OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	食品由来フラボノイドのコレステロール逆転送系活性化および尿酸代謝改善作用に関する研究
Author(s)	紺谷, 愛美
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76500
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　紺谷　愛美　）	
論文題名	食品由来フラボノイドのコレステロール逆転送系活性化および尿酸代謝改善作用に関する研究

論文内容の要旨

本研究では、食品成分の生理活性を利用した生活習慣病の予防を目的に、生活習慣病と関連の深い動脈硬化および高尿酸血症に着目し、これらを緩和する食品成分の機能評価およびメカニズム解明を行った。

第一章では、柑橘果皮に主に含まれ多彩な生理活性を有するヘスペリジンのコレステロール逆転送系（reverse cholesterol transport: RCT）活性化に及ぼす影響について検討した。心疾患は悪性新生物に次いで日本人の死亡原因の第 2 位であり、その原因である動脈硬化の進展を抑制することがその予防に重要である。3-hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzyme-A（HMG-CoA）還元酵素阻害薬（スタチン）による low density lipoprotein cholesterol（LDL-C）低下療法は種々の介入試験で心血管イベントを抑制することが明らかとなったが、その抑制効果は 20-40% にとどまる。そこで、残余リスクの制圧を目的とした次の治療ターゲットとして、動脈硬化巣からコレステロールを引き抜き、肝臓へと運搬し体外へ排泄する RCT が注目されている。RCT の過程におけるコレステロール引き抜きの役割を担うのが、善玉として知られる high density lipoprotein（HDL）である。血中 HDL cholesterol（HDL-C）濃度が高いほど動脈硬化性疾患発症リスクが低いという過去の研究結果から、HDL-C 値を上昇させる薬剤が種々開発されたが、介入試験では心血管イベント抑制には至らなかった。そこで、コレステロール引き抜き能をはじめとした HDL の機能改善による RCT 活性化が治療ターゲットとして期待を高めつつある。当研究室ではこれまでに、家族性高コレステロール血症患者における動脈硬化性疾患発症の予測因子として、コレステロール引き抜き能が HDL-C 値よりも有用であることを報告している。そこで本研究では、多彩な生理活性を有するヘスペリジンに着目し、ヘスペリジンの RCT 活性に及ぼす影響について検討した。マウスマクロファージ様細胞株である RAW 264.7 を用いた検討では、ヘスペリジンのアグリコンであるヘスペレチンを、生体内で存在しうる濃度である 0.6 – 2.5 μM 添加することにより、apolipoprotein A-I 依存的なコレステロール引き抜き活性が最大 1.5 倍程度向上した。また、トリチウムにて標識したコレステロールを用いたトレーサー実験では、ヘスペレチンはコレステロールの糞便への排泄を最大 1.6 倍程度に高めた。RAW 264.7 における RCT 関連因子の発現検討では、ヘスペレチンの添加により、RCT において末梢細胞からのコレステロール引き抜きに関与するトランスポーターである ATP-binding cassette protein A1（ABCA1）の mRNA および タンパク質の発現上昇が認められた。そこでヘスペレチンの ABCA1 発現上昇機構を検討したところ、ヘスペレチンは ABCA1 発現機構の上流に位置する peroxisome proliferator-activated receptor γ（PPARγ）あるいは liver receptor X（LXR）のアゴニスト活性を示さず、PPARγ-LXR-ABCA1 経路とは独立した機構を介することが明らかとなった。LXRの活性化は、脂肪酸合成経路活性化に伴う脂肪肝などの副作用が懸念されるため、ヘスペレチンはそのような副作用を回避できる可能性がある。また、他の ABCA1 発現上昇機構として報告のある mRNA の安定性向上やリソソーム、ユビキチン-プロテアソーム系、あるいは μ-カルパインによるタンパク質分解抑制いずれの機構にもヘスペレチンは影響を及ぼさないことが明らかとなった。しかし、micro RNA の網羅的発現解析により、ABCA1 発現を抑制するとの報告がある miR-18a をはじめ、複数の micro RNA について変動が認められた。ヘスペレチンの ABCA1 発現上昇機構に寄与する microRNA が同定されれば、新規の ABCA1 発現制御機構の解明に貢献できるとともに、本機構を制御する薬剤あるいは食品の開発に応用できる。

