

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11693

研究課題名(和文)食環境によるステロール輸送機構制御と肥満誘発性病態発症の予防・改善

研究課題名(英文) Regulation of sterol transport mechanism by food environment and prevention/improvement of obesity-induced pathogenesis

研究代表者

永尾 晃治 (Koji, Nagao)

佐賀大学・農学部・教授

研究者番号：10336109

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)：HDL代謝を変動させうる食品成分をトリガーとして、主要なHDL産生臓器である肝臓内に発現する遺伝子を網羅的検索する事で疾患遺伝子を同定し、さらに疾患遺伝子の発現と食環境との相互作用について明らかにすることを試みた。植物葉やその抽出物はHDL代謝を変動させなかったが、キノコの抽出物に変動作用を見いだした。さらに 3脂肪酸と食物繊維の組み合わせや麹発酵により産生された抗炎症物質にもHDL代謝変動作用がin vivoで確認された。肝臓における疾患遺伝子候補として、HDL新生に重要なABCA1だけではなく、ステロールの肝外排泄に関与するABCG5・8の影響についても検証する重要性が見いだされた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動脈硬化性疾患の危険因子として、HDL代謝の低下が重要視されているが、その機構と影響しうる薬剤や食環境に関する詳細は不明である。本研究では、様々な食事成分がHDL代謝に及ぼす影響を生体系で検討を行い、脂質代謝を変動させることが分かっているキノコの熱水抽出物やEtOH抽出物中に活性成分があること、海苔粉末および発酵物粉末中の 3脂肪酸・食物繊維・抗炎症物質にもステロールトランスポーター遺伝子発現調節作用があることが見いだされた。以上のことから、今後のHDL代謝調節機構解明と代謝を改善する機能性成分開発の糸口を示唆することが出来た。

研究成果の概要(英文)：We attempted to identify disease genes and to elucidate the interaction between the expression of disease genes and the food environment by conducting a comprehensive search of genes expressed in the liver, a major HDL-producing organ, using food components that can alter HDL metabolism as triggers. Plant leaves and their extracts did not alter HDL metabolism, but extracts from mushrooms were found to alter HDL metabolism. Furthermore, a combination of 3 fatty acids and dietary fiber and an anti-inflammatory substance produced by koji fermentation were also found to alter HDL metabolism in vivo. As candidate disease genes in the liver, it is important to examine the effects of not only ABCA1, which is important for HDL neogenesis, but also ABCG5 and ABCG8, which are involved in the extrahepatic excretion of sterols.

研究分野：食品栄養化学

キーワード：食環境 HDL代謝 疾患遺伝子

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

1. 研究開始当初の背景

肥満を中心病態として虚血性心疾患の危険因子が集積するメタボリックシンドロームの診断基準において、血中脂質指標としては「高密度リポタンパク質コレステロール (HDL-CHOL) の低値」および「トリグリセリド (TG) の高値」が重要視されているが、肥満に伴う HDL 代謝低下機序や高 TG 血症の動脈硬化促進機構の詳細は未だ不明である。

そもそも動脈硬化の原因ならびに発生病理については、これまで血中の低密度リポタンパク質コレステロール (LDL-CHOL) の上昇による発症危険度の増加が最も重要視されており、その血中濃度を低下させる薬剤：スタチンの投与が主要な治療法となっている。しかしながら、スタチンによる LDL-CHOL 管理のみでは心血管病リスクの3割減程度しか効果が期待できず、残存リスクの要因解明と対応策の確立が期待されている。一方、HDL-CHOL あるいはその主要なアポリポタンパク質であるアポ A1 濃度は、虚血性心疾患発症頻度との間に強い負の相関があり、HDL が生体内で抗動脈硬化作用を有していることが広く認められているが、HDL 代謝に関する研究は LDL 代謝の研究に比べて大きく後れをとってきた。HDL の抗動脈硬化作用は、末梢細胞から余剰なコレステロールを引き抜き (cholesterol efflux) 肝臓に転送する「コレステロール逆転送系」に由来すると考えられ、cholesterol efflux における細胞側の責任分子については、HDL 欠損疾患である Tangier 病患者の遺伝子解析から ABCA1(ATP binding cassette transporter A1)と呼ばれる膜タンパク質が同定されている。数年来、ABCA1 の転写調節因子 Liver X receptor (LXR) をターゲットとした活性化薬剤の活用が試みられてきたが、LXR が脂肪酸合成系遺伝子の発現も正に制御しているために、ABCA1 発現亢進と脂肪酸合成亢進が同時に起きてしまうというジレンマから実用化が難航している現状がある。申請者は、細胞からアポ A1 への遊離コレステロール及びリン脂質の移行には、カベオラと呼ばれる細胞膜陥没構造 (コレステロールが集積しているドメイン) の主要蛋白 Caveolin と ABCA1 の協調的作用が重要であることを以前報告しており、またメタボリックシンドローム発症時 (LXR 活性化時) の HDL-CHOL 低下現象との不整合性からも、HDL 代謝の調節には ABCA1 単独ではなく複数因子の関与が考えられる。

