

主 論 文

Acute improvement of endothelial functions after oral ingestion of isohumulones, bitter components of beer

(ビールの苦み成分であるイソフムロンの経口摂取後の血管内皮機能改善効果)

【緒言】

血管内皮機能障害では、一酸化窒素 (nitric oxide : NO) の産生が障害されるのみならず、高酸化ストレス状態による NO の生理的活性 (bioavailability) が減少し、心血管疾患など様々な病態を惹起する。一方、喫煙も血管内皮機能を障害することが知られている。

ホップはビールの苦み成分であるが、ビールの醸造過程でホップに含まれるフムロンが異性化され、イソフムロン、イソコフムロン、イソアドフムロンが生成される。これらの物質は、PPARs 活性作用や 2 型糖尿病患者の血糖降下作用を有することが報告されており、血管内皮機能の改善も期待される。これまでにラットの腎臓で ROS (reactive oxygen species) の産生、すなわち酸化ストレスの増加をイソフムロンが抑制することも報告されている。

そこで、我々は i) イソフムロンを含む異性化ホップエキス (IHE) の経口摂取が、健常ボランティアの喫煙者と非喫煙者の血管内皮機能に及ぼす影響、並びに ii) 高酸化ストレス状態下の培養ヒト大動脈内皮細胞 (HAECs : human aortic endothelial cells) に対するイソフムロンの抗酸化作用の効果を検討した。

【材料と方法】

喫煙者と非喫煙者での FMD の計測と NO 産生の評価

イソフムロンを 79% 含有する異性化ホップ (IHE) を使用した。健常者男性ボランティア (喫煙者 12 名、非喫煙者 11 名) に対し、体重 10 kg 当たり 8.5 mg のイソフムロンを含むホップエキスカプセルを早朝空腹時に内服し、内服後 30 分と 2 時間で、超音波装置を用いて前腕駆血後の血管拡張反応 (FMD) を計測した。また、血管内皮由来 NO 産生能の評価として、FMD 計測時に採血して、駆血前と駆血解除後の hyperemia 時の血漿中亜硝酸イオン (NO の酸化物 ; NO₃) 濃度に基づいて、NO 産生量を求め、駆血前の値 (NO_{BE}) と hyperemia の値 (NO_{HE}) の比、すなわち NO_{ratio} を求めた。

ヒト大動脈内皮細胞 (HAEC) に対する効果

培養第 3 代ヒト大動脈内皮細胞 (HAECs) を継代培養し、第 5~8 継代細胞を実験に使用し、以下の 2 種類のストレス負荷への IHE による抑制効果を検討した。

①低酸素ストレス負荷 : 低酸素下 (99% CO₂, 1% air) で、0.2~2 μg/mL の IHE を添加した状態で、HAECs を 24 時間培養して、cell viability を測定した。

②アンギオテンシン II (Ang II) 負荷 : HAECs に 1 μmol/L の Ang II を 3 時間負荷し、IHE を共存させた場合とさせなかった場合で、細胞内 ROS 生成量を DCFH-DA (2', 7'-dichlorodihydrofluorescein-diacetate) 法で測定した。

【結果】

イソフムロンの FMD 改善効果

喫煙者群 (内服前 3.1±1.6%、内服後 30 分 6.2±1.2% ; p<0.01 vs 前、120 分 7.7±1.0% ; p<0.01 vs 前、p<0.05 vs 30 分)、非喫煙者群 (内服前 6.3±2.1%、内服後 30 分 8.4±2.5% ; p<0.01 vs 前、120 分 10.7±2.1% ; p<0.01 vs 前、p<0.05 vs 30 分) とともに、イソフムロン内服によって FMD は改善した。一方、プラセボ群では両群ともに有意な変化を認めなかった。

