

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：37404

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24501021

研究課題名(和文)メタボリック症候群のリスク低減に有効な食品成分の探索

研究課題名(英文)Studies on the active ingredients in functional foods for risk reduction of the metabolic syndrome

研究代表者

徳富 芳子(TOKUTOMI, YOSHIKO)

尚絅大学・生活科学部・教授

研究者番号：90253723

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において、初代培養血管平滑筋細胞増殖に対する各種ポリフェノールの影響を調べた結果、高濃度グルコース存在下での細胞増殖に対し、大豆イソフラボンによる抑制作用が示された。また、普通食または高脂肪食投与マウスを用いて、大動脈の等尺性張力及び血管内皮機能に対する各種ポリフェノールの影響を比較した。その結果、肥満を呈する高脂肪食群に対し、血管内皮依存性、或いはカリウムチャネル依存性の弛緩に加え、アセチルコリン弛緩反応の増強(内皮非依存性)を示すポリフェノールが見出され、これらのポリフェノール摂取が高脂肪食群での血圧調節に効果的である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：To demonstrate the role of polyphenols in reducing cardiovascular disease risk through an improvement in vascular function, we examined the direct effects of polyphenols on the proliferation of smooth muscle cells and the contractile response of aortas from a mouse model of the metabolic syndrome. High glucose-induced proliferation of the primary cultured aortic smooth muscle cells of mice was significantly inhibited by genistein and daidzein. In aortas from high fat diet (HFD)-induced obese mice, cyanidin or naringenin evoked relaxation via not only endothelial nitric oxide (NO) but also potassium channel activation. Further, naringenin enhanced acetylcholine-induced relaxation even after inhibition of NO synthase. These results suggest that the polyphenols might be effective in regulating vascular tone in HFD mice through endothelial nitric oxide synthase activation and direct actions on the smooth muscle cells.

研究分野：生活科学

キーワード：機能性食品成分 メタボリック症候群 ポリフェノール フラボノイド

1. 研究開始当初の背景

フラボノイド類をはじめとする各種ポリフェノールは、野菜や果物などに多く含まれ、抗酸化、抗腫瘍、抗アレルギー、抗炎症、抗ウイルス作用等の生理活性を持つことが知られている。さらに、ポリフェノールの摂取が様々な生活習慣病のリスク低減につながるという結果も報告されているが、生体内における個々の詳細なメカニズムについて未だ明らかではない。我々はこれまで、2型糖尿病モデルマウス、食塩感受性高血圧ラット、アポトーシス関連遺伝子欠損マウス及び一酸化窒素 (NO) 合成酵素遺伝子欠損マウスなどの病態モデル動物を用い、高脂肪食或いは高食塩摂取と酸化ストレスとの関連について研究を行ってきた。また、ヒト冠動脈平滑筋培養細胞を用いたプロテオーム解析により、チオレドキシンと酸化ストレスとの関連性、レドックス(酸化還元)バランス調節に関わる細胞内二次伝達物質 8-ニトロ cGMP の2型糖尿病モデルマウスの病態における役割について明らかにしてきた。

そこで本研究では、各種ポリフェノールの抗酸化作用に着目し、メタボリック症候群モデル動物および培養細胞を用いて、活性酸素産生、或いは消去系に対するポリフェノールの調節メカニズムを調べ、メタボリック症候群のリスク低減にどのポリフェノールが有効かを明らかにし、新たな予防戦略に応用することを目的とする。

活性酸素による酸化ストレスは、様々な疾患の発症・進展に関与していることが知られており、メタボリック症候群においても、インスリン抵抗性やアディポサイトカイン産生異常などを惹起し、慢性炎症と酸化ストレスとの悪循環を招いてしまうことが注目されている。近年、メタボリック症候群の治療薬として次々に新薬も開発されている。しかし予防医学の点で、日々の「食」によるリスク低減がより理想的であることから、食品成

分の有効性を解明し、より特異的、効果的な予防法を確立させることは、医療分野をはじめ社会的に極めて大きな貢献となる。特に、メタボリック症候群モデル動物を用い、血管組織や、脂肪細胞、マクロファージ、インスリン分泌細胞、肝細胞などでの酸化ストレスに与える食品成分の影響を調べるために、分子生理学的、免疫組織化学的、生化学的技法を駆使した検討は極めて有効であることから、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、メタボリック症候群モデル動物及び培養細胞を用いて、機能性食品の成分、特にフラボノイド類をはじめとする各種ポリフェノール(大豆イソフラボン、ケルセチン、アントシアニン、フラバノンなど)による血管機能調節のメカニズムについて検討し、さらにメタボリック症候群のリスク低減に対して有効な食品成分を探索し、より効果的なメタボリック症候群発症予防のためその成分を応用することを目指す。

3. 研究の方法

[培養血管平滑筋細胞の形態・増殖に及ぼす影響]

