

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：14602

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23300275

研究課題名(和文)女性の精神性ストレス緩和のための機能性食品の研究

研究課題名(英文)The suppressive effects of estrogen on stress-induced cardiovascular responses in female and complementary nutrients for postmenopausal women

研究代表者

森本 恵子 (Morimoto, Keiko)

奈良女子大学・生活環境科学系・教授

研究者番号：30220081

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円、(間接経費) 4,140,000円

研究成果の概要(和文)：精神性ストレスおよび閉経は心血管疾患の危険因子である。我々の先行研究では雌性ラットにおいてエストロゲンが精神性ストレスによる循環反応を緩和した。本研究ではエストロゲンのストレス緩和作用のメカニズムの解明とその代替としての抗酸化ビタミンやイソフラボンの作用を検討した。その結果、エストロゲンはレニン-アンジオテンシン系の制御によりストレス性昇圧反応を抑制した。しかし、閉経モデルラットへの葛蔓抽出物投与はストレス性昇圧反応を抑制しなかった。一方、閉経後女性は同年代の閉経前女性と比べ、安静時の血管内皮機能が低下し、ストレス時の血管抵抗が増大したが、ビタミンC経口投与により改善されることが判明した。

研究成果の概要(英文)：Menopause or mental stress is a risk factor for cardiovascular events. We examined the mechanisms accounting for suppressive effects of estrogen on stress-induced cardiovascular responses in ovariectomized (OVX) rats and complementary nutrients for postmenopausal women. In animal model, estrogen replacement attenuated pressor response to the cage-switch stress by suppressing the renin-angiotensin system in OVX rats. However, Kudzu root extracts had no effects on the stress-induced pressor responses in OVX rats. In human experiments, mental stress evoked by the Color Word Test induced the elevation in the vascular resistance of brachial artery in postmenopausal women compared with middle-aged premenopausal women. In addition, basal endothelial function was impaired in postmenopausal women compared with premenopausal women. However, the oral pretreatment of vitamin C restored these impairments in the postmenopausal women.

研究分野：生活健康学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：精神性ストレス エストロゲン 女性 抗酸化ビタミン 葛蔓イソフラボン 閉経 ストレス性昇圧
血管内皮機能

1. 研究開始当初の背景

日本は世界に誇る長寿国であるが、その要因として、いやしの文化と食文化を背景にした良好なメンタルヘルスケアが考えられる。閉経後の日本女性における長寿の秘訣を解き明かすため、本研究では、精神性ストレス耐性におけるエストロゲンの作用とそれを補う機能性食品に焦点を当てる。エストロゲンのストレス緩和効果に関する詳細な研究は世界的に見ても先導的であり、加えて、その抗酸化作用を介したメカニズムを探ることで、基礎研究としての発展が期待できる。また、応用研究としては、エストロゲン欠乏に伴う閉経後女性のストレス耐性低下を、食生活の改善によって補完し、健康増進を目指す。本研究のように、ヒトと動物を対象に、個体から細胞レベルのメカニズムに至る包括的な研究は他に類を見ない。

2. 研究の目的

精神性ストレスは動脈硬化に起因する心血管疾患の危険因子である。我々は、閉経後女性における心血管疾患の増加はエストロゲン欠乏によるストレス耐性低下が一因であると考え、閉経モデル動物へのエストロゲン補充が精神性ストレス時の循環反応を抑制することを報告した。本研究では、エストロゲンのストレス緩和のメカニズムとして、その抗酸化作用を介した循環制御に注目し、閉経後、エストロゲン作用を補うのに効果的な機能性食品として、抗酸化ビタミンおよび植物性エストロゲンであるイソフラボンなどを取り上げ、その作用を検証することを目的とした。本研究によって、ホルモン補充ではなく、食生活の改善により、生涯にわたるエストロゲンレベルの変動を見据えた、女性の精神性ストレス耐性の強化を目指す。

3. 研究の方法

(1) 雌性ラットにおける精神性ストレス時の循環反応におけるエストロゲンの作用

急性ストレス時の昇圧反応におけるAngiotensin /NADPH oxidase 系の関与とエストロゲンの抑制効果

成熟雌性ラットに両側卵巢摘出術を行ない、卵巢摘出群には偽薬(プラセボ群:16匹)あるいは17 β -estradiolの補充(エストロゲン群:16匹)を行った。この2群のラットに対して、急性の環境変化による精神性ストレスとして、ラットを飼育している通常のケージから、別のケージに移す、ケージ交換ストレスを負荷した。血圧・心拍数はテレメトリーシステムを用いて連続測定し、Angiotensin type 1受容体の拮抗(Losartan)、NADPH oxidase活性化阻害剤(Apocynin)の前投与による影響を検討した。

