

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：32809

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K11704

研究課題名（和文）多価不飽和脂肪酸摂取による細胞内アルデヒド蓄積度合と遺伝毒性・細胞毒性との関連性

研究課題名（英文）Relationship between polyunsaturated fatty acid intake and degree of intracellular aldehyde accumulation, genotoxicity and cytotoxicity.

研究代表者

清水 雅富（Shimizu, Masatomi）

東京医療保健大学・医療保健学部・准教授

研究者番号：90389841

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）：多価不飽和脂肪酸（PUFA）は、必須脂肪酸でもあり食事などから積極的な摂取が推奨されている。しかし、PUFAは酸化されやすく生体内で酸化されると様々なアルデヒド修飾タンパク質やDNA損傷を引き起こし、細胞毒性や遺伝毒性を誘発する可能性がある。そこで食事から摂取する脂肪酸の違いが、生体内のタンパク質修飾やDNA損傷の蓄積量に影響があるか検討した。

その結果、PUFAの摂取量や摂取比率の違いが影響を及ぼすことを明らかにした。また、それらの影響は臓器や各ライフステージにおいても様々であった。今後食事からのPUFA摂取については、細胞毒性、遺伝毒性を指標に更なる検討の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

多価不飽和脂肪酸（PUFA）は必須脂肪酸でもあり、食事などから積極的な摂取が推奨されているが、生体内酸化を促進する可能性があり適切なPUFA摂取量については未知な部分が多い。また、各ライフステージによるPUFA摂取が生体に及ぼす影響についてはほとんど皆無であった。本研究によって食事からのPUFA摂取による生体酸化への影響が摂取量だけでなく、各種脂肪酸の摂取比率に関連している可能性を示唆した。また、その影響は各ライフステージ、組織によっても異なっていた。今後、各種脂肪酸摂取量に関してはライフステージごとで更なる検討が必要であることを提示した。

研究成果の概要（英文）：Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) which are enriched in plant and fish oils are regarded as the essential fatty acids and recommended for active intake in the diet. However, PUFAs are easily oxidized in vivo, causing various aldehyde-modifications of proteins and DNA damage, which may induce cytotoxicity and genotoxicity. Therefore, we examined whether qualitative and quantitative differences in dietary fatty acid intake affect the amount of modified proteins and DNA damage accumulating in vivo.

We found that differences in the amount and ratio of PUFA intake affected the amount of damage accumulation, and that the effect differed among various organs. The effects also varied depending on each life stage. Our results suggest the need for further investigation of the long-term cytotoxic and genotoxic consequences of unlimited dietary PUFA intake.

研究分野：栄養生化学

キーワード：多価不飽和脂肪酸 必須脂肪酸 アルデヒド修飾タンパク質 酸化DNA損傷 脂肪酸代謝 ミート酸 必須脂肪酸欠乏 カルボニルストレス

1. 研究開始当初の背景

植物や魚油などに多く含まれる多価不飽和脂肪酸 (PUFA: Polyunsaturated fatty acid) は、必須脂肪酸でもあり食事などから積極的な摂取が推奨されている。しかし PUFA は酸化されやすく生体内で酸化されるとアルデヒドを産生する。産生されるアルデヒドの中には活性カルボニル種 (RCS: reactive carbonyl species) といった非常に反応性の高いものもあり、RCS は細胞内高分子のタンパク質や DNA を修飾して、細胞毒性や遺伝毒性の誘導、更には細胞老化を促進する原因となる。しかしこれまでの生体内脂質酸化の研究においては、活性酸素を中心とした酸化する側の研究が盛んに行われてきており、食事から摂取した酸化される側に着目した研究はほとんど行われていない。

また、RCS に対し生体内では速やかに代謝、無害化するシステムを備えているが、加齢による代謝機能低下は RCS を含む様々な脂質酸化物の増加を招く恐れがある。しかし食事による酸化される側とライフステージ別に着目した予防研究は皆無である。

