

【原著】

糖尿病誘発マウスにおける抗コリンエステラーゼ薬の作用

徐 萍^{1,2}、鈴木忠彦¹、永井三紀子¹、沈 明浩²、李 大軍²、小林晴男¹¹岩手大学動物医科学系、²中国吉林農業大学食品工程学院

(受付：平成19年10月2日)

(受理：平成19年11月6日)

要 旨

病態における薬理作用を調べるために、ストレプトゾトシン誘発糖尿病マウス(糖尿病群)における三種の抗コリンエステラーゼ(ChE)薬、DDVP(dimethyl dichlorovinyl phosphate、殺虫薬)、プロポクスル(propoxur、殺虫薬)およびドネペジル(donepezil、抗認知症薬)の作用について検討した。ストレプトゾトシン100 mg/kg/dayを2-4回投与することによって血糖値は約300 mg/dlを示した。糖尿病群は非糖尿病群と比較して飲水量が多く、体重増が少なく、また3脳部位(線条体、海馬、および大脳皮質)の Na^+ , K^+ -ATPase活性は低かった。DDVP 5 mg/kg、propoxur 10 mg/kg、あるいはドネペジル 5 mg/kgの投与によって認められる振戦および流涎の程度はいずれも糖尿病群で弱かった。DDVP、propoxur、あるいはドネペジルの投与後180分までの3脳部位におけるアセチルコリンエステラーゼ活性の変化は、糖尿病群と非糖尿病群の間で顕著な差は認められなかった。以上より、糖尿病態では脳の Na^+ , K^+ -ATPase活性が低下すること、そして抗ChE薬の薬理作用は変化する可能性が示唆された。

キーワード： アセチルコリンエステラーゼ活性、抗コリンエステラーゼ薬、ドネペジル、ストレプトゾトシン、糖尿病

緒 言

薬は病態を健常状態に戻す目的で使用される。薬の作用は健常動物と病態動物で異なる場合がある。多くの薬の作用は健常動物を用いて得られており、病態動物を用いた情報も重要である。糖尿病はインスリンの作用が低下して、グルコースの利用の低下、血糖値の上昇などを引き起こす慢性病であり、中枢神経系も障害を受けることがある。アセチルコリン(ACh)は中枢および末梢神経系における代表的神経伝達物質の一つであり、両神経系において非常に重要な機能を果たしている。抗コリンエステラーゼ(ChE)薬はAChの分解酵素アセチルコリンエステラーゼ(AChE)活性を阻害する薬物で、抗認知症薬や殺虫薬として広く用いられている¹⁾。本研究では、糖尿病態に対する抗

ChE薬の影響を調べるために、マウスにストレプトゾトシンを投与して糖尿病を発現させ、3種の抗ChE薬、有機リン薬DDVP(ジメチルジクロロビニルリン酸)、カーバメイト薬propoxur、および抗認知症薬ドネペジルの作用を検討した。

材料および方法

動物は8-9週齢のICR系雌マウスを用いた。動物の飼育および取り扱いには岩手大学動物実験委員会認可のもとに行った。

糖尿病の誘発は、ストレプトゾトシン100 mg/kgを腹腔内に0および2日目に投与した。血糖値が300 mg/dl以下の時は6あるいは8日目に追加投与した。ストレプトゾトシン投与群を糖尿病群、生理食塩水投与(対照)群を非糖

糖尿病群とした。血糖値は、尾静脈穿刺血を材料とし、血糖測定器（ニプロフリースタイル、ニプロ（株））を用いて測定した。ストレプトゾトシン初回投与（Day0）後11日目にAChE活性および Na^+, K^+ -ATPase活性の測定、および抗コリンエステラーゼ薬の投与を行った。抗コリンエステラーゼ薬は、DDVP 5 mg/kg、propoxur 10 mg/kg、あるいは donepezil・HCl 5 mg/kg を背部皮下に投与した。

