

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：34511

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24501014

研究課題名(和文) カプサイシン、ジンゲロール摂取による高血圧予防のメカニズム

研究課題名(英文) Mechanism of dietary capsaicin and gingerol to prevent from hypertension

研究代表者

栗原 伸公 (KURIHARA, Nobutaka)

神戸女子大学・家政学部・教授

研究者番号：10234569

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：私たちは先に、ともにTRPV1を刺激するカプサイシン、ジンゲロールを継続的に経口摂取させると、腎血管性高血圧モデルラットの血圧上昇がそれぞれ抑制されることを観察した。そこで本研究では、そのメカニズムについて調査した。その結果、この高血圧モデルラットにカプサイシンを投与した場合、eNOS mRNA発現が増加し、活性化されたeNOS蛋白が増加することで、NOの産生増加が見られ、血圧上昇が抑制される可能性が示唆された。したがって、TRPV1を刺激するこれらを継続的に経口摂取すると、CGRP、SPの産生が上昇し、eNOSが活性化されることによって血圧上昇抑制作用がもたらされる可能性があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We previously observed that daily dietary capsaicin or gingerol, each of which stimulates TRPV1, attenuated the elevation of blood pressure (BP) in renovascular hypertensive rats. We investigated the mechanism in this study. We observed that dietary capsaicin increased eNOS-mRNA expression and phospho-eNOS protein, which may increase NO production and attenuate BP elevation in the hypertensive rats. The observation suggested that when rats with renovascular hypertension everyday take in the TRPV1 stimulator, capsaicin or gingerol, the activation of eNOS by increased production of CGRP and SP leads to the attenuation of BP elevation in renovascular hypertensive rats.

研究分野：食生活学、衛生学

キーワード：高血圧予防 カプサイシン ジンゲロール 継続摂取 腎血管性高血圧 eNOS mRNA phospho-eNOS

1. 研究開始当初の背景

私たちは先に、カプサイシンや、ジンゲロール高濃度含有生姜抽出物を継続的に経口摂取すると、どちらも腎血管性高血圧モデルの血圧上昇を有意に抑制し、対照群と同レベルにまで血圧を下げることに、また大血管での観察ではあるが血管弛緩性低下を改善すること、さらに動脈中膜の肥厚を抑制することなどを明らかにした。これらのことから、これら非栄養素摂取が高血圧・動脈硬化予防に寄与する可能性が示された。

この知見を実際の食生活に応用し、食事による高血圧予防法の1つとして人々の健康維持に役立てる可能性を追究するために、私たちは、これら非栄養素摂取による血圧上昇抑制効果のメカニズムを明らかにする必要があると考えた。

2. 研究の目的

基礎的な先行研究や私たちの過去の急性投与実験の結果から、私たちは、カプサイシン、ジンゲロールの継続的摂取による血圧上昇抑制作用の主要な機序として、transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (TRPV1) を介し、calcitonin gene-related peptide (CGRP) や Substance P (SP) の産生を刺激して、endothelial nitric oxide synthase (eNOS) を活性化することにより nitric oxide (NO) の産生増加による血管拡張作用をもたらされるという経路がある、との仮説に至った。

この仮説を検証するために、私たちは、腎血管性高血圧モデルラットにおいて、カプサイシン継続的経口摂取が血圧上昇抑制効果をもたらす際に、eNOS が実際に活性化されているか否か、さらに活性化されている場合にどのように活性化されるのかについて、eNOS mRNA と eNOS 蛋白および活性型である phospho-eNOS 蛋白を Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 法と Western Blotting (WB) 法により測定することによって観察した。

3. 研究の方法

Sprague Dawley (SD)系雄ラットに5週齢時より、control 食 (CTL) または 0.006% capsaicin 食 (CAP) の投与を行った。pair-feeding 法を用いて、食餌投与量が各群で同じになるようにした。6週齢時に両群それぞれに、麻酔下にて内径 0.254mm 銀製クリップを左腎動脈に装着した 2-kidney, 1-clip 腎血管性高血圧モデルラット(2K1C)群、またはクリップを設置しない SHAM 手術を施した対照 (SHAM) 群を作成し、その後6週間飼育した。手術前と手術後5週目まで週1回 tail-cuff 法にて収縮期血圧 (sBP) の測定を行った。手術後6週目、麻酔下にて、左鼠径動脈に挿入した PE-10 カテーテルを通じて平均血圧 (MAP) の測定を行った。測定後、麻酔下のまま脱血死させた後、胸部大動脈を摘出し、その組織を用いて、

