

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 26 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24501030

研究課題名(和文)トランスクリプトーム解析による食用植物油摂取が生活習慣病に与える影響の機序解明

研究課題名(英文) Study for the effects of dietary vegetable oil intake on lifestyle-related disease using transcriptome analysis

研究代表者

内藤 由紀子(Naito, Yukiko)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号：80426428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)は、生活習慣病モデル動物の一種であるが、カノーラ油を摂取させると生存日数が短縮することを、われわれはこれまでに確認している。この背景に、心臓や腎臓の傷害等、高血圧に関連した病態の進行促進が認められた。そこで本研究ではそのメカニズムを解明するために、SHRSPにカノーラ油と大豆油(対照)を摂取させ、遺伝子発現と血圧変動に注目して実験を行った。連続血圧測定により、明期の血圧上昇が促進していることがわかったが、血圧調節に関与しているカテコラミン代謝関連遺伝子の発現変化との関係は明らかとならなかった。

研究成果の概要(英文)：We have already confirmed that canola oil intake shortens the survival time of stroke prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP), which is a kind of lifestyle-related disease model animal. In this background, progressive promotion of the hypertension induced changes, such as injury of heart and kidney was observed. In this study, to clarify the mechanism, SHRSP were fed diets containing canola oil or soybean oil (control), and the experiment was conducted by focusing on gene expression and blood pressure changes. In the continuous blood pressure measurement, blood pressure of the light period was increased in the canola oil group. However, the relationship between the expression of catecholamine metabolism-related genes and the blood pressure changes did not become clear.

研究分野：薬理学

キーワード：食用油 生活習慣病 血圧 モデル動物 カノーラ油

1. 研究開始当初の背景

近年、生活習慣病患者の増加に伴って、その予防および改善方法に注目が集まっている。また、特定保健用食品としての食用油が増加する等、日常的に摂取する食用油に対する関心も高まっている。

カノーラ油は、日本で供給量が最も多い食用植物油であるが、心臓発作や脳卒中を予防するオレイン酸を豊富に含有するため、健康維持に適するとされている。その一方で、生活習慣病モデルラットの一種である脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (stroke prone spontaneously hypertensive rats、SHRSP) にカノーラ油を唯一の脂肪源として摂取させると、生存日数が短縮することが報告されている¹⁾。そこで研究代表者のグループはこれに注目し、SHRSP のほかに、SHRSP の起源動物である高血圧自然発症ラットや正常血圧 Wistar-Kyoto (WKY) ラットも用いてカノーラ油摂取による生理学的変化を観察したところ、血圧上昇の促進、高血圧関連疾患の進行促進、血中脂質レベルの上昇および心臓および腎臓の血管内膜肥厚等の炎症が認められたことから、さらに解析を進め、カノーラ油を摂取した SHRSP で、血漿アルドステロン量の増加、酸化ストレスマーカーの増加、血圧調節に關与する腎臓傍系球体装置の cyclooxygenase-2 の発現亢進を確認し、発表している²⁻⁸⁾。

カノーラ油を摂取した SHRSP での生存日数短縮の原因については、この系統の動物の特徴である植物ステロールの高吸収性によると結論付ける報告がある⁹⁾。この動物が、植物ステロールを比較的多く含有するカノーラ油を摂取すると、細胞膜のコレステロールとの置換が促進し、膜の脆弱化が誘導されて血管壁が破たんしやすくなり、脳卒中発症が誘導されて生存日数が短縮するというものである。しかしこのメカニズムだけでは、例えば血液中の中性脂肪の上昇等の説明がつかない変化がある。また、植物ステロール量が比較的少ない食用油 (オリーブ油) でも SHRSP において生存日数短縮が認められる、という報告もある¹⁰⁾。このように国内外の数グループから、カノーラ油の安全性についての研究報告が出ているが、いずれも SHRSP の生存日数短縮の原因の一部を説明するのみである。

したがって現在のところ、生活習慣病モデル動物の一種である SHRSP におけるカノーラ油摂取による生存日数短縮や、血圧、血漿脂質の上昇等の原因やメカニズムは解明されていないため、ヒト、特に生活習慣病等の病態での摂取における影響ははっきりしていないと考える。したがって研究代表者はこの解明を目指して継続して研究しているが、SHRSP にカノーラ油を摂取させると、腎臓や心臓の傷害は投与第 6~8 週で観察されるが、

