

WBN/Kob ラットの膵ラ氏島に及ぼす大豆たん白質の効果

EFFECT OF SOYBEAN TRYPSIN INHIBITOR ON PANCREATIC ISLETS IN WBN/Kob RATS

池田義雄・森 豊・横山淳一（東京慈恵会医科大学）

Yoshio IKEDA, Yutaka MORI and Junichi YOKOYAMA

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

ABSTRACT

WBN/Kob rats are spontaneously developed diabetic model animals with endocrine-exocrine pancreatic insufficiency due to distinct pancreatic fibrosis. We previously reported the oral administration of soybean trypsin inhibitor (SBTI) has the trophic effect on exocrine tissue in WBN/Kob rats. In the present study, we examined the effect of SBTI on pancreatic islets in WBN/Kob rats. 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 0 % (=20 U/kg/day) SBTI. There was no significant difference in incidence of glycosuria at 21 months of age. The weight of pancreata and tissue contents of pancreatic digestive enzymes in rats treated with SBTI for 20 months were significantly increased compared with those in non-treated rats. Histologically, in pancreata of SBTI-treated rats, although the exocrine tissue was hypertrophic, the deformity of islets and decreased number of B cells and A cells were observed as same as in pancreata of non-treated rats. And there were no significant differences in tissue contents of insulin and glucagon between SBTI-treated and non-treated rats. We conclude that orally administered SBTI has the trophic effect on exocrine tissue but no effect on the pancreatic islets in male WBN/Kob rats. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **12**, 127-129, 1991.

WBN/Kob ラットは広範な膵線維化により膵内外分泌障害を示す自然発症糖尿病ラットである^{1,2)}。我々は、既に大豆たん白トリプシンインヒビター (soybean trypsin inhibitor: SBTI) の長期経口投与が、本ラットの膵臓の重量や膵組織内消化酵素含量の増加をもたらすという成績を報告した³⁾。今回は、本ラットの膵内分泌系に及ぼす大豆たん白トリプシンインヒビターの効果を検討したので報告する。

対象と方法

対象

WBN/Kob ラットは、日本エスエルシー(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カ月齢の雄性 WBN/Kob ラット42匹を、不二製油(株)より提供された

大豆たん白トリプシンインヒビターを各々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ヵ月齢まで20ヵ月間投与した。各群における飼料摂取量から計算した1日当たりのトリプシンインヒビターの摂取量は各々613, 153および20 U/kgであった。生後21ヵ月齢における累積糖尿病発生率を検討するとともに、全群屠殺し膵組織内の amylase, trypsinogen, chymotrypsinogen 並びに insulin, glucagon 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。

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-LaRoche Basel, Switzerland) により, trypsinogen と chymotrypsinogen は spectrophotometry 法⁴⁾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⁵⁾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。

膵組織内 insulin, glucagon 含量の測定は, acid ethanol 法⁶⁾により抽出し, 各々 RIA 二抗体法にて測定, 1 mg 組織重量当たりのホルモンの量で評価した。

