

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

あたらしい眼科 (2012.08) 29巻8号:1063～1067.

【臨床において必要なサプリメントの知識】
医家向けのサプリメント
レスベラトロール

長岡 泰司

医家向けのサプリメント：レスベラトロール

Possible Roles of Resveratrol in Treating of Retinal Vascular Diseases

長岡 泰司*

I レスベラトロールの基礎知識：なぜレスベラトロールなのか？

レスベラトロール (図1) は灰色カビに対して作られるフィトアレキシン (植物がさまざまなストレスに対して作り出す抗菌性の二次代謝産物) の一種であり、赤ブドウの果皮、ピーナッツの皮、イタドリ (コジョウコンという漢方薬の原料) などに多く含まれるとされる。レスベラトロールは、抗酸化作用を有するポリフェノール一種で、ブドウの果皮に多く存在する機能性成分であるが、近年医学的にも大変注目されている物質である。このレスベラトロールの有用性について話をする際によく用いられるのが「フレンチパラドックス」である。これは、フランスにおいては高脂肪食摂取にもかかわらず冠動脈疾患の死亡率が低い (図2) という逆説的事実¹⁾ のことであるが、フランス人の赤ワインの摂取の習慣がその原因の一つと考えられてきた。その後、赤ワインの心血管保護作用や抗動脈硬化作用が報告されてきた^{2,3)} が、近年の研究成果から、赤ワインに含まれるポリフェノール

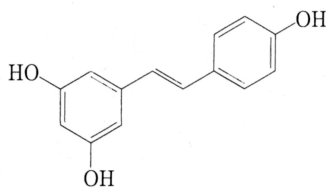


図1 レスベラトロールの構造式

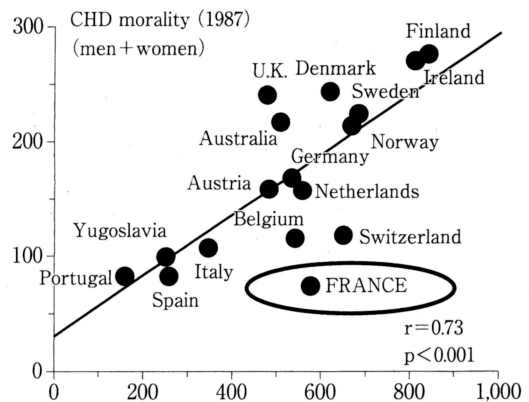


図2 ヨーロッパにおける脂肪摂取量と心血管関連死亡率の関係

横軸は一日の脂肪摂取量、縦軸は心血管関連死亡率、フランスだけが脂肪摂取量の割に死亡率が低く、この現象は「フレンチパラドックス」とよばれる。(文献2より)

ルの一種であるレスベラトロールがその主役であることが明らかとなり、レスベラトロールが健康増進作用を有するサプリメントとして脚光を浴びているのである。

II レスベラトロールを用いた研究の現状

一番最初にレスベラトロールを用いた医学研究としての報告は、1988年のRagazziらによる摘出気管支を拡張させるという報告⁴⁾であった。その後、LDL (低密度リポ蛋白) の酸化の抑制、ラット大動脈を拡張させる⁵⁾という報告がなされ、化学物質誘導性皮膚癌の抑制⁶⁾など抗癌作用についての報告も出てきた。さらに、このレ

* Taiji Nagaoka : 旭川医科大学眼科学講座
〔別刷請求先〕 長岡泰司 : 〒078-8510 旭川市緑が丘東2条1-1-1 旭川医科大学眼科学講座

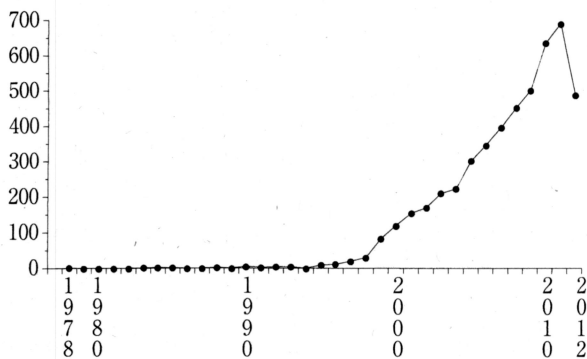


図3 急増するレスベラトロール関連の学術論文
(PubMed 調べ, 2012.6.30 現在)

