

Propolis 長期投与による Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットの インスリン抵抗性改善作用

座間味義人,^a 藤原弘喜,^a 細田美穂,^a 日野隼人,^a 平井和浩,^a
岡本和明,^a 金 鑫,^a 高取真吾,^b 高木(土井)志真,^c 川崎博己^{*,a}

Ameliorative Effect of Propolis on Insulin Resistance in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) Rats

Yoshito ZAMAMI,^a Hiroki FUJIWARA,^a Miho HOSODA,^a Hayato HINO,^a
Kazuhiro HIRAI,^a Kazuaki OKAMOTO,^a Xin JIN,^a Shingo TAKATORI,^b
Shima DOI-TAKAKI,^c and Hiromu KAWASAKI^{*,a}

^aDepartment of Clinical Pharmaceutical Science, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University, 1-1-1 Tsushima-naka, Okayama 700-8530, Japan, ^bResearch Laboratories Kyoto, Nippon Shinyaku Co., Ltd., 14 Nishinosho-Monguchi-cho, Minami-ku, Kyoto 601-8550, Japan, and ^cDepartment of Research and Development, Yamada Apiculture Center, Inc., 194 Ichiba, Kagamino-cho, Tomata-gun, Okayama 708-0393, Japan

(Received October 22, 2009; Accepted February 22, 2010)

Propolis is known to have abundant bioactive constituents and a variety of biological activities. To investigate the effect of Brazilian propolis on insulin resistance, 10-week-old Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats, a non-insulin-dependent type 2 diabetic model, were treated for 4 weeks with propolis (100 and 300 mg/kg, *p.o.*) or vehicle (control). Propolis treatment significantly decreased the plasma levels of insulin and insulin resistance index (Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance; HOM-IR), without affecting blood glucose levels and tended to lower systolic blood pressure compared with the control. In isolated and perfused mesenteric vascular beds of OLETF rats, propolis treatment resulted in significant reduction of sympathetic nerve-mediated vasoconstrictor response to periarterial nerve stimulation (PNS) and tended to increase calcitonin gene-related peptide (CGRP) nerve-mediated vasodilator response to PNS compared with in vehicle-treated OLETF rats. However, propolis treatment did not significantly affect the vasoconstrictor and vasodilator response to noradrenaline, CGRP, acetylcholine, and sodium nitroprusside. These results suggest that propolis could be an effective and functional food to prevent development of insulin resistance.

Key words—propolis; insulin resistance; Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat; periarterial nerve function; mesenteric vascular bed

緒 言

Propolis は、ミツバチが蜂巢の隙間を埋めて外敵から巣を守るために植物の新芽や樹脂などから作る物質である。ブラジル産 Propolis には、桂皮酸誘導体 (アルテピリン C, *p*-クマル酸など)、フラボノイドを始めとした生理活性物質、各種ビタミン類、ミネラルなど、人の健康維持に役立つ有用成分

が豊富に含まれている。¹⁻⁴⁾ これらの成分には、抗菌活性,⁵⁾ 抗腫瘍活性,⁶⁾ 抗炎症作用,⁷⁾ 抗酸化作用⁸⁾ などの生理活性作用が見い出されている。また近年、糖負荷した正常動物及び病態モデル動物においてブラジル産 Propolis による血糖降下作用^{9,10)} 及び血圧低下作用^{11,12)} が報告され、Propolis が肥満、高血圧、耐糖能異常を改善する可能性が示唆されている。われわれは、フルクトース飲水負荷によって実験的に作製した糖尿病前段階であるインスリン抵抗性モデルラットを用いた検討において、Propolis がインスリン抵抗性を改善することを見出し、糖尿病の予防に有効である可能性を示唆した。¹³⁾ しかし、

^a岡山大学大学院医歯薬学総合研究科臨床薬学分野,
^b日本新薬株式会社創薬研究所, ^c株式会社山田養蜂場
本社研究開発部

*e-mail: kawasaki@pheasant.pharm.okayama-u.ac.jp

2型糖尿病自然発症モデルにおけるインスリン抵抗性に対する Propolis の影響はいまだ報告されていない。

Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットは、ヒトの肥満を伴う2型糖尿病のモデル動物として開発され、その特徴として過食、肥満、インスリン抵抗性、インスリン分泌不全など、2型糖尿病患者にみられる危険因子を多数有している。また、OLETF ラットでは、糖尿病発症後には糖尿病腎症などの合併症も認められているため、糖尿病の遺伝子解析や抗糖尿病薬などの開発に用いられている。

