

氏名 (生年月日) **わた なべ ゆう すけ** **渡部 裕介** (1984年7月10日)

学位の種類 博士(薬学)

学位記番号 博薬第184号

学位授与の日付 2020年3月20日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 亜麻仁の高血圧モデルラットにおける降圧及び腎保護効果とその作用機序に関する薬理学的研究

論文審査委員 (主査) 教授 中田 徹 男

(副査) 教授 松田 久 司

(副査) 教授 秋葉 聡

## 論文内容の要旨

### 序章

高血圧は、本邦成人の約4300万人が罹患する国民病であり、慢性腎不全の危険因子とされている。高血圧の治療において、食事療法は、薬物療法や運動療法と共に重要な位置付けにあり、血圧の適切な制御は慢性腎不全の予防に繋がる。亜麻仁は、亜麻(アマ科の植物)の種子で、 $\alpha$ -リノレン酸、リグナン、食物繊維といった機能性成分を豊富に含み、多様な疾患に対する有効性が期待される。高血圧に関しては、Rodriguez-Leyvaら(2013)が、高血圧患者を対象とした臨床試験において降圧作用を示すことを報告している。亜麻仁に含まれる $\alpha$ -リノレン酸、リグナン及び食物繊維は、それぞれ降圧作用を発揮することが知られているが、亜麻仁自体の降圧効果における各種機能性成分の関与は不明である。また、亜麻仁は、全身性の循環レニン-アンジオテンシン系(RAS)の抑制を介して降圧作用を発揮することが報告されているが、それ以外の作用機序については不明な点が多い。本研究では、亜麻仁の循環RASに対する抑制作用に基づいた効果を排除するため、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬や、アンジオテンシンII受容体1(AT1受容体)拮抗薬による循環RASの抑制で降圧しないdeoxycorticosterone acetate(DOCA)食塩負荷高血圧モデルラットを用いた。DOCA食塩負荷により誘発された高血圧及び腎機能障害に対する亜麻仁粉末(亜麻仁を焙煎し粉末状にしたもので、 $\alpha$ -リノレン酸、リグナン及び食物繊維を含有する。)及び亜麻仁油(亜麻仁の圧搾により得られる植物油で、 $\alpha$ -リノレン酸のみ含有する。)の降圧及び腎保護効果とその機序について、交感神経活性と腎組織RAS抑制を中心に検討を行った。また、最近、環境ストレスをはじめとするストレス関連心血管イベントの増加も注目されており、亜麻仁のストレス耐性に及ぼす効果についても検討した。

### 第1章 亜麻仁のDOCA食塩負荷高血圧モデルラットにおける降圧及び腎保護効果

亜麻仁の降圧及び腎保護効果を明らかにすることを目的に、DOCA食塩負荷高血圧モデルラットの昇圧及び腎機能障害に対する亜麻仁粉末及び亜麻仁油の影響を検討した。片腎摘出ラットにDOCA及び食塩を負荷することにより、対照群では、経日的な収縮期血圧の上昇及び尿中蛋白排世量の増加が観察され、負荷21日目には、収縮期血圧は約230 mmHg以上、尿中蛋白排世量は約330 mg/dayに達し、重度の高血圧及び腎機能障害を示した。収縮期血圧の上昇に対して、亜麻仁粉末(1.2 g/day及び2.4 g/day、DOCA食塩負荷0日目から混餌投与)及び亜麻仁油(0.6 mL/day及び1.2 mL/day、DOCA

食塩負荷 0 日目から経口投与) は、いずれの用量でも有意な抑制効果を示した。尿中蛋白排泄量の増加に対して、亜麻仁粉末 (1.2 g/day 及び 2.4 g/day) 及び高用量の亜麻仁油 (1.2 mL/day) は有意な抑制効果を示したが、低用量の亜麻仁油 (0.6 mL/day) は有意な抑制効果を認めなかった。以上の結果より、亜麻仁が DOCA 食塩負荷高血圧モデルラットにおいて、降圧及び腎保護効果を有することが明らかとなった。亜麻仁油は、亜麻仁の機能性成分の一つである  $\alpha$ -リノレン酸を豊富に含むが、リグナンや食物繊維を含まない。したがって、低用量亜麻仁油の尿中蛋白排泄量の増加に対する抑制効果が弱かった原因は、複数の機能性成分を含んでいなかったことによるものと推察された。