血圧、脈拍総コレステロール、LDL コレステロール、HDL コレステロール、遊離脂肪酸、

MDA-LDLの値について、イソフムロン投与群、プラセボ投与群ともに喫煙者群、非喫煙者群いずれでも有意な変化を認めなかった。

一方、イソフムロン投与群では、血糖値 (mg/dL) は、喫煙者群 (内服前 97 ± 9 、内服後 30 分 97 ± 8 ; NS vs 前、120 分 93 ± 7 ; $p < 0.01$ vs 前、 $p < 0.05$ vs 30 分)、非喫煙者群 (内服前 99 ± 5 、内服後 30 分 94 ± 4 ; $p < 0.05$ vs 前、120 分 94 ± 3 ; $p < 0.01$ vs 前、NS vs 30 分) のいずれも低下傾向だった。また、インスリン血中濃度 ($\mu\text{U/mL}$) も、喫煙者群 (内服前 6.8 ± 2.8 、内服後 30 分 6.4 ± 3.4 ; NS vs 前、120 分 4.9 ± 2.2 ; $p < 0.01$ vs 前、 $p < 0.05$ vs 30 分)、非喫煙者群 (内服前 6.4 ± 1.8 、内服後 30 分 5.6 ± 2.2 ; $p < 0.05$ vs 前、120 分 5.2 ± 1.4 ; NS vs 前、30 分) と減少傾向にあった。中性脂肪値 (mg/dL) も、喫煙者群 (内服前 95 ± 41 、内服後 30 分 75 ± 18 ; $p < 0.05$ vs 前、120 分 69 ± 16 ; $p < 0.01$ vs 前、 $p < 0.05$ vs 30 分)、非喫煙者群 (内服前 55 ± 17 、内服後 30 分 45 ± 10 ; $p < 0.05$ vs 前、120 分 44 ± 10 ; $p < 0.05$ vs 前、NS vs 30 分) 減少傾向であった。しかし、喫煙者群、非喫煙者群のいずれにおいても、血糖、インスリン血中濃度、中性脂肪値は、イソフムロン投与群とプラセボ投与群で有意な変化を認めなかった。

イソフムロンの NO 産生量への効果

FMD 計測時の NO 産生は、喫煙者 7 人のみでは、イソフムロン投与前に $179 \pm 94\%$ 、投与 30 分後に $235 \pm 106\%$ ($p < 0.05$ vs 前)、120 分後に $289 \pm 170\%$ (NS vs 前) と増加した。非喫煙者 3 人を加えた合計 10 人については、IHE 投与前に $183 \pm 81\%$ 、30 分後に $281 \pm 197\%$ ($p < 0.05$ vs 前)、120 分後に $351 \pm 273\%$ ($p < 0.05$ vs 前) と増加していた。なお、プラセボ投与群では、投与前後で有意差を認めなかった。

イソフムロンの HAEC への効果

①低酸素ストレス負荷: cell viability は、コントロールに対して、低酸素下で 0.44 ± 0.19 倍に低下したが、 $2 \mu\text{g/mL}$ IHE の添加によって、 0.82 ± 0.12 倍に改善した。

②Ang II 負荷: Ang II 負荷では、コントロールに対し、細胞内の ROS 量が増加した (2.4 ± 0.6 倍、 $p < 0.01$)。IHE 添加によって、抑制された (1.7 ± 0.4 倍; $p < 0.01$ vs control、 $p < 0.01$ vs Ang II)。

[考察]

以上の通り、ビールの苦み成分であるイソフムロンによる血管内皮機能 (FMD) の改善、また、HAEC を用いた実験では、イソフムロンが低酸素環境や Ang II による細胞毒性を抑制する作用を認めた。

喫煙者では、もともと血管内皮機能が健常者より低下していることが報告されている。本研究の喫煙者群でも、血管内皮機能の低下が認められ、イソフムロン投与で改善した。さらに、特徴的なのが、非喫煙者群でも血管内皮機能がさらに向上した。Karatzis らは、健康な非喫煙者がビール 400 mL を摂取した後、血管内皮機能が 2.5% (95% CI 1.4, 3.5) から 4.2% (95% CI 2.8, 5.5) まで改善したことを報告している。我々の研究では、被験者の平均体重 59.8 ± 6.6 kg につき、約 64.8 mg のホップエキスを摂取しており、それはほぼ 2 L のビール中の含有量に相当していた。

イソフムロン投与で血圧は変化しておらず、正常血圧の若者では降圧効果による血管内皮機能改善の可能性は低いと思われた。FMD 測定時の NO 産生が上昇しており、血管内皮機能改善効果のメカニズムの一部として、イソフムロンが、その抗酸化作用によって NO の生理的活性 (bioavailability) を増加、あるいは NO 産生を刺激した可能性が考えられた。

低酸素環境や Ang II 負荷は、酸化ストレスを増加させることが知られているが、HAECs においてイソフムロンが、こうした条件下で増加する酸化ストレスを抑制する抗酸化作用を介して、細胞保護作用を発揮し得ることを認めた。また、これまでに報告されている PPARs 活性作用も酸化ストレスを減少させたメカニズムとして推測された。

[結論]

イソフムロンは、その抗酸化作用を介して、酸化ストレスを抑制し、NO の bioavailability を改善することにより、血管内皮機能を改善すると示唆された。