

## *In vitro* でのウラジロガシ利尿作用の検討と Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 共輸送系を阻害する植物素材の探索

応用生物科学専攻 食資源科学講座 食品機能化学 戸崎 菜摘

### 1. 目的

高血圧の患者数は近年増加しており、予防や治療などの対策が求められている。Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/2Cl 共輸送体 (NKCC2), Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>交換輸送体 (NHE) は、腎臓において糸球体で濾過されたナトリウムの再吸収に関与している。これらのイオントランスポーターの阻害は体内へのナトリウムの再吸収を抑制することで血圧の上昇を緩和させるため、高血圧治療に有効である。本研究では Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, NKCC2, NHE に対するウラジロガシエキスパウダー (QEP) の影響の検討、QEP 中の Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 阻害物質の探索、並びにナトリウム/カリウム共輸送系阻害活性を示す食品素材の探索を行った。

### 2. 方法・結果

#### 2-1. QEP の利尿作用機構解析

ナトリウム/カリウム共輸送系 (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, NKCC2) への影響について検討した。HEK-293 細胞のルビジウム (カリウムトレーサー) の取り込み量を指標としてナトリウム/カリウム共輸送系への影響を評価した。QEP と Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 阻害剤, NKCC2 阻害剤の存在下でルビジウム取りこみ試験を行い、細胞内に取り込まれたルビジウム量を原子吸光光度計を用いて定量し、コントロールと比較して阻害率を算出した。その結果、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 阻害剤であるウアバインに QEP を加えた場合は阻害率に差がなく、NKCC2 阻害剤であるフロセミドに QEP を加えた場合は阻害率が増加していた。したがって、QEP は Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を阻害すると推定された。

また、Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>交換輸送体 (NHE) への影響について検討した。HEK-293 細胞に pH 感受性色素 BCECF-AM を取り込ませ、ナトリウム非存在下で細胞内を酸性化した。この細胞にナトリウムおよび QEP を添加し、経時的に蛍光強度を測定して pH の変化速度をコントロールと比較した。その結果、QEP は NHE を阻害しないことが分かった。

#### 2-2. QEP 中のルビジウム取り込み阻害活性物質の探索

QEP 抽出物を各種クロマトグラフィーに供し、活性を指標として分画した。活性物質の同定には至らなかったが、NMR 分析より活性画分に糖, アミノ酸や芳香族環を有する化合物が含まれていることが推定された。ウラジロガシはイソクエルシトリンやケルセチンなどの化合物を含有していることが報告されている。活性物質の同定には至らなかったが、これらの化合物が Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase を阻害することでナトリウム再吸収阻害作用を示していることが予想される。

#### 2-3. 植物素材からのスクリーニング

スクリーニングによりナトリウム/カリウム共輸送系阻害活性を示す食品素材として、スターアニス (*Illicium verum*), ヒース (*Erica canaliculata*), カモミールジャーマン (*Matricaria recutita*), スギナ (*Equisetum arvense*) を見出した。