

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：32670

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11725

研究課題名(和文) モデルマウスを利用した日本人の静脈血栓症に関わる食事要因の解明

研究課題名(英文) Investigation of dietary factors related to venous thromboembolism in Japanese using mouse models

研究代表者

坂野 史明 (BANNO, Fumiaki)

日本女子大学・家政学部・講師

研究者番号：00373514

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では複数のマウスモデルを用いて静脈血栓塞栓症に及ぼす食品成分の影響を解析した。その結果、n-3系多価不飽和脂肪酸、黒酢および黒酢もろみ末の摂取がマウスの深部静脈血栓症および肺血栓塞栓症の抑制に有効であることが明らかとなった。n-3系多価不飽和脂肪酸の中では、特にエイコサペンタエン酸とドコサヘキサエン酸の作用が強く、主に血小板機能の抑制を介して症状を軽減させた。 ω -リノレン酸は有効性では劣るものの、血液凝固反応に対して特有の抑制活性をもつ可能性が示唆された。黒酢成分は主として凝固機能の抑制を介して症状を軽減させた。黒酢もろみ末の摂取は血小板凝集活性を抑制し、静脈血栓塞栓症症状も低下させた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

静脈血栓塞栓症の重症化予防に有効な食品成分の働きが明らかとなり、日本人の静脈血栓症予防策の充実につながる成果が得られた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed the effects of dietary factors on venous thromboembolism using multiple mouse models. Ingestion of n-3 polyunsaturated fatty acids, black vinegar and black vinegar insoluble residue was effective in suppressing the aggravation of deep vein thrombosis and pulmonary thromboembolism in mice. Among the n-3 polyunsaturated fatty acids, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid were particularly effective, and improved venous thromboembolism mainly through suppression of platelet function. Although ω -linolenic acid was relatively less effective, it may have a peculiar inhibitory activity on blood coagulation reactions. The black vinegar concentrate reduced the symptoms of venous thromboembolism mainly through suppression of coagulation function. Administration of black vinegar insoluble residue suppressed platelet aggregation and reduced venous thromboembolism.

研究分野：栄養生化学、食品生化学、血栓止血学

キーワード：静脈血栓塞栓症 疾患モデル マウス 食品機能

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

静脈血栓塞栓症は主に下肢の深部静脈に形成される血栓による深部静脈血栓症と、その静脈血栓が剥離して肺動脈を閉塞することで生じる肺血栓塞栓症の総称である。日本でも、食生活の欧米化や高齢化、診断率の向上等に伴い、特に 1990 年代以降急増してきた。肺血栓塞栓症の急性期死亡率は約 30%と高く、且つ死亡例の約 40%は 1 時間以内と極めて短時間で突然死に至ることから、治療が難しく、徹底した予防が重要になる。また、静脈血栓塞栓症の発症率は加齢によって上昇し、震災等の災害や航空機利用に伴う長時間の同一姿勢の継続が発症を誘発する(エコノミークラス症候群として知られる)。このため、超高齢化、地震、長時間移動等の発症リスクが重なる日本においては、とりわけ重大な問題となる。また直近では、新型コロナウイルス感染患者が自宅等で療養する際に静脈血栓塞栓症が起こりやすいことから、日本静脈学会が注意を促していた。

研究開始当初まで、動脈硬化を基盤として発症する動脈血栓症(脳梗塞、心筋梗塞など)に対する食品やその成分の影響については、数多くの検討がなされてきたが、静脈血栓塞栓症の発症や予防に関わる食品や栄養成分の情報は圧倒的に少ない状況にあった。

2. 研究の目的

本研究では、複数のマウス深部静脈血栓症モデルおよびマウス肺血栓塞栓症モデルを用いて静脈血栓塞栓症に対する食品成分の効果を検証することで、静脈血栓塞栓症の予防・治療に応用可能な食事要因を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) n-3 系多価不飽和脂肪酸の摂取が静脈血栓塞栓症に及ぼす影響

C57BL/6J マウスにコントロール食(n-6 系多価不飽和脂肪酸のみを含む)または α -リノレン酸含有食、エイコサペンタエン酸含有食、ドコサヘキサエン酸含有食を与えて 2 週間飼育後、深部静脈血栓症または肺血栓塞栓症を誘発し、症状を比較解析した。

深部静脈血栓症への影響

マウス下大静脈にステンレス電極を挿入して 250 μ A・15 分間通電した。電極の電気分解の結果生じるフリーラジカルにより、血管内皮細胞が活性化し、血栓形成が誘発される。生じる血栓が最大となる処置 2 日目に採血後、実体顕微鏡下に下大静脈内血栓を取り出し、その重量を測定した。

肺血栓塞栓症への影響

マウスに血小板凝集を惹起するコラーゲン + アドレナリン溶液または、血液凝固反応を活性化する組織因子を下大静脈から投与することで急性肺塞栓を惹起し、呼吸停止までの時間を 20 分間測定して生存率を調べた。また、呼吸停止 2 分後に右心室から Evans blue を注入し、肺全体の染色像から肺血管閉塞スコア(0 = 閉塞無し~4 = 完全閉塞の 5 段階)を判定した。

