

令和元年6月24日現在

機関番号：23701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00817

研究課題名(和文) 完全水添油脂が示す脳卒中病態モデル改善作用のメカニズムに関する研究

研究課題名(英文) Research on the mechanism(s) underlying amelioration of pathological model of cerebral stroke by fully hydrogenated oil

研究代表者

立松 憲次郎 (Tatematsu, Kenjiro)

岐阜薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：70381720

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)： 完全水添菜種油(FHCO)は脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット(SHRSP)の病態を改善する。その際に、ラット組織中のドコサヘキサエン酸含量の増加と植物ステロール含量の低下を確認し、これらが病態改善に関与すると考えられた。その機構として、FHCO摂取により糞便量、並びに糞便中の脂質量が増加し、選択的な排泄促進により組織脂質含量の変化が引き起こされると考えられた。しかし、DHAを含まないFHCO給餌でも確認される病態改善がいくつかあり、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

本研究は、完全水添油脂がSHRSPという特殊な病態モデルラットの病態を、特殊な排泄促進により改善することを証明している。ヒトを含んだ他の動物種にも直接適応することが難しいのは、他の検討から明らかではあるが、90%以上も飽和脂肪酸を含むFHCO単独給餌でいくつかの病態改善作用が認められることは、FHCO、もしくは、飽和脂肪酸の適量摂取により引き起こされる未知の生理作用が存在する可能性があり、栄養学的に新たな展開が期待される。

研究成果の概要(英文)： Fully hydrogenated canola oil (FHCO) ameliorate the pathology of spontaneously hypertensive rats stroke-prone (SHRSP). Then, elevating docosahexaenoic acid (DHA) level and decreasing phytosterol level in rat tissue were observed, suggesting that these alteration of tissue lipid levels might be related with the amelioration. FHCO diet increased the level of feces and fat level in feces, leading to promote the selective elimination and accumulation in rat tissue. However, FHCO diet without DHA was also seen the recover from some illness, so we further checked the investigation about the mechanisms of FHCO

研究分野：脂質栄養学

キーワード：完全水添油脂 SHRSP ステアリン酸 植物ステロール

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

1. 研究開始当初の背景

我々の身の回りには様々な食用油が流通しており、近年では、その生理活性に注目が集まっている。一方で、栄養学的には、我が国において脂肪の摂取量は過剰気味であるとされ、特に飽和脂肪酸の摂取は控えたほうが良いと指導されている。

我々の実験グループは、菜種油(キャノーラ油、Can)をはじめとした特定の油脂を脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット(SHRSP)に摂取させると、その寿命が著しく短縮することを見出した(Huang *et al.*, 1996)。この原因物質は植物ステロール(PS)という報告もあるが、現在のところ、明らかになっていない(Ratnayake *et al.*, 1999; Tatematsu *et al.*, 2004)。ところが、菜種油を完全水添処理した油脂(FHCO、図1)をSHRSPに摂取させると、致死性の脳卒中の発症が抑制され(図2)、様々な病態改善作用が観察された(Tatematsu *et al.*, unpublished data)。FHCOを摂取したSHRSPの各臓器における脂質含量を調べた結果、SHRSPの病態を促進すると考えられている植物ステロール(PS)の蓄積量が減少し、FHCOには含まれていない22:6ドコサヘキサエン酸(DHA)の蓄積量が増加したことも併せて確認した。



図1 完全水添菜種油

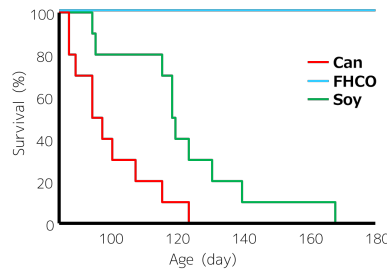


図2 油脂摂取したSHRSPの寿命測定実験

2. 研究の目的

本研究では、先に挙げた2点の組織脂質成分変化に着目した。すなわち、組織PS含量の減少は、SHRSPの細胞膜の可塑性に影響を及ぼし、脳卒中発症を抑える方向へ、DHA含量の増加は、炎症を抑えることで、脳卒中由来の関連疾患の予防につながると考えられる。そこで、FHCO摂取によるSHRSP病態改善作用のメカニズムを解明することを最終目的として、これらの臓器脂質分子の選択的蓄積を詳細に検討した。

