

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 2 日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07444

研究課題名(和文) ビタミンE吸収・代謝における性差の機構解明

研究課題名(英文) Mechanism of sex difference on vitamin E absorption and metabolism

研究代表者

竹中 麻子 (Takenaka, Asako)

明治大学・農学部・専任教授

研究者番号：40231401

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ビタミンE(α-トコフェロール、α-T)吸収の性差発現機構の解析を中心に研究を進めた。まず雄性ホルモンであるテストステロンが消化管からのα-T吸収を低下させることを明らかにした。次に小腸の吸収トランスポーターの解析を行い、Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1)活性が性差の原因でないこと、Scavenger receptor class B type 1 (SR-BI)量がメスで高く、精巣除去により低下することを明らかにした。以上の結果から、テストステロンによる小腸SR-BI量の低下がオスでα-T吸収を低下させ、体内α-T濃度が低くなるという性差発現機構を示した。

研究成果の概要(英文)：Mechanisms for sex differences in intestinal absorption of vitamin E (α-tocopherol) were investigated with rats. First, we investigated fecal α-tocopherol excretion in male and female rats, castrated male rats and testosterone administered rats, and clarified that testosterone reduces α-tocopherol absorption. Next, Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) activity was not demonstrated to be a cause for the sex difference of α-tocopherol absorption with rats administered with NPC1L1 inhibitor. Finally, we found that intestinal scavenger receptor class B type 1 (SR-BI) level was higher in females than in males and decreased by castration. From these results, we conclude that testosterone reduces intestinal SR-BI and α-tocopherol absorption, resulting in lower vitamin E concentration in male rats than female rats.

研究分野：食品栄養化学、分子栄養学

キーワード：ビタミンE α-tocopherol 性差 NPC1L1 SR-BI ラット

1. 研究開始当初の背景

ビタミン E の活性型である α -トコフェロールは、食事から摂取するとキロミクロンを介して肝臓に入る。その後、輸送タンパク質によって血流に放出されて全身に運ばれるか、あるいはチトクロム P450 等の酵素による代謝を経て尿中に排泄される。実験動物やヒトにおいて、メスでオスよりも血中や臓器中の α -トコフェロール濃度が高いという報告が多い。動物体内の最も重要な抗酸化物質である α -トコフェロール濃度の性差は疾病発症リスクや寿命などに大きな影響をおよぼす可能性があるが、この性差が生じる機構については、意外なことに詳細な検討例が乏しい。われわれは、ラットの雌雄比較や精巣除去・卵巣除去・性ホルモン投与実験により、 α -トコフェロールの吸収、代謝、体内輸送、機能の性差の解析に取り組んできた。その結果、以下の点を明らかにした。

(1) 雄性ホルモンのテストステロンには肝臓・血中の α -トコフェロール濃度を低下させる作用がある。

(2) テストステロンには α -トコフェロールの代謝排泄を低下させる作用があり、尿中への代謝物排出量はメスでオスよりも顕著に多い(尿中濃度が 6 倍、摂食量に対する排泄割合が 7 倍)。

(3) 消化管で吸収されずに糞中に排出される α -トコフェロールは、メスがオスよりも少ない(糞中濃度が約 1/5、摂食量に対する排出割合が約 1/3)。一方われわれは、ビタミン E 欠乏食を摂取したラットでは、脳内 α -トコフェロール濃度の低下に伴って不安行動が増加すること、この不安行動は副腎皮質からのグルココルチコイド分泌の増加によって生じることを明らかにしている。さらに、この不安行動の増加にも性差があることを、以下のように明らかにした。

(4) メスではビタミン E 欠乏時の脳内の α -トコフェロール濃度が低下しにくく、オスで生じる不安行動増加がみられない。

一連の結果は、食事から摂取したビタミン E がメスでオスよりも多く体内に保持されて機能し、一方で尿中への代謝排泄量も多いことを示していた(右図参照)。この現象は、食事から体内へのビタミン E の吸収率がメスで高いことによって説明できる可能性がある。

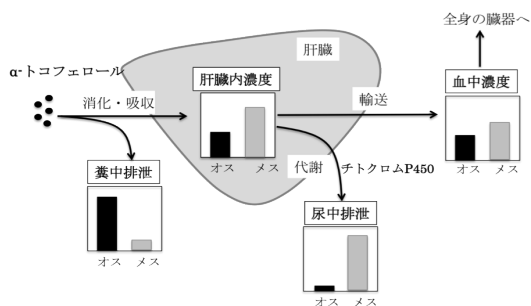


図 α -トコフェロール吸収と代謝の性差(これまでの結果の概略)