AChE活性は Ellman et al.²⁾ および Na^+, K^+ -ATPase活性は東ら³⁾の方法を用いて測定した。

結果

ストレプトゾトシンの投与によって血糖値

は上昇（Fig. 1A）、体重増は抑制（Fig. 1B）、および飲水量は増加（Fig. 1C）したが、摂食量は非糖尿病群と比較して差はなく、尿排泄量は糖尿病群で顕著に多かった（共にデータは示していない）。

非糖尿病群と比較して糖尿病群の3脳部位（線条体、海馬、および大脳皮質（以下皮質と略す））における Na^+, K^+ -ATPase 活性はいずれも有意に低値を示したが（Fig. 2A）、AChE活性はいずれの脳部位も両群の間に有意差は認められなかった（Fig. 2B）。

Table 1 に示すように、DDVP の投与によって、糖尿病群では非糖尿病群と比較して、振戦の発現はやや早く、振戦および流涎の程度は軽

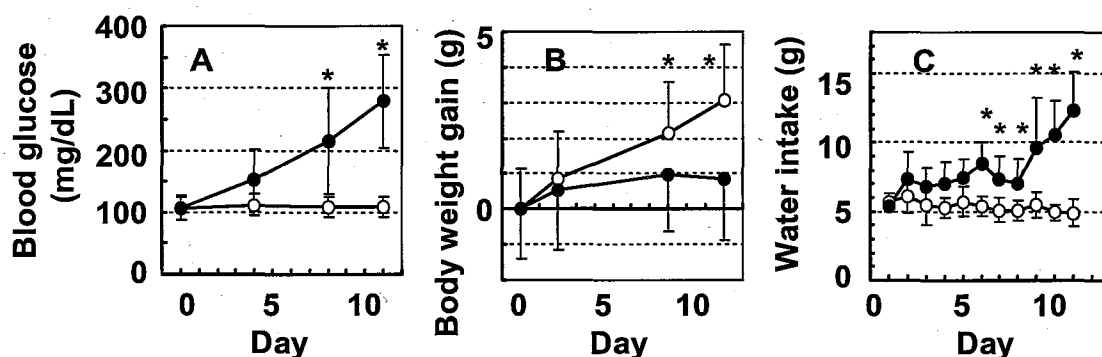


Fig. 1. Blood glucose, body weight gain and water intake in diabetic and nondiabetic mice.

Streptozotocin was injected at Day 0 and 2, and added at Day 6 or 8 when the level of blood glucose was less than 300 mg/dL. Mean \pm SD (n=70). * P <0.05

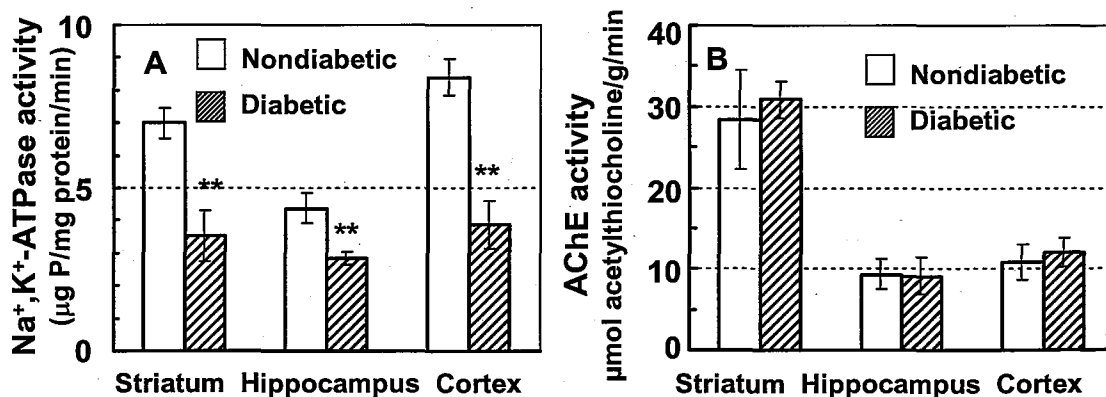


Fig. 2. Brain regional Na^+, K^+ -ATPase and acetylcholinesterase (AChE) activities in diabetic and nondiabetic mice. Mean \pm SD (n=5). ** P <0.01

