

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究(スタートアップ)

研究期間：2008～2009

課題番号：20880030

研究課題名(和文) 胎生期の栄養管理が生活習慣病モデルラットの血管機能と酸化ストレスに及ぼす影響

研究課題名(英文) The effect of nutritional management during fetal life on vascular function and oxidative stress in rats with adult-onset diseases

研究代表者

里井 恵子 (SATOI KEIKO)

近畿大学・農学部・助教

研究者番号：70510874

研究成果の概要(和文)：胎生期の低栄養曝露により、出生後に生活習慣病・血管障害の罹患率が上昇することが報告されている。さらに、高血圧・脳卒中の遺伝モデルラット SHRSP を用いた以前の研究において、妊娠中の母獣にタンパク制限を行うと食塩感受性が亢進することを確認している。本研究ではこの動物モデルを用いて、胎生期の低タンパク曝露が血管機能に及ぼす影響について検討した。その結果、代謝異常をともなう SHRSP では、胎生期の栄養環境は血圧の上昇とは独立して血管機能に影響している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Some research show that the increase in the prevalence of adult-onset diseases and vascular disorders after the birth by exposure to undernutrition during fetal life. Moreover, previous research using stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP), an animal model which develops hypertension and stroke, demonstrated the increased salt-sensitivity in rats whose dams were fed protein restricted diets during pregnancy. In this study, the effect of maternal exposure to low-protein diet on postnatal vascular function was examined. As a result, the study revealed that nutritional environment during fetal life possibly affects vascular function independently of increased blood pressure in SHRSP with metabolic disorders.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,250,000	375,000	1,625,000
2009 年度	1,160,000	348,000	1,508,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,410,000	723,000	3,133,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品化学

キーワード：栄養生化学・栄養・循環器・高血圧

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 生活習慣病の予防・改善研究には、単独の疾患に焦点を当てるのではなく、複数の動脈硬化危険因子の相互関係を視野に入れるべきである。さらに、高血圧などの危険因子が重複して引き起こされる「炎症としての動脈硬化」についての胎児期発症起源説に関する研究は、これまでにほとんど行われていない。

(2) 近年、新たな発症機序として、「生活習慣病の胎児期発症（起源）説」が提起され、世界的に注目されている。Barker らは生活習慣病の発症素因は胎児期に決定されると提唱した (Barker; BMJ, 311, 171-174, 1994)。胎児期の栄養環境が出生後の疾病発症に影響する機序として、DNA メチル化、ヒストンのアセチル化やメチル化などエピジェネティクス制御系が考えられており、既に糖尿病など生活習慣病の発症に胎児期のエピジェネティクス制御系が関与していることが報告されていることから、エピジェネティクスの視点から見た生活習慣病の発症機序の解明は、極めて重要な研究課題である。

## 2. 研究の目的

本研究では、胎児期・授乳期の栄養環境が高血圧症のみならず、高血圧が引き金となって誘発される血管機能不全、ひいては動脈硬化症に対してどのような影響を及ぼすのかを脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット

(stroke-prone spontaneously hypertensive rats : SHRSP) を用いて明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) SHRSP における栄養制限（低エネルギー食）モデルの作成と食塩負荷：

妊娠を確認した SHRSP に、20% casein 食（対照群）、9% casein 食（低タンパク曝露群）を与えた。出生後、仔は市販飼料（船橋 SP 飼料）で飼育し、10 週齢からそれぞれ 1% 食塩水群と水道水群に分けた。この間、体重と血圧（Tail-cuff 法）を測定した。

(2) 血管機能評価と酸化ストレスの測定：

13 週齢時には食塩負荷により低タンパク曝露群が対照群に比べ血圧が有意に上昇したのを確認し、胸部大動脈を摘出した。

血管弛緩反応性：

血管反応性胸部大動脈を摘出し、血管内皮細胞による NO 産生を介した血管弛緩反応性をマグヌス法により測定

NO 関連タンパク質：

胸部大動脈の血管内皮由来一酸化窒素

合成酵素 (eNOS)、グアニル酸シクラーゼ (GC) のタンパク発現量を、Western blotting 法により解析した。

③胸部大動脈における NADPH オキシダーゼ活性：

NADPH オキシダーゼサブユニット (p22phox) のタンパク発現量を、Western blotting 法により解析した。

血漿中チオバルビツール酸反応物 (TBARS) 量：

八木らの蛍光法 (TBA 法) に従って測定した。

⑤血漿中 NO 産生量：

血漿は Amicon Ultra-4 Centrifugal Filter Units with Ultracel-10 membrane ([UFC801008], Millipore 社) で除タンパク (7000 g, 10 min, 4℃, MX-301 : TOMY) を行い、測定試料とした。NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> Assay Kit-Ci (Colorimetric)-Griess Reagent Kit (Stressgen 社) を用いて測定した。

