

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461109

研究課題名(和文) 我国におけるトランス脂肪酸の動脈硬化リスクとしての評価

研究課題名(英文) Risk evaluation of trans fatty acids in atherosclerosis in Japan

研究代表者

新家 俊郎 (Shinke, Toshiro)

神戸大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：60379419

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)：トランス脂肪酸が心血管病の発症を増加することが証明されている。本研究では、我国のトランス脂肪酸血中の影響を検討した。まず、日本人のトランス脂肪酸血中濃度は若年の冠動脈疾患患者で高値であり、プラークの脆弱性の指標である菲薄化線維性被膜を有する患者は、トランス脂肪酸濃度が高値であった。さらに、トランス脂肪酸血中濃度が高いと心血管イベントが増加することが判明した。

LDL受容体欠損マウスにトランス脂肪酸を負荷すると、脂肪組織、筋肉、肝臓などに蓄積し、炎症性サイトカインや酸化ストレスを亢進した。

以上より、トランス脂肪酸は冠動脈プラークの発症や脆弱性、予後と関連することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Recent epidemiological studies showed that excessive intake of trans fatty acids (TFA) can be a residual risk for the development of coronary artery disease (CAD) even under medical management. We aimed to investigate the association between serum TFA concentration and CAD in Japan.

Serum TFA level was elevated in young patients with CAD, particularly in patients with thin-cap fibroatheroma. Multivariate logistic regression analysis identified TFA level as an independent risk factor for future cardiovascular events. Animal studies have indicated that TFA increases systemic inflammation and oxidative stress.

In conclusion, TFA may affect onset and vulnerability of coronary plaque. Serum TFA concentration may represent another cardiovascular risk factor during conventional risk factor management.

研究分野：循環器内科学

キーワード：トランス脂肪酸 冠動脈疾患 脂質異常症 栄養学 内科 動脈硬化

1. 研究開始当初の背景

1) 我国におけるトランス脂肪酸の臨床的なリスク評価の必要性

植物油の加工過程で副産物として生じるトランス脂肪酸の摂取が心血管病の発症を増加することが欧米の疫学研究・介入試験によって証明され、WHO、FAO、FDA等のガイドラインではその摂取量の上限目標が設定されている。しかし、トランス脂肪酸の血中濃度の測定が容易ではないため、根拠となった欧米の臨床試験の多くは、血中濃度ではなく摂取量とリスクとの相関に基づいて結論に至っている。

日本では、平成18年、内閣府食品安全委員会が、国内に流通する代表的食品のトランス脂肪酸含有量から、日本人の一日平均トランス脂肪酸摂取量の推定値を平均0.7gであると発表した。しかし、この数値は国民健康・栄養調査に基づいた推計に過ぎず、個人のトランス脂肪酸摂取量や血中濃度を測定評価したものではない。また、ヒト脂質の脂肪酸構成は食生活スタイルの影響を大きく受けるため、欧米の知見やガイドラインをそのまま日本人に外挿することには問題がある。欧米人と比べて魚類由来の不飽和脂肪酸の摂取量が多く、トランス脂肪酸や飽和脂肪酸の摂取量が少なくとされる日本人において、トランス脂肪酸の血中濃度の標準値を決め、動脈硬化リスクとしての意義を明らかにすることが必要である。このためには日本人を対象としてトランス脂肪酸の血中濃度を評価し、健康への影響を明らかにすることが重要である。

2) トランス脂肪酸の動脈硬化惹起作用の分子機序の解明の必要性

トランス脂肪酸は多彩な動脈硬化惹起性変化を引き起こすことが報告されているが、その中でもリポ蛋白の動脈硬化惹起性を増強し、全身の炎症を惹起することが主作用であると考えられているが不明な点も多い。トランス脂肪酸の作用の分子機序は明らかではなく、トランス脂肪酸の血中濃度と薬理作用に基づいて科学的に評価することが求められている。

2. 研究の目的

本研究では、日本人のトランス脂肪酸血中濃度が健康を害するものかどうかを臨床・動物・細胞実験を通じて統合的に評価することを目的とする。

3. 研究の方法

1) 血中トランス脂肪酸濃度と動脈硬化の関連性の検討

●神戸大学医学部附属病院において冠動脈疾患患者と非冠動脈疾患患者(対照群)より経時的に採血した。血中トランス脂肪酸(エライジン酸、リノエライジン酸)濃度は、質量分析を用いて測定した。同時にトランス脂肪酸以外の脂質や脂肪酸や水溶性代謝