そこで本研究では、OLETF ラットを用いて、ブラジル産 Propolis を長期間経口投与し、Propolis のインスリン抵抗性に及ぼす影響について検討した。また、われわれはインスリン抵抗性の状態では、血管周囲神経 [血管収縮性交感神経、血管拡張性カルシトニン遺伝子関連ペプチド神経 (CGRP 神経)] による血管緊張度調節に異常が生じていることも明らかにしている。¹⁴⁻¹⁶⁾ そこで、全身循環への関与が大きく、豊富な抵抗血管を含む腸間膜動脈血管床を用いて、OLETF ラットにおける血管反応性及び血管周囲神経機能変化に及ぼす Propolis の影響についても検討した。

材料と方法

1. 実験動物 実験には、OLETF ラット (大塚製薬より提供) を用い、6週齢より飼育を開始した。動物には、ポリプロピレン不透明ゲージ (W220×L320×H135 mm; 夏目製作所製) 内に3匹ずつ飼育し、餌 (オリエンタル酵母工業) 及び飲料水は自由に与えた。飼育室は、相対湿度 40-50%、室温を 20-25°C に維持し、12時間の明暗サイクル (点灯; AM8:00, 消灯; PM8:00) に設定した。本研究は岡山大学動物実験ガイドラインに従って実施した。

2. Propolis 及び溶媒長期投与プロトコール

Propolis (エタノール抽出エキス, ブラジル産, 株式会社山田養蜂場本社) 及び溶媒投与は、OLETF ラット 10週齢から開始し、4週間経口投与した。Propolis は水溶性を上げるために加工澱粉で置換した 50% Propolis エキス末 (山田養蜂場より提供, LotNo. 070214, ブラジル産) を水道水に溶解させ、

100 及び 300 mg/kg の投与用溶液を作製した。この溶液を1日1回、エーテル軽麻酔下で 2 ml/kg の用量で経口ゾンデを用いて、強制経口投与した。また Control 群として、加工澱粉を水道水に溶解させた溶液を、Propolis 投与プロトコールと同様に経口投与した。

3. 摂食量、飲水量及び体重の測定 飼育期間中、2-3日毎に摂食量及び飲水量を測定し、4週間の総摂食量及び総飲水量を算出した。また、体重は1週間毎に1回測定した。

4. 血液検査値の測定 血液検査値の測定は、12時間絶食後、ジエチルエーテル軽麻酔下、心臓穿刺を行って約 0.8 ml を採血し、その一滴は直ちにアドバンテージ II (ロシュ・ダイアグノシス) にて血糖値を測定した。残りは、約1時間後に遠心処理し、血清サンプルとして -80°C で保存し、血清中におけるインスリン値の測定に用いた。血清中インスリン値はインスリン測定キット (森永生化学研究所) を使用し、固相化インスリンモノクローナル抗体とモルモットインスリン抗体を用いた EIA サンドイッチ法にて測定した。Propolis の作用は投与前 (10週齢) の値に対する投与後 (14週齢) の値の比で評価した。また、インスリン抵抗性の指標である Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance (HOMA-IR) は $\text{fasting blood glucose (mg/dl)} \times \text{fasting plasma insulin } (\mu\text{U/ml}) / 405$ の式で算出した。¹⁷⁾

5. 収縮期血圧の測定 ラットを無麻酔下に 37°C に保温した容器に入れ、ラット・マウス用非観血的血圧測定装置 (Unicom 社) を用いて tail cuff plethysmograph 法により尾動脈の収縮期血圧を算出した。

6. 摘出ラット腸間膜動脈血管床標本の灌流

ラットを pentobarbital-Na の腹腔内投与により麻酔して開腹後、Kawasaki らの方法¹⁸⁾ に従ってラット腸間膜動脈血管床を摘出し、灌流標本とした。上腸間膜動脈内へポリエチレン製カニューレを挿入し、Krebs-Ringer bicarbonate 液 (組成; NaCl 120 mM, KCl 5.0 mM, MgSO₄ 1.2 mM, NaHCO₃ 25.0 mM, KH₂PO₄ 1.2 mM, EDTA-2Na 0.027 mM, CaCl₂ 2.4 mM, Glucose 11.0 mM; pH 7.4) を注入して血管床内の血液を除去したのち、腸間膜動脈血管床を腸管ごと摘出した。摘出した血管床は4本の主動脈を残し、そ