特にメタボリックシンドロームにおける虚血性心疾患の危険度の上昇からも示唆されるとおり、脂肪組織と HDL 新生を行う臓器・細胞との相互作用が重要な鍵となっていると考えられるため。食環境による HDL 代謝制御法の確立を目指すためには、主に肥満モデル動物を用いた検討が適していると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では食環境によるステロール輸送機構制御と肥満誘発性病態発症の予防・改善を目的とする。

そのため、特に HDL-CHOL を変動させうる成分をトリガーとして、実験動物に投与して、未成熟 HDL の主要な産生臓器である肝臓内に発現するコレステロール逆転送系低下に関連する遺伝子を臓器横断的・網羅的検索する事で疾患遺伝子を同定し、さらに疾患遺伝子の発現と食環境との相互作用について明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

メタボリックシンドロームモデル動物 (Zucker ラット、OLETF ラット、db/db マウスなど) におけるリポタンパク質代謝異常発症時の遺伝子発現プロファイリングや食環境の相互作用の解析などにより効率的に有用な知見を得る。

4. 研究成果

(1)まず、肥満誘発性病態発症時の HDL 代謝低下に関して、変動を起こしうる食事因子の検索・検討を行った。すでに脂質代謝変動作用を持つことが分かっている植物葉乾燥粉末の摂取が 2種の肥満モデル動物 (Zucker ラット、OLETF ラット) の HDL 代謝に及ぼす影響について分析を行ったところ、HDL-TG に影響が認められたモデルもあったが、HDL-CHOL にはいずれも影響が認められなかった。(図1)

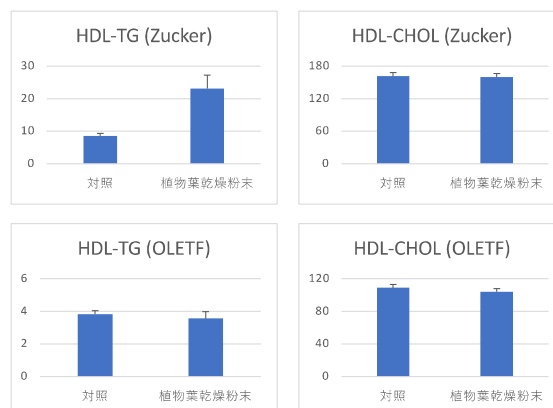


図1 肥満モデル動物への植物葉乾燥粉末4wk摂取実験

加えて、植物葉乾燥粉末の摂取が、非肥満性疾患モデル動物（本態性高血圧ラット）のHDL代謝に及ぼす影響についても分析を行ったが、HDL-TG および HDL-CHOL ともに影響が認められなかった。（図2）

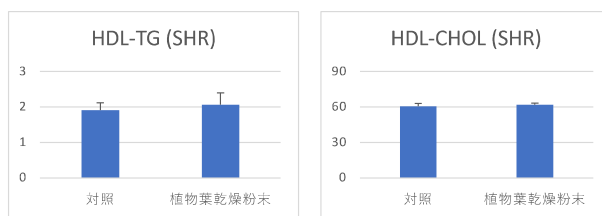


図2 非肥満モデル動物への植物葉乾燥粉末4wk摂取実験

そこで、植物葉乾燥粉末の熱水抽出物(生理活性成分を濃縮)の摂取が肥満モデル動物（OLETFラット）のHDL代謝に及ぼす影響について分析を行ったところ、HDL-TG が低下し、HDL-CHOL には影響が認められなかった。（図3）

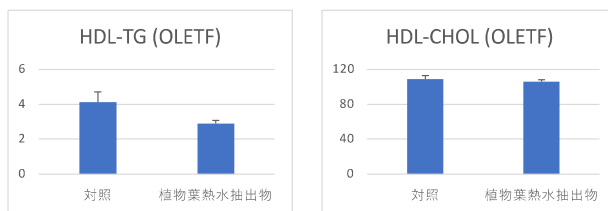


図3 肥満モデル動物への植物葉熱水抽出物4wk摂取実験

検討に値する影響を in vivo で発揮する食事成分が見つからない中、肥満誘発性病態に好ましい影響を發揮してきたキノコの熱水およびエタノール抽出物の db/db マウスへの摂取がHDL代謝に及ぼす影響について分析を行ったところ、HDL-TG には影響が認められなかったが、HDL-CHOL において、熱水抽出物摂取で上昇傾向、エタノール抽出物摂取で有意な上昇が認められた。（図4）候補成分に含まれる化合物の解析と、それらが引き起こす代謝変動を明らかにすることで病態発症機序解明の糸口が開けると期待された。

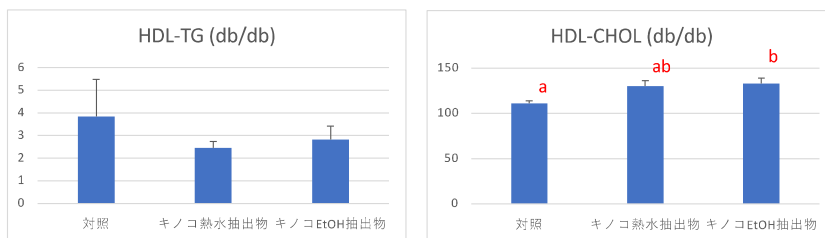


図4 肥満モデル動物へのキノコ抽出物4wk摂取実験

(2) 肥満モデル db/db マウスを用いた in vivo 実験系において、肥満誘発性病態発症時のHDL代謝低下に関して、変動を起こしうる食事因子の検索・検討を引き続き行った。これまでの研究において、3脂肪酸は脂質代謝変動作用が数多く報告されており、またリン脂質(PL)や糖脂質(GL)中に含まれる構造脂質の機能が期待されている。また、食物繊維もコレステロール代謝に及ぼす影響が示唆されてきた。そこで本研究では、3脂肪酸を極性脂質(PL・GL)中に含み食物繊維が豊富な海藻を粉末化し、さらに発酵処理を加えることで更なる物理的・化学的構造修飾を行ったサンプルを調製した。それらサンプルの摂取が肥満モデルマウスのHDL代謝に及ぼす影響について分析を行ったところ、どちらのサンプルも総コレステロール値およびLDLコレステロール値が低下し、コレステロール値のHDL/LDL比の有意な上昇が認められた。（図5）またそ

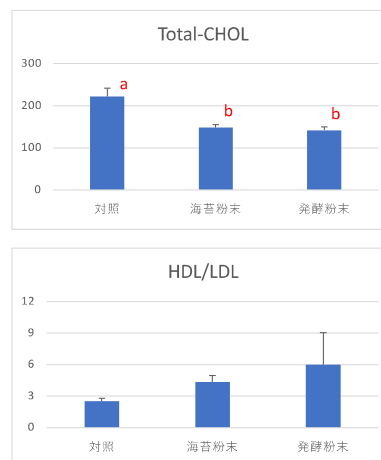


図5 肥満モデル動物への海苔粉末および発酵物粉末4wk摂取実験

の作用は、発酵処理を加えたサンプルの方で顕著であった。加えて、発酵処理サンプルのメタボローム解析により、未処理粉末中には存在しなかった「抗炎症性物質」が3種類同定された。(図6)

