

84 代謝-感染性炎症モデル構築およびEPA病態抑制効果検討	石山 詩織
--------------------------------	-------

【目的】 COVID-19 感染時において、基礎疾患患者は重症化リスクや致死率が高いことは、過剰な炎症反応が原因であると考えられている。中でも、2 型糖尿病患者は血中の炎症性サイトカインの発現が増大しており (Osonoi T. et al., *Metabolism*. 2010)、線維化を伴う肝疾患 (脂肪肝炎) や腎疾患 (糸球体硬化症) 発症時には、臓器の好中球やマクロファージの浸潤が観察される (de Lira Silva NS. et al., *Inflammation*. 2019) ことが報告されている。しかし、基礎疾患と感染による過剰な炎症反応のメカニズムやその予防・治療研究は未だ不明である。このような背景の中、これまで、胚環境操作と生後の高脂肪食負荷により 2 型糖尿病を発症する新規モデル (以下 MEM マウス; 特許第 7169509 号) は、生後の高脂肪食摂取により炎症性サイトカインを高発現し、2 型糖尿病および炎症性合併症 (脂肪肝炎、腎症) を発症し、これらの病態は食品因子 (大麦) によって改善可能であることを示してきた (Ishiyama S. et al., *Biosci Biotechnol Biochem*. 2021, Ishiyama S. et al., *Biochem Biophys Res Commun*. 2021, Ishiyama S. et al., *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021)。本研究は、コロナ禍において、COVID-19 罹患時に、過剰に慢性的な炎症反応が生じ生活習慣病が重症化するメカニズムの解明を胚環境操作-新規糖尿病自然発症動物モデルである MEM マウスを用いて、その分子機構の解明および、プロスタグランジン E2 やロイコトリエン経路等の抑制効果が期待されるエイコサペンタエン酸 (EPA) の摂取により、炎症性サイトカインの過剰分泌や好中球・マクロファージの浸潤が抑制され病態悪化が抑制される機構を明らかにするものである。

【方法】 1. 胚発生初期である 2 細胞期の ICR マウス胚を採卵し、 α MEM 培地 (対照: KSOM 培地) へ 48 時間体外培養した後に仮親 ICR マウスの子宮に戻し産仔マウスに 3~4 ヶ月高脂肪食を与えて 2 型糖尿病の自然発症モデル MEM マウスを作出した。このモデルマウスに炎症惹起物質リポ多糖 (LPS: グラム陰性菌の細胞外膜の菌体内毒素) を腹腔内投与 (1.25 mg/kg BW) し、投与後 6、24、48 時間にて尾静脈および断頭採血および、48 時間後には臓器を採取した。2. 上記のように胚操作により作製した MEM マウスに、EPA 群には 5% アラビアゴム溶液に 1,000 mg/kg BW の EPA を加えた溶液、対照 KSOM マウスおよび MEM マウス対照群には 5% アラビアゴム溶液を毎日経口投与した。その後、LPS を 1. と同濃度で腹腔内投与し、1. と同様にサンプルを採取した。

【結果】 1. MEM マウスへの LPS 投与群では、対照 KSOM マウスへの LPS 投与群と比較して、血中 IL1B や MCP1 などの炎症性サイトカイン発現の増大や肝障害 (肝臓の線維化面積の増大)、腎障害 (腎臓細動脈硬化病変率の増大) が確認され、臓器障害を伴ってサイトカインストームを発症する動物モデルになることを確認した。また、肝臓においては、線維化を誘導する Ly6Chi/Ly6Ghi マクロファージの浸潤率が、LPS 投与の対照マウスより増大した。2. MEM マウスへ EPA を投与した後に LPS を投与すると、LPS 投与後 6 時間、24 時間では病変が EPA 非投与 MEM マウスと同等レベルで見られたが、48 時間では病変率が低下し、病態が回復していることが示された。また、末梢血の炎症性サイトカインである *s100a10* 遺伝子発現が EPA 非投与群と比較して低減することが観察された。肝臓では炎症性サイトカイン *Il1b*, *Il18*, *s100a10* 遺伝子発現や ROS 産生関連遺伝子 *Nox4*, *p22phox* 発現が抑制され、ROS 除去関連遺伝子 *Mpo*, *Cat* 発現が増大したことが明らかになった。

EPA 投与による糖尿病-感染性 MEM マウス炎症性サイトカイン発現の抑制