れ以外の動脈は結紮後切断し、4本の主動脈から出る動脈分岐を腸管側近くで切り離して、腸間膜動脈血管床の灌流標本とした。標本を灌流装置に装着後、Krebs液をペリスタポンプ（AC-2120, ATTO製）で一定流量（5 ml/min）灌流した。また、標本の乾燥を防ぐため、Krebs液（0.5 ml/min）を表面灌流した。Krebs液にはあらかじめ95% O₂, 5% CO₂の混合ガスを飽和させ、37°Cに保温したガラス製蛇管内を通過させた。標本とポンプの間に置いた圧トランスジューサー（TP-200T, 日本光電製）にて灌流圧を測定し、灌流圧の変化を血管緊張度変化として、記録計（model U-228, Pantos社製）上に記録した。

7. 灌流実験プロトコール 腸間膜動脈血管床をKrebs液にて灌流開始30分後、灌流圧が安定したのを確認し、経壁電気刺激（periarterial nerve stimulation; PNS; 4, 8, 12 Hz）及びnoradrenaline（5, 10 nmol；第一三共）の注入を行い、血管収縮反応を測定した。その後、guanethidine（5 μM）で交感神経伝達を遮断した状態で血管収縮薬のmethoxamine（7 μM）を含むKrebs液を灌流し、灌流圧を100 mmHg程度まで上昇させた後、PNS（2, 4, 8 Hz）、rat CGRP（50, 100 pmol；ペプチド研究所）、acetylcholine（100 nmol；第一三共）及びsodium nitroprusside（SNP; 1000 nmol; Sigma Aldrich）を注入し、血管拡張反応を測定した。PNSは上腸間膜動脈付近においたリング状の白金電極を介して電気刺激装置（SEN-3301, 日本光電製）により行った。Noradrenaline, CGRP, acetylcholine, SNPの注入はinfusion pump（model 975, HARVARD製）を用いて上腸間膜動脈内に挿入したカニューレ付近の灌流液中に直接注入（注入速度100 μl/12 s）した。実験の最後にpapaverine（100 μM；大日本製薬）

を灌流し、最大弛緩を測定した。

血管反応性の変化は、血管収縮反応では灌流圧の上昇分（ΔmmHg）で示し、血管弛緩反応では、papaverineによる最大弛緩反応を100%としたときの弛緩率（%）で評価した。

8. 統計学的解析 得られた実験値は平均値±標準誤差（mean±S.E.M.）で表した。得られた結果は、2群間比較の場合は対応のあるStudent's *t* 検定を用いて、多群間比較の場合は、一元配置分散分析（ANOVA）を行った後、Dunnettの多重比較検定法を用いて統計学的に解析した。危険率5%未満を有意差ありと判定した。

結 果

1. 体重、飲水量及び摂食量に及ぼす Propolis 長期投与の影響 Table 1に飼育期間中における体重、総摂食量及び総飲水量を示した。すべての群の体重は加齢とともに増加したが、Propolis 4週間投与終了時の体重はControl群と比較してPropolis投与群では有意な差は認められなかった。総摂食量及び総飲水量もすべての群で有意に増加したが、Propolis投与群の総摂食量及び総飲水量はControl群の値と比較して有意な差は認められなかった。

2. 空腹時血糖値、血清中インスリン値及びHOMA-IRに及ぼす Propolis の影響 Propolis投与前と4週間投与終了時の空腹時血糖値、血清中インスリン値及びHOMA-IR値の変化をFig. 1に示した。Propolis投与前10週齢時における空腹時血糖値は、Control群（溶媒投与群）116.7±5.2 mg/dl, Propolis 100 mg/kg投与群117.1±8.2 mg/dl, Propolis 300 mg/kg投与群112.3±7.0 mg/dlで、群間の間に有意な差は認められなかった。

Figure 1 (A)に示したように、Control群では溶

Table 1. Body Weight, Total Food Intake and Fluid Intake during the Experiment in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) Rats

	Body weight (g)		Total food intake (g)		Total fluid intake (ml)	
	10 wk	14 wk	10 wk	14 wk	10 wk	14 wk
OLETF						
Vehicle	379±8	454±10*	312±7	525±12**	499±22	862±32**
Propolis 100 mg/kg	363±11	423±14*	302±7	568±5**	512±25	909±26**
Propolis 300 mg/kg	357±15	430±11*	294±13	590±27**	521±33	889±22**

Propolis at a dose of 100 or 300 mg/kg was administered *p.o.* once a day for 4 weeks. Each value represents the mean±S.E.M. of 5-6 experiments. * *p*<0.05, ** *p*<0.01 vs. 10 week-old rats. wk; week-old.

