

[海外研修報告]

ケルセチンは血圧上昇と NAD(P)H オキシダーゼの 発現に影響を及ぼすか？

佐藤 伸¹⁾

Does quercetin have effects of increase of blood pressure and protein expression of NAD(P)H oxidase?

Shin Sato¹⁾

(J. Aomori Univ. Health Welf. 8(1): 49-52, 2007)

キーワード：ケルセチン、血圧上昇、NAD(P)H オキシダーゼ、スーパーオキシド、抗酸化

I. はじめに

地域住民の高血圧予防のために、新規の栄養教育プログラムや個別の栄養指導を通して食生活の改善、特に、抗酸化能をもつビタミンやミネラルをはじめ、食物繊維等が豊富な食品摂取や減塩の推奨などは重要である。一方で、栄養教育で推奨している食品成分がどのような機序で高血圧予防に寄与するのかという基礎的な科学的エビデンスを蓄積することも急務である。これまで、私たちは古くから生薬として「健康によい」とされる小豆の血圧上昇における役割について調べてきた。たとえば、ポリフェノール類を多く含む小豆抽出物を実験的に自然発症高血圧ラットに投与し、小豆抽出物は血圧上昇抑制作用を有することを報告した¹⁾。

そこで、今回、高血圧予防に役立つ食品由来成分の生理機能を詳細に解明し、科学的エビデンスを構築するた

めに、高血圧の先進的な研究を行っている英国のグラスゴー大学・心血管研究センター長の Anna F. Dominiczak 教授のもとで研修を行った（写真1および2）。

II. 血圧上昇と活性酸素

血圧上昇には、レニン-アンジオテンシン系等が関与するが、近年、一酸化窒素 (NO) や活性酸素種、特にスーパーオキシド (O_2^-) を介した血管機能異常が重要な要因の1つであることが明らかになりつつある²⁾。たとえば、血管ではNOは、血管内皮細胞に存在する内皮型NO合成酵素 (eNOS) から産生され、血管平滑筋の弛緩を促す。一方、高血圧状態では、 O_2^- が増加しており、これが血管内皮の機能障害や炎症に関連する。また、 O_2^- はNOと容易に反応し、強力な酸化物であるパーオキシナイトライト ($ONOO^-$) となる。その結果、血管の

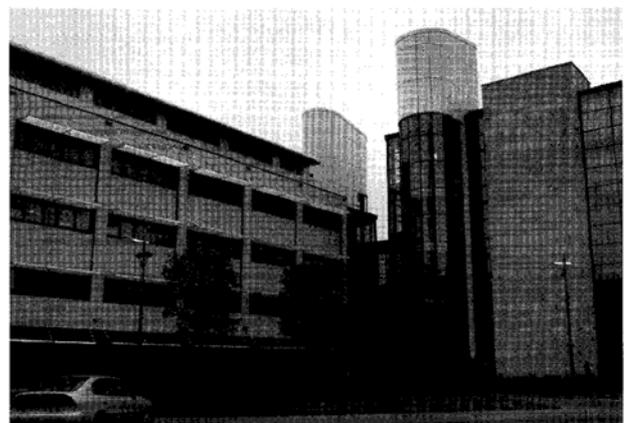


写真1 英国のグラスゴー大学（左）と心血管研究センター（右）の概観

1) 青森県立保健大学大学院健康科学研究科生活健康科学分野

Department of Life Sciences, Graduate School of Health Sciences, Aomori University of Health and Welfare

