

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17272

研究課題名（和文）カルニチン欠乏モデルマウスにおける脂肪酸毒性評価と腸管への影響の検討

研究課題名（英文）Evaluation of fatty acid toxicity in carnitine deficiency model mice and examination of effects on the intestinal tract

研究代表者

小牧 祐雅（Komaki, Yuga）

鹿児島大学・医歯学域医学系・講師

研究者番号：50839438

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：AIN93Mにリノール酸、オレイン酸、ステアリン酸、エライジン酸を重量比1または2%分の糖質と置き換え添加した飼料をカルニチン欠乏モデルマウス（JVSマウス）に6または週間投与する実験で、ステアリン酸群では便中ALPが高い傾向にあったが個体差が大きかった。そこでステアリン酸に着目し、AIN93Mにステアリン酸またはオクタン酸（中鎖脂肪酸）を重量比4%分の糖質と置き換え添加した飼料を野生型マウスとJVSマウスに6週間投与する実験を行い、JVSマウスでの小腸で組織学的炎症所見を認めるも飼料による差はなかった。よって摂取する脂肪酸の種類による腸管に対する毒性の違いははっきりしないと判断した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

L-カルニチンと炎症性腸疾患のかかわりに関して詳細は不明であるが、炎症性腸疾患におけるL-カルニチン及び脂肪酸毒性の関わりを明らかにすることで、炎症性腸疾患の発症予防に繋がると考え行った研究であった。脂肪酸添加飼料摂取によりJVSマウスでの小腸で組織学的炎症所見を認めたことから、カルニチン欠乏に伴う遊離脂肪酸の腸管に対する影響はあるものと推察されたが、脂肪酸ごとの毒性の違いははっきりしなかった。

研究成果の概要（英文）：In an experiment, carnitine-deficient model mice (JVS mice) were given feed containing linoleic acid, oleic acid, stearic acid, and elaidic acid added to AIN93M to replace carbohydrates at a weight ratio of 1 or 2% for 6 weeks. Fecal ALP tended to be high, but there were large individual differences. Therefore, we focused on stearic acid and conducted an experiment in which wild-type mice and JVS mice were given feed containing AIN93M with stearic acid or octanoic acid (medium chain fatty acid) added to replace 4% carbohydrate by weight for 6 weeks. Histological findings of inflammation were observed in the small intestine of mice, but there were no differences depending on the feed. Therefore, it was concluded that the difference in toxicity to the intestinal tract depending on the type of fatty acid ingested is unclear.

研究分野：衛生学

キーワード：L-カルニチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患は遺伝的な素因に食餌や感染などの環境因子が関与して腸内免疫や腸管内細菌叢の異常をきたして発症するといわれているが、原因が未だ解明されておらず、環境因子がどのように疾患と関わっているのかもはっきりしていない。

動脈硬化症をはじめとした様々な疾患の病態悪化に、DNA 損傷に伴って誘導される細胞死が寄与しているが、トランス脂肪酸は、DNA 損傷時のストレス応答性 mitogen-activated protein kinase (MAP キナーゼ) である c-Jun N-terminal kinase (JNK) の活性化およびミトコンドリアにおける活性酸素産生を協調的に増強することで、細胞死の誘導を促進することが分かっている (Hirata Y, Sci Rep. 2020)。腸炎と脂肪酸の関連に関しては、既報のケースコントロール研究で、食餌からのトランス脂肪酸・飽和脂肪酸・総多価不飽和脂肪酸が潰瘍性大腸炎の発症リスクと相関があるとされている (Rashvand S, Int J Colorectal Dis. 2015)。脂肪酸プロファイルの異常も炎症性腸疾患で観察されており、18 炭素鎖トランス脂肪酸、総トランス脂肪酸、及びパルミチン酸は炎症性腸疾患と有意に関連している (Jezernik J, Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2018)。多くの免疫細胞が炎症性腸疾患の病因に関与している一方、ACSL4、ELOVL5 及び FADS2 といった脂肪酸代謝関連遺伝子の一部は免疫細胞と関連していることも知られている (DNA Cell Biol. 2020)。さらに、短鎖脂肪酸の生成に関与するアセチル補酵素 A 合成経路の減少は、炎症性腸疾患関連遺伝子である MYRF 遺伝子の変異と関連しているとの報告もある (Hu S, Gut 2020)。しかし、脂肪酸代謝と関わる遺伝子座が直接炎症性腸疾患に関わっている報告はなく、脂肪酸代謝がどのように炎症性腸疾患と関わっているのか、詳細は不明である。疾患発症予防を行うために、環境因子と遺伝的因子の関わりを明らかにすることは、極めて重要である (Qi L, Nutr Rev. 2008)。