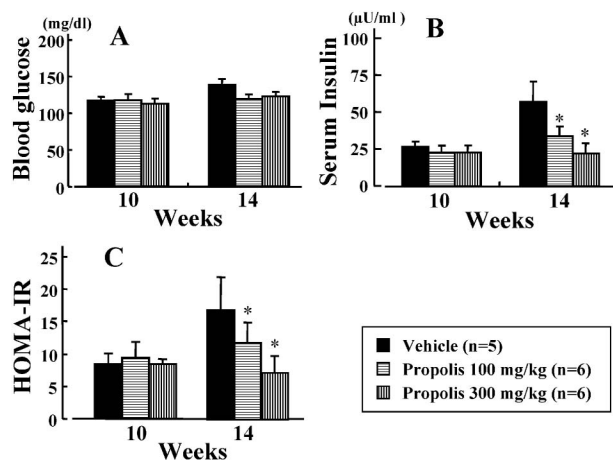


Fig. 1. Effect of 4-week Treatment with Propolis on Fasting Blood Glucose (A), Fasting Serum Insulin Level (B) and the Index of Insulin Resistance (Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance; HOMA-IR) (C) during the Experimental Period in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) Rats

Propolis at a dose of 100 or 300 mg/kg was administered *p.o.* for 4 weeks. Each value represents the mean \pm S.E.M. of 5–6 experiments. * $p < 0.05$ vs. vehicle control.

媒を4週間投与しても血糖値に有意な変化は認められなかった。また、Propolis 4週間投与群においても、いずれの投与量でも空腹時血糖値には有意な差は認められなかった。

Propolis 及び溶媒投与前 10 週齢時における血清中インスリン値は、Control 群 (溶媒投与群) $32.3 \pm 1.5 \mu\text{U/ml}$, Propolis 100 mg/kg 投与群 $31.2 \pm 2.6 \mu\text{U/ml}$, Propolis 300 mg/kg 投与群 $29.5 \pm 1.5 \mu\text{U/ml}$ で、群間間に有意な差は認められなかった。Figure 1 (B) に示したように、Control 群では、加齢に伴い、血清中インスリン値の増加がみられ、高インスリン血症となった。一方で、Propolis 投与群のインスリン値は、Propolis の用量に依存して低下し、Control 群と比較して有意に小さな値を示した。

インスリン抵抗性の指標である HOMA-IR 値は、Fig. 1 (C) に示したように、Control 群では約 2 倍程度上昇した。一方で、Propolis 投与群では、Propolis の用量に依存して低下し、Control 群と比較して有意に小さな値を示した。

3. 収縮期血圧に及ぼす Propolis 長期投与の影響 Propolis 4 週間投与終了時の収縮期血圧を Fig. 2 に示した。Propolis 100 mg/kg 及び 300 mg/kg 投与群の収縮期血圧は Control 群の血圧と比較して低い値を示したが、両群間に有意な差は認めら

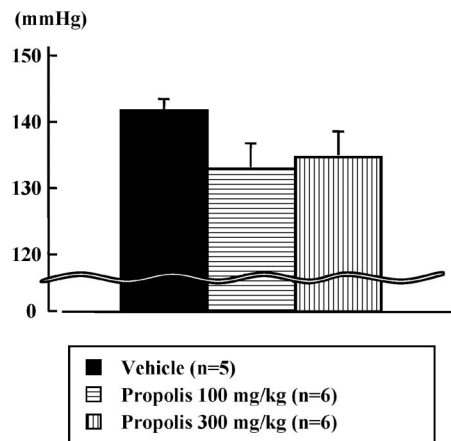


Fig. 2. Effect of 4-week Treatment with Propolis on Systolic Blood Pressure during the Experimental Period in OLETF Rats

Propolis at a dose of 100 or 300 mg/kg was administered *p.o.* for 4 weeks. Each value represents the mean \pm S.E.M. of 5–6 experiments.