血漿脂質の上昇はすでに投与初期段階 (投与第 2 週) で起こることを学会発表している (第 84 回日本薬理学会年会 (2011 年 3 月) J Pharmacol Sci 115, Suppl 1, 236P, 2011 (要旨))。

[参考文献]

- 1) Huang MZ, et al, Lipids 1997, 32, 745-751.
- 2) Naito Y, et al, Toxicology 2000, 146, 197-208.
- 3) Naito Y, et al, Food Chem Toxicol 2000, 38, 811-816.
- 4) Naito Y, et al, Pharmacol Toxicol 2000, 87, 144-148.
- 5) Naito Y, et al, Toxicol Lett 2000, 116, 209-215.
- 6) Naito Y, et al, Toxicol 2003, 187-205-216.
- 7) Ohara N, et al, Food Chem Toxicol 2006, 44, 952-963.
- 8) Ohara N, et al, Food Chem Toxicol 2008, 46, 2573-2579.
- 9) Ikeda I, et al, Metabolism 50, 1361-1368.
- 10) Ratnayake WM, et al, J Nutr 2000, 130, 1166-1178.

2. 研究の目的

食用植物油の摂取が、生活習慣病の発症や進行に与える影響について調べることを目的とした。生活習慣病モデル動物の一種である SHRSP を用いて、病態生理学的な影響、特に血圧変化に注目するとともに、カテコラミン代謝に關連する遺伝子発現解析を行い、その背景メカニズムの解明を目指した。本研究結果は、生活習慣病患者への食生活指導や、さらには健常者への生活習慣病予防指導のための情報提供に貢献するものである。血圧測定には、tail-cuff 法その他、動物のストレスが比較的小さく、連続して血圧変化をモニターすることができるテレメトリーシステムを用いた方法を採用した。

3. 研究の方法

(1) 動物

雄性 SHRSP (6 週齢) を用いた。2 群に分け、それぞれカノーラ油群または大豆油群 (対照群) とした。なお大豆油は、ラットおよびマウスの普通飼料の脂肪源として含有していること、および日本国内の食用植物油の供給量第 2 位であることから対照として選択した。

(2) 飼料

カノーラ油または大豆油を 10 w/w% 含有する無脂肪精製粉末飼料 (AIN-93G) を調製した。各群の動物にそれぞれ自由摂取させた。Tail-cuff 法による血圧測定用動物は 6 週間、テレメトリーシステムを用いた血圧測定用動物は 8 週間、各飼料を摂取させた。また mRNA 発現解析動物は、サンプリングを 4 時点設定し、2、4、8 または 16 週間摂取させた。

(3) 体重および摂餌量測定

投与期間中、体重および摂餌量を週 1 回の頻度で測定した。

(4) tail-cuff 法を用いた血圧測定

tail-cuff 法により血圧を測定した

(BP-98A, Softron)

(5) 血液生化学検査

6 週間摂取動物を用いて、血漿中の総コレステロール、HDL-コレステロール、トリグリセリドおよびグルコースレベルを測定した(セルタック)。

(6) テレメトリーシステムを用いた血压測定

動物は、SHRSP を用いた。投与開始 2 週間前に、テレメトリーシステムの送信機を動物の腹腔内に装着する手術を施し(腹部大動脈にカニューレーション) 投与開始 2 日前から連続して血压および心拍数を測定し、8 週間モニターした(慢性実験テレメトリー自動計測システム)。データは明期と暗期で集計した。

(7) 遺伝子発現解析

投与期間終了後、麻酔下で副腎を摘出し、トランスクリプトーム解析用に凍結保存した。保存サンプルから mRNA を抽出・精製し、ドパミン -ヒドロキシラーゼ (DBH)、チロシンヒドロキシラーゼ (TH) およびカテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (COMT) の発現を RT-PCR により解析した。

4. 研究成果

(1) 体重および摂餌量

摂取期間中の体重および摂餌量に、群間差は認められなかった。

(2) tail-cuff 法によって測定した血压の推移

摂取第 3 週以降、カノーラ油摂取群の収縮期血压は、大豆油群と比較して上昇した。

(3) 血液生化学

6 週間摂取後、カノーラ油群の血漿中総コレステロールおよびトリグリセリドレベルは、大豆油群と比較して高値を示した。

(4) テレメトリーシステムを用いて測定した血压の推移

摂取期間中、暗期の収縮期血压には群間差が認められなかった一方、明期のカノーラ油群では、摂取 45 日以降の収縮期血压が高値を示した。

(5) 遺伝子発現

カノーラ油群の副腎において、摂取第 2 週に COMT の発現減少が認められた。第 4 および 8 週においては各遺伝子発現に群間差はなかった。第 16 週に、カノーラ油群の DBH および TH の発現減少が認められた。