(2) 黒酢および黒酢もろみ末の摂取が静脈血栓塞栓症に及ぼす影響

C57BL/6J マウスにコントロール食または黒酢濃縮液含有食、黒酢もろみ末含有食を与えて 3 週間飼育後、深部静脈血栓症または肺血栓塞栓症を誘発し、症状を比較解析した。

深部静脈血栓症への影響

マウス下大静脈にステンレス電極を挿入して 250 μ A・15 分間通電した。電極の電気分解の結果生じるフリーラジカルにより、血管内皮細胞が活性化し、血栓形成が誘発される。生じる血栓が最大となる処置 2 日目に採血後、実体顕微鏡下に下大静脈内血栓を取り出し、その重量を測定した。

肺血栓塞栓症への影響

マウスに血小板凝集を惹起するコラーゲン+アドレナリン溶液または、血液凝固反応を活性化する組織因子を下大静脈から投与することで急性肺塞栓を惹起し、呼吸停止までの時間を 20 分間測定して生存率を調べた。また、呼吸停止 2 分後に右心室から Evans blue を注入し、肺全体の染色像から肺血管閉塞スコア (0 = 閉塞無し~4 = 完全閉塞の 5 段階) を判定した。

4. 研究成果

(1) n-3 系多価不飽和脂肪酸の摂取が静脈血栓塞栓症に及ぼす影響

深部静脈血栓症モデルによる解析の結果、下大静脈に形成された血栓重量はコントロール食群に比べて、すべての n-3 系多価不飽和脂肪酸群で低下し、その作用はエイコサペンタエン酸群およびドコサヘキサエン酸群で特に強かった。この両群では消耗性と考えられる血小板減少もコントロール食群に比べて改善しており、血小板凝集の抑制に伴って静脈血栓形成が軽減されたと考えられた。

肺血栓塞栓症モデルを用いた解析の結果、コラーゲン+アドレナリン投与後の生存率は、すべての n-3 系多価不飽和脂肪酸群でコントロール食群に比べて改善し、平均生存時間も 3-4 倍に延長した。深部静脈血栓症モデルの場合と同様に、この作用もエイコサペンタエン酸群およびドコサヘキサエン酸群で特に強かった。以上の結果から、n-3 系多価不飽和脂肪酸の中でもエイコサペンタエン酸およびドコサヘキサエン酸の摂取は、主に血小板凝集の抑制を介して、マウスの静脈血栓塞栓症状を軽減させることが明らかとなった。

一方、組織因子投与によって誘発した肺血栓塞栓症に対しては、3 種類の n-3 系多価不飽和脂肪酸の中で、 γ -リノレン酸の摂取が特異的に有効であり、コントロール食群に比べて生存率および平均生存時間が改善した。したがって、 γ -リノレン酸の摂取は、血小板凝集を契機とする静脈血栓形成に対しては、より長鎖の n-3 系多価不飽和脂肪酸に比べると有効性が劣るものの、他の n-3 系多価不飽和脂肪酸とは独立した機構で血液凝固を抑制することで、静脈血栓塞栓症状を軽減させる作用をもつ可能性が示唆された。

(2) 黒酢および黒酢もろみ末の摂取が静脈血栓塞栓症に及ぼす影響

深部静脈血栓症モデルによる解析の結果、黒酢濃縮液含有食および黒酢もろみ末含有食の摂取は、いずれもコントロール食の摂取に比べて、下大静脈内血栓の重量および血栓密度を低下させることが明らかとなった。

また、肺血栓塞栓症モデルを用いた解析の結果、血小板凝集の促進によって誘発される症状に対しては、黒酢もろみ末摂取が有効であり、血液凝固の促進によって誘発される症状に対しては黒酢濃縮液の摂取が有効であることが判明した。

黒酢および黒酢もろみ末の摂取は、いずれも静脈血栓形成を抑制するが、作用点が異なると考えられ、両者を複合的に活用することで、より有効性を高められる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 坂野史明, 大貫莉奈, 豊田理香, 坂野麻里子	4. 巻 42
2. 論文標題 緑色野菜中のビタミンK含量の変動要因に関する検討	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本臨床栄養学会雑誌	6. 最初と最後の頁 203-211
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 Akuta K, Kiyomizu K, Kashiwagi H, Kunishima S, Nishiura N, Banno F, Kokame K, Kato H, Kanakura Y, Miyata T, Tomiyama Y	4. 巻 18
2. 論文標題 Knock-in mice bearing constitutively active Il1b(R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Thromb Haemost	6. 最初と最後の頁 497-509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jth.14678	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 坂野麻里子, 坂野史明	4. 巻 19
2. 論文標題 フライ油の劣化過程における遊離脂肪酸生成機構	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 オレオサイエンス	6. 最初と最後の頁 89-92
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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 坂野史明, 藤本健四郎, 坂野麻里子
2. 発表標題 マウス静脈血栓塞栓症モデルにおけるn-3系多価不飽和脂肪酸摂取の予防効果
3. 学会等名 第42回日本血栓止血学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 坂野史明
2. 発表標題 静脈血栓塞栓症に対するn-3系多価不飽和脂肪酸の効果
3. 学会等名 第7回あしなが予防医学研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 宮田敏行, 坂野史明, 柳本広二, 杉本充彦	4. 発行年 2021年
2. 出版社 エル・アイ・シー	5. 総ページ数 594
3. 書名 モデル動物の作製と利用 - 循環器疾患2021 上巻	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------