

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19700610
 研究課題名 (和文) 辛味成分イソチオシアネートとメタボリックシンドローム：血管平滑筋細胞への影響
 研究課題名 (英文) Potential role of isothiocyanate, a pungent component of brassica vegetable, on alleviating metabolic syndrome: effects on the vascular smooth muscle cells
 研究代表者
 長光 博史 (NAGAMITSU HIROSHI)
 中村学園大学短期大学部・食物栄養学科・助手
 研究者番号：20333271

研究成果の概要

内臓脂肪に起因するメタボリックシンドロームの最終症状は、心筋・脳梗塞・狭心症といった循環器疾患に集中する特徴がある。アブラナ科植物の辛味主成分とされるイソチオシアネートは、癌発症率を低下させる点で古くから注目されてきたが、循環器への効果は明らかでない。マウス標本血管および血管平滑筋細胞を用いて循環器機能改善効果があるか検討を行った結果、収縮緩和作用ならびに血管平滑筋細胞の増殖抑制効果があることを見出した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	900,000	0	900,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,800,000	270,000	2,070,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：血管平滑筋、循環器、イソチオシアネート、AITC、BITC、PEITC

1. 研究開始当初の背景

食生活の乱れ・IT化による運動不足に見られる生活習慣の変化は、肥満症・高血圧・脂質代謝異常症・糖尿病といった生活習慣病を増加させつつある。近年問題視されるメタボリックシンドロームは、悪化させると狭心症・心筋梗塞・脳梗塞といった疾患を引き起こす。これらは迅速な処置を要し、また直接生命に関わる疾患である。メタボリックシ

ンドロームに起因するこれらの動脈硬化症発症機構の解明、および予防治療法の開発が急務とされるが現段階では画期的な方策がなく、模索の段階である。動脈硬化症の直接の原因は、血管壁を構成し血圧を維持するための収縮機能を有する血管平滑筋細胞 (VMSC) の脱分化・遊走・増殖に伴う血管抵抗の増加・血流停滞・血管の破裂と考えられている。つまり VSMC の動態をコントロールする方法を発見できれば、動脈硬化だけでなく高血圧

といった疾患まで予防・治療が可能になると期待される。

少子高齢化や医療の高度化により医療費は増大傾向にあり、財政を圧迫している。食生活を中心とした日常の生活習慣の改善により、これらの疾患を予防・軽減することは医療費抑制の手段として有効といえる。こうした流れを反映して、特定保健用食品の開発が盛んになっている。血中コレステロールや血糖上昇抑制効果を謳う商品が相次いでいるが、血管そのもの、とりわけ VSMC を作用標的とした特保商品はこれまで開発されていない。

古くからアブラナ科植物の摂取量と癌発症率に負の相関があるとされており、その理由として辛味主成分であるイソチオシアネートが薬物代謝酵素である cyp450 を誘導する可能性が示されている。イソチオシアネートは R-N=C=S という構造をもつ化合物の総称で、天然には 100 種類以上が存在すると考えられている。代表的なイソチオシアネートの構造を図 1 に示す。

申請者はこれまで「平滑筋の収縮を緩和する食品成分の探索」を行い、イソチオシアネートが、マウスの各種組織より摘出した平滑筋に対し収縮緩和作用があることを見出した。メタボリックシンドロームに起因する循環器疾患は、血管壁を構成し血圧を生み出す血管平滑筋の異常が原因とされているため、イソチオシアネートによる血管平滑筋に対する作用の検討は、疾患予防・緩和へ繋がるものと期待される。