図中のグラフは測定結果の平均値を反映しているが、縦軸の数値や誤差等は省略している。

る。一方、サプリメントからのビタミン E 摂取が日常化している現在、摂取したビタミン E の吸収・代謝にこのような大きな性差が存在することは看過できない問題である。

2. 研究の目的

ビタミン E の活性型である α -トコフェロールの体内濃度は、ヒトや実験動物においてメスでオスよりも高いが、この性差が生じる機構は明らかにされていない。申請者はラットを用いて α -トコフェロールの食餌からの吸収と代謝産物の尿への排泄に大きな性差があることを見だし、後者は雄性ホルモンであるテストステロンの作用によることも明らかにした。さらに、ビタミン E 欠乏によって生じる不安の増加がオスで大きいことも示している。このようなビタミン E の吸収・代謝・機能の性差はヒトがサプリメントとして摂取するビタミン E 量の設定に重要な情報であるとともに、体内濃度の性差は疾病発症リスクに影響をおよぼす可能性もある。こうした背景から、本研究は α -トコフェロールの吸収・代謝・機能に性差が生じる機構の解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) α -トコフェロール代謝酵素の性差の解析: α -トコフェロール代謝の性差を引き起こす代謝酵素の同定を試みた。代謝律速酵素はチトクロム P450 (3A あるいは 4F) による水酸化反応であるため、これらのサブファミリー中のすべての分子種 (3A を 6 種、4F を 8 種) の肝臓中 mRNA 量を雌雄ラットにおいて測定した。

(2) α -トコフェロール吸収の性差の解析: 吸収されて血中に出現する α -トコフェロール量に性差があるかどうかを検討した。雌雄の性成熟後のラット、および精巣除去ラットを 16 時間程度絶食させ、 α -トコフェロールを乳化剤と混合したエマルジョンを経口投与した。投与後の門脈及び動脈血中 α -トコフェロール濃度を経時的に測定した。

(3) テストステロンによる α -トコフェロールと脂質の体内濃度制御の解析: 雌雄ラット、精巣除去ラット、精巣除去後にテストステロンを投与したラットを用いて、血中や臓器中の脂質(コレステロール、トリグリセリド、リン脂質)濃度と α -トコフェロール濃度の測定を行い、関連性を検討した。

(4) 消化管に分泌される胆汁中 α -トコフェロール量の性差の解析: 糞中 α -トコフェロール排泄の性差が胆汁中の量の違いで生じる可能性を検討した。9 週齢の雌雄の Wistar 系ラットの総胆管にカニューレを挿入して 1~2 時間分の胆汁を採取し、 α -トコフェロール濃度を測定した。

(5) 小腸 Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) による吸収活性解析: 小腸からの α -トコフェロール吸収に関与するトランスポーターである NPC1L1 の活性に性差がある可能性を検

討した。9週齢のWistar系雄ラットにNPC1L1阻害剤であるエゼチミブを0.008%混餌給餌で1週間与え、糞中-トコフェロール濃度を測定した。

(6) NPC1L1とscavenger receptor class B type 1 (SR-B)IのmRNA量とタンパク質の解析：雌雄ラットの小腸上部・中部・下部を採取しリアルタイムPCRおよびウェスタンブロット分析により測定した。

(7) テストステロンによるSR-BI制御の解析：精巣除去あるいは偽手術を施したラットを行い、小腸SR-BI量の測定を行った。

4. 研究成果

(1) -トコフェロール代謝酵素の性差の解析：メスで高い発現を示す分子種は認められず、-トコフェロールの代謝活性がメスでオスより高いという現象を代謝酵素の遺伝子発現レベルで説明することはできなかった。

(2) -トコフェロール吸収の性差の解析：エマルジョン投与0-8時間後の血中-トコフェロール濃度がメスでオスよりも有意に高いという結果を得た。精巣除去により糞中-トコフェロール排泄量が低下し、-トコフェロール経口投与後の血中濃度が有意に増加した。これらの結果から、テストステロンが消化管からの-トコフェロール吸収を低下させる可能性を強く示した。

(3) テストステロンによる-トコフェロールと脂質の体内濃度制御の解析：肝臓の-トコフェロール濃度とトリグリセリド濃度は一致して変動(メス>オス、精巣除去で増加、テストステロン投与で減少)することを明らかにし、テストステロンが肝臓中性脂肪と-トコフェロール濃度の両方を制御する可能性を示した。

