

# WBN/Kobラットの慢性膵炎様膵病変に対する大豆たん白質の効果——特に合成トリプシン・インヒビターとの比較について——

EFFECT OF SOYBEAN TRYPSIN INHIBITOR ON PANCREATIC LESION IN WBN/Kob RATS —COMPARISON WITH THE EFFECT OF SYNTHETIC TRYPSIN INHIBITOR—

池田義雄, 森 豊, 横山淳一 (東京慈恵会医科大学第三内科)

Yoshio IKEDA, Yutaka MORI and Junichi YOKOYAMA

Third Department of Internal Medicine, The Jikei University School of Medicine, Tokyo 105

## ABSTRACT

We previously reported the preventive effect of the synthetic trypsin inhibitor, camostat mesilate, on pancreatic fibrosis in WBN/Kob rats. In the present study, we examined the effect of soybean trypsin inhibitor (SBTI) on pancreatic lesion in WBN/Kob rats and compared with the effect of camostat mesilate. The preventive effect on 1 month-old male rats without pancreatic lesion was examined during a 20-month period (from 1 to 21 months of age). Male WBN/Kob rats were divided into three groups which were fed with the diets containing 2.0% (=613 U/kg/day), 0.5% (=153 U/kg/day), or no (=20 U/kg/day) SBTI. There was no significant difference in incidence of glycosuria, serum amylase activity, and urinary excretion of amylase between the groups. The weight of pancreata and tissue contents of trypsinogen and chymotrypsinogen in pancreata of rats treated with SBTI for 20 months were significantly increased compared with those in non-treated rats. Histologically, pancreata of non-treated rats revealed that the pancreas was atrophic and replaced by fibrous tissue or fat in extensive area. In pancreata of SBTI-treated rats, although the exocrine tissue was hypertrophic, the fibrous area with deposition of hemosiderin, and deformity and decreased number of islets were observed. We conclude that oral administration of SBTI has the trophic effect on exocrine tissue but no preventive effect on the development of pancreatic fibrosis in male WBN/Kob rats. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **11**, 134-137, 1990.

我々は、既に合成 trypsin inhibitor である camostat mesilate の WBN/Kob ラットの膵病変<sup>1,2)</sup>に対する効果を報告した。今回、この camostat mesilate と同様にラットの膵臓に対し肥大、増生をきたすことが知られている大豆たん白 trypsin inhibitor<sup>5,6)</sup>の WBN/Kob ラットの膵病変に対する効果を検討し、camostat mesilate との効果と比較検討した。

## 対象と方法

### 対象

WBN/Kob ラットは、エスエルシー(株)より購入し、浜松医科大学動物実験施設にて飼育し実験に供した。

### 実験計画

膵臓に病変のまだ観察されない生後1カ月齢の雌性

WBN/Kob ラット42匹を、不二製油㈱より提供された大豆たん白 trypsin inhibitor を各々2.0, 0.5および0%含む3群の飼料摂取群に無作為に分け、生後21カ月齢まで20カ月間投与した。各群における飼料摂取量から計算した1日当たりの trypsin inhibitor の摂取量は各々613, 153, および20 U/kg であった。生後17カ月齢に尿中 amylase 排泄量の測定, 21カ月齢に血清 amylase 活性と尿糖の測定を行うとともに、全群屠殺し膵組織内の amylase, trypsinogen, chymotrypsinogen 含量の測定, 病理組織学的検索を行った。

## 方法

糖尿病は非空腹時尿糖+2をもって発症とした。Amylase および creatinine の測定は日立736-60型自動分析器(日立, 東京)により行い、血清 amylase は IU/l, 尿中 amylase 排泄量は IU/24 hr または尿 creatinine 値に対する比で表した。

