

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：32714

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K05915

研究課題名（和文）プロスタサイクリン欠乏が惹起する慢性腎臓病様血管障害の予防・改善へのアプローチ

研究課題名（英文）Approach to prevention and improvement of chronic kidney disease-like vascular disorders caused by prostacyclin deficiency

研究代表者

横山 知永子（Yokoyama, Chieko）

神奈川工科大学・健康医療科学部・教授

研究者番号：90200914

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：生活習慣病の治療・予防としてエイコサペンタエン酸(EPA)やドコサヘキサエン酸(DHA)などのn-3系多価不飽和脂肪酸の臨床的効果が数多く示されており、積極的な摂取や食事栄養療法に取り入れられている。しかしながら、これらの作用機序の詳細はまだまだ明らかではない。プロスタサイクリン(PGI₂)は、n-6系必須多価不飽和脂肪酸のアラキドン酸から産生される新血管系の恒常性維持に重要な働きを担う生理活性物質である。一方、IP受容体を介した経路では炎症亢進に関与することが明らかになっている。本研究では、様々な組織培養細胞に対するn-3系脂肪酸の影響を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

n-3系多価不飽和脂肪酸の具体的な分子メカニズムや細胞レベルの作用機序を明らかにすることは、臨床的効果を裏付けるためにも重要である。n-3系不飽和脂肪酸が様々な組織培養細胞に与える影響が詳細に検討されつつあり、本研究においては、n-3系不飽和脂肪酸が脂肪細胞、肝細胞、腎尿細管細胞などの細胞レベルでどのようにして炎症反応を調節し、血管機能やその他の生理プロセスに影響を与えるかを理解するための重要な一歩であり、生活習慣病が引き起こす慢性腎臓病の予防や治療法開発に寄与すると考える。

研究成果の概要（英文）：Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), among other n-3 polyunsaturated fatty acids, have shown numerous clinical benefits in the treatment and prevention of lifestyle-related diseases, and are actively incorporated into dietary and nutritional therapies. However, the detailed mechanisms of their actions are not yet fully understood. Prostacyclin (PGI₂), a physiologically active substance crucial for maintaining vascular homeostasis derived from arachidonic acid, a n-6 essential polyunsaturated fatty acid, plays an important role. On the other hand, it has been elucidated that through the IP receptor pathway, PGI₂ is involved in promoting inflammation. This study investigates the effects of n-3 fatty acids on various tissue-cultured cells.

研究分野：病態生化学 栄養学 薬理学

キーワード：プロスタサイクリン PGI₂ 腎障害 多価不飽和脂肪酸

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年我が国では、糖尿病、肥満、高血圧など生活習慣病から動脈硬化そして慢性腎臓病に陥り透析治療を余儀なくされる人が著しく増加しており、国民の健康維持を目指す上で大きな問題となっている。このような疾患の治療・予防としてエイコサペンタエン酸(EPA)やドコサヘキサエン酸(DHA)などの n-3 系多価不飽和脂肪酸の臨床的効果が数多く示されており、積極的な摂取が推奨され、食事栄養療法に取り入れられている。しかしながら、これら n-3 系多価不飽和脂肪酸の作用機序の詳細はいまだ明らかではない。一方、プロスタサイクリン(プロスタグランジン(PG)I₂)は、n-6 系必須多価不飽和脂肪酸のアラキドン酸からシクロオキシゲナーゼ経路によって産生され、新血管系の恒常性維持に重要な働きを担う生理活性物質である。我々が作成した PGI₂ 合成酵素遺伝子改変マウスは PGI₂ を産生できず、加齢に伴い動脈硬化や慢性腎臓病様の腎障害を発症するが、その発症機構は明らかではない[1]。

必須不飽和脂肪酸のアラキドン酸からは、プロスタグランジンやロイコトリエンをはじめとするエイコサノイドと呼ばれる強力な生理活性脂質が産生される。これらのうち、PGI₂ は、血小板の凝集抑制作用、平滑筋の弛緩作用、細胞増殖制御能を持つ強力な生理活性脂質で、シクロオキシゲナーゼによってアラキドン酸から産生されたプロスタグランジン H₂ を PGI₂ に変換する PGI₂ 合成酵素によって産生される。この酵素は、主に血管内皮細胞で発現しているが、老化に伴い酵素活性は低下する。これまでに我々は、PGI₂ 合成酵素が血管以外の組織でも発現し、心血管系の恒常性維持、炎症、疼痛、生殖など、様々な作用に関わることを示してきた。また、世界に先駆けて PGI₂ 合成酵素欠損マウスを作製し、PGI₂ を産生できないこのマウス (PGI₂ 欠損マウス)が腎障害や大動脈の中膜平滑筋層や外膜の肥厚を発症することを明らかにし、PGI₂ が循環器系の恒常性維持に重要な役割を担っていることを示した[1]。また、PGI₂ が骨代謝に関わることも明らかにしており[2]、さらに、血管障害や肺高血圧のモデル動物に本酵素の遺伝子を導入すると、血管壁の肥厚ならびに血行動態や生存率が改善されることを示している[3, 4]。