(4) 消化管に分泌される胆汁中-トコフェロール量の性差の解析：胆汁中の濃度には性差がなかった。胆汁への-トコフェロール排泄活性の性差が糞中排泄量の性差の原因ではないことを示した。

(5) 小腸NPC1L1による吸収活性解析：糞中-トコフェロール排泄の性差はエゼチミブの影響を受けず、NPC1L1を介した吸収活性の変化が糞中排泄量の性差の原因ではないことを明らかにした。

(6) NPC1L1とSR-BIのmRNA量とタンパク質の解析：NPC1L1についてはmRNA量・タンパク質共に性差がなかった。SR-BIはmRNA量には性差がなかったが、下部のSR-BI量がメスでオスより高かった。この結果から、小腸下部における-トコフェロールのSR-BIを介した吸収活性がメスでオスより高く、糞中-トコフェロール濃度がオスで高いという性差の原因になる可能性を示した。

(7) テストステロンによるSR-BI制御の解析：小腸上部および中部で精巣除去によりSR-BI量が増加することを明らかにした(下部では明確なバンドが取得できなかった)。

以上の結果より、テストステロンが小腸SR-BI量を低下させることにより、オスでビタミンE吸収が低下し、体内濃度が低くなるという性差発現機構の可能性を示した。オスの尿中へのビタミンE代謝物の排泄活性の低下は、体内ビタミンE濃度の低下が一因であると推察される。

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9件)

1. Hiroki Nishi, Daisuke Yamanaka, Hiroyasu Kamei, Yuki Goda, Mikako Kumano, Yuka Toyoshima, Asako Takenaka, Masato Masuda, Yasushi Nakabayashi, Ryuji Shioya, Naoyuki Kataoka, Fumihiko Hakuno, Shin-Ichiro Takahashi. Importance of Serum Amino Acid Profile for Induction of Hepatic Steatosis under Protein Malnutrition. *Scientific Reports* (2018) DOI: 10.1038/s41598-018-23640-8 査読有

2. Yasuyo OSHIMA, Tasuku WATANABE, Shun ENDO, Shuichi HATA, Tuyoshi WATANABE, Kyoichi OSADA, Asako TAKENAKA. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on anxiety-like behavior in socially isolated rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82(4): 716-723 (2018). 査読有

3. Mami Horiuchi, Tomoya Takeda, Hiroyuki Takanashi, Yori Ozaki-Masuzawa, Yusuke Taguchi, Yuka Toyoshima, Lila Otani, Hisanori Kato, Meri Sone-Yonezawa, Fumihiko Hakuno, Shin-Ichiro Takahashi and Asako Takenaka. Branched-chain amino acid supplementation restores reduced insulinotropic activity of a low-protein diet through the vagus nerve in rats. *Nutrition and Metabolism* (2017) 14:59, doi: 10.1186/s12986-017-0215-1 査読有

4. 竹中麻子 尾崎依 小島礼 細川由加 田村花歩 齊藤健人 阿部啓之 竹中昭雄 永田晋治 さまざまな生物種における-トコフェロールの選択的体内蓄積、ビタミンE研究の進歩 XVII、ビタミンE研究会編、pp99-104 (2016) 査読無

5. Yori Ozaki, Kenji Saito, Kyoko Nakazawa, Morichika Konishi, Nobuyuki Itoh, Fumihiko Hakuno, Shin-Ichiro Takahashi, Hisanori Kato and Asako Takenaka. Rapid increase in fibroblast growth factor 2 in protein malnutrition and its impact on growth and lipid metabolism. *British Journal of Nutrition*, 114: 1410-1418 (2015). 査読有

6. 大倉悠毅、寺田裕紀、橋本理恵子、大橋広弥、大谷祐貴、徳永香南子、松本康志、

高木真理、中間未祈子、遠藤駿、竹中麻子
ビタミン E 欠乏と不安行動、ビタミン、
89(3)、108-115、(2015) 査読有

〔学会発表〕(計 38 件)

1. 渡邊佑、松尾契吾、遠藤駿、竹中麻子 (2018)
胎児期・授乳期からのビタミン E 欠乏がマウ
スの不安様行動に及ぼす影響、ビタミン E 研
究会

2. 佐藤遼太、熊谷悠、藤田尚子、井上佳奈、
長谷川由希子、林洪太、長田恭一、川端博秋、
竹中麻子 (2017) ラット小腸におけるビタミン
E 吸収活性の性差の解析、ビタミン E 研究
会 *奨励賞受賞

