

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：12611

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700901

研究課題名(和文) TG-rich リポ蛋白による血管炎症反応機構とポリフェノールによる改善作用の検討

研究課題名(英文) Preventive effects of polyphenols on TG-rich lipoprotein-induced vascular inflammation

研究代表者

岸本 良美 (KISHIMOTO, Yoshimi)

お茶の水女子大学・お茶大アカデミック・プロダクション・寄附研究部門准教授

研究者番号：70600477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000 円、(間接経費) 990,000 円

研究成果の概要(和文)：近年、脂質の摂取量の増加に伴い、食後の血管炎症が問題視されており、動脈硬化予防の大きなターゲットとなっている。そこで本研究では、脂質摂取後に血中に増加するTG-rich リポ蛋白を炎症惹起因子の一つであると考え、TG-rich リポ蛋白による血管炎症反応機構と、ポリフェノールによる改善作用を明らかにすることを目的に検討を進めた。その結果、ブドウ若芽から抽出したポリフェノールは、TG-rich リポ蛋白刺激により惹起された血管内皮細胞ならびに単球系細胞における炎症反応を抑制した。さらに、健常成人男性を対象にした脂肪負荷試験においても、血管炎症に対する抑制効果が認められた。

研究成果の概要(英文)：Vascular inflammation is well known to be an crucial step in atherosclerosis and also occurs following a fatty meal. The aims of this study was to investigate whether pro-inflammatory aspects of TG-rich lipoprotein could be modulated by polyphenol supplementation. Grape vine polyphenol inhibited the TG-rich lipoprotein-induced inflammation in the human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and THP-1 monocytic cells. Moreover, the supplementation of grape vine polyphenol suppressed the serum lipid increases and inflammatory responses after fatty meal in healthy subjects.

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：ポリフェノール 血管炎症 動脈硬化

1. 研究開始当初の背景

ポリフェノールは茶類やコーヒー、野菜、果実等に含まれ、色や苦味、渋味を供する成分で、強い抗酸化能を有する。これまでに大規模疫学調査において、ポリフェノールの摂取量と冠動脈疾患の死亡率との間に負の相関があることが報告され、動脈硬化予防に寄与する可能性が示唆されている。

近年、食後の血清中性脂肪 (TG) 濃度の増加が、動脈硬化の重大な危険因子であるとの認識が高まってきた。脂肪摂取後、血中にはカイロミクロンや VLDL 等いわゆる TG-rich リポ蛋白が増加するが、脂質代謝異常があると TG-rich リポ蛋白や、中間代謝産物であるレムナントが停滞し、食後高脂血症を呈する。

さらに、近年、食後高脂血症と血管炎症の関連が注目されつつある。急激な血清脂質の上昇によって、酸化ストレスが亢進すること、炎症マーカーの一つである C 反応蛋白 (CRP) の増加や血管内皮機能障害が起こることや、単球の活性化が起こることが報告され、食後における血管炎症が、動脈硬化進展に影響を及ぼす可能性が指摘されている。

2. 研究の目的

本研究では食後における炎症惹起因子の一つとして考えられる TG-rich リポ蛋白による血管炎症反応機構と、ポリフェノールによる改善作用を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

1) TG-rich リポ蛋白の分取

被験者に高脂質食 (パン、マヨネーズ 30 g) を摂取させ、摂取 2 時間後に採血し、超遠心 (100,000 rpm, 5 時間) により、TG-rich リポ蛋白 (比重 < 1.006) を分取する。分取後、TG、コレステロール、蛋白濃度を測定する。また、エンドトキシンが混入していないことをリムルス法にて確認し、実験に用いる。

2) TG-rich リポ蛋白による血管内皮機能障害に対するポリフェノールの影響

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) に TG-rich リポ蛋白 (75 µg/ml) を刺激し、以下の項目によりポリフェノールの血管内皮機能改善作用を検討する。

活性酸素種 (ROS) 産生
炎症性サイトカイン (TNF-α、IL-1β、MCP-1 等) 発現

接着分子発現ならびに単球接着
一酸化窒素 (NO) 産生
Toll-like receptor (TLR) 2/4 発現

3) TG-rich リポ蛋白による単球活性化に対するポリフェノールの影響

ヒト単球系細胞株 (THP-1 細胞) またはヒト末梢血より単離した単核球 (PBMC) に TG-rich リポ蛋白 (75 µg/ml) を刺激し、以下の項目によりポリフェノールの白血球

活性化の抑制作用を検討する。

活性酸素種 (ROS) 産生
炎症性サイトカイン (TNF-α、IL-1β、IL-6 等) 発現
インテグリン発現ならびに血管内皮細胞への接着
Matrix Metalloproteinase (MMP) 活性
Toll-like receptor (TLR) 2/4 発現

