

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08422

研究課題名(和文)「脳・こころ」ストレスと動脈硬化疾患：脂質代謝物解析が解き明かすそのメカニズム

研究課題名(英文) "Brain-Mind" Stress and Atherosclerotic Disease: Mechanisms Unveiled through Lipid Metabolite Analysis

研究代表者

篠原 正和 (Shinohara, Masakazu)

神戸大学・医学研究科・准教授

研究者番号：80437483

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ストレスが心血管イベント発症に関連するという疫学研究や、震災など大災害の後に心血管イベント発症が増加するという報告等、「脳・こころ」へのストレスが循環器疾患のリスクとなることが明らかとなりつつある。「脳・こころ」へのストレスがなぜ動脈硬化性疾患を引き起こすのか、本研究課題の核心をなす学術的な「問い」である。本研究では、ストレスと動脈硬化性疾患発症を結びつける、血中の新しい生理活性脂質代謝物を見だし、本代謝物が血管内皮細胞において抗炎症作用を発揮することで、血管保護に関わっていることを見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通して、特定の多価不飽和脂肪酸代謝物がストレスにより血中にて低下し、血管内皮細胞における多彩な抗炎症作用が失われることで、動脈硬化疾患等、炎症性疾患の発症に結びつくことが示唆された。さまざまな疾患が「脳・こころ」への慢性ストレスの結果生じることが明らかになりつつあり、ストレスと疾患との関連性に注目が集まっている現代社会において、これらストレス関連疾患の予防・治療介入として、本代謝物に着目した研究開発を進めることは、学術的・社会的意義が高いと考える。

研究成果の概要(英文)：Epidemiological studies have revealed the association between stress and the occurrence of cardiovascular events, as well as reports indicating an increase in cardiovascular events following major disasters such as earthquakes. It is becoming clear that stress on the "brain-mind" axis is a risk factor for cardiovascular diseases. The key academic question of this research project is why stress on the "brain-mind" axis leads to atherosclerotic diseases. In this study, we identified novel bioactive lipid metabolites in the bloodstream that link stress to the development of atherosclerotic diseases. We found that these metabolites exert anti-inflammatory effects in vascular endothelial cells, contributing to vascular protection.

研究分野：分子疫学

キーワード：脂質代謝物解析 ストレス 質量分析

1. 研究開始当初の背景

近年「脳・こころ」へのストレスが循環器疾患のリスクとなることが明らかとなりつつある。本研究では「脳・こころ」へのストレスがなぜ動脈硬化性疾患を引き起こすのか、解き明かすことを学術的「問い」とした。動脈硬化性疾患が問題となる冠動脈・脳動脈にはそもそも自律神経系の分布は少ないことから、何らかの液性因子の関与があるのではないかと考え、新たな生理活性物質として脂質代謝物に注目した。本研究では「脳・こころ」へのストレス環境下において変動する血中脂質代謝物を探索し、その代謝物が動脈硬化疾患発症に関わる細胞群にどのような生理活性を持つか検討することを目的とした。また「脳・こころ」へのストレスによってなぜ血中脂質代謝物の変動が生じるかについても検討する計画である。これまでの予備検討の結果、多価不飽和脂肪酸由来の代謝物 Y が抑うつ状態で低下する傾向を示し、さらに本代謝物は抗炎症作用を持つこと、ノルエピネフリン刺激によって血中の本代謝物濃度は低下することが見いだされており、本研究によって「脳・こころ」ストレスの動脈硬化性疾患発症への関与を解き明かす計画である。

精神的ストレスが心血管イベント発症に関連するという疫学研究【The INTERHEART study: Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries. Yusuf S et al. Lancet. 2004 Sep 11-17;364(9438):937-52.】や、震災など大災害の後に心血管イベント発症が増加するという報告【Comparison of cardiovascular mortality in the Great East Japan and the Great Hanshin-Awaji Earthquakes - a large-scale data analysis of death certificates. Takegami M et al. Circ J. 2015;79(5):1000-8】等、「脳・こころ」へのストレスが循環器疾患のリスクとなることが明らかとなりつつある。「脳・こころ」へのストレスがなぜ動脈硬化性疾患を引き起こすのか、本研究課題の核心をなす学術的な「問い」である。精神的ストレスと動脈硬化性疾患発症を結びつける、何らかの新しい生理活性物質が関与しているのではないかと考え、本研究を立案した。