スベラトロールを一躍有名にしたのがいずれも Nature に掲載された2つの論文である。一つは、2003年に発表された、レスベラトロールによる酵母の寿命延長効果⁷⁾であり、もう一つは、2006年のBaurらによる論文で、レスベラトロール(20mg/kg/day)を投与することにより、体重増加は対照群と変わらないにもかかわらず、高カロリー負荷マウスの生存率が改善することを報告した⁸⁾。この原稿を書いている時点(平成24年6月)で、PubMedで“Resveratrol”を検索してみると、4,802本の論文がヒットするが、その多くはここ10数年で指数関数的に増えてきていることがわかる(図3)。それに比較すると眼科領域でのレスベラトロールの論文はまだ少なく、今後の眼科でのレスベラトロール研究の発展が期待される。

III レスベラトロールの血管への作用

「人は血管と共に老いる」といわれるように、加齢に伴う血管機能の低下により動脈硬化が形成・進展し、脳梗塞や心筋梗塞など重篤な心血管イベントがひき起こされる。この血管機能の低下は、具体的には血管拡張能の低下や抗血栓能の低下などに特徴づけられ、新規治療法開発のターゲットとなっている。近年、薬剤本来の作用以外の効果を多面的効果(プレイオトロピック効果)といわれ、高脂血症治療薬スタチンをはじめ数多くの薬剤でこの効果は確認されている。しかしながら、臨床の場で実際に治療戦略を立てるうえで、このプレイオトロピック効果を優先させて薬剤を使用することは副作用の

面からもむずかしい。そこで、薬剤ではなくサプリメントで血管拡張作用が得られれば、血管障害の治療戦略を考えるうえで強力なオプションをもつことができる。

1. レスベラトロールの血管拡張作用

血管の拡張反応は、血流低下・虚血部位への血流を増加させて組織低酸素状態の解除ならびに血管新生を促進するうえで重要な反応と考えられる。加齢により血管内皮細胞は老化し、内皮細胞におけるeNOS(endothelial nitric oxide synthase, 内皮型一酸化窒素合成酵素)、プロスタサイクリンの減少ならびにエンドセリンの増加が報告されている。この加齢・老化による血管拡張作用の減弱を改善することは、血管障害によりひき起こされるさまざまな疾患の予防・治療戦略のうえで重要であると考えられる。

レスベラトロールの血管保護作用に着目し、これまでも数多くの研究成果が報告されてきた。1996年、Chenらは摘出ラット大動脈モデルで、レスベラトロールが血管内皮依存性および一酸化窒素(nitric oxide: NO)依存性に血管拡張作用を有することを初めて報告し⁵⁾、大動脈レベルにおけるレスベラトロールによる血管拡張作用は血管内皮から産生されるNOに依存していると考えられる。このレスベラトロールの血管拡張作用は大動脈のみならず、冠動脈や腸間膜動脈などの小動脈レベルでも報告されているが、ヒト内胸動脈ではこのレスベラトロールによる拡張反応は血管内皮に依存せず、血管平滑筋の電位依存性カリウムチャンネルに直接作用するものとの報告もあり⁹⁾、その作用機序については臓器特異性あるいは部位特異性が考えられる。

2. レスベラトロールによる血管内皮保護作用

血管内皮機能障害は、動脈硬化の発症進展の過程において早期からひき起こされており、動脈硬化の危険因子である高脂血症、糖尿病、高血圧、喫煙などはすべて血管内皮機能障害と関連があるとされている。レスベラトロールの経口投与により、血管内皮依存性の血管拡張が改善されることが高血圧¹⁰⁾、糖尿病¹¹⁾、高脂血症¹²⁾モデル動物などで報告されている。この血管内皮保護作用は、血管内皮由来のNOの活性化を介しており、その一

部は SIRT1 を介した作用であると報告されている¹⁰⁾。また、臨床では前腕駆血解除後の一過性前腕動脈拡張反応 (FMD) により血管内皮機能を評価できるが、境界型高血圧合併肥満患者における減弱した FMD が、レスベラトロール経口投与により改善することが報告されている¹³⁾。この研究では、レスベラトロールが実際に血漿濃度で平均 1.2 μM まで増加すること、さらに血漿レスベラトロール濃度と FMD が正相関することも示されており、レスベラトロールの臨床応用例として大変興味深い結果が示されている。

