

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 25 日現在

機関番号：34511

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500786

研究課題名（和文） 亜鉛・ビタミンE, Cの複合摂取による血圧上昇及び血管肥厚抑制効果

研究課題名（英文） Inhibitory effects of the simultaneous intake of zinc and vitamins E and C on blood pressure elevation and vascular thickness

研究代表者

瀬口 春道 (SEGUCHI HARUMICHI)

神戸女子大学・健康福祉学部・教授

研究者番号：90030866

研究成果の概要（和文）：

腎血管性高血圧モデルラットにビタミンE, Cを混合した飼料を摂取させ、血圧とアンジオテンシン (Ang) II の産生を観察した結果、単独では血圧上昇するが、3種類を複合投与すると血圧の上昇抑制、血漿 AngII 量の低下、血管機能改善、血管肥厚の抑制が観察され、血管組織に対する数種の染色方法によって検討し、管腔側からの影響は好中球の内皮細胞への影響をフローサイトメトリーと蛍光顕微鏡を用いて現在検討中である。

研究成果の概要（英文）：

Intake of dietary antioxidants reduces oxidative stress in a living body. Dietary Stop to Hypertension (DASH) proposed dietary control of blood pressure (BP) control. The mechanism of the control may involve the antioxidative effects of vegetable and fruits, but the data of the investigations on it are still equivocal. Even vitamins E and C, which were most probable antioxidants to affect BP, were not confirmed to control BP. Since many antioxidative nutrients reinforce or cancel each other, we hypothesized that some combination of antioxidative nutrients may reduce BP elevations in hypertension. To test the hypothesis, we induced 2-kidney, 1-clip renovascular hypertension into male 6 wk Sprague Dawley rats, fed diets containing zinc and vitamins E and C after BP elevation, and observed BP and angiotensin (Ang) II production. As a result, we observed that each sole intake of zinc or vitamin E or C did not affect BP, but the combination of the three nutrients inhibited the BP elevation and decreased plasma AngII level, in the hypertensive model rats. In the rats, the wall thickness of blood vessels was observed to be reduced with the inhibition of BP elevation. We also investigated the mechanism, by staining blood vessels with several procedures. It is now on going to investigate the effects from the inside of vessels by observing the effects of neutrophil on endothelial cells using flow cytometry and fluorescence microscopy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：食生活学・食と栄養

キーワード：血圧・亜鉛・ビタミンE・ビタミンC・血管

1. 研究開始当初の背景

近年、食品中の抗酸化物質を摂取することで体内の酸化ストレスを軽減する効果が注目されており、Dietary Stop to Hypertension (DASH) では、食事による血圧のコントロールが提唱されている。その効果のメカニズムとして、野菜や果物の抗酸化性が検討されているが、その効果は報告によって異なる。最も関連性が深いとされるビタミンE,Cにおいてもその抗酸化性による血圧コントロールは証明されていない。

2. 研究の目的

我々は、抗酸化性を有する栄養素は多数存在することから互いの効果を相乗する又は相殺することが考えられ、組み合わせを検討することで血圧の上昇をコントロールすることが可能になると仮説をたて、ビタミンとミネラルの組み合わせが血圧に及ぼす影響を検討してきた。その中から、腎血管性高血圧ラットを用いて血圧、血管の変化を検討したところ、亜鉛単独または、亜鉛とビタミンEの2種類の混合では影響がみられないが、亜鉛とビタミンE、Cの3種を複合摂取させることで、血圧上昇が抑制され、血管機能を改善し、血管肥厚を軽減することを見出し、これらの効果がAngIIの低下とNOの上昇によること

を報告している。これをもとに、高血圧の発症要因は様々であることから、ヒトへの応用にむけて亜鉛とビタミンE,Cなどの組み合わせによって血圧・血管に及ぼす影響が明らかになれば、厳しい食塩制限によってなされてきた高血圧予防を亜鉛、ビタミンE,Cを摂取することで、高血圧、動脈硬化の実施を容易にし、さらには心筋梗塞や脳血管疾患の予防につながると考えられた。

3. 研究の方法

亜鉛、ビタミンE,Cが単独では腎血管性高血圧ラットの血圧には変化を及ぼさないが、3種類を複合投与すると血圧の上昇抑制が観察され、血漿AngII量が低下することを確認し、AngIIの低下メカニズムを検討するため、SD系6週齢雄ラットを用いて腎血管性高血圧モデル(2K1C)を作成し、血圧が上昇したのちに亜鉛、ビタミンE,Cを混合した飼料を自由摂取させ、AngIIの産生・作用に関する検討を行った。さらに、血管肥厚の減少メカニズムに関しては、血管組織を用いて数種の染色方法によって検討し、管腔側からの影響については、好中球と内皮細胞への影響をフローサイトメトリーと蛍光顕微鏡を用いて検討した。

