

平成 22 年 6 月 7 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006～2009

課題番号：18500641

研究課題名（和文） 糖尿病性血管障害の発症に関わる新規原因分子の解明

研究課題名（英文） Survey of candidate molecules relevant to diabetic angiopathy

研究代表者

深津（佐々木） 佳世子（FUKATSU (SASAKI) KAYOKO）

山形大学・農学部・客員准教授

研究者番号：70338903

研究成果の概要（和文）：

糖尿病性血管障害に関わる新規原因因子の解明のために、培養ヒト血管内皮細胞を用いて検討を行った。高グルコース障害を来した生細胞において、グルタチオン系抗酸化能が顕著に低下していることを発見し、この低下の原因がグルタチオン自体の糖化である可能性を見いだした。グルタチオンの N 位と S 位がそれぞれ糖化された 2 化合物を、糖尿病性血管障害発症に関わる可能性を持つ新規分子として初めて合成し、グルタチオン系抗酸化酵素補酵素活性が低下していることを確認した。今後、更なる知見が得られれば、実際の医療現場へ影響を与える可能性も考えられる。

研究成果の概要（英文）：

To investigate the novel candidate molecules involved in the cause of diabetic angiopathy, we used cultured human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). In living HUVEC that was exposed to high glucose, antioxidant ability via the GSH cycle was remarkably reduced. The possibility was suggested that glycation of glutathione is responsible for this reduction. Two glycated glutathiones, whose N-position and S-position was respectively modified, were synthesized, and their coenzyme activities for antioxidant enzyme via GSH system were decreased. Further studies in this line would contribute to actual medical treatment in future.

交付決定額

（金額単位：円）

|        | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2006年度 | 1,300,000 | 0       | 1,300,000 |
| 2007年度 | 0         | 0       | 0         |
| 2008年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 2009年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 総計     | 3,400,000 | 630,000 | 4,030,000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：血管障害，糖尿病，酸化ストレス，培養細胞、グルタチオン

## 1. 研究開始当初の背景

長寿社会の到来や食生活の変化に伴い、近年我が国では疾病構造が大きく変化し、血管障害に関わる疾病が急速に増加している。中でも特に糖尿病は、著しい増加の一途を辿っており、糖尿病に合併して引き起こされる糖尿病性血管障害は、細小血管障害として生活の質の低下をもたらし、大血管障害として直接患者の生命を左右するため、その対策は国家的急務となっている。

糖尿病性血管障害の予防対策として、現在は血糖値のコントロールが重視されているが、必ずしも血糖値が高い患者ほど血管障害を発症しやすいというわけではない。糖尿病性血管障害の発症には糖尿病発症とは別の要因・経路があるのではないかと考え、高血糖から糖尿病性血管障害発症の間に、グルコースとも深く関連する新たな因子群が介在するのではないかと考えたことが、本研究課題の着想の由来である。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、糖尿病性血管障害の発症に関わる未知のメカニズムを解明することである。具体的には、グルコースや鉄と関わる糖尿病性血管障害の新たな原因分子を探し、その作用機序を解明することをめざす。

## 3. 研究の方法

培養ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）を用いて、*ex vivo*での実験を中心に行った。

糖尿病性血管障害モデル細胞として、生理濃度以下の鉄を補充することで高グルコース毒性への感受性を回復させた独自のHUVEC培養系を用いた。

また、我々が開発した、生きた細胞における過酸化水素消去能の測定法を取り入れた。

さらに、企業への合成委託に際し、自らが合成法を検討し、共同して化学合成を行った。

その他、細胞ホモジネートを用いた酵素活性測定やグルタチオン測定、過酸化脂質測定、

HPLCを用いた分析も行った。

## 4. 研究成果

自ら作製した、高グルコースにより細胞障害が引き起こされる培養HUVECの系を用いて、高グルコース障害を来した生細胞において、グルタチオン依存系の抗酸化能が著しく低下していることを見いだした。

この時、細胞ホモジネートにおける抗酸化酵素活性およびグルタチオン量に変化がなく、一方で、グルタチオンとグルコースの混合液をインキュベートすることでグルタチオンの補酵素活性が著しく低下することから、グルタチオン自体がグルコースにより化学的修飾を受けている可能性が考えられた。

そこで、グルタチオンのN位とS位をそれぞれグルコースにより糖化した2化合物について合成を行った。

これらの合成品について、グルタチオン系の抗酸化酵素、グルタチオンブルオキシダーゼとグルタチオンレダクターゼに対する補酵素活性を検討したところ、著しい低下が認められた。

