

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 13 日現在

機関番号：32508

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350136

研究課題名(和文)酸化ストレスの生体影響に基づく新規機能性食品の開拓

研究課題名(英文)Development of novel foods based on physiological effects of oxidative stress

研究代表者

小城 勝相(Kojo, Shosuke)

放送大学・教養学部・教授

研究者番号：10108988

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：老化、生活習慣病の原因は酸化ストレスであると考えられている。一方、注目を集めるポリフェノールなどの非生理的食品成分が活性酸素を直接捕捉する効果はほとんどないことも判明した。そこで、酸化ストレスが体に悪影響を与える機構(しくみ)が問題になる。我々は、酸化ストレスにより体内でセラミドという細胞死を引き起こす脂質が増加することで悪影響を及ぼすことを動物実験で明らかにした。その機構は酸化ストレスによりスフィンゴミエリナーゼという酵素が活性化されてセラミドを発生させることである。さらに緑茶カテキン類は還元作用により、この酵素の活性化を阻害することで動脈硬化などを予防する可能性があることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Oxidative stress is assumed to cause aging and diseases of the elderly such as cancer, atherosclerosis, and complications of diabetes. Although polyphenols are expected to scavenge reactive oxygen species (ROS) in vivo, it is fully established that these unphysiological food factors do not effectively scavenge ROS in vivo. Then we must clarify the mechanism, by which oxidative stress causes diseases. We found that sphingomyelinase (an enzyme forming ceramide) was activated by oxidative stress and that the resulting ceramide was a risk factor of atherosclerosis and complications of diabetes using animal experiments. It is well known that ceramide, a physiological lipid causes apoptosis (cell death). In addition we found that green tea catechins inhibited the activation of sphingomyelinase by reduction reaction at physiological concentration in the blood. Therefore it is possible that catechins inhibit the development of atherosclerosis.

研究分野：栄養学

キーワード：酸化ストレス セラミド スフィンゴミエリナーゼ 動脈硬化 糖尿病 カテキン アルツハイマー病
アミロイド

1. 研究開始当初の背景

酸化ストレスが老化を初め、ガン、動脈硬化、糖尿病合併症、アルツハイマー病などの生活習慣病の原因であることが明らかにされつつあり、一般社会でも抗酸化物質が健康食品成分として注目されるようになった。しかしポリフェノールなどの非生理的抗酸化物質は、試験管内(インビトロ)での抗酸化活性は高くてもほとんど吸収されず、吸収されても薬物代謝酵素などで迅速に代謝されるため、生体内(インビボ)での濃度は極めて低い。そのため、インビボで実際に活性酸素を捕捉する能力はほとんどないことが明らかにされた。そこで生活習慣病予防のため、酸化ストレスが引き起こす生化学的変化を突き止め、その変化を阻害するような食品成分を見つけることが重要であると考えに至った。

2. 研究の目的

酸化ストレスが生活習慣病の発症に重要な役割を果たすが、食品中の抗酸化成分のほとんどが生体異物(xenobiotics)であるため抗酸化剤としては生理的には無意味であることが、この20年の研究で明らかになった。そこで、酸化ストレスが引き起こす影響を調べ、それを阻害する食品を見つけることが重要になる。例えば、プロポリスの抗酸化作用は弱いですが、脂質代謝に関わる酵素の遺伝子発現を調節することで脂質代謝異常を抑制することを我々は報告した(Ichi *et al.*, *J. Food. Sci.*, **74**, H127-H131 (2009))。このほか、糖尿病や肝炎における酸化ストレスによってスフィンゴミエリナーゼの活性化が起こりセラミドという細胞死を惹起する生理活性脂質の合成が起こることも報告した(Ichi *et al.*, *Med. Chem. Commun.*, **2**, 536-541 (2011); Ichi *et al.*, *Toxicology*, **261**, 33-40 (2009))。スフィンゴミエリナーゼは細胞膜に豊富に存在するスフィンゴミエリンからセラミドを生成する酵素である。このような酸化ストレスの影響を検討し、個々のプロセスを制御する食品成分を見出すという新たな機能性食品開発の方法を検討する。