膵組織内消化酵素含量の測定は、膵臓を pH 8.5 に調整した100 mM tris-HCl buffer (0.1% triton, 0.15 M NaCl)内にて PHYSCO-TROLLER (日本精機, 東京)を用いて、ホモジナイズした。Amylase は Amylochrome Kit (Hofman-La Roche Basel, Switzerland)により、trypsinogen と chymotrypsinogen は spectrophotometry 法<sup>7)</sup>により測定した。Chymotrypsinogen は trypsin により chymotrypsin に、trypsinogen は enterokinase により trypsin にした後、それぞれの活性値を測定した。たん白量は Lowry 法<sup>8)</sup>により測定し各々の消化酵素含量は単位たん白重量当たりの単位で表した。組織学的検索は、HE 染色, Masson-T 染色により行った。

## 結 果

各群における尿糖出現率, 血清 amylase 活性, 尿中 amylase 排泄量は有意差を認めなかった (Table 1)。生後21カ月齢における未治療群と大豆たん白 trypsin inhibitor 投与群の膵臓の肉眼像を Fig. 1 に、Masson-

T 染色による膵病理切片を Fig. 2 に示す。大豆たん白 trypsin inhibitor を投与した群では、膵外分泌組織は明らかに肥大していた。しかしながら、病理組織学的には、大豆たん白 trypsin inhibitor 投与群, 非投与群, 共に間質からラ氏島や外分泌組織への広範なヘモジリン沈着を伴った線維組織の進展やこの線維組織によるラ氏島の分断, 変形が観察され、camostat mesilate 投与において認められた明らかな線維組織の進展やラ氏島の変形の抑制は観察されなかった。生後21カ月齢における各群の膵重量, 膵消化酵素含量では、2.0%大豆たん白 trypsin inhibitor 飼料摂取群において、膵重量, 膵組織内 trypsinogen, chymotrypsinogen 含量の有意な増加が認められた (Table 2)。

## 考 察

以上の結果を合成 trypsin inhibitor である camostat mesilate の長期経口投与の結果と対比させてみると、camostat mesilate は本ラットの糖尿病発症を抑制し、膵重量を増加させ、膵の線維化の進展や膵内消

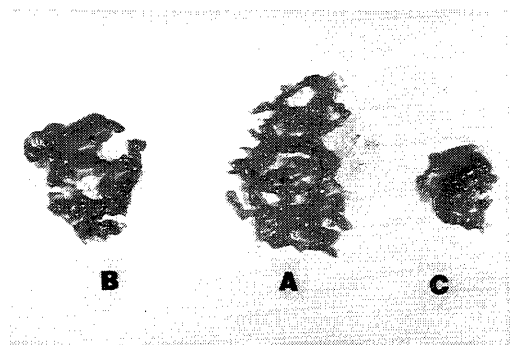


Fig. 1. Gross appearance of pancreata of male WBN/Kob rats aged 21 months which were fed the diets containing 0.5% (B), 2.0% (A), and 0% (C) soybean trypsin inhibitor.

Table 1. Incidence of glycosuria, serum amylase activity, and urinary excretion of amylase

	Soybean trypsin inhibitor		
	2.0%	0.5%	0%
Incidence of glycosuria, %	64.3(9/14)*	50.0(7/14)*	57.1(8/14)
Serum amylase activity, IU/l	2947.4±909.8*	3062.7±383.2*	3534.0±760.1
Urinary excretion of amylase (U-amylase/U-creatinine ratio) IU/g·Cr	32773.2±7824.5*	32643.6±1745.2*	31275.4±5709.9