2. 研究の目的

生体酸化に伴う脂質の過酸化は RCS を産生し、タンパク質や DNA を修飾する。また、PUFA が酸化され、一度過酸化ラジカルが生成されると酸化のイベントはループ状態になり、アルデヒド以外にも活性酸素の増加にもつながり、様々な生体影響を及ぼす可能性がある。そのため、あらゆる側面から脂質過酸化のリスク評価が必要である。本研究では実験動物のマウスを用い、臓器中の脂肪酸量、アルデヒド修飾タンパク質量、アルデヒド代謝関連酵素発現量および DNA 損傷などを指標に、食餌からの各種脂肪酸摂取の違いによる生体影響、更にはライフステージ別での影響について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) C57BL/6J 系雄マウスを用い、各種脂肪酸摂取の違いによる影響を確認するため食餌の油脂組成に大豆油 (PUFA: 60.6%、MUFA (Monounsaturated fatty acid 一価不飽和脂肪酸): 23.9%、SFA (Saturated fatty acid 飽和脂肪酸): 15.5%) を用い多価不飽和脂肪酸を多く摂取する群 (PUFA 群)、オリーブ油 (PUFA: 14.2%、MUFA: 72.1%、SFA: 13.6%) を用い一価不飽和脂肪酸を多く摂取する群 (MUFA 群)、ココナッツ油 (PUFA: 1.5%、MUFA: 6.7%、SFA: 91.8%) を用い不飽和脂肪酸摂取が少ない群 (SFA 群) の 3 群とした。また、これら 3 群のライフステージ別における影響についても確認するために、生後 3 週齢 (若年期)、51 週齢 (中年期)、73 週齢 (老年期) の各週齢から 3 か月間飼育を行った。各週齢とも飼育終了後、血液、肝臓、腎臓を摘出し分析を行った。

(2) 脂肪酸分析は血液、肝臓から脂質を抽出後、ガスクロマトグラフィーを用い各種脂肪酸を測定した。

(3) 肝臓、腎臓よりタンパク質を抽出後、各アルデヒド抗体を用い Western Blotting によりアルデヒド修飾タンパク質量を測定した。また、肝臓より total RNA を抽出後、RT-PCR 法にて各種関連代謝酵素の遺伝子発現量を測定した。肝臓、血液 (一部の実験) より DNA 抽出後、各種 DNA 損傷について解析を行った。

4. 研究成果

(1) 多価不飽和脂肪酸は哺乳動物にとって必須脂肪酸であることから、SFA 群の必須脂肪酸欠乏による成長影響などが懸念される。本研究の飼育条件による飼育終了後の観察では、中年期の体重増加量、飼料摂取量は他の 2 群と比べ PUFA 群で有意に増加した。また、臓器重量においては若年期の肝臓で PUFA 群に比べ SFA 群で有意に増加、腎臓においては逆に SFA 群に比べ PUFA 群で有意に増加した。その他の各ライフステージでの飼育期間、飼育終了後における差はなく、特に SFA 群の外観、行動などにも異常は観察されなかった。

(2) PUFA が食事から制限されると生体内 MUFA のオレイン酸から内因性 PUFA のミード酸が産生されることが知られている¹⁾。本研究においても肝臓、血中における各種脂肪酸分析を行ったところ、各ライフステージの SFA 群、MUFA 群からミード酸が検出され (図 1) 各種ミード酸関連代謝酵素の遺伝子発現量についても増加していた。その他の脂肪酸においては肝臓、血中の各ライフステージにおいて、必須脂肪酸のリノール酸、 α -リノレン酸は PUFA 群で高値を示し、SFA 群では微量もしくは

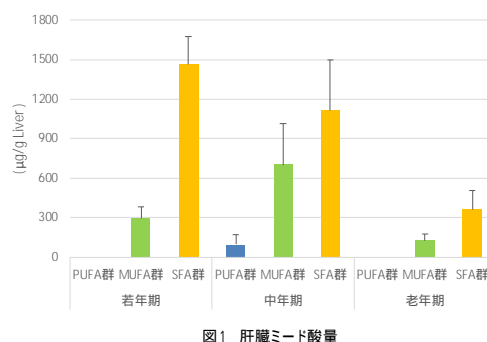


図1 肝臓ミード酸量

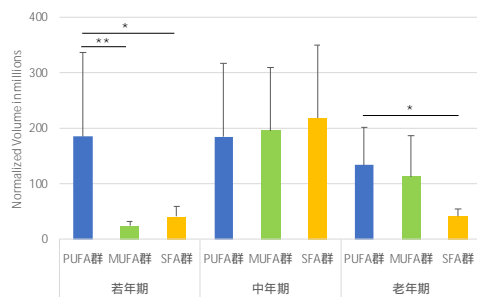


図2 肝臓Acr修飾タンパク質量
* p < 0.05, PUFA群 vs SFA群, ** p < 0.05, PUFA群 vs MUFA群

年期の 4-HNE、MDA 修飾タンパク質では MUFA 群で高値を示し、老年期の Acr、CRA、HEL 修飾タンパク質では PUFA 群、老年期の 4-HHE 修飾タンパク質では SFA 群で高値を示した。また各種アルデヒド関連代謝酵素の遺伝子発現量においては、各ライフステージとも 3 群間で特に顕著な差は認められなかった。