## 第 2 章 亜麻仁の降圧及び腎保護効果における各種機能性成分の関与

亜麻仁の降圧効果及び腎保護効果における各種機能性成分の関与を明らかにすることを目的に、DOCA 食塩負荷高血圧モデルラットの昇圧及び腎機能障害に対する亜麻仁リグナン及び亜麻仁由来食物繊維の影響を検討し、亜麻仁粉末の効果と比較した。対照群では、第 1 章と同様に経日的な収縮期血圧の上昇及び尿中蛋白排泄量の増加が観察され、亜麻仁粉末はこれらの変化を有意に抑制した。一方、亜麻仁リグナン及び亜麻仁由来食物繊維は、収縮期血圧の上昇及び尿中蛋白排泄量の増加に対して、抑制効果を示さなかった。以上の結果より、亜麻仁の降圧及び腎保護効果において、リグナン及び食物繊維の関与は少ないことが示唆された。

## 第 3 章 亜麻仁の降圧及び腎保護効果に関わる作用機序

第 1 章及び第 2 章の結果より、亜麻仁の降圧効果及び腎保護効果に関わる主要な機能性成分は、 $\alpha$ -リノレン酸であることが示唆された。本章では、亜麻仁の機能性成分のうち  $\alpha$ -リノレン酸を主成分とする亜麻仁油を用いて、DOCA 食塩負荷高血圧モデルラットにおける降圧及び腎保護効果に関わる機序を検討した。対照群では、DOCA 食塩負荷 21 日目において、以下の現象が認められた。すなわち、1) 安静時における平均動脈圧の上昇を伴った交感神経活動の上昇及び副交感神経活動の低下並びに急性の振動ストレス負荷前後での平均動脈圧変化量の増加を伴った交感神経活動変化量及び副交感神経活動変化量の増加、2) 視床下部の炎症性サイトカイン及びケモカイン遺伝子発現量の増加、3) 腎臓の ACE 活性の上昇、4) 腎臓のマロンジアルデヒド (MDA、酸化ストレスマーカー) 量の増加及び NADPH オキシダーゼ関連遺伝子発現量の増加並びに 5) 腎臓の炎症性サイトカイン及びケモカイン遺伝子発現量の増加である。亜麻仁油 (1.2 mL/day) の経口投与は、安静時における平均動脈圧と交感神経活動の上昇、ストレス負荷前後での平均動脈圧変化量と交感神経活動変化量の増加、視床下部の炎症性サイトカイン及びケモカイン遺伝子発現量の増加、腎臓の ACE 活性の上昇並びに腎臓の炎症性サイトカイン及びケモカイン遺伝子発現量の増加に対して、有意な抑制効果を示した。以上の結果より、亜麻仁の降圧効果には、脳内での抗炎症作用及び交感神経活動の抑制作用の関与が示唆された。また、亜麻仁の腎保護効果には、降圧効果を介した間接的な作用に加えて、腎組織 RAS 及び腎臓炎症に対する抑制作用の関与が示唆された。さらに、亜麻仁は、高血圧病態下での急性ストレス応答に対して、ストレス耐性を発揮することが示唆された。

## 総括

本研究では、亜麻仁が DOCA 食塩負荷高血圧モデルラットにおいて、降圧及び腎保護効果を示すこと、また、それらの効果に関わる主成分が  $\alpha$ -リノレン酸であることが明らかとなった。さらに、亜麻仁の降圧及び腎保護効果には、交感神経活動の抑制作用、腎 ACE 活性に対する抑制作用、並びに視床下部及び腎臓での抗炎症作用の関与が示唆された。以上より、本研究を通して、亜麻仁の高血圧患者の血圧管理やストレス耐性への有用性の機序が明らかとなり、今後の活用に期待がもたれる。

