

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K10053

研究課題名(和文) 脂肪酸代謝異常病態におけるビタミンB1の果たす役割について

研究課題名(英文) Roles of vitamin B1 in fatty acid metabolism abnormalities

研究代表者

堀内 正久(Horiuchi, Masahisa)

鹿児島大学・医歯学域医学系・教授

研究者番号：50264403

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ビタミンB1(B1)の脂肪酸代謝異常病態における役割を検討した。糖脂肪酸サイクルとして、脂肪酸代謝障害時に糖代謝が亢進することは知られている。本研究では、1: 心臓におけるB1関連遺伝子の発現評価 2: 尿中・血中・心臓中のB1濃度 3: B1短期(4週間)投与による生体影響 4: B1投与による生存率への影響 を評価した。細胞膜やミトコンドリアのB1輸送体mRNAレベルが高い傾向を示した。生体へのB1投与は、生存率を高める方向に影響を与えた。カルニチン欠乏病態において、B1が何らかの役割を演じている可能性があり、より明確な結果を得るためには、B1の投与量や投与方法を検討する必要性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ビタミンB1(B1)の脂肪酸代謝異常病態における役割を検討した。脂肪酸代謝障害時に糖代謝が亢進することは知られている。一方、実際に、脂肪酸代謝障害時にB1を予防的に投与することは行われておらず、基礎的な検討が必要な段階と思われる。本研究において、脂肪酸代謝障害時に尿中B1排泄低下と血中B1レベルが維持されていることから、B1要求性が高まっている可能性が示唆された。また、B1投与によって生存率を高める可能性を得た。これらの結果は、栄養学的な観点で、脂肪酸代謝障害時におけるB1の必要性が高まっている可能性を示唆しており、より詳細な検討を必要とする基盤的な成果が得られたと考える。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the role of vitamin B1 (B1) on fatty acid metabolism abnormalities (FAMA). The fact is known that glucose metabolism is enhanced in FAMA. In this study, 1: genes' expression related to B1 metabolism in heart; 2: B1 concentration in urine and blood; 3: effect of B1 on biological parameters; 4: effect of B1 on survival rate. Plasma and mitochondrial transporters of B1 expression are higher in JVS mice heart. B1 administration might suppress the incidence of sudden death due to the carnitine deficiency. These results suggest that there are possible roles of B1 in FAMA. To further elucidate the mechanisms, more detail studies are required.

研究分野：予防医学・栄養学

キーワード：カルニチン 脂肪酸代謝異常 ビタミンB1 生存率

1. 研究開始当初の背景

(1) 疾患発症予防を行うために、環境因子(外因)と遺伝的因子(内因)の関わりを明らかにすることは重要であり、昨今の生活習慣病や生活関連疾患は、特にその必要性が高いと思われる。臨床での環境因子と遺伝的因子の相互作用を明らかにすることは、種々の交絡因子があり、困難なことが多く、ヒト病態モデルとして、種々の実験動物で検証がなされる必要がある。本研究を通じて、脂肪酸代謝異常の有無という遺伝的因子(内因)が、栄養因子である脂質やビタミン B1 摂取量(外因)によって、病態の修飾が生じるかを明らかにすることを目的として研究を遂行する。

(2) JVS マウスは全身性カルニチン欠乏症の疾患モデル動物として確立されている。JVS マウスは、細胞膜カルニチン輸送体が遺伝的に欠損し、脂肪肝や心肥大を呈する。脂肪肝や心肥大は、カルニチン投与で是正され、*in vivo* におけるカルニチンの役割を実証した。心肥大は、食事の脂質量と相関し、食事脂質量が多いほど、心肥大や心肥大関連遺伝子の発現が強まることを報告した。本研究では、JVS マウスを用いて、脂肪酸代謝が障害されるときにの応答として知られる糖代謝の亢進に基づく病態修飾について、糖代謝の必須因子であるビタミン B1 に着目して解析を進める。脂肪酸代謝障害の病態解析において、ビタミン B1 の代謝や要求性に関する解析はほとんど行われていない。しかし、臨床的な視点においては、脂肪酸代謝障害の存在する個体の修飾因子としてビタミン B1 の関与は予想される点であり、研究実施の意義がある。細胞膜カルニチン輸送体の遺伝的欠損は、ヒトにおいては、4万人に1人の頻度でホモ欠損個体があり、ヘテロ接合体個体は、100人に1人と推定される。脂肪酸代謝異常については、1遺伝子の異常頻度は高くないものの、脂肪酸代謝関連遺伝子全体の脂肪酸代謝障害個体頻度は、ある程度の頻度で存在する可能性がある。

2. 研究の目的

全身性カルニチン欠乏マウスを用いて、ビタミン B1 代謝に何らかの変異の存在を明らかにすることとビタミン B1 摂取量を増やすことによる病態への影響を評価すること