産物も測定した。

●日本人におけるトランス脂肪酸の血中濃度を評価し、冠動脈疾患および非冠動脈疾患患者の比較により、日本人においてもトランス脂肪酸が動脈硬化リスクであるかどうかを検討した。また、トランス脂肪酸濃度と、血清脂質プロファイルの関係や、高脂血症、高血圧、糖尿病や肥満などとの関係を検討した。さらに、脂質異常症の治療薬(スタチン、フィブラート、EPA製剤、エゼチミブ、等)の投与でトランス脂肪酸血中濃度が影響を受けるかを検討した。

2) トランス脂肪酸とリポ蛋白機能の評価

●トランス脂肪酸がリポ蛋白に取込まれ、その機能を修飾する機序を検討するため、採取したLDLとHDLを用いて、トランス脂肪酸血中濃度とLDLの易酸化能、粒子サイズ、HDLの抗炎症能、コレステロール引抜き能との関係を検討した。

3) トランス脂肪酸と粥種の進展退縮の関連

●経カテーテル冠血管形成術(PCI)を受けた患者は、ステント内再狭窄や新規病変の出現を検出するために、通常6~8ヶ月後に確認冠動脈造影を受ける。このときにOCTなどの画像診断を用いて、責任病変を含む冠動脈の狭窄度と血管壁組織性状の経時的変化を観察した。

4) 動物モデルや培養細胞を用いたトランス脂肪酸による血管病変の解析

●LDL受容体欠損マウスにトランス脂肪酸(エライジン酸)を負荷し、血清脂質の量と質の変化と動脈硬化の関連を解析した。リポ蛋白の質的解析としては、HDLの抗炎症能、コレステロール引抜き能、LDLの易酸化能やサイズを検討した。

●血管を含む諸臓器における炎症性サイトカインなどの炎症性マーカーを定量評価するとともに、種々の細胞内シグナル伝達分子の活性化を評価し、トランス脂肪酸の炎症惹起作用を評価した。

●培養血管内皮およびマクロファージ系細胞をトランス脂肪酸で刺激し、細胞内のシグナル伝達分子、炎症性サイトカインの分泌、酸化ストレスの変化を生化学・分子生物学的手法で評価した。

4. 研究成果

1) 血中トランス脂肪酸濃度は動脈硬化の程度と予後の制御因子である

●質量分析を用いて、日本人のトランス脂肪酸血中濃度を直接測定し、若年になればなるほど冠動脈疾患患者およびメタボリックシンドローム患者で血中トランス脂肪酸濃度が高値であることを証明した。

●冠動脈疾患における動脈硬化プラーク性状と血中トランス脂肪酸濃度との関連性を明らかにするために、冠動脈疾患において、冠動脈造影時に光干渉断層法(OCT)を用いて動脈硬化病変の組織性状を評価した。全

ての冠動脈疾患患者は、二次予防のため冠危険因子が適切に管理されており、78%でスタチンが投与されていた。しかし、解析した232病変のうち57病変にプラークの脆弱性の指標である菲薄化した線維性被膜(TCFA)を認めた。TCFAを有する患者は、有さない患者に比べて、トランス脂肪酸、トリグリセリド、RLP-Cの血中濃度が有意に高値であった。一方、血中LDL-C濃度には差がなかった。多変量解析ではエライジン酸はTCFAの規定因子であることが判明した。すなわち、内服治療により古典的な危険因子が適切に管理されている冠動脈疾患患者において、トランス脂肪酸が冠動脈プラークの脆弱性と関連し、残余リスクとなっていることが示唆された。

