

自然発症糖尿病 WBN/Kob ラットにおける大豆たん白 質の腎血行動態並びに尿アルブミン排泄への影響

EFFECT OF SOY PROTEIN ON RENAL HEMODYNAMICS AND
URINARY ALBUMIN EXCRETION IN SPONTANEOUSLY DEVEL-
OPED DIABETIC WBN/Kob RATS

池田義雄(東京慈恵会医科大学健康医学センター健康医学科)
森 豊(東京慈恵会医科大学第三内科)

Yoshio IKEDA¹ and Yutaka MORI²

¹Department of Preventive Medicine, Center for General Health Care, Jikei
University School of Medicine, Tokyo 105

²Department of Internal Medicine, Jikei University School of Medicine,
Tokyo 105

ABSTRACT

To investigate the effects of protein loading on renal hemodynamics and urinary albumin excretion (UAE), diabetic WBN/Kob and control Wistar rats aged 10 months were given 40% protein diets from different sources and observed for 4 weeks using metabolic cages. Rats were fed control diet in the 1st week, 40% soy protein diet in the 2nd week, 40% pork protein diet in the 3rd week and 40% soy protein diet in the 4th week. UAE in 40% pork protein diet-fed period significantly decreased compared with those in 40% soy protein diet-fed periods in both WBN/Kob and Wistar rats. Urinary prostaglandin E₂ (PGE₂) excretion and creatinine clearance rate (Ccr) as an index of glomerular filtration rate in 40% pork protein diet-fed period also decreased significantly compared with those in 40% soy protein diet-fed periods in both WBN/Kob and Wistar rats and the change of urinary PGE₂ excretion was well correlated with those of Ccr and UAE. In contrast with the previous reports, these results suggest that vegetable protein might have more influence on the renal hemodynamics and UAE than animal protein. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **15**, 124-129, 1994.

糖尿病，とくにインスリン依存型糖尿病では，発症早期にしばしば腎糸球体濾過率（Glomerular Filtration Rate: GFR）の亢進が認められ，腎糸球体過剰濾過（hyperfiltration）の状態にあることが報告されている¹⁾。このGFRの上昇は，おもに腎糸球体の血行動態の異常によるとする説が提唱されており，この仮説により腎症におけるアルブミン尿や糸球体硬化症の成因が説明されている。一方，部分腎摘による腎障害モデルラットを用いた最近の研究では，たん白質摂取量の

重要性が明らかとなり，過剰な負荷を与え，腎糸球体病変を惹起させることが確認されている²⁾。さらに，ストレプトゾトシン糖尿病ラットにおいても，高たん白質食投与により腎糸球体の硬化性病変が促進されるとの報告があり³⁾，逆にたん白質摂取量を制限すると，これらのモデルラットにおける糸球体病変の進展を阻止し得ることが知られている。また，ヒトにおいても，多量のたん白質を健常人に投与すると腎血漿流量（Renal Plasma Flow: RPF）やGFRが上昇し，一

時的に腎糸球体過剰濾過の状態を引き起こすことが確認されている^{4,5)}。同様の現象はアミノ酸液の静脈内投与によっても生じることから、たん白質摂取後の血中アミノ酸の上昇が引き金になっていると考えられている^{6,7)}。現在、高たん白質食が RPF, GFR を増加させるメカニズムとしてたん白質負荷後に血中グルカゴン値や尿中プロスタグランディン排泄の増加が認められることから^{5,6)}、たん白質負荷→血中アミノ酸上昇→グルカゴンの分泌増加→腎内プロスタグランディンの増加→RPF, GFR の上昇といったメカニズムが推察されている。さらに、ヒトに急速なたん白質負荷を行った際の GFR の反応は、そのたん白質の質、すなわちアミノ酸組成の差により異なった変化が認められ、一般に植物性たん白質は動物性たん白質と比較して GFR の上昇を誘発しにくいことが報告されている⁸⁾。そこで、今回は摂取たん白質の質的な違いによる腎血行動態、尿中プロスタグランディン排泄、尿中アルブミン排泄への影響を自然発症糖尿病 WBN/Kob ラット^{9,10)}を用いて検討した。

