

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

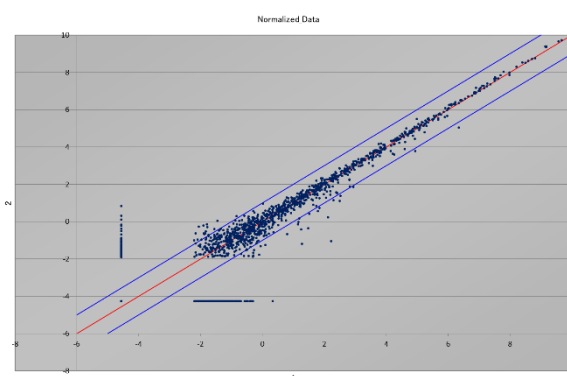
臨床医学講座 内科学ユニット

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、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、昨年度において、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を示した。今年度は、本研究の本幹である、microRNA の網羅的解析を行った。

申請者らは、臍静脈血管内皮細胞 (HUVEC) に対し、 $2 \mu\text{M}$ のプロシアニジン B2 を添加し、添加後 2 4 時間にて細胞を回収した。対照群にはプロシアニジン溶液の溶媒のみを投与した。各 3 サンプルを回収し、網羅的解析を行った。網羅的解析は、東レ株式会社のマイクロ RNA 研究用 DNA チップを選択した。細胞より Total RNA を抽出し、Agilent 社 2100Bioanalyzer による quality check を行った。基準を満たしたサンプルを用いて標識を行い、ハイブリダイゼーション (32°C , 16h) を行った。ハイブリダイゼーション終了後、チップを洗浄した後、スキャナーを用いて画像を取得し数値化ソフトにて数値化した。各チップの数値データからバックグラウンド値を減算した後、

グローバルノーマライズにより正規化した。得られたデータを解析し、X 軸に対照群、Y 軸にプロシアニジン投与群を取りグラフ化した (図 1)。



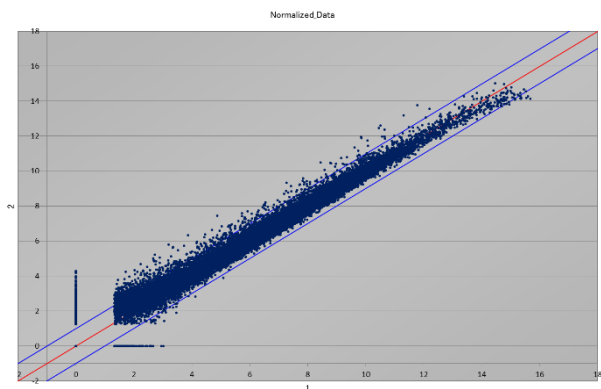
中央の赤線は等倍発現、両脇の青線はどちらかの 2 倍発現を示す。グラフより、複数の miRNA がプロシアニジンによって発現抑制もしくは発現亢進することが明らかになった。miRNA は発現抑制するものが多くみられた。その中で、発現が $1/2$ 以下に抑制され、かつ血管内皮細胞内での発現が確認されるものを抽出した (図 2)。

Name	ID	1	2	1	2	LOG2	ratio	Red	Green
hsa-miR-126-3p	MIMAT0000445	1929	626	6.34	5.03	-1.31	0.40	*	
hsa-miR-21-5p	MIMAT0000076	727	262	4.94	3.78	-1.16	0.45	*	
hsa-miR-100-5p	MIMAT0000098	574	284	4.59	3.90	-0.70	0.62		*
hsa-miR-99a-5p	MIMAT0000097	454	230	4.26	3.59	-0.67	0.63		*
hsa-let-7g-5p	MIMAT0000414	181	69	2.93	1.86	-1.08	0.47	*	
hsa-miR-22-3p	MIMAT0000077	167	71	2.82	1.89	-0.93	0.52		*
hsa-miR-26a-5p	MIMAT0000082	136	50	2.52	1.37	-1.14	0.45	*	
hsa-miR-16-5p	MIMAT0000069	134	41	2.50	1.11	-1.39	0.38	*	
hsa-miR-17-5p	MIMAT0000070	126	56	2.41	1.56	-0.85	0.55		*
hsa-miR-30c-5p	MIMAT0000244	126	55	2.41	1.53	-0.87	0.55		*
hsa-miR-29c-3p	MIMAT0000681	124	57	2.39	1.57	-0.82	0.57		*
hsa-miR-106a-5p	MIMAT0000103	117	42	2.29	1.14	-1.15	0.45	*	
hsa-miR-6753-3p	MIMAT0027407	110	9	2.22	-1.04	-3.25	0.10	***	

抽出された miRNA 群の中には既に血管内皮細胞における機能が知られているもの (miR-126, miR-21 など) もあれば、まったく未知のものもあり、今後は既知群未知群双方について有望なものを wet lab にて抽出していく。

同時に、同じサンプルを用いてメッセンジャー RNA の網羅的解析を行った。解析手法は miRNA と同じ、東

レの DNA チップを選択した。同様の処理と解析を行ったところ、複数の miRNA がプロシアニジンによって発現抑制もしくは発現亢進することが明らかになった (図3)。



miRNA と比較し、メッセンジャーRNA では発現亢進が多くみられ、現在 miRNA 発現低下との関連性を中心に、相互の関係を解析中である。

【論文及び学会発表】

現時点での学会発表はありません。