3. レスベラトロールによる糖尿病血管障害の抑制

レスベラトロールは動物実験レベルでは血糖降下作用を有することが知られているが、それに加えて、2型糖尿病モデルマウスでは、腎機能障害を抑制することが報告されている¹⁴⁾。また、STZ (ストレプトゾトシン) 誘発糖尿病マウスで認められる網膜での VEGF (血管内皮増殖因子) 発現亢進と血管透過性の亢進が、レスベラトロール投与により抑制されることも報告されており、糖尿病細小血管合併症治療にもレスベラトロールが有用である可能性が示されている¹⁵⁾。

IV 眼科領域におけるレスベラトロール研究

近年では、眼科領域においてもレスベラトロールを用いた研究が増えている。レスベラトロール添加 (20~25 μM) により、培養水晶体上皮細胞において酸化ストレスが抑制される¹⁶⁾。また、レスベラトロール (10 μM) は高血糖による網膜色素上皮細胞の炎症を抑制する¹⁷⁾。さらに、レスベラトロール経口投与 (20 mg/kg) により、糖尿病マウスにおける神経節細胞のアポトーシスを抑制する¹⁸⁾。さらには、自己免疫性ぶどう膜炎モデルマウスにおける眼炎症を抑制する¹⁹⁾。また、レスベラトロール前投与 (50 mg/kg, 5 days) により光曝露 (5,000 lux, 3 時間) による網膜アポトーシスを抑制する²⁰⁾。さらに、レスベラトロール投与 (360 mg/kg) により、Vldr^{-/-}マウス (MacTel モデルマウス) における網膜血管新生が抑制された²¹⁾。網膜以外でも、線維柱帯細胞においてレスベラトロール (25 μM) により慢性酸化ストレス (40 % O₂) による炎症性サイトカイン産生が抑制されるこ

とも知られており²²⁾、今後眼科領域でのレスベラトロール研究はますます盛んになるものと予想される。

1. 網膜血管におけるレスベラトロール血管拡張作用とその臨床的意義

われわれ眼科医が日常診療で観察している網膜血管は、最も太い第一分枝でも血管径 100~200 μm であり、生理学的には細動脈・細静脈に分類される。細動脈は厚い平滑筋層を有しており別名抵抗血管といわれ、全身血圧を規定する因子である末梢血管抵抗の大部分を司る重要な臓器である。言い換えると、細動脈の血管緊張の程度により全身血圧は変動し、組織への血液供給が決定する。このため、この部位の調節機構は非常に重要である。

これまでに筆者らはこのレーザードップラー眼底血流計を用いて、2型糖尿病患者を対象とした網膜循環動態の解析を行い、網膜症のない病期ですでに網膜血流は低下し、単純網膜症でも血流は低下したままであることを明らかにした²³⁾。これらの結果から、糖尿病患者では、通常の眼科検査では異常を検出できないうちから網膜循環が障害されていることが明らかとなった。これは横断研究でありさらなる経過観察研究が必要不可欠であるが、この網膜血流低下を薬剤やサプリメントで改善することにより、網膜症の発症・進展を予防できる可能性がある。

また筆者らは、ブタ摘出血管を用いた *in vitro* での血流実験系を行い、薬剤の網膜血管への作用について検討を行ってきた²⁴⁾。筆者らは、まずはじめにレスベラトロールの網膜血管への直接作用について検討した²⁵⁾。1 μM から 500 μM までのレスベラトロールを負荷すると、網膜血管は容量依存性に拡張し、最大で約 60% 拡張した。さらに、洗剤の一種である CHAPS を血管内腔に投与すると血管内皮を剥離することができ、剥離前の反応と比較することで、血管内皮機能を評価することができ²⁶⁾ が、このレスベラトロールによる網膜血管拡張反応は、CHAPS による網膜血管内皮剥離により約半分に減弱したことから、レスベラトロールは血管内皮と血管平滑筋に半分ずつ作用して血管を拡張させると考えられた。血管内皮由来の拡張因子には NO に加えてプロスタ