3. 佐藤遼太、日野美佳、長田恭一、川端博秋、
林洪太、竹中麻子 (2017) タンパク質欠乏に
よる血中ビタミン E 濃度低下機構、日本農芸
化学会

4. 大島靖世、渡邊佑、渡辺剛、長田恭一、竹
中麻子 (2017) エイコサペンタエン酸とドコ
サヘキサエン酸の抗不安作用の比較検討、
日本農芸化学会

5. 渡邊佑、遠藤駿、竹中麻子 (2017) ビタミ
ン E 欠乏食摂取がマウスの不安行動に与える
影響、日本農芸化学会

6. 渡邊佑、服部達哉、川口真以子、竹中麻子
(2017) ビタミン E 欠乏がマウスの社会性行
動に及ぼす影響、日本栄養・食糧学会

7. 竹中麻子、佐川裕紀、佐藤遼太、高橋遼太、
関亜理砂 (2017) タンパク質欠乏による脂肪
肝に伴うビタミン E の代謝変動、日本ビタミ
ン学会

8. 竹中麻子 (2017) 栄養による成長・代謝制
御、日本内分泌学会第 35 回内分泌代謝学サ
マーセミナー

9. 渡邊佑、服部達也、川口真以子、竹中麻子
(2017) 食餌性ビタミン E 欠乏がマウスの社
会性認知能力に及ぼす影響、日本農芸化学会
関東支部大会 *優秀発表賞受賞

10. 松尾契吾、渡邊佑、竹中麻子 (2017) 不安
傾向が異なる系統のマウスにおけるビタミ
ン E の体内濃度の比較検討、日本農芸化学会
関東支部大会

11. 竹中麻子、藤田尚子、佐藤遼太、熊谷悠、
井上佳奈、長谷川由希子 (2017) ビタミン E
の吸収・代謝における性差の解析、脂溶性ビ
タミン総合研究会

12. Ryota Sato, Mika Hino, Kyoichi Osada,

Hiroaki Kawabata and Asako Takenaka (2017)
Mechanism for the decrease in plasma
alpha-tocopherol under protein deficiency, 21st
International Congress of Nutrition

13. Tasuku Watanabe, Tatsuya Hattori, Maiko
Kawaguchi, Asako Takenaka (2017) Effect of
dietary vitamin E deficiency on social
recognition in mice, 21st International Congress
of Nutrition

14. 竹中麻子、尾崎依、阿部啓之、竹中昭雄、
小島礼、細川由加、田村花歩、永田晋治、斉
藤健人 (2016) さまざまな生物種における
-トコフェロールの選択的体内蓄積、ビタ
ミン E 研究会

15. 遠藤駿、竹中麻子 (2016) ビタミン E 欠
乏がストレプトゾトシン誘導性糖尿病ラッ
トの不安行動に及ぼす影響、日本農芸化学会

16. 佐藤遼太、熊谷悠、藤田尚子、井上佳奈、
長谷川由希子、長田恭一、林洪太、竹中麻子
(2016) 小腸におけるビタミン E 吸収活性の
性差の解析、日本農芸化学会

17. 大島靖世、遠藤駿、渡辺剛、竹中麻子
(2016) ラットを用いたエイコサペンタエン
酸の不安抑制効果の検討、日本農芸化学会

18. 渡邊佑、服部達哉、川口真以子、竹中麻
子 (2016) ビタミン E 欠乏がマウスの社会性
行動に及ぼす影響、日本農芸化学会関東支部
大会

19. Yasuyo Oshima, Takeshi Harada, Shun Endo,
and Asako Takenaka (2015) Effect of
eicosapentaenoic acid on anxiety-like behavior
in rats. 12th Asian Congress of Nutrition.

20. Shun Endo, Mikiko Nakama, Yuki Terada,
and Asako Takenaka (2015) Effect of vitamin E
deficiency on the hypothalamic-pituitary-adrenal
axis in rats. 12th Asian Congress of Nutrition.

21. 佐藤遼太、日野美佳、長田恭一、林洪太、
竹中麻子 (2015) タンパク質欠乏による血
中ビタミン E 濃度低下機構、日本アミノ酸
学会

〔図書〕(計 1 件)

生源寺真一・太田寛行・安田弘法編著、岩波
書店 「農学が世界を救う！」岩波ジュニア
新書 (2017) pp103-142 (第 4 章)

6. 研究組織

(1)研究代表者

竹中 麻子 (TAKENAKA, Asako)

明治大学・農学部・教授
研究者番号：40231401

(2)研究分担者：なし

(3)連携研究者：なし

(4)研究協力者：なし