

研究論文紹介

アポ E 欠損マウスにおける組織中セラミドとアポリポタンパク質 B-100 の酸化生成物に対するコレステロール摂取の影響

¹ 奈良女子大学食物栄養学科, ² 国立循環器病センター市 育代¹, 高島 夕佳¹, 足達乃理子¹, 中原佳代子¹
上川 千明¹, 斯波真理子², 小城 勝相¹

Vitamins (Japan), 82 (3), 191-192 (2008)

Effects of dietary cholesterol on tissue ceramides and oxidation products of apolipoprotein B-100 in apoE deficient mice

Ikuyo Ichi¹, Yuka Takashima¹, Noriko Adachi¹, Kayoko Nakahara¹
Chiaki Kamikawa¹, Mariko Harada-Shiba², Shosuke Kojo¹¹Department of Food Science and Nutrition, Nara Women's University²National Cardiovascular Center Research Institute

[Lipids 42, 893-900 (2007)]

粥状動脈硬化発症においてはアポトーシスや増殖などが内皮細胞, マクロファージ, 血管平滑筋細胞などに惹起される。動脈硬化には脂質, 特にコレステロールが重要な役割を果たすことが知られている。しかしコレステロールは細胞膜の重要な構成成分であり, それ自体の生理活性は高いとは言えない。一方, 種々の細胞にアポトーシスを引き起こすことで知られているセラミドは生体内でセリン-パルミトイルトランスフェラーゼに始まる *de novo* 合成とスフィンゴミエリン (SM) の加水分解の 2 経路で生成する。セラミドはコレステロールよりはるかにアポトーシス誘導能が強く, コレステロールと似た挙動をする場合には, コレステロールではなく実際はセラミドが動脈硬化の真の危険因子である可能性がある。

最近, 心臓血管障害と血中 SM との関係が報告されている¹⁾。さらに, ヒト動脈硬化モデル動物であるアポ E

ノックアウトマウス (apoE^{-/-}) に SM やセラミドの合成を阻害する薬剤を投与すると動脈硬化の進展が阻害されることが報告されている²⁾³⁾。さらに我々は, ヒトにおいて血漿中のセラミドと総コレステロール, LDL コレステロール, トリグリセリドと有意な相関を示すと共に, アポリポタンパク質 B-100 (アポ B) 酸化反応生成物 (B-ox)⁴⁾とも有意に相関することを明らかにした⁵⁾。

これらの結果から, セラミドはコレステロールや LDL の酸化と関係していることが考えられ, 新しい動脈硬化危険因子の可能性もある。このことをさらに検討するため, apoE^{-/-} にコレステロール食を 8 週間与え, その効果を検討した。4 群 (apoE^{-/-} を AIN-76 で飼育した対照群, apoE^{-/-} を AIN-76 に 1% コレステロールを添加した飼料を与えたコレステロール負荷群, apoE^{-/-} の野生型である C57BL/6J を AIN-76 で飼育した野生対照群,

本論文の別刷請求先:

〒 630-8506 奈良市北魚屋西町 奈良女子大学食物栄養学科 小城 勝相

C57BL/6J を 1% コレステロール添加食で飼育した野生コレステロール負荷群) について測定を行い比較した。血漿・肝臓・脂肪組織のセラミドは LC-MS/MS にて測定し、アポ B の酸化生成物⁴⁾は Western blot にて測定した。

apoE^{-/-}でのみコレステロール負荷によって、血漿コレステロールが増加すると共に数種類の血漿セラミドが増加した。しかし C57BL/6J ではコレステロールによる影響はみられなかった。肝臓および脂肪組織では両マウスともコレステロール負荷によるセラミド増加は確認できなかった。また apoE^{-/-}の血漿セラミドは C57BL/6J の約 5 倍高かった。肝臓セラミドも apoE^{-/-}では C57BL/6J より有意に高かったが、血漿ほどではなく、脂肪組織においては両マウスで有意な差は見られなかった。更に、コレステロールを負荷した apoE^{-/-}ではアポ B の分解物が増加していた。即ち、血液中で酸化ストレスが亢進していることがわかった。そこで酸化ストレスの指標として鋭敏なビタミン C (C) の濃度を測定すると C57BL/6J でもコレステロール負荷によって C は有意に増加した。apoE^{-/-}ではもともと C57BL/6J より血漿中の C が高い上に、コレステロール負荷により有意に C の濃度が上昇した。マウスは C を合成することができ、LPS 投与⁶⁾やグルタチオン欠乏⁷⁾のような酸化ストレスで肝臓での合成が亢進することが知られている。これらの知見を合わせると、コレステロール負荷による酸化ストレスの亢進を補償するために C が増加したことが示唆された。

以上より、apoE^{-/-}においてはコレステロールの負荷は

血漿セラミド増加をもたらし、LDL の酸化生成物も増加させ、酸化ストレスを亢進することが示された。即ち、血液中のセラミドとコレステロールの間には相関があり、血漿セラミドは新たな動脈硬化の危険因子であることが示唆された。

(平成 19.12.5 受付)

文 献

- 1) Nelson JC, Jiang XC, Tabas I, Tall A, Shea S (2006) Plasma sphingomyelin and subclinical atherosclerosis: Findings from the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Am J Epidemiol* **163**, 903-912
- 2) Park TS, Panek RL, Mueller SB, Hanselman JC, Rosebury WS, Robertson AW, Kindt EK, Homan R, Karathanasis SK, Reikter MD (2004) Inhibition of sphingomyelin synthesis reduces atherogenesis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation* **110**, 3465-3471
- 3) Hojjati MR, Li Z, Zhou H, Tang S, Huan C, Ooi E, Lu S, Jiang XC (2005) Effect of myriocin on plasma sphingolipid metabolism and atherosclerosis in apoE-deficient mice. *J Biol Chem* **280**, 10284-10289
- 4) Hashimoto R, Matsukawa N, Nariyama Y, Ogiri Y, Hamagawa E, Tanaka K, Usui Y, Nakano S, Maruyama T, Kyotani S, Tsushima M, Kojo S (2002) Evaluation of apolipoprotein B-100 fragmentation and cross-link in the serum as an index of atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta* **1584**, 123-128
- 5) Ichi I, Nakahara K, Miyashita Y, Hidaka A, Kutsukake S, Inoue K, Maruyama T, Miwa Y, Harada-Shiba M, Tsushima M, Kojo S (2006) Association of ceramides in human plasma with risk factors of atherosclerosis. *Lipids* **41**, 859-863
- 6) Kuo SM, Tan CH, Dragan M, Wilson JX (2005) Endotoxin increases ascorbate recycling and concentration in mouse liver. *J Nutr* **135**, 2411-2416
- 7) Martensson J, Meister A (1992) Glutathione deficiency increases hepatic ascorbic acid synthesis in adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**, 11566-11568