

# mTOR を指標とした糖尿病性腎症に及ぼすタカキビ抽出物の有効性の評価

片岡沙織、佐藤 伸

青森県立保健大学 健康科学部 栄養学科

Key Words ①タカキビ ②糖尿病性腎症 ③哺乳類ラパマイシン標的タンパク質(mTOR)

## I. はじめに

今日、糖尿病の予防に資する食品成分の開発は精力的に行われている。例えば、植物ポリフェノールの抗糖尿病作用に関する報告がある。一方、哺乳類ラパマイシン標的タンパク質(mTOR)はタンパク質合成や mRNA の翻訳などに関与する酵素複合体であり、細胞増殖、血管新生やがん、加齢等においても中心的役割を果たすと考えられている。糖尿病性腎症では、mTOR は活性化していることがヒトや実験動物で知られており<sup>1)</sup>、mTOR 活性の亢進はオートファジーの機能低下を招くという。



タカキビ(*Sorghum bicolor*)は世界五穀の一つであり、イネ科の植物でモロコシともいう。本県の深浦町でタカキビ栽培が盛んに行われており、タカキビにはポリフェノールが多く含まれていることが知られている。

図 1. 深浦産タカキビ

しかし、古くから栽培され、食されているにもかかわらず、生理調節機能に関する知見は少ない。

## II. 目的

本研究は、ストレプトゾトシン(STZ)誘発糖尿病ラットを用い、県産タカキビの糖尿病性腎症における生理調節機能を明らかにするために、糖尿病性腎症における mTOR の活性およびオートファジーに関連するタンパク質を指標としてタカキビ抽出物の有効性の評価を目的とした。

## III. 研究方法

### 1. タカキビ抽出物の調製

乾燥したタカキビ粒をミルで細かく粉碎した後、80%エタノールで攪拌させながらインキュベートした。遠心分離後、上清をエバポレーターで減圧濃縮した。濃縮した上清を凍結乾燥し、粉末を「タカキビ抽出物(SeE)」とした。

### 2. 糖尿病モデルラットの作製

Wistar 系雄性ラット(6 週齢)に STZ(50 mg/kg)を単回投与し、糖尿病ラットを作製した。これに 0.9%NaCl 溶液を投与した群(C 群)、体重 1 kgあたり 50 mg の SeE を投与した(CL 群)、250 mg/kg の SeE を投与した群(CH 群)とした。同様に、糖尿病ラットも 3 群に分け、0.9%NaCl 溶液を投与した群(Se0 群)、50 mg/kg の SeE を投与した群(SeL 群)、250 mg/kg の SeE を投与した群(SeH)とした。4 週間後に採血し、グルコース(Glc)、尿素窒素(BUN)を測定した。腎臓をホモジナイズし、mTOR、リン酸化 mTOR (p-mTOR)、microtubule-associated protein 1 light chain 3B(LC3B)、p62/SQSTM1(p62)および  $\beta$ -actin をウエスタンブロット法により解析した。

## IV. 結果および考察

### 1. 臓器重量および血液生化学検査値に及ぼす SeE 投与の影響

C 群に比べて、糖尿病各群の腎臓、肝臓および心臓の相対重量は有意に増加した。健常ラット

の腎臓の相対重量は、C群に比べCH群でやや低値を示し、糖尿病ラットにおいてもSe0群に比べてSeH群で低値傾向が認められた。Glc濃度は、C群に比べてSe0群で有意に増加した。一方、Se0群とSeH群を比べると、Glc濃度は有意に減少した。これらの結果から、SeEは高血糖状態では血糖上昇抑制作用を有することを示唆していた。BUNを測定したところ、C群に比べて糖尿病ラット各群で高値を示したが、糖尿病ラットの投与群間では差は認められなかった。