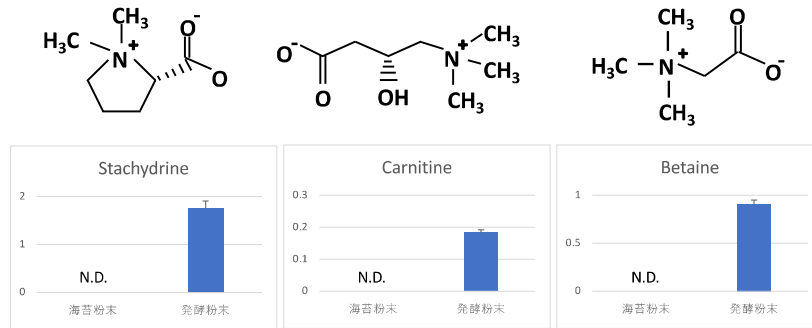


図6 海苔粉末および発酵物粉末のメタボローム解析

(3) 3脂肪酸を極性脂質中に含み食物繊維が豊富な海藻の物理的・生物化学的構造修飾を行ったサンプルの摂取が肥満モデル db/db マウスの HDL 代謝に及ぼす影響について、コレステロール代謝の中心臓器である肝臓に於いて、合成・分解・分泌・排泄に関わる各因子との関連について、詳細な検討を行った。その結果、物理的修飾サンプル・生物化学的修飾サンプルのどちらも合成系遺伝子 HMG-CoA reductase への影響は認められず、分解系遺伝子 CYP7A1 発現を亢進していた。(図7) また、物理的修飾サンプルではリポタンパク質取り込み遺伝子 LDL-r 発現が、生物化学的修飾サンプルでは排出系遺伝子 ABCG8 発現がそれぞれ亢進していた。(図8) HDL/LDL 比の上昇作用がより顕著であった生物化学的修飾サンプルで ABC トランスポーターへの影響があったことから、下記2つの研究進展の糸口がもたらされた。1) 病態発症機序には ABCA1・G5・G8 といったコレステロールトランスポーターの関与が大きいと考えられる。2) メタボローム解析の結果見いだされた、生物化学的修飾により新規に合成されたベタイン構造類似化合物の生理活性との関係を検証していくことで、代謝改善機能性食事因子の検索・開発のスクリーニングに重要な知見が得られると考えられる。

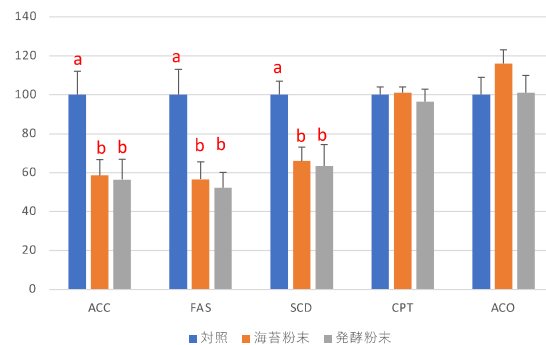


図7 海苔粉末および発酵物粉末4wk摂取が肝臓遺伝子発現 (TG代謝系) に及ぼす影響

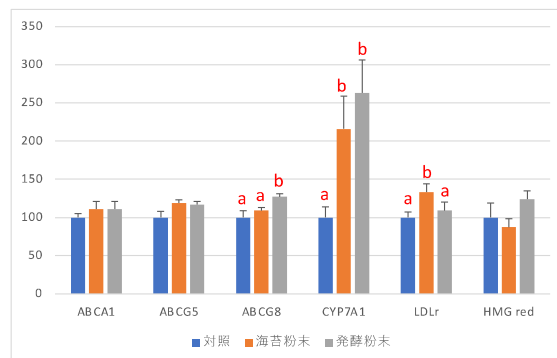


図8 海苔粉末および発酵物粉末4wk摂取が肝臓遺伝子発現 (Chol代謝系) に及ぼす影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 K. Nagao, N. Inoue, K. Tsuge, A. Oikawa, T. Kayashima, T. Yanagita	4. 巻 27
2. 論文標題 Dried and fermented powders of edible algae (<i>Neopyropia yezoensis</i>) attenuate hepatic steatosis in obese mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2640
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/molecules27092640.	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 K. Nagao, K. Yoshinaga, T. Nagai, H. Mizobe, A. Yoshida, F. Beppu, S. Tanaka, N. Gotoh	4. 巻 71
2. 論文標題 Comparison of lipoprotein cholesterol levels in golden Syrian hamster administrated trans-octadecenoic acid positional isomers.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Oleo Sci.	6. 最初と最後の頁 609-618
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5650/jos.ess21348.	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 Y. Kato, M. Sakoh, T. Nagai, A. Yoshida, H. Ishida, N. Inoue, T. Yanagita	4. 巻 71
2. 論文標題 Ozonated olive oil alleviates hepatic steatosis in obese Zucker (fa/fa) rats.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Oleo Sci.	6. 最初と最後の頁 599-607
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5650/jos.ess21377.	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 K. Nagao, N. Inoue, K. Suzuki, T. Shimizu, T. Yanagita	4. 巻 12
2. 論文標題 The cholesterol metabolite cholest-5-en-3-one alleviate hyperglycemia and hyperinsulinemia in obese (db/db) mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 26
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/metabo12010026.	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 S. Wanezaki, S. Saito, N. Inoue, N. Tachibana, T. Yanagita, K. Nagao	4. 巻 26
2. 論文標題 Hydrophilic -conglycinin peptide reduces hepatic triglyceride accumulation in obese model OLETF rats.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Food Sci. Technol. Res.	6. 最初と最後の頁 797-803
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3136/fstr.26.797	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 T. Kayashima, K. Nagao, M. Umino, H. Kaikiri, S. Shibata, K. Matsubara	4. 巻 84
2. 論文標題 Anti-stress effects of rosemary (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) leaf extract on intestinal goblet cells and immobility of forced-swimming test in BALB/c mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biosci. Biotechnol. Biochem.	6. 最初と最後の頁 2385-2389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2020.1800445.	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 T. Yanagita, K. Tsuge, M. Koga, N. Inoue, K. Nagao	4. 巻 691
2. 論文標題 Eicosapentaenoic acid-containing polar lipids from seaweed <i>Susabinori</i> (<i>Pyropia yezoensis</i>) alleviate hepatic steatosis in obese db/db mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Archiv. Biochem Biophys.	6. 最初と最後の頁 108486
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.abb.2020.108486	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 S. Wanezaki, S. Saito, N. Inoue, N. Tachibana, B. Shirouchi, M. Sato, T. Yanagita, K. Nagao	4. 巻 69
2. 論文標題 Soy -conglycinin peptide attenuates obesity and lipid abnormalities in obese model OLETF rats.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Oleo Sci.	6. 最初と最後の頁 495-502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5650/jos.ess20010	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 Hamajima H, Tanaka M, Miyagawa M, Sakamoto M, Nakamura T, Yanagita T, Nishimukai M, Mitsutake S, Nakayama J, Nagao K, Kitagaki H.	4. 巻 83
2. 論文標題 Koji glycosylceramide commonly contained in Japanese traditional fermented foods alters cholesterol metabolism in obese mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem.	6. 最初と最後の頁 1514-1522
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2018.1562877	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 該当する