4) ポリフェノールによる血管炎症反応抑制作用メカニズムの解明

PKC 経路、MAPK 経路、NF-κB 活性について検討を行う。

5) ヒトを対象とした脂質摂取試験におけるポリフェノールの血管炎症抑制作用の検討

TG-rich リポ蛋白による血管炎症に対する抑制作用が認められたポリフェノールについて、ヒトを対象とした臨床試験を実施する。

4. 研究成果

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) に TG-rich リポ蛋白 (75 µg/ml) を刺激し、ポリフェノールの血管内皮機能障害改善作用のメカニズムを検討した。その結果、ブドウ若芽から抽出したポリフェノールは、TG-rich リポ蛋白刺激による活性酸素種 (ROS) 産生、炎症性サイトカインの発現、単球の血管内皮細胞への接着の抑制が認められた。さらに、炎症惹起経路と考えられる Toll-like receptor 発現ならびに NF-κB の活性化を抑制することが示された。

ヒト単球系細胞株 (THP-1) に TG-rich リポ蛋白 (75 µg/ml) を刺激し、ポリフェノールの単球活性化に対する影響を検討した。その結果、ブドウ若芽から抽出したポリフェノールは、TG-rich リポ蛋白刺激により亢進した NADPH oxidase の活性化ならびに血管内皮細胞への接着に関わるインテグリン-1 の発現抑制が認められた。

健康成人男性を対象に、脂肪負荷試験を行ったところ、血清脂質 (TG、VLDL-TG、遊離脂肪酸) 濃度の上昇とともに、一時的な血管内皮機能の低下、白血球数の増加、高感度 CRP 値の上昇、血清マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) 分泌量の増加といった血管炎症が認められた。ブドウ若芽から抽出したポリフェノールは、血清 TG や遊離脂肪酸の上昇を抑制し、さらにこれらの血管炎症に対して予防的に働いた。TG-rich リポ蛋白の炎症惹起因子の一つと考えられているアポリポ蛋白 C3 濃度についても測定したが、ポリフェノールの有無による有意な差は見られなかった。

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 10 件)

1. Jia H, Aw W, Egashira K, Takahashi S, Aoyama S, Saito K, Kishimoto Y, Kato H: Coffee intake mitigated inflammation and obesity-induced insulin resistance in skeletal muscle of high-fat diet-induced obese mice: *Genes Nutr.* 9: 389, 2014 (査読有) doi: 10.1007/s12263-014-0389-3
 2. Uto-Kondo H, Ayaori M, Kishimoto Y, Adachi T, Takiguchi S, Yakushiji E, Sasaki M, Komatsu T, Kondo K, Ikewaki K: Consumption of polyphenol-rich juar tea increases endothelium-bound extracellular superoxide dismutase levels in men with metabolic syndrome: link with LDL oxidizability: *Int. J. Food Sci. Nutr.* 64: 407-414, 2013 (査読有) doi: 10.3109/09637486.2012.759185
 3. Kishimoto Y, Tani M, Kondo K: Pleiotropic preventive effects of dietary polyphenols in cardiovascular diseases: *Eur. J. Clin. Nutr.* 67: 532-535, 2013 (査読無) doi:10.1038/ejcn.2013.29
 4. 潮田かおり、才田恵美、杉原規恵、豊崎美紅、貴堂としみ、谷真理子、岸本良美、近藤和雄: 柑橘類フラボノイドは HepG2 細胞における脂質蓄積を減少させる: 機能性食品と薬理栄養: 7: 421-428: 2013 (査読有)
 5. 中水優見、岸本良美、才田恵美、杉原規恵、豊崎美紅、貴堂としみ、谷真理子、近藤和雄: ピーマンの LDL に対する抗酸化作用の検討: 機能性食品と薬理栄養: 7: 403-409: 2013 (査読有)
 6. Iizuka M, Ayaori M, Uto-Kondo H, Yakushiji E, Takiguchi S, Nakaya K, Hisada T, Sasaki M, Komatsu T, Yogo M, Kishimoto Y, Kondo K, Ikewaki K: Astaxanthin Enhances ATP-Binding Cassette Transporter A1/G1 Expressions and Cholesterol Efflux from Macrophages: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 58: 96-104, 2012 (査読有) <http://dx.doi.org/10.3177/jnsv.58.96>
 7. Saita E, Kishimoto Y, Tani M, Iizuka M, Toyozaki M, Sugihara N, Kondo K: Antioxidant activities of *Perilla frutescens* against low-density lipoprotein oxidation in vitro and in human subjects: *J. Oleo Sci.* 61: 113-20, 2012 (査読有) <http://dx.doi.org/10.5650/jos.61.113>
 8. Nagai M, Tani M, Kishimoto Y, Iizuka M, Saita E, Toyozaki M, Kamiya T, Ikeguchi M, Kondo K: Sweet Potato (*Ipomoea batatas L.*) Leaves Suppressed Oxidation of Low Density Lipoprotein (LDL) in Vitro and in Human Subjects. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 48: 203-208, 2011 (査読有) doi: 10.3164/jcfn.10-84
 9. 杉原規恵、岸本良美、才田恵美、飯塚麻貴、豊崎美紅、神山真澄、谷真理子、近藤和雄: レッドビートの抗酸化作用に関する検討: 機能性食品と薬理栄養: 6: 249-254: 2011 (査読有)
 10. 岸本良美、谷真理子、近藤和雄: ポリフェノールによる動脈硬化予防作用: 日本未病システム学会誌: 17: 95-99: 2011 (査読無)
- 〔学会発表〕(計 13 件)
1. 岸本良美: メタボリックシンドローム予防における抗酸化食品成分の可能性: 第 11 回日本機能性食品医用学会総会: 東京: 2013 年 12 月 7-8 日
 2. 岸本良美、中水優見、才田恵美、杉原規恵、谷真理子、近藤和雄: 飽和脂肪酸刺激による血管内皮炎症に対するブドウ若芽ポリフェノールの影響: 第 35 回日本臨床栄養学会総会第 34 回日本臨床栄養協会総会第 11 回大連合大会: 京都: 2013 年 10 月 4-6 日
 3. Kishimoto Y, Tani M, Saita E, Sugihara N, Toyozaki M, Taguchi C, Kitadate K, Wakame K, Kondo K: Effects of lychee fruits polyphenol on endothelial function after glucose tolerance in healthy subjects: 20th International Congress of Nutrition: Granada, Spain: September 15-20, 2013
 4. 岸本良美: 血管炎症をターゲットに抗酸化食品成分の可能性を探る: 第 45 回日本動脈硬化学会総会・学術集会: 東京: 2013 年 7 月 18-19 日
 5. Kishimoto Y, Tani M, Nakamizu Y, Saita E, Toyozaki M, Sugihara N, Hirai T, Taguchi C, Kondo K: Grape vine polyphenol improves dietary fat-induced endothelial dysfunction in vitro and in healthy subjects: 8th Asia Pacific Conference on Clinical Nutrition: Maihama, Japan: June 9-12, 2013
 6. 岸本良美: 動脈硬化予防における抗酸化食品成分の可能性: 第 67 回日本栄養・食糧学会大会: 名古屋: 2013 年 5 月 24-26 日
 7. Kishimoto Y, Tani M, Saita E, Sugihara N, Toyozaki M, Kitadate K, Wakame K, Kondo K: Acute effect of Oligonol on endothelial function after glucose tolerance: 20th International Congress on Nutrition and Integrative Medicine: Sapporo: July 21-22, 2012
 8. 岸本良美、谷真理子、才田恵美、杉原規恵、豊崎美紅、北館健太郎、若命浩二、