3. 研究の方法

本実験は岐阜薬科大学動物実験委員会並びに岐阜大学動物実験委員会の承認を受けて行われた。

実験動物は雄性SHRSP/izm 4週齢、及び雄性Wistar/STラット4週齢のいずれかを、一つの食餌群が5~6匹になるように用いた。実験飼料は普通飼料CE-2に試験油を重量比で10%になるように添加したもの、または、精製飼料AIN-93Gをベースに、大豆油を試験油に置き換えたものの両方を用意し、実験に応じてどちらかを摂取させた。試験油は市場で流通しているものを購入し使用した。実験動物はSPFで、温度は 23 ± 1 、湿度は $50 \pm 10\%$ 、明暗サイクルは12時間の環境下で飼育を行った。実験期間中は、動物は決められた実験飼料を自由摂取し、定期的に体重と摂食量、実験に応じては、糞便量、血圧と血糖値の測定も行った。

動物は、それぞれの実験に定められた期間が経過後、エンフルランの吸入麻酔下で安楽死させ、直ちに必要な臓器を採取し、すぐに調整、または、液体窒素により凍結後、実験に使用するまで -80 にて凍結保存した。

組織の脂質含量はそれぞれ定法に従い抽出し、ガスクロマトグラフィーによって定量を、mRNA発現は、real-time RT-PCR法により定量した。

4. 研究成果

1) FHCO摂取による機能性脂質分子の選択的な吸収・排泄に関する検討

FHCOと同じ完全水添油脂である完全水添大豆油は、消化管においてほとんど消化吸収されず、それに伴いコレステロール等脂質分子の吸収率も悪くなるとの報告がある(Aoe *et al.*, 1999)。これが選択的な組織脂質蓄積につながる可能性があるため、FHCOを摂取したラットにおける糞便中の脂質含量変化について検討を行った。FHCO群の糞便中脂肪酸含量は、他の2群と比較して12.1~27.0倍に有意に上昇した

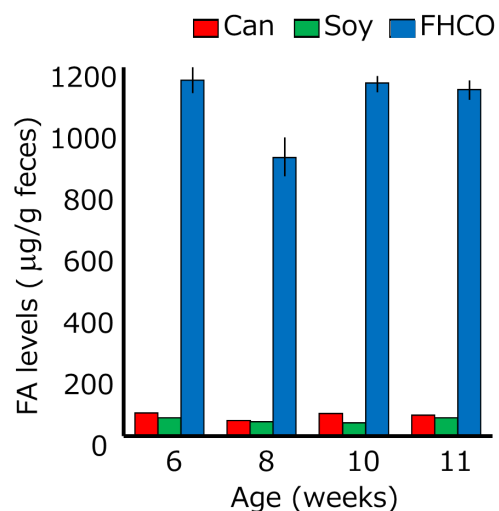


図3 SHRSP糞便中の脂肪酸含量

(図3) 糞便排泄量の増加と併せて考えると、FHCO 群は最大 40 倍近くも FA を排泄したことになる。

FHCO 群の糞便中 FA のうち 90%以上が飽和脂肪酸で、不飽和脂肪酸の割合は小さかった。また、実験飼料中の PS 含量は Can と FHCO ではほとんど変わらないが、FHCO 群の PS 組織蓄積量は Can 群の 20%以下であった。しかし、FHCO における糞便重量当たりの PS 含量は減少傾向で、糞便量の増加を加味しても、PS 排泄量は 1.3~2.2 倍の増加であった。そのため、PS 組織蓄積量の減少は、排泄だけでなく、代謝・分解が亢進している可能性があることが示唆された。

