

機関番号：12611

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20300244

研究課題名（和文） 抗酸化食品による動脈硬化予防作用に関する多面的研究

研究課題名（英文） Pleiotropic effects of dietary antioxidants against atherosclerosis progression

研究代表者 近藤 和雄 (KONDO KAZUO)

お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・教授

研究者番号：30153711

研究成果の概要（和文）：ポリフェノール、カロテノイド、ビタミン C、E を中心とした抗酸化食品成分を用いて、動脈硬化の危険因子として、血管内皮機能障害、マクロファージの活性化、脂肪細胞の肥大化に対する影響を検討した。血管内皮細胞においては活性酸素種産生、炎症性サイトカイン発現、単球接着といった炎症反応を抑制することが示された。マクロファージにおける MMP 産生、スカベンジャー受容体発現、さらには泡沫化を抑制する可能性が見出された。脂肪細胞においても分化を抑制しインスリン抵抗性を改善する可能性が示された。抗酸化食品成分は、その抗酸化作用のみならず、多面的な抗動脈硬化作用を発揮する可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：We investigated the effects of dietary antioxidants, such as polyphenols, carotenoids, vitamin C and vitamin E, on endothelial dysfunction, macrophage activation, and adipocyte differentiation. Dietary antioxidants decreased reactive oxygen species production, inflammatory cytokines expression and monocyte adhesion in endothelial cells. They inhibited MMP secretion, scavenger receptors expression and foam cell formation and also suppressed adipocyte differentiation. These results showed the pleiotropic effects of dietary antioxidants against atherosclerosis progression beyond their antioxidative potency.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
2009 年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2010 年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：動脈硬化、抗酸化、血管内皮、脂肪細胞

1. 研究開始当初の背景

動脈硬化の発症・進展には、生活習慣の中でも特に食生活が大きく関わっている。食品中には様々な抗酸化物質が含まれており、我々は毎日の食事において魚や野菜、穀類、茶類等から抗酸化物質を豊富に摂取している。申請者はこれまでに食品による動脈硬化予防として、抗酸化物質による LDL 酸化抑

制作用を明らかにしてきた。

動脈硬化は、①LDL の酸化変性に続いて、②単球の Rolling、③接着因子の発現、④単球のマクロファージ化、⑤マクロファージの泡沫化と進む。⑥マクロファージや泡沫細胞からは MMP が分泌され、プラークを破綻しやすい状態にする。また、脂肪細胞から分泌される⑦アディポサイトカインはマクロフ

アージュや血管内皮細胞の機能に大きく関与することが報告されている。

動脈硬化予防に関する研究は、薬剤の作用を検討したものが中心であり、食品については科学的エビデンスを有する研究は多くはない。

動脈硬化の発症・進展には、様々な危険因子があり、それらは一見すると個別に作用しているように見えるが、全身の組織でのクロストークによって調節を受けていることが近年明らかとなってきた。このことから、それぞれの組織における作用を単独で見ると、相互作用を考えつつ、一連の流れの中で、動脈硬化予防作用を検討することが必要である。

2. 研究の目的

我々は、動脈硬化を一連の応答反応と捉え、食品因子の有する作用を細胞レベルで検討し、作用メカニズムの解明、さらにはヒトが摂取した際の実際の効果を併せ、動脈硬化予防作用について多面的に検討することを計画した。具体的には、抗酸化物質（ポリフェノール、カロテノイド、ビタミンC、E等）を対象に、更なる動脈硬化予防作用として、「酸化LDLによる血管内皮機能障害」、「脂肪細胞の肥大化に伴う炎症反応」、「マクロファージの活性化」に対する抑制機序を検討する。さらに、ヒトが摂取した際の効果を併せて検討することで、抗酸化食品の多面的な動脈硬化予防作用を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 血管内皮機能障害抑制作用の検討

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用い、血管内皮細胞を介したLDLの酸化に対して抗酸化食品が抑制作用を有するか検討した。さらに活性酸素種産生量をDCFH-DA試薬を用いて測定し、抗酸化酵素 (Catalase、SOD等) についてもreal time PCR、Western Blot法で検討した。

さらに血管内皮における炎症反応として重要な単球接着に対する影響を static adhesion assay で検討し、接着分子発現についても Western Blot 法測定した。