## 4. 研究成果

(1) 低タンパク曝露の影響；血漿 TBARS 量 (図 1)、血漿中 NO 産生量 (図 2)、p22phox タンパク発現量 (図 3) には胎生期の低タンパク曝露の影響は認められなかった。弛緩反応は、低タンパク曝露により減弱する傾向が見られた (図 4)。低タンパク曝露では GC が有意に増加したが eNOS 発現量は動かなかった (図 5,6)。

(2) 食塩負荷の影響；血漿 TBARS 量、血漿中 NO 産生量、p22phox タンパク発現量 (図 7) は 20%タンパク群では顕著な変化は認められなかった。弛緩反応は食塩負荷により 20%タンパク食群では減弱したが、低タンパク食群ではその減弱がわずかであった (図 4)。eNOS 発現量は対照群、低タンパク曝露群ともに増加傾向を示したが、GC は動かなかった (図 5,6)。

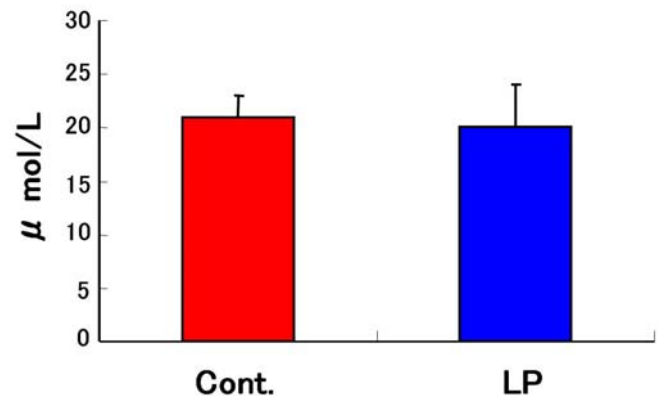


図 1 血漿 TBARS 量

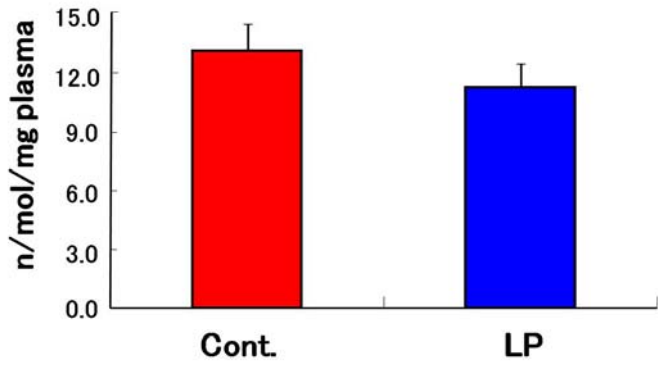


図2 血漿中 NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> 産生量

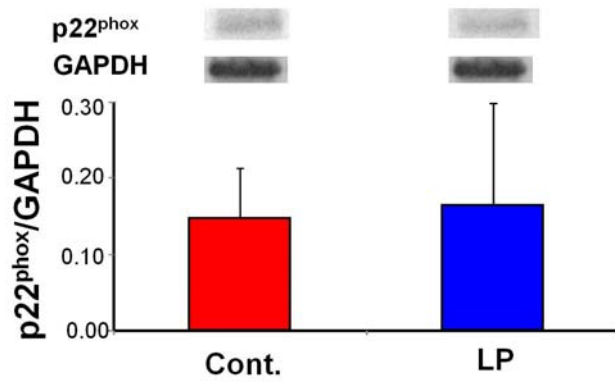


図3 p22<sup>phox</sup> タンパク発現量

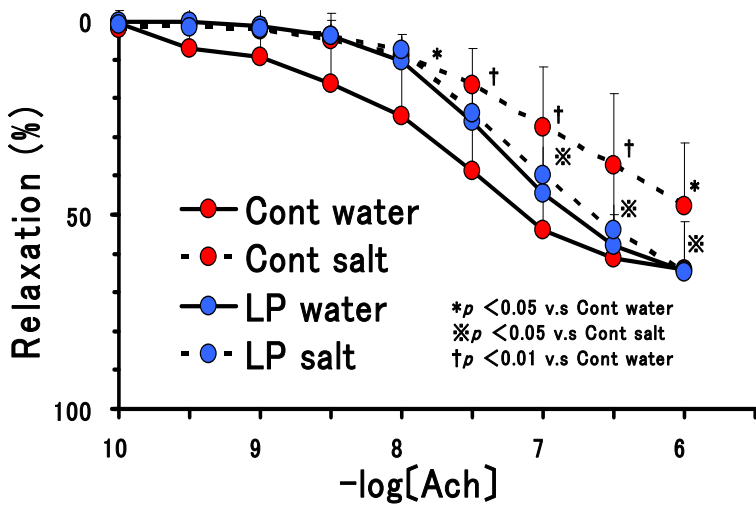


図4 内皮依存性血管弛緩反応