3. 研究の方法

老化、動脈硬化、糖尿病などの疾患モデル動物を作成し、酸化ストレスと共にもどのような生化学的変化が起こるのかを検討する。さらに、食品成分のなかで、これらの生化学的変化を有効に阻害する物質を検索する。アルツハイマー病については、その原因物質であるアミロイドタンパク質が酸化反応でどのような変化を起こすのか、それが発症機構とど

のように関係するのかを検討する。

4. 研究成果

(1)アミロイドタンパク質はラジカル反応により迅速にアスパラギン酸とアラニンがラセミ化(L-アミノ酸がD-アミノ酸に変換すること)することを発見した。アミロイドタンパク質が脳中に蓄積することがアルツハイマー病の原因と考えられている。通常、不要なタンパク質は細胞内で種々のプロテアーゼにより分解されるが、アミロイドタンパク質が蓄積するのはアミノ酸のラセミ化のためプロテアーゼに認識されなくなるという仮説を支持するものである。

(2)動脈硬化モデル動物であるアポEノックアウトマウスにおいて、老化とともに血液中の分泌型スフィンゴミエリナーゼ(sSMase)の活性が上昇し、血液中、大動脈に特有のセラミドが増加することを明らかにした。この結果は、セラミドが動脈硬化のリスクファクターであるという我々の仮説を支持するものである。

(3)我々はこれまで上記の動脈硬化の他、糖尿病モデル動物においても酸化ストレスの亢進にともなってsSMase活性が増加し、血液や腎臓でセラミドが増加することを報告している。さらにヒトにおいても動脈硬化の進展と血中セラミド濃度とのあいだに正の相関があることを報告している(Ichi *et al.*, *Lipids*, **42**, 893-900 (2007))。そのsSMaseは酸化反応によって活性化され、還元反応によって不活化されること、これらの酸化還元反応による変化が可逆的であることを発見した。もし、sSMaseを還元剤によって不活化すればセラミドが生成できなくなり、動脈硬化や糖尿病合併症などを予防できることになる。我々は緑茶に含まれるカテキン類にsSMaseの強い阻害活性があること、その作用はカテキン類の還元力によることを明らかにした。これは通常の緑茶の摂取による血中濃度でも十分に有効な効果であった。緑茶などの食品中の還元物質には直接活性酸素を捕捉する抗酸化作用以外に、セラミド代謝を介して動脈硬化などを予防する能力があることを示した点で意義深い研究である。

(4)マイクロRNA(miRNA)は多くの生命現象における重要性から大きな注目を集めているが、いまだに食品成分との関わりは全く研究されていない。今後酸化ストレス、脂質代謝との関連でmiRNAに注目すべきであり、この点について斯界の研究者の注意を惹起するために総説を発表した。

(5)酸化ストレスで生成する脂質であるニトロアルケンに生理的な抗炎症作用があるという研究が注目を集めている。そのようなこ

とがあれば極めて興味深い。この点についても斯界の研究者の注意を惹起するために総説を発表した。

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5件)

Y. Ishizaki, S. Kojo, and H. Kikuzaki, Strong inhibition of secretory sphingomyelinase by catechins, particularly by (-)-epicatechin 3-O-gallate and (-)-3'-O-methylepigallocatechin 3-O-gallate. K. Kobayashi, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, Vol. 62, in press (2016). (査読有)

小城勝相、肝臓病におけるマイクロRNA-122 (miR-122)の変化とビタミン等による調節. *ビタミン*, Vol. 89, pp. 125-132 (2015). (査読有)

小城勝相、酸化ストレスで生成するニトロアルケンは生理的な抗炎症剤か?、*ビタミン*, Vol. 87, pp. 367-373 (2013). (査読有)

