

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2014

課題番号：26670448

研究課題名(和文)酸化ストレスを消去する腸管作用型新規ナノ粒子を利用した動脈硬化抑制の試み

研究課題名(英文)Anti-atherosclerotic properties of radical-containing nanoparticle

研究代表者

島野 仁 (Shimano, Hitoshi)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：20251241

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、pH非崩壊型ニトロキシドラジカル含有ナノ粒子(RNP-0)が動脈硬化を抑制しうるか、動脈硬化モデルLDL受容体欠損マウスを用いて解析した。コントロール群に比べてRNP-0群の動脈硬化形成は有意に減少した。体重、血中の総コレステロール、HDLコレステロール、non-HDLコレステロール、血中および腸管の酸化ストレスには、群間での差は認められなかった。腸内細菌叢の検討から、control群と比較してRNP-0群ではある特定の門に属する最近グループの減少が認められた。したがって、RNP-0は腸管において腸内細菌叢の組成の変化を介して抗動脈硬化作用を発揮する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：pH-insensitive radical-containing nanoparticle (RNP-0) is a newly synthesized nanoparticle intended to treat oxidative stress related disease. We assessed the effects of RNP-0 on atherosclerosis. RNP-0 treatment significantly decreased the atherosclerotic lesion area in western diet-fed LDLRKO mice. RNP-0 treatment also caused the change of microbiota. RNP-0 can be a novel anti-atherogenic candidate through regulation of microbiota.

研究分野：代謝内分泌学

キーワード：ナノメディシン 動脈硬化

### 1. 研究開始当初の背景

近年、社会の高齢化や肥満、糖尿病、脂質異常症などの生活習慣病の増加を背景として動脈硬化症が増加してきており、それに基づく心血管疾患、脳血管疾患は日本人の死因においてそれぞれ第2位、第3位を占めており、癌に匹敵する。活性酸素種 (Reactive Oxygen Species: ROS) は、ウイルスからの防御や炎症、アポトーシスなど様々な疾患に対して機能するものの、過剰に発生した ROS を生体が処理できないときに、組織障害等のダメージを生ずる。ROS は、脂質、特にリン脂質や低比重リポタンパク (LDL) を酸化して過酸化脂質や酸化 LDL を生成し、またタンパク質を酸化変性・失活させ、炎症や DNA の酸化損傷を引き起こす。それゆえ、酸化ストレスは細胞・組織を障害し、動脈硬化の形成・促進に参与する。加えて、肥満、インスリン分泌不全、インスリン抵抗性、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH)、高血圧など、ほぼすべての生活習慣病においても、ROS を起点とする慢性炎症と細胞機能障害が中心的な役割を演じていると考えられている。したがって、過剰な ROS を除去する新しいテクノロジーは、動脈硬化症や血管合併症の予防、進展抑制、さらにそのリスクとなる生活習慣病の発症や病態に対しても治療効果が期待される。

共同研究者である筑波大学数理物質科学系 長崎幸夫教授らのグループでは、これまで ROS 反応基 (ニトロキシドラジカル) を生体環境下で機能させるためのコアシェル型のナノ粒子の設計・開発を行ってきた。今回、LDL 受容体欠損マウスに高脂肪食を与えた動脈硬化モデルにおいて誘発される動脈硬化の形成が、pH 非崩壊型ニトロキシドラジカル含有ナノ粒子 (RNP-O) の投与により顕著に抑制される予備結果が得られた。

### 2. 研究の目的

そこで本研究では、新規 ROS 消去ナノ粒子 RNP-O による動脈硬化抑制効果の評価とその分子メカニズムの解析を行い、RNP-O の臨床応用への端緒とすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

動脈硬化モデルマウスである LDL 受容体欠損マウスに Western diet を負荷するとともに、生理食塩水または RNP-O を飲水投与し、大動脈、冠動脈などの動脈硬化巣の特徴、分布、細胞浸潤の種類等を詳細に検討し、RNP-O の動脈硬化への効果を評価した。また、RNP-O が直接作用する腸管、さらに動脈硬化巣、血管、血液、脂質代謝・胆汁酸代謝の中心臓器である肝臓、糞便をサンプルとして、腸管、動脈硬化巣、血管、血液中の酸化ストレスの評価、血中の脂質、炎症性サイトカイン、胆汁酸分析、腸管、動脈硬化病変部位、肝臓

の遺伝子発現解析、腸内細菌叢の定量・組成分析を行い、RNP-O による動脈硬化抑制メカニズムを分子レベルで解析した。

### 4. 研究成果

コントロール群に比べて RNP-O 群の動脈硬化形成は有意に減少した。体重、血中の総コレステロール、HDL コレステロール、non-HDL コレステロール、血中および腸管の酸化ストレスには、群間での差は認められなかった。腸内細菌叢の検討から、control 群と比較して RNP-O 群ではある特定の門に属する最近グループの減少が認められた。また、腸管防御機能の検討から、タイト結合タンパク質の腸管での発現がコントロール群に比べて RNP-O 投与群で上昇する傾向が認められた。したがって、RNP-O は腸管において腸内細菌叢の組成の変化や腸管バリア機能の亢進を介して抗動脈硬化作用を発揮する可能性が示唆された。