\* N. S. vs values of 0%

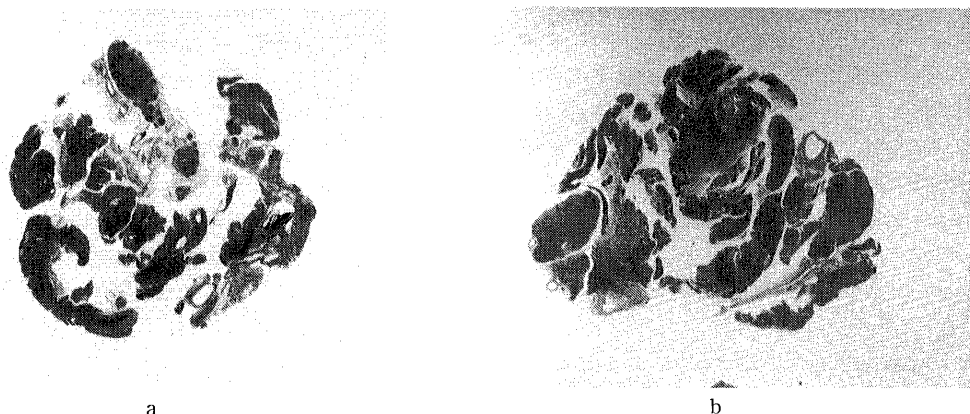


Fig. 2. Low-power view of Masson-T stained pancreatic sections in male WBN/Kob rats aged 21 months which were fed the diets containing 2.0% (a) and 0% (b) soybean trypsin inhibitor.

Table 2. Pancreas weight and tissue contents of pancreatic secretory digestive enzymes in pancreas

	Soybean trypsin inhibitor		
	2.0%	0.5%	0 %
Body weight, g	307.0±25.1	284.1±26.6	275.3±18.1
Pancreas weight, g	1.08±0.16*	0.93±0.16	0.78±0.09
Protein content, mg/g tissue	128.8±2.8	124.8±6.0	130.8±7.6
Amylase content, U/mg protein	73.2±7.0	55.4±17.7	98.2±25.5
Trypsinogen content, U/mg protein	0.18±0.04*	0.13±0.04**	0.09±0.02
Chymotrypsinogen content, U/mg protein	4.91±0.64*	3.79±1.32	3.57±0.56

\*p<0.01, \*\*p<0.05 vs values of 0%

化酵素含量の低下を有意に抑制したのに対し、大豆たん白 trypsin inhibitor は、膵重量を増加させ、膵内消化酵素含量の低下を一部抑制したものの、糖尿病発症の抑制や病理組織学的な線維化の進展の抑制は示さなかった。以上の成績より、本ラットの camostat mesilate による膵病変の進展の抑制には膵への栄養効果のみではなく、camostat mesilate そのものもつ抗炎症効果も重要な役割を演じていると考えられた。

## 文 献

- 1) 森 豊, 横山淳一, 西村正彦, 芹沢 治, 池田義雄 (1988): 膵外分泌機能障害を伴う自然発症糖尿病モデル WBN/Kob ラットに関する研究. 第2報, 膵病変について. 糖尿病, **31**, 21-25.
- 2) Mori, Y., Yokoyama, J., Nishimura, M., Kurata, H., Miura, J. and Ikeda, Y. (1990): Diabetic strain (WBN/Kob) of rat characterized by endocrine-exocrine pancreatic impairment due to distinct fibrosis. *Pancreas*, **5**, 452-459.
- 3) 森 豊, 横山淳一, 池田義雄, 芹沢 治, 西村正彦 (1989): 自然発症糖尿病 WBN/Kob ラットに関する研究. 第8報: 合成 Trypsin Inhibitor による糖尿病発症予防効果. 糖尿病動物3, 糖尿病動物研究会編, 医薬ジャーナル社, 大阪, pp.184-194.
- 4) Mori, Y., Yokoyama, J., Nishimura, M., Serizawa, O. and Ikeda, Y. (1989): Effect of camostat mesilate on pancreatic impairment in WBN/Kob rat. *Biomed. Res.*, **10**, 157-166.
- 5) Yanatori, Y. and Fujita, T. (1976): Hypertrophy and hyperplasia in the endocrine and exocrine pancreas of rats fed soybean trypsin inhibitor or repeatedly injected with pancre-
- 6) Temler, B. S., Dormond, C. A., Smon, E. and Morel, B. (1984): The effect of feeding soybean trypsin inhibitor and repeated injection of cholecystokinin on rat pancreas. *J. Nutr.*, **114**, 1083-1091.

ozymine. *Arch. histol. jap.*, **39**, 67-78.

- 7) Hummel, B. C. W. (1959) : A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Can. J. Biochem.*, **37**, 1393-1399.
- 8) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.