

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：22702

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2023

課題番号：17K12912

研究課題名（和文）ビタミンEのヒト体内での代謝特性と生理機能の検討

研究課題名（英文）Metabolic Characteristics and Physiological Functions of Antioxidant Vitamins in the Human Body

研究代表者

杉原 規恵 (Sugihara, Norie)

神奈川県立保健福祉大学・保健福祉学部・助教

研究者番号：80782200

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ヒトを対象とした短期間の介入試験、実験動物を用いた長期摂取試験、培養細胞実験を実施し、抗酸化ビタミンであるビタミンA・Eの体内動態や生理機能に関する知見を得た。さらにオープンデータベースを使用した疫学的検討による抗酸化物質摂取量と疾病発症率・死亡率との関連について検討した結果、抗酸化物質を多く含む食品と疾病発症・死亡率との関連が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体内には酸化ストレスから身を守るための生体防御機能が備わっているが、抗酸化物質を食事から取り入れることも過剰な酸化ストレスから生体を防御するために重要な手段の一つである。抗酸化物質が各種の疾病の予防に寄与するという点は広く認識されているが、体内動態や栄養素の相互作用を考慮した研究は依然として少ない。本研究では、ビタミンA・Eの体内動態や生理機能に関する新たな知見を提供した。抗酸化物質と健康の関連性に対する社会の関心は高く、そのエビデンスを示す本研究は学術的・社会的意義が大きい。

研究成果の概要（英文）：In this study, we conducted short-term intervention trials with human subjects, long-term intake trials with experimental animals, and cell culture experiments to gain insights into the pharmacokinetics, physiological functions, and nutrient interactions of antioxidant vitamins A and E. Furthermore, using open databases, we investigated the relationship between antioxidant intake and disease incidence and mortality rates through epidemiological studies. The results demonstrated a clear association between foods rich in antioxidants and reduced disease incidence and mortality rates.

研究分野：基礎栄養、食品機能

キーワード：抗酸化ビタミン 卵 食品の機能性 酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

現在、わが国ではがん、心疾患、脳卒中、糖尿病などの生活習慣病の増加が深刻な問題となっている。生活習慣病の発症に酸化ストレスの亢進が深く関わっていることが知られているが、食生活の乱れは酸化ストレスの増加に深く関わっており、様々な健康問題を引き起こす可能性がある。食生活の乱れによる酸化ストレスから生体を防御する方法の一つとして、抗酸化物質を食事から取り入れることが重要と考えられている。食事由来の抗酸化成分として、ビタミン C やビタミン E、ポリフェノールなどの抗酸化物質が疾病を予防する可能性について研究が進められている。実際に、緑茶カテキンや野菜類の摂取により、血漿中の抗酸化物質の濃度が上昇し、動脈硬化の発症に深く関与する低比重リポタンパク質(LDL)の酸化を抑制する作用があることが報告されている(Suzuki et al, Nutr Res. 2016)。一方で、こうした抗酸化物質を用いた研究では、試験管内での抗酸化力に比べて、ヒトが摂取した際にはその生理作用が顕在化しにくく、評価が困難であることから、臨床研究のエビデンスは依然として少ないのが現状である。その理由は実際の食事では、複数の食品や成分を同時に摂取するのが一般的であるためである。研究や評価の際には、現実の食事状況を反映した条件下、すなわち食品摂取後の体内動態だけでなく、同時に摂取した他の食品の影響や食生活全体の影響を考慮した状況での実験や観察が必要である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、抗酸化ビタミンであるビタミン A・E について、ヒトを対象とした短期間の介入試験、実験動物を用いた長期摂取試験、培養細胞実験を通じて、体内動態や生理機能に関する知見を得ることである。当初は、ビタミン E の体内動態と代謝産物の生理機能を中心とした実験を中心に計画を立てていたが、COVID-19 の流行や転職などの理由により、計画を変更せざるを得ない状況となり、オープンデータベースを使用した疫学的検討を新たに計画に取り入れ、抗酸化物質摂取量と疾病発症率・死亡率との関連を明らかにすることとした。

3. 研究の方法

(1) ヒトを対象とした短期間のビタミン E 摂取試験

健康成人女性 13 名を対象として RRR- γ -トコフェロール 100 mg、または RRR- γ -トコフェロール 100 mg と RRR- α -トコフェロール 50 mg を含むカプセルを摂取させた際の代謝特性についての検討を行った。食事記録によるビタミン E 摂取量と、血中ビタミン E (α -トコフェロール、 γ -トコフェロール) 濃度と代謝産物 (CEHC) の血中、尿中排泄量の測定を実施した。

