

機関番号： 14501

研究種目： 基盤研究(C)

研究期間： 2008 ~ 2010

課題番号： 20590677

研究課題名(和文) 乳幼児突然死における脂質代謝異常に関する研究

研究課題名(英文) A comprehensive study on the sudden infant death syndrome (SIDS) and lipid metabolism.

研究代表者

上野 易弘 (UENO YASUHIRO)

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号： 30184956

研究成果の概要(和文)：乳幼児突然死症候群(SIDS)をはじめとする突然死発症の要因(①生体内における脂質代謝に不可欠なカルニチンの分子構造の違いが腸管吸収と代謝に及ぼす影響②神経芽腫細胞(GL261)におけるカルニチンの抗酸化作用と細胞老化(セネッセンス)の誘導機構③突然死発症の環境要因の一つである暑熱ストレスと日中の皮膚曝露温度との関係)について、生化学的・社会医学的観点より総合的に検討した。

研究成果の概要(英文)：To clarify the basic mechanism of sudden infant death syndrome (SIDS), we examined several studies from the standpoint of both biochemistry and epidemiology: i) Evaluation of intestinal absorption of carnitine by the difference of its molecular structure using intestinal cell culture model, ii) Mechanism of senescence and anti-aging effect of carnitine in mouse glioblastoma, iii) A comparative study of daily maximum and personally exposed temperatures during hot summer days in Kobe, Japan.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,300,000	690,000	299,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・法医学

キーワード：乳幼児突然死症候群・脂質代謝・カルニチン・抗酸化作用・暑熱ストレス

## 1. 研究開始当初の背景

乳幼児突然死症候群(SIDS)発症の一要因として挙げられる脂質代謝異常について、我々の過去の研究において、カルニチンを指標とした評価機構が既に確立されていたことから、カルニチンの分子構造の違いによる腸管吸収率の違いや、抗酸化作用と細胞老化(セネッセンス)を誘導に着目し、突然死との関連性について分子レベルにおける更なる検討を行う必要性があった。また、突然死

発症の環境因子となる暑熱ストレスについても、発症リスクとその予防についての検討を行う為、基礎データを収集する必要がある。

## 2. 研究の目的

乳幼児突然死症候群(SIDS)をはじめとする突然死発症の要因に関して生化学や社会医学の観点より総合的に検討するために、以下の3項目について検討を行った。

- (1) 生体内における脂質代謝に不可欠なカルニチンの分子構造の違いが腸管吸収と代謝に及ぼす影響
- (2) マウス神経膠芽腫細胞 (GL261) におけるカルニチンの抗酸化作用とセネッセンスの誘導機構
- (3) 突然死発症の環境要因の一つである暑熱ストレスと日中の皮膚曝露温度との関係

### 3. 研究の方法

- (1) カルニチンの分子構造と腸管吸収機構との関連について

ヒト由来小腸上皮細胞 (Caco2 cell) をハンギングタイプのディッシュにおいて培養し、電気抵抗値の測定による単層膜形成の確認後、分子構造の異なるカルニチンを小腸内壁側に添加し、吸収率を測定した。

- (2) マウス神経膠芽腫細胞 (GL261) におけるカルニチンの抗酸化作用とセネッセンスの誘導機構について

マウス神経膠芽腫 (GL261) をカルニチン添加培地で培養し、SA-β-gal 染色によるセネッセンス発現の観察及び様々なカルニチン濃度下における細胞の増殖能を測定した。

- (3) 暑熱ストレスと日中の皮膚曝露温度との関係について

夏季の一週間、兵庫県神戸市に居住し、事前調査において主に日中を自宅外で過ごす回答した男女 59 人 (男性 30 人、女性 29 人: 12~55 才) を対象に、小型携帯用モニター計で個人の曝露温度を測定した。また、同期間の生活状況について無記名自記式の調査を行った。

### 4. 研究成果

- (1) カルニチンの分子構造と腸管吸収機構との関連について

Caco-2 cell は、培養後 2 週間程度で破れない単層膜を形成した。

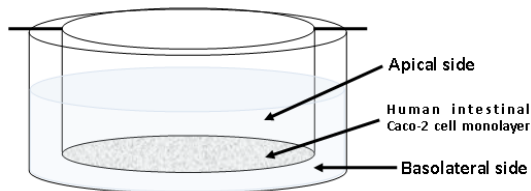


図 1. Caco-2 cell の単層培養

小腸内壁側に異なった分子構造を持つカルニチンを添加して、外壁側における吸収率

を測定した結果、分子構造の違いによる吸収率の差が認められた (一部未発表データを含むため、詳細省略)。現在、Caco-2 cell の単層培養は、腸管環境を in vitro で再現する有効な手段とされているが、実際の小腸とはグルコーストランスポーターが異なることや、細胞間輸送を制御するタイトジャンクションが実際の腸管上皮よりも狭いことから、親水成分の細胞間透過を正確に定量する為の工夫の必要性が明らかとなった。

- (2) 神経膠芽腫細胞 (GL261) におけるカルニチンの抗酸化作用とセネッセンスの誘導機構について

カルニチン添加培養群では、コントロール群に比べて増殖能が有意に低いこととセネッセンスの誘導が有意に上昇していることが認められた。

Increase Rate (x10<sup>2</sup>%)