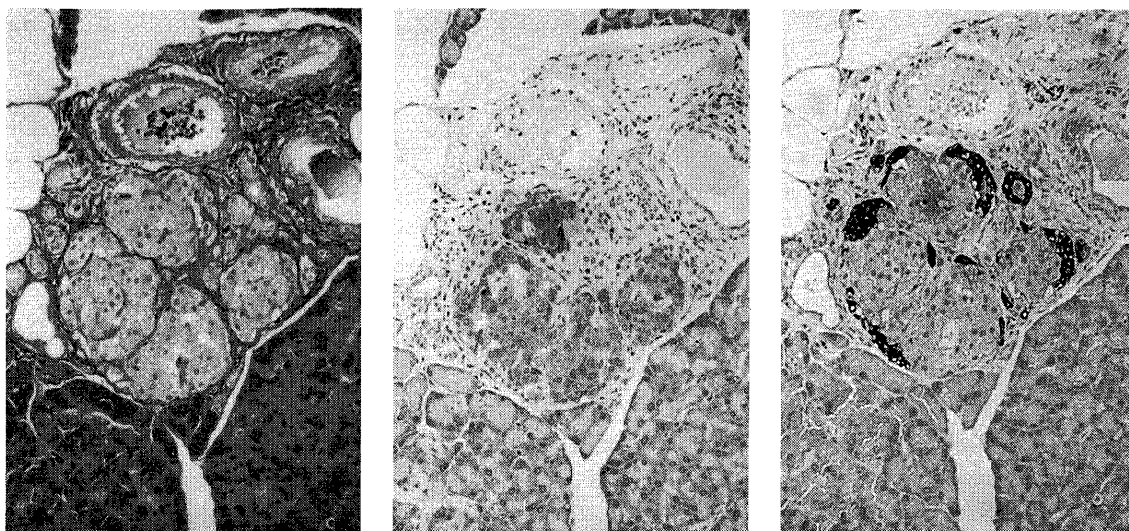


Fig. 1. Pancreatic islet from SBTI-treated WBN/Kob rat aged 21 months. The serial sections were stained by Masson-T (A) and immunostained for insulin (B) and glucagon (C) using ABC peroxidase method.

Table 1. Pancreas weight and tissue contents of pancreatic secretory digestive enzymes and hormones in pancreas

	SBTI-treated WBN/Kob			Control Wistar
	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, mg/g protein	73.2±7.0	55.4±17.7	98.2±25.5	—
Trypsinogen content, mg/g protein	0.18±0.04*	0.13±0.04**	0.09±0.02	—
Chymotrypsinogen content, mg/g protein	4.91±0.64*	3.79±1.32	3.57±0.56	—
Insulin content, ng/mg tissue	2.75±2.96	2.70±2.69	1.32±1.02	50.9±15.2
Glucagon content, pg/mg tissue	17.8±7.99	25.3±5.1	21.0±11.0	38.8±20.1

組織学的検索は、HE 染色、Masson-T 染色を行うとともに、抗 insulin 抗体、抗 glucagon 抗体、抗 somatostatin 抗体 (Milab, Sweden) を用いた酵素抗体法 (ABC method⁷⁾, Vectastain ABC kit, Vector Labo. Inc., U. S. A.) により膵ラ氏島の各構成細胞の免疫組織染色を行った。

結 果

生後21カ月齢における累積糖尿病発症率は2.01% SBTI 含有飼料摂取群64.3% (9/14), 0.5% SBTI 含有飼料摂取群50.0% (7/14), 0% SBTI 飼料摂取群57.1% (8/14) であり、3群間に有意差は認められなかった。大豆たん白トリプシンインヒビターを投与した群では、膵外分泌組織は明らかに肥大していたが、組織学的には大豆たん白トリプシンインヒビター投与群、未投与群とも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、免疫組織染色においても β 細胞、 α 細胞数の減少が認められた (Fig. 1)。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%大豆たん白トリプシンインヒビター含有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。一方、膵ホルモン含量では、3群ともに、同齡対照 Slc. Wistar ラットに比して有意に insulin, glucagon 含量ともに低下していた。又、3群間でこれらの膵ホルモン含量の有意差は観察されなかった (Table 1)。

考 察

以上、今回の WBN/Kob ラットでの検討では、大豆たん白トリプシンインヒビターは膵外分泌組織の肥大、増生をきたし膵組織内消化酵素含量を増加させたが、ラ氏島病変や膵組織内ホルモン含量に関しては、特に効果を認めず、糖尿病発症に対しても影響を与えなかった。これらの成績より、大豆たん白トリプシン

インヒビターの膵内分泌に及ぼす直接効果は明らかでないと考えられた。

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) 池田義雄, 森 豊, 横山淳一 (1990): 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—. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **11**, 134-137.
- 4) Hummel, B. C. W. (1959): A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Can. J. Biochem.*, **37**, 1393-1399.
- 5) 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.
- 6) Kenny, A. J. (1955): Extractable glucagon of the human pancreas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **15**, 1089-1105.
- 7) Hsue, S. M., Raine, L. and Fanger H. (1984): Use of avidine-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase technique; a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem. Cytochem.*, **29**, 577-580.