(2) マクロファージの活性化抑制作用の検討

ヒト単球系細胞 (THP-1) マクロファージを用い、プラークの破綻を惹起するMMP-9の産生をゼラチンザイモグラフィ法にて測定した。また、酸化LDLにより誘導される泡沫化に対して抗酸化食品が抑制作用を有するか検討した。さらにそのメカニズムとして考えられるスカベンジャー受容体 (SR-A、CD36、LOX-1) 発現やコレステロールエフラ

ックスに及ぼす影響を real time PCR、Western Blot 法を用いて検討した。

(3) 脂肪細胞に対する抗炎症作用の検討

マウス前駆脂肪細胞 (3T3-L1) を用い、脂肪細胞の分化やアディポサイトカインの分泌に及ぼす影響を Oil red O 染色、GPDH 活性、real time PCR 法にて検討した。さらにインスリンシグナル伝達経路の活性化を Western Blot 法にて検討し、インスリン感受性に及ぼす影響を併せて検討した。

4. 研究成果

果実 (レモン、ライチ)、薬物野菜 (シソ、サツマイモ葉部) はポリフェノールを豊富に含み、ヒトに摂取させた場合にも LDL の酸化を抑制することが明らかになった。さらに、血管内皮細胞を介した LDL の酸化を抑制し、血管内皮細胞への単球の接着を減少させたことから、血管内皮における炎症反応を改善させる可能性が示された。

次に、高血糖刺激による血管内皮機能障害に着目し、ビタミンC、ビタミンE、アスタキサンチン等の抗酸化物質を用いて検討を行ったところ、活性酸素種産生、炎症性サイトカイン発現を抑制し、さらに作用機序として PKC- β II の活性化抑制が関与している可能性を見出した。

また、マクロファージの活性化に対する影響を、アスタキサンチン、レモン、ライチ、バルサミコ酢について検討した。その結果、MMP-9の活性を抑制し、酸化LDLの取り込みに関与するスカベンジャー受容体の発現を抑制することで泡沫化を抑制する可能性が示された。

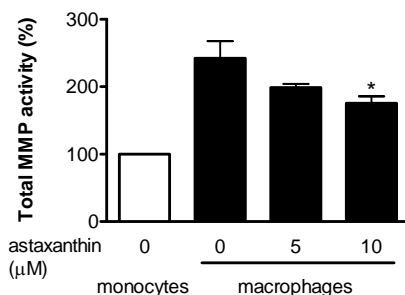


図1. アスタキサンチンによるMMP活性抑制作用

脂肪細胞の分化に対して、ビタミンEがAkt経路を介して抑制的に働くことも報告した。

以上、本研究よりポリフェノールやカロテノイド、ビタミンC、ビタミンEなどの抗酸化物質は、その抗酸化作用に加え、血管内皮機能障害やマクロファージ活性化といった血管炎症を改善することが明らかとなり、動脈硬化予防に寄与する可能性が示唆された。

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 20 件) *全て査読あり

1. Uto-Kondo H, Kondo K et al: Tocotrienol suppresses adipocyte differentiation and akt phosphorylation in 3T3-L1 preadipocytes. *J Nutr* 139: 51-57, 2009
2. Fukushima Y, Kondo K et al: Coffee and Green Tea As a Large Source of Antioxidant Polyphenols in the Japanese Population. *J Agric Food Chem* 57(4): 1253-1259, 2009
3. Kamiyama M, Tani M, Kondo K et al: Effects of equol on oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis in endothelial cells: *J Atheroscler Thromb* 16(3): 239-249, 2009
4. Kamiyama M, Tani M, Kondo K et al: Inhibition of Low-density Lipoprotein Oxidation by Nagano Purple Grape (*Vitis vinifera* x *Vitis labrusca*). *J Nutr Sci Vitaminol* 55(6): 471-478, 2009
5. Miyake Y, Kondo K et al: Preparation of a Lemon Flavonoid Aglycone and its Suppressive Effect on the Susceptibility of LDL to Oxidation Following Human Ingestion. *Food Sci Technol Res* 15: 83-88, 2009
6. Kishimoto Y, Tani M, Kondo K et al: Astaxanthin suppresses scavenger receptor expression and matrix metalloproteinase activity in macrophages: *Eur J Nutr* 49(2): 119-26, 2010
7. Kishimoto Y, Tani M, Kondo K et al: Effects of magnesium on postprandial serum lipid responses in healthy human subjects: *Br J Nutr* 103(4): 469-472
8. Sone Y, Kondo K, Otsuka Y et al: Association of lifestyle factors, polymorphisms in adiponectin, perilipin and hormone sensitive lipase, and clinical markers in Japanese males. *J Nutr Sci Vitaminol* 56(2): 123-31, 2010
9. Iizuka M, Tani M, Kondo K et al: Inhibitory effects of balsamic vinegar on LDL oxidation and lipid accumulation in THP-1 macrophages. *J Nutr Sci Vitaminol* 49: 119-126, 2010
10. Nagai M, Tani M, Kondo K et al: Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) Leaves