DNA 損傷については、若年期のみアルデヒド誘発 DNA 損傷のエテノアデノシン量について血中および肝臓で測定したところ、血中では SFA 群に比べ MUFA 群で高値を示した (図3)。その他、DNA 酸化損傷マーカーである 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine 量、ミトコンドリア DNA 損傷量について比較検討を行ったが、特に差は認められなかった。

以上のことから、食事による脂肪酸摂取の違いは各組織中の脂肪酸代謝を変化させ、PUFA の酸化による RCS 産生から起こる各種アルデヒド修飾タンパク質の蓄積度合いにも影響を与える可能性が示唆された。また、その影響は PUFA の摂取量だけでなく、各種脂肪酸の摂取比率が関連している可能性が考えられた。更にそれらの影響は各ライフステージ、組織によっても異なっていた。ライフステージにおける食事影響においては、飼育条件の改善点なども見受けられるため、今後更なる検討が必要である。

は検出されなかった。MUFA であるオレイン酸、各種 SFA については SFA 群、MUFA 群、PUFA 群の順で高値を示した。

(3) 各組織中のアルデヒド修飾タンパク質量については、肝臓においては若年期のアクロレイン (Acr)、クロトンアルデヒド (CRA)、老年期の Acr 修飾タンパク質では PUFA 群で高値を示し (図2)、若年期のマロンジアルデヒド (MDA)、ヘキサノイルリジン (HEL)、老年期の 4-ヒドロキシノネナール (4-HNE)、4-ヒドロキシヘキサナール (4-HHE) 修飾タンパク質では、MUFA 群で高値を示した。腎臓においては若年期の MDA、HEL、中年期の Acr、老

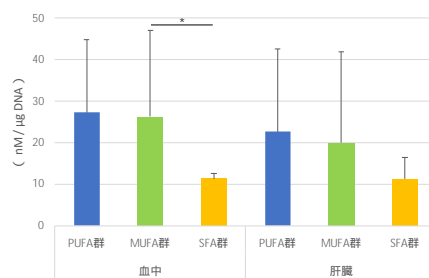


図3 若年期のエテノアデノシン量
* p < 0.05, MUFA群 vs SFA群

引用文献

1) James F. Mead, William H. Slaton Jr. Metabolism of essential fatty acids: III. Isolation of 5,8,11-eicosatrienoic acid from fat-deficient rats. *J Biol Chem.*1956,219, 705-709.

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）

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 清水雅富、台蔵彩子、川田憲一、グルーズピーター
2. 発表標題 脂肪酸摂取によるカルボニルストレスの調節
3. 学会等名 第93回日本生化学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 清水雅富、台蔵彩子、川田憲一、グルーズピーター
2. 発表標題 脂質酸化ストレスは多価不飽和脂肪酸摂取に依存する
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 清水雅富、台蔵彩子、川田憲一、グルーズピーター
2. 発表標題 1年齢マウスにおける食事性脂肪酸が脂質酸化ストレスに与える影響
3. 学会等名 第95回日本生化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 清水雅富、台蔵彩子、川田憲一、グルーズピーター
2. 発表標題 高月齢マウスによる脂肪酸摂取割合の違いが脂質酸化ストレスに与える影響
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1．発表者名 清水雅富、台蔵彩子、川田憲一、グルーズピーター
2．発表標題 マウスのライフステージにおける脂肪酸摂取率の違いが脂質酸化ストレスに及ぼす影響
3．学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4．発表年 2023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
研究 分 担 者	台蔵 彩子 (Daizo Ayako) (10364978)	聖徳大学・人間栄養学部・講師 (32517)	

	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 協 力 者	グルーズ ピーター (Gruz Petr) (10321853)	国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部・主任研究官 (82601)	
研究 協 力 者	川田 憲一 (Kawada Kenichi) (90954751)	東京医療保健大学・医療保健学部・助手 (32809)	

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