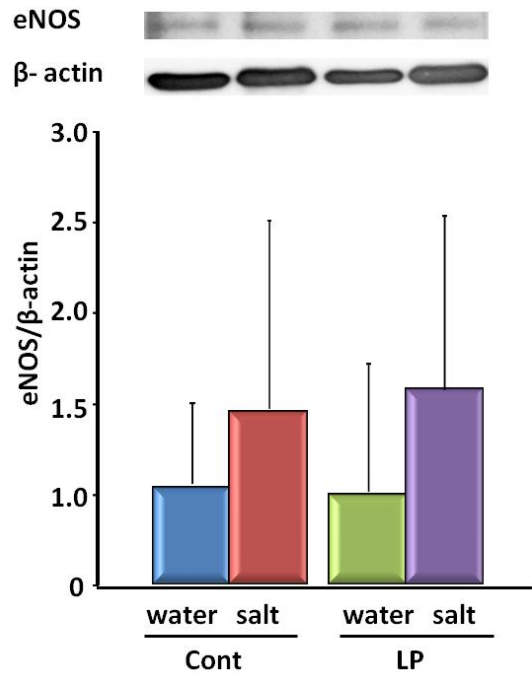


図5 胸部大動脈 eNOS タンパク発現量

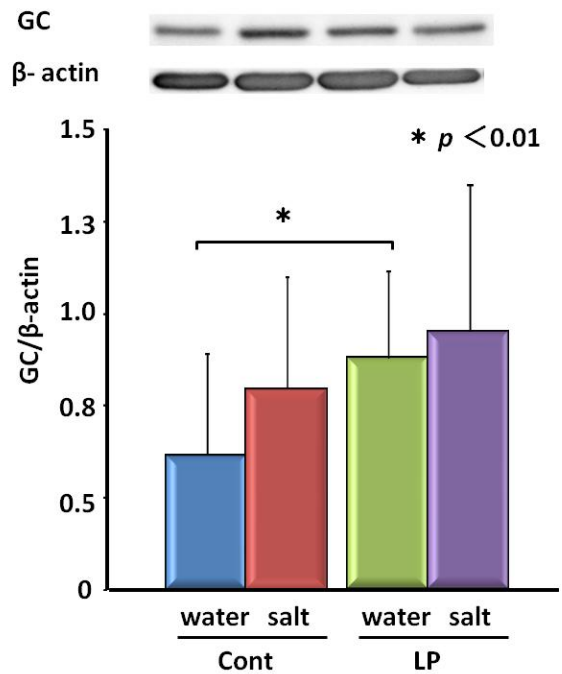


図6 胸部大動脈グアニル酸シクラーゼタンパク発現量

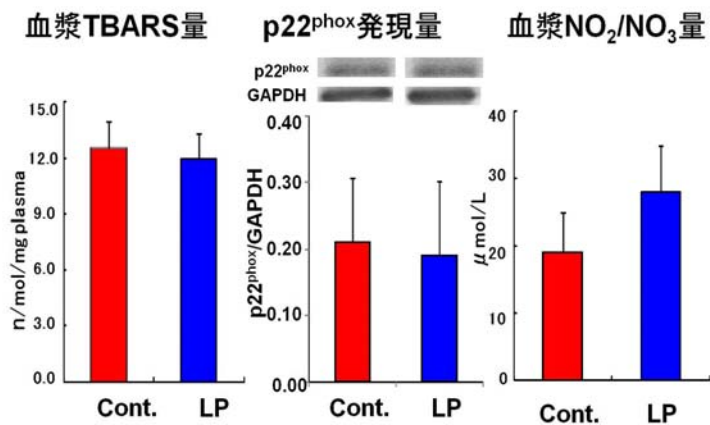


図7 食塩負荷群の血漿 TBARS 量・p22phox タンパク発現量・血漿 NO 量

以上より、胎生期に低タンパク曝露を受けた SHRSP では、血管弛緩反応の減弱傾向が見られた。しかし、食塩負荷による血圧上昇が認められているにも関わらず、著しい NO 産生能低下や酸化ストレスの亢進を伴わないことが明らかとなった。

#### 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)

[学会発表] (計 1 件)

梶谷智樹、里井恵子、村上哲男、妊娠中に低タンパク曝露をうけた SHRSP の抗酸化能 NO 合成阻害剤 (L-NAME) による酸化ストレスの影響、第 7 回日本小児栄養研究会・第 34 回日本臨床栄養協会近畿地方会合同学術集会、2010 年 3 月 6 日、京都大学医学部構内芝蘭会館

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

里井 恵子 (SATOI KEIKO)  
 近畿大学・農学部・助教  
 研究者番号：70510874

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：