

学位論文題名

高血圧自然発症ラットの内臓脂肪および腎臓とマウス 3T3-L1 細胞に対する  
ベルベリンの影響に関する基礎研究

Effects of Berberine on Kidney Function and Adipose Tissues in  
Spontaneously Hypertensive Rats and 3T3-L1 Cells

学位申請者 岸本 亜野 ㊞

【緒言】

ベルベリンは、ベンジルイソキノリンアルカロイドの 1 種であり (Fig. 1)、キハダやオウレンなどの植物に含まれている<sup>1)</sup>。抗菌、抗炎症、止瀉作用があり、血糖および血中脂質低下作用が報告され、生活習慣病予防に有用であることが示唆されている<sup>2,3)</sup>。近年、生活習慣の欧米化に伴

い、高血圧、脂質異常症、糖尿病などの生活習慣病の罹患者数が増加し、問題となっている。これらの生活習慣病は、お互いに合併しやすく、肥満、特に内臓に脂肪（内臓脂肪）が蓄積した肥満が関与している。メタボリックシンドロームは、内臓に蓄積

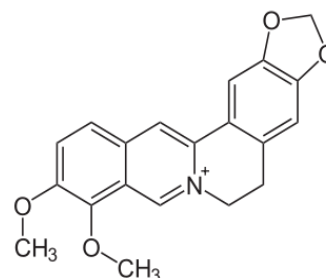


Figure1. Structure of Berberine

した脂肪が一因となって脂質異常症、高血圧、高血糖などを重複して発症した状態を指し、動脈硬化のリスクが高くなることが知られている。腎臓の動脈にも動脈硬化が起これ、慢性腎臓病の発症と進行の危険因子にもなり、腎障害発症には酸化ストレスが関与していることが明らかにされている。高血圧自然発症ラットでは組織周囲・血管周囲脂肪が血管障害に影響を与えることが報告されている。Cicero らの報告<sup>4)</sup>によれば、ベルベリンを含む植物由来成分がメタボリックシンドロームを構成する生活習慣病の各種指標を改善することに役立つ可能性を示唆している。

本研究では、高血圧を加齢とともに発症し、腎障害を発症する高血圧自然発

症ラット<sup>5,6)</sup>を用いて、ベルベリンによる腎障害及び脂肪組織への影響を検討した。脂肪細胞と酸化ストレスの関係が深いことが知られているが、我々はベルベリンが 3T3-L1 脂肪細胞の酸化ストレスを抑制したことを報告しており<sup>7)</sup>、本論文では、高血圧自然発症ラットの脂肪組織、腎臓とマウス前駆脂肪細胞の培養細胞株である 3T3-L1 細胞に対するベルベリンの影響を検討した結果について詳述する。

## 第一章 高血圧自然発症ラットを用いたベルベリンの影響

### 【目的】

高血圧自然発症ラット(Spontaneously Hypertensive Rat: SHR)は、1963 年に岡本らによって Wistar Kyoto(WKY)ラットより系統分離され、数代の選択交配で SHR が作成された。SHR は特別な処置なしに成長と共に血圧が高くなり、ヒトの高血圧モデルとして汎用されている。また加齢とともに血圧上昇が上昇しその血圧上昇とともに心臓肥大、腎臓障害の発症が認められる(Fig. 2)。



Figure 2. SHR (left), kidney injury (middle), development of hypertension in SHR (right)

肥満は、生活習慣病の最大の危険因子である。動脈硬化性疾患だけでなく、腎障害の発症リスクも高いことが報告されている。SHR は血管周囲脂肪が血管障害に関与することが知られており、また腎障害を発症するが<sup>8,9)</sup>、この腎障害の発症に活性酸素種が関与している報告<sup>10)</sup>がある。SHR では対照系統である WKY と比較して活性酸素種が亢進していることが報告されている<sup>11)</sup>。今回の SHR を用いた実験でもベルベリン投与により活性酸素種の低下が認められるかを血中指標で検討した。また活性酸素種と密接に関連する組織である脂肪組織と活性酸素と脂肪組織の両方より影響を受けると考えられる腎臓に着目し、ベルベリンが SHR の腎障害と脂肪組織に与える影響について検討した。

## 【方法】

6週齢雄性SHR10匹をSHR等疾患モデル共同研究会（京都）より分与を受け、体重、血圧をもとに2群に分け150 mg/kgのベルベリン含有生理食塩水（BBR群）または生理食塩水（Control群）を8週間にわたりゾンデで経口投与を一日一回実施した。投与量の設定は先行文献のWanら<sup>12)</sup>、およびChenら<sup>13)</sup>の文献より150 mg/kgと設定した。

体重及び血圧(Tail cuff 法) は2週間に1回測定を行った。飼育環境はコンベンショナルで、温度 23±3℃、湿度 50-60%であった。8週間ベルベリン投与後、実験群は24時間の尿をメタボリックケージ(ナルゲン)により採取、摂食量、飲水量を測定した。1日の自由行動後、16時間絶食後イソフルラン麻酔下で腹大動脈より採血し、内臓脂肪組織及び循環器疾患関連臓器を採取し秤量した。採取した脂肪組織の一部はホルマリン固定し染色標本試料とした。血液は採血したのち遠心分離し、得られた血清、血漿試料は測定まで-80℃の冷凍庫にて保存した。

## 【結果】

### ベルベリン投与によるSHRの体重、血圧の変化

8週目における摂餌量はベルベリン(BBR) 12.12±0.68 g, Control 群 12.11±2.53 g と有意な差は認められなかった。また肝機能指標であるAST及びALTはそれぞれBBR群 89.2±8.1、45.8±2.2 IU/LでありControl群で94.0±10.1、42.8±1.9 IU/Lで有意な差は認められなかった。

