

令和 5 年 5 月 9 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09323

研究課題名(和文) 植物性エストロゲンによる脳動脈瘤形成予防の解明

研究課題名(英文) Dietary Phytoestrogen Reduces Intracranial Aneurysm Formation in Ovariectomized Female Mice

研究代表者

平松 久弥 (Hiramatsu, Hisaya)

浜松医科大学・医学部・協定訪問共同研究員

研究者番号：70447803

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)：脳動脈瘤破裂は主に閉経前後の女性に多く、女性ホルモンの保護効果が期待されている。ただしエストロゲンの補充は卵巣癌や乳癌を悪化させたり、血管内に血栓を形成するなどの副作用が伴う。そこで我々は、直接エストロゲンを補充するのではなく、食事として摂取した物質がエストロゲンと類似することに着目した。植物性エストロゲンの代表的な大豆の主成分であるイソフラボンは腸内で女性ホルモンと似た物質へ変化することで、脳動脈瘤の形成を抑制することを示した。また腸内細菌を意図的に乱すことで保護効果が消失したことも示した。以上よりイソフラボンが脳動脈瘤の形成を抑制する上で有効であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸内細菌を介して生成された女性ホルモン類似物質は脳動脈瘤形成を抑制した結果から、疫学的に閉経前後の女性に多く発症する脳動脈瘤破裂によるくも膜下出血に関して、女性ホルモンが重要な役割を担っていることが本研究を通して示すことができた。脳動脈瘤形成・破裂の高リスクである閉経前後女性への食事療法および栄養学における予防医学観点から重要であり、新しい治療につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Postmenopausal women have a higher incidence of intracranial aneurysmal rupture than men of the same age. Equol, a phytoestrogen produced by the gut microbiota from dietary daidzein, is known to preferentially bind to estrogen receptor-beta. The aim of study is to verify equol supplement reduces intracranial aneurysm formation in ovariectomized female mice via gut microbiota.

In our experiment, we showed that dietary phytoestrogen significantly reduced intracranial aneurysm formation in ovariectomized female mice. Dietary phytoestrogen with vancomycin had high incidence of aneurysm formation.

Equol produced by the gut microbiota from dietary phytoestrogen may play important role in aneurysm formation.

研究分野：脳卒中

キーワード：植物性エストロゲン 腸内細菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 現在高血圧、糖尿病、喫煙など脳動脈瘤形成、破裂のリスク因子が多数報告されているが、疫学調査において閉経前後の女性に脳動脈瘤破裂が多いことからエストロゲンが脳血管に対する保護的な役割を担っている可能性が指摘されている(de Rooij NK et al, J Neurol Neurosurg Psychiatry 2007)。すなわち血管内皮細胞、血管平滑筋細胞に発現するエストロゲン受容体が、内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)を活性化し NO を産生することにより抗動脈硬化作用を有するとされている(図1)。マウス脳動脈瘤モデルにおいて卵巣摘出後メスマウスはオスマウスより脳動脈瘤発生率が有意に上昇し、一方非卵巣摘出メスマウスはオスマウスと脳動脈瘤発生率は同等であった(Tada Y et al, Neurosurgery 2014, Tada Y et al, Hypertension 2014)。以上よりエストロゲンによる脳動脈瘤の発生抑制効果が期待できることを示唆している。

(2) 植物性エストロゲン(phytoestrogen)は内分泌系より分泌されたエストロゲンではなく、植物に含まれるエストロゲン様活性をもつ外因性エストロゲンを指す。特に我々の身近にある食物で、大豆イソフラボン類の一部である Daidzein はエストロゲン様活性を持つと提唱されている。Daidzein は腸内細菌叢による代謝を受け、活性を変化させた誘導体 (Equol) としてエストロゲン受容体に作用すると考えられる。

2. 研究の目的

植物性エストロゲンの摂取により Equol がエストロゲン受容体 beta (ERbeta) に結合することで脳動脈瘤の発生、破裂に影響する炎症を抑制することを3年の研究期間もしくはそれ以下で検証を行う。植物性エストロゲンを多く含有しているイソフラボンの一部である Daidzein を経口摂取することで腸内細菌叢により代謝され Equol を生成することからイソフラボンに含まれる植物性エストロゲンを補充することで脳動脈瘤の発生、破裂の抑制へ寄与できることを解明する。マウス脳動脈瘤モデルにて植物性エストロゲンの補充、すなわち腸内細菌叢による植物性エストロゲンの代謝による非侵襲的な脳動脈瘤の発生および破裂予防の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) Equol の脳動脈瘤形成および破裂抑制効果の検証

Equol 投与群および Vehicle 投与群で脳動脈瘤形成率および破裂率に有意差があるかを検証する。C57/BL6 6週齢メスマウスを用いて片腎および両側卵巣を摘出後よりイソフラボンを含まない食餌を開始する。2週間後より Equol を osmotic pump に充填して皮下に埋め込み持続注入(0.5mg/day)を開始する。さらに1週間後にエラステーゼを髄液脳底槽に注入およびデオキシコルチコステロンを皮下に埋め込み、1%食塩水を飲料水として与えて高血圧を誘導する。その後3週間の観察期間で脳動脈瘤の発生および破裂の評価を行う。

(2) Daidzein による脳動脈瘤形成および破裂抑制効果の検証

Daidzein 摂取群(0.1% Daidzein)および Isoflavone free diet 摂取群で脳動脈瘤形成率および破裂率に有意差があるかを検証する。

C57/BL6 6 週齢メスマウスを用いて片腎および両側卵巣を摘出し、Daidzein 摂取する群とイソフラボンを含まない食餌を摂取する群(Isoflavone free diet 群)で開始する。3 週間後にエラストラーゼを髄液脳底槽に注入し、デオキシコルチコステロンを皮下に埋め込み、1% 食塩水を飲料水として与えて高血圧を誘導する。その後 3 週間の観察期間で脳動脈瘤の発生および破裂の評価を行う。

(3) 腸内細菌の改変による脳動脈瘤形成および破裂への影響の評価

バンコマイシン投与により腸内細菌叢を改変させて daidzein の代謝を抑制することが報告されており、バンコマイシンを経口投与することで daidzein の腸内での代謝を抑制し equol の産生を抑えることで脳動脈瘤の形成、破裂が上昇するかどうかを検証する。

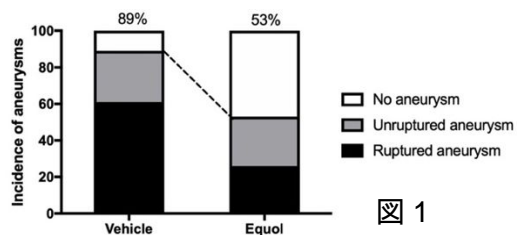


図 1

4 . 研究成果

(1) Equol の脳動脈瘤形成および破裂抑制効果の検証

Equol 投与群(n=15)と vehicle control 群(n=18)での実験にて Equol 群は動脈瘤形成が有意に減少を示した (Equol 群 vs Vehicle 群: 53% vs 89%, $P < 0.05$, 図 1)。ただし脳動脈瘤破裂に関して有意差は認めなかった(Equol 群 vs Vehicle 群: 61% vs 50%)。

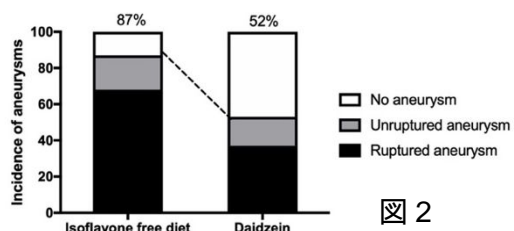


図 2

(2) Daidzein による脳動脈瘤形成および破裂抑制効果の検証

Daidzein 摂取群(n=19)は isoflavone free diet 摂取群(n=16)と比較して脳動脈瘤形成が有意に減少を示した (Daidzein 群 vs isoflavone free diet 群: 52% vs 87%, $P < 0.05$, 図 2)。ただし脳動脈瘤破裂に関して有意差は認めなかった (Daidzein 群 vs isoflavone free diet 群: 70% vs 78%)。

(3) 腸内細菌の改変による脳動脈瘤形成および破裂への影響の評価

Isoflavone free diet 群、Daidzein 群および Daidzein+バンコマイシン群での比較検討を行なった。脳動脈瘤破裂は 3 群で有意差はなかったが、脳動脈瘤形成率では Isoflavone free diet 群 (87%)、Daidzein 群 (52%)、Daidzein+バンコマイシン群 (85%) という結果であった (図 3)。以上より腸内細菌を抗生剤(vancomycin)による dysbiosis を起こすことで植物性エストロゲンの血管保護作用が低下し、脳動脈瘤形成が有意に増加を示した。

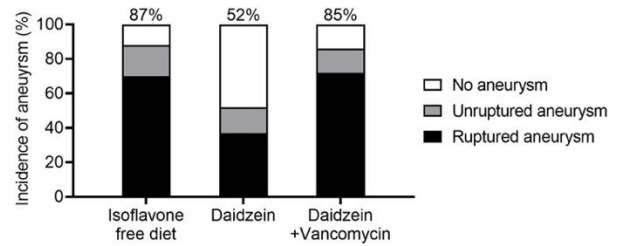


図 3

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	神尾 佳宣 (Kamio Yoshinobu) (10829716)	浜松医科大学・医学部附属病院・助教 (13802)	

	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	牧野 洋 (Makino Hiroshi)	浜松医科大学・医学部附属病院・講師 (13802)	

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