サイクリン, 血管内皮由来過分極因子 (EDHF) があるが, それぞれの阻害薬を前投与したところ, NO 合成酵素 (NOS) 阻害薬 L-NAME の前投与でのみレスベラトロールによる拡張反応は減弱した. これより, レスベラトロールの網膜血管反応は血管内皮から産生される NO が関与することが明らかとなった. さらに, ERK 阻害薬の前投与によっても血管拡張反応は NOS 阻害薬 L-NAME 前投与と同程度拡張反応は抑制されており, ERK (extracellular signal-regulated kinase, 細胞外シグナル制御キナーゼ) による MAP (mitogen-activated protein) キナーゼの活性化を介した eNOS 活性化によって, 血管内皮からの NO の産生が誘導されることが示された.

一方, 血管平滑筋由来の拡張反応に関しては, 非選択的カリウムチャンネル阻害薬 TEA (tetraethylammonium) および大容量カルシウム依存性カリウムチャンネル阻害薬であるイベリオトキシンにより抑制された. さらに, イベリオトキシンと L-NAME を同時投与すると, レスベラトロールの拡張反応はほとんど消失した. 以上より, レスベラトロールは, 血管内皮から NO を産生し, 血管平滑筋の大容量カルシウム依存性カリウムチャンネルを活性化して網膜細動脈を拡張させることが明らかとなった.

もちろんこのレスベラトロールの網膜血管拡張作用は *in vitro* での結果にすぎず, 今後 *in vivo*, さらに臨床での網膜血管拡張作用の有無について検討する必要があるが, 筆者らの実験では前述のスタチンとほぼ同等の血管拡張作用を有しており, 薬剤ではなくレスベラトロールというサプリメントで網膜血管を拡張させる可能性が示されたことは, 臨床的にも重要であると考えている.

2. レスベラトロールの循環改善作用に着目した臨床応用の可能性—糖尿病網膜症予防への応用を目指して—

わが国の糖尿病人口は増加の一途をたどり, 今後もさらに増えることが予想されている. 糖尿病慢性合併症の一つである糖尿病網膜症はわが国における成人の失明原因の主因であり, 社会経済的損失も計り知れず, その予防法と治療法の確立, 特に網膜症発症早期から鋭敏に異

常を検出する検査法の確立および新しい網膜硝子体疾患治療法の開発は急務である. しかしながら, 網膜光凝固術や硝子体手術, 眼局所薬物治療など糖尿病網膜症に対する外科的治療法が目覚ましい進歩にもかかわらず, いまだ年間 3,000 人もの糖尿病網膜症患者が失明に至るといふ事実は, 眼局所での外科的治療法のみでは限界があることを示しており, 薬物などによる新しい糖尿病網膜症治療の開発が期待される.

これまで述べたように, 基礎研究の結果からはレスベラトロールには優れた血管保護作用があることが示されている. さらに, 筆者らの検討結果からも, レスベラトロールは網膜循環改善作用を有することが示された. 2 型糖尿病では網膜症のない病期で網膜血流が低下していることから, 早期にレスベラトロールを用いて介入し, 低下した血流を改善することにより, 網膜症の発症・進展を予防する可能性がある. もちろん今後の臨床研究の結果次第ではあるが, 近い将来, レスベラトロールが糖尿病網膜症の発症・進展の予防に用いられることが大いに期待される.

文 献

- 1) Richard JL : [Coronary risk factors. The French paradox]. *Arch Mal Coeur Vaiss* **80** : 17-21, 1987
- 2) Frankel EN, Kanner J, German JB et al : Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* **341** : 454-457, 1993
- 3) Fitzpatrick DF, Hirschfield SL, Coffey RG : Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am J Physiol* **265** : H774-778, 1993
- 4) Ragazzi E, Frolidi G, Fassina G : Resveratrol activity on guinea pig isolated trachea from normal and albumin-sensitized animals. *Pharmacol Res Commun* **20**(Suppl 5) : 79-82, 1988
- 5) Chen CK, Pace-Asciak CR : Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *Gen Pharmacol* **27** : 363-366, 1996
- 6) Jang M, Cai L, Udeani GO et al : Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* **275** : 218-220, 1997
- 7) Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY et al : Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* **425** : 191-196, 2003
- 8) Baur JA, Pearson KJ, Price NL et al : Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* **444** : 337-342, 2006

