

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008～2009

課題番号：20800038

研究課題名（和文）心血管疾患のリスク低減を目的としたリン食事摂取基準の策定

研究課題名（英文）The institution of reference nutrient intake on phosphate, aimed reduction for cardiovascular disease risk

研究代表者

首藤 恵泉 (SHUTO EMI)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教

研究者番号：10512121

研究成果の概要(和文):近年、リンの過剰摂取は、慢性腎不全患者だけでなく健常者においても心血管疾患のリスクを増加させることが示唆されている。我々は、これまでに、血管内皮細胞やラットにおいて高リン負荷による血管内皮の機能障害を見出してきた。そこで、これらの結果がヒトにおいても起こるのか検討したところ、高リン負荷後、血清リン濃度が有意に上昇し、血管内皮機能の低下が認められた。従って、食事性リン負荷による血清リン濃度の上昇は、健常者においても血管内皮機能を低下させ、血管平滑筋の石灰化だけでなく血管内皮機能の低下も引き起こし、これらが相まって心血管疾患のリスクとなっていることが考えられた。

研究成果の概要(英文):Excessive dietary phosphorus may increase cardiovascular risk in healthy individuals as well as in patients with chronic kidney disease. To determine whether postprandial hyperphosphatemia may promote endothelial dysfunction, we investigated the acute effect of phosphorus loading on endothelial function in 11 healthy men. The high dietary phosphorus load increased serum phosphorus and significantly decreased flow-mediated dilation. Flow-mediated dilation correlated inversely with serum phosphorus. These findings suggest that endothelial dysfunction mediated by acute postprandial hyperphosphatemia may contribute to the relationship between serum phosphorus level and the risk for cardiovascular morbidity and mortality.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,340,000	402,000	1,742,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	2,540,000	762,000	3,302,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：公衆衛生学・健康科学

キーワード：動脈硬化

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、高リン血症は、独立した心血管疾患の危険因子として注目されている。さらに、腎機能が正常な患者だけでなく健常者においても、血清リン濃度が正常範囲でも濃度が高いほど心血管疾患の発症リスクや死亡率が高くなることが報告された。さらに、動脈硬化の高発部位である頸動脈壁の肥厚と血清リン濃度が相関することが報告された。

(2) これまで、高リン血症は、腎不全患者において血管平滑筋を骨芽細胞様に分化させ中膜の石灰化を誘導することにより動脈硬化を引き起こすことが問題とされてきた。我々は、高リン血症と動脈硬化との関係について検討したところ、大動脈由来血管内皮細胞において高リン負荷がPKCの活性化を介して酸化ストレスの産生を引き起こすこと、および血管弛緩因子である内皮由来一酸化窒素合成酵素(eNOS)の活性を抑制することを見出した。さらに、高リン負荷は、ラットの胸部大動脈の弛緩反応も抑制することを見出している。これらより、今まで考えられていた以上に低濃度で、しかも早期から血管内皮機能を障害すると考えられる。しかしながら、ヒトにおいて日常的にどれくらいのリン摂取量が心血管疾患のリスクとなるかは、未だ明らかになっていない。リンはほとんどの食品に含まれ、特に蛋白質食品に多く含まれる。また、食品添加物としてリン酸化合物が、加工食品や清涼飲料水、嗜好食品等多くの食品に多量に含まれている。現在、様々な加工食品の使用が増加しているが、ほとんどの市販食品の栄養成分表示にリン含有量は記載されておらず、消費者の関心や知名度も低いことから、慢性的なリンの過剰摂取が懸念さ

れる。

(3) 厚生労働省策定「日本人の食事摂取基準」においてリンの食事摂取基準は、出納試験による平衡維持に必要な摂取量、血清リン濃度を基準範囲に維持できる摂取量、成長に伴う蓄積量から必要の検討等を試みたが、日本人に関する研究成績はなく、リンの必要量に関しての報告がほとんど見られないことから、アメリカ/カナダの食事摂取基準を参考に平成13年国民栄養調査の摂取量中央値を目安量としているのが現状である。現在の上限値は、Nordin等により提唱されたリンの摂取量と血清無機リンとの関係式により、血清無機リンが正常上限値となるリンの摂取量としている。このように、現在のリン摂取基準には十分な科学的根拠がなく、また、心血管疾患のリスク低減のための摂取基準という概念をもって検討されているものではない。

## 2. 研究の目的

リンの過剰摂取は、これまで考えられていた以上に生活習慣病など生体へのリスクが高いことが考えられることから、心血管疾患のリスク低減を目的とした血管機能を指標とする新たなリン摂取基準の策定が必要である。食後高リン血症の概念を確立し、その生体機能への影響を明らかにするとともに、新たに心血管疾患のリスク低減を概念とした適切なバイオマーカーとリンの食事摂取基準を策定するための評価系を確立することを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) ラットに高リン食(P1.2%)を投与した高リン食群と、低リン食(P0.02%)を投与した低リン食群を準備し2週間飼育した。各々のラットより血管を採取した。組織よりRNAを抽出し、動脈硬化関連因子(MCP-1)の遺伝子発現を real time RT-PCR 法により評価した。また、解剖時に血液を採取し、血液中の MCP-1 を ERISA 法により測定した。

