

## バナジウムによる糖尿病治療とそのメカニズム

桜井 弘<sup>1)</sup>・土屋 浩一郎<sup>1)</sup>  
糖塚 守<sup>2)</sup>・祖父江 光広<sup>2)</sup>・川田 純<sup>2)</sup>  
(徳島大学薬学部\*, <sup>1)</sup>薬品分析学教室, <sup>2)</sup>生化学教室)

### Mechanism of Hypoglycemic Effect of Vanadyl Sulfate in Rats.

Hiromu SAKURAI<sup>1)</sup>, Koichiro TSUCHIYA<sup>1)</sup>, Mamoru NUKATSUKA<sup>2)</sup>, Mitsuhiro SOFUE<sup>2)</sup> and JUN KAWADA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Analytical Chemistry

<sup>2)</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Tokushima,

Vanadium has been known to be an essential trace elements for mammals. Many physiological and biological functions of this element have been proposed; inhibition of  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase, anti-cancer effects, the presence in the active center of bromoperoxidase and insulin-mimetic effects for diabetic rats.

In the studies of insulin-mimetic effects of vanadium in rats, sodium vanadate (+5 oxidation state) in the drinking water has exclusively used. However, we used vanadyl sulfate (+4 oxidation state), which is reported to be less toxic than sodium vanadate in rats.

Vanadyl sulfate showed excellent insulin-mimetic effects for STZ-diabetic rats. Glucose tolerance test indicated that the STZ-diabetes was improved by vanadyl-administration, however, the serum insulin levels were not increased to the normal levels. Vanadium sulfate stimulated glucose incorporation into adipocytes, suggesting that the effect of vanadium is due to the enhancement of glucose uptake in the periperal tissues. Determination of total vanadium and vanadyl species in organs indicated that most (~90%) vanadium ions present as a vanadyl form and coordinate with oxygen donors. On the basis of these results, the active form of vanadium for insulin-mimetic effects in rats was proposed to be vanadyl form as  $\text{VO}^{2+}$ .

バナジウムは自然界に広汎に分布する微量元素であり、現在、人体中に約15mg程度含まれると考えられている<sup>1)</sup>。バナジウムと生体に関する研究は、1911年に、Henzeが海洋生物ホヤの血球細胞中に高濃度のバナジウムが存在するを見出したのをはじめとしている<sup>2)</sup>。1971年に、ラットとヒヨコにお

\*所在地：徳島市庄町1-78 (〒770)

いてバナジウムが生体必須微量元素の一つであること<sup>3)</sup>, 続いて1977年には, Cantley らによって5価のバナジウムが $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase の阻害剤であることが発見された<sup>4)</sup>。更に, バナジウムと高血圧症, あるいは抗悪性腫瘍との関連が示唆されるようになった。そして1985年に Heyliger<sup>5)</sup>らが, 続いて1987年には Meyerovitch<sup>6)</sup>らが, スレプトゾシン (STZ) により実験的に糖尿病としたラットに5価バナジウムであるバナジン酸ナトリウム ( $\text{NaVO}_3$ ) を経口的に投与すると血糖値が正常化されることを見出した。ところで5価バナジウムであるバナジン酸ナトリウムのラットに対する毒性は4価バナジウムである硫酸バナジルと比較して約15倍高いことが知られている<sup>7)</sup>。また, 我々は, 5価バナジウムをラットに投与したところ体内ではその大部分が4価に還元され, また投与したバナジウムの酸化数は, 体内分布及び濃度に大きな差がないことを見出している<sup>8)</sup>。そこで本研究ではインスリンに代わる経口糖尿病治療薬の開発の手がかりとして, より毒性の低い4価バナジウムによる STZ-糖尿病ラットの血糖降下作用を検討した。

## 実験方法

### 1. 糖尿病ラットの作成

Wistar 系雄性ラット (体重190-200g) に STZ (60mg/kg 体重) を静脈内投与して, 一週間後の血糖値が300-400mg/dl に上昇したものを, 以下の実験に用いた。血糖値はオートルイジン法<sup>9)</sup>によって測定した。