2. 研究の目的

交感神経系が直接分布している末梢細動脈では、常に一定濃度のノルアドレナリンが遊離され、平滑筋のアドレナリン α 受容体を刺激することで血圧維持に働いている。しかし動脈硬化性疾患が臨床的に問題となる冠動脈や脳動脈には、自律神経系の分布はわずかしか認めない。さらに循環血液中では、ノルアドレナリン等のモノアミン神経伝達物質濃度は極めて低い。したがって動脈硬化性疾患発症のメカニズムには何らか未知の液性因子の関与があるのではないかと考えた。そこで新たな生理活性物質として脂質代謝物に注目し、「脳・こころ」ストレス環境下において変動する血中脂質代謝物を探索し、その代謝物が動脈硬化疾患発症に関わる細胞群にどのような生理活性を持つか検討することを目的とした。また「脳・こころ」へのストレスによってなぜ血中脂質代謝物の変動が生じるかについても検討することを目的とした。

3. 研究の方法

「脳・こころ」へのストレス負荷はさまざまな評価軸が存在するが、本研究では職場におけるメンタルストレスチェックでも重要視されている抑うつ尺度を評価軸として用いた。

(1) 抑うつ状態において変動する血中脂質代謝物の探索

研究協力施設において適切なインフォームドコンセントを取得した後、自己評価式抑うつ性尺度アンケートによる健診受診者の抑うつ度調査を行い、また同一症例の血漿残余検体を保存してきた。今回、これまでに抑うつ性尺度アンケート調査と血漿残余検体保存がなされてきた検体を用いて、血中脂質代謝物の包括的解析を行い、抑うつ性尺度と相関する脂質代謝物を探索することを計画した。予備検討において包括的な脂質代謝物解析を実施すると、血中多価不飽和脂肪酸代謝物 Y 濃度が抑うつ性尺度と逆相関を示す傾向が認められる。本研究では包括的脂質代謝物解析の検体数を増やし、年齢・性別・既往歴・内服薬剤等で調整した多変量解析を実施し、血中 Y が独立した抑うつ性尺度のバイオマーカーであるか、検証を行う。また多価不飽和脂肪酸代謝物 Y の生理作用は、これまでほとんど報告がなされていないことから、次の計画を立案した。

(2) 抑うつ状態において変動する脂質代謝物の動脈硬化性疾患関連細胞群に対する生理活性の検討

次に、抑うつ状態において変動する脂質が動脈硬化性疾患発症に関連する細胞群に、どのような生理活性を有するか検討する。本研究では、好中球・単球/マクロファージ・内皮細胞の cell line を用い、Y ならびにその前駆体の持つ生理活性について検討することを計画した。具体的には、上記の培養系 cell line に、Y ならびにその前駆体を 10-1000nM の濃度にて添加し、各種炎症関連性蛋白・サイトカインの mRNA ならびに蛋白質発現の変動を検討する。また好中球・単球

/マクロファージ cell line においては貪食能・接着能の変化、内皮細胞においてはバリア機能の変化等、それぞれの細胞系の持つ機能評価も実施する。これまでの予備検討において、Y 刺激によってマウス培養系単球細胞 (Raw264.7 細胞) の抗炎症性蛋白ヘムオキシゲナーゼが増加した。本研究では、動脈硬化性疾患に関連する様々な細胞群に対する Y ならびにその前駆体の持つ生理活性を検討する。

本検討はまず cell line を用いた培養細胞系にて検証を開始するが、マウスを用いた急性炎症モデル (無菌性腹膜炎モデル等)・血管リモデリングモデル (片側頸動脈結紮モデル、カフ障害モデル等)・動脈硬化モデル (LDL 受容体欠損マウス等) においても上記代謝物の抗炎症生理活性を評価する計画である。