L-カルニチン欠乏により、遊離脂肪酸濃度は上昇する (Schwenk WF, Pediatr Res. 1988, 図 1)。L-カルニチンと炎症性腸疾患のかかわりについても詳細は不明であるが、炎症性腸疾患における L-カルニチン及び脂肪酸毒性の関わりを明らかにすることで、炎症性腸疾患の発症予防に繋がると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では、以下の2点を目的とした。

- i. カルニチン欠乏モデルマウスにおける脂肪酸毒性を、脂肪酸ごとに評価する。
- ii. カルニチン欠乏モデルマウスにおける腸炎の評価を行うことで、カルニチン欠乏に伴う遊離脂肪酸の、腸管に対する影響を確認する。

3. 研究の方法

本研究では、近年の「食環境」の変化 (日本食 欧米食) によって暴露量の増加した飽和脂肪酸とトランス脂肪酸の毒性を脂肪酸代謝に障害を持つマウスモデル (脂肪酸が代謝されにくいことから、脂肪酸毒性が強く表れることが予想される) を用いて、トランス脂肪酸を初めとした脂肪酸ごとの毒性評価を長期投与可能な中性脂肪を給餌する方法で行うこととした。

まず、脂肪酸代謝異常マウス (juvenile visceral steatosis : JVS マウス, 遺伝的にカルニチンが低下) に対し、脂質主成分がリノール酸である大豆油を 4%含有している AIN93M に、1) リノール酸 (シス型、多価不飽和脂肪酸)、2) オレイン酸 (シス型、一価不飽和脂肪酸)、3) ステアリン酸 (飽和脂肪酸)、4) エライジン酸 (トランス型、一価不飽和脂肪酸) の各脂肪酸を重量比 1 あるいは 2%分の糖質と置き換える形で添加した飼料を 6~8 週間投与する実験を行い、小腸・大腸の組織学的評価あるいは便中 alkaline phosphatase (ALP) 測定での腸炎の評価を行った上で、その中でも「ステアリン酸 (飽和脂肪酸)」に着目し、AIN93M にステアリン酸或いはオクタン酸 (中鎖脂肪酸) を重量比 4%分の糖質と置き換える形で添加した飼料を野生型マウス・JVS マウスそれぞれに 6 週間投与する実験を行った。

4. 研究成果

AIN93M に、1) リノール酸 (シス型、多価不飽和脂肪酸)、2) オレイン酸 (シス型、一価不飽和脂肪酸)、3) ステアリン酸 (飽和脂肪酸)、4) エライジン酸 (トランス型、一価不飽和脂肪酸) の各脂肪酸を重量比 1%分の糖質と置き換える形で添加した飼料を JVS マウスに 6 週間投与する実験では、ステアリン酸群では便中 ALP も高い傾向にあったが、その影響の個体差が大きかった。個体差の影響が、負荷量と観察期間によると考え、次に AIN93M にリノール酸、オレイン酸、ステアリン酸それぞれを重量比 2%分の糖質と置き換える形で添加した飼料を、より長い観察期間の 8 週間 JVS マウスに投与したところ、day21、day56 いずれの時点でもステアリン酸添加群で有意に組織学的炎症所見を認めしたが、やはり個体差は大きかった。

そこで「ステアリン酸 (飽和脂肪酸)」に着目し、AIN93M にステアリン酸或いはオクタン酸 (中鎖脂肪酸) を重量比 4%分の糖質と置き換える形で添加した飼料を野生型・JVS マウスそれぞれに 6 週間投与する実験を行ったところ、JVS マウスでの小腸でステアリン酸群或いはオクタン酸ともに組織学的炎症所見を認めるものの、二元配置分散分析で組織所見、便 ALP・Hemoglobin・

Calprotectin、血清 interferon- いずれも組織や飼料による有意差はなかった。

以上の実験結果から、脂肪酸含有食事摂取により JVS マウスで腸炎を認めることから、カルニチン欠乏に伴う遊離脂肪酸の腸管に対する影響はあるものと思われた。一方で、脂肪酸の種類による腸管に対する毒性の違いははっきりしないと判断した。

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
研究協力者	堀内 正久 (Horiuchi Masahisa)		
研究協力者	牛飼 美晴 (Ushikai Miharuru)		

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