

令和元年5月21日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01814

研究課題名(和文) Brain-lipid sensingからみた生活習慣病のメカニズム解明

研究課題名(英文) Mechanism of lifestyle diseases with particular attentions to the brain-lipid sensing

研究代表者

山嶋 哲盛 (Yamashina, Tetsumori)

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：60135077

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：5 mgのヒドロキシノネナル(HNE)を毎週1回半年間静脈内注射した後に脳と肝臓、膵臓を組織学的に調べると、海馬CA-1の神経細胞死と肝細胞の壊死および膵臓細胞の空胞変性がみられた。採血では、インスリン値の低下とAST、ALTの上昇などがみられた。以上に基づき、以下の3点が推定された。

1) HNEによるHsp70.1の機能障害がGPR40を介し脳・肝・膵の細胞死を惹起する。2) ω -6系のリノール酸を主成分とするサラダ油が、アルツハイマー病や2型糖尿病、NASHなどの生活習慣病の原因物質である。3) これらの生活習慣病の根本原因である細胞死は、実は脳梗塞と共通性の高い分子基盤によって生じる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、世界的に様々な疾患モデルで追試されて来た研究代表者提唱の「カルパイン-カテプシン仮説」に基づき、 ω -6系の食用油を多量に摂るヒトに好発するアルツハイマー病や非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)及び2型糖尿病などの病因を、ヒドロキシノネナル(HNE)などの過酸化脂質に着目して究明し得た。すなわち、『酸化損傷(カルボニル化)とカルパイン切断がもたらすHsp70.1の異常に起因するリソソーム膜の破綻』をサルモデルで検証し、生活習慣病の根本原因を見直すことができた。

本研究は、生活習慣病の発症における ω -6系サラダ油のリスクに関して、研究代表者独自の作業仮説に基づき世界初の成果をあげた。

研究成果の概要(英文)：Deep-fried foods cooked by ω -6 oil contain or intrinsically generate hydroxynonenal by peroxidation. Hydroxynonenal promotes carbonylation of Hsp70.1 proteins, with the resultant impaired ability of cells to recycle damaged proteins and stabilize the lysosomal membrane. As the 'calpain-cathepsin hypothesis' has been documented as a cause of ischemic and Alzheimer neuronal death, its relevance to cell death of the hypothalamus, liver, and pancreas, being related to the appetite/energy control, was studied here. The hypothalamus senses informations from both adipocyte-derived leptin and circulating free fatty acids. Since circulating fatty acids and hydroxynonenal are increased in obese subjects, the resultant overactivation of GPR40 may cause disruption of Ca^{2+} homeostasis and activated calpain-mediated cleavage of the carboxylated Hsp70.1 which lead to the lysosomal permeabilization/rupture to cause diverse cell death.

研究分野：健康科学

キーワード：サラダ油 ヒドロキシノネナル 脂肪毒性 生活習慣病 GPR40 Hsp70.1 リソソーム 細胞死

1. 研究開始当初の背景

リノール酸を主成分とする食用油(いわゆるサラダ油)を揚げ物調理中に加熱すると、酸化力が強いヒドロキシノネナル(HNE)という過酸化脂質が生じる。同様に、細胞膜に取り込まれたリノール酸も種々の酸化刺激で変性し、体内で HNE を作る。したがって、HNE の血中濃度は加齢と共に漸増し、ことに 50 歳以降になると急増する。

HNE は血管プラークやアミロイド に集簇し周辺に拡散するが、アルツハイマー剖検脳においても残存濃度が高い。サル脳を用いた申請者らの研究では、HNE はリソソーム膜を安定化する熱ショック蛋白 Hsp70.1 のカルボニル化をもたらし、Hsp70.1 はカルパインによって切断され易くなる。その結果、リソソーム膜の透過性が亢進しカテプシンが漏出することが神経細胞死を惹起する。

