

氏名	瀬川 悠紀子
学位の種類	博士 (食物栄養学)
学位記番号	家博甲第 14 号
学位授与の年月日	令和 2 年 3 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 家政学研究科 食物栄養学専攻
論文題目	Dietary capsaicin-mediated attenuation of hypertension in a rat model of renovascular hypertension
論文審査委員	主査 教授 置村 康彦 副査 教授 栗原 伸公 副査 教授 小倉 嘉夫 副査 勝谷医院院長、大阪大学大学院 医学系研究科臨床遺伝子治療学招聘教授 勝谷 友宏

論文内容の要旨

【背景・目的】

capsaicin は、ラットの継続的経口摂取によって endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) 活性化を通して Nitric Oxide (NO) を産生させ、血管拡張を引き起こすという報告がある。しかし、capsaicin の腎血管性高血圧モデル(2K1C)ラットへの影響は明らかでない。本研究では、2K1C ラットの capsaicin 継続的経口摂取による血圧への影響を観察し、その機序として NO の関与を検討した。さらに、capsaicin が NO 産生を促す経路は複数あるが、今回は capsaicin による protein kinase A (PKA) または protein kinase B (Akt) の活性化が eNOS を活性化する経路に着目し、PKA、Akt、eNOS に対する capsaicin の影響についても検討した。

【方法】

SD 系雄ラットを 2 群に分け、5 週齢より 0.006% capsaicin 食 (CAP) または標準食 (CTL) の投与を開始した。6 週齢で各群をそれぞれ 2 群に分け、左腎動脈を狭窄する 2K1C 群と、左腎動脈を狭窄しない対照 (SHAM) 群を作成し、これら 4 群を 6 週間飼育した。なお、飲水は水道水を自由に与えた。実験期間中、週一回 tail-cuff 法で収縮期血圧 (SBP) の測定を行った。実験期間終了時、麻酔下にて平均血圧 (MAP) を測定し、脱血死させた。western blot 法にて胸部大動脈の PKA、Akt、eNOS 蛋白量、およびそれらの活性型であるリン酸化した p-PKA、p-Akt、p-eNOS 蛋白量の測定を行った。一方で、先の実験と同様に水道水を与える 4 群 (Veh

群)に、NO 合成酵素 (NOS) 阻害剤である N ω -Nitro-L-arginine methyl esterhydrochloride (LN) 添加水を与える群を加えた計 8 群を作成して 6 週間飼育し、SBP および MAP の観察を行った。

【結果・考察】

水道水を与えた Veh 群では、SBP、MAP とともに、SHAM-CTL 群に比べて 2K1C-CTL 群で有意に上昇したが、2K1C-CAP 群では 2K1C-CTL 群よりも有意に低かった。SHAM-CTL 群と SHAM-CAP 群間の SBP と MAP に有意差はなかった。これらのことから、2K1C ラットにおける capsaicin の血圧上昇抑制効果が示された。一方、LN 群の SBP および MAP は、2K1C-CTL-LN 群では SHAM-CTL-LN 群と比べて有意に上昇したが、2K1C-CTL-LN 群と 2K1C-CAP-LN 群間に差はなかった。以上の結果より、2K1C ラットにおける capsaicin の継続的経口摂取が血圧上昇抑制効果を示し、NOS を阻害した LN 群でこの効果が認められなかったことから、機序には NO が関与すると考えられた。

さらに、NO 産生につながる PKA、Akt、eNOS のリン酸化について観察したところ、p-Akt と p-eNOS では、CAP 群で CTL 群に比べ有意に増加し、p-PKA に差はなかった。したがって、capsaicin による NO 産生には Akt および eNOS のリン酸化が関与すると考えられた。

【結論】

capsaicin の継続的経口摂取は、2K1C ラットの血圧上昇を抑制し、その効果の機序に、Akt の活性化を介した eNOS の活性化が関与すると考えられた。

審査結果の要旨

本論文は、腎血管性高血圧のモデル動物である 2K1C ラット、および自然発症高血圧ラットである spontaneously hypertensive rats (SHR) における高血圧に及ぼすカプサイシン投与の効果について検討し、さらにカプサイシンの降圧効果の機序についても解析を加えたものである。

論文要旨は、次のようにまとめられる。まず、2K1C ラットの高血圧に対するカプサイシンの有効性が検討された。5 週齢の SD 系雄ラットを、0.006%のカプサイシンを含む餌を与える群（カプサイシン食群）と通常の餌を与える対照群（標準食群）の 2 群に分けた。6 週齢の時点で、両群をさらに 2 群、左腎動脈をクリップし狭窄させた群（2K1C 群）と偽手術を施した群（SHAM 群）に分けた。これらの 4 群をさらに 6 週間飼育し、週 1 回 tail-cuff 法で収縮期血圧（SBP）を測定した。また、実験期間終了時に麻酔下で平均血圧（MAP）を測定した。

