

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07802

研究課題名(和文) 外因性コレステロール酸化物の生体内移行特異性、代謝及び炎症作用とその予防策の追究

研究課題名(英文) Pharmacokinetics, metabolism or inflammation of cholesterol oxidation products and their preventive measures

研究代表者

長田 恭一 (Osada, Kyoichi)

明治大学・農学部・専任教授

研究者番号：30271795

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：コレステロール酸化物(COP)の体内動態と代謝を検証した。食事由来COPは小腸から吸収後、リポタンパク質に組み込まれて末梢組織に移行することが明らかとなった。また、脳にもCOPが移行することが明らかとなった。7-ketocholesterolの代謝についてはラットでは雌雄間で異なっていた。さらに、COPの一部はグルクロン酸抱合された後に排出され可能性が考えられた。次に、食事由来COPの有害性を防止する食品成分を検索した。その結果、プレニル化フラボノイドであるキサントフモールは、小腸のNPC1L1の遺伝子発現を低下させて、また、単純拡散を干渉してCOP吸収を阻害することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食事由来COPの体内動態やクリアランスを含めた代謝は不明な点が多い。本研究ではCOPがリポ蛋白質に組み込まれて末梢組織に移行すること、とくに、脳組織にも移行することが初めて明らかになった。さらに、雌雄間での代謝が異なること、体外排泄にグルクロン酸抱合化が関与することも新たに明らかになった。一方、疎水性のフラボノイドを予め摂取することでCOPの吸収を抑えて有害な影響を防止できることが明らかとなった。加工食品を摂取する機会が多くCOPの摂取量も増大していると考えられる。本研究で得られた知見よりCOPの生体に与える影響とその影響を最小化するための方策の一端が明らかになったと考えている。

研究成果の概要(英文)：Pharmacokinetics and metabolism of cholesterol oxidation products (COP) was examined in this study. Dietary COP was transferred to peripheral tissue by incorporation in lipoprotein after absorption from intestine. The transitivity to brain of dietary COP was also observed. Metabolism of 7-ketocholesterol was different between male and female in rats. A part of COP may be excreted after glucuronic acid conjugation. Thus, a part of the metabolism of unknown COP was elucidated in this study. Moreover, food composition which prevented hazardousness of dietary COP was examined. Prenylated flavonoid, xanthohumol, inhibited COP absorption from intestine by modulation of gene expression of NPC1L1 and interference of simple diffusion. Therefore, hydrophobic flavonoids may inhibit hazardousness of dietary COP.

研究分野：農芸化学

キーワード：コレステロール コレステロール酸化物 体内動態 脂質代謝 脳 吸収

1. 研究開始当初の背景

近年、日本人の食内容は多様化し、それに伴って COP の摂取量も多くなっていると予想された。COP は急性毒性を示さないが、蓄積性が高いことがこれまでの研究で明らかになっている。しかし、臓器別にその蓄積特異性を分子種毎に調べた例はなかった。また、脂質代謝には性差による影響や加齢に伴う変動があり、COP の影響も異なってくると考えられた。さらには、COP の有害性を制御する食品成分やその制御作用の機序についても未解明であった。

2. 研究の目的

食の多様化が進み、日本人の COP 摂取量は漸増していると予想されが、その体内動態と有害な影響、代謝クリアランス、また、有害作用の制御に関する情報は不明な点が多い。本研究では、COP について、分子種毎の臓器別蓄積の特異性、クリアランスの性差と年齢の違いによるクリアランスの違い、脳への移行性、食品成分による有害性制御に焦点を当て、COP の有害作用に伴う健康被害の防止策を提示するための基礎知見を提示することを目的とした。

3. 研究の方法

1 COP の体内動態

5 週齢 Wistar 系雄ラットに、0.5% COP を含む飼料を 10 日間与え、種々の組織内の COP レベルを GC-MS を用いて測定した。

2 年齢および性の違いによる COP 代謝の変化

年齢および性の違いによる COP 代謝の変化を検討した。特に、COP 分子種の中でも生体内に高濃度で検出される 7-ketocholesterol に着目し、その代謝の年齢および性の違いによる変化を検討した。

3 外因性 COP の組織移行性

異系統のラットでの外因性 COP の生体内分布及び蓄積性、特に脳組織への移行性に関する検討した。Wistar 系ラットに加えて、小腸上皮細胞の ABCG5/8 の遺伝子異常により植物ステロールを体内に蓄積しやすい SHR ラット及びその対照である WKY ラットに COP を投与することで、外因性 COP の生体内への取り込みレベルの差異と脳への移行性について解析した。

4 キサントフモール (XH) によるコレステロール酸化物の吸収制御

5 週齢の Wistar 系雄性ラットに基準食を与えた対照群、基準食に 0.25% の COP 混合物を添加した飼料を与えた COP 群、あるいは基準食に 0.25% の COP 混合物と XH を 1% 添加した飼料を与えた XH 群の 3 群に分けて 2 週間飼育し、各臓器の COP レベル、脂質代謝パラメータと糞中のステロイドレベルを測定した。次に、4 週齢の ICR 系雄性マウスに予め生理食塩水 (C 群) あるいは XH を胃内強制投与 (XH 群) し、その後 β -sitosterol-d7 を含むミセル溶液を胃内に投与した。投与 3 時間後の血漿と肝臓の β -sitosterol-d7 レベルと小腸粘膜のコレステロールトランスポーターの遺伝子発現レベルを解析した。