- 若年の冠動脈疾患患者を血中トランス脂肪酸濃度により四分位に分類し、主要の有無をカプランマイヤー法によって予後を検討したところ、トランス脂肪酸が高いと心血管イベントが増加することを証明した。すなわち、内服治療により古典的な危険因子が適切に管理されている冠動脈疾患患者において、トランス脂肪酸濃度が冠動脈プラークの脆弱性と予後と関連し、残余リスクとなっていることが示唆された。
- トランス脂肪酸の血中濃度は、HDL粒子によるコレステロールの引抜き能と逆相関し、HDL粒子の機能を悪化させることが明らかとなった。再構成HDL粒子を用いた検討では、HDL粒子中のリン脂質を構成する脂肪酸にトランス脂肪酸が増えることが直接の炎症惹起性と関係していた。
- 脂質治療薬治療薬の中で、EPA製剤とエゼチミブの投与によって、トランス脂肪酸血中濃度が減少することが明らかとなった。

2) 動物細胞モデルを用いたトランス脂肪酸の作用の分子機序の解明

LDL受容体欠損マウスに高エライジン酸食と高オレイン酸食(対照)を負荷し、脂質代謝と動脈硬化病巣を解析した。エライジン酸はオレイン酸に比べて、脂肪組織、筋肉、肝臓など多くの臓器に蓄積する傾向があり、局所で炎症性サイトカインの発現亢進とNADPH oxidaseの活性化により局所で炎症と酸化ストレスを惹起し、動脈硬化を促進することが明らかとなった。これらの作用は、血管壁構成細胞のToll-like receptor (TLR)2/4を介するものであることが判明した。

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11件)

- 1) Itcho K, Yoshii Y, Ohno H, Oki K, Shinohara M, Irino Y, Toh R, Ishida T,

Hirata K, Yoneda M. Association between serum elaidic acid concentration and insulin resistance in two Japanese cohorts with different lifestyles. *J Atheroscler Thromb.* 2017, In press.

- 2) Monguchi T, Hara T, Hasokawa M, Nakajima H, Mori K, Irino Y, Toh R, Shinohara M, Ishida T, Hirata K. Excessive intake of trans fatty acid accelerates atherosclerosis through promoting inflammation and oxidative stress in a mouse model of hyperlipidemia. *J Cardiol.* 2017, In press.
- 3) Irino Y, Toh R, Nagao M, Mori T, Honjo T, Shinohara M, Tsuda S, Nakajima H, Satomi-Kobayashi S, Shinke T, Tanaka H, Ishida T, Miyata O, Hirata K. 2-Aminobutyric acid modulates glutathione homeostasis in the myocardium. *Sci Rep.* 2016;6:36749.
- 4) Ishida T. Dawn to a new era for the far lower the far better LDL-C story in Japan. *Circ J.* 2016;80:1903-1904.
- 5) Mori K, Ishida T, Tsuda S, Oshita T, Shinohara M, Hara T, Irino Y, Toh R, Hirata K. Enhanced impact of cholesterol absorption marker on new atherosclerotic lesion progression after coronary intervention during statin therapy. *J Atheroscler Thromb.* 2017;24:123-132.
- 6) Nagao M, Toh R, Irino Y, Mori T, Nakajima H, Hara T, Honjo T, Satomi-Kobayashi S, Shinke T, Tanaka H, Ishida T, Hirata K. -Hydroxybutyrate elevation as a compensatory response against oxidative stress in cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016 ;475:322-8.
- 7) Takaya T, Ishida T. Combination of Invasive and Non-Invasive Vascular Examinations: Usefulness from the Preemptive Aspect. *J Atheroscler Thromb.* 2015;22:1027-1029.
- 8) Mori K, Ishida T, Yasuda T, Hasokawa M, Monguchi T, Sasaki M, Kondo K, Nakajima H, Shinohara M, Shinke T, Irino Y, Toh R, Nishimura K, Hirata K. Serum concentration of trans fatty acid is elevated in young patients with coronary artery disease in Japan. *Circ J.* 2015;79:2017-25.
- 9) Kondo K, Ishida T, Yasuda T, Nakajima H, Mori K, Tanaka N, Mori T, Monguchi T, Shinohara M, Irino Y, Toh R, Rikitake Y, Kiyomizu K, Tomiyama Y, Yamamoto J, Hirata K. *Trans-fatty acid*

promotes thrombus formation in mice by aggravating anti-thrombogenic endothelial functions via toll-like receptors. Mol Nutr Food Res. 2015 ;59:729-40.

