Scavenging of reactive oxygen species by astaxanthin inhibits epitherial-mesenchymal transition in high glucose-stimulated mesothelial cells

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2017-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 原, 一彰 メールアドレス: 所属:
URL	https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2002005

授与機関名　順天堂大学

学位記番号　甲第 1836 号

Scavenging of reactive oxygen species by astaxanthin inhibits epitherial-mesenchymal transition in high glucose-stimulated mesothelial cells

（アスタキサンチンによる活性酸素種の消去は高濃度グルコース環境下における腹膜中皮細胞の上皮間葉転換を抑制する）

原　一彰（はら　かずあき）

博士（医学）

論文内容の要旨

長期腹膜透析(PD)は、腹膜の機能的・組織学的障害を来たす。近年、高ブドウ糖条件下で活性酸素種(ROS)の産生亢進が生じているとの報告があり、我々は既報にて、抗酸化作用を有するアスタキサンチン(AST)を経口投与した腹膜線維化ラットでは、腹膜線維化が抑制されることを報告した。ブドウ糖含有透析液では、高濃度グルコースが腹膜中皮細胞に直接作用し、ミトコンドリアに障害を与えることで ROS を産生し、ROS が上皮間葉転換(EMT)を引き起こすとの仮説のもと、PMCs の高濃度グルコース下における酸化、炎症、EMT の評価、ならびに AST の抗炎症、抗酸化および EMT 抑制作用について検討した。研究では、PMCs を透析液と等濃度である 140mM グルコースで刺激した群、AST 前処置のちにグルコース刺激群、刺激なし群の 3 群にわけ、グルコース刺激群は 3 時間後、12 時間後に評価した。それぞれの群において、酸化作用評価目的に培養上清内 NO_2^-/NO_3^-量、ミトコンドリア内および核内 DNA における 8-OHdG 比率を測定した。炎症評価目的に TGF-β、VEGF、TNF-α を測定した。NFκB 経路評価のため、核内 NFκBp65 量を測定し、免疫蛍光染色した。EMT 評価のため E-Cadherin および αSMA を測定し、免疫二重蛍光染色を行った。この結果、高濃度グルコース刺激は培養上清内 NO_2^-/NO_3^-およびミトコンドリア内 DNA の 8-OHdG 比率を 3 時間後から上昇させた。各種サイトカイン、核内 NFκBp65 発現量は有意に上昇し、その発現量は経時的に増加していた。E-Cadherin は、高濃度グルコース刺激 3 時間後より消失し、αSMA は 12 時間後に認められた。AST 前処置により、NO_2^-/NO_3^-、各種サイトカイン発現、核内 NFκBp65 移行および EMT が有意に抑制されていたが、ミトコンドリア内 DNA の 8-OHdG 比率は高濃度グルコース単独刺激群と比較し明らかな相違を認めなかった。以上の結果から、高濃度グルコースが PMCs のミトコンドリアに障害を与え、ミトコンドリアで ROS が誘導される過程がごく早期に発生することが確認された。ROS が炎症性サイトカインや TGFβ を産生することで腹膜障害および EMT を生じることが示唆された。経時的にサイトカイン産生の増大や EMT の進行を認めることから、ROS とサイトカインが相互的に作用し、悪循環を起こしている可能性が示唆された。AST の腹膜線維化の抑制機序として、同物質は ROS を捕捉することで抗酸化作用を示すことから、本研究においてもミトコンドリアから発生した ROS を消去することで、PMCs のサイトカイン産生を抑え、自らの線維系細胞の形質転換抑制によるものと考えられた。