### 2. 糖尿病ラットへの硫酸バナジルの投与と血糖降下作用

生理食塩水に溶解した硫酸バナジルを STZ-糖尿病ラットに初めの2日間は  $\text{VOSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 50mg/kg 体重 (V として9.3mg/kg 体重), その後一ヶ月にわたり25mg/kg 体重の割合で腹腔内投与し, 血糖値が正常値にまで回復したラットについてはグルコース負荷試験, 血清インスリン濃度の測定を行った。バナジウムを投与して12時間後の肝, 脾, 膵, 腎, 肺, 心臓, 胸腺, 大脳, 睾丸, 全血及び血清を採取し, それぞれの一定量を取り ESR (電子スピン共鳴法) により4価バナジウムを定量した。また同一試料の一定量を取り, 湿式灰化を行ったのち酸性条件下で一定量のアスコルビン酸を加え, 全てのバナジウムを4価バナジウムに還元して ESR 法により総バナジウムを定量した。

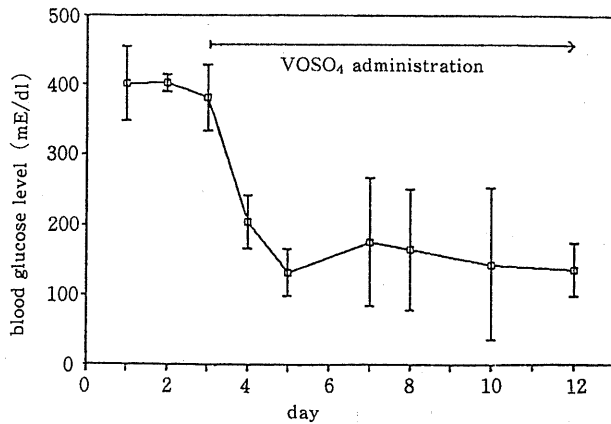
### 3. 脂肪細胞へのグルコース取り込みに対する4価バナジウムの影響

Wistar 系雄性ラット (体重150-180g) の副睾丸周辺脂肪組織からコラゲナーゼ処理によって脂肪細胞を分離し<sup>10)</sup>, その一定量に<sup>3</sup>H グルコース及び種々の濃度の硫酸バナジル水溶液もしくはインスリンを加え, 37°Cで2時間反応させた。硫酸で反応を停止し, トルエン系シンチレーターを加え1時間放置した後, トルエン層を取り液体シンチレーションカウンターで脂肪細胞に取り込まれたグルコースを計測した。

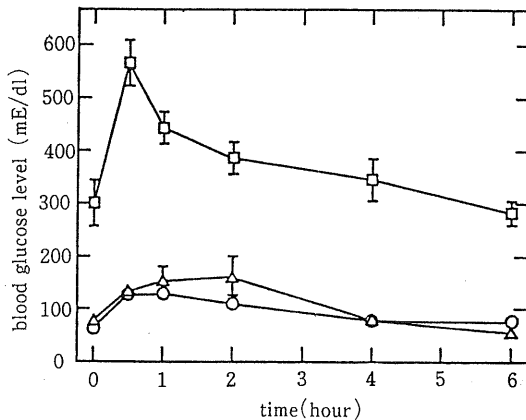
## 結果と考察

硫酸バナジルを投与した STZ-糖尿病ラットの血中グルコース変化を, Fig. 1に示す。硫酸バナジルを投与すると, 3日目には高血糖状態から正常状態へと血糖値は急激に正常化した。同様の血糖降下作

用は5価バナジウム（バナジン酸ナトリウム）を与えたSTZ-糖尿病ラットにおいて、すでに見出している。血清中のインスリン濃度は、正常ラットでは $25.9 \pm 1.6 \mu\text{U/ml}$ 、STZ-糖尿病ラットでは $2.8 \pm 0.5 \mu\text{U/ml}$ 、硫酸バナジルで治療したSTZ-糖尿病ラットでは $4.9 \pm 5.6 \mu\text{U/ml}$ となり、バナジウムの投与によってインスリン濃度は正常値に回復しなかった。したがって、バナジウムは、STZによって障害を受けた膵臓の $\beta$ 細胞を回復させたり、インスリン合成を促進することにより、インスリン作用を示すものではないことが明らかとなった。グルコース負荷試験の結果より、バナジウムを投与したSTZ-糖尿病ラットの負荷曲線は正常ラットとほぼ一致することにより、見掛け上糖尿病が治療されたと考えられた (Fig. 2)。



**Fig. 1.** Time course of blood glucose levels in STZ-diabetic rats treated with vanadyl sulfate. Values are means  $\pm$  S.D. for 3 rats.