方 法

実験計画

離乳直後より特殊繁殖用飼料、MB3 (27.9%たん白質含有、船橋農場) にて飼育した生後 9 カ月齢糖尿病発症雄性 WBN/Kob ラット (n=10) と、同齢対照 Slc : Wistar ラット (n=6) を長期飼育用飼料、MM3 (20.1%たん白質含有、船橋農場) にて 1 カ月間飼育したラットを、それぞれ代謝ケージにて連続 28 日間飼育観察を行った。1 週間を 1 サイクルとし、第 1 週目は対照食として長期飼育用飼料 MM3、第 2 週目は高大豆たん白質食、第 3 週目は高豚肉たん白質食、第 4 週目は

再度高大豆たん白質食にて飼育を行った。今回の実験に用いた飼料は、大豆たん白質食、豚肉たん白質食ともに粗たん白質含有量を 40% と対照飼料の 2 倍に、粗脂肪、可溶性無窒素物含量、代謝エネルギーは同程度に設定した (Table 1)。なお、今回の実験に用いた両精製たん白質のアミノ酸分析の結果は Table 2 のとおりであった。

測定

各飼料による飼育第 7 日目に体重を測定するとともに、非絶食時に眼窩静脈叢より採血を行い、血漿ブドウ糖、クレアチニンを測定した。また、代謝ケージを用いて 28 日間連続で 24 時間蓄尿を行い、尿アルブミンと N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) は各飼料の飼育第 5 日目から 7 日目まで 3 日間、尿プロスタグランディン E₂ は各飼料の飼育第 7 日目に測定した。尿アルブミンはラットアルブミンを標準とした RIA 法で、尿 NAG は比色法で、尿プロスタグランディン E₂ は RIA PEG 法により測定し、いずれも 24 時間排泄量で評価した。また GFR の指標としてクレアチニン・クリアランスを算出した。

統計処理

実験データは mean $\pm$ SD で表し、統計処理は paired *t*-test を用いた。

結 果

実験期間中の非絶食時血糖は、WBN/Kob ラットが 600~800 mg/dL、対照 Wistar ラットが 150~200 mg/dL であった。WBN/Kob ラットと対照 Wistar ラットを対照食 MM3、高大豆たん白質食、高豚肉たん白質食、高大豆たん白質食で飼育した各々 1 週間のうちの第 5 日目から 7 日目の 3 日間の尿中アルブミン排泄

Table 1. Calculated nutrient composition (% by weight)

	MM3	Diet containing 40% soybean protein	Diet containing 40% pork protein
Moisture	7.0	8.0	8.0
Crude protein	20.1	40.1	40.3
Crude fat	4.4	4.7	4.6
Crude fiber	5.2	5.0	5.0
Ash	8.8	8.8	7.3
Nitrogen-free extract	54.5	33.4	34.8
Metabolizable energy (kcal/g)	3.38	3.36	3.42

量 (Fig. 1) は, WBN/Kob ラット, 対照 Wistar ラットのいずれも高大豆たん白質食から高豚肉たん白質食へ変えることにより低下傾向を示し, 再度高大豆たん白質食へ変えることにより増加傾向を示した。次に対照食 MM3 期における 3 日間の尿アルブミン排泄量

Table 2. Amino acid composition of the two kinds of protein

Source of protein	Soybean	Pork
Aspartic acid	11.50	8.44
Threonine	3.85	4.86
Serine	5.44	4.21
Glutamic acid	18.80	17.03
Proline	5.36	3.94
Glycine	4.09	< 4.67
Alanine	4.22	< 6.05
Valine	5.38	5.44
Cystine	1.05	0.76
Methionine	1.27	3.17
Isoleucine	4.86	5.23
Leucine	7.91	8.57
Tyrosine	3.93	3.87
Phenylalanine	5.34	4.35
Lysine	6.68	8.81
Histidine	2.87	2.52
Arginine	7.85	6.84

(%)

の平均値を 1 として, 高大豆たん白質食, 高豚肉たん白質食, 高大豆たん白質食における 3 日間の尿アルブミン排泄量の平均値を比で評価すると (Fig. 2), WBN/Kob ラットの尿アルブミン排泄は高大豆たん白質食から高豚肉たん白質食へ変えることにより有意に低下し, 再度高大豆たん白質食へ変えることにより有意に増加した。一方, 尿 NAG 排泄量に関しては, このような変化は観察されなかった。GFR の指標としてのクレアチニン・クリアランスの推移 (Fig. 3) は, 先の尿アルブミン排泄量の推移と同じく WBN/Kob ラットでは, 高大豆たん白質食から高豚肉たん白質食へ変えることにより有意に低下し, 再度高大豆たん白質食へ変えることにより有意に増加した。また, この傾向は対照 Wistar ラットでも認められた。腎臓内プロスタグランディンを反映すると考えられる尿中プロスタグランディン E₂ 排泄量 (Fig. 4) は, 先の尿アルブミン排泄量やクレアチニン・クリアランスの推移と同じく WBN/Kob ラットも対照 Wistar ラットもいずれも, 高大豆たん白質食から高豚肉たん白質食へ変えることにより低下傾向を示し, 再度高大豆たん白質食へ変えることにより増加傾向を示した。次に対照食 MM3 における尿プロスタグランディン E₂ 排泄量を 1 として, 高大豆たん白質食, 高豚肉たん白質食, 高大豆たん白質食における尿プロスタグランディン E₂ 排泄量を比で評価すると (Fig. 5), WBN/Kob ラットの尿プロスタグランディン E₂ 排泄量は高大豆たん白質食から高豚肉たん白質食へ変えることにより有

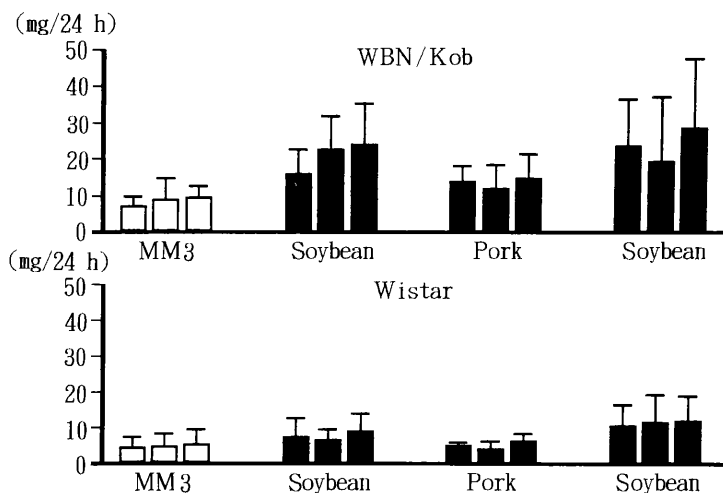


Fig. 1. Urinary albumin excretion in WBN/Kob and Wistar rats fed the diets containing 40% soybean protein vs. pork protein.

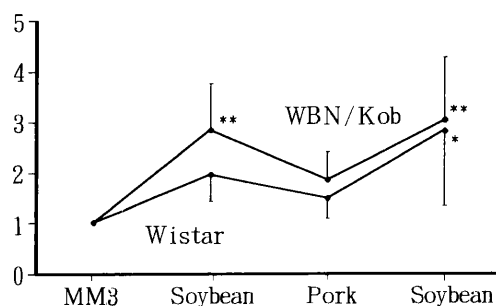


Fig 2. Changes of urinary albumin excretion
(Ratio to the pre-value).
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, vs value of Pork, paired- t test

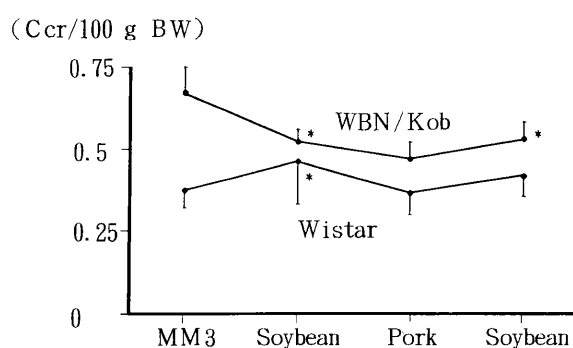


Fig 3. Changes of creatinine clearance rate.
* $p < 0.05$, vs value of Pork, paired- t test

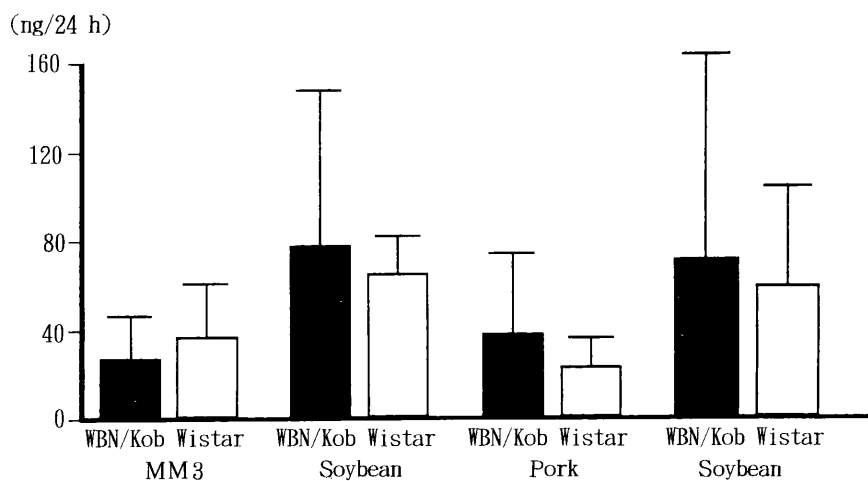


Fig 4. Changes of urinary PGE₂ excretion in WBN/Kob and Wistar rats fed the diets containing 40% soybean protein vs pork protein.

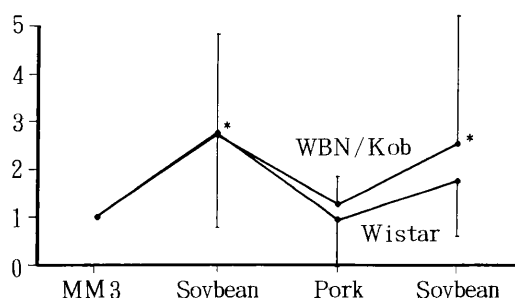


Fig 5. Changes of urinary PGE₂ excretion.
(Ratio to the pre-value).
p<0.05, vs value of Pork, paired-*t* test

意に低下し、再度大豆たん白質食へ変えることにより有意に増加した。また、この傾向は対照 Wistar ラットでも認められた。

考 察

以上、今回の精製たん白質を飼料に含有させて経口投与した実験では、大豆たん白質は豚肉たん白質と比較して自然発症糖尿病ラットの尿アルブミン排泄を有意に増加させた。また、尿プロスタグランディン排泄量と平行して、GFR と尿アルブミン排泄量が推移することが観察された。