体重はFig. 3で示すようにベルベリン投与4週目よりControl群に比べ、体重増加が緩やかとなり、8週目には有意に近い値( $p=0.058$ )を示した。8週間投与実験終了時の体重増加量においてBBR群(164.72±8.46 g)では、Control群(179.94±7.47 g)と比較して有意に減少していた( $p<0.05$ )。またTable 1に示すように血圧では、有意な差は見られなかった。

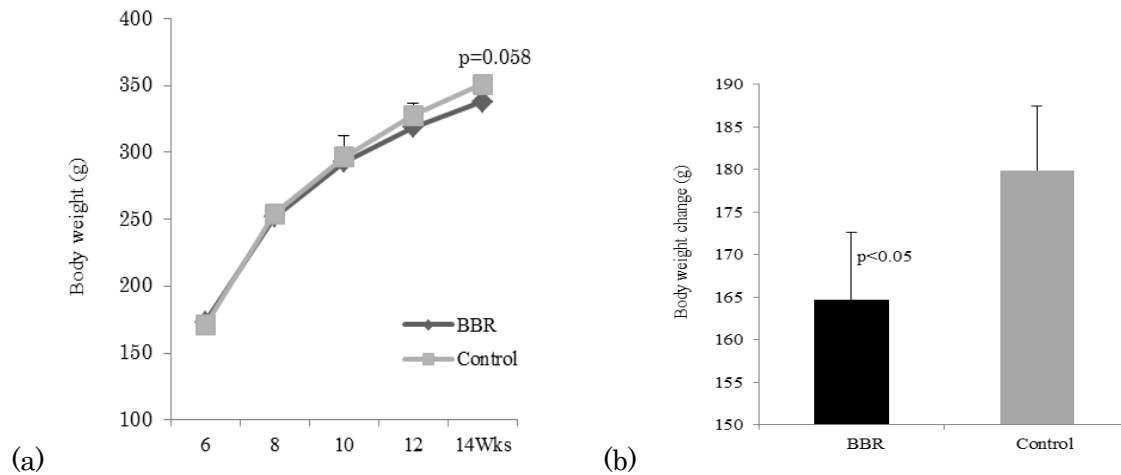


Figure 3. The body weight in BBR (a), and the body weight gain during the experiment (b). BBR: Berberine-treated SHR. Each bar and dot represents the mean  $\pm$  SD,  $n = 5$ .

Table 1 The development of blood pressure (mmHg) in berberine treated SHR

Age (weeks)	6	8	10	12	14
BBR (n=5)	178 $\pm$ 11	199 $\pm$ 16	209 $\pm$ 12	206 $\pm$ 9	216 $\pm$ 12
Control (n=5)	179 $\pm$ 10	194 $\pm$ 12	210 $\pm$ 13	209 $\pm$ 5	219 $\pm$ 8

BBR: Berberine treated SHR. Each value represents the mean  $\pm$  SD

ベルベリン(150mg/kg)投与 4 週目より体重の低下傾向が観察され、8 週目における体重増加量について有意差が認められたため、さらに各臓器の重量変化の観察が必要とされた。

### ベルベリンによる SHR の内臓脂肪組織への影響

採取した内臓脂肪組織は、副睾丸周囲脂肪(Epi)、後腹膜脂肪(Ret)、腸間膜脂肪(Mes)であり、また SHR において臓器障害の発症しやすい脳、心臓、腎臓重量を測定した。脳、心臓では差が認められなかったが、腎臓ではベルベリン投与により臓器重量は減少していた (Table 2)。

Table 2 Organ weight in berberine treated SHR

	Brain(g)	Heart(g)	Kidneys(g)
BBR (n=5)	1.90 $\pm$ 0.05	1.31 $\pm$ 0.09	2.43 $\pm$ 0.13*
Control (n=5)	1.93 $\pm$ 0.03	1.39 $\pm$ 0.02	2.57 $\pm$ 0.13

BBR: Berberine treated SHR, \* $p < 0.05$  from Control. Each value represents the mean  $\pm$  SD

内臓脂肪組織重量において Ret は、Control 群( $4.46 \pm 0.54$  g)に対して BBR 群( $3.57 \pm 0.59$  g)が有意に減少しており、Mes も同様に Control 群( $2.19 \pm 0.22$  g)に対して BBR 群( $1.80 \pm 0.28$  g)が有意に減少していた( $p < 0.05$ )。また Epi においても同じく減少傾向にあった(Fig. 4a)。それぞれの脂肪組織を Hematoxylin-Eosin 染色で観察した結果、Epi、Mes において BBR 群の脂肪組織は、Control 群と比較すると脂肪組織径が小さくなっていた。Ret でも同様な傾向にあった(Fig. 4b)。

