

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 1 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700934

研究課題名(和文)肥満・やせの表現型にあわせた脳卒中予防戦略の構築

研究課題名(英文) A study looking for a new strategy to prevent cerebral lesions of a rat spontaneous stroke model with and without the obesity.

研究代表者

田淵 正樹 (TABUCHI, Masaki)

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：20340771

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、「肥満」と「やせ」、それぞれ異なる形質をもつモデルラット(M-SHRSP fatty, M-SHRSP)を用いて、それぞれの表現型にあわせた脳卒中予防戦略を構築することを目的として実験を行った。M-SHRSPに対する脂質異常症治療薬(フィブラート系薬)の長期投与に、脳卒中予防効果と延命効果を認めた。また、M-SHRSPに対する高脂肪食の給餌に著明な脳卒中予防効果を認めた。本研究により「やせ」の形質をもつ脳卒中に対しては、栄養学的な改善および脂質代謝への介入により、脳卒中発症を予防し、発症後の脳卒中病態の進展を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Obesity has been considered as a risk factor for cerebral stroke. Recently it has been clarified that too lean persons has more risk for stroke incidence than normal individuals do. Malignant stroke-prone spontaneously hypertensive rats (M-SHRSP) develop spontaneous stroke at early age without obesity, therefore this strain serves as a model of cerebrovascular stroke without the metabolic syndrome. In this study, we investigated a new strategy to prevent cerebral lesions of a rat spontaneous stroke model with and without the obesity. The prior treatment with a PPAR-alpha agonist prevented the onset of cerebral lesions in M-SHRSP. Additionally, the hypoadiponectinemia was observed in obese M-SHRSP fed a high-fat diet, however, both incidence and mortality of stroke were markedly prevented. Our results show that improvement in nutrition and lipid metabolism prevents the development of brain lesion in spontaneous stroke model without obesity.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：健康と食生活 脳卒中 脂質代謝 肥満 やせ

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、医療の進歩により脳卒中を死因とする死亡率は減少しているものの、脳卒中の患者数は増加の一途をたどっている。脳卒中の特徴は発症後長期にわたり、重篤な身体機能障害や知能・精神機能障害を残すことで、要介護者における介護が必要となった原因の27.3%を脳血管疾患が占める。このことは、脳卒中に対する医療費・介護費が非常に高額であることにもつながっている。このように脳卒中は社会的影響のきわめて大きい疾患であることから、その予防あるいは脳卒中発症後の脳障害の軽減は非常に重要な課題である。

(2) 現在、国内外において、肥満症や脂肪組織に関する研究が急速に発展しており、肥満が多くのある生活習慣病(虚血性心疾患、脳卒中)と密接に関連していることが明らかとなった。平成20年国民健康・栄養調査(厚生労働省)によると、肥満者(Body-mass index: BMI > 25)の割合は男性28.6%、女性20.6%であるが、生活習慣病やメタボリックシンドローム対策への関心の高まりにより、男性肥満者の増加傾向は鈍化し、女性では肥満者の割合が減少している。一方、やせの人(BMI < 18)の割合は、男性4.3%、女性10.8%であり、女性では、20歳代(22.5%)および30歳代(16.8%)でその割合が高い。

(3) 英国心臓財団などの研究グループは、57の前向き研究について、BMIと死亡率の関連をまとめており[Lancet 373, 1083-96, 2009]、脳卒中による死亡率は、BMI 22.5-25が最も低く、BMIの増大にしたがって上昇することを示しているが、BMIが22.5未満の領域では、BMIの低下にしたがって死亡率が上昇する、いわゆる「J」字型曲線を描いている。すなわち、脳卒中発症に関しては、「肥満」だけでなく「やせ」も危険因子であることが示された。このことは、「肥満」と「やせ」の表現型の違いにより、脳卒中発症の機序が異なることを示唆しており、脳卒中の予防法を確立するためには、まず、これらの病態を明らかにした上で、それを基礎的基盤とした介入法(食習慣および薬物介入)を検討する必要性がある。

