

DOCA-NaCl 左腎摘出ラットを用いた ヒメマツタケ子実体熱水抽出物質の腎機能不全改善作用

江口 文陽^{a)}, 渡辺 泰雄^{b)}, 菊川 忠裕^{c)}, 吉本 博明^{d)}, 安倍 千之^{e)}, 檜垣 宮都^{a)}

^{a)}東京農業大学林産化学, ^{b)}東京医科大学麻酔学薬理研, ^{c)}聖マリアンナ医科大学学生化学,
^{d)}株式会社日本バイオ, ^{e)}聖マリアンナ医科大学内科

Renoprotective effects of a hot water extract of *Agaricus blazei* fruiting bodies in experimental renal injury assessed by a DOCA-NaCl hemi-nephrectomized rats

Fumio EGUCHI^{a)}, Yasuo WATANABE^{b)}, Tadahiro KIKUKAWA^{c)}, Hiroaki YOSHIMOTO^{d)},
Chiyuki ABE^{e)} and Miyato HIGAKI^{a)}

^{a)}Lab of Forest Products Chemistry, Tokyo University of Agriculture, ^{b)}Department of Anesthesiology/Pharmacology,
Tokyo Medical University, ^{c)}Department of Biochemistry, St. Marianna University, School of Medicine, ^{d)}Japan Bio Co.,
^{e)}Department of Internal Medicine, St. Marianna University School of Medicine

(Received October 8, 1998, Accepted December 18, 1998.)

Abstract

Renoprotective effects of *Agaricus blazei* fruit hot water extract (CJ-01) on the incidence and severity of renal dysfunctions in the deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt treated with the hemi-nephrectomized rats were investigated. CJ-01 (10 g/600 ml) was extracted 80°C for 1 hr and a dose of 10 g/60 kg/day was taken, freely. Experimental animals (32 male Wistar rats) were divided into the following five groups; I. sham-operation with 1 % NaCl, II. sham-operation with CJ-01 (for 90 days) diluted in 1 % NaCl, III. hemi-nephrectomy with DOCA (20 mg/kg s.c., one day/week for 70 days) and 1 % NaCl, IV. hemi-nephrectomy with DOCA and CJ-01 (for 90 days) diluted in 1 % NaCl, V. hemi-nephrectomy with DOCA and CJ-01 (for 49 days during the maximum hypertension was appeared) diluted in 1 % NaCl. All animals were freely drinking a 1 % NaCl solution through the experimental period. After the left kidney was removed, the marked increased in volume of urine was observed in the DOCA-salt treated groups (III, IV, V). Particularly, these increases were significantly enhanced compared to I and II groups after the maximum hypertension was detected. However, in the CJ-01 treated groups (IV and V), such severe hyperurination was markedly blocked whereas the severe hypertension was not inhibited. At 90 days, the weight and size of the right-side kidney in the III group was about two folds more than those of the I and II groups, although the consecutive treatment of CJ-01 seen in the IV and V groups significantly inhibited the enlargement of right side kidney. Furthermore, the abnormal values (i.e., urine protein, cholesterol, corticosterone, etc.) detected in the urine and serum examinations of the DOCA-NaCl and hemi-nephrectomized group were significantly improved by the treatment of CJ-01. The pathological evidences also elucidated the significant uroprotective effects of CJ-01 on the severe kidney diseases. These results indicated that CJ-01 might be a useful functional food as the prophylactic and/or treatment for severe kidney dysfunctions.

Key words *Agaricus blazei* (CJ-01), renal injury, a DOCA-NaCl/hemi-nephrectomized rats, renoprotective effects.

緒 言

高齢化社会への移行から循環・代謝・排泄ならびに免疫系を基盤とする疾患が増加することは予測される。従来の各種難疾患に対する適切なる治療法としての化学合成薬物の効果は計り知れない大きなものである反面、高齢化による代謝あるいは排泄機能系の低下によって予期しない重篤な副作用の発現が治療法を複雑化していることも事実ではある。

一方、近年の医療費の高騰から健康について自らが考え、増進させようとする方向にあり、自然食品や健康食品（機能性食品を含む）に対する関心も高まっている。このような社会的背景の中、自然食品であるキノコ類は古くから、肝・腎・血液における循環代謝系やガン予防としての免疫系に効果的な作用を有していることが民間療法や学術的研究報告から示唆されている¹⁾。しかも、いくつかのキノコ成分は化学的な分析がなされ、抗腫瘍薬として医療体系の中で広範囲な使用が行われているものもある²⁾。しかしながら、天然に生産される物質は時として、生産地や生産時期において成分が異なり一定の効力を期待することが困難なこともしばしば経験することである。

我々は超高齢化社会への移行に伴って循環系あるいは排泄系の機能低下を原因とする難疾患発症率が高い³⁾ことから、これらの臓器における機能障害に対して薬効性が高く、且つ、副作用の中でも薬害作用の少ない新しい「健康増進ならびに疾患改善」型の機能性食品としてのキノコ類の食効に焦点を絞り生産性の向上を目指して農科学的（Agriscience）研究を行ってきた⁴⁾。

本研究は、安定人工栽培法の確立^{5,6)}によって生産性・再現性が確実に向上し、且つ、動物実験から降圧作用を有すること⁴⁾が明確となったヒメマツタケ（CJ-01）子実体の熱水抽出物の腎機能疾患に対する改善効果を生化学的ならびに病理学的検索から実証することを目的とした。

方 法

(1) **実験動物**：約30匹のWistar系雄性ラット（6週齢、体重180g）を日本チャールスリバーから購入後、1週間以上、室温 $22\pm1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60\pm10\%$ に調整された部屋で明時間（7:00-19:00）、暗時間（19:00-7:00）の光調節

下で飼育した。実験日までは飼料および水は自由摂取とした。

(2) **CJ-01 溶液の調製法および投与法**：株式会社日本バイオで栽培収穫されたヒメマツタケを、同研究室の棚段式キノコ子実体乾燥装置で $40-60^{\circ}\text{C}$ 可変方式により乾燥・調整して、得られた乾燥粉末10gと滅菌水600mlをリービヒ冷却管付き三角フラスコに加え、 80°C の湯浴中で1時間抽出後、室温まで放冷した。上清溶液を濾紙（東洋ろ紙、NO.2、直径90mm）で濾過し、濾液（収率は約100%であった）を熱水抽出物として使用した。実験動物には飲用水として、A) 1% NaClを含む滅菌水、あるいは、B) 1% NaClを含むCJ-01溶液を10g/60kg/dayの用量で自由摂取させる群の二群に大別した。

(3) **高血圧性腎機能不全モデル動物の作成**：上記のラットをネブタール（大日本製薬株）麻酔下で背側部からの左腎摘出を行った。その1週間後より、deoxycorticosterone acetate (DOCA) を週1回定期的に20mg/kgの用量で背部皮下内へ70日間連続注射を開始した。対照群として疑似手術処置 (Sham) を行った群に carboxymethylcellulose (CMC) 溶液を10ml/kgの用量で同様に皮下へ連続投与を行った。処置したラットは全て1% NaClを飲用水として使用した。

本研究では実験動物群を飲用水としてCJ-01処置の有無、および片腎摘出の有無の組み合わせで最終的に5群に分類した。すなわち、I. 疑似手術および飲用水（1% NaCl）投与群（Sham-con）、II. 疑似手術群およびCJ-01+1% NaCl飲用群（Sham-CJ）、III. 左腎摘出/DOCA処置および飲用水（1% NaCl）投与群（DOCA-con）、IV. 左腎摘出/DOCA処置およびCJ-01+1% NaCl投与群；片腎摘出直後からCJ-01を処置（DOCA-pre）、V. 左腎摘出/DOCA処置およびCJ-01+1% NaCl投与群；術後41日（血圧の著明な上昇が認められて10日後）からCJ-01を処置（DOCA-post）とした。

(4) **尿量および飲水量の変動測定**：左腎摘出直後から実験動物をラット用代謝ケージ（夏目製作所、東京）に移行させ、24時間における蓄尿量ならびに飲水量を換算し解析した。

(5) **血液・尿検査、腎重量および腎組織の病理学的所見**：DOCA処置90日後に全ラットを深麻酔（ネブタール、45mg/kg, i.p.）し、左心室から20G採血針で可能な限り採血後、直ちに腎を摘出して重量測定した。採取した尿および血液はTable I-IIIに示した項目の生化学的検査（Table IおよびTable IIは自動化学分析装置：Auto

Table I Effects of CJ-01 treatment on biochemical changes in the blood examination of sham-operated or hemi-nephrectomized rats with or without DOCA-NaCl treatment.