また、実験の1週間前に頸静脈内に留置したカテーテルより、ケージ交換ストレス負荷前後に採血を行い、エストロゲンがストレス

による血漿レニン活性、Angiotensin・Aldosterone濃度の変化に及ぼす影響について検討した。

また、ストレス直後に腸間膜動脈、腎臓を摘出し、Real time-PCR法によりAngiotensin converting enzyme (ACE)およびレニンの遺伝子発現を解析した。さらに、ストレス直後に脳を還流固定し、免疫組織化学法を用いて、視床下部室傍核、扁桃核、延髄、橋などにあるストレス関連神経細胞の活性化をそのマーカーであるc-Fos蛋白質の発現数から解析した。

卵巢摘出ラットへの葛蔓エタノール抽出物の慢性経口投与による精神性ストレスへの影響

と同様にして作成した卵巢摘出ラットを用いて、葛蔓のエタノール抽出物の慢性投与を行い、ケージ交換ストレスによる血圧・心拍数増加反応への影響を検討した。

慢性ストレスによる循環調節機構への影響とエストロゲンの関与

と同様に作成した2群のラットを用いて、他者同居(ペアハウジングとする)及び間欠的低酸素による慢性ストレスを負荷し、テレメトリーシステムを用いて循環反応を経時的に測定した。

(2) 女性を対象とした精神性ストレス負荷時の血圧・血管反応における抗酸化ビタミンの効果

中年女性へのカラーワードテスト(CWT)負荷時の血管反応における閉経の影響

閉経前・後の中年女性16名(各8名)を対象に、CWTによる精神性ストレス負荷時の上腕動脈血管反応を血管エコーにて測定するとともに、ストレス前後の血管内皮機能を評価した。これらに対する閉経の影響について検討した。

閉経後女性を対象としたCWT負荷時の血圧・血管反応における抗酸化ビタミンの効果

閉経後女性8名に、酸化ストレス抑制効果のあるビタミンCの経口投与・非投与下でCWTによる血管反応の変化を測定した。さらに、CWT前後の血管内皮機能に与えるビタミンC投与の影響を検討した。

若年女性を対象としたCWTによる血管内皮機能の変化に与える運動習慣の影響

若年女性を運動習慣なしのSED群、運動習慣ありのEXE群に分けCWTを行った。

4. 研究成果

(1) 雌性ラットにおける精神性ストレス時のエストロゲンによる循環反応緩和のメカニズム

急性ストレス時の昇圧反応におけるAngiotensin /NADPH oxidase系の関与とエストロゲンの抑制効果

エストロゲンは、ケージ交換ストレス時に血漿Renin-Angiotensin系の活性亢進を抑制することによって、昇圧反応を減弱させることが判明した。しかし、NADPH oxidase系の関

与は少ないと考えられた。なお、エストロゲンは腸間膜血管におけるAngiotensin変換酵素遺伝子発現には影響を与えなかった。

卵巣摘出ラットへの葛蔓エタノール抽出物の慢性投与による精神性ストレスへの影響

卵巣摘出ラットを用いて、葛蔓のエタノール抽出物の慢性投与を行い、精神性ストレスによる循環反応への影響を検討した。葛蔓抽出物投与群では、非投与群と比べて体重が減少したが、ケージ交換ストレスによる心拍数・血圧反応には差が見られなかった。

一方、雌性メタボリックシンドロームモデルラットを用いて、葛蔓エタノール抽出物投与を行うと、血圧上昇抑制、体重増加抑制が認められ、機能性食品としての効果が示唆された。

慢性ストレスによる循環調節機構への影響とエストロゲンの関与

両群ラットにおいてペアハウジングにより1-3日目に軽度な昇圧反応が見られたが両群間に差はなかった。なお、4日目以降は安静レベルに戻った。一方、間欠的低酸素によりプラセボ群において昇圧反応が認められたが、エストロゲン群では抑制された。この機序として、エストロゲンが抵抗血管の拡張性を調節すると考えられた。

(2) 女性を対象とした精神性ストレス負荷時の血圧・血管反応における閉経および抗酸化ビタミンの効果

中年女性におけるCWT負荷時の血管反応における閉経の影響

CWT時の血圧・心拍数増加反応は閉経前と閉経後女性の間に差はなかったが、閉経後では上腕動脈床の血管抵抗が上昇した。一方、閉経後女性では閉経前女性と比べ、安静レベルでの血管内皮機能の低下が見られた。

閉経後女性を対象とした精神性ストレス負荷時の血圧・血管反応における抗酸化ビタミンの効果

閉経後女性ではVitamin Cの投与後にCWTによる上腕動脈血管床の血管抵抗や血漿ノルエピネフリンの増加反応が抑制された。さらに、閉経後女性における安静レベルの上腕動脈内皮機能がVitamin C投与後には閉経前女性のレベルまで改善した。

若年女性を対象としたCWTによる血管内皮機能の変化に与える運動習慣の影響

若年女性ではEXE群はSED群に比べて、CWT時の心拍数が低かったが、安静時の血管内皮機能は両群間で差がなく、CWTによる内皮機能の変化は見られなかった。

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 5 件)

Nishimura Y, Mabuchi K, Taguchi S, Ikeda S, Aida E, Negishi H, Takamata A.