(2) ビタミン E を過剰摂取させたラットのビタミン K 生理活性と骨代謝

(1) で、ビタミン E 摂取の短期的な影響についてヒトを対象とした試験をおこなったが、本項は、ビタミン E の長期摂取が生理機能へ及ぼす影響について検討した。

ビタミン E と K は同じ脂溶性ビタミンであり同様の経路で代謝されることから、代謝の相互作用が生じることが分かっている。ビタミン K は骨代謝に不可欠な栄養素であるため、ビタミン E、K の摂取とそれらの相互に関して、骨代謝に及ぼす影響の検討を行った。作用ビタミン K と E の添加量の異なる飼料を作成し、骨吸収が有意となる老齢ラットに 6 か月間摂取させた。ビタミン E (RRR- α -トコフェロールの飼料への添加量は、不足 (5 mg/kg 飼料) 標準 (50 mg/kg 飼料) または過剰 (500 mg/kg 飼料) の 3 段階とし、ビタミン K (フィロキノン: PK) の添加量は、不足 (0.075 mg/kg 飼料) 標準 (0.75 mg/kg 飼料) の 2 段階とし、これらを組み合わせた。飼育期間終了後、血液や臓器を回収し、ビタミン E、ビタミン K の濃度を HPLC、骨構造をマイクロ CT で測定した。

(3) 培養細胞実験

転職により、当初予定していた目的物質の入手困難性が高まったこと、および新たな職場での研究設備の違いにより、より入手しやすく、実験設備にも適合するビタミン A へ変更し、ビタミン A の抗酸化作用についての検討を行った。ビタミン A はビタミン E 同様脂溶性ビタミンで抗酸化ビタミンの一つである。

これまでの研究で培養細胞実験でビタミン A の一種であるレチノールは生体内抗酸化物質であるグルタチオン (GSH) 量を増加させるということが明らかになっていたが、そのメカニズムについては明らかになっていない。本研究ではレチノールがどのようなメカニズムで GSH 産生を誘導しているのかについての検討を行った。ヒト単球系細胞株 THP-1 細胞にレチノールを添加し、GSH 量および抗酸化酵素類の mRNA 発現量を real time-PCR で測定した。

(4) 国際的な大規模データベースを用いた生態学的検討

Global Burden of Disease、Global Dietary Database、世界銀行データベースなどから栄養

素・食品の摂取量等のデータを入力し栄養素・食品の摂取量と疾病の発症率・死亡率、健康寿命との関係について生態学的研究を行った。本研究で解析対象となったのは解析に必要なすべてのデータがそろった **142** カ国であった。

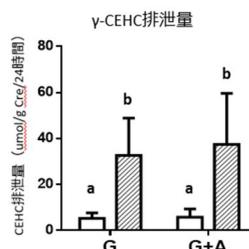
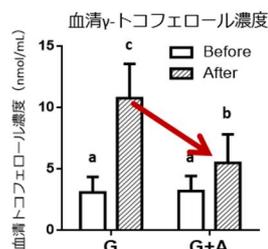
各種疾患の死亡率・発症率を目的変数、栄養素、食品摂取量を説明変数、調整因子として、社会経済的指標と、生活習慣要因を用い、**R4.0.5** を使用して線形混合モデルで解析を行った。

4. 研究成果

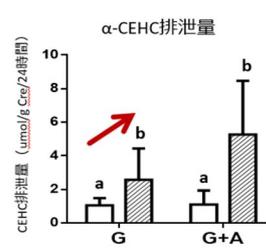
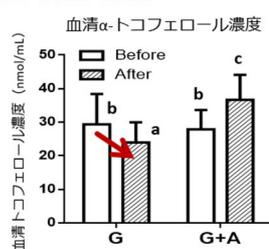
(1) ヒトを対象とした短期間のビタミン E 摂取試験

図1に示す通り、 γ -トコフェロール **100 mg** の摂取によって血清 γ -トコフェロール濃度は上昇したが、 α -トコフェロール **50 mg** の同時摂取によってその上昇は抑制された。また、 γ -トコフェロール **100 mg** の摂取によって血清 α -トコフェロール濃度は低下し、 α -トコフェロール代謝産物の排泄量が増加した。以上の結果から、 α -トコフェロールと γ -トコフェロールは互いの代謝に影響を与えることが示唆された。

γ -トコフェロール代謝



α -トコフェロール代謝



G: γ -トコフェロール A: α -トコフェロール

図1 ビタミン E 摂取試験

(2) ビタミン E を過剰摂取させたラットのビタミン K 生理活性と骨代謝

骨構造については飼育開始前に比べて 6 ヶ月の飼育終了後にすべての群で骨密度の低下が認められたが、ビタミン K やビタミン E の摂取量の違いによる影響は認められなかった。飼育前に比べ飼育後はすべての群で著しく骨密度が低下したことから本実験条件の飼育前後で変化した骨密度には加齢の影響が大きく、ビタミン E がビタミン K 不足を介して骨量を減少させるかどうかについて明らかにすることができなかった。