RT-PCR 法による eNOS mRNA 発現量の測定、WB 法による eNOS 蛋白量及び phospho-eNOS 蛋白量の測定をそれぞれ行った。

4. 研究成果

(1) 実験期間を通じて、各群の摂食量および体重に有意な差は見られなかった。

(2) 手術前および手術後5週目まで毎週収縮期血圧を測定したところ、2K1C-CTL は、2週目以降 SHAM-CTL に比べ有意に上昇したが、2K1C-CAP では2週目以降 2K1C-CTL に比べ有意に低下した (図1)。また、SHAM-CAP と SHAM-CTL には、収縮期血圧に有意な差は見られなかった。

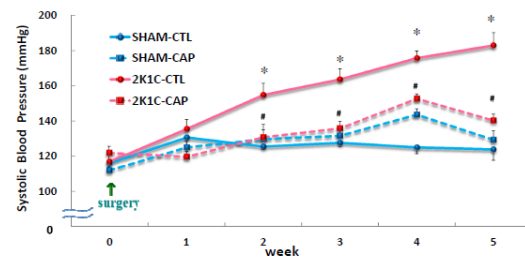


図1 Systolic blood pressure by a tail-cuff method in sham-operated or 2K1C rats fed a control or capsaicin diet for 5 weeks. Values are mean ± SE. Three-way ANOVA: $P < 0.05$ for time, animal (SHAM vs 2K1C), diet (CTL vs CAP) and each interaction except for time × animal × diet. * $P < 0.05$ vs SHAM-CTL. * $P < 0.05$ vs 2K1C-CTL. SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; CTL, control diet; CAP, capsaicin diet.

(3) 手術後6週目の平均血圧は、収縮期血圧と同様に、2K1C-CTL では SHAM-CTL に比べ有意に上昇していたが、2K1C-CAP では 2K1C-CTL に比べ有意に低下していた (図2)。SHAM-CAP と SHAM-CTL には有意な差は見られなかった。

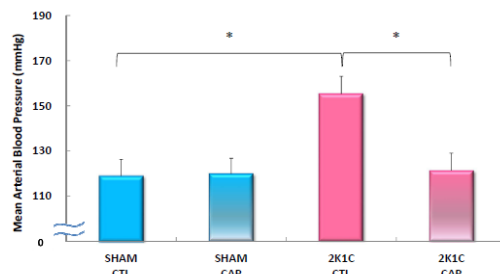


図2. Mean Arterial Blood Pressure (MAP) in sham or 2K1C rats fed a control or capsaicin diet under anesthesia at the end of the protocol. MAP was measured through a catheter in the left common femoral artery under anesthesia. Values are mean ± SE. Two-way ANOVA: $P < 0.05$ for animal (SHAM vs 2K1C) and animal × diet (CTL vs CAP). * $P < 0.05$. SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; CTL, control diet; CAP, capsaicin diet.

すなわち、これまでの私たちの観察結果と同様に、2K1C 腎血管性高血圧モデルにおいて、カプサイシン継続的経口摂取による血圧上昇抑制効果が本実験でも観察することができた。

(4) これらのラットの胸部大動脈から得られた血管組織における eNOS mRNA 発現量を RT-PCR 法で測定したところ、2x2 の 2 元配置分散分析により、SHAM 群に比べて 2K1C 群で上昇傾向が認められ、CTL 群に比べて CAP 群で有意な上昇が見られた。ただし、各群の 2 群間では有意な差を得るまでには至らなかった (図3)

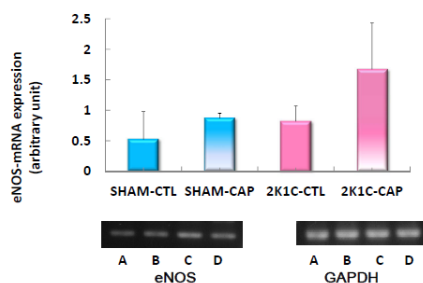


図3. eNOS mRNA expression in SHAM or 2K1C rats fed a CTL or CAP diet. Values are mean \pm SE. The photographs below show typical bands obtained for eNOS mRNA and GAPDH in SHAM-CTL (A), SHAM-CAP (B), 2K1C-CTL (C) and 2K1C-CAP (D). Two-way ANOVA: $P=0.056$ for animal (SHAM vs 2K1C), $P<0.05$ for diet (CTL vs CAP), $P=N.S.$ for the interaction (animal \times diet). eNOS, endothelial nitric oxide synthase; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; CTL, control diet; CAP, capsaicin diet.

