

令和 4年 9月

# 森田真紀 学位論文審査要旨

主 査 西 村 元 延  
副主査 谷 口 晋 一  
同 八 木 俊路朗

## 主論文

Angiogenic effects of high molecular weight fucoidan in a mouse ischemic limb model

(マウス虚血肢モデルにおける高分子量フコイダンの血管新生効果)

(著者：森田真紀、杉原志伸、井上裕美子、陶山淑子、野津智美、山本康孝、坂口弘美、福岡晃平、遠藤佑輔、古賀敦朗、川本仁志、舟越稔、三木康成、八木俊路朗、二宮治明、久留一郎)

令和3年 Vascular Failure 4巻 61頁～67頁

## 参考論文

1.  $\beta$ -Adrenergic blocker, carvedilol, abolishes ameliorating actions of adipose-derived stem cell sheets on cardiac dysfunction and remodeling after myocardial infarction

( $\beta$ -アドレナリン遮断薬カルベジロールは心筋梗塞後の心機能障害とリモデリングに対する脂肪由来幹細胞シートの改善作用を消失させる)

(著者：足立真彩、渡邊莉比、倉田康孝、井上裕美子、野津智美、山本堅志郎、堀江弘夢、丹野翔伍、森田真紀、三明淳一郎、濱田紀宏、桑原政成、仲宗根眞恵、二宮治明、経遠智一、白吉安昭、吉田明雄、西村元延、山本一博、久留一郎)

令和元年 Circulation Journal 83巻 2282頁～2291頁

# 学位論文要旨

Angiogenic effects of high molecular weight fucoidan in a mouse ischemic limb model

(マウス虚血肢モデルにおける高分子量フコイダンの血管新生効果)

末梢動脈疾患 (PAD) (あるいは閉塞性動脈硬化症) 患者は心血管イベントの高いリスク、身体機能の低下、QOLの低下を特徴とする。PADの病態は複雑であり、血行障害、筋代謝障害、炎症、酸化ストレスなどが関連する。脂質異常症治療薬や抗凝固薬などを用いた薬物治療をはじめ、生活習慣への介入などが本疾患の標準治療として推奨されているが、臨床症状や心血管関連死亡率などの長期予後を十分に改善するものではなく、新たな治療法を見出すことは喫緊の課題である。健康食品に利用されるフコイタンは食用褐藻類の細胞壁に含まれる複合硫酸化多糖である。フコイダンの生物学的作用は分子量に依存しており、10 kDa未満のフコイタンを低分子フコイタン (LMWF)、10 kDa以上のフコイタンは高分子フコイタン (HMWF) と定義している。既報告では、20-30 kDaのフコイタンが虚血肢の血管新生を促進することが報告されている。本研究ではモズクとアカモクから精製した新たな高分子フコイタンを用いて、その血管新生作用を評価しメカニズムを検討する。

## 方法

C57BL/6Jマウスを用いて片側後肢虚血処置を行い、虚血肢モデルマウスを作製した。これらのマウスを対照群 (n=7)、モズク虚血前後投与群 (n=6)、アカモク虚血前後投与群 (n=3)、モズク虚血後投与群 (n=3) の4群に分けてモズクHMWF (300 kDa) もしくはアカモクHMWF (80 kDa) を経口投与した。虚血肢モデルマウス作製後0、7、14、21、28日にレーザードップラー血流 (LDBF) 測定器を用いて下肢血流を測定した。また、虚血肢モデルマウス作製後28日目に虚血肢から大腿内転筋の組織凍結切片を作製し、抗CD31抗体を用いた免疫染色を行って血管内皮細胞を検出し、骨格筋線維あたりの血管内皮細胞密度を算出して評価した。これらのデータから、モズクHMWFおよびアカモクHMWFの血管新生作用とモズクHMWFを虚血後のみに投与した場合の血管新生作用を虚血前後投与と比較して検討した。

## 結 果

虚血肢の血流に対するモズクHMWF、アカモクHMWF又は無処理（対照）の影響はモズクHMWF群では他の2群に比べ、虚血後7日目と28日目においてLDBFでの灌流回復が有意に高かった。アカモクHMWF群では虚血前後で血流改善は見られなかった。次に、虚血肢の毛細血管密度に対するモズクHMWFおよびアカモクHMWFの虚血前後投与の効果はモズクHMWF群の毛細血管密度が、対照群およびアカモクHMWF群より有意に高かった。この結果を踏まえて、虚血肢の血流および毛細血管密度に対する虚血前後モズクHMWF投与群の効果を虚血後モズクHMWF投与群と比較したところ、対照群および虚血後モズクHMWF投与群と比較して、7日目および28日目に虚血前後モズクHMWF投与群でLDBFが有意に増加し、毛細血管密度は他の2群と比較して有意に増加した。

## 考 察

本研究では、300 kDaモズクHMWF経口投与は虚血肢のLDBFおよび毛細血管密度を改善したが、80 kDaアカモクHMWF経口投与は同様の効果を示さず、虚血前後の300 kDaモズクHMWF経口投与は虚血肢のLDBFおよび毛細血管密度の両方を改善したが、虚血後のみ投与ではこれらの改善は見られなかった。これまでのex vivoでの報告で、フコイダンは分子量依存性に免疫作用や血管新生作用が働き、LMWFはFGF-2による血管新生効果を促進する一方で平均分子量47.5 kDa以上のHMWFは血管新生を阻害したとの報告が示されてきた。本研究では、300 kDaの高分子量を有するモズクおよび80 kDaのアカモク由来のHMWFを使用し、虚血肢モデルで300 kDaモズクHMWF投与群が血管新生作用を有するデータを得ることができた。また、300 kDaモズクHMWFを虚血前後で投与すると血管新生効果がより改善したことから、PAD予防のための食品サプリメントとして300 kDaモズクHMWFを使用する潜在的価値を示すはじめての研究となった。

## 結 論

虚血前後に300 kDaモズクHMWFを投与することで治療効果が得られること、また300 kDaモズクHMWFの投与タイミングが血管新生作用に重要であることを明らかにした。300 kDaモズクHMWFは健康食品やサプリメントとしてPADの症状進行予防に有効であることが示唆された。