取り込みと SR-A 発現調節の解析から、海藻由来の硫酸化多糖類である Fucoidan が高血糖状態におけるマクロファージの機能障害を改善する化合物として有用である可能性が示された。今後、内皮細胞とマクロファージの共培養による管腔形成能の評価系を用いて AGE による血管新生の異常に対する Fucoidan の改善作用を検討する。さらに、ストレプトゾトシン誘発の糖尿病モデル動物において坐骨神経の切断を行い、神経再生モデルを作成する。このモデル動物において Fucoidan を神経再生領域に局所投与し、各種マーカータンパク質の発現(血管新生 : RECA-1、神経再生 : NF200)について組織学的に解析する。さらに、神経再生領域におけるマクロファージの機能調節を担うタンパク質(オステオポンチン、IL-33、HMGB1)の発現量について測定を行う。

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)
WCP2018	ポスター	2018年7月3日
第134回日本薬理学会近畿部会	口頭	2018年11月23日
第92回日本薬理学会年会	口頭	2019年3月16日