

令和 2 年 6 月 7 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07795

研究課題名(和文)血管関連疾患を予防する食品成分により機能制御された細胞膜ドメインの役割解明

研究課題名(英文)Elucidation of membrane microdomain functionally regulated by food ingredients to prevent vascular-related diseases

研究代表者

加治屋 勝子 (KAJIYA, Katsuko)

鹿児島大学・農水産獣医学域農学系・講師

研究者番号：00379942

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)：これまで、食品由来の新規成分による血管異常収縮の予防メカニズムを解明するため、コレステロールが限局して蓄積した細胞膜ドメインに焦点を当て、膜ドメインのダイナミクス制御の解明に取り組んできた。各種顕微鏡による細胞膜ドメインの視覚化の成功や新たな知見を得ることができ、膜動態解析をスムーズに遂行することができた。さらに、生きた血管系細胞と病的シグナル分子との相互作用解析に成功した。また、血管の収縮と弛緩を調節するために重要な血管内皮細胞の機能に着目し、一酸化窒素産生能を向上させる農産物として桜島大根を発見した。また、その活性成分としてトリゴネリンを同定し、作用メカニズムを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管の不健康は万病のもとであり、常に正常な血管機能が求められる。私共は、血管の正常化に寄与する食材の探索を通して桜島大根を探し当てることができた。これは、現実的な摂取量で血管を正常に保つことを実現可能にするものであり、本研究成果の社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Vascular diseases such as myocardial or cerebral infarction are the leading causes of death. Some vascular diseases occur due to a decrease in vascular endothelial function. The innermost layer of the vasculature is formed by vascular endothelial cells (VECs) that are critical for nitric oxide (NO) synthesis. In our search for active constituents in farm products with the potential for improving the vascular system, we examined the effect of *Raphanus sativus* cv. Sakurajima Daikon on NO production in VECs. In this study, we found that the underlying mechanism for stimulating NO production by Sakurajima Daikon extract involves endothelial NO synthase (eNOS) activation by the phosphorylation of Ser1177 and the dephosphorylation of Thr495, which is triggered by elevated concentrations of cytoplasmic Ca<sup>2+</sup>, resulting from the activation of Ca<sup>2+</sup> channels in VECs. We observed that trigonelline, an active constituent of Sakurajima Daikon, improves the NO production in VEC cultures.

研究分野：食品栄養科学、膜動態化学

キーワード：膜ドメイン 血管平滑筋 ラフト カベオラ

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

血管攣縮は、痙攣したように突発する血管の異常収縮であり、例えば、冠動脈性狭心症は、欧米人よりも日本人に起こりやすく、また、安静時にも起こることから、突然死の主因となる致死疾患として恐れられている。また、脳血管攣縮は、くも膜下出血の後に、高頻度に脳血管で起こるため、一旦、回復して止血手術後の血管造影（血管内部の状態を可視化する医用画像処理技術）で異常が見られなかったとしても、7～10日目に、突然、脳の広範囲で異常収縮が起こり、死に至るケースが後を絶たない。これまで、この血管攣縮の発症メカニズムの詳細が解明できていなかったため、適切な予防法や治療薬の開発が進んでいなかった。通常、血管は、細胞質  $\text{Ca}^{2+}$  濃度依存性に収縮することにより、血圧や血流を一定に保っている（正常収縮）が、恐ろしい血管攣縮の本態である血管の異常収縮は、この  $\text{Ca}^{2+}$  の出入りでは説明がつかない、Rho キナーゼを介した  $\text{Ca}^{2+}$  非依存性の収縮によって引き起こされる。研究代表者は、この血管異常収縮の病的シグナル伝達に細胞膜ドメインが関与していることを提唱し、本研究では病的シグナル伝達の反応の場である細胞膜ドメイン制御に焦点を当てた。

### 2. 研究の目的

本研究では、食品成分による血管関連疾患の予防メカニズムを解明するため、コレステロールが限局して蓄積した細胞膜ドメインに焦点を当て、その役割の解明を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 細胞膜ドメインの視覚化

血管攣縮シグナル伝達の反応の場である膜ドメインを直接的に視覚化することによって、血管攣縮及びその予防メカニズムにおける細胞膜ドメインの挙動を解析した。

#### (2) 病的シグナル分子の分布と動態変化の観察

生成と崩壊を繰り返すダイナミックな細胞膜ドメインは、形態的な観察が難しいが、各種分析機器を用いて観察した。

#### (3) 食品成分の細胞膜ドメイン上の局在

独自開発したハイブリッドリポソームを用いて、細胞膜ドメインへの移動や関連分子の活性化の制御機構を解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) 細胞膜ドメインの視覚化

各種顕微鏡による細胞膜ドメインを視覚化することができた。本報告書では免疫電顕の結果を図1～4に示した。通常状態でも血管では、細胞膜マイクロドメイン上にカベオリンが存在し、フロチリンは細胞質に観測された。しかしながら、血管の異常収縮誘引剤を添加することにより、カベオリンは細胞膜上に存在しながら数が増加し、フロチリンは細胞質に確認された。また、原子間力顕微鏡 (AFM) による観察結果を図5～6に示した。血管平滑筋細胞の表面形状は、異常収縮誘引剤の添加前に比べて、添加後においてマイクロドメイン様の形成が観察された。

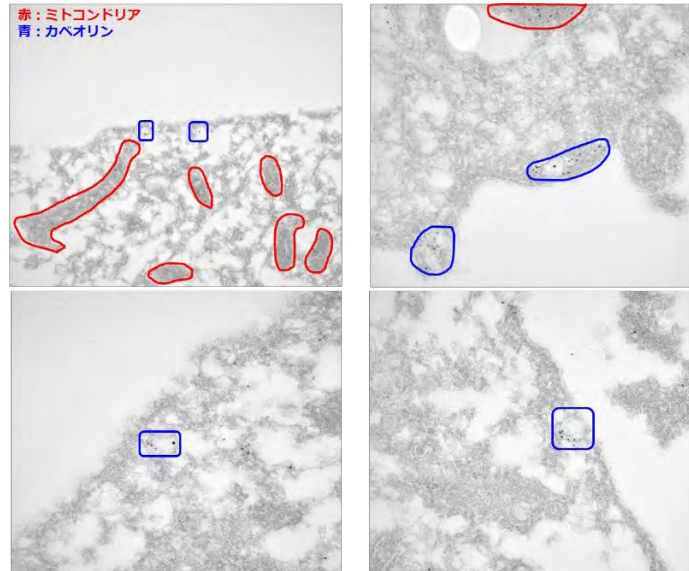


図 1. 細胞膜上マイクロドメインにおけるカベオリンの免疫電顕

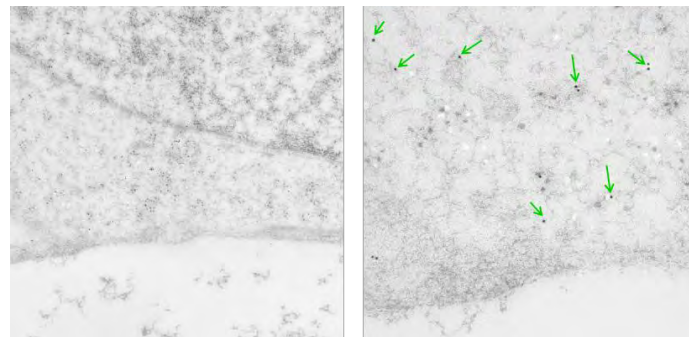


図 2. 細胞膜上マイクロドメインにおけるフロチリンの免疫電顕

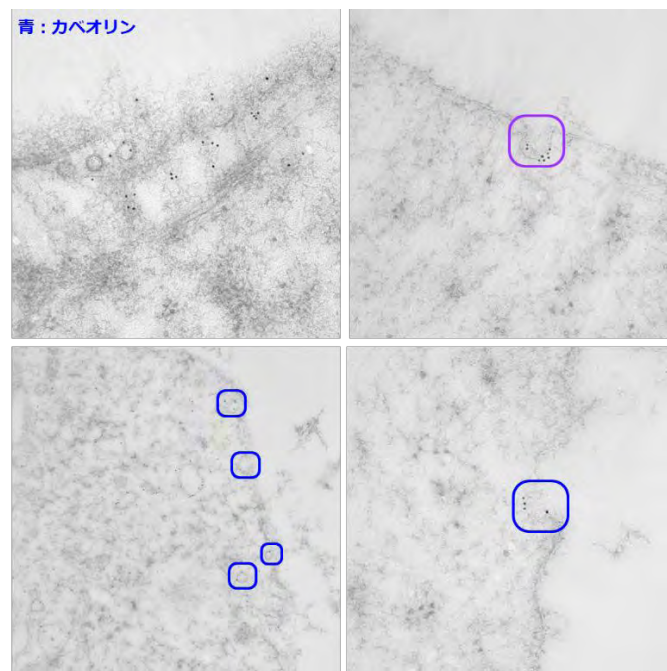


図 3. 血管異常収縮時におけるマイクロドメインのカベオリン免疫電顕

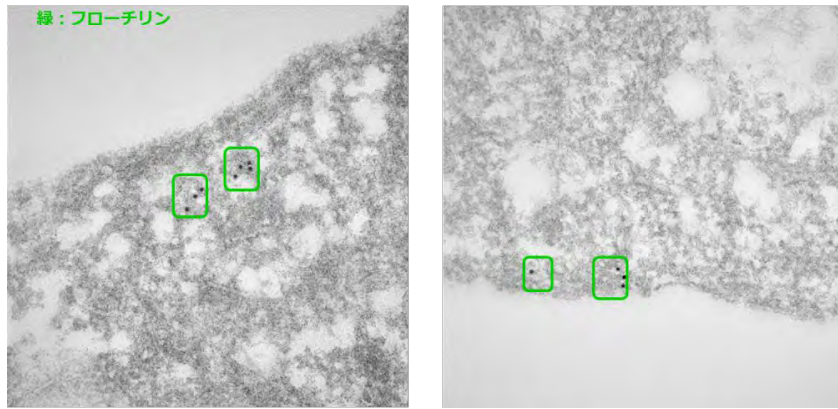


図 4. 血管異常収縮時におけるマイクロドメインのフロチリン免疫電顕

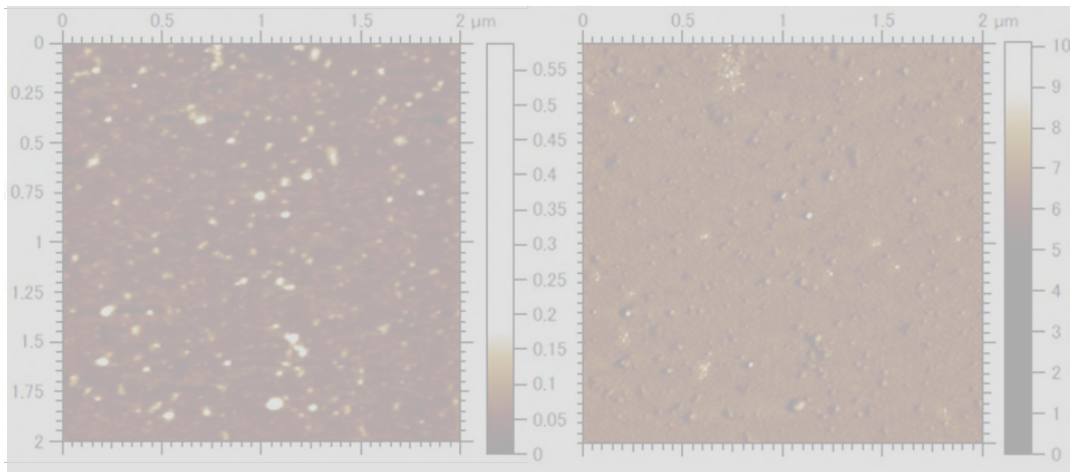


図 5. 通常血管の細胞膜表面の AFM 画像（画像をぼかしてあります）

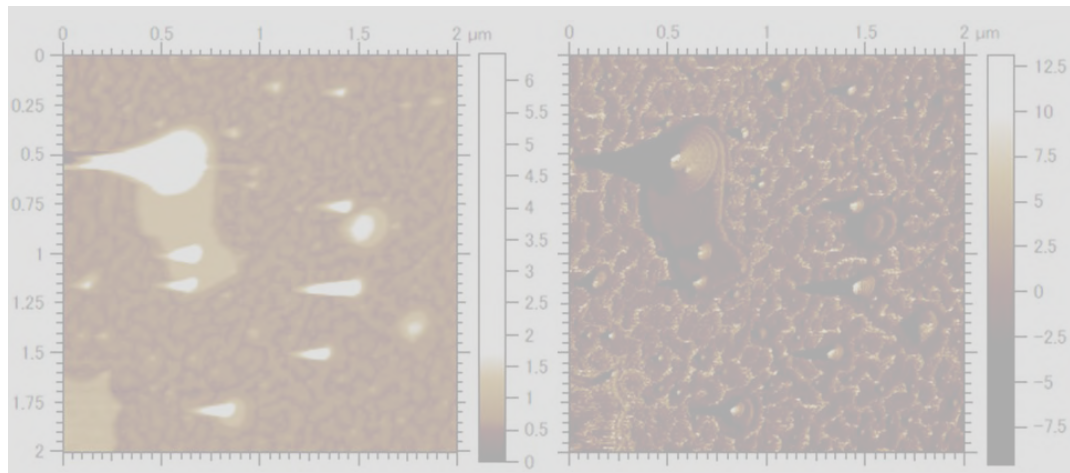


図 6. 血管異常収縮時におけるマイクロドメインの AFM 画像（画像をぼかしてあります）

## (2) 病的シグナル分子の分布と動態変化の観察

論文投稿前のため詳細については控えるが、血管異常収縮にかかわるシグナル分子群の多重染色をおこなった（図 7、画像をぼかしてあります）。



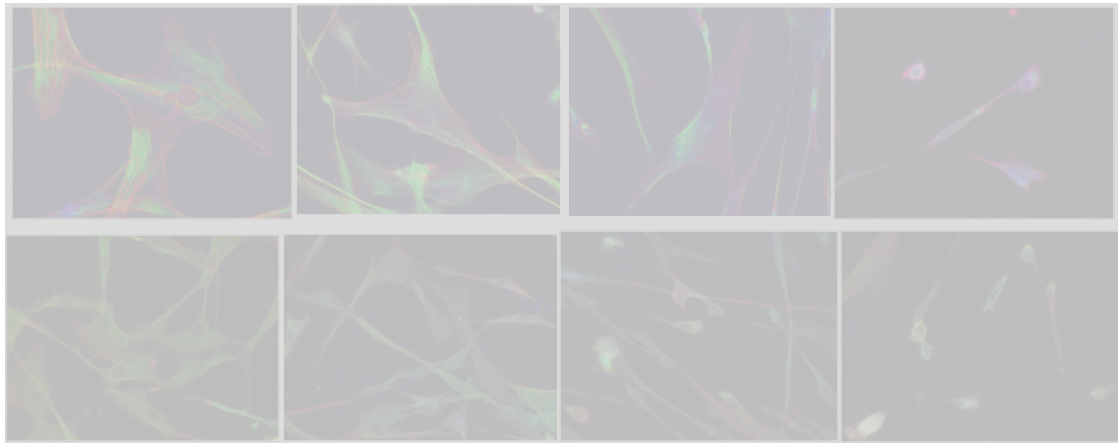


図7. 血管異常収縮におけるシグナル分子群に挙動

左から、刺激なし、異常収縮誘引剤添加3分後、5分後、10分後の画像。

上段と下段は、観察点の違い

(3) 食品成分の細胞膜ドメイン上の局在

様々な食品成分の影響を調べているが、本報告書では桑葉について図8~9に掲載した。マイクロドメインのマーカータンパク質であるカベオリンは、異常収縮を誘発していない正常細胞でも発現しているが、フロチリンは異常収縮をおこした細胞のみで発現していた。

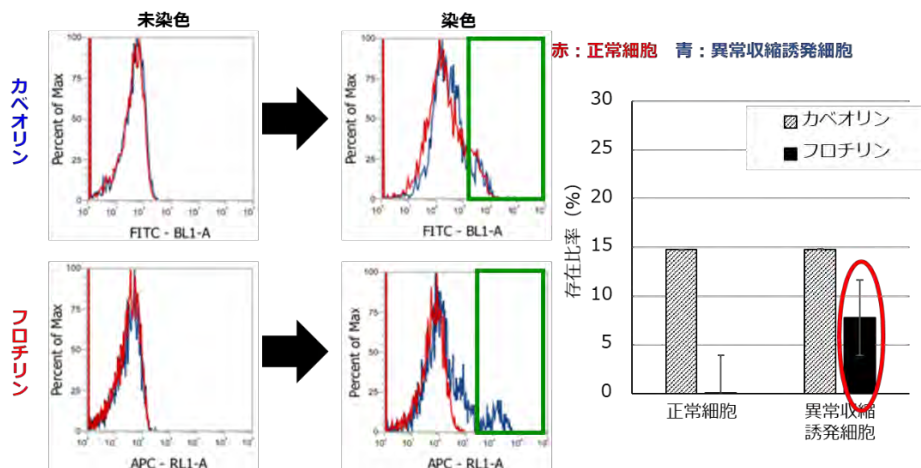


図8. フローサイトメトリーによる異常収縮とマイクロドメイン関係性

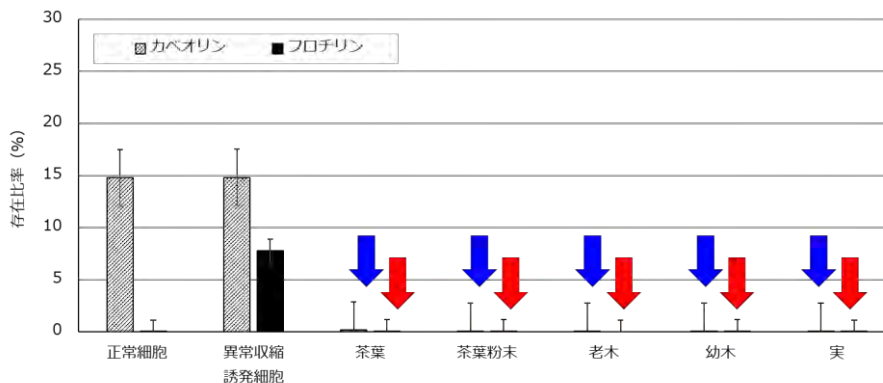


図9. 異常収縮発生時のカベオリンとフロチリンの挙動解析

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kuroda Rei, Kazumura Kimiko, Ushikata Miki, Minami Yuji, Kajiya Katsuko	4. 巻 66
2. 論文標題 Elucidating the Improvement in Vascular Endothelial Function from Sakurajima Daikon and Its Mechanism of Action: A Comparative Study with Raphanus sativus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 8714-8721
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jafc.8b01750	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kawamura Atsuko, Kajiya Katsuko, Kishi Hiroko, Inagaki Junko, Mitarai Makoto, Oda Hiroshi, Umemoto Seiji, Kobayashi Sei	4. 巻 14
2. 論文標題 The Nutritional Characteristics of the Hypotensive WASHOKU-modified DASH Diet: A Sub-analysis of the DASH-JUMP Study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Hypertension Reviews	6. 最初と最後の頁 56-65
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2174/1573402114666180405100430	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Atsuko Kawamura, Junko Inagaki, Seiji Umemoto, Katsuko Kajiya, Hiroko Kishi, Makoto Mitarai, Hiroshi Oda, Sei Kobayashi	4. 巻 15
2. 論文標題 Dietary Adherence, Self-Efficacy, and Health Behavior Change of WASHOKU-modified DASH Diet: A Sub-analysis of the DASH-JUMP Study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Hypertension Reviews	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2174/1573402115666190318125006.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Misato Wakamatsu, Hiroki Yamanouchi, Hisashi Sahara, Takehiro Iwanaga, Rei Kuroda, Ayaka Yamamoto, Yuji Minami, Mitsuhiro Sekijima, Kazuhiko Yamada, Katsuko Kajiya	4. 巻 7
2. 論文標題 Catechin and Caffeine Contents in Green Tea at Different Harvest Periods and Their Metabolism in Miniature Swine	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Food Science & Nutrition	6. 最初と最後の頁 2769-2778
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1002/fsn3.1143">https://doi.org/10.1002/fsn3.1143</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Katsuko Kajiya, Hiroki Yamanouchi, Yurika Tanaka, Hiroka Hayashi & Yuji Minami	4. 巻 12
2. 論文標題 Capsicum Cultivated Under Adverse Conditions Produces High Concentrations of Antioxidants and Capsaicinoids	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural Science	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.5539/">https://doi.org/10.5539/</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計48件(うち招待講演 22件/うち国際学会 8件)

1. 発表者名 下入佐智美、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 豆類の血管機能に対する特性と作用メカニズムに関する研究
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会(静岡)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鶴留奈津子、東かなた、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 正常な血管機能保持のための桑由来成分の探索
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会(静岡)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 若松美里、仲榮眞優理、佐々木真歩、黒田怜、數村公子、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 桜島大根成分による血管内皮機能改善効果の作用メカニズム
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会(静岡)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川添華菜、山之内博紀、若松美里、佐藤咲希、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 ヒマワリオイルの活用に向けた基礎研究
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会（静岡）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山之内博紀、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 新規湛水畝立て栽培法がもたらすサトイモの新しい特徴
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会大会（静岡）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加治屋勝子
2. 発表標題 桜島大根が導く血管の健康
3. 学会等名 農ゆい研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ファンユンス、下入佐智美、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 豆類の血管機能に対する特性と作用メカニズムに関する研究
3. 学会等名 第56回化学関連支部合同九州大会（北九州）
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 佐々木真歩、仲榮眞優理、黒田怜、數村公子、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 桜島大根成分による血管内皮機能改善効果の作用メカニズム
3. 学会等名 第56回化学関連支部合同九州大会（北九州）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山之内博紀、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 栽培方法の異なるサトイモの特性解析と産業応用
3. 学会等名 第56回化学関連支部合同九州大会（北九州）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川添華菜、山之内博紀、佐藤咲希、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 ヒマワリオイルの活用に向けた基礎研究
3. 学会等名 第56回化学関連支部合同九州大会（北九州）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木戸めぐみ、加治屋勝子、武昭一、吉元誠
2. 発表標題 地域未利用資源を活用した高付加価値製品の開発
3. 学会等名 日本栄養改善学会（富山）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Kajiya, Maho Sasaki, Yoshihiko Atsuchi, Nobuhiko Atsuchi, Katsuko Kajiya
2. 発表標題 Raphanus sativus cv. Sakurajima Daikon as a functional food may improve vascular endothelial function
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2019(USA) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加治屋勝子
2. 発表標題 血管病を防ぐ桜島大根の新たな価値を地域に活かす
3. 学会等名 第9回食と健康に関するシンポジウム(鹿児島)(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuko Kajiya, Haruna Kawasoe, Maho Sasaki, Takashi Kajiya, Yoshihiko Atsuchi, Nobuhiko Atsuchi, Yuji Minami
2. 発表標題 The effects of trigonelline in Raphanus sativus cv. Sakurajima Daikon as a functional food for humans
3. 学会等名 International Conference on Food Factors (Kobe) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Haruna Kawasoe, Saki Sato, Yuji Minami, Katsuko Kajiya
2. 発表標題 Fundamental study for promoting the utilization of sunflower seed oil and strained lees made in Kagoshima, Japan
3. 学会等名 International Conference on Food Factors (Kobe) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuko Kajiya
2. 発表標題 Functional Vegetable ‘Raphanus sativus cv. Sakurajima Daikon’ May Improve Vascular Endothelial Function
3. 学会等名 International Medicine & Health Sciences Congress (Paris, France) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加治屋勝子
2. 発表標題 桜島大根による血管内皮機能改善効果 - 基礎研究からヒト試験まで -
3. 学会等名 第7回日本平滑筋学会若手の会 (愛媛) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川添華菜、佐藤咲希、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 ヒマワリオイルの特性解析と血流改善効果
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会 (福岡)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木真歩、加治屋崇、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 桜島大根による血管機能改善効果および活性成分トリゴネリンの解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会 (福岡)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 咲希、川添 華菜、南 雄二、加治屋 勝子
2. 発表標題 ヒマワリの脱脂種子の活用を目指した生体調節機能の探索
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会（福岡）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鶴留奈津子、東かなた、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 血管異常収縮に対するマルベリー由来成分の機能的作用
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会（福岡）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsuko Kawamura, Seiji Umamoto, Junko Inagaki, Katsuko Kajiya, Hiroko Kishi, Makoto Mitarai, Hiroshi Oda, Sei Kobayashi
2. 発表標題 Review of DASH-JUMP program: The power born from the fusion of Western science and Oriental food culture
3. 学会等名 Food-Nutrition2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加治屋勝子
2. 発表標題 桜島大根の機能性
3. 学会等名 機能性食品研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加治屋勝子
2. 発表標題 「食」の研究開発～統合と進化～
3. 学会等名 日本食品保健指導士会九州支部（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加治屋勝子、田中友里香、山之内博紀、南雄二、小森健太、坂上潤一
2. 発表標題 薩摩トウガラシの高付加価値化に向けた機能性探求
3. 学会等名 トウガラシシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加治屋勝子
2. 発表標題 科学的根拠に基づいた農畜水産物の活用
3. 学会等名 かごしまTechミーティング（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加治屋勝子
2. 発表標題 健康も美も科学から
3. 学会等名 鹿児島大学OGネットワーク構築会議（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Misato Wakamatsu, Rei Kuroda, Kimiko Kazumura, Yuji Minami, Katsuko Kajiya
2. 発表標題 Stimulation of nitric oxide production in vascular endothelial cells by Raphanus sativus extract
3. 学会等名 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 A. Kawamura, S. Umemoto, J. Inagaki, K. Kajiya, H. Kishi, M. Mitarai, H. Oda, S. Kobayashi
2. 発表標題 Review of DASH-JUMP program: The power born from the fusion of Western science and Oriental food culture
3. 学会等名 21st International Conference on Food & Nutrition (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加治屋勝子
2. 発表標題 血管アクシデントを防ぐ～鹿児島産農産物の凄い力！
3. 学会等名 第7回食と健康に関するシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上之園知邑、神戸悠輝、加治屋勝子、山中章弘、桑木智之、山下哲
2. 発表標題 心筋の遠隔光操作による無線ペーシング技術の開発
3. 学会等名 桜ヶ丘基礎系研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山之内博紀、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 栽培方法の異なるサトイモの成分分析と新規機能性の探索
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 黒田怜、數村公子、南雄二、加治屋勝子
2. 発表標題 桜島大根抽出成分による血管内皮機能改善効果及び作用機序の解明
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 若松美里、加治屋勝子、南雄二
2. 発表標題 緑茶の新用途開発に向けた茶葉油の基礎研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 H. Kishi, M. Kajima, K. Kajiya, Y. Zhang, T. Morita, B. Lyu, M. Zhang, S. Kobayashi
2. 発表標題 The involvement of membrane rafts in the signal transduction of abnormal vascular smooth muscle contraction mediated by SPC/Fyn/ROK pathway: Part II
3. 学会等名 The 95th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (国際学会)
4. 発表年 2018年



## 〔図書〕 計4件

1. 著者名 加治屋勝子	4. 発行年 2019年
2. 出版社 誠文堂新光社	5. 総ページ数 123
3. 書名 農耕と園藝	

1. 著者名 加治屋勝子	4. 発行年 2019年
2. 出版社 農山漁村文化協会	5. 総ページ数 346
3. 書名 現代農業	

1. 著者名 加治屋勝子	4. 発行年 2019年
2. 出版社 いちばん社	5. 総ページ数 170
3. 書名 健康356	

1. 著者名 加治屋勝子、南雄二	4. 発行年 2017年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 5
3. 書名 抗菌ペプチドの機能解明と技術利用	

## 〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 コーヒー果実を丸ごと焙煎する方法	発明者 加治屋勝子、東さつき	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2019-108721	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 血管内皮細胞の一酸化窒素産生を亢進する物質のスクリーニング方法	発明者 加治屋勝子、數村公子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2017-112908	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 パッションフルーツ果皮に含まれる赤色系色素及びその製造方法	発明者 加治屋勝子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2018-24985	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

鹿児島大学農学部食料生命科学科分子機能学研究室 <a href="http://ace1.agri.kagoshima-u.ac.jp/agri0028/">http://ace1.agri.kagoshima-u.ac.jp/agri0028/</a>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	南 雄二  (Minami Yuji)  (90253913)	鹿児島大学・農水産獣医学域農学系・准教授    (17701)	