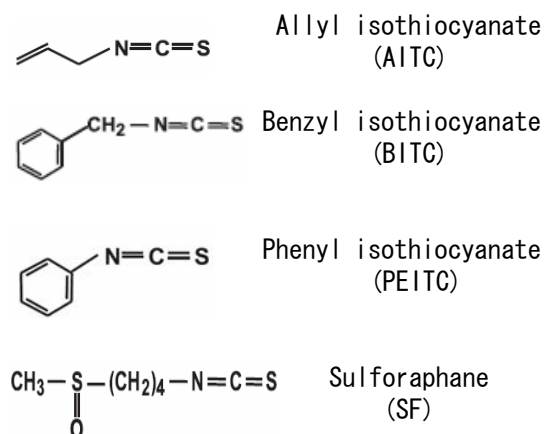


図 1 イソチオシアネート構造

2. 研究の目的

イソチオシアネートによる血管平滑筋への作用を検討するにあたり、高血圧症との関連から収縮緩和作用を、また動脈硬化症との関連から血管平滑筋細胞 (VSMC) の増殖へ及ぼす影響について解析を行った。

3. 研究の方法

(1) イソチオシアネートによる FCS 刺激による VSMC 増殖への影響

2×10^3 個の C57BL/6 由来 VSMC を 96 穴プレートへ、10% ウシ胎児血清 (FCS) を含むダルベッコ変法イーグル培地 (DMEM) 200・1 中に播いて 37°C、12 時間培養を行った。各イソチオシアネートを含む培地へ交換し、WST-1/1-Methoxy PMS 混合液を各ウェルに 10・1 添加した。37°C で 2 時間インキュベート後、A570 をマイクロプレートリーダで測定した。細胞数の評価は、DMSO 添加をコントロールとした相対値で表した。なお、イソチオシアネートは DMSO に溶解し、DMSO 終濃度は 0.1% (v/v) 以下となるように調製した。

(2) イソチオシアネートによるアポトーシスへの影響

6×10^5 個の VSMC を 25c m^2 培養フラスコへ 10% FCS を含む DMEM5ml に播き、37°C、12 時間培養を行った。その後培地を各イソチオシアネートを含む無血清 DMEM へ交換し、更に 18 時間培養し、回収した細胞よりゲノム DNA を抽出し、アガロース電気泳動へ供した。

(3) イソチオシアネートで影響を受けるタンパクの 2 次元電気泳動による解析

6×10^5 個の VSMC を 25c m^2 培養フラスコへ 10% FCS を含む DMEM5ml に播き、37°C、12 時間培養を行った。その後培地を各イソチオシアネートを含む無血清 DMEM へ交換し、更に 18 時間培養後、回収した細胞を溶解し、1 次元目に pH3.0-10.0 の等電点電気泳動、2 次元目に SDS-PAGE を行った。

(4) イソチオシアネートによる収縮緩和作用の検討

C57BL/6 より胸部および腹部大動脈、および門脈を摘出し、実体顕微鏡下で外膜を除去した。作成した血管標本を 95%O₂、5%CO₂ の混合ガスを吹き込ませた phosphate saline solution で平衡化させ、実験に供した。10nM norepinephrine による収縮時の張力を 100% とした相対値で表した。

4. 研究成果

(1) イソチオシアネートによる VSMC 増殖への影響

10%FCS 刺激による VSMC 増殖は、イソチオシアネート共存により、図 2 に示す通り濃度依存的に阻害効果を示した。

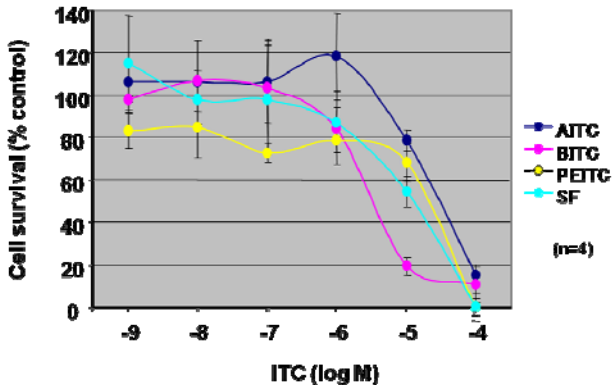


図 2 増殖阻害効果

(2) イソチオシアネートによるアポトーシスへの影響

イソチオシアネートによる VSMC 増殖阻害がアポトーシスに由来するものか検討するため、断片化 DNA の検出を試みた。AITC 1・M ではアポトーシスに特徴的なラダーが認められた一方で、BITC および PEITC, SF では得られなかった。

