

令和元年6月11日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K00869

研究課題名(和文) 食塩感受性高血圧における腎障害とn-3系多価不飽和脂肪酸摂取の機能解析

研究課題名(英文) Study of the effects of n-3 polyunsaturated fatty acid intake on the renal malfunction insalt-sensitive hypertension

研究代表者

内藤 由紀子(Naito, Yukiko)

北里大学・医療衛生学部・教授

研究者番号：80426428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎臓病(CKD)の新規予防法の開発を目指し、抗炎症、抗酸化ストレス作用を有するn-3系多価不飽和脂肪酸(PUFA)摂取によるCKDに対する作用を調べることを目的とした。「食」は疾患予防法として取り入れやすいと考え、n-3系PUFAである-リノレン酸を豊富に含有する植物油(グリーンナッツオイル、GO)に注目し、マウスに投与した。その結果、CKDの原因の一つである肥満・糖尿病の進行を抑制すること、これらの作用にはインスリン抵抗性が関与していることが示唆された。しかし、機構解明には至らなかったため、CKDのn-3系PUFA利用による予防法の開発につながるためには、さらなる検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

世界に8億人以上いると推計されている慢性腎臓病(CKD)の背景疾患は、高血圧や糖尿病などであることから、これらを予防することがCKDの患者数増加の抑制につながると考えられる。そこでn-3系PUFAに注目し、これを食習慣に取り入れることで、背景疾患およびCKDの発症予防が可能であるか否かを調べた。本研究では、CKD発症との関連まで見出すことはできなかったが、n-3系PUFAを豊富に含有する食用植物油の摂取が、糖尿病の進行を抑制する可能性が明らかとなった。今後、この作用機序の解明を進め、新規のCKD予防につながる食習慣として提示できれば、世界の患者数増加を抑制することに貢献できる。

研究成果の概要(英文)：With the aim of developing a new method for preventing chronic kidney disease (CKD), it has been investigated the effects of n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) on CKD. Therefore, a vegetable oil (green nut oil, GO) rich in -linolenic acid was focused, and GO was administered to mice. As a result, it was suggested that GO intake might induce to suppress insulin resistance and the progress of obesity and diabetes, which is one of the cause of CKD. The mechanism, however, has not been elucidated, further studies are needed to lead to the development of CKD prevention methods using n-3 PUFA or dietary oil rich in one.

研究分野：食生活学

キーワード：多価不飽和脂肪酸 生活習慣病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

循環器系、脳神経系等に対するn-3系多価不飽和脂肪酸 (PUFA) の有効性については、基礎・臨床研究に関わらずこれまでに多数行われており、抗炎症、抗酸化ストレス、降圧作用等が報告されている。最近では、抗炎症作用を有するn-3系PUFA代謝産物 (レゾルピン等) も同定されている。腎障害において、炎症反応および酸化ストレスの増加、さらに進行すると線維化が認められることから、この疾患に対してもn-3系PUFAの有効性が期待できる。CKDに対するn-3系PUFAの臨床研究は数件報告があり、有効性が確認された観察研究もある。一方動物を用いた研究でもn-3系PUFAの腎障害に対する作用が明らかとなっているが、糖尿病性腎症モデル (腹腔内投与)、5/6腎摘モデル (経口投与) および培養細胞を用いた研究等の報告がある¹⁻⁴⁾。食塩感受性高血圧腎障害についての研究は長年多くの研究が進められているが、これまでに我々は、慢性炎症と関連するP2X7受容体が新規治療ターゲットとなりうること⁵⁻⁶⁾、および肺線維症治療薬 (抗線維化薬) であるピルフェニドンが疾患進行抑制に有効であること⁷⁾を作用メカニズムの一部解明を行い、新規薬物治療方法の開発に繋がる研究結果を得ている。一方、CKDの発症や進行には、食生活が大きく関わっていることから食事療法も重要であるが、現在は、主に腎臓への負担軽減を目的とするもの (タンパク、塩およびカリウム制限) に限られている。現在わが国では、抗炎症、抗酸化ストレス、降圧作用等を有するn-3系PUFAを、消費者が手軽に入手することができる環境となっている。例えば、n-3系PUFAのサプリメントや、n-3系PUFAを豊富に含有する食用植物油が市販されている。これらを日常の食生活に取り入れることで、腎障害等の炎症性疾患の予防につながることを期待できると考えられる。

2. 研究の目的

慢性腎臓病 (CKD) の新規予防法の開発を目指し、n-3系PUFA摂取による抗炎症作用を調べることを目的とした。疾患予防として取り入れやすいものは食品であると考え、n-3系PUFAを豊富に含有する植物油を選択し、2種類のモデルマウスに摂取させた。