れなかった。

4. 血管反応性に及ぼす Propolis 長期投与の影響

4-1. 交感神経性収縮反応の変化 静止緊張下の OLETF ラット腸間膜動脈灌流標本において PNS (4–12 Hz) を行うと刺激頻度に依存した灌流圧上昇、すなわち血管収縮反応が観察された。一方、外因性に与えた norepinephrine 注入によっても同様な収縮反応が観察された。Propolis 4 週間投与を行った OLETF ラット腸間膜動脈灌流標本における交感神経性の血管収縮反応の変化を Fig. 3 に示した。PNS (4–12 Hz) による収縮反応は、Propolis 100 mg/kg 投与群においては Control 群の反応と比べてほとんど変化がみられなかったが、Propolis 300 mg/kg 投与群においては有意に小さな値を示した。一方、外因性に投与した noradrenaline 注入による収縮反応は、Control 群と比較して、Propolis 投与群では有意な変化は認められなかった。

4-2. CGRP 神経性弛緩反応の変化 交感神経遮断薬である guanethidine 存在下に α_1 受容体アゴニストである methoxamine により標本の血管を収縮させた状態で、PNS (1–4 Hz) を行うと、刺激頻度に依存した灌流圧の低下、すなわち血管拡張反応が観察された。Propolis 4 週間投与を行った OLETF ラット腸間膜動脈灌流標本における CGRP 神経性の血管弛緩反応の変化を Fig. 4 に示した。Propolis 300 mg/kg 投与群における PNS による弛

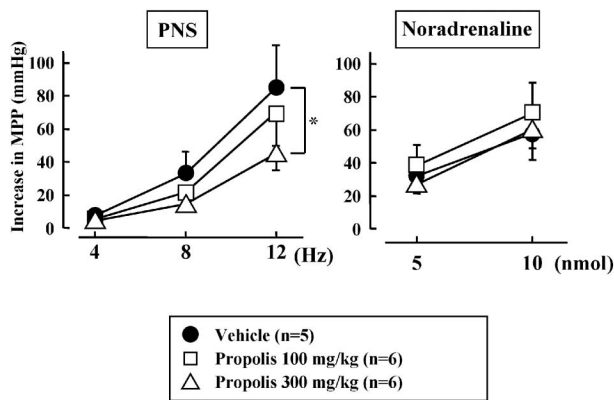


Fig. 3. Effect of 4-week Treatment with Propolis on Vasoconstrictor Responses to Periarterial Nerve Stimulation (PNS) or Norepinephrine (NE) Injection in Perfused Mesenteric Vascular Beds with Resting Tone in OLETF Rats
Propolis at a dose of 100 and 300 mg/kg was administered *p.o.* for 4 weeks. Each value represents mean \pm S.E.M. of 5-6 experiments. **p*<0.05 vs. vehicle control. MPP; mean perfusion pressure.

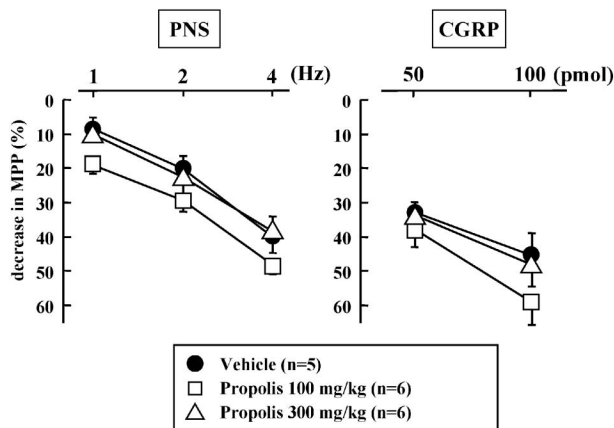


Fig. 4. Effect of 4-week Treatment with Propolis on Vasodilator Responses to PNS or CGRP Injection in Perfused Mesenteric Vascular Beds with Active Tone in OLETF Rats
Propolis at a dose of 100 or 300 mg/kg was administered *p.o.* for 4 weeks. Each value represents mean \pm S.E.M. of 5-6 experiments.

緩反応は Control 群とほとんど変わらない値を示したが、100 mg/kg 投与群においては有意な差はみられなかったものの Control 群と比較して大きな反応を示した。一方、外因性に CGRP を注入しても同様な弛緩反応が観察されたが、Propolis 投与群標本における反応は Control 群と比較して有意な変化は認められなかった。

4-3. Acetylcholine 及び SNP による血管弛緩反応の変化 CGRP 神経性弛緩反応を観察した時と同様に、guanethidine 存在下に methoxamine により血管を収縮させた状態で、外因性に acetylcho-