**Fig. 2.** Blood glucose levels during glucose tolerance test in STZ-diabetic rats (-□-), vanadyl treated STZ-diabetic rats (-△-) and control rats (-○-). Values are expressed as means  $\pm$  S.D. for 3 rats.

血清インスリン濃度の測定結果より、バナジウムは末梢に作用すると考えられたので、ラットの脂肪細胞を用いてグルコースの取り込みに対する4価バナジウムの影響について検討した。その結果、4価バナジウムは5価バナジウムと同様に<sup>11)</sup>、濃度依存的にグルコースの取り込みを促進し、その能力はインスリンと同様かあるいはそれ以上であることが見出された。次に、STZ-糖尿病ラットに投与した4価バナジウムの体内分布及び酸化数状態をESR法を用いて検討した。肝臓、腎臓、血清およびその他の組織の77KにおけるESRスペクトルは4価バナジウム( $\text{VO}^{2+}$ )に特有な8本線から成るシグナルを示し、それらのESRパラメーター(A//及びg//値)から、バナジルイオン( $\text{VO}^{2+}$ )は、配位子として水分子もしくはオキシアミノ酸の酸素と結合していると考えられた。硫酸バナジルを投与したSTZ-糖尿病ラットの組織中の総バナジウム量は、湿重量当たりのバナジウムの $\mu\text{g}$ 数で比較すると腎臓>肝臓>脾臓>胸腺>睾丸>睪臓の順に取り込まれており、またそれぞれの組織中において、バナジウムは90%近くがバナジル形( $\text{VO}^{2+}$ )で存在していることが見出された。この結果は、血糖降下作用の活性形は4価バナジウムであることを示唆している。以上の結果をまとめると次のようになる。① 4価バナジウムである硫酸バナジルによりSTZ-糖尿病ラットの血糖値が正常化することを見出した。② 血糖正常化作用の活性形は4価形バナジルイオンによるものであり、組織へのグルコース取り込みを促進することにより血糖値を正常化させると考えられた。

## 文 献

1. 田中 久, 桜井 弘 編著 (1987) 生物無機化学 廣川書店
2. 桜井 弘, 道端 斉, (1988) 不思議な元素, バナジウムの生物学と化学, 現代化学 [10] pp.18-23
3. HOPKINS, L. L. Jr. and H. E. MOHR (1971) Newer trace elements in nutrition, ed. by W. MERTZ and W. E. CORNATZEN, Marcel Dekker, N. Y. : pp. 195-213
4. CANTLEY, L. C. Jr., L. JOSEPHSON, R. WARNER, M. YANAGISAWA, C. LECHENE and, G. GUIDOTTI (1977) J. Biol. Chem. 252 : 7421-7423
5. HEYLIGER, C. E., A. G. TAHILIANI and J. H. MCNEIL (1985) Science 227 : 1474-1477
6. MEYEROVITCH, J., Z. FARFEL, J. SACK and Y. SHECKTER (1987) J. Biol. Chem. 262 : 6658-6662
7. HUDSON, F. T. G. (1964) in Vanadium Toxicology and Biological Significance, Elsevier Publ. Co., N. Y. pp.140
8. 桜井 弘, 土屋浩一郎, 西田幹夫, 高田実弥, 小山睦夫 (1988) 微量栄養素研究 5 : 101-105
9. KAWADA, J., N. TANAKA and Y. NOZAKI (1988) Endocrinol. Japon 28(2) : 235-238
10. RODBELL, M. (1964) J. Biol. Chem. 239 : 375-380
11. DUCKWORTH, W. C., S. S. SOLOMON, J. LIEPNIEKS, F. G. HAMEL, S. Hand and D. E. PEAVY (1988) Endocrinology 122 : 2285-2289