以上をまとめると、SHRSP にカノーラ油を摂取させると血压上昇が促進されるが、ストレスの少ない条件下で連続測定可能なテレメトリーシステムを用いた実験において、摂取 45 日以降、明期の血压上昇が確認できた。Tail-cuff 法による測定では、さらに早期に血压上昇が認められたことは、測定時のストレスによると思われる。一方暗期の血压には群間差がなかったことから、明期での血压上

昇促進が、これまでの研究で認められた腎臓や心臓の傷害等、血压に関連する症状の進行と関与していると考えられる。また、血压上昇の背景を調べるために、副腎を用いてカテコラミン代謝に関わる遺伝子発現を解析したところ、摂取第 2 週においてカノーラ油群の COMT 発現減少が認められたことから、カテコラミン分解が低下したことが示唆された。血压上昇が認められた時期に近い摂取第 8 週においては遺伝子発現に差が認められず、また、摂取第 16 週ではカテコラミン合成に関わる遺伝子発現が低下したことから、本研究では、カテコラミンと血压上昇との関連は明らかとならなかった。摂取第 2 週の COMT の発現低下がその後の血压上昇に関連しているのかも含めて、さらに詳細な検討が必要である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

Yukiko Naito, Xu Ji, Shigehiro Tachibana, Satoko Aoki, Mami Furuya, Yoshiyuki Tazura, Daisuke Miyazawa, Akiko Harauma, Toru Moriguchi, Tomoko Nagata, Naoharu Iwai, Naoki Ohara, Effects of arachidonic acid intake on inflammatory reactions in dextran sodium sulphate-induced colitis in rats. British Journal of nutrition, 査読有, 2015, in press.

[学会発表](計 8 件)

内藤由紀子、翁華春、岩井直温、肥満糖尿病モデルマウスにおける n-3 多価不飽和脂肪酸摂取の疾患進行に与える影響、第 88 回日本薬理学会年会、2015 年 3 月 18 日~20 日、愛知

内藤由紀子、大原直樹、岩井直温、糖尿病マウスにおける機能性食用油の 4 週間摂取の影響、日本脂質栄養学会第 23 回大会、2014 年 8 月 29 日~30 日、東京

内藤由紀子、柳川成章、大原直樹、岩井直温、肥満糖尿病マウスにおける 3 種類の機能性食用油 4 週間摂取の影響、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 28 日~30 日、熊本

内藤由紀子、遠藤恒介、翁華春、大原直樹、岩井直温、脳卒中易発症高血圧自然発症ラットにおける 3 種の機能性食用油摂取の影響、日本脂質栄養学会第 22 回大会、2013 年 9 月 6 日~7 日、高知

大原直樹、内藤由紀子、岩井直温、機能性食用油の安全性に関する研究-食用油摂取がステロイドホルモン代謝に及ぼす影響-、日本脂質栄養学会第 22 回大会、2013 年 9 月 6 日~7 日、高知

内藤由紀子、馬嘯、遠藤恒介、紀旭、翁華春、岩井直温、糖尿病モデルマウスにおける不飽和脂肪酸補給の疾患進行に与える影響、第 13 回日本抗加齢医学会総会、2013 年 6 月 28 日~30 日

内藤由紀子、馬嘯、遠藤恒介、紀旭、翁華春、岩井直温、第 86 回日本薬理学会年会、2013 年 3 月 21 日～23 日、福岡

小野田早恵、内藤由紀子、立花滋博、河村さやか、大原直樹、吉川真衣、新美まどか、川口真帆、宮沢大介、安井裕子、山田和代、奥山治美、菜種（カノーラ）油摂取が脳卒中易発症高血圧自然発症ラット（SHRSP）の病態悪化を促進する機序、第 39 回日本毒性学会学術年会、2012 年 7 月 17 日～19 日、仙台

6 . 研究組織

(1)研究代表者

内藤 由紀子 (NAITO, Yukiko)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号： 8 0 4 2 6 4 2 8

(2)研究分担者

岩井 直温 (IWAI, Naoharu)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・部長

研究者番号： 3 0 2 4 2 9 7 8

(3)連携研究者

紀 旭 (KI, Asahi)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・流動研究員

研究者番号： 9 0 5 3 5 0 4 8