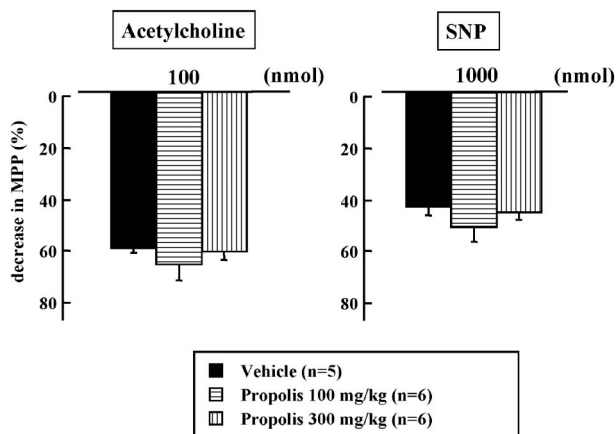


Fig. 5. Effect of 4-week Treatment with Propolis on Vasodilator Responses to Acetylcholine or Sodium Nitroprusside (SNP) Injection in Perfused Mesenteric Vascular Beds with Active Tone in OLETF Rats
Propolis at a dose of 100 and 300 mg/kg was administered *p.o.* for 4 weeks. Each value represents mean \pm S.E.M. of 5-6 experiments.

line 注入を行うと一過性の急速な血管弛緩反応が観察された。また、外因性に SNP 注入を行うと acetylcholine 類似の弛緩反応が観察された。Propolis 4 週間投与を行った OLETF ラット腸間膜動脈灌流標本における acetylcholine 及び SNP 注入による血管弛緩反応の変化を Fig. 5 に示した。Propolis 投与群における外因性に与えた acetylcholine 又は SNP による弛緩反応は、Control 群と比較して有意な変化は認められなかった。

考 察

本研究で用いた OLETF ラットは、肥満を伴う 2 型糖尿病のモデル動物として開発されたもので、若齢期では、正常血糖と高インスリン血症及びインスリン抵抗性を示し、老齢期では高血糖と低インスリン血症を示すことが報告されている。¹⁹⁾インスリン抵抗性は、糖尿病だけでなく肥満、脂質代謝異常、高血圧など多くの疾患で認められ、循環器疾患の危険因子になることが示唆されている。本研究においても、10 週齢の無処置の OLETF 群を 4 週間飼育するだけで血清中インスリン値は約 1.5 倍に上昇し、高インスリン血症が認められた。しかし、この時期における血糖値は軽度の上昇がみられるものの有意な変化ではなく、また、インスリン抵抗性の指標である HOMA-IR 値も上昇がみられるため、この時期の OLETF ラットではインスリン抵抗性が起

こっていると考えられる。このような病態を示す OLETF ラットに Propolis を長期間経口投与すると、血清中インスリン値は Propolis の投与用量に従って低下し、高インスリン血症を抑制した。さらに HOMA-IR 値も Propolis の用量依存性に低下し、無処置 OLETF (Control) 群に比べて低い値を示した。これらの結果は、Propolis がインスリン抵抗性発症の抑制作用を有することを強く示唆する。

一方、OLETF ラットでは、血清中インスリン値と同様に加齢に従い血圧が上昇し高血圧を示した。近年、インスリンは糖代謝だけでなく内因性血管作用物質として循環調節に関与している可能性が示唆され、交感神経活性亢進作用、²⁰⁾ 腎臓尿細管でのナトリウム再吸収促進作用、²¹⁾ 血管平滑筋細胞増殖作用²²⁾などがインスリンによる血圧上昇に寄与している可能性が報告されている。したがって、OLETF ラットで観察された高血圧は、高インスリン血症が原因である可能性が高い。また OLETF ラットの特徴として cholecystokinin A 受容体が欠損している²³⁾ことが知られ、この受容体が糖代謝だけでなく血圧調節にも関与する²⁴⁾という報告もあるので、OLETF ラットの血圧上昇は cholecystokinin A 受容体欠損が原因になって起こっている可能性も考えられる。Propolis 投与群における血圧値は Control 群と比較して有意な差はみられなかったが、低い値を示す傾向がみられた。Propolis 投与群では血清中インスリンの低下作用が認められているので、Propolis による血圧上昇抑制作用の傾向は高インスリン血症の改善、すなわち、インスリン抵抗性改善効果によって起こったと考えられる。静止緊張下の OLETF ラット腸間膜動脈灌流標本において、Propolis 300 mg/kg 投与群では、PNS による交感神経性収縮反応が Control 群の反応に比較して有意に小さな値を示した。この反応は、血管周囲交感神経刺激により遊離された noradrenaline の血管収縮によることが確認されている。²⁵⁾ 一方、外因性に与えた noradrenaline 注入による収縮反応は Control 群と比較して、Propolis 投与群で有意な変化はなかった。この反応は血管平滑筋上の α_1 アドレナリン受容体を介した反応であることが確認されている。²⁵⁾ したがって、Propolis 投与群ラットにおいて、血管平滑筋上の α_1 アドレナリン受容体の感受性は変化せず、交感神経からの noradrenaline の遊