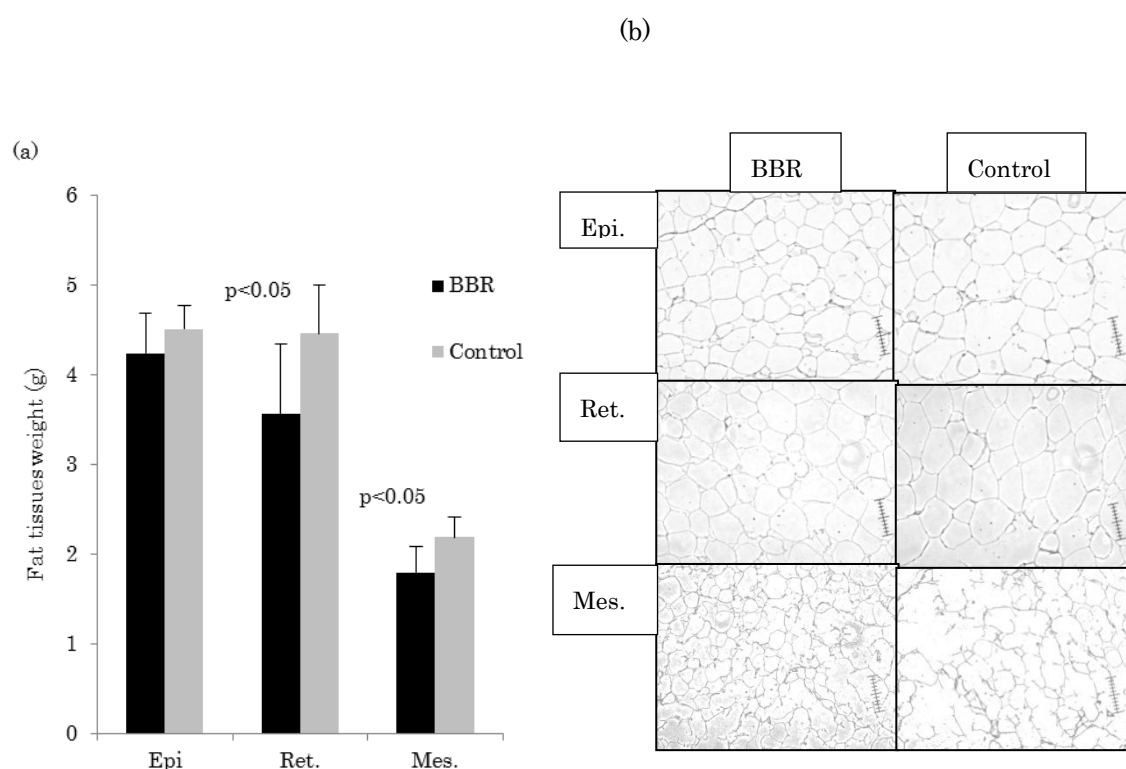


Figure 4. Effect of berberine on epididymal, retroperitoneal and mesenteric adipose tissues in berberine treated SHR. BBR: Berberine-treated SHR (a). Representative hematoxylin and eosin staining of epididymal, retroperitoneal and mesenteric adipose tissue histology after 8 weeks of BBR administration. Original magnification, x40. (b) Significant values were calculated between BBR and control. Epi.: Epididymal adipose tissue, Ret.:Retroperitoneal adipose tissue, Mes.: mesenteric adipose tissue.

### ベルベリン投与 SHR の腎機能改善効果

ベルベリン投与後 8 週間目に 24 時間尿をメタボリックケージにて採取した。尿量は両群とも有意差は認められなかった。正常血圧である WKY ラットでは 24 時間尿中アルブミンの排泄量は  $227.7 \pm 14.6$   $\mu\text{g/day}$  であるが、ベルベリン投与 SHR の BBR 群( $437.4 \pm 87.6$   $\mu\text{g/day}$ )は、Control 群( $713.5 \pm 136.3$   $\mu\text{g/day}$ )と比較して減少しており、尿中アルブミン排泄が有意に抑制され( $p < 0.01$ )、尿中タン

パク量も低下傾向にあった(Fig. 5)。

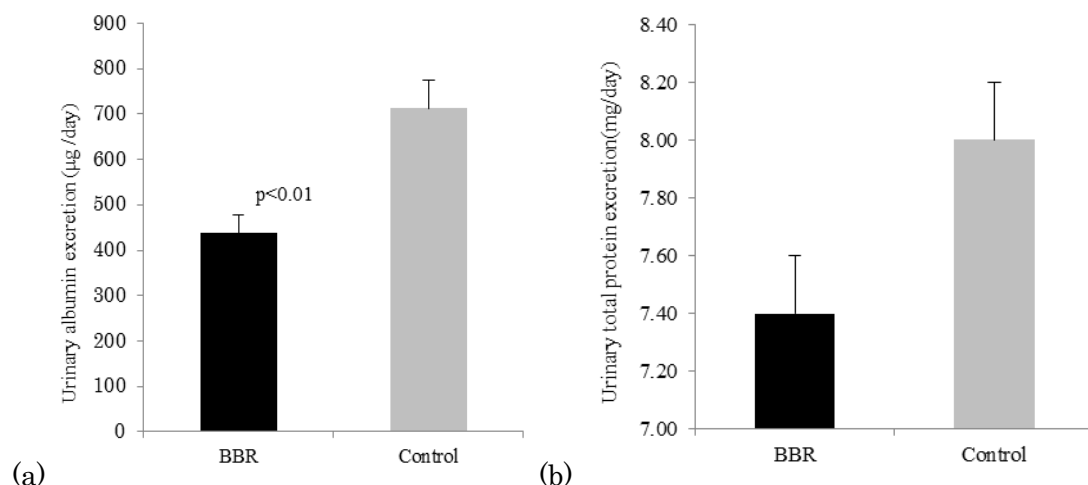


Figure 5. Twenty-four hour urinary albumin (a) and protein (b) excretion in BBR. BBR: Berberine-treated SHR. \* $p < 0.01$  from Control. Each bar represents the mean  $\pm$  SD, with  $n = 5$ .

#### ベルベリンによる SHR の酸化ストレスへの影響

酸化ストレスは The Diacron reactive oxygen metabolite test (d-ROM) を用いて評価した。d-ROM は生体内の活性酸素やフリーラジカルより生じた血中の酸化ストレスのマーカーであるヒドロペルオキシド濃度を呈色反応で計測し、生体内の酸化ストレス度の状態を総合的に評価するものである。単位は Carratelli units (U.CARR) として表される。結果を Fig. 6a に示すがベルベリン投与にて活性酸素種の減少傾向はあるが有意な減少は認められなかった。

8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OHdG)は DNA を構成する塩基の一つデオキシグアノシンの8位がヒドロキシル化された構造を持つDNA酸化損傷マーカーである<sup>14)</sup>。デオキシグアノシンは活性酸素による酸化を受けやすいため、現在最も広く用いられている酸化ストレスマーカーの一つであり、動物種を問わず尿を使って生体内酸化ストレスを評価できる。また SHR の亜系である SHRSP の尿中 8-OHdG が高く酸化ストレスの亢進が報告されているため<sup>15)</sup>本実験でも 24 時間尿を用いて 8-OHdG 量を測定した。結果はベルベリン投与により減少傾向であったが、個体差が大きく有意な減少が認められなかった(Fig. 6b)。

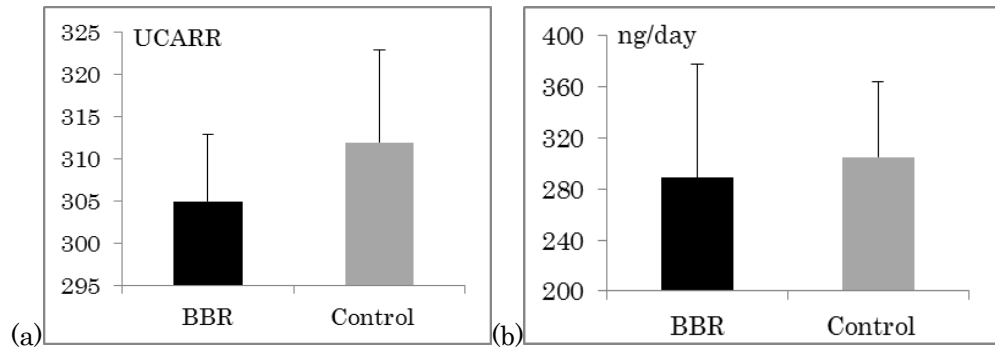


Figure 6. Effect of reactive oxygen species production in blood(a) and urine(b). BBR:berberine treated SHR. Each bar represents the mean  $\pm$  SD, with  $n = 5$ .

### 【小括】

SHR は加齢とともに腎障害を発症することが、報告されている<sup>16,17)</sup>。2015 年に Guo ら<sup>18)</sup>はベルベリン投与によりアンギオテンシンⅡが低下することによる降圧作用とともに腎障害の軽減作用を報告しており、腎障害の軽減作用を降圧作用がひとつの原因としている。我々の結果では、血圧の低下なしに腎障害の軽減作用が認められた。血圧低下作用が認められないことを補強する結果としてベルベリン投与で血圧上昇に伴う心重量の増加が認められなかったことから確認できる<sup>19)</sup>。この結果は、血圧以外の因子が関与している可能性を示している。

SHR の腎障害に酸化ストレスが関与している報告<sup>20,21)</sup>があり、本実験でも酸化ストレスについて検討した。ベルベリン投与では血中、尿中酸化ストレス指標の低下傾向はあるものの、有意差は認められなかった。

近年、高脂肪食投与の SHR において、内臓脂肪増加に伴い、活性酸素の増加、アディポネクチンの低下、さらに腎障害が亢進するとの報告がある<sup>22)</sup>。そこで、本研究において、腎障害軽減が明らかとなったベルベリン投与による内臓脂肪組織への影響を検討した。本研究の結果では、ベルベリン投与により体重上昇が抑制され、内臓脂肪である後腹膜脂肪や腸間膜脂肪の減少が認められた。本研究における体重減少は、摂食の低下や肝機能低下によるベルベリンの副作用によるものではないことが示唆された。

ラットにおけるベルベリン投与による体重減少の報告は各種あり一貫していない。高脂肪食投与ラットでは体重減少が認められているが<sup>23,24)</sup>、ストレスプロゾトシン処置糖尿病ラットでは体重減少が認められていない<sup>13,25)</sup>。また、SHR

に関していえばベルベリンによる高血圧、内皮由来弛緩反応については報告があるが<sup>26)</sup>、体重への関与や脂肪細胞に関しての報告はない。本研究において SHR を用いてベルベリン(150mg/kg)の 8 週間経口投与により体重増加が抑制された。内臓脂肪である副睾丸周囲脂肪、後腹膜脂肪、腸間膜脂肪の中で後腹膜脂肪、腸間膜脂肪がより大きい減少を示し、体重増加抑制作用の原因の一つであると考察された。ただ、体重抑制作用は今回測定していないが皮下脂肪への影響も推定された。

## 第二章 3T3-L1 細胞の脂肪細胞分化過程におけるベルベリンの影響

### 【目的】

ベルベリンによる脂肪滴の抑制効果について検討した。また、ベルベリンの脂肪分化抑制作用を補完する目的でアディポカインと呼ばれるレジスチンおよびレプチン mRNA 発現量に与える影響について検討した。さらに、肥満では酸化ストレスが亢進し、脂肪細胞からも活性酸素種が産生されることから、ベルベリン添加による活性酸素種への影響についても検討した。

3T3-L1 細胞の分化は前駆脂肪細胞の増殖過程、前駆脂肪細胞が脂肪細胞へと分化する過程、脂肪細胞に脂肪が蓄積して成熟する過程からなる。分化を制御する重要な転写因子は、CCAAT-enhancer-binding proteins (C/EBP)ファミリーと peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)ファミリーであることが明らかとなっている<sup>28, 29)</sup>。分化中期に発現する C/EBP  $\beta$ 、分化後期に発現する C/EBP  $\alpha$ 、C/EBP  $\beta$ 、PPAR  $\gamma$  や成熟脂肪細胞に発現する fatty acid binding protein (aP2)がある。PPAR  $\gamma$  や C/EBP  $\alpha$  は、脂肪蓄積に関わる脂肪酸合成酵素 fatty acid synthase (FAS)などの発現を促し、脂肪細胞の肥大化をもたらすが、これらの転写因子についてベルベリン添加における変化を検討した。

### 【方法】

#### 3T3-L1 細胞におけるベルベリンの脂肪細胞分化抑制作用

ベルベリン(Berberine chloride form, SIGMA-ALDRICH, Japan,)は、DMSO に 37℃の水浴中で溶解した。Kumar らの報告<sup>27)</sup>により細胞毒性の認められな



い濃度である 5、10 及び 20  $\mu\text{M}$  を使用した。Fig. 7 に示すように前駆脂肪細胞 3T3-L1 は、Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) Low-Glucose の培養液中に 10%ウシ胎児血清(FBS)、100 U/mL ペニシリンと 100 $\mu\text{g/mL}$  ストレプトマイシンを添加し、37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  条件下で培養した。脂肪細胞への分化誘導は、細胞が confluent になった 2 日後に 10%FBS/DMEM(High-Glucose)に 500  $\mu\text{M}$  IBMX、1  $\mu\text{M}$  DEX、5 $\mu\text{g/mL}$  インスリンを加えた分化誘導培地に交換を行い、培養した(Day 0)。その 3 日後、5  $\mu\text{g/mL}$  インスリンを加えた 10%FBS/DMEM(High-Glucose) にベルベリン 5、10、20  $\mu\text{M}$  をそれぞれ添加した(Day 3)。さらにその 2 日後、10%FBS/DMEM (High-Glucose)に上記に記載した濃度のベルベリンを添加し、2 日間培養を行った(Day5)。その後 Day5 と同様の成分の培養液に交換して 3 日間培養を行い、細胞を回収した(Day 8)。

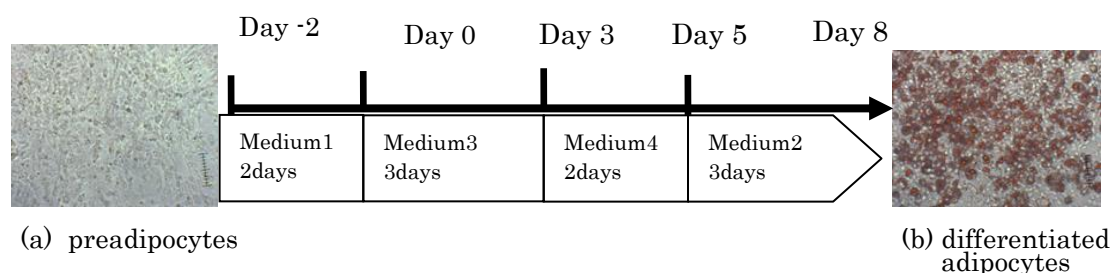


Figure 7. Photomicrograph showing change in morphology between preadipocyte (a) and differentiated 3T3-L1 adipocytes (b) (x 20 magnification, Oil red staining). Medium 1: Low glucose DMEM (1000 mg D-glucose/liter), 10% FBS, 100 U/mL penicillin, 100  $\mu\text{g/mL}$  streptomycin. Medium 2: High glucose DMEM, 10% FBS, 100 U/mL penicillin, 100  $\mu\text{g/mL}$  streptomycin. Medium 3: High glucose DMEM, 10% FBS, 100 U/mL penicillin, 100  $\mu\text{g/mL}$  streptomycin, 500  $\mu\text{M}$  IBMX, 1 $\mu\text{M}$  DEX, and 5  $\mu\text{g/mL}$  insulin. Medium 4: High glucose DMEM, 10% FBS, 100 U/mL penicillin, 100  $\mu\text{g/mL}$  streptomycin, and 5  $\mu\text{g/mL}$  insulin.

培養 Day8 に Oil Red-O 染色液を用いて脂肪滴の染色を行った。Day8 の細胞を PBS(-)で DMEM の色が無くなるまで洗浄した後、10%ホルマリンで固定した。その後 Oil Red-O を加えて脂肪滴の染色を行い、画像にて各群の比較を行った。

### 3T3-L1 脂肪細胞におけるベルベリンの活性酸素抑制作用

活性酸素種の評価には Nitro Blue Tetrazolium (NBT) 法を用いた。NBT は、活性酸素種によって還元されることで青色を呈するため、Day8 の分化した脂肪細胞に NBT を加えて反応後、回収した細胞を超音波にて破碎し、50%酢酸溶液

に懸濁させ、その吸光度を測定することで酸化ストレスの評価を行った。

### 3T3-L1 脂肪細胞におけるベルベリンのアディポカイン及び転写因子抑制作用

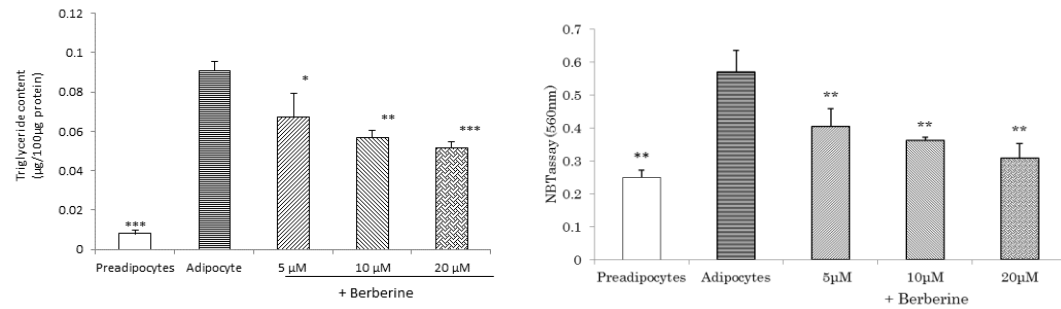
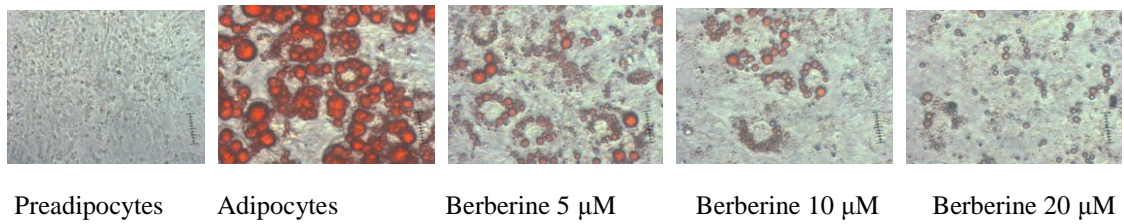
分化誘導後 Day8 の 3T3-L1 細胞から QIAGEN RNeasy Mini Kit を使用して Total RNA を抽出後、2 $\mu$ g を用いて High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit にて cDNA を合成し試料とした。試料を Polymerase chain reaction (PCR) にて増幅を行った。PCR 産物は、0.5  $\mu$ g/ml エチジウムブロマイドを加えた 1.5%アガロースゲルにて電気泳動し、UV にて検出した。レプチンおよびレジスチンの遺伝子発現量は、Sion-image にて数値化し、得た結果は glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) で標準化した。

#### 【結果】

前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化誘導過程においてベルベリンを添加した脂肪細胞は、ベルベリンの濃度依存的に脂肪滴が抑制された(Fig. 8a)。ベルベリン添加により濃度依存的に染色された脂肪滴は少なくなり、TG においてもベルベリンの濃度に従って含量は低下していた(Fig. 8b)。ベルベリン添加により活性酸素種も濃度依存的に低下していた(Fig. 8c)。ベルベリン投与により、抗酸化酵素である glutathione peroxidase (GPx)の mRNA 発現および活性は有意に上昇した(Fig. 9)。また、アディポカインであるレジスチンおよびレプチンの発現はともにベルベリン濃度依存的に低下した(Fig. 10)。

Day8 で回収した 3T3-L1 脂肪細胞を同様に脂肪細胞の分化マーカーや脂肪細胞に発現する C/EBP  $\alpha$ 、C/EBP  $\beta$ 、PPAR  $\gamma$ 、aP2、FAS に対してベルベリンの影響を検討したが、ベルベリンを添加した脂肪細胞では、C/EBP  $\alpha$ 、C/EBP  $\beta$ 、PPAR  $\gamma$ 、aP2、FAS のそれぞれの遺伝子発現量がベルベリン濃度依存的に減少していた(Fig. 11)。

(a)

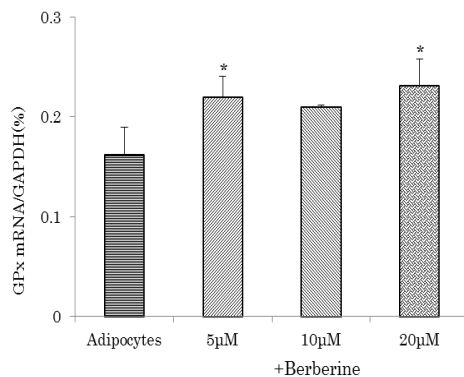


(b)

(c)

Figure 8. Berberine inhibited 3T3-L1 preadipocyte differentiation into adipocytes and suppressed intercellular triglyceride accumulation. Berberine treatment inhibited adipocyte differentiation markedly. When compared with mature adipocytes, droplets observed in the cells were markedly fewer and smaller after berberine treatment (a). Triglyceride content was measured by an ultraviolet spectrophotometric method (b). Reactive oxygen species production was detected by NBT assay. (c) Each bar represents the mean  $\pm$  SD, with  $n = 3$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs. adipocyte group, using one-way ANOVA, followed by the post-hoc test.

(a)



(b)

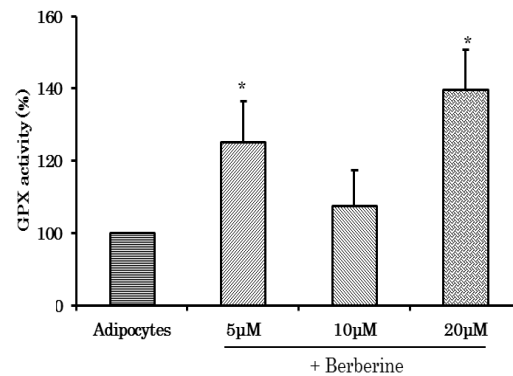


Figure 9. Effect of berberine on GPx in 3T3-L1 adipocytes. (a) GPx gene expressions were measured by RT-PCR using GAPDH as an internal control. Each bar represents the mean  $\pm$  SEM,  $n = 3$ . (b) GPx activity. Each bar represents the mean  $\pm$  SD,  $n = 4-5$ . \* $P < 0.05$  vs. adipocyte group, using one-way ANOVA followed by the post-hoc test.

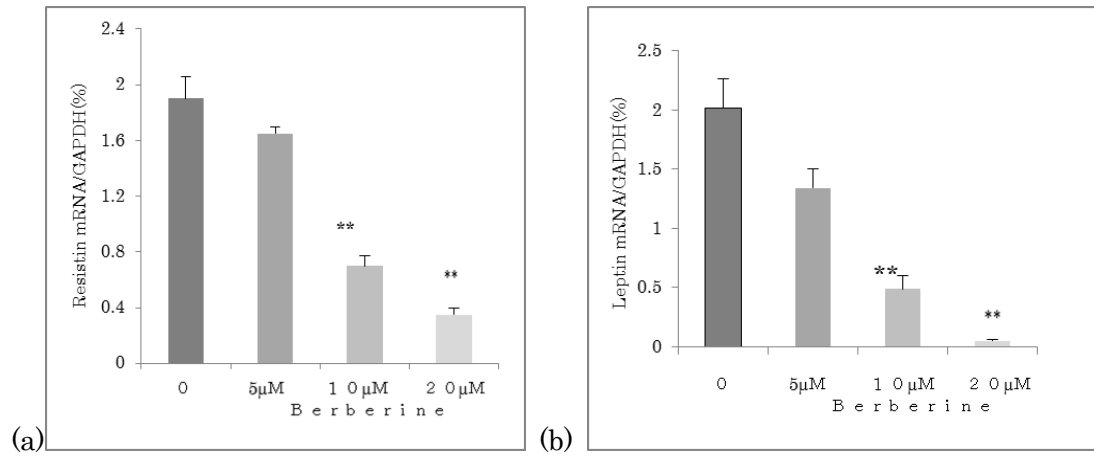


Figure 10. Effect of Berberine on the expressions of resistin(a) and leptin(b) in 3T3-L1 adipocytes. Each bar represents the mean  $\pm$  SD, with  $n = 3$ . \*\* $P < 0.01$  vs. adipocyte group, using one-way ANOVA, followed by the post-hoc test.

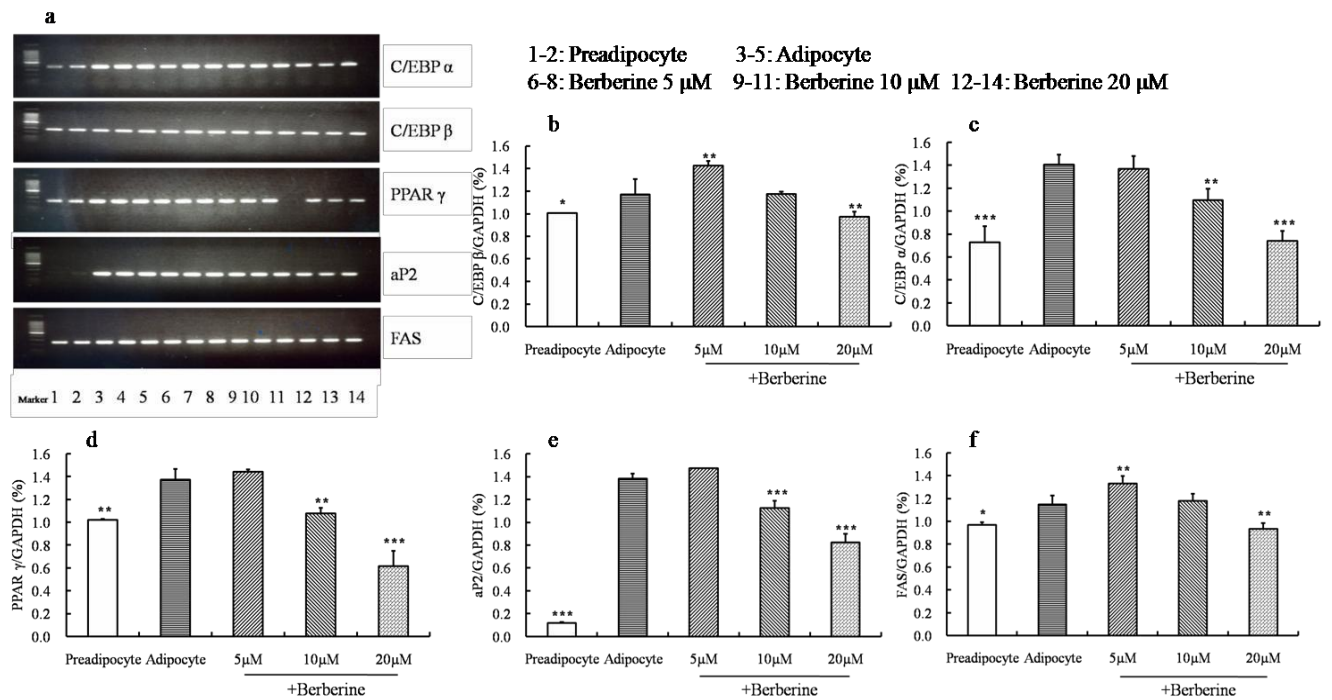


Figure 11. The effect of berberine on gene expression of transcription factors and PPAR target genes during 3T3-L1 cell differentiation. Transcription factors including C/EBP $\beta$ (b), C/EBP $\alpha$ (c), and PPAR  $\gamma$  (d), and PPAR target genes, such as adipocyte-specific aP2(e) and FAS(f) mRNA gene expression, were tested by the RT-PCR method using GAPDH as an internal control. Each bar represents the mean  $\pm$  SEM, with  $n=3$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs. adipocyte group.

## 【小括】

ベルベリン濃度 5 $\mu$ M より脂肪滴の減少、TG の低下が認められた。また、活性酸素種の産生も濃度依存的に低下したことを明らかにした。ベルベリンは、脂肪細胞の分化マーカーである C/EBP  $\alpha$ 、C/EBP  $\beta$ 、PPAR  $\gamma$  及び脂肪細胞特異的に発現する遺伝子である aP2、FAS の発現を抑制することにより、脂肪細胞への分化を抑制することが示唆された。

ベルベリン添加による活性酸素種の抑制作用が認められ、機序として抗酸化酵素である GPx の増加によることが示唆された。また、アディポカインであるレジスチンおよびレプチン mRNA 発現量も低下しており、ベルベリンの濃度依存的に脂肪細胞分化抑制作用が確認された。レジスチンは、3T3-L1 細胞では C/EBPs と PPAR  $\gamma$  を介して産生され<sup>28,29)</sup>、また、D'Aplito<sup>30)</sup>らは 3T3-L1 細胞において活性酸素種の増加とともにレジスチンの発現増加を報告しており、本研究の結果でもベルベリン添加により分化抑制および活性酸素種の低下にともないレジスチンが発現低下していると考察された。また、レプチンは脂肪細胞から発現されることから、ベルベリン添加による脂肪細胞の減少により、レプチン産生が低下したものと考察された。

## 【総括】

SHRにおいてベルベリンの8週間経口投与により血圧の低下の影響なしに腎障害の軽減作用が認められたことを新規に示し、血圧低下以外の因子がベルベリンによる腎障害軽減に関与している可能性を示した。

さらに、ベルベリン投与 SHR では体重増加が抑制され、後腹膜脂肪、腸間膜脂肪のより大きい減少が関与していることが新たに示唆され、また、ベルベリン添加により 3T3-L1 細胞の脂肪滴、TG がベルベリン濃度依存的に減少することが確認でき、脂肪細胞特異的に発現する遺伝子の発現抑制の関与が示唆された。また、ベルベリン添加により 3T3-L1 脂肪細胞における活性酸素種の濃度依存的減少が新規に認められ、酸化ストレス改善作用は抗酸化酵素である GPx の上昇が原因であることが推察された。

近年 Zhang ら<sup>31)</sup>は肥満マウスを用いて、ベルベリンにエネルギー消費増加や褐色脂肪の活性化による体重増加制限を報告しており、さらに、Knight<sup>32)</sup>らは、SHR において高脂肪食によって腎障害の亢進が認められたが、抗酸化酵素誘導剤により、酸化ストレス軽減及び腎障害を軽減したと報告している。今後、酸化ストレス改善作用を有するベルベリンを用いた脂肪組織の減少と腎臓障害の関与について、さらに詳細に検討するため肥満モデル動物を用いて調べる必要がある。

以上の結果からベルベリンにはメタボリックシンドロームにおける脂肪組織減少作用及び臓器障害抑制作用の可能性が示唆された。

## 【参考文献】

- [1] Ikram M. Berberis. *Planta Medica*, **28**, 353-358. (1975)
- [2] Zhou J, Zhou S, Tang J, Zhang K, Guang L, Huang Y, Xu Y, Ying Y, Zhang L, Li D. *Eur J Pharmacol*, **606**, 262-268. (2009)
- [3] Dong SF, Hong Y, Liu M, Hao YZ, Yu HS, Liu Y, Sun JN. *Eur J Pharmacol*, **660**, 368- 374. (2011)
- [4] Cicero AF, Tartagni E, Ertek S. *Curr Vasc Pharmacol*. **12**,565-571. (2014)
- [5] Hultström M. *Journal of Hypertension*. **30**, 1087-1091.(2012)
- [6] Lazaro A, Gallego-Delgado J, Justo P, Esteban V, Osende J, Mezzano S, Ortiz A, Egido J. *Antioxidance and Redox Signaling*, **7**, 1285-1293. (2005)
- [7] Dong S, Yasui N, Negishi H ,Kishimoto A, Sun JN, Ikeda K. *Natural Product Communications*, **10**, 895-897. (2015)
- [8] Hultström M. *Journal of Hypertension*. **30**, 1087-1091.(2012)
- [9] Lazaro A, Gallego-Delgado J, Justo P, Esteban V, Osende J, Mezzano S, Ortiz A, Egido J. *Antioxidance and Redox Signaling*, **7**, 1285-1293. (2005)
- [10] Clayton L, Hiley C, Davies S, D'Souza R, Jones P, Strange R, Aber G. *Free Radic Res Commun*. **17**(4), 271-278. (1992)
- [11] Alberti A, Bolognini L, Macciantelli D, Carratelli M. Res, *Chem, Intermed*. **26**(3), 253-267. (2000)
- [12] Wan X, Chen X, Liu L, Zhao Y, Hung WJ, Zhang Q, Miao GG, Chen W, Xie HG, Cao CC. *PLoS One*. **8**. e59794. (2013)
- [13] Chen Y, Wang Y, Zhang J, Sun C, Lopez A. *ISRN Endocrinology*, 519371. (2011)
- [14] Kasai H, Hayami H, Yamaizumi Z, Saito H, Nishimura S. *Nucleic Acids Res*, **12**(4), 2127-2136. (1984)
- [15] Negishi H, Njelekela M, Ikeda K, Sagara M, Noguchi T, Kuga S, Kanda T, Liu L, Nara Y, Tagami M, Yamori Y. *Hypertens Res*. **23**(3),285-289. (2000)
- [16] Hultström M. *Journal of Hypertension*. **30**, 1087-1091.(2012)
- [17] Lazaro A, Gallego-Delgado J, Justo P, Esteban V, Osende J, Mezzano S, Ortiz A, Egido J. *Antioxidance and Redox Signaling*, **7**, 1285-1293. (2005)
- [18]] Guo Z, Sun H, Zhang H, Zhang Y. *Clinical Experimental Hypertension*. **13**, 1-8. (2015)
- [19] Kshimoto A, Dong S, Negishi H, Yasui N, Sun JN, Ikeda K. *Natural Product Communications*, **10**(9) 1543-1546. (2015)
- [20] Hultström M. *Journal of Hypertension*. **30**, 1087-1091. (2012)
- [21] Touyz RM. *Hypertension*. **44**(3), 248-252. (2004)
- [22] Zhang X, Zhao Y, Zhang M, Pang X, Xu J, Kang C, Li M, Zhang C, Zhang Z, Zhang Y, Li X, Ning G, Zhao L. *PLoS One*. **7**, e42529. (2012)
- [23] Teodoro JS, Duarte FV, Gomes AP, Varela AT, Peixoto FM, Rolo AP, Palmeira CM.

- Mitochondrion*, 13, 637-646. (2013)
- [24] Xie X, Chang X, Chen L, Huang K, Huang J, Wang S, Shen X, Liu P, Huang H. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **381**, 56-65. (2013)
  - [25] Liu L, Liu J, Huang Z, Yu X, Zhang X, Dou D, Huang Y. *Biochemical Biophysical Research Communications*, **458**,796-801. (2015)
  - [26] Touyz RM. *Hypertension*. **44**(3), 248-252. (2004)
  - [27] Kumar et al. *Ther Adv Endocrinol Metab* 2(3) 103-114.(2011)
  - [28] Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. *Cell*, **79**, 1147-1156. (1994)
  - [29] Yeh WC, Cao Z, Classon M, McKnight SL. *Genes*, **9**,168-181. (1995)
  - [30] D'Apolito M, Du X, Zong H, Catucci A, Maiuri L, Trivisano T, Pettoello-Mantovani M, Campanozzi A, Raia V, Pessin JE, Brownlee M, Giardino I. *J Clin Invest*, **120**,203-13. (2010)
  - [31] Zhang Z, Zhang H, Li B, Meng X, Wang J, Zhang Y, Yao S, Ma Q, Jin L, Yang J, Wang W, Ning G. *Nat Commun*. Nov 25; 5:5493. (2014)
  - [32] Knight S, Yuan J, Roy S,Iming J. *Am J Physiol Renal Physiol*. **298**, F86-F94.( 2010)