4. 研究成果

1 COPの体内動態

COPを投与しなかった場合と比べて、肝臓と血漿では主要なCOP分子種レベルが高くなり、keto型COPの蓄積による動脈硬化発症リスクが高まると予想された。さらに、腎臓や心臓、皮下及び内臓脂肪組織からもCOPが検出された。また、生体内ではCOP蓄積については部位特異性があると考えられた。次に、6週齢Wistar系雄性ラットにCOPを経口投与し、経日的なCOP体内動態を検討した。その結果、血漿、VLDL、LDLでは、経日的にCOPレベルが増大した。一方、肝臓及びHDLでは、投与前と比べてCOP投与後1日目でCOPレベルが最大値となり、その後経日的に減少したが、HDLのCOPは7日目でもウォッシュアウトされなかった。よって、食事から摂取したCOPは小腸で吸収された後にリポタンパク質を介して全身へ運ばれることが明らかとなった。

2 年齢および性の違いによるCOP代謝の変化

7-ketocholesterolの代謝は性の違いによって変化することが明らかとなり、ラットにおいては雌に比べて雄で7-ketocholesterolが代謝されやすいのではないかと考えられた。in vivoで得られた結果と同様にラットの肝ミクロソームにおいても雌に比べて雄由来の方が7-ketocholesterolが代謝されやすいことが明らかとなった。COPはin vitroではUGT1A3及びUGT2B7の抱合化酵素によって抱合化された。また、COPをラットに投与し、生体内組織及び排泄物を解析したところ、一部のCOP分子種のグルクロン酸抱合体が胆汁、血漿、あるいは尿で検出され、ラット生体内においてグルクロン酸抱合体が生成することが明らかになった。

3 外因性COPの組織移行性

脳内各部位で神経細胞に対して毒性を示す7 β -hydroxycholesterolと7-ketocholesterolのレベルがCOPの投与により高くなった。特に7-ketocholesterolのレベルはSHRラットで高くなったことから、遺伝子発現レベルの低くなっていたABCG1が脳からのCOPの排出に重要な役割を果たしていることが示唆された。また、他のCOPとして、cholestanetriol、4 β -hydroxycholesterol及び6-ketocholestanolも比較的高いレベルで検出された。

4 キサントフモール(XH)によるCOPの吸収制御

COP投与群と比べてXH投与群では血漿、肝臓、またその他の組織で種々のCOPレベルは低くなり、その一方で糞中に排泄されたCOPレベルはXH投与群で最も高くなった。COPによるコレステロール異化阻害作用は、XHとCOPを同時摂取した場合に見られなくなった。その機序を求めるため、XHを β -sitosterol-d7投与1時間前に与え、その後 β -sitosterol-d7を投与して3時間後の血漿と肝臓の β -sitosterol-d7レベル及び小腸粘膜のコレステロールトランスポーターの遺伝子発現レベルを解析した。その結果、 β -sitosterol-d7の生体内への取り込みレベルは血漿と肝臓両者ともにCOP投与群よりもXH投与群で有意に低下した。また、小腸粘膜のNPC1L1のmRNA発現レベルもXHの投与により有意に低くなった。以上の結果から、XHはNPC1L1の発現を抑制して生体に有害なCOPの吸収を阻害したと考えられた。この作用によってCOPによる脂質代謝変動が抑えられたと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 中堀 紘花、加藤慧士、長田 恭一	4. 巻 61
2. 論文標題 ラットにおける外因性酸化コレステロールの組織蓄積性、特に脳組織におけるその分布	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 脂質生化学研究	6. 最初と最後の頁 102 - 105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yasuyo Oshima, Tasuku Watanabe, Shun Endo, Shuichi Hata, Tsuyoshi Watanabe, Kyoichi Osada, Asako Takenaka	4. 巻 82
2. 論文標題 Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on anxiety-like behavior in socially isolated rats in	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 716-723
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2017.1403888	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Koki Takahashi, Kyoichi Osada	4. 巻 66
2. 論文標題 Effects of isoflavone supplementation on disturbances in lipid metabolism and antioxidant system due to exogenous cholesterol oxidation products in rats	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Oleo Science	6. 最初と最後の頁 531-541
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5650/jos.ess16234	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 谷澤郁、小栗幹也、長田恭一、戸田登志也	4. 巻 59
2. 論文標題 更年期の脂質代謝異常に対する共役リノール酸と大豆イソフラボンの同時摂取による予防効果	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 脂質生化学研究	6. 最初と最後の頁 225-229
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中堀 紘花、石川 航也、一色 祐佳、長田 恭一
2. 発表標題 異系統のラットの脳における外因性酸化コレステロール分子種の移行性の違い
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 中堀 紘花、石川 航也、一色 祐佳、長田 恭一
2. 発表標題 異系統のラットにおける 外因性酸化コレステロールの 脳への移行性
3. 学会等名 日本食品化学工学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤慧士 中堀紘花 長田恭一
2. 発表標題 外因性コレステロール酸化物の抱合化機構の検討
3. 学会等名 日本油化学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤慧士 中堀紘花 石川航也 長田恭一
2. 発表標題 ラットにおけるフェノフィブラート投与による外因性酸化コレステロールの抱合化と排出の変動
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤慧士、中堀紘花、長田恭一
2. 発表標題 食事由来酸化コレステロールの体内動態及びその排出機構の検証
3. 学会等名 日本栄養食糧会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中堀紘花、加藤慧士、長田恭一
2. 発表標題 外因性酸化コレステロールの体内動態及び蓄積性の検討
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2018年

〔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	高橋 光輝 (Takahashi Koki)		
研究協力者	中堀 紘花 (Nakahori Hiroka)		
研究協力者	慧士 慧士 (Kato Satoshi)		

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	航也 航也 (Ishikawa Koya)		
研究協力者	一色 祐佳 (Issiki Yuuka)		

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