## 審査の結果の要旨

### 《緒言》

亜麻科植物の種子である亜麻仁 (flaxseed) は、生体に有益な多様な機能を有する食品として、本邦を含め各国から支持されている。亜麻仁は、オメガ3 不飽和脂肪酸である ( $\alpha$ -linolenic acid) ALA、フェノール化合物の一種であり抗酸化物質であるリグナン及び腸内環境の正常化を担う食物繊維等の機能性成分を豊富に含む。亜麻仁の有益な機能の一つとして、血圧降下作用が挙げられる。亜麻仁は、軽症高血圧患者や薬剤誘発性の高血圧モデル動物において、血圧降下作用を示すこと、昇圧に付随して生じる腎機能障害に対しても保護的に作用することが報告されているが、その詳細な機序は、依然として十分には明らかにされていない。

### 《審査結果の要旨》

第1章では、DOCA 食塩負荷高血圧モデルラットを用いて、亜麻仁粉末及び亜麻仁油の昇圧及び腎機能障害に対する影響を評価し、亜麻仁粉末及び亜麻仁油が、比較的重度な昇圧及び腎機能障害に対して、降圧効果及び腎保護効果を示すことを明らかにした。また、本モデルにおいて、亜麻仁粉末が、亜麻仁油と比較してより高い降圧効果及び腎保護効果を示すことを見出した。これは、亜麻仁粉末に含まれる ALA 以外の成分の存在に起因する現象であると推察された。

第2章では、DOCA 食塩負荷高血圧モデルラットを用いて、亜麻仁粉末の機能性成分である亜麻仁リグナン及び亜麻仁由来食物繊維の昇圧及び腎機能障害に対する影響を評価した。第1章で有効性を示した用量の亜麻仁粉末に含まれる亜麻仁リグナン及び亜麻仁由来食物繊維が、それぞれ単独では DOCA 食塩負荷高血圧モデルラットの昇圧及び腎機能障害に対して抑制効果を認めないことを明らかにし、本モデルにおける亜麻仁の降圧及び腎保護効果の発現には、リグナン及び食物繊維はほとんど寄与しないことを見出した。第1章及び2章の結果より、本モデルにおける亜麻仁の降圧及び腎保護効果に関わる主要な機能性成分は ALA であることが示唆された。

第3章では、亜麻仁油の降圧機序並びに腎保護効果に関わる機序について、自律神経活動、中でも血圧上昇やストレス応答に関わる交感神経活動に焦点を当て検討を行った。亜麻仁油は DOCA 食塩負荷で認められた安静時の交感神経活動の上昇、視床下部の炎症性メディエーター遺伝子発現量の増加、腎 ACE 活性の上昇並びに腎臓の炎症性メディエーター遺伝子発現量の増加に対して抑制効果を示すことを見出した。本結果より、亜麻仁の降圧効果には、視床下部での抗炎症作用及び交感神経活動の抑制作用の関与が示唆された。また、亜麻仁の腎保護効果には、降圧効果を介した間接的な作用に加えて、腎組織 RAS 及び腎炎症に対する抑制作用の関与が示唆された。さらに、亜麻仁は、本モデルのストレス負荷による交感神経興奮とそれに伴う昇圧反応に対して抑制作用を示すことが明らかとなり、ストレス耐性効果を発揮することが示唆された。

### 《審査の結論》

本研究を通して、亜麻仁の血圧管理における有用性と作用機序の一端を明らかにすることができた。多くの機能性食品の降圧作用が ACE 阻害作用であると言われる中、亜麻仁の中枢を介する交感神経抑制作用が初めて明らかにされた。ストレスと高血圧は深く関連しており、心理的、社会的、物理的ストレス等の環境ストレスに起因するストレス性高血圧は、QOL の低下を招くのみならず、心血管イベントリスクを増加させることから、ストレスの緩和やストレス耐性が期待できる機能性食品の摂取は、心血管イベントの発症リスクの低減や回避という点で有用である。予防医学の必要性が叫ばれる

なか、亜麻仁は、「食」を通して健康をサポートする機能性食品として注目され、今後の臨床での活用や他疾患での有効性の解明が期待される。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士（薬学）の学位論文としての価値を有するものと判断する。