- 10) Tanaka N, Ishida T, Nagao M, Mori T, Monguchi T, Sasaki M, Mori K, Kondo K, Nakajima H, Honjo T, Irino Y, Toh R, Shinohara M, Hirata K. Administration of high dose eicosapentaenoic acid enhances anti-inflammatory properties of high-density lipoprotein in Japanese patients with dyslipidemia. Atherosclerosis. 2014 ;237:577-583.
- 11) 中島 英人, 石田 達郎, 平田 健一. 栄養素から考える心血管病. 飽和脂肪酸・コレステロールと心血管病. 循環器内科 2014;75:563-570.

〔学会発表〕(計9件)

- 1) Oshita T, Toh R, Mori K, Irino Y, Shinohara M, Shinke T, Ishida T, Hirata K. Elevated Serum Trans-fatty Acid is a Predictive Cardiovascular Risk in Japan. 第81回 日本循環器学会学術集会. 2017/3/18.
- 2) Nagasawa Y, Shinke T, Toh R, Otake H, Takaya T, Kuroda K, Toba T, Takahashi H, Terashita D, Uzu K, Kashiwagi D, Kuroda K, Shinkura Y, Tahara N, Nagano Y, Tsukiyama Y, Yanaka K, Yamamoto H, Ishida T, Hirata K. The Impact of Serum Trans Fatty Acids Concentration on Plaque Vulnerability in Patients with Coronary Artery Disease under Management of Conventional Risk Factors: Assessment via Optical Coherence Tomography. American College of Cardiology (ACC) 2016 Scientific Sessions. 2016/4/2-4.
- 3) 長澤圭典、新家俊郎、杜隆嗣、大竹寛雅、高谷具史、黒田優、鳥羽敬義、高橋八大、寺下大輔、宇津賢三、柏木大嗣、黒田浩史、新倉悠人、田原奈津子、永野雄一郎、築山義朗、谷仲謙一、山本裕之、石田達郎、平田健一。既知の危険因子に対して内服管理下の冠動脈疾患患者の残余リスクとしてのトランス脂肪酸濃度とプラークの脆弱性との関連の評価。第25回日本心血管インターベンション治療学会学術集会 (CVIT)。2016/7/7-9.
- 4) 石田達郎。外因性脂質を含めた包括的な血清脂質管理の重要性。第29回日本冠疾患学会学術集会。2015/11/21.
- 5) 石田達郎。我国におけるトランス脂肪

酸の血中濃度と動脈硬化リスク.日本臨床栄養学会 2015 年度認定臨床栄養医研修会. 2015/7/5.

- 6) Mori K, Ishida T, Yasuda T, Nagao M, Tanaka N, Mori T, Monguchi T, Sasaki M, Nakajima H, Hara T, Honjo T, Irino Y, Shinohara M, Toh R, Hirata K. Serum Trans Fatty Acid Level impacts Coronary artery disease in Japanese Young Generation. 第47回日本動脈硬化学会総会. 2015/7/10.
- 7) 門口倫子、石田達郎、中島英人、安田知行、近藤健介、森健太、佐々木真希、篠原正和、杜隆嗣、平田健一。動脈硬化モデルマウスにおいてトランス脂肪酸が炎症・動脈硬化・酸化ストレスに及ぼす影響.第14回日本NO学会学術集会. 2014/5/16-17.
- 8) 近藤健介、石田達郎、安田知行、長尾学、森健茂、田中伸明、門口倫子、森健太、佐々木真希、中島英人、杜隆嗣、平田健一。トランス脂肪酸はTLR依存性経路を介して血管内皮細胞の抗血栓作用を低下させる。第14回日本NO学会学術集会。2014/5/16-17.
- 9) Mori T, Ishida T, Tanaka N, Monguchi T, Mori K, Sasaki M, Kondo K, Nakajima H, Honjo T, Yasuda T, Irino Y, Toh R, Hirata K. Serum trans fatty acid concentration can be controlled by treatments with ezetimibe or EPA. 第46回日本動脈硬化学会総会. 2014/7/10-11.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)
取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

新家 俊郎 (SHINKE TOSHIRO)

神戸大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：60379419

(2)研究分担者

石田 達郎 (ISHIDA TATSURO)

神戸大学・大学院医学研究科・特命教授
研究者番号：00379413

平田 健一 (HIRATA KEN-ICHI)

神戸大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：20283880