(3) 抑うつ状態において脂質代謝物の変動する機序の検討

抑うつ状態などの「脳・こころ」へのストレスが、どのようなメカニズムで末梢血中の脂質代謝物に影響を与えるのか、その機序の検討を進める。ストレス環境下では交感神経系の活性化が生じ、骨髄に分布する交感神経節後線維からモノアミン神経伝達物質が骨髄内に放出される。このようなストレスホルモン遊離が血中脂質代謝物に影響を与えているのではないかと仮説を立てた。予備検討において、ヘパリン採血全血に対してモノアミン神経伝達物質を添加し、産生される脂質代謝物を評価したところ、ノルエピネフリン添加によって全血中の Y 濃度低下が認められた。本結果は (1) の疫学的研究と一致した傾向を示しており、また、全血中の血球が Y を産生しており、さらに交感神経活性化の下流で遊離される神経伝達物質によって調整をうけることを示唆する。循環血液中における血球ターンオーバーは比較的早いことから、骨髄内で脂質代謝物産生能の変化した血球が循環血液中に放出されることで、結果として血中脂質代謝物の変動するのではないかと考えた。研究計画 (3) では、全血や骨髄によって産生される脂質代謝物に対するモノアミン系神経伝達物質の影響を検討する。具体的には、好中球系・単球/マクロファージ系・T リンパ球系・B リンパ球系・血小板系の各培養 cell line さらにはマウスより採取した骨髄細胞に対し、モノアミン神経伝達物質を添加して産生される脂質代謝物を包括的に解析する。またマウス in vivo モデルにおいても、ストレス負荷モデル (拘束負荷等) において、骨髄・血中の脂質代謝物の変動を評価する。

4. 研究成果

(1) 抑うつ状態において変動する血中脂質代謝物の探索

研究協力施設から適切なインフォームドコンセントを取得した後、自己評価式抑うつ性尺度アンケートによる健診受診者の抑うつ度調査を行い、また同一症例の血漿残余検体を保存してきた。今回、これまでに抑うつ性尺度アンケート調査と血漿残余検体保存がなされてきた検体を用いて、血中脂質代謝物の包括的解析を行い、抑うつ性尺度と相関する脂質代謝物を探索した。単変量解析、ならびに年齢・性別等で調整した多変量解析を実施したところ、血中脂質代謝物 Y が抑うつ性尺度と逆相関を示すことが示され、ほぼ計画通りの進捗を得ることができた。

(2) 抑うつ状態において変動する脂質代謝物の動脈硬化性疾患関連細胞群に対する生理活性の検討

好中球・単球/マクロファージ・内皮細胞の cell line を用い、脂質代謝物 Y ならびにその前駆体 X の持つ生理活性について検討を進めた。上記の培養系 cell line に、Y ならびにその前駆体 X を 10-1000nM の濃度にて添加し、各種炎症関連性蛋白・サイトカインの mRNA ならびに蛋白質発現の変動を解析した。また好中球・単球/マクロファージ cell line においては貪食能・接着能の変化、内皮細胞においてはバリア機能の変化等、それぞれの細胞系の持つ機能評価を実施した。

(3) 抑うつ状態において脂質代謝物の変動する機序の検討

抑うつ状態などの「脳・こころ」へのストレスが、どのようなメカニズムで末梢血中の脂質代謝物に影響を与えるのか、その機序の検討を進めた。ストレス環境下では交感神経系の活性化が生じ、骨髄に分布する交感神経節後線維からモノアミン神経伝達物質が骨髄内に放出される。このようなストレスホルモン遊離が血中脂質代謝物に影響を与えているのではないかと仮説を立てた。ノルエピネフリン添加によって好中球から産生される X, Y の濃度低下が認められた。循環血液中における血球ターンオーバーは比較的早いことから、骨髄内で脂質代謝物産生能の変化した血球が循環血液中に放出されることで、結果として血中脂質代謝物の変動することが予想される。

本研究によって、ストレスにより Y 血中濃度が低下し、内皮細胞における多彩な抗炎症作用が失われることで炎症性疾患の発症に結びつくことが示唆された。ストレス関連炎症性疾患に対する治療介入として代謝物 Y に注目して研究開発を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Akiyama Satoshi, Nagai Hirotsuka, Oike Shota, Horikawa Io, Shinohara Masakazu, Lu Yabin, Futamura Takashi, Shinohara Ryota, Kitaoka Shiho, Furuyashiki Tomoyuki	4. 巻 12
2. 論文標題 Chronic social defeat stress increases the amounts of 12-lipoxygenase lipid metabolites in the nucleus accumbens of stress-resilient mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11385
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-15461-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Tomohide, Ishii Shinichi, Shinohara Masakazu, Kawano Yuko, Wakahashi Kanako, Kawano Hiroki, Sada Akiko, Minagawa Kentaro, Hamada Michito, Takahashi Satoru, Furuyashiki Tomoyuki, Tan Nguan Soon, Matsui Toshimitsu, Katayama Yoshio	4. 巻 106
2. 論文標題 Mobilization efficiency is critically regulated by fat via marrow PPAR	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Haematologica	6. 最初と最後の頁 1671 ~ 1683
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3324/haematol.2020.265751	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	西森 誠 (Nishimori Makoto)		
研究協力者	早坂 直美 (Hayasaka Naomi)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	木村 規子 (Kimura Noriko)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関