2K1C 群では SHAM 群に比べ、SBP、MAP 共に上昇していた。2K1C 群で観察された血圧上昇は、カプサイシンにより有意に抑制された。一方、SHAM 群ではカプサイシンによる血圧低下は認められなかった。以上の成績から、カプサイシンは 2K1C による血圧上昇を抑制することが明らかとなった。

また、SHR においてもカプサイシンは SBP を低下させた。一方、SHR の対照群である Wister Kyoto rats では、カプサイシンの血圧低下作用は観察されなかった。

次いで、2K1C ラットにおけるカプサイシンの降圧効果の機序について検討された。これまで、カプサイシンの降圧機序の一部に eNOS のリン酸化、それによる NO 産生の増加が関与していることが報告されている。本研究でも、カプサイシン投与により 2K1C ラット大動脈で eNOS のリン酸化亢進が確認された。NO がカプサイシンの降圧作用に関与している可能性があるため、NO 合成酵素 (NOS) 阻害剤である *N* ω -Nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride (LN) を用いてさらに検討された。前述の 4 群を、それぞれ LN 添加水を与えた群と対照の水道水を与えた群の 2 群、計 8 群に分け、SBP、MAP を測定したところ、2K1C ラットにおけるカプサイシンの降圧効果は、LN により認められなくなった。以上のことから、2K1C ラットにおけるカプサイシンの降圧効果に NO が関与することが考えられた。

NO の作用機序をさらに明確にするため、NO による細胞内情報伝達機構について検討された。カプサイシン食群の大動脈では Akt のリン酸化が亢進していた。PKA のリン酸化は認められなかった。これまで、NO により Akt、PKA のリン酸化が亢進するという報告があるが、2K1C ラットでは、カプサイシンは NOS および Akt のリン酸化を介して作用する可能性が示唆された。

以上のように、本論文は、唐辛子に含まれる辛味成分の 1 つであるカプサイシンが、2K1C ラットにおける高血圧を軽減することを示し、さらに NO の関与をも示したものである。カ

プサイシンはNO産生を介して血管を弛緩させ降圧させるという報告があるが、経口摂取したカプサイシンが腎血管性高血圧においても同様に作用を発揮するかは未だ不明であった。本論文は腎血管性高血圧のモデルである2K1Cラットを用いてその点を明確にし、カプサイシンの作用機構についても検討したもので、新規性が認められる。本研究は段階をおって論理的に構成されており、使用された方法も適切である。また、動物実験における倫理的側面にも充分配慮されている。先行研究に関しても十分把握した上で研究結果を論じており、周辺領域の知識も十分であることがうかがわれる。論文の記述、図表についても適切である。以上の点から、本論文は博士（食物栄養学）の学位論文に充分相当するものと判断する。

試験の結果又は学力の確認の要旨

2020年1月に、各審査委員は、提出された論文に関して、研究設定の妥当性、方法、結果の解釈について質疑を行った。また、関連領域の知識についても試問を行い、学力を確認した。いずれの質問に対しても的確な回答がなされ、博士としての学力は十分であると判断した。

公開博士論文討論発表会の結果

公開博士論文討論発表会は、2020年2月6日午後2時40分から、本学須磨キャンパスC館318号教室で行われた。家政学研究科教員、院生などの出席のもと、パワーポイントを用いて論文内容を説明する発表が約30分間行われた。

発表は、申請論文に記載されていたように、2K1Cラット、SHRにおけるカプサイシンの降圧効果、2K1Cラットにおけるカプサイシンの降圧効果に及ぼすLNの影響、2K1Cラット大動脈におけるeNOS、Akt、PKA、TRPV1発現量、eNOS、Akt、PKAのリン酸化に及ぼすカプサイシンの効果に関するものであった。研究背景を最初に示した上で自己の研究結果を示すなど、随所に工夫が見られた理解しやすい発表構成であった。

発表後30分にわたって、主査、副査を含む教員から、カプサイシンの用量設定、カプサイシンのラット摂餌量や行動への影響、NO以外の降圧作用の関与、NOの作用点、ヒトへの応用の可能性、辛味、痛み受容のヒトとラットの差異、カプサイシンのレニン-アンジオテンシン系への影響などの質問があった。質問に関しては口頭で回答があったが、2月13日に提出された口頭試問の回答書（別紙）でさらに適切な回答が得られている。

これらの発表、質疑応答から、当該領域の博士に必要な知識とプレゼンテーション能力があることが確認された。

総合結果

すでに、口頭試問の回答書は、外部審査委員である勝谷友宏氏に送付されており、勝谷氏から論文は博士（食物栄養学）の学位に相当するものであると返答を得ている。2020年2月25日に、内部の委員である主査、副査2名による論文審査委員会を開催した。学位論文の審査結果、および公開博士論文討論発表会の結果を総合して審議したところ、全員一致で、提出された論文は博士（食物栄養学）の学位に相当するものと判断した。