1. 著者名 山本裕貴、浜島浩史、田中優、藤丸裕貴、坂本真由子、宮川幸、西向めぐみ、柳田晃良、中村強、光武進、永尾晃治、中山二郎、北垣浩志	4. 巻 97
2. 論文標題 麹に含まれるグリコシルセラミドの健康機能	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生物工学	6. 最初と最後の頁 182-184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

[学会発表] 計10件(うち招待講演 3件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 飯笹さやか、永尾晃治、柘植圭介、永野幸生、柳田晃良
2. 発表標題 スサビノリ脂質成分の摂食はdb/db肝臓のアラキドン酸/リノール酸代謝を抑制する
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 戴鳳凰、浜島弘史、中村強、柳田晃良、西向めぐみ、光武進、中山二郎、永尾晃治、北垣浩志
2. 発表標題 麹グリコシルセラミドの肝臓コレステロール低下効果の他の素材との比較の試み
3. 学会等名 令和2年度日本醸造学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永尾晃治
2. 発表標題 食事脂質と健康
3. 学会等名 食生活と植物油栄養に関する講演会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Koji Nagao
2. 発表標題 Omega3-PUFA containing glycerolipids in metabolic syndrome.
3. 学会等名 ICoFF2019/ISNFF2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永尾晃治
2. 発表標題 地域水産物由来機能性構造脂質の栄養生理作用に関する研究
3. 学会等名 2019年度日本栄養・食糧学会九州沖縄支部および日本食品科学工学会西日本支部合同大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北垣浩志、浜島浩史、光武進、田中優、宮川幸、西向めぐみ、中村強、柳田晃良、中山二郎、永尾晃治
2. 発表標題 日本の発酵食品の基盤、麹グリコシルセラミドは脂質代謝を改善する
3. 学会等名 第71回日本生物工学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柘植圭介、岩本彬、鶴田裕美、永尾晃治、山内良子
2. 発表標題 玄界灘に生育する海藻類の抗炎症作用
3. 学会等名 第66回日本食品科学工学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 茅島知子、萩野捺菜、嘉村菜名子、永尾晃治、栄田紗知、松原主典
2. 発表標題 高速ストレスマウスに対するローズマリー葉抽出物の抗ストレス効果
3. 学会等名 2019年度日本家政学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小濱可奈絵、田中優、浜島浩史、中村強、柳田晃良、西向めぐみ、光武進、中山二郎、永尾晃治、北垣浩志
2. 発表標題 麹由来グリコシルセラミドの腸内環境改善効果
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 城内文吾、王天呈、武山藍、中山恵理子、永尾晃治、佐藤匡央
2. 発表標題 コレステロール代謝中間体5-コレステノンのリンパ輸送動態
3. 学会等名 第73回日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2019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
---------	---------