### 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4件)

1. Nakagawa Y, Satoh A, Yabe S, Furusawa M, Tokushige N, Tezuka H, Mikami M, Iwata W, Shingyouchi A, Matsuzaka T, Kiwata S, Fujimoto Y, Shimizu H, Danno H, Yamamoto T, Ishii K, Karasawa T, Takeuchi Y, Iwasaki H, Shimada M, Kawakami Y, Urayama O, Sone H, Takekoshi K, Kobayashi K, Yatoh S, Takahashi A, Yahagi N, Suzuki H, Yamada N, Shimano H. Hepatic CREB3L3 Controls Whole-Body Energy Homeostasis and Improves Obesity and Diabetes. *Endocrinology*. 2014 Dec; 155(12): 4706-4719.
2. Ehara T, Kamei Y, Yuan X, Takahashi M, Kanai S, Tamura E, Tsujimoto K, Tamiya T, Nakagawa Y, Shimano H, Takai-Igarashi T, Hatada I, Suganami T, Hashimoto K, Ogawa Y. Ligand-Activated PPAR  $\gamma$ -Dependent DNA Demethylation Regulates the Fatty Acid  $\beta$ -Oxidation Genes in the Postnatal Liver. *Diabetes*. 2015 Mar; 64(3): 775-784.
3. Tang N, Matsuzaka T, Suzuki M, Nakano Y, Zao H, Yokoo T, Suzuki-Kemuriyama N, Kuba M, Okajima Y, Takeuchi Y, Kobayashi K, Iwasaki H, Yatoh S, Takahashi A, Suzuki H, Sone H, Shimada M, Nakagawa Y, Yahagi N, Yamada N, Shimano H. Ablation of Elovl6 protects pancreatic islets from high-fat diet-induced impairment of insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun*.

- 2014 Jul; 450(1): 318-323.
4. Horie T, Nishino T, Baba O, Kuwabara Y, Nakao T, Nishiga M, Usami S, Izuhara M, Nakazeki F, Ide Y, Koyama S, Sowa N, Yahagi N, Shimano H, Nakamura T, Hasegawa K, Kume N, Yokode M, Kita T, Kimura T, Ono K. MicroRNA-33b knock-in mice for an intron of sterol regulatory element-binding factor 1 (Srebf1) exhibit reduced HDL-C in vivo. *Sci Rep*. 2014 155: 301-303.

〔学会発表〕(計5件)

1. 島野 仁: 脂質酸の量と質からみた脂肪毒性病態と糖尿病(レクチャー) 第49回糖尿病学の進歩(岡山)2015.2.20(金)
2. 島野 仁: 脂質の質に視点をのいた生活習慣病治療戦略(ワークショップ) つくば医工連携フォーラム 2015~食と農から医療・健康を科学する(農林水産技術会議筑波事務所内 農林ホール) 2015.1.23(金)
3. 島野仁: 新たな脂質の質的指標: 脂肪酸鎖長を介した生体制御と病態の臓器的展開、Elovl6KO マウス解析を通じて(シンポジウム) 第87回日本生化学会大会(国立京都国際会館)2014.10.16(木)
4. Hitosh Shimano: A new aspect of organ lipids in metabolic diseases, lessons from Elovl6. Homeodynamics in Clocks, Sleep and Metabolism Tokyo Translational therapeutics meeting (at Ito Hall, Ito International Research Center, The University of Tokyo) 2014.9.24.
5. Hitosh Shimano: New Aspect of Organ Lipids in Metabolic Diseases and Atherosclerosis from Quantity to Quality: Lessons from Elovl6. 9th Metabolic Syndrome, Type 2 Diabetes and Atherosclerosis Congress (Kyoto International Conference Center, Kyoto), 2014.9.12(金)-9.14(日)

〔図書〕(計6件)

1. 島野 仁: 序(第1章 転写因子 1. エネルギー代謝と転写因子 他) p27-33、「疾患モデルの作製と利用 脂質代謝異常と関連疾患<上巻>」(series モデル動物利用マニュアル)尾池雄一、佐々木雄彦、村上誠、矢作直也編集、エル・アイ・シー(東京))2015年1月31日発行
2. 矢作直也、島野 仁: SREBP(第1章 転写因子 第1節 1.SREBP とは? 他) p34-40、「疾患モデルの作製と利用 脂質代謝異常と関連疾患<上巻>」(series モデル動物利用マニュアル) (尾池雄一、佐々木雄彦、村上誠、矢作直也編集、エル・アイ・シー(東京))

2015年1月31日発行

3. 松坂賢、島野 仁: 脂肪酸合成(DGAT, ELOVL6, SCD1)(第2章 コレステロール・脂肪酸代謝関連因子 第2節 1.はじめに他) p146-150、「疾患モデルの作製と利用 脂質代謝異常と関連疾患<上巻>」(series モデル動物利用マニュアル)尾池雄一、佐々木雄彦、村上誠、矢作直也編集、エル・アイ・シー(東京)) 2015年1月31日発行
4. 島野 仁: エネルギーの栄養生化学(第6章) p123-140、酵素の栄養生化学(第7章) p141-148、「栄養生化学(新体系看護学全書 人体の構造と機能)」(脊山洋右、山田信博、島野仁、松島照彦編、メヂカルフレンド社(東京) 123-148、2014年11月(第4版発行)
5. 鈴木浩明、島野 仁: 第18章 脂質異常症、「糖尿病専門医研修ガイドブック改訂第6版」(日本糖尿病学会編、診断と治療社、東京)、2014年6月
6. 島野 仁: 内分泌・代謝疾患、「ガイドラインに基づく臨床指針(改訂第11版)」(福井次矢監修、第一三共株式会社発行) 271-294、2014年4月

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等  
<http://www.u-tsuba-endocrinology.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者  
島野 仁 (SHIMANO HITOSHI)  
筑波大学・医学医療系・教授  
研究者番号: 20251241

(2) 研究分担者

松坂 賢 MATSUZAKA TAKASHI )  
筑波大学・医学医療系・准教授  
研究者番号：70400679