Involvement of orexin-A neurons but not melanin-concentrating hormone neurons in

the short-term regulation of food intake in rats. *J. Physiol. Sci.* 査読有, 64 (203-11), 2014

doi: 10.1007/s12576-014-0312-0

Ogoh S, Sato K, Okazaki K, Miyamoto T, Hirasawa A, Morimoto K, Shibasaki M.

Blood flow distribution during heat stress: cerebral and systemic blood flow. *J Cerebr Blood Flow Metab.* 査読有, 33 (1915-1920), 2013

doi: 10.1038/jcbfm.2013.149.

Yano S, Ohi H, Ashizaki M, Obata M, Mikata Y, Tanaka R, Nishioka T, Kinoshita I, Sugai Y, Okura I, Ogura S, Czaplewska JA, Gottschaldt M, Schubert US, Funabiki T, Morimoto K, Nakai M. Syntheses,

Characterization, and Antitumor Activities of Platinum(II) and Palladium(II) Complexes with Sugar-Conjugated Triazole Ligands. *CHEMISTRY & BIODIVERSITY.* 査読有, 9 (1903-1908), 2012

doi: 10.1002/cbdv.201100426

Kiso K, Ueno S, Fukuda M, Ichi I, Kobayashi K, Sakai T, Fukui K, Kojo S. The role of Kupffer cells in carbon tetrachloride intoxication in mice. *Biol Pharm Bull.* 35 (980-983), 2012

doi: 10.1248/bpb.35.980

Takamata A, Torii K, Miyake K, Morimoto K. Chronic oestrogen replacement in ovariectomized rats attenuates food intake and augments c-Fos expression in the suprachiasmatic nucleus specifically during the light phase. *British Journal of Nutrition.* 査読有, 106 (1283-1289), 2011

doi: 10.1017/S0007114511001607

[学会発表](計 20 件)

Takamata A, Mabuchi K, Nishimura Y, Morimoto K. Estrogen-induced anorexia is dependent on light environment. The 91th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2014年3月18日, 鹿児島市 Morimoto K, Tazumi S, Omoto S, Takamata A, Kudo R, Hatake K, Nagai H, Yoshida K. Estrogen replacement suppresses

hypertensive responses to psychological stress and intermittent hypoxia in ovariectomized rats. The 91th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2014年3月18日, 鹿児島市 Chen X, Fujiwara Y, Yamamoto S, Tanaka A, Kumano Y, Takamata A, Morimoto K.

Effects of daily exercise and mental stress on forearm endothelial function in male and female university students. The 91th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2014年3月17日, 鹿児島市 横田 直子, 森本恵子. 卵巣摘出ラットの高脂肪食誘発性肥満におけるインスリ

ン抵抗性に対するエストロゲンの作用.
第 60 回日本栄養改善学会学術総会,
2013 年 9 月 14 日, 神戸市
Yokota N, Omoto S, Tazumi S, Obata S,
Kawakami M, Morimoto K. Effects of
estrogen replacement on high-fat
diet-induced insulin resistance in
ovariectomized rats. 36th International
Congress of Physiological Sciences, 24 July,
2013, Birmingham, UK
Omoto S, Tazumi S, Yoshida R, Nagai H,
Yoshida K, Kudo R, Hatake K, Yano S,
Morimoto K. Effects of estrogen
replacement on intermittent hypoxia-induced
hypertension in ovariectomized rats. 36th
International Congress of Physiological
Sciences, 24 July, 2013, Birmingham, UK
Mabuchi K, Takano A, Hara Y, Morimoto K,
Takamata A. Removal of photic stimulation
impairs estrogen induced anorexia in rats.
The 90th annual meeting of the physiological
society of Japan, 2013 年 3 月 31 日, 東京都
Omoto S, Tazumi S, Yoshida R, Nagai H,
Yoshida K, Kudo R, Hatake K, Morimoto K.
Estrogen replacement attenuates intermittent
hypoxia-induced hypertension in
ovariectomized rats. The 90th annual
meeting of the physiological society of Japan,
2013 年 3 月 31 日, 東京都
Obata S, Tazumi S, Omoto S, Yokota N,
Takamata A, Morimoto K. Estrogen
suppresses psychological stress-induced
pressor response by inhibiting the activation
of the renin-angiotensin system in
ovariectomized rats. The 90th annual
meeting of the physiological society of Japan,
2013 年 3 月 31 日, 東京都
Yokota N, Omoto S, Tazumi S, Obata S,
Kawakami M, Morimoto K. Effects of
estrogen replacement on high-fat
diet-induced insulin resistance in
ovariectomized rats. The 90th annual
meeting of the physiological society of Japan,
2013 年 3 月 31 日, 東京都
森本恵子, 小山禎子, 鷹股亮. 高血糖が
中年女性の血管機能に及ぼす影響. 日本
家政学会第 64 回大会, 2012 年 5 月 11 - 13
日, 大阪市
Morimoto K, Koyama T, Tazumi S, Omoto S,
Takamata A. Regulatory effects of estrogen
on cardiovascular responses to psychological
stress in ovariectomized rat model and
middle-aged women. The 89th annual
meeting of the physiological society of Japan,
Symposium: Stress responses and regulatory
factors. 2012 年 3 月 29 日 - 31 日, 松本市
Takamata A, Miyake K, Taguchi S,
Morimoto K. Enhanced response to light is a
putative mechanism for the anorexigenic and
anti-obesity effects of estrogen in rats. The