## 2. 研究の目的

本研究は、「肥満」型の脳卒中モデル動物として、肥満、高インスリン血症、脂質異常症を呈するSHRSP.Z-Lepr<sup>fa</sup>/IzmDmcr (SHRSP fatty)を、「やせ」型の脳卒中モデル動物として、悪性脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(Malignant stroke-prone spontaneously hypertensive rats: M-SHRSP)を用い、これらのモデルで未だ解明されていない基礎的研究を完成し、「肥満」および「やせ」の表現型に適した脳卒中予防法を確立することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) SHRSP fatty, M-SHRSP および正常血圧対照のウィスター京都ラット(WKY)を用いて、体重、臓器重量、血清生化学検査値を測定し、それぞれの基本的形質を明らかとする。

(2) SHRSP fatty, M-SHRSP およびWKYにおける加齢に伴う自律神経機能、すなわち血圧・心拍数の経時的変動について、テレメトリー法(慢性実験テレメトリー自動計測システム)により明らかとする。

(3) SHRSP fatty, M-SHRSP を用いて、体重減少・飲水量・尿量の増加等の代謝機能変化、四肢の麻痺・過敏性などの神経症状の観察から、脳卒中発症日を推定するとともに、生存日数を明らかとする。

(4) SHRSP fatty, M-SHRSP, およびWKYを用いて、脳病理標本を作成し、脳血管病変(脳梗塞、脳出血、脳浮腫)の差異を明らかとする。

(5) SHRSP fatty, M-SHRSP, およびWKYの脂肪組織を用いて、アディポサイトカインであるアディポネクチン、レプチン、TNF- $\alpha$ の動態を明らかとする。

(6) SHRSP fatty, M-SHRSP の糖質代謝および脂質代謝に薬物介入し、脳卒中発症に及ぼす影響を明らかとする。

## 4. 研究成果

(1) 脳卒中モデル動物の基本的形質の解析  
M-SHRSPにおいて、インスリン分泌能が低下しており、それに伴う耐糖能異常、脂質代謝異常(低コレステロール血症、低トリグリセリド血症)があり、脂肪組織重量が正常ラットよりも低いこと、すなわち「やせ」の形質に関連していることを明らかとした。

(2) 脳卒中モデル動物の自律神経機能変化

M-SHRSP およびWKYにおける加齢に伴う自律神経機能、すなわち血圧・心拍数の経時的変動を測定し、脳卒中発症時に心拍数の急激な増加と、血圧・心拍数の日内リズムの消失を認めた。

(3) 脳卒中モデル動物の脳卒中発症日の推定と生存日数の解析

M-SHRSPの脳卒中発症日は生後78日(50%脳卒中発症率)で、生存日数は生後138日(50%生存率)であった。SHRSP fattyについて、検体数の追加を試みている。

(4) 脳卒中モデル動物のアディポサイトカインの解析

M-SHRSPの脳卒中発症時に血漿アディポネクチン濃度の低下を認めた。転写因子PPAR $\alpha$ アゴニストであるピオグリタゾンの投与は、血漿アディポネクチン濃度を上昇させたが、脳卒中発症の予防効果ならびに延命効果は認められなかった。また、脳卒中発症後のアディポネクチン投与に治療効果や改善効果を認めなかった。

(5) SHRSP fatty, M-SHRSPの糖質代謝および脂質代謝への介入試験

M-SHRSPに対する糖尿病治療薬(インスリ

ン, スルホニル尿素薬, ビグアナイド系薬, チアゾリジン系薬)の長期投与に脳卒中予防効果および生存率への影響を認めなかった。脂質異常症治療薬(フィブラート系薬)の長期投与に, 脳卒中予防効果と延命効果を認めた。また, M-SHRSP に対する高脂肪食の給餌に著明な脳卒中予防効果を認めた。

以上から, 本研究により「やせ」の形質をもつ脳卒中に対しては, 脂質代謝への介入により, 脳卒中発症を予防し, 発症後の脳卒中病態の進展を抑制する可能性が示唆された。詳細なメカニズム, さらには「肥満」形質に適した脳卒中発症予防法の解明が必要である。

#### 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 14 件)

Tamura A, Tabuchi M, (他 7 名, 7 番目). Yerba-mate (*Ilex paraguariensis*) extract prevents ethanol-induced liver injury in rats. *J Funct Foods*, 査読有, 5(4), 1714-1723, 2013. DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.02.008

