

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 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22700750

研究課題名（和文） 生活習慣病の予防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 prevention for the lifestyle-related disease

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・講師

研究者番号：10512121

研究成果の概要（和文）：近年、高リン血症が独立した心血管疾患の危険因子として確立されている。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。更に、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、これまで考えられていたよりも低濃度の食事からのリン摂取でも血管内皮機能を障害することを見出した。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、動脈硬化など慢性炎症を背景とした生活習慣病に関与している可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：Excessive dietary phosphorus (P) has been speculated as a risk factor for cardiovascular disease (CVD) in healthy persons as well as in patients with chronic kidney disease. We reported that high P-loading increased production of reactive oxygen species and decrease nitric oxide (NO) availability in endothelial cells. In addition, we performed dose and time-dependent effect of dietary P intake on endothelial function in healthy male volunteers. High P meals significantly increased serum P levels in a dose-dependent manner, whereas significant decrease in % flow-mediated dilation(%FMD) was observed. Significant negative correlation was also observed between %FMD and serum P. These results indicate that excessive dietary P intake can acutely impair endothelial function in healthy people. Habitual excessive P intake and resulting in endothelial dysfunction may contribute to progress CVD or increasing mortality as epidemiologically speculated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：生活習慣病、慢性炎症、動脈硬化、高リン血症

1. 研究開始当初の背景

(1) 粥状動脈硬化の発症機序として最も広く受け入れられているのが、Ross 等が提唱した「response to injury 説」であり、これは、血管内皮の機能障害を契機に単球が内膜に進入してマクロファージに分化し、中膜の血管平滑筋細胞も内膜へ遊走しマクロファージとともに泡沫化するという説で、それに続く一種の炎症反応が動脈硬化の病態形成に重要であると理解されている。ごく最近では、糖尿病の原因としても細胞性免疫が脂肪の炎症を制御していることが相次いで報告され、動脈硬化、糖尿病や肥満といった生活習慣病に炎症反応が関わっているという考えが広く指示されてきている。

(2) 高リン血症は、独立した心血管疾患の危険因子として確立され、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依存的に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。最近では、慢性腎臓病（CKD）と心血管疾患（CVD）とが互いに密接に関与しあう「心腎連関」という概念で捉えられるようになった。従来、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し動脈硬化を引き起こすことが問題とされてきたが、我々は、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、内皮依存性血管弛緩因子（NO）の合成酵素である eNOS の活性を抑制すること、さらに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。しかし、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ており、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

塩が、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が、市販食品の栄養成分表示にリンの含有量はほとんど記載されておらず、消費者の関心が低いことからリンの摂取過多が問題視されている。さらに、リンには有機リンと無機リンとがあり、その消化・吸収や代謝に差異があることが示唆されるようになってきたが明らかとなっていない。

(3) 厚生労働省策定「日本人の食事摂取基準 2010 年版」においても、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 18 年国民栄養調査の摂取量の中央値に改めたにすぎない目安量を示している。現在の耐用上限量は、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おり、20 年以上検討されていない。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、生活習慣病や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体への影響が大きいことが考えられることから、従来の出納試験やホルモンの変化を指標としたリン摂取基準に換えて、心血管疾患や生活習慣病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。本研究では、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、新たに生活習慣病や心血管疾患のリスク低減を概念とし、予防を指標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。

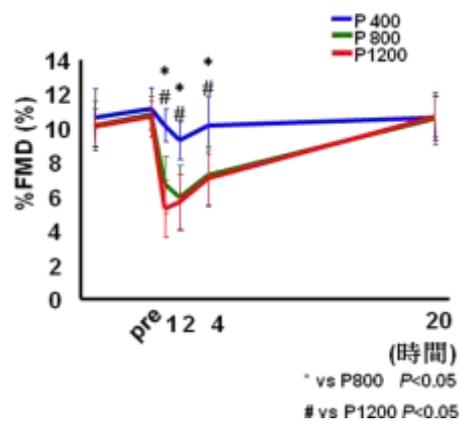
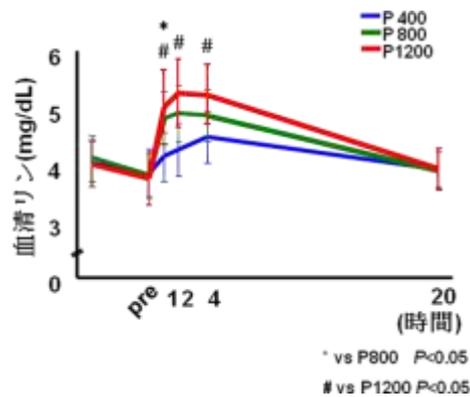
3. 研究の方法

対象は、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がなく、性周期による影響を除外するため男性健常人 16 名とした。方法は、二重盲検法交差比較試験とする。試験食は、我々がこれまでに行った高リン負荷実験 (Shuto E, et al. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20:1504-1512) (Nishida Y, et al. *Kidney Int.* 2006;70:2141-2147) を参照し、昼食を P400 (400mg P/食)、P800 (800mg P/食)、P1200 (1200mg P/食) とした。対象者の身体所見 (年齢、身長、体重、体脂肪率など)、食事摂取頻度調査法 (Food frequency questionnaire : FFQ) を調査した。試験は、早朝、昼食前空腹時、昼食後 1、2、6 時間、翌早朝に、血流依存性血管拡張反応検査 (Flow-mediated dilation : FMD) 測定と採血と採尿を行い、血清と血漿と尿サンプルを保存した。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、その他標的遺伝子は、検査会社委託または ELISA 法を用いて測定した。得られた結果について、群間差、変化率、相互作用等多変量解析を用いて統計解析を行った。