表1. 臓器重量および血液生化学検査値に及ぼすSeE投与の影響

	C	CL	CH	Se0	SeL	SeH
BW <sup>†</sup> (g)	370.0±5.6	371.2±8.9	356.8±6.7	277.2±7.8 <sup>a</sup>	265.9±9.3 <sup>a</sup>	268.3±8.7 <sup>a</sup>
Liver (g)	11.53±0.20	11.78±0.34	10.82±0.38	13.56±0.38 <sup>a</sup>	13.58±0.39 <sup>a</sup>	12.68±0.31
Kidney (g)	2.632±0.063	2.63±0.088	2.39±0.105	3.350±0.148 <sup>a</sup>	3.271±0.091 <sup>a</sup>	3.050±0.098 <sup>a</sup>
Heart (g)	1.028±0.026	1.033±0.028	1.007±0.032	0.872±0.403 <sup>a</sup>	0.884±0.016 <sup>a</sup>	0.843±0.017 <sup>a</sup>
L/BW (g/kg)	31.19±0.40	31.72±0.52	30.32±0.79	48.94±0.31 <sup>a</sup>	51.15±0.90 <sup>a</sup>	47.51±1.95 <sup>a</sup>
K/BW (g/kg)	7.114±0.139	7.080±0.099	6.684±0.218	12.063±0.251 <sup>a</sup>	12.086±0.396 <sup>a</sup>	11.438±0.566 <sup>a</sup>
H/BW (g/kg)	2.777±0.041	2.784±0.045	2.821±0.056	3.141±0.084 <sup>a</sup>	3.335±0.073 <sup>a</sup>	3.151±0.084 <sup>a</sup>
Glc (mg/dl)	167.2±6.6	167.5±9.6	170.1±6.9	597.8±42.6 <sup>a</sup>	568.4±46.2 <sup>a</sup>	417.7±45.4 <sup>b</sup>
BUN (mg/dl)	15.3±1.0	15.0±0.4	15.4±0.5	36.6±2.7 <sup>a</sup>	41.5±5.3 <sup>a</sup>	33.3±2.3 <sup>a</sup>

<sup>†</sup>腎臓時体重 値は平均値±標準差(n=5-7). BW, 体重; L, 肝臓; K, 腎臓; H, 心臓; Glc, グルコース; BUN, 血中尿素窒素. <sup>a</sup>p<0.05 vs C群 <sup>b</sup>p<0.05 vs Se0群

## 2. mTOR、LC3B- IIおよびp62の発現に及ぼす影響

糖尿病性腎症にみられる糸球体硬化は主に皮質でみられるので、本研究では腎臓皮質を中心に解析を行った。一般に、糖尿病の腎臓では、mTOR活性は亢進している。C群および糖尿病ラット各群ではmTORの発現およびリン酸化量には差は認められなかった(図2)。mTORのシグナル経路は、オートファジーの制御に重要な役割を果たしている。すなわち、mTOR活性の亢進は、オートファジーの機能低下につながる<sup>2)</sup>。LC3はオートファゴソームに集積するタンパク質であり、その中でもLC3B- Iおよび- IIはオートファジーの指標として知られている<sup>3)</sup>。解析した結果、C群および糖尿病ラット各群のLC3B- Iおよび- II発現量には差はみられなかった(図2)。一方、p62は、オートファジーの分解の指標として知られている<sup>4)</sup>。オートファジーが減弱化すると、p62は細胞内に異常蓄積するという。解析の結果、Se0群に比べてSeH群のp62発現量はやや減少しているのが観察された(図2)。

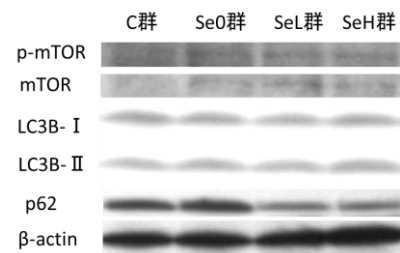


図2. 糖尿病ラットの腎臓皮質中のmTOR、p-mTOR、LC3B- IIおよびp62の発現に及ぼすSeE投与の影響

以上の結果から、期待される効果として、SeE投与により血漿中Glc濃度が低下したことから、SeEは血糖上昇抑制作用を有していることが期待される。また、腎症に及ぼす効果に関してSeEはp62の発現量に影響及ぼしたので、今後、SeEの投与量や投与期間を再検討してオートファジーの亢進について、さらに検討する必要がある。

## VI. 文献

- 1) Lee MJ, et al. Am J Physiol Renal Physiol. 2007; 292:617-27.
- 2) Huber TB, et al. Autophagy. 2012; 8:1009-31.
- 3) Mizushima N, et al. Cell. 2010; 140:313-26.
- 4) Pankiv S, et al. Diabetes Frontier. 2012; 23:554-560.