Tabuchi M, (他 5 名, 1 番目). Epigallocatechin-3-gallate suppresses transforming growth factor-beta signaling by interacting with the transforming growth factor-beta type II receptor. *World J Exp Med*, 査読有, 3(4), 100-107, 2013. DOI: 10.5493/wjem.v3.i4.100

Kobayashi M, Tabuchi M, (他 5 名, 5 番目). Effect of mango seed kernel extract on the adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and in rats fed a high fat diet. *Health*, 査読有, 5(8A3), 9-15, 2013. DOI: 10.4236/health.2013.58A3002

Honda E, Tabuchi M, (他 3 名, 4 番目). Myofibroblasts: biochemical and proteomic approaches to fibrosis. *Tohoku J Exp Med*, 査読有, 230(2), 67-73, 2013. DOI: 10.1620/tjem.230.67

Itoh T, Tabuchi M, (他 10 名, 8 番目). Appearance of neural stem cells around the damaged area following traumatic brain injury in aged rats. *J Neural Transm*, 査読有, 120(3), 361-74, 2013. DOI: 10.1007/s00702-012-0895-7

Kawato T, Tabuchi M, (他 5 名, 3 番目). Continual gram-negative bacterial

challenge accelerates stroke onset in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens*, 査読有, 35(1), 28-34, 2013. DOI: 10.3109/10641963.2012.689042

Chiba T, Tabuchi M, (他 3 名, 3 番目). Interleukin-1 accelerates the onset of stroke in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Mediators Inflamm*, 査読有, 2012, 701976, 2012. DOI: 10.1155/2012/701976

Itoh T, Tabuchi M, (他 10 名, 2 番目). Neuroprotective effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate in rats when administered pre- or post-traumatic brain injury. *J Neural Transm*, 査読有, 120(5), 767-783, 2012. DOI: 10.1007/s00702-012-0918-4

Ohnishi R, Tabuchi M, (他 6 名, 5 番目). 1'-Acetoxychavicol Acetate Inhibits Adipogenesis in 3T3-L1 Adipocytes and in High Fat-Fed Rats. *Am J Chin Med*, 査読有, 40(6), 1189-1204, 2012. DOI: 10.1142/S0192415X12500887

Park AM, Tabuchi M, (他 5 名, 4 番目). p38MAPK suppresses chronic pancreatitis by regulating HSP27 and BAD expression. *Free Radic Biol Med*. 査読有, 52, 2284-2291, 2012. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.03.010

Takahashi M, Tabuchi M, (他 8 名, 7 番目). *Ecklonia cava* polyphenol protects the liver against ethanol-induced injury in rats. *Biochim Biophys Acta*, 査読有, 1820(7), 978-988, 2012. DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.02.008

Chiba T, Tabuchi M, (他 4 名, 3 番目). Delay of stroke onset by milk proteins in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Stroke*, 査読有, 43(2), 470-477, 2012. DOI: 10.1161/STROKEAHA.111.618496

Zhong MF, Tabuchi M, (他 9 名, 3 番目). Differential changes of aorta and carotid vasodilation in type 2 diabetic GK and OLETF rats? Paradoxical roles of hyperglycemia and insulin. *Exp Diabetes Res*, 査読有, 2012, 429020, 2011.

DOI: 10.1155/2012/429020

Kojima-Yuasa A, Tabuchi M, (他 4 名, 3 番目). Zinc deficiency enhances sensitivity to carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. 査読有, J Trace Elem Med Biol, 25(2), 103-108, 2011.

DOI: 10.1016/j.jtemb.2011.02.001

〔学会発表〕(計 2 件)

田淵 正樹, 脳卒中自然発症ラットを用いた非メタボリックシンドローム型脳卒中発症予防法の検討, 第 85 回日本生化学会大会, 2012 年 12 月 16 日, 福岡

田淵 正樹, ラット脳卒中発症に対するアディポネクチンの治療効果に関する検討, 第 84 回日本薬理学会年会, 2012 年 3 月 15 日, 京都

〔図書〕(計 1 件)

田淵 正樹 他, 農山魚村文化協会, 新版茶の機能～ヒト試験から分かった新たな役割, 2013 年, 103-110.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田淵 正樹 (TABUCHI, Masaki)

近畿大学・医学部・講師

研究者番号: 20340771