

研究区分：大学のブランディング化に関する研究 丹波黒大豆由来ポリフェノールによる血管内皮細胞保護効果

苗村 建慈, 足立 孝臣

内科学ユニット

黒大豆の種皮部分は、生薬として古くより利用されている。近年、黒大豆の薬効が種皮中に豊富に含まれるポリフェノールに因ることが明らかにされつつある。ポリフェノールに関する先行研究により、黒大豆種皮に多く含まれるポリフェノールであるプロシアニジンは、その抗酸化作用により、血管内皮細胞の炎症を抑え、動脈硬化を抑制することが知られている。一方、マイクロRNAは、真核生物において、発生・細胞増殖・細胞分化・細胞死または細胞代謝といった、広範な生物学的プロセスに重要な役割を担うことが知られている。血管内皮細胞においても、マイクロRNAによる転写調節がなされているが、ポリフェノールによる血管内皮細胞マイクロRNAの制御に関しては未だ解明されていない。

申請者らは、「黒大豆由来ポリフェノールが、マイクロRNAを介して、血管内皮細胞保護効果を発揮する」と仮説を立て、下記の実験を行った。

まず初めに、血管内皮細胞において、プロシアニジンが遺伝子発現変化をきたすかについての検証を行った。既報では、プロシアニジン投与により、NLRP3 遺伝子の発現抑制が得られており、再現実験を行った。臍静脈血管内皮細胞 (HUVEC) に対し、2 μM のプロシアニジン B2 を添加し、添加後 24 時間にて細胞を回収した。Quantitative PCR 法により、NLRP3 遺伝子の発現量を解析したところ、プロシアニジン B2 投与群において発現量低下を認めた。これにより、プロシアニジン B2 が血管内皮細胞において遺伝子発現変化をきたす可能性を示した (図 1)。

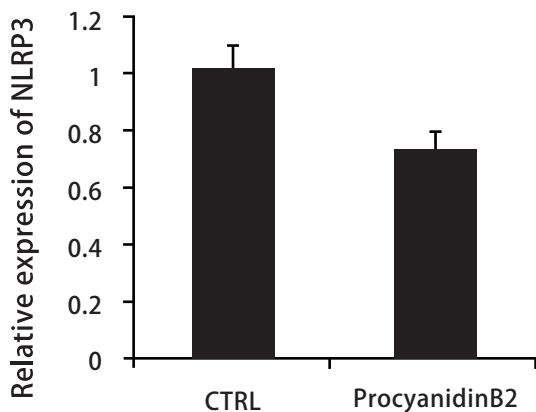


図 1

次に、プロシアニジン B2 により、血管内皮細胞の炎症を軽減する可能性があるかについて検討した。まず、

適切な血管内皮細胞炎症モデルが必要であり、TNF alpha 刺激を選択した。

炎症の評価は、血管内皮細胞における ICAM1 発現をフローサイトメトリーにより解析した。TNF alpha 刺激では炎症が非常に強く、プロシアニジンの効果観察には不適であった。次に、トロンビンによる血管内皮細胞刺激を、トロンビン濃度を割り振って行ったところ、1U/ml のトロンビン刺激により、軽微な血管内皮細胞炎症の誘導に成功した (図 2)。

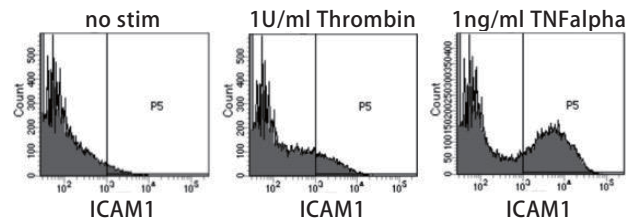


図 2

これを用いて、プロシアニジン B2 による、血管内皮細胞における炎症軽減効果を検証した。評価法は上記と同じく、ICAM1 のフローサイトメトリーを行った。結果として、プロシアニジン B2 投与群において、左方偏位が認められた。この結果により、トロンビンにより惹起された血管内皮細胞の炎症に対して、プロシアニジン B2 は抑制的に働く可能性が示唆された (図 3)。

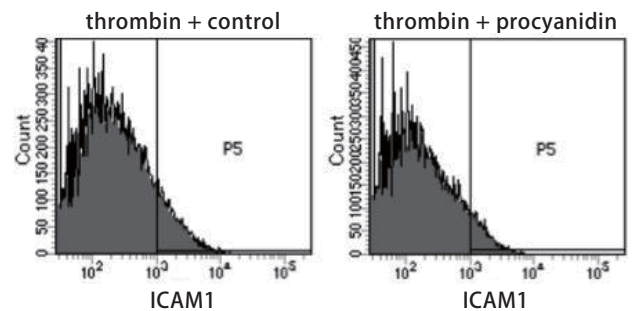


図 3

これらの研究結果より、プロシアニジン B2 が血管内皮細胞に対して、保護的な遺伝子発現変化を起こす可能性が示唆されたため、次年度において、いよいよ本研究の本幹である、microRNA の網羅的解析を行う予定である。すでに遺伝子解析企業の選定は済んでおり、サンプル調製次第、遂行する予定となっている。

論文及び学会発表

現時点での学会発表はありません。