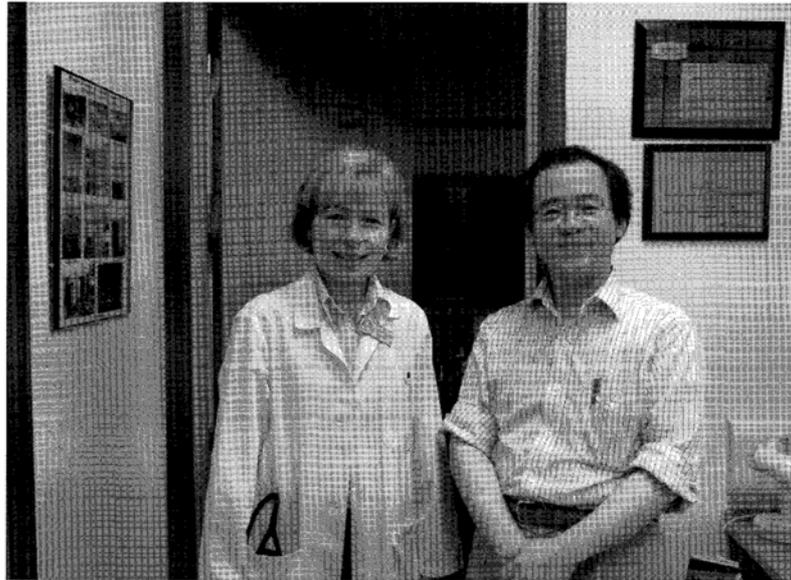


写真2 グラスゴー大学・心血管研究センター長の Dominiczak 教授（右は筆者）。

弛緩に有効な NO が減少して、血圧が上昇する。O₂⁻の産生系と消去系のバランスが崩れ、O₂⁻が過剰に増加した状態、すなわち、酸化ストレスでは、O₂⁻はレドックス遺伝子の発現に関与する転写因子などに働きかけ、血管内皮の機能障害をひきおこし、動脈硬化の発症、進展、破綻をまねくことが知られている。

Ⅲ. O₂⁻と NAD(P)H オキシダーゼ

O₂⁻をはじめとする活性酸素は、これまで好中球やマクロファージなどの炎症に関連する細胞から産生され、殺菌に作用していると考えられていた。しかし、近年、血管、心臓や腎臓などの細胞からも産生されていること

がわかってきた。O₂⁻を産生する酵素には、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸オキシダーゼ (NAD(P)H オキシダーゼ)、キサンチンオキシダーゼやシクロオキシゲナーゼなどがある。アンジオテンシンⅡ、ある種のサイトカインあるいは血管内での機械的刺激により O₂⁻の産生が増強することはよく知られている³⁾。特に、NAD(P)H オキシダーゼは、O₂⁻を産生する重要な酵素の1つである。図1に示すように、NAD(P)H オキシダーゼは、gp91^{phox}/Nox2、p22^{phox}、p47^{phox}、Rac1などのサブユニットから成り⁴⁾、高血圧状態では大動脈や腎臓でいくつかのサブユニットの発現が亢進していることが報告されている⁵⁻⁷⁾。

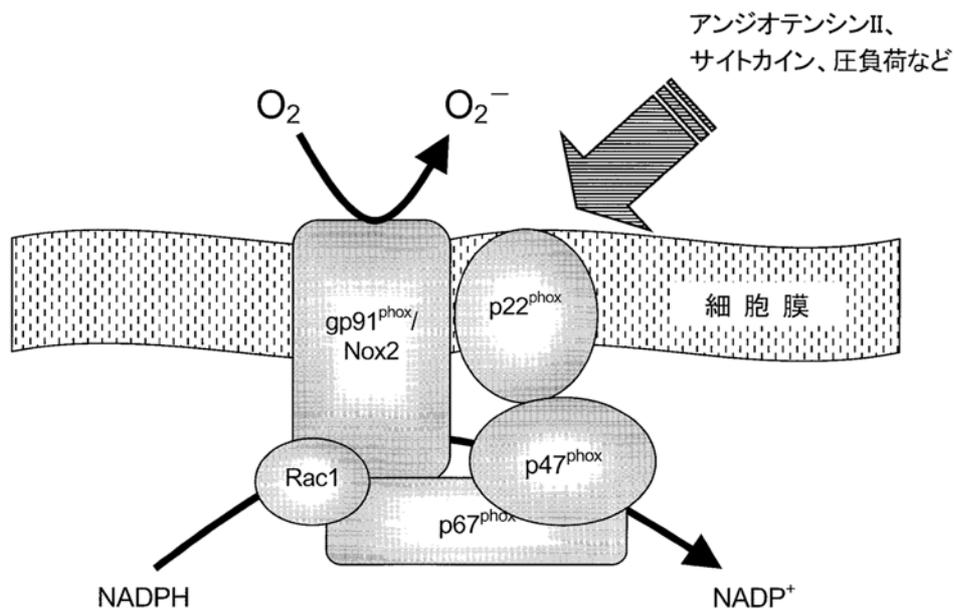


図1 NAD(P)H オキシダーゼのサブユニットの模式図とスーパーオキシドの産生

IV. ケルセチンはNAD(P)Hオキシダーゼのサブユニットの発現に影響を及ぼすか

近年、酸化ストレスが関与する高血圧や動脈硬化の予防・改善のために、抗酸化の観点からのみならず、NAD(P)Hオキシダーゼの阻害剤やそのサブユニットをターゲットとした医薬品の開発が行われている^{4, 8)}。