3. 研究の方法

n-3系PUFAである α -リノレン酸を豊富に含有する植物油 (グリーンナッツオイル、G0、アルコイリス、千葉) をモデルマウスに投与した。肥満・糖尿病はCKDの原因の一つであることから、高脂肪食摂取による疾患進行モデルマウス (実験1) およびレプチン欠損ob/obマウス (実験2) を用い、疾患の発症および進行に対する作用を検討した (両モデル動物とも雄性6週齢)。実験1は、サプリメントとしてG0を摂取することを、実験2は、飼料の脂肪源は全てG0から得ることを想定して、以下に説明する飼料を与えた。また、実験に用いたG0の脂肪酸分析を行い、実験動物の通常飼料の脂肪源である大豆油の脂肪酸組成と比較した。

(1) 実験1

雄性C57BL/6Jマウス (6週齢) 18匹を3群に分け、通常食群にはAIN93G精製粉末飼料、対照群には高脂肪食、G0群には0.1w/w%G0含有高脂肪食を6週間自由摂取させた。投与期間中は、体重、摂餌量および摂水量を週1回の頻度で測定した。投与最終週に18時間の絶食後に経口糖負荷試験を行い、投与前、投与後15、30、60、120および180分に尾静脈から採血し、血糖値を測定した。投与期間終了後、麻酔下にて腹大静脈から採血し、放血致死後、主要器官の重量を測定し、さらに遺伝子発現解析のためのサンプル (肝臓、腎臓、白色脂肪、褐色脂肪) を採取した。RNA抽出まで冷凍保存したこれらのサンプルは、RNA抽出、精製およびcDNA合成し、リアルタイムRT-PCR法で遺伝子発現解析を行った。

(2) 実験2

雄性C57BL/6J-ob/obマウス(6週齢)12匹を2群に分け、対照群にはAIN93G精製粉末飼料を、G0投与群には7w/w%G0含有AIN93G無脂肪精製粉末飼料を6週間自由摂取させた。(1)と同様に、毎週の体重等の測定、投与最終週の経口糖負荷試験、投与期間終了後の器官重量測定、サンプリング、遺伝子発現解析を実施した。

なお実験計画は、北里大学医療衛生学部動物実験委員会によって承認された。

4. 研究成果

リノレン酸の含有割合は、大豆油で7%であるのに対し、G0では46.1%であった。リノレン酸以外のn-3系PUFAはいずれの植物油にも含まれていなかった。

実験1および2において、投与期間中いずれの群も動物の体重は順調に増加し、実験1の対照群およびG0群の体重は、通常食群と比較して増加し、肥満進行が確認できた。両実験において、摂餌および摂水量には群間差がなかった。また両実験とも経口糖負荷試験では、

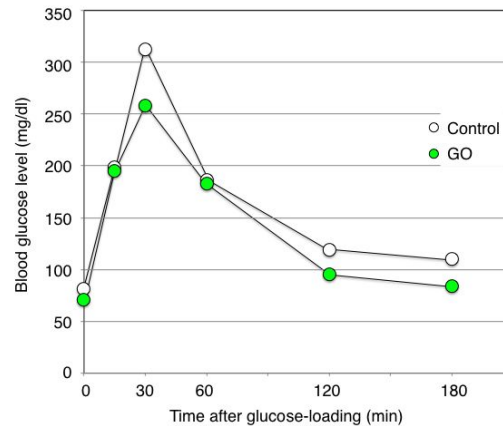


Figure 1 Glucose tolerance test (Oral administration)
Symbols represent mean values (n=6).

対照群と比較して、G0群の血糖上昇の抑制が認められた (Figure 1: 実験2の経口糖負荷試験の結果)。また、実験2では、G0群の白色脂肪相対重量は、対照群と比較して有意に減少した ($p < 0.01$)。実験2において、インスリン抵抗性関連遺伝子の白色脂肪における発現量を解析した結果、レジスチン mRNAの発現はG0投与群で有意に低下し、TNF α mRNAは低下傾向を示した。一方、血清中のレジスチンレベルには群間差は認められなかった。血清TNF- α レベルは両群とも測定限界以下であった。以上の結果から、G0摂取は血糖上昇を抑制し、またその背景には、インスリン抵抗性への関与があることが示唆された。

本研究によって、糖尿病の進行を抑制する可能性は示唆されたが、主目的であるCKDへの進行への関与等も含めてメカニズムの解明にはいたらなかった。CKDのn-3系PUFA利用による予防・治療法につなげるためには、今後、異なる動物モデルでの作用の違いの解析等、さらなる検討が必要である。