離が抑制されていることが考えられる。われわれは、インスリン抵抗性を示す OLETF ラットにおいて、加齢に伴い血管周囲交感神経の亢進が起こっていることを明らかにしている (データ未発表)。また、インスリンの作用として、交感神経活動亢進作用が知られている。²⁰⁾ これらのことから、高インスリン血症を示す OLETF ラットでは、インスリンにより交感神経活動が亢進している可能性が考えられる。OLETF ラットの高インスリン血症に伴い亢進する交感神経に対して、Propolis はインスリン抵抗性を改善することで交感神経機能を抑制したのではないかと考えられる。

交感神経遮断下に標本の血管を緊張させ灌流圧を上昇させた標本では、PNS により血管弛緩反応が出現する。¹⁸⁾ この反応は血管周囲 CGRP 神経を介した血管弛緩反応であることが確認されている。¹⁸⁾ CGRP 神経性弛緩反応は Propolis 100 mg/kg 投与群において、Control 群と比較して大きい反応を示したが、300 mg/kg 投与群ではほとんど変化は認められなかった。また、外因性 CGRP 注入による弛緩反応は、Control 群と比較して、Propolis 投与群で有意な変化はみられなかった。この反応は血管平滑筋上に存在する CGRP₁ 受容体を介した反応であることが確認されている。¹⁸⁾ われわれはインスリン抵抗性を示す OLETF ラットにおいて、その進行に伴い CGRP 神経機能の減弱が起こっていることを明らかにしている (データ未発表)。したがって、Propolis は直接的に CGRP 神経機能に影響は及ぼさないが、インスリン抵抗性を改善することで CGRP 神経機能の低下を防御する可能性が示唆される。一方、血管内皮細胞依存性の弛緩反応を起こす acetylcholine や血管平滑筋に直接的に作用して弛緩反応を起こす SNP の反応にも Propolis は影響を及ぼさなかった。Acetylcholine の反応は血管内皮細胞上に存在するムスカリン受容体を介した一酸化窒素 (NO) 産生による弛緩反応であることが確認されている。²⁶⁾ SNP は NO 供与体であり、直接的に NO を供与するため血管内皮細胞を介さずに血管平滑筋の弛緩を起こすことが確認されている。²⁷⁾ これらの結果から、Propolis は内皮細胞や血管平滑筋の機能に影響を与えないと思われる。

われわれは正常ラット (Wistar 系) にフルクトース飲料水を負荷して作製した実験的インスリン抵抗

性モデルにおける Propolis 長期投与の影響を検討し, Propolis が後天的なモデルにおいてインスリン抵抗性の改善効果を示すことを明らかにしている.¹³⁾ 今回用いた OLETF ラットは, 糖尿病発症に関する量的形質遺伝子座 (QTL) を持つことが知られ, インスリン抵抗性を自然発症するモデルである.²⁸⁾ Propolis が遺伝的なモデルである OLETF ラットでもインスリン抵抗性の改善効果を示したことから, Propolis は, 糖尿病発症に関する QTL などの遺伝的要因に影響を与えてインスリン抵抗性を改善するのではなく, 普遍的又は糖尿病発症に至るカスケードの極めて上流でその作用を発揮する可能性が考えられる。

以上, Propolis はインスリン抵抗性を改善することで血管周囲神経, 特に, 交感神経機能変化を改善し, これらの作用を通して血圧の低下傾向を示したと考えられる。

結 論

2 型糖尿病のモデルである OLETF ラットに Propolis の 4 週間経口投与を行った結果, 血清中インスリン値及び HOMA-IR 値は Propolis の用量に依存して低下し, 血圧は Propolis 投与により低下傾向を示した。また, OLETF ラット腸間膜動脈灌流標本を用いた血管周囲神経機能変化に対しては, OLETF ラットのインスリン抵抗性の進行に伴う交感神経機能の異常を改善した。以上の結果より, Propolis はインスリン抵抗性を改善する作用を持つ可能性が示唆され, インスリン抵抗性に有効な機能性食品となり得ると考えられる。

REFERENCES

- 1) Takino Y., Mochida S., *Honeybee Sci.*, **3**, 145–152 (1982).
- 2) Kumazawa S., Tazawa S., Noro T., *Honeybee Sci.*, **21**, 164–168 (2000).
- 3) Marcucci M. C., *Apidologie*, **23**, 293–295 (1995).
- 4) Banskota A. H., Tezuka Y., Kadota S., *Phytother. Res.*, **15**, 561–571 (2001).
- 5) Bankova V., Christov R., Kujumgiev A., Marcucci M. C., Popov S., *Z. Naturforsch. C*, **50**, 167–172 (1995).
- 6) Padrnavathi R., Senthilnathan P., Sakthisekaran D., *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, **143**, 349–354 (2006).
- 7) Borrelli F., Maffia P., Pinto L., Ianaro A., Russo A., Capasso F., Ialenti A., *Fitoterapia*, **73**, S53–S63 (2002).
- 8) Okutan H., Ozcelik N., Yilmaz H. R., Uz E., *Clin. Biochem.*, **38**, 191–196 (2005).
- 9) Matsui T., Ebuchi S., Fujise T., Abesundara K. J., Doi S., Yamada H., Matsumoto K., *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 1797–1803 (2004).
- 10) Fuliang H. U., Hepburn H. R., Xuan H., Chen M., Daya S., Radloff S. E., *Pharmacol. Res.*, **51**, 147–152 (2005).
- 11) Kubota Y., Umegaki K., Kobayashi K., Tanaka N., Kagota S., Nakamura K., Kunitomo M., Shinozuka K., *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **31**, S29–S30 (2004).
- 12) Mishima S., Yoshida C, Akino S., Sakamoto T., *Biol. Pharm. Bull.*, **28**, 1909–1914 (2005).
- 13) Zamami Y., Takatori S., Koyama T., Goda M., Iwatani Y., Doi S., Kawasaki H., *Yakugaku Zasshi*, **127**, 2065–2073 (2007).
- 14) Takatori S., Zamami Y., Mio M., Kurosaki Y., Kawasaki H., *Hypertens. Res.*, **29**, 361–368 (2006).
- 15) Takatori S., Zamami Y., Yabumae N., Hanafusa N., Mio M., Egawa T., Kawasaki H., *Br. J. Pharmacol.*, **153** 1388–1398 (2008).
- 16) Zamami Y., Takatori S., Goda M., Koyama T., Iwatani Y., Jin X., Takai-Doi S., Kawasaki H., *Bio. Pharm. Bull.*, **31** 2103–2107 (2008).
- 17) Matthews D. R., Hosker J. P., Rudcnski A. S., Naylor B. A., Treacher D. F., Turner R. C., *Diabetologia*, **28**, 412–419 (1985).
- 18) Kawasaki H., Takasaki K., Saito A., Goto K., *Nature*, **335**, 164–167 (1988).
- 19) Kawano K., Hirashima T., Mori S., Saitoh Y., Kurosumi M., *Diabetes*, **41**, 1422–1428 (1992).
- 20) Lembo G., Napoli R., Capaldo B., Rendina V., Iaccarino G., Volpe M., Trimarco B., Sacca L., *J. Clin. Invest.*, **90**, 24–29 (1992).
- 21) Rocchini A. P., Katch V., Kveselis D., Moorehead C., Martin M., Lampman R., Gregory M., *Hypertension*, **14**, 367–374 (1989).
- 22) Hsueh W. A., Law R. E., *Am. J. Cardiol.*, **84**, 21–24 (1999).
- 23) Takiguchi S., Takata Y., Funakoshi A.,

- Miyasaka K., Kataoka K., Fujimura Y., Goto T., Kono A., *Gene*, **197**, 169–175 (1997).
- 24) Kirouac G. J, Ganguly P. K., *Brain Res.*, **26**, 338–341 (1993).
- 25) Kawasaki H., Nuki C., Saito A., Takasaki K., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **252**, 403–419 (1990).
- 26) Takenaga M., Kawasaki H., Wada A., Eto T., *Circ. Res.*, **76**, 935–941 (1995).
- 27) Iwatani Y., Kosugi K., Isobe-Oku S., Atagi S., Kitamura Y., Kawasaki H., *Br. J. Pharmacol.*, **154**, 32–40 (2008).
- 28) Kanemoto N., Hishigaki H., Miyakita A., Oga K., Okuno S., Tsuji A., Takagi T., Takahashi E., Nakamura Y., Watanabe T. K., *Mamm. Genome*, **9**, 419–425 (1998).