		Sham/NaCl		Hemi-nephrectomy/DOCA-NaCl		
		Con	CJ	Con	Pre	Post
TP	(g/dl)	5.4±0.4	5.4±0.2	4.0±0.5*	4.6±0.3	4.1±0.4*
AL	(g/dl)	3.3±0.3	3.3±0.1	2.1±0.3*	2.6±0.3	2.2±0.5*
A/G ratio		1.5±0.1	1.6±0.1	1.1±0.1*	1.3±0.2	1.1±0.2*
BUN	(mg/dl)	20.5±1.2	21.0±1.6	53.4±4.4*	22.8±3.1☆	29.7±2.8*☆
Creatinin	(mg/dl)	0.7±0.1	0.7±0.2	0.7±0.1*	0.7±0.1	0.6±0.1
T-Cho	(mg/dl)	67±13	54±6	195±14 *	118±21*☆	132±25 *☆
HDL-Cho	(mg/dl)	50±8	43±5	120±4 *	57±9 ☆	69±9 ☆
TG	(g/dl)	23±12	61±3	58±17	37±7	37±8
GOT	(IU/l)	147±6	127±18	128±15	120±21	146±16
GPT	(IU/l)	34±2	35±2	57±2 *	36±4 ☆	46±9
ALP	(IU/l)	143±10	160±9	95±4 *	134±12 ☆	121±12 ☆
LDH	(IU/l)	2394±243	2478±342	2013±159	1731±516	1941±265
CRP	(mg/dl)	0.4±0.1	0.4±0.1	0.5±0.1	0.3±0.1	0.5±0.1

Sham-con ; Sham rat orally administered with 1 % NaCl solution only, Sham CJ ; Sham rat orally administered with CJ-01+1 % NaCl solution, DOCA-con ; DOCA salt rat orally administered with 1 % NaCl solution only, DOCA-pre ; Treatment of CJ-01 started just after hemi-nephrectomy, DOCA-post ; Treatment of CJ-01 started when the highest blood pressure was detected at 41st after hemi-nephrectomy.

*; Significant differences from Sham-con group, * $p < 0.01$, ☆; Significant differences from DOCA-con group, ☆; $p < 0.01$.

Table II Effects of CJ-01 treatment on biochemical changes in the urine examination of sham-operated or hemi-nephrectomized rats with or without DOCA-NaCl treatment.

		Sham/NaCl		Hemi-nephrectomy/DOCA-NaCl		
		Con	CJ	Con	Pre	Post
UN	(mg/dl)	1357±136	1961±53	538±66 *	271±11 *☆	604±113*
Creatinine	(mg/dl)	32±2	56±2	14±3 *	8±1 *	18±3 *
Protein	(g/dl)	62±4	67±3	542±24 *	72±13 ☆	142±17 *☆
Gravity		1.03±0.00	1.03±0.00	1.02±0.00	1.02±0.00	1.03±0.00
Na	(mEq/l)	264±10	333±3	206±15 *	210±2 *	228±16
Cl	(mEq/l)	282±14	363±15	232±20 *	234±10 *	256±19
K	(mEq/l)	125±11	175±12	37±6 *	44±8 *	51±10 *
Ca	(mg/dl)	5.6±0.3	5.1±0.5	7.4±0.6*	8.4±1.6*	7.3±1.0*
Mg	(mg/dl)	0.4±0.1	0.2±0.0	1.9±0.2*	1.8±0.6*	1.3±0.1*☆
P	(μl/dl)	43±2	74±1	21±4 *	21±4 *	12±1 *☆

*; Significant differences from Sham-con group, * $p < 0.01$, ☆; Significant differences from DOCA-con group, ☆; $p < 0.01$.

Lab, Table III は Radio Immuno Assay 法) を行い、組織切片はヘマトキシリン・エオジン染色をして病理学的所見ならびに数量化した評価を基に解析を行った。数量化の評価は、増殖性変化、膜性変化ならびに分葉形成において行った。増殖性変化は軽度と重度、膜性変化は増殖した膜の厚さにより全体の 1/2 以下と 1/2 以上に分

け、分葉形成は 1 葉と 2 葉以上に分け、数値化した。

(6) 統計学的解析: 得られた成績は群間比較を Wilcoxon U-test で解析し 1 % 以内の危険率を持って有意な差があると判定した ($p < 0.01$)。

Table III Inhibitory effects of CJ-01 on the abnormal levels of renin related substances induced by the DOCA-NaCl and hemi-nephrectomy.

