

【目的】近年、加齢や生活習慣病に起因する腎機能低下患者が増加傾向にあり、有効かつ副作用の少ない治療薬が求められている。その1つとして芍薬含有漢方薬への期待が高まっている。特に芍薬に含まれるペオニフロリンは、高い抗酸化作用を持ち、過酸化脂質の産生抑制による腎保護効果が期待されている。このような脂質変動は腎機能の維持に重要であると考えられるが、芍薬含有漢方薬の各有効成分が腎臓中の脂質変動を誘導し得るのかは不明である。さらに、芍薬含有漢方薬成分がタンパク質の翻訳後修飾の1つである脂質修飾を変動させる可能性が示唆されているが、詳細は不明である。そこで本研究では、芍薬含有漢方薬である当帰芍薬散、桂枝茯苓丸、芍薬甘草湯の各有効成分単体および混合成分を腎由来細胞へ添加し、変動する脂質の種類や含有量の変化、さらにタンパク質への脂質修飾の発現変化を解析し、腎機能低下患者への治療効果や芍薬含有漢方薬の新規作用機序の解明に繋げることを目的とした。

【方法】ラット尿細管上皮由来 NRK-52E 細胞に対し、グルコース濃度を変化させ、芍薬含有漢方薬成分を単体もしくは混合して添加した。その後、Bligh-Dyer 法にて脂質を抽出し、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析により測定した。さらに、活性酸素および過酸化脂質の産生量を評価した。また、芍薬含有漢方薬成分と共にパルミチン酸アルキンを添加して培養後、パルミチン酸アルキンが修飾されたタンパク質を回収した。その後、ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分子量毎に分離し、ゲルを染色した。

【結果】細胞から抽出した脂質試料を解析したところ、それらの試料に特異的なピークが検出され、漢方薬成分添加群毎に増減したことが分かった。グルコース濃度差による m/z 536.5 のピーク検出強度比を比較したところ、高グルコース曝露群において、漢方薬成分未添加群よりも当帰芍薬散成分添加群で約 1.5 倍、桂枝茯苓丸成分添加群で約 6.2 倍に検出強度比が増強したことが分かった。また、活性酸素の発現量は、桂枝茯苓丸添加群において大幅に減少しており、過酸化脂質の産生量も最も抑制されたことが分かった。脂質修飾タンパク質を解析したところ、ペオニフロリン単体添加群では、グルコース濃度の増加に伴って、38、50、70、90 kDa 付近のバンドの染色強度が増強した。一方、グリチルレチン酸単体添加群では、ペオニフロリン単体添加群において染色強度が増強した4つのバンドに加え、200 kDa 付近のバンドの染色強度が減少したことが分かった。

グルコース濃度および漢方薬成分による脂質修飾タンパク質の発現変動

