

高血圧自然発症ラットの大動脈・腎臓におけるスーパーオキシド産生に及ぼすケルセチンの影響

佐々木恵子¹⁾ 向井 友花²⁾ 藤田 修三^{1),2)}
佐藤 伸²⁾

1) 青森県立保健大学看護学科

2) 青森県立保健大学大学院健康科学研究科

Key Words : ①高血圧、②スーパーオキシド、③ケルセチン、④高血圧自然発症ラット

I. はじめに

近年、高血圧と酸化ストレスとの関係が明らかになりつつある。すなわち、高血圧状態では、活性酸素、特にNAD(P)H オキダーゼが産生するスーパーオキシド(O₂⁻)の増加により酸化ストレスが生じている。過剰量のO₂⁻は、血管弛緩作用をもつ一酸化窒素(NO)と容易に反応する。その結果、NOが減少し、血圧が上昇する。さらに、O₂⁻は血管内皮の機能障害を引き起こし、動脈硬化の発症や進展につながる。

タマネギやリンゴに含まれるケルセチンは、ポリフェノール化合物の1種であり、抗酸化作用を有することが知られている¹⁾。一方、試験管内でケルセチンは抗酸化的に働くが、より高濃度では酸化を促進するような物質(プロオキシダント)として働くことも知られている²⁾。もし、ケルセチンが抗酸化的に働けば、すなわち、活性酸素、特にO₂⁻を除去するのであれば、血圧上昇を抑制し、高血圧による生活習慣病の予防・改善に結びつくと推測される。しかし、ケルセチンがプロオキシダントとして働けば、生体内に活性酸素による障害を増大することが予想される。

II. 目的

本研究では、加齢に伴い血圧が上昇する高血圧自然発症ラット(Spontaneously hypertensive rat: SHR)に異なる濃度のケルセチン含有飼料を投与し、ケルセチンは血圧上昇を抑制するかどうか、また活性酸素、特にO₂⁻の産生への影響を検討し、ケルセチンの酸化ストレスへ及ぼす影響を明らかに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委員会の承認を得て「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。

4週齢の雄性SHR/Izmと正常血圧であるWistar Kyoto Rat(WKY/Izm)を購入し、馴化飼育後、12週齢から投与を開始した。ケルセチンを標準動物飼料であるMF飼料(オリエンタル酵母株式会社)に添加して飼料を作製した。SHRに0%、0.3%及び0.9%のケルセチン添加食、またWKYに0%及び0.9%のケルセチン添加食を8週間投与した。投与終了時まで、2週間に1回体重を測定し、血圧及び心拍数測定を尾部カフ法により測定した。麻酔下で採血し、心臓、左心室、肝臓及び腎臓を摘出した。投与後8週に代謝ケージを用いて24時間尿を採取し、尿中NO代謝物(NO_x)濃度はグリース法を用いて測定した。O₂⁻量は、ルシゲニンを用いた化学発光法により測定した。

IV. 結果及び考察

1. ケルセチンの体重及び臓器重量へ及ぼす影響

SHR及びWKY群の体重は順調に増加しており、成長に及ぼすケルセチンの影響は認められなかった。WKY+0%群とSHR各群の心臓の重量を比較すると、SHR各群は有意に高値を示した。また、SHR+0%群に比べて、SHR+0.9%群の左心室重量は有意に高値であった。加えて、WKY+0%群に比べてWKY+0.9%群の左心室重量も有意に大きかった。このことから、本研究におけるケルセチン用量は左心室の肥大をもたらすことが推察された。

2. ケルセチンの収縮期血圧に及ぼす影響

SHR各群の収縮期血圧は、加齢に伴って上昇した。SHR+0.9%群の収縮期血圧は、SHR+0%群に比べて、投与8週目でのみ有意な低下がみられた。一方、WKY各群では、ケルセチンの投与の有無に関わらず収縮期血圧に差はみられなかった。

3. 尿中NO_x濃度へ及ぼす影響

SHR+0%群とSHR+0.9%群の24時間尿中NO_x濃度を比較すると、両群では差はみられなかった。この結果から、0.9%ケルセチン投与はNO産生に影響を及ぼさないことが示唆された。

4. 大動脈及び腎臓中のO₂⁻量に及ぼすケルセチンの影響

大動脈では、基質無添加、NADH添加で、SHR+0.9%群のO₂⁻量はSHR+0%群と比較して有意に増加した。また、NADPH添加では有意差はみられなかったが、増加する傾向がみられた(図1)。このことは、SHR+0.9%群ではケルセチンはプロオキシダントとして作用する可

能性を示していた。

腎臓の皮質及び髄質において、SHR+0%群とSHR+0.9%群の間では、有意差はみられなかったが、SHR+0.9%群はSHR+0%群に比べてO₂⁻が増加する傾向が認められた。このことから、腎臓においてもケルセチンはプロオキシダントとして作用すると推察された。

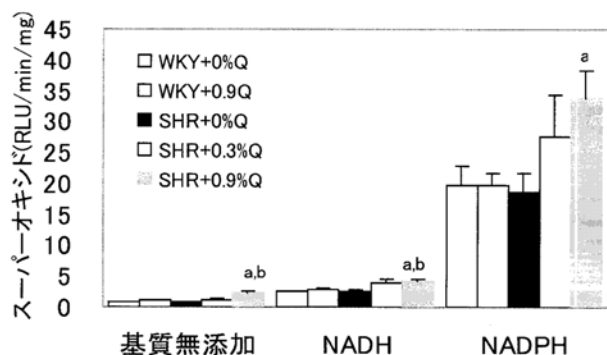


図1 大動脈へのスーパーオキシド産生量に及ぼすケルセチン(Q)の影響。

NAD(P)H オキシダーゼはO₂⁻を産生する主要な酵素の1つなので、本酵素の基質(NADH及びNADPH)を大動脈に添加し、O₂⁻量を測定した。単位はRelative light unit (RLU)/min/mg of aortaで示した。値は平均値±標準誤差(n=7)を示す。ap<0.05 vs WKY+0%群、bp<0.05 vs SHR+0%群。

V. 結論

投与8週目でSHRの血圧上昇は抑制されたが、大動脈や腎臓ではSHR+0.9%群はSHR+0%群に比べてO₂⁻の増加が認められ、高用量のケルセチン投与は、プロオキシダントとして働き、大動脈や腎臓において酸化ストレスを増大させることが示唆された。

VI. 文献

- 1) Sánchez M, et al.(2006): Quercetin downregulates NADPH oxidase, increases eNOS activity activity and prevents endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats . J Hypertens. 24;75-84.
- 2) Johnson MK, Loo G. (2000): Effects of epigallocatechin gallate quercetin on oxidative damage to cellular DNA. Mutat Res. 459;211-218.