一方、ケルセチンは、タマネギ、リンゴ、紅茶のような食品に含まれる成分であり、抗酸化作用や血圧上昇抑制作用を有することが知られている^{6, 9)}。もし、ケルセチンが、NAD(P)Hオキシダーゼの阻害やそのサブユニットの発現を制御するならば、抗酸化作用のみならず、新規の生理調節機能を見出すことが期待できる。ひいては、医薬品に頼らず、ケルセチンのような食品成分で高血圧をはじめとする生活習慣病を予防・改善することが可能になるとと思われる。事実、Sanchez et al. (2006) は、自然発症高血圧ラットにケルセチンを胃内投与したところ、血圧上昇が抑制され、大動脈のNAD(P)Hオキシダーゼのサブユニットである p47^{phox} のタンパク質の発現が低下することを報告している⁶⁾。しかしながら、他のサブユニットのタンパク質あるいは遺伝子の発現に関する報告はほとんどない。また、高血圧状態が長期間にわたると腎臓中の糸球体の細動脈が硬化し、それによりタンパク尿となり、このタンパク尿が尿細管に負荷をかけることが知られている。このような腎臓では O₂⁻ の過剰産生がみられるが、ケルセチンの腎臓における NAD(P)Hオキシダーゼのサブユニットの発現に及ぼす影響はほとんど知られていない。

そこで、Dominiczak 教授のもとで、グラスゴー大学の心血管研究センターの研究者とともに、私たちは、ケルセチンによる血圧上昇抑制作用のメカニズムを明らかにするために、ケルセチンを脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rat; SHRSP) に投与し、血圧上昇が抑制されるかを確認し、抑制されるならば、1) 大動脈や腎臓中のスーパーオキシド量は減少するか、2) 血管 (大動脈) 収縮性を測定し、ケルセチン投与により血管弛緩に有効な NO 量は維持されるか、3) NAD(P)Hオキシダーゼのサブユニット (gp91^{phox}/Nox2, p22^{phox}, p47^{phox}, Rac1 など) の発現に影響を及ぼすかを共同研究として開始した。なお、1) および 2) については Dominiczak 教授のグループが行う予定である。

V. これまでの研究の進行状況

ケルセチンの血圧上昇に及ぼす影響およびそのメカニズムを調べるために、雄性 (5 週齢) の SHRSP および正常血圧で対照ラットである Wistar Kyoto (WKY) ラットに 0.2% ケルセチン含有飼料およびメチルセルロース

含有飼料 (対照動物) を 8 週間投与し、ケルセチンが血圧上昇を抑制するかどうかを検討した。なお、SHRSP は、血圧は加齢とともにおよそ 200 mmHg まで達し、病理学的にヒトと近似した脳卒中を発症するモデル動物である。

血圧測定は、尾部カフ法により、週 1 回行った。その結果、ケルセチン投与 SHRSP 群で血圧上昇抑制が認められた (図 2)。この結果は、投与方法は異なるが、これまでの報告とほぼ一致していた^{6, 9)}。投与後、麻酔した後、ラットから採血し、屠殺し、大動脈、頸動脈、腎臓、心臓を採取した。現在、大動脈および腎臓中のスーパーオキシド量についてルシゲニンを用いて測定している。また、NAD(P)Hオキシダーゼのサブユニットのタンパク質の発現をウエスタンブロット法により、mRNA の発現を定量的リアルタイム PCR 法により解析する予定である。

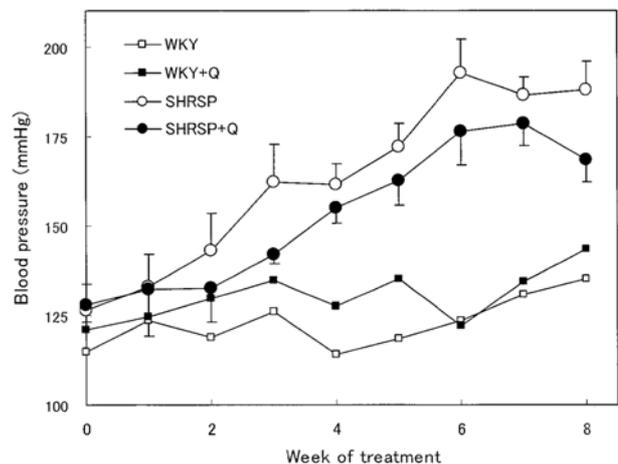


図 2 ケルセチン (Q) の脳卒中易発症高血圧自然発症ラットの血圧上昇に及ぼす影響

0.2%ケルセチン含有飼料およびメチルセルロース含有飼料 (対照動物) を 8 週間投与し、尾部カフ法により収縮期血圧を測定した。平均値 ± 標準誤差 (n = 2-6)。

VI. まとめ

今回のイギリス研修では、血管障害予防に役立つ食品成分の科学的エビデンスの構築のために、グラスゴー大学・心血管研究センター長の Dominiczak 教授および同研究センターの研究者とともに、SHRSP にケルセチンを投与し、ケルセチンの血圧上昇に及ぼす影響およびそのメカニズムについて検討を行った。その結果、ケルセチンは血圧上昇を抑制することを示した。このメカニズムについては、O₂⁻ が高血圧に関与しているので、O₂⁻ を産生する酵素である NAD(P)Hオキシダーゼのサブユニット (gp91^{phox}/Nox2, p22^{phox}, p47^{phox}, Rac1 など) の発現に焦点を当てて、ケルセチンがどのような影響を及ぼすかを

検討する予定である。

今後、このような研究によって、高血圧や動脈硬化などの生活習慣病において、抗酸化能のみならず、ケルセチンによる NAD(P)H オキシダーゼの発現制御など新しい生理調節機能が明らかになることが期待される。さらに、ケルセチンだけではなく、「健康によい」とされる食品成分の効果に関する科学的エビデンスを構築し、これを背景として、地域住民に対して高血圧をはじめとする生活習慣病の予防・改善に関する栄養教育が行われることが、より必要となるだろう。

謝 辞

本研修は、文部科学省の平成18年度研究拠点形成費等補助金（海外先進研究実践支援）（平成18年9月から12月まで）の助成により行われました。また、本研究を遂行するにあたって、青森県立保健大学の新道幸恵 前学長をはじめとする教職員の皆様、グラスゴー大学・心血管研究センターの Dominiczak 教授をはじめとする研究員の皆様のご指導、ご支援に深く感謝申し上げます。

（受理日：平成19年5月2日）

参考文献

- 1) Sato S, Nozawa M, Hatori Y, Kato J, Sagai M. Polyphenol- containing azuki bean extract suppresses blood pressure, and renal and vascular nitric oxide synthase expression in spontaneously hypertensive rats (SHR). International Proceedings from XIII Congress of the Society for Free Radical Research International, Medimond, Bologna, Italy, 313-317, 2006.
- 2) Schnackenberg CG, Welch WJ, Wilcox CS. Normalization of blood pressure and renal vascular resistance in SHR with a membrane-permeable superoxide dismutase mimetic: role of nitric oxide. Hypertension. 1998; 32: 59-64.
- 3) Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? Hypertension. 2004 ; 44: 248-252.
- 4) Geiszt M. NADPH oxidases: new kids on the block. Cardiovasc Res. 2006; 71: 289-299.
- 5) Norman ET, Padden G, Mingyu L, Allen WC Jr. NADPH oxidase in the renal medulla causes oxidative stress and contributes to salt-sensitive hypertension in Dahl S rats. Hypertension. 2006; 47:692-698.
- 6) Sanchez M, Galisteo M, Vera R, Villar IC, Zarzuelo A, Tamargo J, Perez-Vizcaino F, Duarte J. Quercetin downregulates NADPH oxidase, increases eNOS ac-

- tivity and prevents endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats. J Hypertens. 2006; 24: 75-84.
- 7) Hamilton CA, Brosnan MJ, Al-Benna S, Berg G, Dominiczak AF. NAD(P)H oxidase inhibition improves endothelial function in rat and human blood vessels. Hypertension. 2002; 40: 755-762.
 - 8) 深井真寿子, NAD(P)H オキシダーゼと心血管疾患. 医学の歩み, 2006 ; 218 : 5 - 10.
 - 9) Duarte J, Perez-Palencia R, Vargas F, Ocete MA, Perez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Tamargo J. Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. Br J Pharmacol. 2001; 133: 117-124.