- 近藤和雄：Lychee fruits polyphenol improved endothelial dysfunction induced by glucose tolerance in healthy subjects：第44回日本動脈硬化学会：福岡：2012年7月19-20日
9. 岸本良美、谷真理子、才田恵美、杉原規恵、豊崎美紅、北館健太郎、若命浩二、近藤和雄：ブドウ糖負荷後の血管内皮機能に対する低分子化ライチポリフェノールの影響：第66回日本栄養・食糧学会大会：仙台：2012年5月18-20日
 10. Kishimoto Y, Tani M, Hirata Y, Saita E, Iizuka M, Toyozaki M, Kitadate K, Wakame K: Oligomerized Lychee Fruits Polyphenol Prevents LDL Oxidation and Endothelial Dysfunction in Vitro and in Healthy Subjects: XVI INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS: Sydney, Australia: March 25-29, 2012
 11. 岸本良美、谷真理子、近藤和雄：血管炎症抑制の観点からみたレスベラトロールの抗動脈硬化作用：第9回日本機能性食品医用学会総会：大阪：2011年12月10-11日
 12. Kishimoto Y, Tani M, Saita E, Iizuka M, Toyozaki M, Sugihara N, Shiga K, Tanaka Y, Masunaga E, Kitadate K, Wakame K, Kondo K: Intake of Oligonol Improved LDL Oxidizability and Endothelial Function in Healthy Subjects: 19th International Congress on Nutrition and Integrative Medicine: Sapporo: October 15, 2011
 13. 岸本良美、谷真理子、才田恵美、豊崎美紅、杉原規恵、志賀楓子、田仲結子、升永えりか、北館健太郎、若命浩二、近藤和雄：LDL被酸化能ならびに血管内皮機能に対するライチ由来ポリフェノール摂取の影響：第65回日本栄養・食糧学会大会：東京：2011年5月13-15日

6. 研究組織

(1)研究代表者

岸本 良美 (KISHIMOTO, Yoshimi)
お茶の水女子大学・お茶大アカデミック・
プロダクション・寄附研究部門准教授
研究者番号：70600477

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし()