

令和 3 年 5 月 20 日現在

機関番号：17701

研究種目：奨励研究

研究期間：2020～2020

課題番号：20H01104

研究課題名 茶由来のマイクロRNAがヒト血管内皮細胞の老化に対して及ぼす効果について

## 研究代表者

成松 亮子 (Narimatsu, Ryoko)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・技能補佐員(研究補助)

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 480,000円

研究成果の概要：緑茶の効能の多くは茶カテキンに起因するが、今回は、抗酸化作用を持つことで知られる(-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG)の血管系への作用を検討した。ヒト血管内皮細胞HUVECを用いて、TGF-beta/BMPシグナルへの影響とマイクロRNAの変化、炎症性分子の発現の変化について実験を行い、EGCGの血管内皮機能変容作用が確認され、各々の結果の再現性と下流シグナル分子の詳細な検討を継続中である。近年、マイクロRNAの細胞外へ分泌が注目を浴びている。将来的に、茶を含む植物由来のマイクロRNAによる血管系細胞への影響を、細胞間情報伝達の観点から研究していきたい。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

鹿児島県は全国2位の茶生産県であり、近年も茶農家の生産規模拡大が顕著となっている。また、生活習慣病の罹患率、高齢者のフレイルの増加は、本人や家族の生活の逼迫のみならず医療費の高騰につながっており、社会問題の一つである。これらの背景の中で、地産地消たる茶を利用した生活習慣病予防は、世情に合致した社会的意義の持つ研究対象である。緑茶に含まれるカテキンの研究の多くは抗酸化作用であるが、日々進化する学問の中で未踏の領域が多い。今回注目しているマイクロRNAの動態やTGF/BMPのシグナル経路への影響については、学術的に未研究分野であり、緑茶の健康効用研究の発展に寄与するものと考えられる。

研究分野：分子血管生物学

キーワード：マイクロRNA カテキン

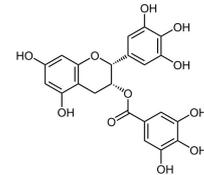
## 1. 研究の目的

茶は世界中で古くから多様な方法で加工されて飲用され、また食材の一部として使用される。日本茶の代表である緑茶にはポリフェノールである茶カテキンが多く含まれており、抗酸化作用を持つ物質として注目されている。緑茶の生産が全国 2 位の鹿児島における地産地消、産学連携の橋渡しとなる研究として、緑茶のもつ幅広い生体への機能を明らかにすることは急務である。

本研究の目的は、緑茶カテキンがもたらす血管への作用を抗酸化分子以外のファクターについて検討し、新たなカテキン作用の分子機構を見出し、今後の医療発展に貢献することである。この 1 年の研究で、目的に到達するための実験の道筋はおおむね到達したと考えている。

## 2. 研究成果

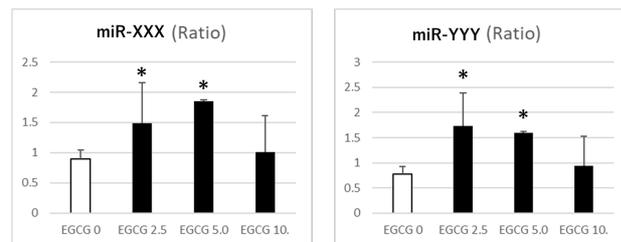
(-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) は、緑茶に含まれるカテキンの中でも含有量が多く化学的に安定している (右図: sigma 社より購入)。この EGCG が、培養血管内皮細胞 (human umbilical cord endothelial cells : HUVEC) の機能に及ぼす変化を多角的に検討した。主な成果について、以下の (1) ~ (4) に分けて列挙する。



(1) EGCG が HUVEC の形態変化を惹起するか、そのシグナルについて検討した。以前の研究で、EGCG が血管内皮細胞 (HUVEC) に及ぼす作用として、一酸化窒素 (NO) の産生亢進を報告している。すなわち、EGCG は、血管内皮細胞の NO 合成酵素 (eNOS) のリン酸化シグナルを増強することで、NO 作用が増強し抗動脈硬化作用を示した。本研究では、血管新生、リモデリングに關与する TGF-beta/BMP シグナルを検討した。HUVEC 細胞の BMP-9 刺激により活性化される smad1/5 のリン酸化が、EGCG (1-10 microM) の添加により増強する結果が得られた。しかしながら、異なる条件下で EGCG の BMP9 シグナルを観察すると、実験により異なる結果も得られており、現時点ではまだ明確な結果は得られていない。このシグナル系の下流分子および間葉系マーカーも含めて検討を継続して行っている。

(2) EGCG が血管内皮細胞中のマイクロ RNA の発現に及ぼす影響を検討した。HUVEC を EGCG (1-10 microM) で 24 時間刺激後 RNA を回収し、血管機能に重要な影響をもつマイクロ RNA について PCR 法にて、それらの発現を確認した。

血管内皮細胞特異的な miRNA-126 の発現は優位な変化が見られなかったが、右図のように、血管内皮細胞に比較的発現するいくつかのマイクロ RNA (ここでは、miR-XXX 及び miR-YYY と表記) の発現は増強した。いずれも、1-5 microM の EGCG 濃度の刺激が至適濃度と考えられた。現在、これらマイクロ RNA の発現増強機序の考察とともに、血管内皮機能に対する役割について検討中である。



The expressions of miR-XXX and miR-YYY stimulated by different dose of EGCG ( $\mu\text{M}$ ) for 24 hours in HUVEC. \*  $p < 0.05$  (compared to 0 mM),  $n = 4$ .

(3) EGCG が血管炎症の制御に關連するか、炎症性接着分子の変化を検討した。TNF-alpha 刺激によって HUVEC で VCAM-1 の発現が増強することが知られている。あらかじめ一定時間 EGCG で HUVEC を前処理しておく、この TNF-alpha 刺激による VCAM-1 の発現が減少した。但し、この現象は、EGCG の濃度により反応性がかなり異なっており、さらなる検討の必要があると考えている。しかしながら、EGCG は血管炎症の開始、収束の一連の反応のどこかに關与することが示唆された。

(4) EGCG の血管平滑筋細胞への影響についても検討を開始した。現段階では、一定の結果が得られていないが、血管平滑筋細胞は血管内皮細胞からの NO による形質変化、収縮・進展などの機能的変化のみならず、EGCG の直接的な作用が見られないが、培養系で AoSMC (ヒト血管平滑筋細胞) を使用して研究続行中である。これまでの実験結果では、EGCG が血管平滑筋細胞の機能維持のペクトルを増強する結果を得ている。

いずれも、コロナ禍の一年間で行った研究の一端で研究時間不足のために、血管の老化についての研究は断片的であり、一連の結果は得られなかった。また、得られた結果についてはさらなる実験による結果の再現を確認する必要があるが、現時点ではカテキンの抗炎症作用、血管リモデリング作用の可能性を示すことができ、今後の老化研究の一助となると確信する。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
----	--------