

糖尿病モデルラットの腎症に対する小豆種皮投与の影響

佐藤 伸¹⁾ 野澤めぐみ¹⁾ 山手 丈至²⁾
堀 友花³⁾ 畑井 朝子³⁾ 嵯峨井 勝¹⁾

1) 青森県立保健大学大学院

2) 大阪府立大学大学院

3) 函館短期大学

Key Words : ①小豆 ②ポリフェノール類 ③マクロファージ ④糖尿病性腎症 ⑤ストレプトゾトシン

I. はじめに

果実、種実および豆類などの植物性食品には、抗酸化物質であるポリフェノール類が多く含まれている。小豆にもポリフェノール類が多量に含まれていることが知られている¹⁾が、これまであんの加工やあんの色調・風味等の品質評価に関連した知見が多く、生体に対する影響に関しての報告はほとんどなかった。

糖尿病、高血圧、がんなどの生活習慣病の多くは、活性酸素をはじめとするフリーラジカルの生成によりDNA傷害、脂質の過酸化などが原因といわれている。たとえば、糖尿病では高血糖により活性酸素などが生成して過酸化脂質の生成が亢進し、高血糖の持続がタンパク質の糖化をまねく。また合併症のひとつである糖尿病性腎症では細胞外マトリックスの蓄積をとめない、糸球体のメサンジウム領域の拡大や基底膜の肥厚がおこり、糸球体が硬化することが知られている²⁾。これには糸球体に浸潤するマクロファージが関連しており、マクロファージが活性酸素や線維化に関与するTGF- β などのサイトカインを放出するためと考えられている³⁾。

これまで、医薬品をはじめ、抗酸化物質であるビタミンCやビタミンEが糖尿病性腎症を軽減するという報告がある⁴⁾。しかしながら、小豆ポリフェノール類の投与による糖尿病性腎症への軽減効果に関する知見はほとんどない。

II. 目的

本研究では、糖尿病性腎症における小豆ポリフェノール類の生理的役割を明らかにするために、ストレプトゾトシン(STZ)で誘発した糖尿病ラットに小豆種皮を与え、小豆種皮の腎症に対する影響を検討することを目的とした。

III. 研究方法

本研究は「青森県立保健大学動物実験に関する指針」に従って実施された。

Wistar系ラット(雄性、6週齢)を日本クレア(株)より購入し、1週間の馴化飼育した後、実験に用いた。飼料(CE-2型固形通常飼料、日本クレア(株))と飲料水は自由摂取させた。

ラットにSTZ(60mg/kg)を腹腔内に単回投与し、48時間後の血糖値を測定し、その値が300mg/dl以上の動物を糖尿病モデルラットとした。対照群には0.05Mクエン酸緩衝溶液(pH4.5)を投与した。小豆は平成12あるいは13年北海道産小豆(エリモショウズ)を使用し、種皮粉末をCE-2型固形通常飼料(日本クレア(株))に添加した。糖尿病ラットを通常食(CE-2型固形通常飼料のみ)群、0.1%および1.0%小豆種皮食群に分け、小豆種皮添加食を10週間投与した。対照群には通常食を与えた。

投与後10週に麻酔下にて採血し、遠心分離後に得た血漿中の血糖値および尿素窒素量(BUN)を測定した。屠殺後、腎臓小片を固定し定法に従い組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色およびコラーゲン線維を染めるシリウスレッド染色を施した。シリウスレッド染色した後、糸球体1個当たりの線維化面積率を測定した。またED1(ラットマクロファージ)に対する免疫染色を施し⁵⁾、糸球体1個当たりの陽性細胞数を計測した。統計処理については、各群間の値の有意差検定は一元配置分散分析を行った後、Tukey testを用いて行った。結果は平均値 \pm 標準誤差で示した。

IV. 結果および考察

糖尿病ラット群と対照群の体重を比較すると、糖尿病ラット群では有意に減少していた。また糖尿病ラットの左および右の腎重量は対照群に比べて増大したが、1.0%小豆種皮食群では減少する傾向がみられた(Table 1)。

血糖値は対照群に比べて、糖尿病ラットで上昇したが、糖尿病ラットの通常食群と小豆種皮食群間の差は認められなかった(Table 1)。また糖尿病ラットの通常食群のBUN値は対照群より上昇したが、小豆種皮食群の値は有意に低下した。