#### 4. 研究成果

抗酸化性を有する栄養素は多数存在することから互いの効果を相乗する又は相殺することが考えられ、組み合わせを検討することで血圧の上昇をコントロールすることが可能になるとの仮説をたて、ビタミンとミネラルの組み合わせが血圧に及ぼす影響を検討するために、腎血管性高血圧ラットを用いて血圧、血管の変化を検討したところ、亜鉛単独または、亜鉛とビタミンEの2種類の混合では影響がみられないが、亜鉛とビタミンE、Cの3種を複合摂取させることで、血圧上昇が抑制され、血管機能を改善し、血管肥厚を軽減することを見出し、これらの効果がAngIIの低下とNOの上昇によることを見出した。しかしながら、詳細なメカニズムの検討には至っていない。

本研究では、これまでの研究結果をもとに亜鉛、ビタミンE,Cの複合投与による血圧上昇抑制効果及び、動脈肥厚抑制メカニズムの検討を行う。腎血管性高血圧モデルラットは、片側の腎動脈狭窄により、レニンを上昇させ、AngIIによって血圧が上昇するが、導入2週間程度でレニン分泌は低下し、その後は昇圧による血管への刺激によって、組織におけるAngII産生によって高血圧が維持することが報告されている。

血圧の上昇による血管への刺激は、活性酸素種であるスーパーオキシド ( $O_2^{\cdot-}$ ) を大量に産生し、NOがこれの消去によって不足し不均化が起こり、血管内皮が障害され血管機能の障害につながる。このAngII上昇、 $O_2^{\cdot-}$ の上昇、NOの減少によって血管肥厚が起こる。血管の機能障害や肥厚はさらなるAngII上昇または血圧上昇につながるという悪循環が起こる。

亜鉛、ビタミンE,Cの複合投与によって、この悪循環を断ち切り、血圧の上昇が抑制さ

れたことが考えられる。

AngIIの低下の要因には、ACE活性が阻害されている可能性、AngIIレセプターの減少が考えられる。また、NOの上昇による血管機能の改善の関与が考えられるが、NOの上昇には、NOS (eNOS, iNOS, nNOS)の増加と $O_2^{\cdot-}$ の低下が考えられる。NOの上昇は細胞が障害される時にもみられることが報告されているが、これまでの研究では、炎症性サイトカインIL-6の低下が観察されているので、細胞障害によるNO産生ではないと考えている。

亜鉛、ビタミンE,Cのどれもが、 $O_2^{\cdot-}$ を消去する効果をもつことが報告されており、この経路がAngIIの低下に強く関わっているのではないかと考えている。

また、血管肥厚抑制メカニズムについての検討に関しては、AngIIはタンパク変化によってムコ多糖類の上昇により血管肥厚を起こすことが報告されており、このタンパク変性を抑制しているのか、ムコ多糖類を減少させているのかを検討するため、血管肥厚抑制のメカニズムの1つである、管腔側からの刺激として、血管内皮細胞への影響を検討するため、血管損傷に関連の深い好中球と血管内皮細胞について観察した。フローサイトメトリートと蛍光顕微鏡による細胞損傷の定量法を開発したうえで、本モデルにおいて定量を行い、現在、内皮細胞への影響を検討しているところである。

#### 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2件)

- (1) 瀬口春道他、ミクロネシア連邦ポナペ島K村住民の食生活と肥満の現状 (2009年住民健診)、神戸女子大学健康福祉学部紀要、査読有、第4巻、2012、pp. 47-55
- (2) Seguchi, H 他. Antioxidant Effects of Protocatechuic Acid, Ferulic

acid, and Caffeic acid in Human Neutrophils Using a Florescent Substance. International Journal of Morphology, 査読有, 28, 2010, pp. 911-920

[学会発表] (計3件)

- (1) Hiroko Hashimoto et al. Dietary Combined Intake of Zinc and Vitamins may alleviate Thickness of Vascular Tunika media in Aorta of Rats with Renovascular Hypertension. American Heart Association Scientific Sessions, 2011年11月13日, Orland/Ca/USA
- (2) 橋本弘子他、亜鉛、ビタミンE、Cの複合投与による2K1Cの血圧変化、第16回血管病理研究会、2011年9月30日、神戸有馬
- (3) Seguchi, H他. Antioxidant Effects of Protocatechuic Acid, Ferulic acid, and Caffeic acid in Human Neutrophils Using a Florescent Substance. Joint Seminar between Kobe Women's University and Cederawasih University. 2010/8/16, Jayapura, Papua, Indonesia

[図書] (計2件)

- (1) 瀬口春道他、エルゼビア・ジャパン、グレイ解剖学 原著第2版、2011、1127
- (2) 瀬口春道他、医歯薬出版株式会社、原著8版 ムーア人体発生学、2011、505

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

瀬口 春道 (SEGUCHI HARUMICHI)  
神戸女子大学・健康福祉学部・教授  
研究者番号：90030866

### (2) 研究分担者

栗原 伸公 (KURIHARA NOBUTAKA)  
神戸女子大学・家政学部・教授  
研究者番号：10234569  
橋本 弘子 (HASHIMOTO HIROKO)  
大阪成蹊短期大学・総合生活学科・講師  
研究者番号：80360262