3. 研究の方法

(1) ビタミン B1 代謝の評価

ビタミン B1 代謝関連酵素・輸送体発現レベル(mRNA)について、RT-PCR法を用いて評価を行った。対象とした遺伝子は以下のものである。また、尿中、血中ビタミン B1 濃度について、HPLC法及びELISA法にて測定を行った。

ビタミン B1 細胞膜輸送体 (THTR) チアミンキナーゼ (TPK)

チアミン 2 リン酸ミトコンドリア膜輸送体 (Slc25a19: mTPT)

(2) ビタミン B1 投与の影響

生体への影響ということで、ビタミン B1 を飲水中に加え、投与を行った。

4 週間の投与

長期投与による生存率への影響

4. 研究成果

(1) ビタミン B1 代謝の変化

遺伝子発現評価

糖代謝関連分子として、グルコース輸送体 (GluT) とヘキソキナーゼ (HK) について検討した。脂肪酸代謝異常病態モデルである JVS マウス (細胞膜カルニチン輸送体欠損マウス) 心臓において、GluT4 と HK2 は、mRNA レベルは低いにもかかわらず、タンパク質レベルは高い傾向を示した。JVS マウス心臓において、これらタンパク質の分解が抑制されている可能性が示唆された。ビタミン B1 代謝関連分子として、THTR、TPK、mTPT の発現レベルを心臓において検討した。JVS マウスは、THTR は低い傾向 ($1.00 + 0.13$ vs $0.69 + 0.15$, $P = 0.084$) を示し、TPK は有意に低く ($1.00 + 0.10$ vs $0.48 + 0.12$, $P < 0.01$)、mTPT は高い傾向 ($1.00 + 0.03$ vs $1.42 + 0.18$, $P = 0.072$) を示した。

血中・尿中濃度

摂食量が変わらない条件で、尿中ビタミン B1 排泄量が低い傾向を示した。また、6 時間の絶食条件で、血中ビタミン B1 には野生型マウスと JVS マウスで有意な差を認めなかった。このことは、JVS マウスでビタミン B1 の要求性が高まっている可能性を示唆する。

(2) ビタミン B1 投与の生体影響

4 週間投与

野生型マウスと JVS マウスをそれぞれ、ビタミン B1 濃度 (0%、0.02%、0.1%) の異なる給水条件で 4 週間飼育した。0.1%濃度投与野生型マウス群で、摂食量の低下が認められたが、体重の増加量はむしろ多い傾向を示した。JVS マウス群では、体重変化、摂食量には有意な影響を認めなかった。JVS マウスは、いずれのビタミン B1 濃度群においても、同 B1 濃度投与野生型マウス群と比べて、肝臓、心臓重量が重く、褐色脂肪組織重量は軽かった。JVS マウスにおけるビタミン B1 投与群において、心臓重量に有意な差を認めなかったが、肝臓重量は、ビタミン B1 投与群が重い傾向を示した。

生存率評価

0.1%含有ビタミン溶液で、飲水量の低下を観察したことから、0.02%溶液を長期投与し、生存率への影響を評価した。途中、飲水トラブルなどで脱落したマウスを除いて、0%群 19 匹、0.02%群 21 匹において、死亡率を評価した。110 日間の観察で、生存期間中央値は、0%群と 0.02%群がそれぞれ 63 日と 89 日であった。生存率曲線の統計的解析において、 $P=0.107$ と有意な差を認めなかった。

【考察】脂肪酸代謝異常モデルにおいて、ビタミン B1 関連遺伝子の心臓での発現変化や尿中・血中ビタミン B1 濃度の検討から、ビタミン B1 代謝が一部変化をしている可能性が示唆された。mRNA レベルと蛋白質レベルで相違のある可能性もあり、蛋白質レベルや活性についての検討は必要と思われた。一方、生体へのビタミン B1 投与の結果は、生存率への影響は統計的な有意差を認めなかったが、投与初期の効果に差を認める可能性があり、投与量や投与時期を含めて再検討する必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 牛飼美晴、松元菜奈、堀内正久
2. 発表標題 脂肪酸代謝異常時の心臓糖取り込み促進について：カルニチン欠乏マウスの新規病態解析
3. 学会等名 第89回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堀内正久
2. 発表標題 栄養学・ビタミン学研究における連携
3. 学会等名 第91回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本ビタミン学会編 堀内正久（分担）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 672
3. 書名 ビタミン・バイオフィクター総合辞典	

〔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
研究 分担者	牛飼 美晴 (Ushikai Miharū) (70232816)	鹿児島大学・医歯学域医学系・助教 (17701)	

6. 研究組織（つづき）

	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	有村 恵美 (Arumura Emi) (40552964)	鹿児島県立短期大学・その他部局等【生活科学科】・助教 (47701)	

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