

## 抗酸化作用を持つサバペプチドの非アルコール性脂肪肝炎に 対する効果と検討

研究期間 平成 29 年度～平成 年度  
研究代表者名 大曲勝久  
共同研究者名 なし

### 1. はじめに

セレンは生活習慣病や老化予防、メチル水銀の毒性軽減に寄与するヒトに必須の微量元素であり、魚類に多く含まれている。そのうち、サバ類などの魚介類の内臓に高濃度に含まれているセレン化合物であるセレノネインは非常に強い抗酸化能を有することが報告されている。さらに、魚介類（生サバ）を酵素分解した検体には抗酸化ペプチドの存在も示唆されていることから、酸化ストレスがその発症・進展に関与する非アルコール性脂肪性肝炎（non-alcoholic steatohepatitis, NASH）の発症あるいは進展を抑制する可能性がある。したがって、本研究では、セレノネインを含む酵素分解サバペプチドを上記の NASH 発症モデルラットに与えて、NASH に対する効果を検討した。

### 2. 研究内容

前年度、8 週齢雄性 Sprague-Dawley (SD) ラット 32 匹を購入し、1 週目は順化のため、全てのラットに脂肪エネルギー比 12.8% の普通食（MF 試料、オリエンタル酵母工業、東京）を与えた。順化後、引き続き MF 飼料を与えた群を Control 群（6 匹）、脂肪エネルギー比 59% の食餌（コレステロール 1.25%、コール酸 0.5%）を与えた群を HFC（high-fat high-cholesterol）群（6 匹）、HFC 食にセレノネインを含む酵素分解サバペプチド（EMP）を飼料重量比 1%、2.5%、5% 添加した餌を与えた群をそれぞれ EMP1% 群（6 匹）、EMP2.5% 群（7 匹）、EMP5% 群（7 匹）とし、9 週間飼育した。本実験は「長崎県立大学動物実験規程」ならびに「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準（平成 18 年 4 月 28 日環境省告示第 88 号）」に則して長崎県立大学動物実験委員会の承認を得て実施した。本研究では、18 週齢時に採取した血清および肝臓組織を用いて血液・生化学的マーカーおよび肝臓内の中性脂肪やコレステロール量、酸化ストレスや脂質代謝、炎症、線維化に関連する酵素の mRNA 発現量を測定した。

### 3. 研究成果および考察

EMP 群の 3 群は、血清グルコース値、インスリン、インスリン抵抗性に影響を与えなかった。また、血清レプチン値（NASH において炎症や線維化に関連すると言われていた）は EMP 群の 3 群で低い傾向にあった。とくに EMP5% は有意に低かったが、体脂肪量の低さに関連している可能性がある。一方、血清アディポネクチン値に差はみら

れなかった。炎症に関わる指標として TNF- $\alpha$ 、MCP1、IL-1 $\beta$ 、IL-6、NF- $\kappa$ B の mRNA の発現量は HFC 群と EMP 群のあいだに有意な差はみられなかったものの、TNF- $\alpha$ 、MCP1、IL-1 $\beta$ 、IL-6 の mRNA の発現量は EMP5%群は HFC 群および他の EMP 群と比較して高い傾向を示したのに対し、NF- $\kappa$ B の mRNA の発現量は HFC 群と比較して EMP の含有量が高いほど低い傾向を示した。本研究では小葉内炎症スコアが高くなるほど NF- $\kappa$ B の mRNA の発現量が有意に増加していたことから、EMP が NF- $\kappa$ B の mRNA の発現量を抑制することによって炎症を抑制したと推測された。しかしながら、TNF- $\alpha$ 、MCP1、IL-1 $\beta$ 、IL-6、NF- $\kappa$ B の mRNA の発現量相互の乖離や、組織学的な小葉内炎症の程度との乖離は、TNF- $\alpha$ 、MCP1、IL-1 $\beta$ 、IL-6 のシグナル経路が NF- $\kappa$ B を介さずに伝達され、他の経路が活性化された可能性も考えられた。酸化ストレスの指標である HO-1 の mRNA の発現量は EMP1%群および EMP2.5%群は HFC 群よりも低い傾向がみられたものの、EMP5%群は HFC 群および他の EMP 群と比較して高値を示す傾向がみられた。本研究では小葉内炎症と HO-1 の mRNA の発現量は正に相関していたことから、EMP5%群は NF- $\kappa$ B の mRNA 発現量の抑制よりも酸化ストレスが増強されたため、小葉内炎症が抑制されなかったと考えられた。酸化ストレスに関する CYP2E1、HO-1、GPX-1、Mn-SOD の mRNA 発現量は HFC 群と EMP 群のあいだに有意な差はみられなかったものの、GPX-1 の mRNA 発現量は EMP 群の 3 群ともに HFC 群より高い傾向を示した。酸化ストレスに関連する HO-1 の発現量は NASH の重症度を反映していたという報告があることから、HO-1 が高い傾向にあった EMP5%群は血清遊離コレステロール濃度が最も高く、組織学的検討においても線維化が最も進行していたことから、EMP1%群や EMP2.5%群よりも酸化ストレスが抑制されなかったと推測された。線維化に関わる COL1A1、TGF- $\beta$ 、 $\alpha$ SMA のうち、COL1A1 の mRNA 発現量は EMP1%群および EMP2.5%群で HFC 群よりも低い傾向がみられたものの EMP5%群では差がなく、TGF- $\beta$  の mRNA 発現量は 3 群ともに HFC 群と差はみられなかった。

#### 4. おわりに

以上のことから、EMP 群は GPX-1 を介して活性酸素種 (ROS) による NF- $\kappa$ B の活性亢進が抑制され、その結果、炎症が抑制されたことが示唆された。しかしながら、酸化ストレスおよび炎症において EMP の用量依存性はみられず、EMP5%群よりも EMP の含有量が少ない EMP1%および 2.5%群において効果がみられた。また、線維化においては EMP 群と HFC 群との差はなく効果は認められなかった。セレノネインはセレンとエルゴチオネインの化合物であり、セレンの過剰摂取は肝臓でセレノプロテイン P というヘパトカインの発現を亢進する。セレンは GPX の活性中心を構成し抗酸化作用を有するものの、セレノプロテイン P は肝臓および骨格筋でインスリン抵抗性を高め糖尿病リスクが増大すると報告されている。本研究では、実験開始当初は EMP の含有量が多い EMP5%群で最も NASH の抑制効果がみられるのではないかと予想していたが、今回の

実験結果からは EMP5%群よりも EMP1%群や EMP2.5%群において効果があることが示唆された。

#### 4. 注記

本研究の内容の一部は、2017 年 9 月 29 日に開催された The 12th Japan-Korea International Nursing Conference にて発表した。また、本研究に用いた EMP は平成 28 年度受託研究において株式会社エル・エス コーポレーションより供与されたものである。