Suppressed Oxidation of Low Density Lipoprotein (LDL) in Vitro and in Human Subjects. *J Clin Biochem Nutr* 8(3): 203-208, 2011

[学会発表] (計 123 件)

1. 才田恵美, 近藤和雄, 他: "シソの LDL 被酸化能に関する研究" 第 62 回日本栄養・食糧学会大会. (20080502-20080504). 女子栄養大学(埼玉)
2. 村上香純, 近藤和雄, 他: "べにふうき 緑茶の LDL に対する抗酸化能の検討" 第 62 回日本栄養・食糧学会大会. (20080502-20080504). 女子栄養大学(埼玉)
3. 飯塚麻貴, 近藤和雄, 他: "LDL 酸化抑制に及ぼすバルサミコ酢の影響" 第 62 回日本栄養・食糧学会大会. (20080502-20080504). 女子栄養大学(埼玉)
4. 永井美宇, 近藤和雄, 他: "サツマイモ 葉部における抗酸化能の検討" 第 62 回日本栄養・食糧学会大会. (20080502-20080504). 女子栄養大学(埼玉)
5. 神山真澄, 近藤和雄, 他: "味噌の発酵・熟成過程における機能性成分についての検討" 第 62 回日本栄養・食糧学会大会. (20080502-20080504). 女子栄養大学(埼玉)
6. 野本佳世子, 近藤和雄, 他: "柑橘類果皮の動脈硬化抑制作用に及ぼす影響" 第 62 回日本栄養・食糧学会大会. (20080502-20080504). 女子栄養大学(埼玉)
7. 平田悠美子, 近藤和雄, 他: "ライチ由来ポリフェノールの血管内皮細胞を介した抗 LDL 酸化作用に関する検討" 第 62 回日本栄養・食糧学会大会. (20080502-20080504). 女子栄養大学(埼玉)
8. 谷真理子, 近藤和雄, 他: "レモンフラボノイドによる血管内皮細胞への単球接着作用" 第 62 回日本栄養・食糧学会大会. (20080502-20080504). 女子栄養大学(埼玉)
9. 岸本良美, 近藤和雄, et al: "Astaxanthin suppresses matrix metalloproteinases (MMPs) activity and scavenger receptors expression in macrophages" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS. (20090615-20090619). Boston, USA
10. 岸本良美, 近藤和雄, et al: "Effects of lychee polyphenol on postprandial serum lipid responses in healthy human subjects" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM

- ON Atherosclerosis. (20090615-20090619). Boston, USA
11. 谷真理子, 近藤和雄, et al: "Lemon flavonoids reduce homocysteine-induced monocyte inflammation" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS. (20090615-20090619). Boston, USA
 12. 谷真理子, 近藤和雄, et al: "Lychee polyphenol inhibit LDL oxidation and adhesion molecule expression in human endothelial cells" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS. (20090615-20090619). Boston, USA
 13. 才田恵美, 近藤和雄, et al: "The antioxidant activities of perilla frutescens against LDL oxidation in vitro and in vivo" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS. (20090615-20090619). Boston, USA
 14. 飯塚麻貴, 近藤和雄, et al: "The effect of balsamic vinegar on LDL oxidation and foam cell formation" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS. (20090615-20090619). Boston, USA
 15. 鈴木佳織, 近藤和雄, et al: "The effect of lychee fruit-derived polyphenol on LDL oxidation and matrix metalloproteinase activation" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS. (20090615-20090619). Boston, USA
 16. 永井美宇, 近藤和雄, et al: "Effects of sweet potato (ipomoea batatas l.) leaves on LDL oxidation and ros production" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS. (20090615-20090619). Boston, USA
 17. 豊崎美紅, 近藤和雄, et al: "Effect of coffee on flow-mediated vasodilatation of the brachial artery" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS. (20090615-20090619). Boston, USA
 18. 村上海純, 近藤和雄, et al: "The effect of benifuki green tea on LDL oxidization : XV International Symposium on Atherosclerosis" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS. (20090615-20090619). Boston, USA
 19. 杉原規恵, 近藤和雄, et al: "Effects of red beet on LDL oxidation and reactive oxygen species (ROS) production" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS. (20090615-20090619). Boston, USA
 20. 竹中香織, 近藤和雄, et al: "Effect of the brown seaweed hizikia fusiformis on post prandial serum lipid responses in healthy human subjects" XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ATHEROSCLEROSIS. (20090615-20090619). Boston, USA
 21. 谷真理子, 近藤和雄, 他: 脂肪摂取後の白血球の活性化に対するレスベラトロールの影響 : 第64回日本栄養・食糧学会大会、2010年5月、徳島
 22. 岸本良美, 近藤和雄, 他: 脂肪摂取後の血管内皮機能障害に対するレスベラトロールの影響 : 第64回日本栄養・食糧学会大会、2010年5月、徳島
 23. 才田恵美, 近藤和雄, 他: 酸化LDLによる血管内皮障害に対するシソの影響 : 第64回日本栄養・食糧学会大会、2010年5月、徳島
 24. 杉原規恵, 近藤和雄, 他: 高血糖による血管内皮機能障害に対する抗酸化ビタミンの影響 : 第64回日本栄養・食糧学会大会、2010年5月、徳島
 25. 竹中香織, 近藤和雄, 他: レスベラトロールはTG-richリポ蛋白による血管内皮炎症反応を抑制する : 第64回日本栄養・食糧学会大会、2010年5月、徳島
 26. 飯塚麻貴, 近藤和雄, 他: 血管内皮細胞の活性化に対する紅麴の影響 : 第64回日本栄養・食糧学会大会、2010年5月、徳島
 27. 升永えりか, 近藤和雄, 他: ピスタチオのLDLに対する抗酸化能の検討 : 第64回日本栄養・食糧学会大会、2010年5月、徳島
 28. 田仲結子, 近藤和雄, 他: LDL酸化並びに食後の血糖上昇に対する赤米及び黒米の影響 : 第64回日本栄養・食糧学会大会、2010年5月、徳島
 29. 志賀楓子, 近藤和雄, 他: 血管内皮細胞での活性酸素種産生に対するイチゴの影響 : 第64回日本栄養・食糧学会大会、2010年5月、徳島
 30. 神山真澄, 近藤和雄, 他: ヒト投与試験によるナガノパープルの抗酸化能の検討 : 第64回日本栄養・食糧学会大会、2010年5月、徳島
- [図書] (計11件)
1. 谷真理子, 近藤和雄: "全薬ジャーナル

- 「カルシウム摂取と循環器疾患」” 全薬工業株式会社. 12-15 (2009)
2. 谷真理子, 近藤和雄: “日本臨床 「糖尿病にみられる各種病態 脂質代謝異常 遊離脂肪酸とインスリン」 ” 株式会社日本臨床社. 45-48 (2008)
 3. 近藤和雄, 平田悠美子: “Functional Food 「動脈硬化と機能性食品」 ” フジメディカル出版. 121-126 (2008),
 4. 岸本良美, 近藤和雄: Modern Physician 「アルコールと生活習慣病」 (新興医学出版社). 752-754 (2009)
 5. 岸本良美, 近藤和雄: 食品保健の科学 「循環器系疾患の予防をする食品、消化器系疾患の予防をする食品」 (丸善株式会社). 95-107 (2009)
 6. 谷真理子, 近藤和雄: New Diet Therapy 「高血圧治療ガイドライン 2009」の概要 (日本臨床栄養協会). 3-10 (2009)
 7. 谷真理子, 岸本良美, 近藤和雄: ココア, チョコレートと高血圧・循環器病: 血圧: 17(8) : 692-696 : 2010
 8. 岸本良美, 谷真理子, 近藤和雄: 医療における機能性食品: ケミカルエンジニアリング (化学工業社) : 55(4) : 271-276 : 2010

[その他]

ホームページ等

<http://island.geocities.jp/kondolabocho/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 和雄 (KONDO KAZUO)

お茶の水女子大学・大学院人間文化創成科学研究科・教授

研究者番号: 30153711

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

谷 真理子 (TANI MARIKO)

お茶の水女子大学・生活環境教育研究センター・研究機関研究員

研究者番号: 90452028