2. 研究の目的

本研究では、腎および血管保護作用における PGI₂ とアディポサイトカインとの関連性、PGI₂ 欠乏による血管の恒常性維持低下がもたらす病態に対する n-3 系多価不飽和脂肪酸の病態改善・予防効果について明らかにすることを旨とし、主に細胞における不飽和脂肪酸の影響について検討することとした。

3. 研究の方法

各種培養細胞を用いて、炎症惹起時に n-3 系不飽和脂肪酸が及ぼす影響を検討した。

マウス前駆脂肪細胞は常法に従って脂肪細胞に分化させたのち LPS 添加により炎症を惹起させ、各種脂肪酸による炎症関連遺伝子ならびにアディポネクチンの発現レベルを TaqMan プロブ法を用いたリアルタイム PCR 法により測定し、ddCT 法にて解析した。また、培地中に分泌された発現物質は、エンザイムイムノアッセイ法で測定した。肝細胞の HepG2 や血管内被細胞についても同様の方法で検討した。

マウス近位尿細管上皮細胞はマニュアルに従って培養した。各種脂肪酸は Somura らの方法[5]をもとに脂肪酸結合アルブミン溶液を作成した。炎症関連遺伝子の発現レベルは脂肪細胞の場合と同様の方法で解析した。

4. 研究成果

成熟脂肪細胞において、エイコサペンタエン酸(EPA)とドコサヘキサエン酸(DHA)の炎症惹起に対する影響を検討した結果、脂肪酸非添加と比較して IL-6 の発現上昇は抑制された。正常 HepG2 細胞に EPA を添加した場合、アディポネクチン受容体 2(AdipoR2)と PPAR- α 遺伝子の発現上昇が認められ、脂肪酸 β -酸化の促進とエネルギー消費を増加させ、肝細胞におけるインスリン感受性は亢進すると考えられた。一方、インスリン抵抗性を惹起させた HepG2 細胞に EPA を添加した場合、非添加と比較してこれらの遺伝子発現は低下傾向にあり、インスリン抵抗性肝細胞において、EPA は AdipoR2 シグナル伝達経路を介したインスリン抵抗性の改善には関与しない可能性が考えられた。

近年、血中アルブミンは腎臓の糸球体において一定量原尿中に濾過され、尿細管でほぼ再吸収されることが明らかになってきた。慢性腎臓病などのアルブミン尿を生じる疾患では、糸球体濾過膜の障害だけでなく尿細管細胞でのアルブミン再吸収の障害により尿中へのアルブミン排泄が生じる[6]。そこで、マウス近位尿細管上皮細胞に各種脂肪酸を結合させたアルブミンを添加した結果、Somura らの結果に反して n-3 系不飽和脂肪酸結合アルブミン添加では炎症マーカーである MCP-1, COX-2, IL-6 などの発現が上昇した。また炎症惹起時ではこれら遺伝子の発現は上

昇したのに対し、n-6系脂肪酸結合アルブミン添加による発現上昇に差は認められなかった。さらにPGI2受容体アゴニストはこれらの炎症マーカーの発現を上昇させた。

- [1] Yokoyama C., Yabuki T., Shimonishi M., *et al.* *Circulation*. 106(18):2397-2403, 2002.
- [2] Nakalekha C, Yokoyama C, Miura H *et al.* *J. Endocrinol.* 204(2):125-133, 2010.
- [3] Todaka T, Yokoyama C, Hshimoto H, *et al.* *Stroke*. 30(2):419-426, 1999.
- [4] Nagaya N, Yokoyama C, Kyotani S, *et al.* *Circulation*. 102(16):2005-2010,2000.
- [5] Soumura M, Kume S, Isshiki K *et al.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 402:265-271, 2010.
- [6] Tojo A *Kidney International* 84:861-863, 2013.

5. 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〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------