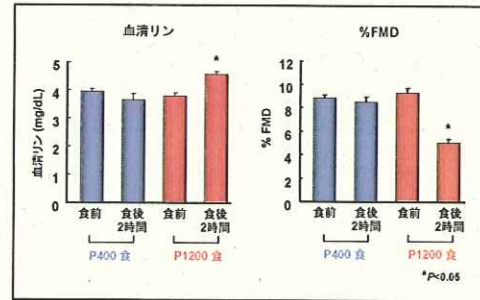
(2) 喫煙歴がなく、糖尿病や腎機能障害、心血管疾患などの既往のない健常男性 11 名を対象とし、高リン負荷試験を二重盲検法交差比較試験にて行った。試験食は、我々が行った高リン負荷試験(Nishida Y, et al. *Kidney Int.* 2006;70:2141-2147)を参照した。また、対象者の身体所見(年齢、身長、体重、体脂肪率等)を調査した。試験は、試験食前空腹時と食後2時間に、血流依存性血管拡張反応検査(Flow-mediated dilation : FMD)測定と採血を行い、血清パラメーターとして、電解質(Na、K、Cl、P、Ca)、動脈硬化関連因子(尿酸、TG、LDL-cho、HDL-cho)、糖代謝因子(血糖値)、リン代謝調節ホルモン(intact PTH)は検査会社へ委託し測定した。得られた%FMDと血清バイオマーカーの結果は、群間差、変化率、相互作用について多変量解析を用いて統計解析を行った。

### 4. 研究成果

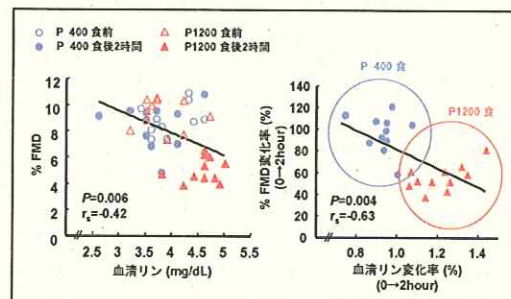
(1) 高リン食負荷群において、有意に血清リン濃度が上昇していることを確認した。各々のラットより採取した血管よりRNAを抽出し、MCP-1の遺伝子発現を real time RT-PCR 法により評価したところ、低リン食群に比し、高リン食群において約150倍もMCP-1の発現量が増加していた。また、血清リン濃度と血清MCP-1濃度の相関について検討したところ、

有意な正の相関が認められた。これらの結果より、慢性的な血中リン濃度の上昇により、動脈硬化や慢性的な炎症反応へ関与していることが示唆された。

(2) 高リン(P1200)食後2時間で、血清リン濃度が有意に上昇し、%FMDが有意に低下した。その他の血圧、電解質、動脈硬化関連因子は、全ての群において正常範囲内だった。



血清リン濃度および食前から食後2時間の血清リン濃度の変化率と%FMDとの相関について検討したところ、血清リン濃度と%FMDおよび血清リン濃度の変化率と%FMDの双方において、それぞれ有意な負の相関が認められた。



また、高血糖で血管内皮機能が傷害されることが報告されているので、%FMDと血中グルコース濃度について同様に検討したが、有意な相関は見られなかった。高リン食のリン負荷量は、「日本人の食事摂取基準」の許容上限量内にも関わらず、単回投与によって血管内皮機能を障害していることが示唆された。これまでに私達が、血管内皮細胞やラットにおいて得た結果と、ヒトにおいても同様の結果を引き起こすことが明らかとなった。従って、

血清リン濃度が高くなると、血管平滑筋の石灰化だけでなく、血管内皮機能の低下も引き起こし、これらが相まって心血管疾患のリスクとなっていることが考えられた。食事性リン負荷による血清リン濃度の上昇は、健常者においても血管内皮機能を低下させることが示唆された。さらに、「心血管疾患のリスク低減のための摂取基準」という概念をもったリン摂取基準を策定することが望まれる。

## 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)

[雑誌論文] (計 4 件)

①Emi Shuto, Yutaka Taketani, Rieko Tanaka, Nagakatsu Harada, Masashi Isshiki, Minako Sato, Kunitaka Nashiki, Kikuko Amo, Hironori Yamamoto, Yukihito Higashi, Yutaka Nakaya, and Eiji Takeda. Dietary phosphorus acutely impairs endothelial function. *Journal of the American Society of Nephrology*. Vol. 20, 2009, 1504-1512. 査読有

②首藤恵泉、高リン血症と心血管疾患四国医学雑誌、64(3,4)2008,114-116. 査読有

[学会発表] (計 16 件)

①首藤恵泉、食事性のリン過剰摂取は血管内皮機能を障害する、第 13 回日本病態栄養学会年次学術集会、2010 年 1 月 9-10 日、京都

②Emi Shuto, Excessive dietary phosphorus acutely impairs endothelial function in healthy men. *The American Society of Nephrology 42nd ANNUAL MEETING & Scientific Exposition*. October 27-November 1, 2009, San Diego, California,

America

③首藤恵泉、ヒトにおける食事性高リン負荷による血管内皮機能障害、第 63 回日本栄養・食糧学会大会、2009 年 5 月 20-22 日、長崎

④首藤恵泉、ヒトにおける食事性高リン負荷による血管内皮機能障害、第 12 回日本病態栄養学会年次学術集会、2009 年 1 月 10-11 日、京都

⑤首藤恵泉、高リン負荷による血管内皮機能障害、第 26 回日本骨代謝学会学術集会、2008 年 10 月 29-31 日、大阪

⑥Shuto E. Postprandial Hyperphosphatemia is a Novel Risk Factor for Cardiovascular Disease by Involving Endothelial Dysfunction. *American Society of Bone and Mineral Research 30th ANNUAL MEETING*. September 12-16, 2008 Montreal, Quebec, Canada

⑦首藤恵泉、食後高リン血症は血管内皮機能障害を惹起し心血管疾患のリスクとなる、第 55 回栄養改善学会、2008 年 9 月 5-7 日、鎌倉

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

首藤 恵泉 (SHUTO EMI)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教

研究者番号：10512121

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者