また、合成品のHPLC分析により、特徴的なピークを得た。実際に高グルコース障害を来した細胞を用いて、これらの特徴的なピークの検証を行うところである。

今後更なる知見が得られ、新たな糖尿病性血管障害の原因分子の詳細が明らかになれば、実際の医療の現場や食事療法など栄養の現場へ影響を与える可能性も考えられる。

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計9件)

Churchman, A. T. et al. Hideyo Sato, (7人中4番目) Transforming Growth

Factor-B1 elicits Nrf2-mediated antioxidant responses in aortic smooth muscle cells. (査読有り) J. Cell. Mol. Med. 13: 2282-2292, 2009

Yoshinari, O., Sato, H., and Igarashi, K. Anti-diabetic effects of pumpkin and its components, trigonelline and nicotinic acid, on Goto-Kakizaki rats. (査読有り) Biosci. Biotechnol. Biochem. 73: 1033-1041, 2009

Shibasaki, T. et al. Hideyo Sato (9人中8番目) Aggravation of ischemia-reperfusion-triggered acute renal failure in xCT-deficient mice. (査読有り) Arch. Biochem. Biophys. 491: 63-69, 2009

Iuchi Y et al. Hideyo Sato, (7人中6番目) Deficiency of the cystine-transporter gene, xCT, does not exacerbate the deleterious phenotypic consequences of SOD1 knockout in mice. (査読有り) Mol Cell Biochem.: 319(1-2): 125-32, 2008

Massie, A. et al. Hideyo Sato, (8人中6番目) Time-dependent changes in xCT protein expression in the striatum of the hemi-Parkinson rat: use of a new polyclonal antibody. (査読有り) NeuroReport 19: 1589-1592, 2008

Fukatsu T. et al. Kayoko Sasaki-Fukatsu, (9人中7番目) Bacterial endosymbiont of the slender pigeon louse *Columbicola columbae* allied to endosymbionts of grain weevils and tsetse flies. (査読有り) Appl Environ Microbiol, 73: 6660-6668, 2007

Taguchi K, Tamba M, Bannai S, Sato H. Induction of cystine/glutamate transporter in bacterial lipopolysaccharide induced endotoxemia in mice. (査読有り) J Inflamm; 4: 20, 2007

Sakakura, Y. et al. Hideyo Sato, (9人中2番目) Expression and function of cystine/glutamate transporter in neutrophils. (査読有り) J. Leukocyte Biol. 81: 974-982, 2007

Sasaki-Fukatsu K et al. (9人中1番目) Symbiotic bacteria associated with stomach disks of human lice. (査読有り) Appl Environ Microbiol: 72 (11) :

7349-7352, 2006

[学会発表](計7件)

深津(佐々木)佳世子、佐藤英世、坂内四郎、牧野誠夫. 糖尿病性血管障害の発症メカニズムとその防御. 第7回小児栄養研究会・日本臨床栄養協会合同学術総会(京都), 2010年3月6日

Sato, H. Protective role of System xc- in vivo against oxidative stress. 11th International Congress on Amino acids, Peptides, and Proteins (Vienna, Austria), 2009年8月5日

佐藤英世 細胞抗酸化系の一翼を担うアミノ酸トランスポーターの個体レベルでの生理機能 第61回日本酸化ストレス学会学術集会(京都), 2008年6月20日

Kayoko Sasaki-Fukatsu, Ryuichi Koga, Kohjiro Tanaka, Naruo Nikoh, Wendy A. Smith, Colin Dale, Dale H. Clayton, Takema Fukatsu. Independent Evolutionary Origins of Endosymbiotic Bacteria in Sucking and Chewing Lice. 5th International Wolbachia conference, (Crete, Greece) 2008年6月10日

佐藤英世 シスチン・グルタミン酸トランスポーターの発現制御と機能 第29回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム(仙台), 2007年11月26日

Sasaki-Fukatsu K. Characterization of mycetomal endosymbiont in the human louse. バレンシア大学にて招待講演(Spain), 2006年8月8日

Sasaki-Fukatsu K, Koga R, Mihara M, Kobayashi M and Fukatsu T. Characterization of mycetomal endosymbiont in the human body louse. 5th International Symbiosis Society (ISS), (Vienna, Austria), 2006年8月5日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

深津(佐々木) 佳世子  
(FUKATSU (SASAKI) KAYOKO)  
山形大学・農学部・客員准教授  
研究者番号: 70338903

(2)研究分担者

佐藤 英世 (SATO HIDEYO)

山形大学・農学部・准教授

研究者番号：60235380