

研究論文紹介

ストレプトゾトシン糖尿病ラットにおける分泌型スフィンゴミエリナーゼを介する血漿セラミドレベルの増加

奈良女子大学食物栄養学科

小林 慧子, 市 育代, 中川 朋香, 上川 千明, 北村 佑子
古賀枝里子, 鷲野由紀子, 星長夕貴子, 小城 勝相

Vitamins (Japan), 85 (12), 655-656 (2011)

Increase in plasma ceramide levels via secretory sphingomyelinase activity in streptozotocin-induced diabetic rats

Keiko Kobayashi, Ikuyo Ichi, Tomoka Nakagawa, Chiaki Kamikawa, Yuko Kitamura
Eriko Koga, Yukiko Washino, Yukiko Hoshinaga and Shosuke Kojo

Department of Food Science and Nutrition, Nara Women's University

[Med. Chem. Commun. 2, 536-541 (2011)]

糖尿病慢性期においては、腎症、神経障害、網膜症などの合併症を引き起こす。その原因の1つとしては酸化ストレスが考えられる¹⁾が、酸化ストレスが亢進したときには何らかの毒性物質が出現する可能性もある。我々は化学物質による肝炎をモデルとして酸化ストレスの影響を研究してきたが、四塩化炭素投与2時間後には肝臓の中性スフィンゴミエリナーゼ(nSMase)活性が有意に上昇し、その生成物であるセラミドが肝臓では12~24時間後、血漿中や腎臓では24~36時間後、脳では36時間後に有意に増加することを明らかにした²⁾。セラミドがアポトーシスを引き起こすことはよく知られており、劇症肝不全における腎不全や脳症の原因物質の1つである可能性がある。

さらに、酸化ストレスとの関連が示唆されている粥状動脈硬化症においても、ヒト血漿中のセラミド量は、従来から動脈硬化症の危険因子と考えられてきた総コレステロール、トリグリセリド、血圧、低密度リポタンパク質(LDL)を構成するアポリポタンパク質B-100のラジカ

ル反応生成物の量などと有意な相関を示すことから、動脈硬化の危険因子と考えられることも明らかにした³⁾。

以上の研究から、糖尿病による酸化ストレスの上昇によってもセラミドが増加し、それが合併症の原因となる可能性がある。この仮説を検討するため、ストレプトゾトシン(STZ)投与により糖尿病が発症したラットにおけるセラミド量の測定をLC-MS/MS⁴⁾を用いて行った。STZ投与2週間後(2w)を糖尿病初期、8週間後(8w)を進行期とした。

STZ投与2wで、肝臓と腎臓のビタミンC濃度はすでに有意に減少し、酸化ストレスの亢進を認めた。8wでは肝臓と腎臓のビタミンC濃度はさらに減少し、血漿でも有意に減少したことから、糖尿病進行期において酸化ストレスはさらに亢進することがわかった。セラミド濃度については、肝臓では糖尿病による増加はなかったが、腎臓では2wにおいて糖尿病群で有意に高く、8wにはさらに有意に増加した。8wでは血中尿素窒素(BUN)濃度も有意に上昇し、腎障害が起きていることを示した。血

本論文の別刷請求先：〒261-8586 千葉市美浜区若葉2-11 放送大学 小城 勝相 E-mail: kojo@ouj.ac.jp もしくは
〒112-8610 東京都文京区大塚2-1-1 お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科食品栄養
科学コース 市 育代

漿中では 8w でセラミド濃度の有意な上昇を認めた。

セラミドは *de novo* 合成系, スフィンゴミエリナーゼ (SMase) サイクルの 2 種類の経路で主に合成される。SMase は現在確認されているもので 5 種類存在し, 酸性 (aSMase), nSMase, アルカリ性や分泌型 (sSMase) というように, 至適 pH や局在によって分類されている。以前, 我々が検討した四塩化炭素中毒においては四塩化炭素投与 2 時間後ですでに nSMase が活性化していた。このことから nSMase は極めて鋭敏に酸化ストレスに対応していることがわかった。この点について, Filosto ら⁵⁾ は, 興味深い報告をしている。nSMase2 (nSMase ファミリーのうち, 最も酵素活性が高いと考えられているもの) は, セリンのリン酸化により活性が上昇するが, カルシニューリン (PP2B: プロテインホスファターゼ) と結合しているため, 通常状態ではそのリン酸化が阻害されて活性が低い状態で存在している。しかし酸化ストレスが惹起されることによって PP2B が迅速に分解される機構が働くため, nSMase2 のセリンのリン酸化状態が維持されることになり活性化されるというものである。そこで本研究でも, 腎臓, 肝臓の各種 SMase 活性の測定を行ったが, セラミドの変化と対応しなかった。血漿中に唯一存在する SMase である sSMase 活性を測定すると, STZ 投与 2, 8w 両方で対照群より有意に活性が上昇していることが明らかになった。

以上より, 糖尿病において酸化ストレスの上昇が起こると, それと同時に機構は不明であるが血液中で sSMase の活性上昇が起こることが明らかになった。この sSMase

の働きによりセラミドが増加する。また, セラミド量の変化から考察するに, 血中で増加したセラミドが何らかの機構により腎臓に蓄積し, 腎障害を起こすことが示唆された。

(平成 23.6.19 受付)

文 献

- 1) Sun F, Iwaguchi K, Shudo R, Nagaki Y, Tanaka K, Ikeda K, Tokumaru S, Kojo S (1999) Change in tissue concentrations of lipid hydroperoxides, vitamin C and vitamin E in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci* **96**, 185-190
- 2) Ichi I, Kamikawa C, Nakagawa T, Kobayashi K, Kataoka R, Nagata E, Kitamura Y, Nakazaki C, Matsura T, Kojo S (2009) Neutral sphingomyelinase-induced ceramide accumulation by oxidative stress during carbon tetrachloride intoxication. *Toxicology* **261**, 33-40
- 3) Ichi I, Nakahara K, Miyashita Y, Hidaka A, Kutsukake S, Inoue K, Maruyama T, Miwa Y, Harada-Shiba M, Tsushima M, Kojo, S, Kisei Cohort Study Group (2006) Association of ceramides in human plasma with risk factors of atherosclerosis. *Lipids* **41**, 859-863
- 4) Yamada Y, Kajiwara K, Yano M, Kishida E, Masuzawa Y, Kojo S (2001) Increase of ceramides and its inhibition by catalase during chemically induced apoptosis of HL-60 cells determined by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Biochim Biophys Acta* **1532**, 115-120
- 5) Filosto S, Fry W, Knowlton AA, Goldkorn T (2010) Neutral sphingomyelinase 2 (nSMase2) is a phosphoprotein regulated by calcineurin (PP2B). *J Biol Chem* **285**, 10213-10222