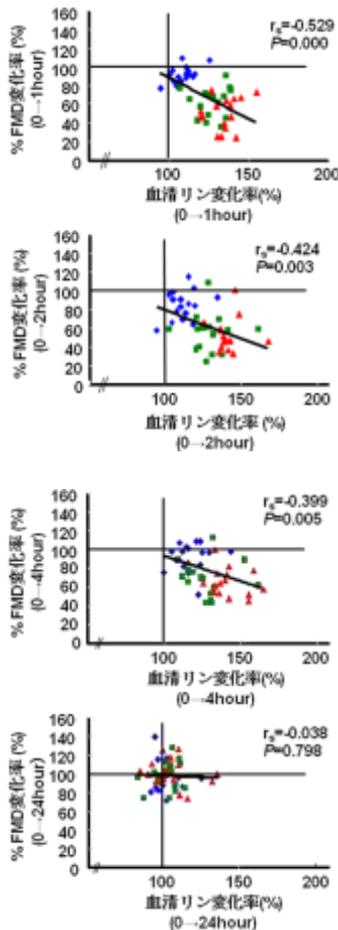
4. 研究成果

高リン食負荷により、濃度依存的に血清リン濃度が有意に上昇し、少なくとも 4 時間は血清リン濃度 5.0mg/dL 以上の高リン血症状態

が維持されていた。一方、%FMD は、負荷後 1 時間で有意に低下した。興味深いことに P800 でも P1200 と同程度まで低下し、負荷後 4 時間経過しても回復することはできなかった。その他の血圧、電解質、動脈硬化関連因子等は、全ての群において正常範囲内だった。



さらに、リン負荷前に対する負荷後 1、2、4、24 時間の血清リン濃度および %FMD の変化率との相関について検討したところ、負荷後 1、2、4 時間において、血清リン濃度と %FMD の変化率との間に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については、P1200 も「日本人の食事摂取基準」の耐容上限内である。さらにP800 においては、通常の食事で摂取することが十分推測できる量であるにも関わらず、単回投与によって P1200 と同程度まで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、血清リン濃度が一過性でも高くなると、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、これまで考えられていたよりも低い濃度で血管内皮機能の低下を引き起こしたことから、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。リンは糖尿病や動脈硬化などの生活習慣病の危険因子であることへの警鐘と、「日本人の食事摂取基準」のリンの適切な食事摂取目安量と耐容上限量を確立するとともに、これまで策定されていない推定平均必要量や推奨量を新たに策定し、生活習慣病や健康障害の予防の概念を取り入れた「日本人の食事摂取基準」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 5 件)

- ① Sakai T, Hirota Y, Nakamoto M, Shuto E, Hosaka T, Makino S, Ikegami S. Suppression of oral tolerance by Lactococcus lactis in mice. Biosci Biotechnol Biochem. 75(3),2011:599-601. 査読有 DOI: 10.1271/bbb.100714
- ② Sakai T, Furoku S, Nakamoto M, Shuto E, Hosaka T, Nishioka Y, Sone S. Soy isoflavone equol perpetuates dextran sulfate sodium-induced acute colitis in mice. Biosci Biotechnol Biochem. 75(3), 2011:593-595. 査読有 DOI:10.1271/bbb.100710
- ③ Hosaka T, Nii Y, Tomotake H, Ito T, Tamanaha A, Yamasaka Y, Sasaga S, Edazawa K, Tsutsumi R, Shuto E, Okahisa N, Iwata S, Sakai T. Extracts of common buckwheat bran prevent sucrose digestion. J Nutr Sci Vitaminol. 57(6),2011:441-445.

査読有 DOI:10.3177/jnsv.57.441

④ Nakamoto M, Shuto E, Hosaka T, Sakai T. Dietary deoxynucleic acid induces type 2 T-helper immune response through toll-like receptor 9 in mice. Eur J Nutr. 50(6), 2011:421-426. 査読有 DOI:10.1007/s00394-010-0153-4

⑤ Sakai T, Furoku S, Nakamoto M, Shuto E, Hosaka T, Nishioka Y, Sone S. The soy isoflavone equol enhances antigen-specific IgE production in ovalbumin-immunized BALB/c mice. J Nutr Sci Vitaminol. 56(1), 2010:72-76. 査読有 DOI:10.3177/jnsv.56.72

〔学会発表〕（計 12 件）

① 首藤恵泉、竹谷豊、大屋美穂、小河真理子、中西美咲、中本真理子、塩田あすか、北村知世、渡里恵梨子、阿望幾久子、保坂利男、山本浩範、酒井徹、武田英二、ヒトにおける食事性高リン負荷による血管内皮機能への影響、第 64 回日本栄養食糧学会大会、2010 年 5 月 21-23 日、アスティとくしま（徳島市）

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・講師

研究者番号：10512121

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：