2. 研究の目的

酸化ストレスを受けて -6 系の食用油の化学構造が変化して出来たヒドロキシノネナル(HNE)に対して GPR40 が過剰に興奮し、非生理的な Ca^{2+} 動員をきたすことでカルパインは異常に活性化される。Hsp70.1 は HNE によってカルボニル化されると、活性型カルパインによって切断され易くなるため、そのシャペロン機能とリソソーム膜の安定化作用は機能しなくなる。その結果、損傷蛋白のリサイクルができなくなって細胞内にゴミ蛋白が蓄積するだけでなく、リソソーム膜は膜透過性が亢進しカテプシン酵素が漏出してしまう。この両者がもたらす各臓器での細胞死によって、アルツハイマー病のみならず種々の生活習慣病が発症している可能性が高い

本研究の目的は、「食用油由来の HNE やトランス脂肪酸などの過酸化脂質が、GPR40 を介して過剰の Ca^{2+} 動員による細胞死を惹起することが、アルツハイマー病だけではなく 2 型糖尿病や非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) など、近年増加している生活習慣病の根本原因である」証明することである。

3. 研究の方法

サルにヒドロキシノネナル(HNE)を静脈内注射した後定期的に採血し、生活習慣病関連のバイオマーカーを測定し、各臓器の細胞変性を GPR40 との関連において解析する。アルツハイマー病患者の血清中の HNE 濃度は平均 $20 \mu\text{mol/L}$ と報告 (McGrath et al., QJM 94:485-490, 2001) されているので、この血中濃度を再現するため毎週 1 回、5 mg の HNE を総計 25 回静脈内注射した。毎月 1 回採血を行い、血液酸化度 (d-ROMs)、抗酸化能 (BAP)、HbA1c やインスリン、中性脂肪、遊離脂肪酸、AST、ALT などを測定する。半年後に脳と内臓を摘出し、細胞の変性過程と GPR40 や Hsp70.1 などの発現変化を形態学・生化学的手法とプロテオミクス解析により検索した。

4. 研究成果

5 mg のヒドロキシノネナル(HNE)を毎週 1 回半年間にわたり総計 25 回静脈内注射した後の採血では、インスリン値の低下と AST、ALT の上昇などがみられた。

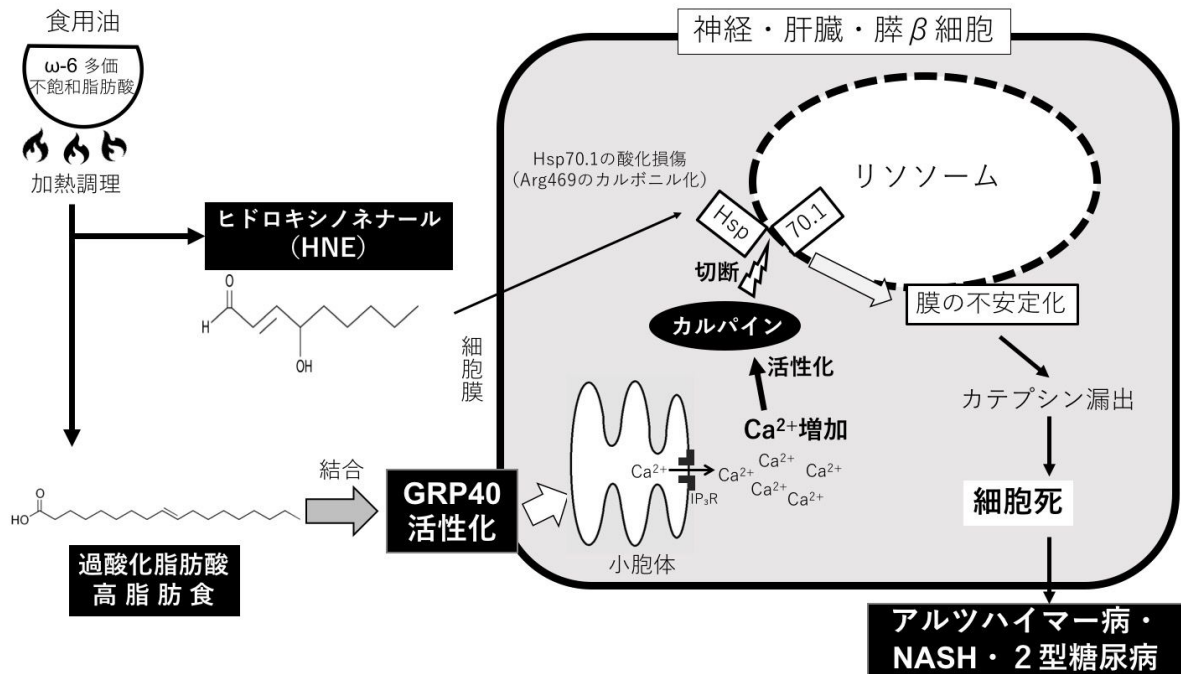
脳と肝臓、膵臓を光学顕微鏡で調べると、海馬 CA-1 の神経細胞死と肝細胞の壊死および膵臓細胞の空胞変性がみられた。これらの 3 者に共通するのは、変性細胞は細胞質の染色性が薄くなり小器官が見えず、微小空胞が濃縮核の周囲に放射状に配列することであった。電子顕微鏡で観察すると、3 器官いずれにおいてもリソソーム膜の透過性亢進ないし断裂像が見られ、ミトコンドリアはクリスタの著しい断裂を示した。

