



Astaxanthin supplementation prevents capillary regression in atrophied skeletal muscle via stimulation of VEGF/VEGFR and angiopoietins/Tie2 signaling

Kanazashi, Miho

(Degree)

博士 (保健学)

(Date of Degree)

2014-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6179号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006179>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(様式 3)

論文内容の要旨

専攻領域 リハビリテーション科学

専攻分野 運動機能障害学

氏 名 金指美帆

論文題目

Astaxanthin supplementation prevents capillary regression in atrophied skeletal muscle via stimulation of VEGF/VEGFR and angiopoietins/Tie2 signaling

(萎縮骨格筋における毛細血管退行性変化に対する VEGF/チロシンキナーゼ受容体及びアンジオポエチン/Tie2 受容体経路を介したアスタキサンチン摂取の予防)

論文内容の要旨 (1,000 字～2,000 字でまとめること.)

長期間の不活動は骨格筋での過剰な酸化ストレスを産生し、血管内皮細胞の損傷を誘発させ、毛細血管を退行させる。一方、血管新生と退行は血管新生促進因子とその抑制因子の発現バランスにより制御され、血管新生には血管内皮細胞増殖因子(VEGF)/チロシンキナーゼ受容体(Flt-1, KDR)及びアンジオポエチン(ANG-1, ANG-2)/Tie2 受容体の 2 つのシグナル伝達経路が関与する。そこで過剰な酸化ストレスが発生する不活動で抗酸化物質であるアスタキサンチンの摂取が不活動中の毛細血管退行を予防できるのではないかと仮説を立てた。本研究では廃用性筋萎縮モデルラットを用い、後肢非荷重期間中のアスタキサンチン摂取が、廃用性筋萎縮に伴う毛細血管退行に及ぼす予防効果を検証した。また、血管新生促進の視点から VEGF/チロシンキナーゼ受容体及びアンジオポエチン/Tie2 受容体の経路、血管新生抑制の視点からトロンボスポンジン-1 (TSP-1)発現量を測定し、その発現バランスについて検討した。

実験方法は、成熟雄性 Wistar ラット 24 匹を対照群、対照群にアスタキサンチンを投与した群、後肢非荷重群、後肢非荷重期間中にアスタキサンチンを投与した群の 4 群に区分した。アスタキサンチン(富士化学工業)は 100mg/kg/day を 1 日 2 回に分けて経口摂取さ

せた。7日間の実験期間終了後にヒラメ筋を摘出し、アルカリフォスファターゼ染色から筋線維／毛細血管比率及び筋線維あたりの毛細血管数、ATPase染色から筋線維横断面積と筋線維タイプ比率を計測した、筋内の活性酸素種(ROS)を定量化するため Dihydroethidium 染色から濃度検出した。また、ウェスタンブロッティング法にてスーパーオキシドディスムターゼ (SOD-1)及び VEGF を定量化した。さらに低酸素誘導因子サブユニット 1a (HIF-1a), VEGF, FMS 様チロシンキナーゼ 1(Flt-1), VEGF 受容体 2 (KDR/Fik-1), ANG-1, ANG-2, TSP-1 をリアルタイム PCR 法で定量化した。さらに共焦点レーザー解析で得られた三次元画像から毛細血管容積及び毛細血管直径を計測した。得られた測定値の統計処理には一元配置分散分析と Tukey 法による多重比較検定を用い、有意水準は 5%未満とした。

7日間の後肢非荷重によりヒラメ筋の筋湿重量の低下、毛細血管数、毛細血管容積及び直径の減少が認められた。また、酸化ストレスの指標である ROS 産生及び SOD-1 発現の増加、HIF-1 α 発現の減少、VEGF とその受容体である Flt-1 及び KDR 発現の減少を認めた。ROS の過剰産生による酸化ストレスの増加は血管内皮細胞の障害と VEGF 発現の減少を惹起すると報告され、血管退行の原因と考えられている。また、血管新生の過程において ANG-1 発現に対して、ANG-2 の発現が有意になると血管構造が不安定化する。その状況下で VEGF の発現がある場合は血管新生を促すが、VEGF 発現が抑制された場合は血管内皮細胞のアポトーシスや血管退行を惹起することが報告されている。本研究では後肢非荷重により ANG-2/ANG-1 比率が増加し、VEGF 発現が減少したという結果から毛細血管退行が生じたものと考えられる。

一方、後肢非荷重期間中にアスタキサンチンを摂取したことで不活動による ROS 産生及び SOD-1 発現の増加を抑制し、VEGF の発現を対照群同様に維持した。一方、ANG-2/ANG-1 比率は増加して血管構造が不安定状態であることが示されたが、アスタキサンチン摂取による VEGF 発現維持が血管新生を惹起したと考えられる。さらに TSP-1 の発現は抑制され、血管新生促進因子と抑制因子の発現バランスが維持されて毛細血管構造が保持されたと考えられる。これらの結果から不活動期間におけるアスタキサンチン摂取は ROS の過剰産生を抑制し、血管新生因子の発現促進、血管新生抑制因子の発現抑制を機序とする毛細血管構造の維持効果を持つことが明らかとなった。

指導教員氏名：藤野英己