マウス大動脈を用い、高濃度グルコース含有 D-MEM (10%FBS 加) 培地にて各種フラボノイド存在下、組織片培養を行い、遊走・増殖する細胞の数、細胞肥大、アポトーシスに対するフラボノイドの効果を比較検討した。

[血管収縮・弛緩に対する効果の解析]

普通食あるいは高脂肪食投与マウスから大動脈を摘出し、マグヌス法を用いて、血管標本の等尺性張力に対する各種ポリフェノール(大豆イソフラボン、ケルセチン、アントシアニン、アピゲニン、エクオール、レスベラトロール、ルテオリン、ヘスペレチン、ケンフェロール、シアニジン、ナリンゲニン、ベルガモチン、ミリセチン、デルフィニジン)

の効果を比較し、血管内皮機能との関連について検討した。

4. 研究成果

(1) マウス大動脈由来 培養平滑筋細胞を用いて、高濃度グルコース存在下の細胞増殖に対するポリフェノール類及び L-シトルリンの影響について検討した。高濃度グルコース存在下における平滑筋細胞増殖の活性化に対し、ダイゼインおよびゲニステインは有意な抑制効果を示した。同条件に対し、L-シトルリンによる影響は認められなかった。従って、ダイゼインおよびゲニステインによるこのような細胞増殖抑制効果が、慢性的な高血糖での血管壁肥厚の予防に寄与する可能性が示唆された。

(2) マウス胸部大動脈の等尺性張力に対する影響を調べた結果、ダイゼイン、ゲニステイン、ケルセチン、ルテオリン、ヘスペレチン、レスベラトロール、エクオール、アピゲニン、ケンフェロール、シアニジン、ナリングニン、ベルガモチン、ミリセチンは、フェニレフリン収縮に対し、それぞれ濃度依存性及びNO依存性、あるいは血管内皮依存性の弛緩効果を有することが認められた。

さらに、これらの食品成分存在下で、アセチルコリンの弛緩反応が、NO合成酵素阻害剤を前処置したにもかかわらず観察された。K⁺チャンネル阻害剤（アパミン）の影響を調べた結果、ケルセチン、レスベラトロール、エクオール、およびアピゲニンによる弛緩作用には、血管内皮由来のNO産生だけでなく、平滑筋細胞のK⁺チャンネル活性化も関与していることが示唆された。ポリフェノールのイオンチャンネルに対する効果を調べた電気生理学的検討で、神経興奮抑制作用が報告されていることから、さらに詳細なメカニズムを検討する必要がある。

高脂肪食投与マウスの胸部大動脈を用いて、各種ポリフェノールの血管内皮および血

管平滑筋細胞に及ぼす効果について検討した。雄性 C57BL/6 マウスに 15 週間、高脂肪食を投与した結果、普通食マウスに比べ、体重、精巣上体脂肪量、腎周囲脂肪量、血糖値、血清インスリン濃度、血清コレステロール濃度の有意な上昇が確認された。ケンフェロール、シアニジン、ナリングニン、ベルガモチン、ミリセチン等、各種ポリフェノールは、胸部大動脈の等尺性張力において、NO 依存性の弛緩反応を示した。高脂肪食マウス由来大動脈において、シアニジンおよびナリングニンによる弛緩が普通食マウス由来大動脈の弛緩反応より大きい傾向がみられ、さらに、NO 非依存性の弛緩反応も観察された。加えて、シアニジン、或いはナリングニン存在下でのアセチルコリンによる弛緩効果の増強も観察された。血管内皮細胞での NO 合成系活性化作用以外の効果を示すポリフェノールが見出され、高脂肪食摂取との関連も示唆されたことより、さらに詳しくその機序について明らかにすることが、メタボリック症候群の発症・進展の予防法確立につながると期待される。

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2件)

- (1) Effects of flavonoids on proliferation of vascular smooth muscle cells and the contractile response. Tokutomi Y, Koga Y, Sakata A, Tokutomi N. *Journal of Pharmacological Sciences* 121(Suppl): 238P, 2013. 査読無
- (2) Effects of polyphenols on vascular response in mice fed on a high fat diet. Toubou H, Tokutomi Y, Sakata A, Tokutomi N. *Journal of Pharmacological Sciences* (Suppl) (in press), 2015. 査読無

〔学会発表〕(計2件)

- (1) 血管平滑筋細胞増殖および収縮応答に対するフラボノイド類の影響、徳富芳子 *et al.*、第86回日本薬理学会年会、平成25年3月21-23日、福岡国際会議場(福岡市)
- (2) 高脂肪食負荷マウスの血管応答に対するポリフェノールの影響、當房浩一、徳富芳子 *et al.*、第88回日本薬理学会年会、平成27年3月18-20日、名古屋国際会議場(名古屋市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

徳富 芳子 (TOKUTOMI YOSHIKO)

尚絅大学・生活科学部・教授

研究者番号：90253723

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし