

令和元年6月4日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04925

研究課題名(和文)食品中のステロイド化合物とその体内干渉の全体像の把握

研究課題名(英文) Understanding the overall picture of steroid compounds in food and their internal interference

研究代表者

佐藤 匡央 (Sato, Masao)

九州大学・農学研究院・教授

研究者番号：90294909

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では以下の4項目について検討した。

ステロイド摂取量：酸化コレステロール摂取量はコレステロール摂取の約1%、植物ステロールの摂取量は報告されている量と同等であった。病態ヒト血清ステロイド量の測定：動脈硬化患者において、血清濃度の低い酸化コレステロールが発見された。病態モデル動物への投与：で発見された酸化コレステロールを動脈硬化モデル動物に投与したところ。動脈硬化症の進展の抑制が見られた。病態モデル動物の解析：高コレステロール血症動物では、ステロール変化はコレステロール濃度に比例して確率的に、前述したステロール濃度が上昇することが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、動脈硬化症の進展を緩和する酸化コレステロールが、疫学研究より発見され、それをモデル動物により検討し、その効果が確かめられた。従来より、内分泌攪乱物質の概念が上梓された時代に、ステロイドそのものである、植物ステロールは機能性食品成分としての活用が進み、酸化コレステロールは毒物としての研究が進んだ。しかし、申請者は植物と名前につくと効能があり、酸化とつくると毒物であるステレオタイプの研究の方向性に疑問を感じていたが、この発見により、人類の福祉に貢献する酸化コレステロールの存在を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The following four items were examined in this research.

(1) Steroid intake: Oxidized cholesterol intake was about 1% of cholesterol intake, and phytosterol intake was equivalent to the reported amount. (2) Measurement of pathological human serum steroid level: In patients with arteriosclerosis, oxidized cholesterol with low serum concentration was found. (3) Administration to a pathological model animal: The oxidized cholesterol found in 2 was administered to an arteriosclerosis model animal. The suppression of the progression of arteriosclerosis was seen. (4) Analysis of pathological model animals: In hypercholesterolemic animals, sterol change was found to increase the sterol concentration as described above in a stochastic manner in proportion to cholesterol concentration.

研究分野：栄養化学

キーワード：コレステロール 植物ステロール 酸化コレステロール 動脈硬化症 モデル動物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景

食品に含まれるステロイド化合物はその種類は分析技術の進歩とともに増加している。しかし、 $\mu\text{g/day}$ オーダーの分析は進んでも、それがどのように生体に影響するか不明である。たとえば、畜産物からの性ホルモンの摂取は ng/day レベルであるが、問題であるのかないのかは不明である。さらに上のレベルである、 2 mg/day 摂取である酸化コレステロールは、現在、生体への影響は意見が揺れており{動脈硬化症に対しては悪化させる報告⁽¹⁾、一方で変わらない報告(業績 44)の両方がある}。100 mg/day オーダー摂取の植物ステロールは、生体内に発見されているにもかかわらず、ヒト血清の疫学・介入試験データはかなり少ない⁽²⁾。一時期、ステロイドの核内レセプターの発見により、内分泌攪乱物質という概念が提示された。食品中ではビスフェノール A で代表される合成化学物質とイソフラボンを代表とする植物エストロゲンとしてまとめられ、研究されている。それぞれ、動物実験および培養細胞では過剰投与、非経口経路により、毒性および薬効の潜在性が示されている。前者は、摂取量が少なく、検出される量の幅が狭いので統計学的に有意に現状の量での検証結果ははっきりしていない。後者は積極的に毒物の範疇には括られておらず、むしろ機能性成分である。このように、現在、疫学的調査により、内分泌攪乱物質の影響による問題、とくに生殖障害があるという明確な根拠は見いだせないままである。これらの摂取量は ng/day のオーダーである。この内分泌攪乱物質の概念が上梓された時代に、ステロイドそのものである、植物ステロールは機能性食品成分としての活用 (Sugano M., et al. Lipid-lowering activity of phytosterols in rats, *Atherosclerosis*, 24, 301-309, 1976) が進み、酸化コレステロールは毒物としての研究が進んだ。しかし、申請者は植物と名前につくと効能があり、酸化とつくと毒物であるステレオタイプの研究の方向性に疑問を感じている。したがって、由来の問題ではなく、構造に帰着した化学的な議論が必要である。現在では、内分泌攪乱物質研究の成果は化学物質の構造と量を物質それぞれに調べるという方向性に進み、それぞれの物質について個別に危険性を評価している。またステロイド化合物が結合する核内レセプターは、数種発見されている。エストロゲンレセプターに代表されるホルモンレセプターにおけるターおよび酸化コレステロールがリガンドである Liver X Receptor が発見され、個別に研究されている。すべてのレセプターは栄養素の代謝に関連しており、そのバランスを崩すと疾病へと繋がる。しかし、個別的であり、食事ステロイドとの関係および実験動物および疫学データも存在しない。

以上により、これらの食事中的ステロイド化合物に関する情報の欠落部分の補填、整理、さらに再構築することが必要である。

参考文献

1. Staprans I, et al. The role of dietary oxidized cholesterol and oxidized fatty acids in the development of atherosclerosis, *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 1075-1082, 2005
2. Fassbender K., et al. Moderately elevated plant sterol levels are associated with reduced cardiovascular risk--the LASA study, *Atherosclerosis*, 196, 283-288, 2008

2. 研究の目的

本研究では、食品中のステロール化合物の摂取量を測定し、摂取の現状を把握する。ヒト血清を用いて、ステロイド化合物を測定する。対象となったステロイド化合物を実験動物に投与して、各臓器(血清、胸管および肝臓リンパ液を含む)における濃度を測定する。病態{主に非感染性疾患(生活習慣病、メタボリックシンドローム等)}への関与については、ヒト集団での解析に基づいて疾病対応型モデル動物を用いて、数理的手法(主成分分析および重回帰分析)により、疾病に対する分子種の同定と寄与度を明らかにする。また、さらに新規な代謝物(ステロイドとは限らない)の発見をするために、モデル動物では脂質分子のメタボローム解析を行う。発症推測は、それぞれの異化経路および核内レセプターの結合情報に基づいて行う。

3. 研究の方法

ステロイド摂取量

社会人の寮および食堂で提供される食事を朝昼夕 30 日、120 食(昼は二つの食事から選択)分の酸化コレステロール、ビタミン D および植物ステロール量を分析した。

病態ヒト血清のステロイド量の測定

動脈硬化症患者の血清ステロイド量を測定した。

病態モデル動物への投与

動脈硬化モデル動物へ先で発見したステロイドを投与してその影響を見た。

病態モデル動物の解析

高コレステロール血症モデル動物のステロイド変化を観察した。本モデルは脂肪肝を発症しないモデルである。

4. 研究成果

ステロイド摂取量

酸化コレステロール摂取量はコレステロール摂取の約 1% で、諸外国の報告より少なめである。また、植物ステロールの摂取量は報告されている量と同等であった。今回、新たに GC/MS 法により、ビタミン D の定量を試みた。摂取量は国民健康調査と同程度であった。