89th annual meeting of the physiological
society of Japan, 2012 年 3 月 29 日 - 31 日,
松本市
Taguchi S, Ikeda S, Aida E, Morimoto K,
Takamata A. Food deprivation during the
light phase attenuates estrogen
deficiency-induced enhancement of body
weight gain and daily food intake. The 89th
annual meeting of the physiological society
of Japan, 2012 年 3 月 29 日 - 31 日, 松本市
Tazumi S, Omoto S, Takamata A, Morimoto
K. Effects of estrogen replacement on
stress-induced pressor response through
renin-angiotensin system in ovariectomized
rats. The 89th annual meeting of the
physiological society of Japan, 2012 年 3 月
29 日 - 31 日, 松本市
睡眠時無呼吸症候群モデルラットにおけ
る血圧上昇に対するエストロゲンの影響.
尾本さよ, 田積昇子, 工藤利彩, 羽竹勝
彦, 永井恒志, 吉田謙二, 森本恵子, 第 8
9 回日本生理学会大会サテライト企画;
第 7 回環境生理学プレコンgres, 2012
年 3 月 28 日, 松本市
卵巣摘出ラットにおける高脂肪食誘発性
肥満に対する Ghrelin を介したエストロ
ゲンの抑制作用. 林 暁筠, 青山佳央理,
鷹股 亮, 森本恵子. 第 8 9 回日本生理学
学会大会サテライト企画; 第 7 回環境生理
学プレコンgres, 2012 年 3 月 28 日, 松
本市
卵巣摘出ラットにおける高脂肪食誘発性
肥満に対するエストロゲンの抑制作用.
林 暁筠, 森本 恵子. 第 32 回日本肥満学
会, 2011 年 9 月 23 - 24 日, 淡路市
若年女性における精神性ストレス時の前
腕血管内皮機能の変化に及ぼす運動習慣
の影響. 森本恵子, 田中まや, 小山禎子,
鷹股亮. 第 66 回日本体力医学会大会,
2011 年 9 月 16-18 日, 下関市
中年女性における精神性ストレスによる
末梢血管反応に対するビタミン C の影響.
森本恵子, 小山禎子, 鷹股亮. 日本家政
学会第 63 回大会, 2011 年 5 月 27 - 29 日,
市川市

〔図書〕(計 1 件)
二宮石雄, 森本恵子(ほか 16 名)文光堂,
スタンダード生理学(第 3 版), 2013 年,
435 頁(性差と内分泌機能: 357-363)

〔産業財産権〕
出願状況(計 1 件)
名称: 葛蔓抽出物、その製造方法、それを
含有する生活習慣病改善剤組成物又
は食品組成物
発明者: 根岸 裕子, 清水 浩美
権利者: 奈良女子大学、奈良県
種類: 特許
番号: 特願 2014-016405

出願年月日：2014年1月31日
国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nara-wu.ac.jp/life/2014/s2.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森本 恵子 (MORIMOTO, Keiko)
奈良女子大学・生活環境科学系・教授
研究者番号：30220081

(2) 研究分担者

小城 勝相 (KOJO, Shosuke)
放送大学・教養学部・教授
研究者番号：10108988

(2) 研究分担者

鷹股 亮 (TAKAMATA, Akira)
奈良女子大学・生活環境科学系・教授
研究者番号：00264755

(2) 研究分担者

根岸 裕子 (NEGISHI, Hiroko)
奈良女子大学・生活環境科学系・助教
研究者番号：50523841

(3) 連携研究者

吉田 謙一 (YOSHIDA, Ken-ichi)
東京大学大学院・医学系研究科・教授
研究者番号：40166947

(3) 連携研究者

矢野 重信 (YANO, Shigenobu)
奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科・教授
研究者番号：60011186