Table 1. Comparison of signs after injection of DDVP, propoxur and donepezil in diabetic and nondiabetic mice

Signs	DDVP		Propoxur		Donepezil	
	Non	Diabetic	Non	Diabetic	Non	Diabetic
Tremor (sec)	333 ± 81	303 ± 86	160 ± 52	153 ± 50	112 ± 15	114 ± 30
Tremor	+++	+~++	+++	+~++	+++	+~++
Salivation	+++	+	+++	+	+++	+
Pile election	-	+	-	+	-	+
Disappear (min)	50	60	40	60	60	60

Non: Nondiabetic Manifestation: +++> ++> +> - = 0 Mean ± SD (n=5)

く、回復は遅かった。Propoxurの投与によって、非糖尿病群と比較して糖尿病群では、振戦および流涎の程度は軽く、回復は遅かった。ドネペジルの投与によって、糖尿病群では非糖尿病群と比較して、振戦および流涎の程度は軽かった。いずれの抗ChE薬を投与しても、立毛は糖尿病群でのみ観察された。

抗ChE薬を投与後3時間まで経時的に脳部位のAChE活性を測定した (Fig. 3)。DDVPの投与によって線条体、海馬、および皮質のAChE活性は持続的に阻害されたが、糖尿病群と非糖尿病群の間に有意差は認められなかった (Fig. 3 左列)。Propoxurの投与によって線条体、海馬、および皮質のAChE活性は一過性に阻害されたが、糖尿病群と非糖尿病群の間に有意差は認められなかった (Fig. 3 中列)。ドネペジルの投与によって線条体、海馬、および皮質のAChE活性は阻害されたが、糖尿病群と非糖尿病群の間に有意差は認められなかった (Fig. 3 右列)。

考 察

ストレプトゾトシンの投与によって血糖値の上昇、飲水量の増加、および体重増の抑制が認められた。ストレプトゾトシンはすい臓のランゲルハンス島のB細胞を障害することが知られており⁴⁾、インスリン分泌が抑制されて血糖値が上昇して血液の浸透圧が増し、その結果尿排泄の促進、それに伴う飲水量の増加が起こ

ったと考えられる。ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット (誘発糖尿病ラット) の脳部位でNa⁺,K⁺-ATPase活性が低下することが報告されているが⁵⁾、本研究で、マウスの脳部位でもNa⁺,K⁺-ATPase活性が低下することが初めて明らかになった。一方、脳部位のAChE活性はほとんど変化しないことが明らかとなった。ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットのAChE活性は、全脳では変化しないという報告⁶⁾と皮質で約80%増加したという報告⁷⁾がある。しかし、後者の著者はAChE活性が増加した機序について明言していない。彼らのラットの血糖値は約590mg/dLであった。

3脳部位のAChE活性に対して、不可逆的ChE薬DDVPは持続的な阻害作用を、可逆的抗ChE薬propoxurは一過性阻害作用を、そして抗認知症薬ドネペジルはやや持続的な阻害作用を示したが、AChE活性は糖尿病群と非糖尿病群の間で顕著な差は認められないことがわかった。有機リン剤ジアジノンの投与は非糖尿病群には影響しないが、誘発糖尿病ラットの全脳AChE活性が低下したと報告されている⁶⁾。糖尿病ラットでは肝臓代謝系が促進されてジアジノンがAChE活性阻害型に活性化されたためという。DDVPはもともと活型型であるためこのような結果にならなかったと考えられる。