(5) WB法により4群のeNOS蛋白量を測定したところ、2元配置分散分析において各因子および交互作用に有意性は認められなかった。すなわち、4群の値に有意な差は見られなかった。

一方、4群のphospho-eNOS蛋白量は、2元配置分散分析の結果、2K1CはSHAMに比べて有意に上昇し、またモデルと餌の間に有意な交互作用が認められた。すなわち、SHAM-CAPはSHAM-CTLに比べわずかに上昇したのに対し、2K1C-CAPでは2K1C-CTLに比べ比較的大きな上昇が見られた(図4)。

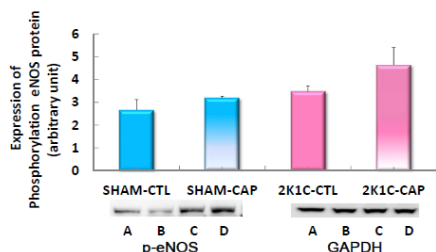


図4. Expression of phosphorylation eNOS protein in SHAM or 2K1C rats fed a CTL or CAP diet. Values are mean \pm SE. The photographs below show typical bands obtained for p-eNOS protein in SHAM-CTL (A), SHAM-CAP (B), 2K1C-CTL (C) and 2K1C-CAP (D). Two-way ANOVA: $P<0.05$ for animal (SHAM vs 2K1C) and animal \times diet (CTL vs CAP). eNOS, endothelial nitric oxide synthase; p-eNOS, phosphorylated eNOS; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; SHAM, sham-operated control rats; 2K1C, two-kidney, one-clip hypertensive rats; CTL, control diet; CAP, capsaicin diet.

(6) 以上の結果、および、私たちが本研究実施以前に行った予備実験の結果、すなわち、2K1Cモデルラットで見られるカプサイシン継続的経口摂取の血圧上昇抑制効果はNO合成阻害剤NG-Nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME)を実験期間を通じて投与した場合には消失する、という観察結果から、カプサイシン摂取のこの効果にはeNOSが関与していることが強く示唆された。また、eNOS mRNAの発現が増加し、その結果産生が増加したeNOS蛋白については増加分のほとんどが活性化され、phospho-eNOSとなるものと考えられた。

したがって、腎血管性高血圧モデルにカプサイシンを継続的に経口摂取させると、TRPV1が刺激され、CGRPやSPを介してeNOS mRNA発現が増加し、活性化されたeNOS蛋白が増加することでNOの産生増加が見られ、血圧上昇が抑制される可能性が示唆された。

一方SHAMにおいては、eNOS mRNA、phospho-eNOSはSHAM-CAPにおいて、SHAM-CTLと比べほとんど上昇していない。

このことは、SHAM-CAPの血圧がSHAM-CTLに比してほとんど変化がないことに合致する。しかしながら、2K1Cと同様にTRPV1を刺激しているにもかかわらず、2K1Cとは異なりeNOS mRNAやphospho-eNOSにほとんど上昇が見られないことの原因は、今後の課題として残っている。

これらのことは、同様にTRPV1を刺激するジンゲロールでもほぼ同じ形態で起こりうると考えられる。今後は、ジンゲロールにおいても同様の検討を行い、それを確認するとともに、CGRP、SPの関与についても、急性投与において検証したのと同様に、直接的な確認を行っていきたいと考えている。そして、量反応関係も含めた詳細なメカニズムを明らかにすることで、それに基づき、カプサイシンやジンゲロール、具体的にはたとえば唐辛子や生姜、の摂取による高血圧予防の可能性の検討につなげていく予定である。

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0件)

[学会発表](計4件)

瀬川悠紀子、橋本弘子、岩淵友香、大瀬良知子、梶原稚英、栗原伸公: capsaicinの継続的経口摂取による高血圧発症予防機序におけるeNOS蛋白の役割、第85回日本衛生学会学術総会、ホテルアバローム紀の国(和歌山)、2015年3月27日

Segawa Y, Hashimoto H, Osera T, Kurihara N. Dietary Capsaicin May Decrease Blood Pressure Through Enhancing NO With eNOS Activation in 2-Kidney, 1-Clip Hypertensive Rat, Epidemiology and Prevention/Lifestyle and Cardiometabolic Health 2015 Scientific Sessions, American Heart Association, Baltimore, MD, March 3-6, 2015.

瀬川悠紀子、橋本弘子、岩淵友香、梶原稚英、大瀬良知子、栗原伸公: カプサイシンの経口摂取による高血圧発症予防機序の検討、第84回日本衛生学会学術総会、岡山コンベンショナルセンター(岡山)、2014年5月26日

Segawa Y, Hashimoto H, Osera T, Kurihara N. Role of Endothelial Nitric Oxide Synthase in a Capsaicin Diet-Induced Alleviation of Blood Pressure-Elevation in 2-Kidney, 1-Clip Hypertensive Rat, the 67th High Blood Pressure Research Conference, American Heart Association, New Orleans, LA, September 11-14, 2013.

[図書](計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

栗原 伸公 (KURIHARA, Nobutaka)

神戸女子大学・家政学部・教授

研究者番号：10234569

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

瀬川 悠紀子 (SEGAWA, Yukiko)

大瀬良 知子 (OSERA, Tomoko)