- 9) Novakovic A, Gojkovic-Bukarica L, Peric M et al : The mechanism of endothelium-independent relaxation induced by the wine polyphenol resveratrol in human internal mammary artery. *J Pharmacol Sci* **101** : 85-90, 2006
- 10) Rush JW, Quadrilatero J, Levy AS et al : Chronic resveratrol enhances endothelium-dependent relaxation but does not alter eNOS levels in aorta of spontaneously hypertensive rats. *Exp Biol Med* (Maywood) **232** : 814-822, 2007
- 11) Silan C : The effects of chronic resveratrol treatment on vascular responsiveness of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm Bull* **31** : 897-902, 2008
- 12) Zou JG, Wang ZR, Huang YZ et al : Effect of red wine and wine polyphenol resveratrol on endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Int J Mol Med* **11** : 317-320, 2003
- 13) Wong RH, Howe PR, Buckley JD et al : Acute resveratrol supplementation improves flow-mediated dilatation in overweight/obese individuals with mildly elevated blood pressure. Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **21** : 851-856, 2011
- 14) Kitada M, Kume S, Imaizumi N et al : Resveratrol improves oxidative stress and protects against diabetic nephropathy through normalization of Mn-SOD dysfunction in AMPK/SIRT1-independent pathway. *Diabetes* **60** : 634-643, 2011
- 15) Kim YH, Kim YS, Roh GS et al : Resveratrol blocks diabetes-induced early vascular lesions and vascular endothelial growth factor induction in mouse retinas. *Acta Ophthalmol* **90** : e31-37, 2012
- 16) Zheng Y, Liu Y, Ge J et al : Resveratrol protects human lens epithelial cells against H₂O₂-induced oxidative stress by increasing catalase, SOD-1, and HO-1 expression. *Mol Vis* **16** : 1467-1474, 2010
- 17) Losso JN, Truax RE, Richard G : Trans-resveratrol inhibits hyperglycemia-induced inflammation and connexin downregulation in retinal pigment epithelial cells. *J Agric Food Chem* **58** : 8246-8252, 2010
- 18) Kim YH, Kim YS, Kang SS et al : Resveratrol inhibits neuronal apoptosis and elevated Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II activity in diabetic mouse retina. *Diabetes* **59** : 1825-1835, 2010
- 19) Kubota S, Kurihara T, Mochimaru H et al : Prevention of ocular inflammation in endotoxin-induced uveitis with resveratrol by inhibiting oxidative damage and nuclear factor-kappaB activation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **50** : 3512-3519, 2009
- 20) Kubota S, Kurihara T, Ebinuma M et al : Resveratrol prevents light-induced retinal degeneration via suppressing activator protein-1 activation. *Am J Pathol* **177** : 1725-1731, 2010
- 21) Hua J, Guerin KI, Chen J et al : Resveratrol inhibits pathological retinal neovascularization in Vldlr^{-/-} mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **52** : 2809-2816, 2011
- 22) Luna C, Li G, Liton PB et al : Resveratrol prevents the expression of glaucoma markers induced by chronic oxidative stress in trabecular meshwork cells. *Food Chem Toxicol* **47** : 198-204, 2009
- 23) Nagaoka T, Sato E, Takahashi A et al : Impaired retinal circulation in patients with type 2 diabetes mellitus : retinal laser Doppler velocimetry study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **51** : 6729-6734, 2010
- 24) Nagaoka T, Hein TW, Yoshida A et al : Simvastatin elicits dilation of isolated porcine retinal arterioles : role of nitric oxide and mevalonate-rho kinase pathways. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **48** : 825-832, 2007
- 25) Nagaoka T, Hein TW, Yoshida A et al : Resveratrol, a component of red wine, elicits dilation of isolated porcine retinal arterioles : role of nitric oxide and potassium channels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **48** : 4232-4239, 2007
- 26) Omae T, Nagaoka T, Tanano I et al : Pioglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, induces dilation of isolated porcine retinal arterioles : role of nitric oxide and potassium channels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **52** : 6749-6756, 2011