引用文献

- 1) An WS et al, Am J Physiol Renal Physiol 297, F895, 2009.
- 2) Zhang M et al, Metabolism 55, 1590, 2006.
- 3) Hagiwara S et al, Nephrol Dial Transplant 21, 605, 2006.
- 4) Priante G et al, J Mephrol 26, 652, 2013.
- 5) Ji X et al, Am J Physiol Renal Physiol 303, F1207-F1215, 2012.
- 6) Ji X et al, Hypertens Res 35, 173-179, 2012.
- 7) Ji X et al, Biomed Res 34, 309-319, 2013.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

Naito Y, Tachibana S, Aoki S, Tazura Y, Miyazawa D, Harauma A, Moriguchi T, Nagata T, Iwai N, Ohara N, Effects of arachidonic acid intake on inflammatory reactions in dextran

sodium sulphate-induced colitis in rats, British Journal of Nutrition 114, 734-745, 2015, 10.1017/S000711451500224X (査読有り)

Yui K, Imataka G, Nakamura H, Ohara N, Naito Y, Eicosanoids derived from arachidonic acid and their family prostaglandins and cyclooxygenase in psychiatric disorders. Current Neuropharmacology 13, 776-785, 2015, 10.2174/1570159X13666151102103305 (査読有り)

〔学会発表〕(計 13 件)

内藤由紀子、大西浩之、Effects of butyrate-producing probiotics administration on obesity progression in ob/ob mice、第 92 回日本薬理学会年会、2019 年

大原直樹、西川真衣、内藤由紀子、立松憲次郎、宮澤大介、奥山治美、Canola oil toxicity in SHRSP -possible involvement of RAS-、第 92 回日本薬理学会年会、2019 年

Yukiko Naito, Hiroyuki Ohnishi, Naoki Ohara, Effects of sacha inchi oil intake on lifestyle-related diseases in mice, 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, 2018

Naoki Ohara, Mai Nishikawa, Risako Ninomiya, Yukiko Naito, Kenjiro Tatematsu, Yoshiaki Saito, Daisuke Miyazawa, Yoko Hashimoto, Hiroyuki Ohnishi, Harumi Okuyama, Canola oil toxicity in SHRSP and its sex difference, 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, 2018

内藤由紀子、肥満糖尿病モデルマウスにおける n-3 系多価不飽和脂肪酸摂取の影響解析、日本脂質栄養学会第 26 回大会、2017 年

大原直樹、内藤由紀子、立松憲次郎、奥山治美、脳卒中易発性高血圧自然発症ラット (SHRSP) におけるカノーラ油毒性の標的器官、日本脂質栄養学会第 26 回大会、2017 年

恒川有里、西川真衣、大原直樹、宮澤大介、橋本洋子、内藤由紀子、立松憲次郎、奥山治美、SHRSP におけるカノーラ油毒性、日本脂質栄養学会第 26 回大会、2017 年

内藤由紀子、大原直樹、食用植物油摂取が脳卒中易発性高血圧自然発症ラットの血圧に与える影響、日本脂質栄養学会第 25 回大会、2016 年

豊田祐里子、花井仁美、橋本夏那、大原直樹、内藤由紀子、宮澤大介、立松憲次郎、橋本洋子、奥山治美、SHRSP におけるカノーラ油摂取による有害効果の性差、日本薬学会第 136 年会、2016 年

Naito Y, Ohara N, Effects of canola oil intake on circadian blood pressure variation in stroke prone spontaneously hypertensive rats fed diets containing canola oil for 8 weeks. The 89th Annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society, 2016.

Yagi S, Nishikawa M, Hanai H, Suzumura S, Naito Y, Tatematsu K, Miyazawa D, Hashimoto Y, Yamamura A, Ohnishi H, Ohara N, Okuyama H. Changes by canola (rapeseed) oil ingestion of steroid hormone metabolism in SHRSP. The 89th Annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society, 2016.

西川真衣、高木彩菜、寺町仁那、内藤由紀子、立松憲次郎、宮澤大介、橋本洋子、山村彩、大西浩之、大原直樹、奥山治美、SHRSP のステロイドホルモン代謝に関わるいくつかの酵素の mRNA 発現に対するカノーラ油摂取の影響、日本脂質栄養学会第 24 回大会、2015 年

内藤由紀子、大原直樹、機能性食用油の安全性および糖代謝に対する影響、日本脂質栄養学会第 24 回大会、2015 年

〔図書〕

無し

〔産業財産権〕

無し

〔その他〕

無し

6．研究組織

無し

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。