第二章では、柑橘由来フラボノイドであるヘスペリジンや、ホップに含まれるフラボノイドであるキサントフモールの高尿酸血症に及ぼす影響について検討した。痛風は尿酸が体内に蓄積することで引き起こされる関節炎を主な症状とする疾患であり、人々の生活の質を著しく低下させる。近年、食習慣や生活習慣の変化により痛風患者数は年々増加しており、2016 年に 100 万人を突破した。痛風の原因である高尿酸血症の患者数は痛風患者数の 10 倍と推定されていることから、痛風予備軍は 1000 万人にのぼるとされている。そこで、高尿酸血症の緩和を目的に、ヘスペリジンおよびキサントフモールを用いて機能評価を行った。ヘスペリジンについては、糖転移処理を行うことで腸管吸収性に富むグルコシルヘスペリジンを使用した。高尿酸血症モデルマウスを用いた機能評価では、

高尿酸血症誘発食にグルコシルヘスペリジンを 0.1% - 1.0% 混餌摂食させたところ、用量依存的な血清尿酸値の上昇抑制（摂食 4 週間後において、最大 38% の抑制）が認められた。キサントフモールについては、0.1% 混餌摂食により、摂食 4 週間後において血清尿酸値の上昇抑制が認められた。血清尿酸値低下機構の検討において、尿酸代謝の観点から尿酸生合成、腎臓尿酸排泄、腎外（腸管）尿酸排泄の 3 つの制御機構に着目し、各々の機構に及ぼす両フラボノイドの影響を検討した。その結果、グルコシルヘスペリジンは尿酸生合成に関与する酵素である xanthine oxidase (XOD) を阻害し、肝臓での尿酸生合成活性を低下させる一方、腎臓あるいは腸管尿酸排泄機構には影響を及ぼさないことが明らかとなった。一方でキサントフモールは尿酸排泄に寄与するトランスポーターである ATP-binding cassette sub-family G member 2 (ABCG2) の腸管における発現上昇を介して腸管尿酸排泄を促進させる一方、尿酸生合成機構には影響を及ぼさないことが明らかとなった。高尿酸血症患者には、尿酸産生過剰型、腎臓尿酸排泄促進型、腎外尿酸排泄低下型およびこれらの混合型の複数の病型により分類されるため、本研究にて得られた知見から、病型に適した食品成分の選択・活用により高尿酸血症の更なる緩和への貢献が期待できる。

以上の本研究から、動脈硬化や高尿酸血症といった生活習慣病に関連する諸疾患の緩和に食品由来フラボノイドが有効であるという有意義な知見を得ることができた。超高齢社会である現代においては、医療費の増大や多剤服用による予期せぬ有害事象の併発などが懸念され、このような問題への対応策として健康寿命の延伸が重要課題である。本研究により見出された食品由来フラボノイドの活用により、生活習慣病発症リスク低減ひいては健康寿命の延伸に繋がる可能性が期待される。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（紺谷愛美）			
論文審査担当者		(職)	氏　名
	主 査	教授	斯波真理子
	副 査	教授	小比賀　聡
	副 査	教授	土井　健史

論文審査の結果の要旨

本研究では、日本人の生命および健康予後に大きな影響を持つ動脈硬化と高尿酸血症に寄与する食品成分について、その機能評価、および作用機序を明らかにした、大変有意義なものであると言える。

動脈硬化についてはヘスペリジンについて、コレステロール逆転送系活性化に及ぼす影響について検討し、マクロファージを用いてapo A-I 依存的なコレステロール引き抜き活性が最大 1.5 倍程度向上すること、in vivoにおいては、コレステロールの糞便への排泄を最大 1.6 倍程度に高めることを明らかにした。そのメカニズムについては、PPARγ-LXR-ABCA1経路とは独立した機構を介し、ATP-binding cassette protein A1 (ABCA1) の mRNA および タンパク質の発現上昇によることが明らかとなった。miR-18a をはじめ、複数の micro RNA について変動が認められ、これらを介した作用の可能性が考えられた。高尿酸血症については、グルコシルヘスペリジン、およびキサントフモールが、血清尿酸値の上昇抑制作用を認た。グルコシルヘスペリジンは尿酸生合成に関与する酵素であるxanthine oxidase (XOD) を阻害し、肝臓での尿酸生合成活性を低下キサントフモールはATP-binding cassette sub-family G member 2 (ABCG2) の腸管における発現上昇を介して腸管尿酸排泄を促進させた。

以上、食品成分の生活習慣病に関わる作用を明らかにして、治療への応用の道を開いた業績が顕著であることにより、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。