

O-4

糖尿病ラットの虚血性脳障害に対する霊芝菌糸体 培養培地抽出物 (MAK) の脳保護効果の解明

Cerebroprotective mechanisms of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK) against ischemia/reperfusion injury in streptozotocin-diabetic rats

○中野 理加¹⁾, 岡崎 真理¹⁾, 岩田 直洋¹⁾, 神内 伸也¹⁾,
鈴木 史子²⁾, 飯塚 博²⁾, 日比野 康英¹⁾

1) 城西大院・薬, 2) 野田食菌工業 (株)

Diabetes Mellitus (DM) has been shown to aggravate cerebral ischemic injury. The purpose of this study was to verify whether daily intake of a water-soluble extract from culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia (MAK) relieves focal cerebral ischemic injury induced by middle cerebral arterial occlusion followed by reperfusion (MCAO/Re) in streptozotocin-induced diabetic rats. Orally administrated MAK remarkably improved the aggravated neurological deficits and cerebral injury in DM rats. MAK suppressed the level of gene expression of pro-inflammatory cytokines. Furthermore, immunohistochemical analysis showed that MAK reduced the expression of COX-2 in ischemic penumbra. These results suggest that MAK exerts anti-inflammatory effects, which may contribute to alleviation of the cerebral ischemic damages in diabetic state.

【目的】

糖尿病は脳梗塞の危険因子であり、また糖尿病態下では梗塞時の脳障害が増悪することが知られている。本講座では、霊芝菌糸体培養培地抽出物 (MAK) が比較的強い抗酸化作用を有すること、また糖尿病態の虚血性脳障害に対して抑制効果を示すことを明らかにしているが、MAK の脳保護効果の詳細なメカニズムは明らかではない。そこで本研究では、ストレプトゾトシン (STZ) 誘発糖尿病態 (DM) ラットを用い、中大脳動脈閉塞/再灌流 (MCAO/Re) による虚血性脳障害の増悪機序および MAK の脳保護メカニズムを検討した。

【方法】

正常血糖 (non-DM) および DM (STZ を 50 mg/kg 腹腔内投与後、3週間飼育) ラットに MAK (1 g/kg/day) または蒸留水を 2 週間経口投与した後、脳組織中の抗酸化酵素活性および過酸化脂質含量を測定した。また、ラットに MCAO/Re 処置を行い、再灌流後 3 時間および 24 時間の時点で神経症状をスコア化し評価した。その後、脳を摘出して切片を作製し、TTC 染色によって梗塞巣体積を測定するとともに、TUNEL 染色によってアポトーシス陽性細胞数を測定した。また、炎症性関連因子の発現を Real Time RT-PCR 法および免疫組織染色法を用いて解析した。

【結果および考察】

DM 群では non-DM 群と比較し、脳組織中の抗酸化酵素活性の低下および過酸化脂質含量の増加が認められた。MAK を経口投与した DM 群では、これらの値は non-DM 群と差がなかった。また、MCAO/Re 処置により、non-DM 群では再灌流後約 12 時間から梗塞巣の形成が認められたのに対して、DM 群では処置後 3 時間後の早期から梗塞が形成され、24 時間後の梗塞巣体積は non-DM 群の 2.5 倍にまで増大した。MAK を投与した群では、梗塞の形成および神経症状が有意に抑制され、DM 群で増大した障害が non-DM 群レベルまで軽減された。また、炎症関連因子である IL-1 β 、TNF- α 、MMP-9 の mRNA 発現は、DM 群の擬似手術群の皮質においてすでに non-DM 群の 5.6、2.0、2.6 倍にそれぞれ増大していた。DM 群の皮質では、MCAO/Re 処置により IL-1 β 、TNF- α 、MMP-9、COX-2、iNOS、ICAM-1 の遺伝子発現が non-DM 群と比較して顕著に増大したが、MAK はこれらを有意に抑制した。さらに、MAK は MCAO/Re 処置により増大した COX-2 の発現および脳細胞のアポトーシスを抑制することが明らかになった。以上の結果から、糖尿病態の脳では、すでに炎症反応が惹起されており、MCAO/Re 処置により炎症反応が加速的に促進され脳障害の増悪が生じると推察された。MAK は、糖尿病態における脳内の酸化ストレス度を軽減するとともに、虚血再灌流後の炎症反応を抑制することにより脳保護効果を現す可能性が示唆された。