抗ChE薬による振戦の発現は、中枢コリン作動性神経および神経筋接合部にAChが蓄積

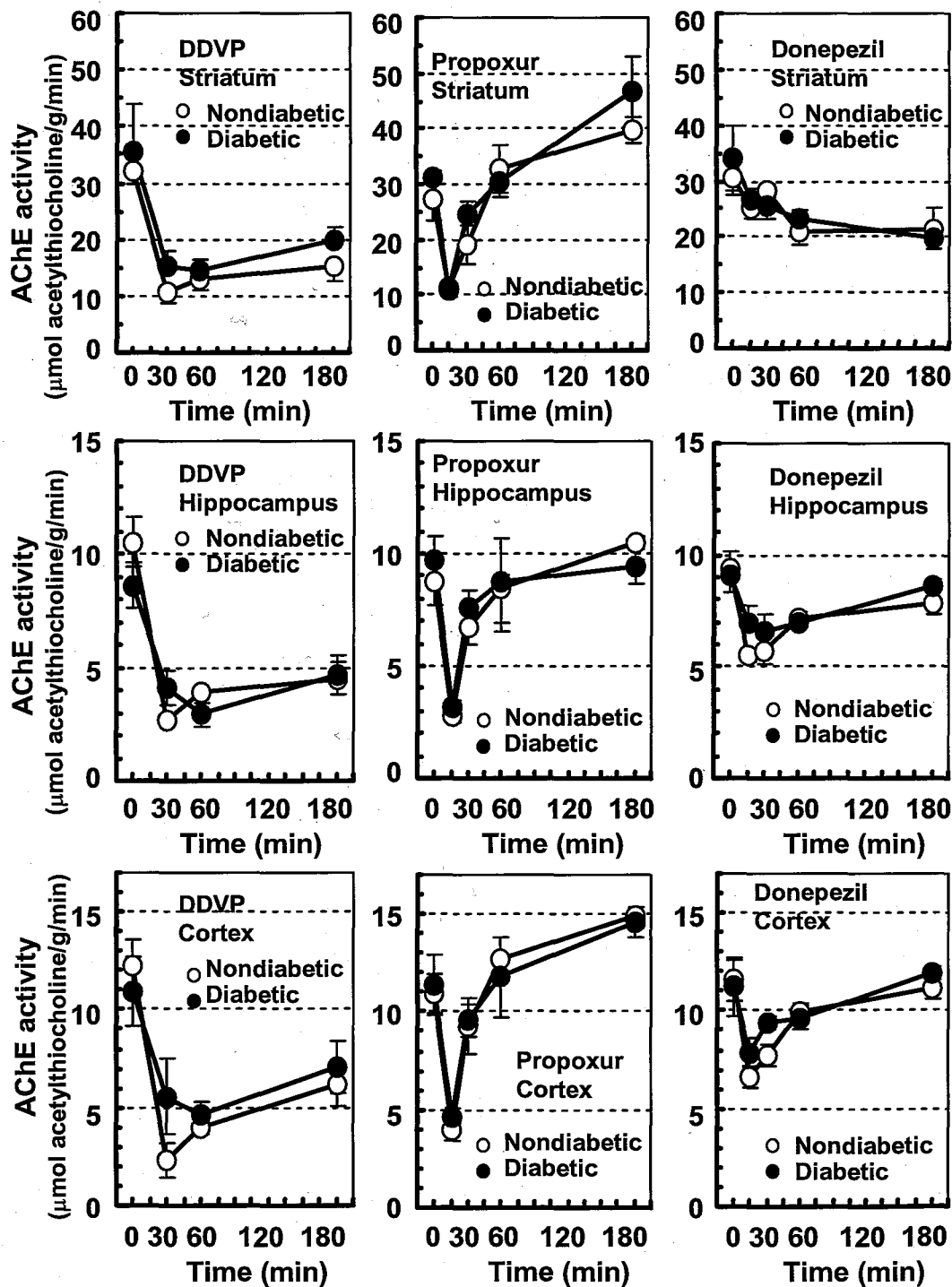


Fig. 3. Effect of DDVP, propoxur and donepezil on AChE activity in brain regions of diabetic and nondiabetic mice. Mean \pm SD (n=5).

したことによる¹⁾。振戦の程度が糖尿病群で軽度であった理由は明らかでないが、糖の利用低下は筋収縮性の減少そして Na^+, K^+ -ATPase 活性の低下は神経や筋の興奮性の減少を起し、振戦程度の軽減に反映したのではないかと考

えられる。抗 ChE 薬による流涎の発現は、蓄積 ACh が中枢性あるいは唾液腺のムスカリン ACh 受容体を興奮させることによって起こる。流涎の程度が糖尿病群で軽度であった理由として、本群は渇水の状態にあるために唾液分泌

が非糖尿病群より少なかったと考えられる。糖尿病態では、脳の Na^+, K^+ -ATPaseは低下するが、AChE活性は変化しないことが示された。また、糖尿病態における3種の抗ChE薬の作用は、症状的には軽減するが、脳のAChE活性阻害程度は変化しないことが明らかとなった。

謝 辞

Summaryを添削いただいたテキサス大学El Paso校のDr. Donald E. Moss、並びに塩酸ドネペジルをご提供いただいたエーザイ株式会社に謝意を表す。

文 献

- 1) Taylor P: Anticholinesterase agents. In: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11th Edition. Brunton LL, Lazo JS, et al. (Eds.), McGraw-Hill, New York, 201-216 2006
- 2) Ellman GL, Courtney KD, et al.: A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7: 88-95 1961
- 3) 東 尚、渡部幸明・他: ラット肝保存および移植再灌流時の肝組織 Na^+, K^+ -ATPase 活性の変化. *移植* 29: 363-368 1994
- 4) Wen Z-M: Influence of different dosages and injecting times of streptozotocin on islets of diabetic rats. *Clin J Pharmacol Ther* 9: 1128-1133 2004.
- 5) Frazon R, Chiarani F, et al.: Dietary soy prevents brain Na^+, K^+ -ATPase reduction in streptozotocin diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract* 69: 107-112 2005
- 6) Ueyama J, Wang D, et al.: Toxicity of diazinon and its metabolites increases in diabetic rats. *Toxicol Lett* 170: 229-237 2007
- 7) Kuhad K and Chopra K: Curcumin attenuates diabetic encephalopathy in rats: Behavioral and biochemical evidences. *Eur J Pharmacol*, in press, 2007

連絡先: 小林晴男
岩手県岩手郡滝沢村鶴飼字向新田7-272 (〒020-0172)
E-mail: yhkoba@ictnet.ne.jp

Effects of Anticholinesterases in Induced Diabetic Mice

Ping XU^{1,2}, Tadahiko SUZUKI¹, Mikiko NAGAI¹,
Minghao SHEN², Dajun LI², Haruo KOBAYASHI¹

¹ Laboratory of Veterinary Pharmacology, Iwate University

² Food Engineering College, Jilin Agricultural University

Summary

In order to investigate pharmacological effects of drugs in pathological states, the effects of three anticholinesterase (antiChE) agents, DDVP (insecticide), propoxur (insecticide), and donepezil (antidementia drug) were examined in streptozotocin-induced diabetic mice. Streptozotocin (100 mg/kg, i.p.) was given until blood glucose reached about 300 mg/dL or more (2 to 4 times). Blood glucose and Na⁺,K⁺-ATPase activity were measured to assess the diabetic state. The diabetic group had more water intake but less body weight gain and lower Na⁺,K⁺-ATPase activity in 3 brain regions (striatum, hippocampus, and cerebral cortex) than the nondiabetic group. Tremor and salivation produced by DDVP (5 mg/kg, s.c.), propoxur (10 mg/kg, s.c.), and donepezil 5 mg/kg, s.c.) were less intense in the diabetic group than the nondiabetic controls. No significant difference was found in the changes of AChE activity in the three brain regions up to 180 min after administration of DDVP, propoxur, or donepezil between the diabetic and nondiabetic groups. In summary, brain Na⁺,K⁺-ATPase activity may be reduced and pharmacological effects of antiChEs may be changed in a diabetic state.

Key words: acetylcholinesterase, anticholinesterase, diabetes, donepezil, streptozotocin

Address: Haruo KOBAYASHI, ¹ Laboratory of Veterinary Pharmacology, Iwate University

7-272 Aza-Mukaishinden, Ukai, Takizawa-mura, Iwate-gun, Iwate Prefecture, Iwate 020-0172, Japan

E-mail: yhkoba@ictnet.ne.jp