K. Kobayashi, E. Nagata, K. Sasaki, M. Harada-Shiba, S. Kojo, and H. Kikuzaki, Increase in secretory sphingomyelinase activity and specific ceramides in the aorta of apolipoprotein E knockout mice during aging. *Biol. Pharm. Bull.*, Vol. 36, pp. 1192-1196 (2013). (査読有)

K. Tambo, T. Yamaguchi, K. Kobayashi, E. Terauchi, I. Ichi, and S. Kojo, Racemization of the aspartic acid residue of amyloid- β peptide by a radical reaction. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Vol. 77, pp. 416-418 (2013). (査読有) DOI:10.1271/bbb.120797

[学会発表](計11件)

小林慧子、永田絵理、佐々木香月、斯波真理子、小城勝相、菊崎泰枝, apoE 欠損型マウスにおける老化に伴う動脈硬化進行とセラミド動態に関する研究、第67回日本栄養・食糧学会大会、5月25日、名古屋(2013).

小城勝相、木曾かおり、上野聡子、福田麻菜、市 育代、小林慧子、坂井隆志、福井 清、四塩化炭素中毒における Kupffer 細胞を介する肝炎増悪機構、日本ビタミン学会第65回大会、5月18日、東京(2013). 小林慧子、永田絵理、佐々木香月、斯波真理子、小城勝相、菊崎泰枝, apoE 欠損マウスの老化に伴う分泌型スフィンゴミエリナーゼ活性とセラミド量の変化、第86回日本生化学会大会、9月11日、横浜(2013).

田保小春、山口智美、小林慧子、寺内恵里、市 育代、小城勝相、ラジカル反応によるアミロイド ペプチドのアスパラギン酸とアラニンのラセミ化、**第86回日本生化学会大会**、9月12日、横浜(2013). 小城勝相、田保小春、小林慧子、山口智美、寺内恵里、市 育代、酸化ストレスによるアミロイド ペプチドのアミノ酸残基のラセミ化、第46回酸化反応討論会11月16日、筑波(2013).

小城勝相、老化、酸化ストレス、ビタミン、日本ビタミン学会関東地区・AIFN 合同シンポジウム、東京海洋大学、12月21日、東京(2013).

小城勝相、市 育代、四塩化炭素による肝炎で起こること(2)生理的炎症拡大機構、日本家政学会第66回大会、5月25日、北九州(2014).

小城勝相、田保小春、小林慧子、山口智美、市 育代、アミロイド のアミノ酸のラセミ化はラジカル反応で起こる、日本ビタミン学会第66回大会、6月13日、姫路(2014).

K. Tambo, T. Yamaguchi, K. Kobayashi, E. Terauchi, I. Ichi, and S. Kojo, Racemization of amino acid residues in amyloid β -peptide by radical reaction. The 2nd International Conference of D-Amino acid Research (IDAR2014), Sept. 4, Utsunomiya (2014).

小林慧子、市 育代、小城勝相、アルツハイマー病の原因としてのラジカルによるアミロイド ペプチドのラセミ化、日本家政学会第67回大会、5月24日、盛岡(2015).

小林慧子、石崎有希、小城勝相、菊崎泰枝、メチル化カテキンによる分泌型スフィンゴミエリナーゼ阻害作用、第70回日本栄養・食糧学会大会、5月、西宮(2016).

[図書](計2件)

小城勝相、一色賢司編、放送大学教育振興

会、食安全性学、2014.

小城勝相、清水誠編、放送大学教育振
興会、食健康科学、2015.

〔その他〕

ホームページ等： 2016年3月で定年退
職のため消失

6 . 研究組織

(1)研究代表者

小城 勝相 (KOJO, Shosuke)

放送大学・教養学部・教授

研究者番号：10108988

(2)研究分担者

市 育代 (ICHI, Ikuyo)

お茶の水女子大学大学院・人間文化創成
科学研究科・講師

研究者番号： 50403316