組織学的に通常食を与えた糖尿病ラットでは糸球体のメサンジウム領域の拡大や尿管管上皮にグリコーゲンの沈着に関連した像が観察されたが、小豆種皮食群ではこのような障害は軽減していた(data not shown)。シリウスレッド染色した後測定した糸球体1個当たりの線維化面積率については通常群と1.0%種皮食群を比べると、1.0%種皮食群の面積率が減少した(通常食 vs 1.0%種皮

食群、 $27.9 \pm 1.4\%$ vs $13.4 \pm 0.7\%$ ($p < 0.01$)、 $n = 6 - 7$)。この結果は小豆種皮投与により糸球体のメサンジウム領域の拡大は抑制されることを示していた。また1.0%種皮食群の腎臓の糸球体内に出現したマクロファージ数は通常食群より有意に減少していた(通常食 vs 1.0%種皮食群、 3.0 ± 0.2 個 vs 1.8 ± 0.3 個 (p

< 0.01)、 $n = 6 - 7$)。

これらの結果から、ポリフェノール類を多く含む小豆種皮はSTZ誘発糖尿病ラットの腎中マクロファージの浸潤を抑制し、糖尿病性腎症を軽減する効果がある可能性が示唆された。

Table 1 Effects of treatment of azuki bean seed coats on levels of body weight, kidney weights, glucose and blood urea nitrogen (BUN) in control and diabetic rats.

	Control	Diabetes + ABSC treatments		
		0%	0.1%	1.0%
Body weight (g)	421 ± 8	245 ± 8 ^a	270 ± 26 ^a	266 ± 7 ^a
Right kidney weight (g)	1.40 ± 0.04	1.62 ± 0.07 ^a	1.60 ± 0.04 ^a	1.53 ± 0.04
Left kidney weight (g)	1.32 ± 0.07	1.62 ± 0.09 ^a	1.59 ± 0.09	1.48 ± 0.03
Glucose (mg/dl)	128 ± 9	550 ± 57 ^a	450 ± 57 ^a	520 ± 15 ^a
BUN (mg/dl)	16 ± 1	47 ± 3 ^a	33 ± 3 ^{a,b}	33 ± 2 ^{a,b}

Each values are expressed as mean ± SEM (n=6-7). ap<0.01 compared with control. bp<0.01 compared with untreated diabetic rats.

V. 文献

- 1) Ariga T, et al. : Antioxidative properties of procyanidins B - 1 and B - 3 from azuki beans in aqueous system. *Agric Biol Chem* 52, 2717 - 2722, 1988.
- 2) Mauer SM : Structural-functional correlations of diabetic nephropathy. *Kidney Int* 45, 612-622, 1994
- 3) Chen S, et al. : Diabetic nephropathy and transforming growth factor - β : transforming our view of glomerulosclerosis and fibrosis build-up. *Semin Nephrol* 23, 532 - 543, 2003.
- 4) Craven PA, et al. : Effects of supplementation with vitamin C or E on albuminuria, glomerular TGF - beta, and glomerular size in diabetes. *J Am Soc Nephrol* 8, 1405 - 14, 1997.
- 5) Sato S, et al. : Protective effect of taurine against renal interstitial fibrosis of rats induced by cisplatin Naunyn-Schmiedeberg *Arch Pharmacol* 365, 277 - 283, 2002

ポスターP-12

ナガイモによる自然発症高血圧ラットの血圧上昇抑制に関する研究

野澤めぐみ 佐藤 伸 羽鳥 有香
井澤 弘美 嵯峨井 勝

青森県立保健大学 大学院健康科学研究科

Key Words : ①ナガイモ ②高血圧 ③自然発症高血圧ラット

I. はじめに

血圧上昇には、さまざまな生理調節機能が関与している。レニン-アンギオテンシン-アルドステロン系は代表的な血圧調節機構である。一方、近年、高血圧とフリーラジカルとの関連についても明らかになってきた。フリーラジカルの一つである一酸化窒素 (NO) には血管弛緩作用があるが、活性酸素、特にスーパーオキシド (O_2^-) と容易に反応しペルオキシナイトライト ($ONOO^-$) を生成する。抗酸化物質により O_2^- を補足できれば、血管弛緩に有効なNO量が増加することが考えられる。

ナガイモ (*Dioscorea batatas*) は、一般に滋養強壮や疲労回復に良いとされてきたが、生理的機能はまだ十分に検討されていない。近年、試験管内 (in vitro) 実験において、ナガイモを界面活性剤添加および加熱処理等により得た抽出物が抗酸化作用を示すことが報告されている^{1,2)}。このように、ナガイモから得られる抽出物の生理調節機能に関する研究が行なわれているが、その研究