(2) FHCO による生理活性と DHA 添加による相乗作用について

FHCO 摂取による SHRSP の病態改善作用における DHA の役割を明らかにするために、成分として DHA を含まない精製食 AIN-93G をベースとした実験飼料で検討を行った。FHCO のみ添加した群 (F-S 群) と、FHCO と DHA を添加した群 (F-D 群) とでは、どちらも有意な血圧降下作用を示したことから (図4) 少なくとも FHCO そのものでも病態改善の一部を示す可能性が示唆された。

しかし、DHA 投与群では、FHCO 単独処理では認められなかった脂質合成に関与する酵素の mRNA 量が上昇したことなどが観察されており、さらなる詳細な検討が必要と考えられる。

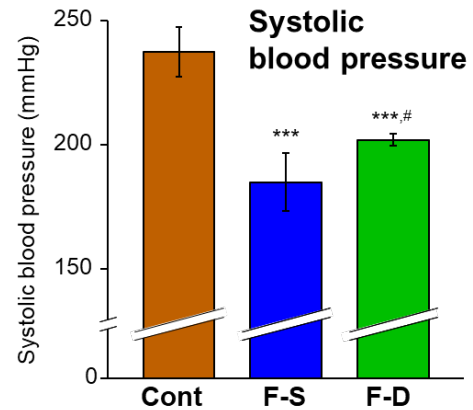


図4 精製食摂取での収縮期血圧の変化

(3) FHCO の SHRSP 以外の実験動物に対する影響について

FHCO の長期摂取が安全か、また、他のラット系統に対しても有効かを明らかにするために、Wistar/ST ラットに対して、精製食による摂餌実験を行った。その結果、植物ステロールの蓄積を抑えるなど、SHRSP に摂取させた時と類似の結果を得られることができたが、実験期間中に体重量が対照群より増加したことなど、相違する結果も観察された。

また、FHCO を摂取させると、摂食量が増加するにもかかわらず体重減少が観察されるため、メタボリックシンドローム関連の疾患予防・治療に有効な可能性がある。そこで、肥満モデルマウスとして、C57BLKS/J Iar⁺Lepr^{db/+Lepr^{db}}マウスを用意し、これに対する瘦身作用、血糖値減少作用を期待したが、残念ながら特筆すべき有効性は観察されなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 6 件)

酒向史裕、立松憲次郎、大原直樹
完全水添油脂と DHA の SHRSP 組織脂質に及ぼす影響
日本脂質栄養学会第 27 回大会 2018 年 8 月 31 日 (島根)(口演)

酒向史裕、立松憲次郎、大原直樹
完全水添油脂による植物ステロールの蓄積阻害
第 64 回日本薬学会東海支部 総会・大会 2018 年 6 月 30 日 (愛知)(口演)

酒向史裕、立松憲次郎、大原直樹
完全水添菜種油を摂取した SHRSP が示す病態改善における DHA の役割
日本薬学会 第 138 回年会 2018 年 3 月 27 日 (金沢)(口演)

近藤佑香、立松憲次郎、大原直樹
完全水添油脂を摂取した脳卒中ラットにおける臓器特異的な脂肪酸蓄積
日本脂質栄養学会第 26 回大会 2017 年 9 月 22 日 (東京)(ポスター)

近藤佑香、立松憲次郎、大原直樹
完全水添油脂摂取による脳卒中ラットの組織脂肪酸組成に及ぼす影響
第 62 回日本薬学会東海支部 総会・大会 2017 年 7 月 8 日 (岐阜)(口演)

永田 翔子、立松憲次郎、大原直樹

完全水添油脂を摂取した SHRSP における脂質成分の排泄について
日本脂質栄養学会第 25 回大会 2016 年 9 月 17 日 (秋田)(ポスター)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

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。