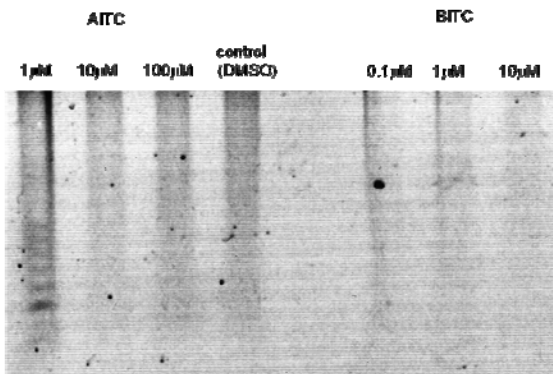


図 3 断片化 DNA の検出

(3) イソチオシアネートで影響を受けるタンパクの 2 次元電気泳動による解析

4 種類のイソチオシアネートを添加した細胞抽出物を二次元電気泳動に供したが、コントロールに比べ、明瞭な差のあるスポットを見つけることができず、発現の変動するタンパクを同定することはできなかった。

(4) アリルイソチオシアネートによる収縮緩和作用の検討

10nM norepinephrine による各種血管標本の収縮張力に対するアリルイソチオシアネートの効果を検討した。図 4 に胸部大動脈、図 5 に腹部大動脈、図 6 に門脈の結果を示す。各血管標本において、10nM norepinephrine による収縮張力を AITC により抑制する結果が得られた。その阻害効果は胸部<腹部<門脈と、末梢に近くなるほど大きいという結論が得られた。

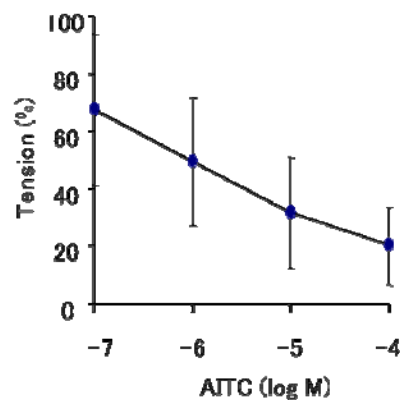


図 4 胸部大動脈における AITC の収縮緩和効果

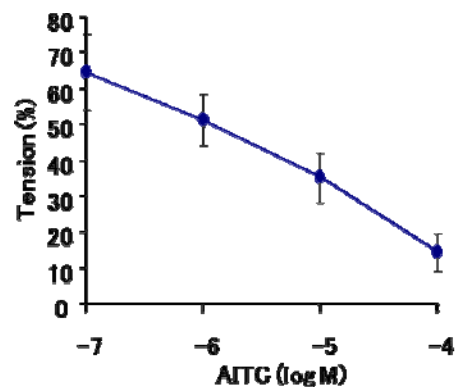


図 5 腹部大動脈における AITC の収縮緩和効果

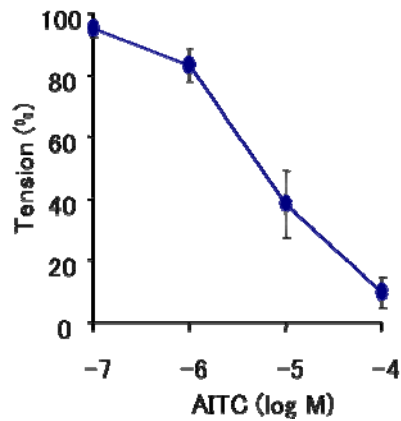


図6 門脈における AITC の収縮緩和効果

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計1件)

① 長光博史、阿部志麿子

辛味成分イソチオシアネートによる血管平滑筋細胞への影響

第54回栄養改善学会, 長崎ブリックホール
2007, 9, 21

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長光 博史 (NAGAMITSU HIROSHI)
中村学園大学短期大学部・食物栄養学科・
助手
研究者番号：20333271

(2) 研究協力者

阿部 志麿子 (ABE SHIMAKO)
中村学園大学短期大学部・食物栄養学科・
准教授
研究者番号：6192994