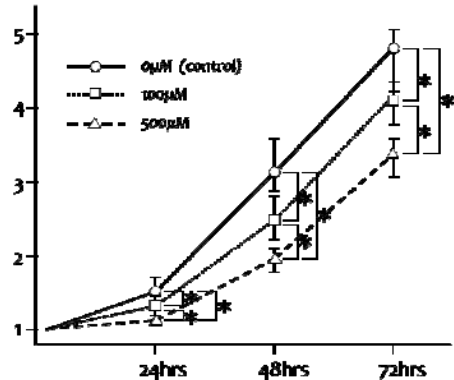


図 1. カルニチン濃度による増殖能の違い

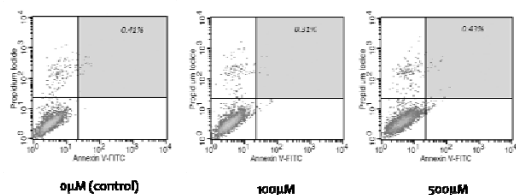


図 2. フローサイトメトリーによるアポトーシスの判定

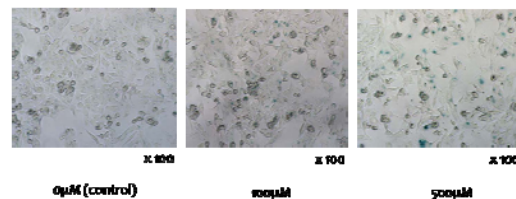


図 3. SA-β-gal 染色によるセネッセンスの発現

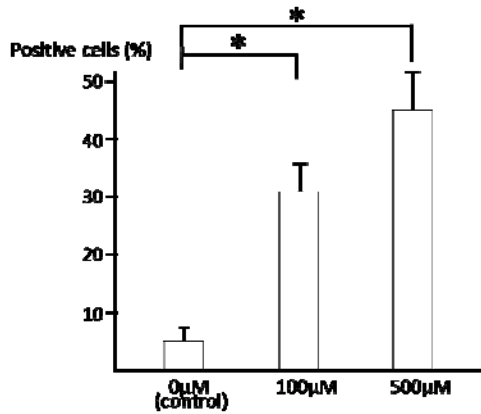


図4. カルニチン濃度によるセネッセンス誘導の違い

アンチエイジング物質として知られるカルニチンは、神経膠芽腫細胞に対しては細胞老化であるセネッセンスを誘導し、細胞増殖を抑制することが認められた。正常細胞と腫瘍細胞に対するカルニチンの効果が異なることは非常に興味深く、神経膠芽腫に対する新たな抗腫瘍効果をもたらす機序の解明に寄与できる可能性が示された。

(3) 暑熱ストレスと日中の皮膚曝露温度との関係について

日最高気温 (Tmax) が 30 度以上の日においても、昼間の個人曝露温度 (Tp) の平均値は約 29 度前後であり、Tp はこれらのレベル以上に上昇しないように調節されている傾向が明らかなることから、同温度近辺に暑熱ストレス耐性の閾値が存在することが示唆された。

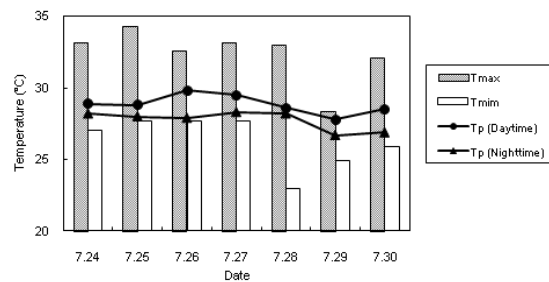


図1. 日最高/最低気温と平均 Tp

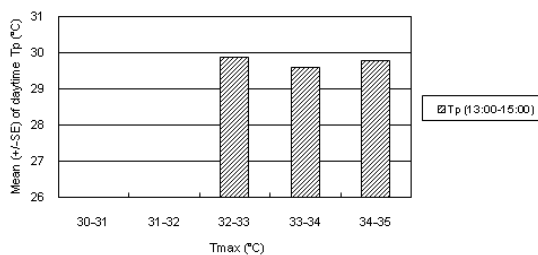


図2. Tmax が 30°C を超える日の日中平均 Tp

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 4 件)

- ① 岡本摩耶、上野易弘、消化管由来培養細胞を用いたカルニチンの腸管吸収性評価、医科学研究、査読有、in press
- ② Okamoto M, Ueno Y, A comparative study of daily maximum and personally exposed temperatures during hot summer days in Kobe, Japan, Curr Study Environ Med Sci, 査読有, 2, 2009, pp. 7-10
- ③ Okamoto M, Ueno Y, et al., Survey of sudden infant death syndrome (SIDS) awareness among younger generation in 8 countries, Curr Study Environ Med Sci, 査読有, 1, 2008, pp. 3-8
- ④ Okamoto M, Ueno Y, Air borne concentrations of fungal and indoor air pollutants in residences in Kobe, Japan, Curr Study Environ Med Sci, 査読有, 1, 2008, pp. 15-20

[学会発表] (計 3 件)

- ① 岡本摩耶、上野易弘 他、Mechanism of senescence and anti-aging effect of carnitine in mouse glioblastoma (GL261)、BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会合同大会)、2010年12月7日、神戸国際会議場、神戸国際展示場
- ② 岡本摩耶、上野易弘、個人別曝露温度を指標とした暑熱ストレス耐性の評価—神戸市における調査結果より、第68回日本公衆衛生学会総会、2009年10月23日、奈良県文化会館、奈良県新公会堂
- ③ 岡本摩耶、上野易弘、成人未挙児若年層における喫煙に関する意識調査、第67回日本公衆衛生学会総会、2008年11月7日、福岡国際会議場

[図書] (計 0 件)

[その他]

ホームページ等: 該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上野 易弘 (UENO YASUHIRO)  
神戸大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：30184956

(2) 研究分担者

浅野 水辺 (ASANO MIGIWA)  
神戸大学・大学院医学研究科・准教授  
研究者番号：90283879  
(H20)

岡本 摩耶 (OKAMOTO MAYA)  
神戸大学・大学院医学研究科・学術推進研究員  
研究者番号：10444209  
(H21→H22, H20:連携研究者)