ウエスタンブロットによる解析では、Cont サルと HNE サルとで Hsp70.1 の main bands の発現量は不変であったが、30kDa の cleaved band は海馬 CA-1 と肝組織において有意に増加していた。

以上より、本研究の成果として以下の 3 点が得られた。

- 1) ヒトと同様に GPR40 を高発現するサルを対象とすることで、HNE による Hsp70.1 の機能障害が GPR40 を介し脳・肝・膵の細胞死を惹起することを証明し得た。
- 2) これによって、-6 系のリノール酸を主成分とするサラダ油が、アルツハイマー病や 2 型糖尿病、NASH などの生活習慣病の原因物質であると疑われた。
- 3) アルツハイマー病や 2 型糖尿病、NASH などの生活習慣病の根本原因である細胞死は、実は脳梗塞と共通性の高い分子基盤によって生じることを証明し得た。

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



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

- 1) Implication of GPR40 signaling in the subventricular zone neurogenesis after ischemia via cross-talk between neural progenitors and microglia. Maryia Y Dazortsava, Ilya V Pyko, Nadezhda B Boneva, Anton B Tonchev, Zhu H, Sawamoto K, Minabe Y, Yamashima T. J Alz Dis Park. 8.454:1-14, 2018. 査読有
- 2) The scourge of vegetable oil – Destroyer of nations. Yamashima T. J Alz Dis Park. 8.4:1-4, 2018. 査読有
- 3) Vegetable oil: Real culprit behind Alzheimer’s disease. Yamashima T. J Alz Dis Park. 7.6:1-3, 2017. 査読有
- 4) Can ‘calpain-cathepsin hypothesis’ explain Alzheimer neuronal death? Yamashima T. Age Res Rev. 32:169-179, 2016. 査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

- 1) 血流改善の漢方薬「パナパール」によるアルツハイマー病の予防的治療 第27回海馬と高次脳機能学会(招待講演) 山嶋哲盛 2018年9月30日 東京
- 2) Role of GPR40 for PUFA-mediated BDNF synthesis in the monkey Hippocampus. Tetsumori Yamashima, Arumugam Marhivanan. Neuroscience 2016, Nov 16, SanDiego

〔図書〕(計 1 件)

- 1) Cooking oil makes genius or Alzheimer ! Yamashima T., Austin Macauley (London), pages 1-192, 2017.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年：
 国内外の別：

取得状況(計 1 件)

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

名称：器質的脳障害に起因する高次脳機能の低下に対する改善作用を有する組成物

発明者：石倉義之、山嶋哲盛

権利者：サントリー、金沢大学

種類：特許権

番号：第6095615号

取得年：2017

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者 該当なし

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者 該当なし

ローマ字氏名：

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。