病態ヒト血清のステロイド量の測定

動脈硬化患者において、血清濃度の低い酸化コレステロールが発見された。図 1 の 10^{-5} mol/L 程度の測定が限界だった。

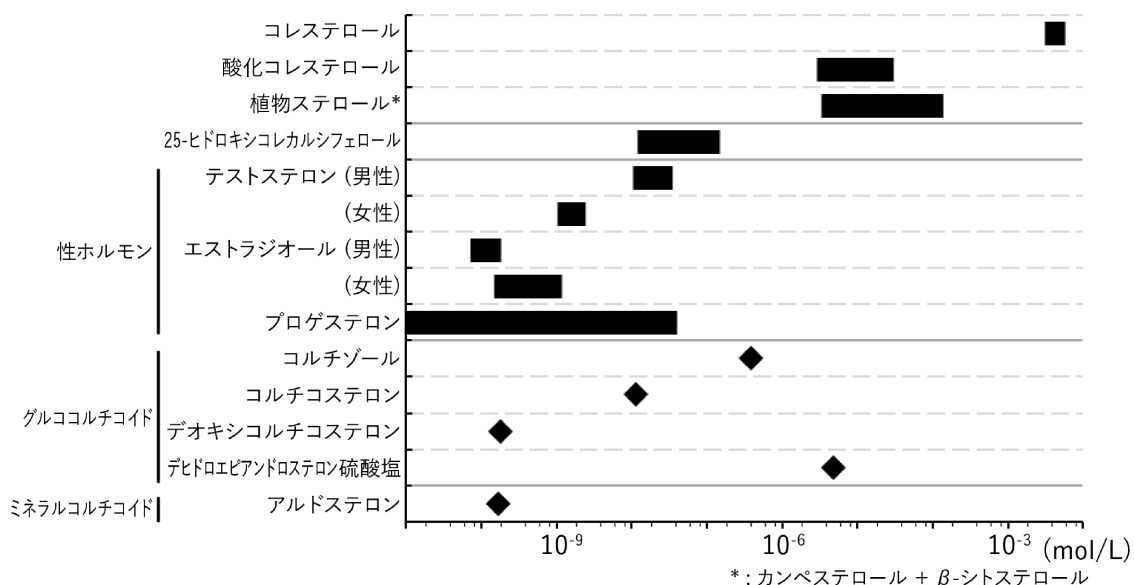


図1 血清中ステロイド濃度

病態モデル動物への投与

で発見された酸化コレステロールを動脈硬化モデル動物に投与したところ。動脈硬化症の進展の抑制が見られた。そのさいに血清の高密度リポ蛋白質 (HDL) の濃度も上昇していた。

病態モデル動物の解析

高コレステロール血症状態のモデル動物では、ステロイド変化は全体にコレステロール濃度が高いことに起因しており、コレステロール濃度に比例して確率的に、前述したステロイド濃度が上昇することが分かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

城內文吾, 古川裕美子, 中村 有理, 河内明日香, 今泉勝己, 屋宏典, 佐藤匡央, Inhibition of Niemann-Pick C1-Like 1 by Ezetimibe Reduces Dietary 5,6-Epoxycholesterol Absorption in Rats, Cardiovasc. Drugs Ther., 33(1),35-44, (2019) 査読有り

城內文吾, 加嶋健太郎, 堀内康孝, 中村勇貴, 藤本由美子, Tong LT, 佐藤匡央, 27-Hydroxycholesterol suppresses lipid accumulation by down-regulating lipogenic and adipogenic gene expression in 3T3-L1 cells, Cytotechnology, 69(3), 485-492, (2017) 査読有り

〔学会発表〕(計6件)

佐藤匡央, 「病態(脂肪肝と動脈硬化症)発症原因としての酸化コレステロール」第73回日本栄養・食糧学会大会 シンポジウム, (2019)

武元亜梨沙, 溝上拓哉, 城內文吾, 佐藤匡央, 「植物性食品中ステロイドの分析」第55回化学関連支部合同九州大会, (2018)

中村優海, 中尾晶子, 高濱瞭子, 岩本昌子, 城內文吾, 佐藤匡央, 「GC/MSを用いたカルシフェロール定量法の確立および日本人のカルシフェロール摂取量の調査」平成30年度日本食品科学工学会 西日本支部大会, (2018)

溝上拓哉, 林拓也, 田中愛健, 城內文吾, 石塚敏, 名倉泰三, 福島道広, 佐藤匡央, 「ベタイン摂取がラットの脂質代謝に及ぼす影響」日本農芸化学会2017年度大会, (2018)

中村優海, 林拓也, 与那原郁美, 城內文吾, 佐藤匡央, 「GC/MSを用いたカルシフェロールの新規定量法」第54回化学関連支部合同九州大会, (2017)

溝上拓哉, 城內文吾, 石塚敏, 名倉泰三, 福島道広, 佐藤匡央, 「Effects of dietary trimethylglycine on cholesterol metabolism」AFELiSA (International Symposium on Agriculture, Food, Environmental and Life Science in Asia), (2017)

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：城内文吾

ローマ字氏名：(SHIROUCHI, Bungo)

所属研究機関名：九州大学

部局名：農学研究院

職名：助教

研究者番号（8桁）：(00548018)

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：岩本昌子

ローマ字氏名：(IWAMOTO, Masako)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。