(3) 培養細胞実験

ヒト単球系細胞株 **THP-1** 細胞にレチノール、 β -カロテン、レチノイン酸、**tBHQ** を添加し、**GSH** 合成律速酵素である **GCLm**、**GCLc** および抗酸化酵素である **HO-1**、**NQO-1** の mRNA 発現量が受ける影響を **real-timePCR** で評価した。その結果、図2に示す通り、レチノールが **GCLm**、**GCLc**、**HO-1**、**NQO1** の発現量を有意に増加させた。これらの抗酸化酵素は転写活性因子 **Nrf2** を介して制御されるため、レチノールによる **GSH** 量の増加には **Nrf2** が関与している可能性が示された。

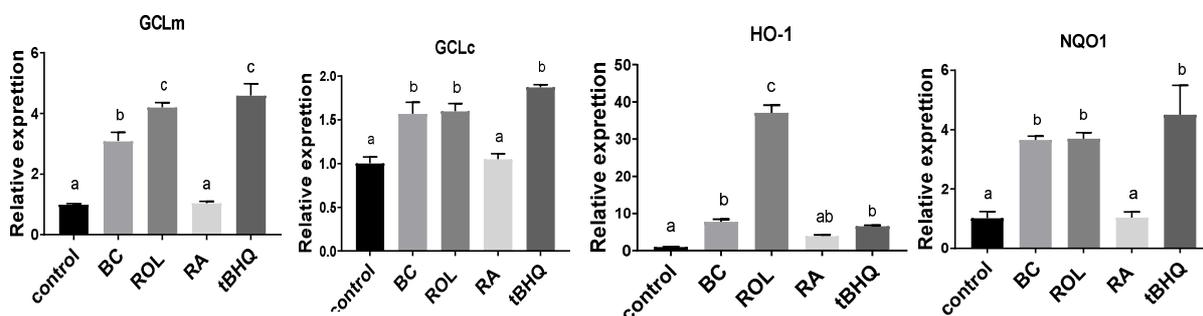


図2 培養細胞実験

(4) 国際的な大規模データベースを用いた生態学的検討

ビタミン E 摂取量とアルツハイマー、動脈硬化性疾患の発症率・死亡率や健康寿命などとの関連を線形混合モデルを用いて縦断的に解析した結果、ビタミン E と各種疾患の死亡率・発症率との間に負の関連は認められなかった。一方で栄養素の摂取減となる食品類のなかでビタミン類を多く含む食品について解析を進めたところ、卵摂取量と虚血性心疾患発症率との間に有意な負の関連が認められた **IHDi** ($-0.253 \pm 0.117, p < 0.05$)、**IHDd** ($-0.359 \pm 0.137, p < 0.05$)。ビタミン類を豊富に含むという栄養面での利点だけでなくコストの低さや料理の多様さという利点を合わせもつ卵は世界中の多くの国で健康な食生活に寄与できる可能性がある。卵はビタ

ミン E を含む多くの栄養素から構成されており卵摂取により抗酸化指標が上昇することなどの報告や様々な食品成分との相互作用も報告されているためこのような食品側からの視点での解析も重要であると考えられる。

(5) 総括

本研究は、生活習慣病の増加が深刻な問題となっている現代社会において、抗酸化ビタミンであるビタミン A およびビタミン E の体内動態や生理機能に関する知見を得ることを目的として実施された。COVID-19 の流行や転職などの要因により、当初の計画を変更せざるを得なかったが、以上のような成果を得ることができた。本研究の成果は特に、抗酸化ビタミンの摂取バランスや食品の組み合わせを考慮した栄養管理の重要性を示すエビデンスの構築につながることを期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sugihara Norie, Shirai Yoshiro, Imai Tomoko, Sezaki Ayako, Abe Chisato, Kawase Fumiya, Miyamoto Keiko, Inden Ayaka, Kato Takumi, Sanada Masayo, Shimokata Hiroshi	4. 巻 20
2. 論文標題 The Global Association between Egg Intake and the Incidence and Mortality of Ischemic Heart Disease-An Ecological Study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Environmental Research and Public Health	6. 最初と最後の頁 4138 ~ 4138
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijerph20054138	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安里歩美、杉原規恵、山西倫太郎
2. 発表標題 レチノールはヒト単球THP-1培養細胞においてNrf2系抗酸化酵素類のmRNA発現を誘導する
3. 学会等名 第78回日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 鈴木規恵
2. 発表標題 卵の摂取量と虚血性心疾患との関連29年間の国際比較研究
3. 学会等名 第28回日本未病学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木規恵
2. 発表標題 葉酸の摂取量と認知症との関連 27年間の国際比較研究
3. 学会等名 第67回日本栄養改善学会学術総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------