従来、経口負荷したたん白質の種類による GFR の増加誘発程度の違いは、腎血流増加作用を持つアミノ酸とプロスタグランディンの増加程度の差によるものであることが報告されている^{11,12)}。すなわち、植物性たん白質が動物性たん白質と比較して GFR を増加させない理由の 1 つとして、GFR の増加を誘発するグリシン、アラニン、アルギニンなどのアミノ酸含量が植物性たん白質では、少ないことが指摘されている。今回の実験で用いた精製たん白質のアミノ酸分析でも、グリシンおよびアラニンの含有量は、大豆たん白質において明らかに低かった。しかしながら、今回の実験では従来の報告とは異なり、植物性たん白質は動物性たん白質と比較してむしろ尿プロスタグランディン排泄、GFR、尿アルブミン排泄を増加させることが示された。従来の動物性たん白質が植物性たん白質と比較して GFR の増加を誘発しやすいという報告^{8,11,12)}は、ヒトを対象としてたん白質を単独で急性負荷した時の成績であるのに対し、今回の実験は、大豆たん白質や豚肉たん白質を飼料の中に含有させ実際の食事により近い形で負荷した時の成績であることも従来の成績と異なる理由の 1 つと考えられた。

文 献

- 1) Viberti GC (1979): Early function of morphological changes in diabetic nephropathy. *Clin Nephrol*, **12**, 47-53.
- 2) Hostetter TH, Meyer TW, Rennke HG and Brenner BM (1986): Chronic effects of dietary protein in the rat with intact and reduced mass. *Kidney Int*, **30**, 509-517.
- 3) Zatz R, Meyer TW, Rennke HG and Brenner BM (1985): Predominance of hemodynamic rather than metabolic factors in the pathogenesis of diabetic glomerulopathy. *Proc Natl Acad Sci USA*, **82**, 5963-5967.
- 4) Fioretto P, Trevisan R, Valerio A, Avogaro A, Borsato M, Doria A, Semplicini A, Sacerdoti D, Jones S, Bognetti E, Viberti GC and Nosadini R (1990): Impaired renal response to a meat meal in insulin-dependent diabetes: role of glucagon and prostaglandins. *Am J Physiol*, **258**, F675-F683.
- 5) Vanrenterghem YFC, Verberckmoes RKA, Roels LM and Michielsen PJ (1988): Role of prostaglandins in protein-induced glomerular hyperfiltration in normal humans. *Am J Physiol*, **254**, F463-F469.
- 6) Hirschberg RR, Zipser RD, Slomowitz LA and Kopple JD (1988): Glucagon and prostaglandins are mediators of amino acid-induced rise in renal hemodynamics. *Kidney Int*, **33**, 1147-1155.
- 7) Tuttle KR, Bruton JL, Perusek MC, Lancaster JL, Kopp DT and De Fronzo RA (1991): Effect of strict glycemic control on renal hemodynamic response to amino acids and renal enlargement in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, **324**, 1626-1632.
- 8) 中村宏志 (1989): 糖尿病性腎症に対する急性蛋白負荷—特に動物性蛋白と植物性蛋白—. *糖尿病*, **32**, 203-208.
- 9) 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.

- 10) Mori Y, Yokoyama J, Nishimura M, Oka H, Mochio S and Ikeda Y (1992): Development of diabetic complications in a new diabetic strain of rat (WBN/Kob). *Pancreas*, **7**, 569-577.
- 11) 中村宏志, 山崎雅俊, 千葉泰子, 田村紀子, 笠原 紳, 谷 長行, 津田晶子, 百都 健, 伊藤正毅, 柴田 昭 (1990): 糖尿病性腎症に対する蛋白急性負荷 (第2報). *糖尿病*, **33**, 539-543.
- 12) 中村宏志, 荒川直子, 田中 拓, 中川 理, 千葉泰子, 百都 健, 伊藤正毅, 柴田 昭 (1991): 健康人および糖尿病患者に対する蛋白急性負荷—蛋白の種類により hyperfiltration を誘発する程度に差があることの原因は何か—. *糖尿病*, **54**, 1063-1069.