	Sham/NaCl		Hemi-nephrectomy/DOCA-NaCl		
	Con	CJ	Con	Pre	Post
Renin	3.1±0.7	5.2±0.8	0.2±0.0*	0.6±0.1*☆	0.3±0.1
Aldosterone	8.3±0.3	8.6±0.7	2.8±0.3*	7.7±1.4 ☆	7.5±1.3 ☆
Cortizol	3.6±0.1	3.5±0.2	1.3±0.2*	3.6±0.7 ☆	2.5±0.4 ☆
Angiotensin II	545±5	935±10	15±1 *	39±1 *☆	46±3 *☆

*; Significant differences from Sham-con group, * $p < 0.01$, ☆; Significant differences from DOCA-con group, ☆; $p < 0.01$.

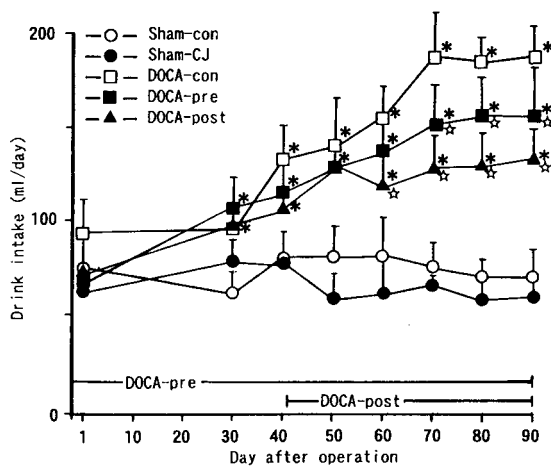


Fig. 1 Changes in total volume of intake after DOCA-NaCl treatment in the sham-operated or hemi-nephrectomized rat compared to either with or without CJ-01 treatment. DOCA-pre; Treatment of CJ-01 started just after hemi-nephrectomy. DOCA-post; Treatment of CJ-01 started when the highest blood pressure was detected at 41st day after hemi-nephrectomy.

*; Significant differences from Sham-con group, * $p < 0.01$, ☆; Significant differences from DOCA-con group, ☆; $p < 0.01$.

結 果

1. 尿量および飲水量の変動

Sham 群 (Sham-con および Sham-CJ 群) と片腎摘出群 (DOCA-con, DOCA-pre および DOCA-post 群) の飲水量を比較すると, DOCA 投与開始後から片腎摘出群の飲水量は Sham 群よりも増量しており左腎摘出 30 日以降では Sham 群と比較して統計的に有意な差を有する上昇 ($p < 0.01$) が確認できた (Fig. 1)。さらに, 片腎摘出群では CJ-01 飲用両群 (DOCA-pre, DOCA-post) の方が未処置群 (DOCA-con) と比較して飲水量の著明な減少が 70 日以降から認められた (Fig. 1)。尿量の変動は Sham 群と比較して片腎摘出群の方が左腎摘出 30

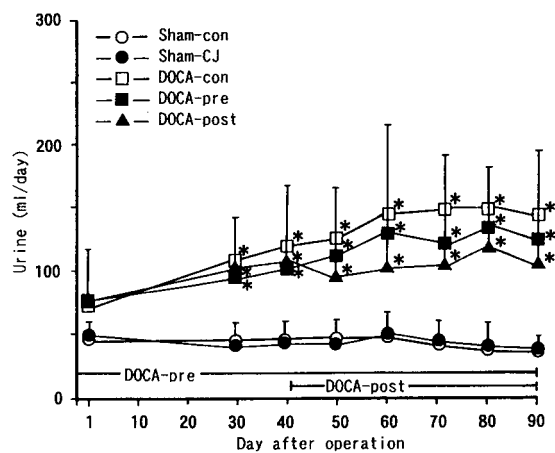


Fig. 2 Changes in total volume of urine after DOCA-NaCl treatment in the sham-operated or hemi-nephrectomized rat compared to either with or without CJ-01 treatment. DOCA-pre; Treatment of CJ-01 started just after hemi-nephrectomy. DOCA-post; Treatment of CJ-01 started when the highest blood pressure was detected at 41st day after hemi-nephrectomy.

*; Significant differences from Sham-con group, * $p < 0.01$

日以降で著明な増量が認められた ($p < 0.01$)。しかし, 片腎摘出群間では統計的に有意な差は認められなかった (Fig. 2)。

Fig. 3 に示すように, DOCA 投与群は 30 日まで急激, 且つ, 著明な血圧の上昇が認められ, 40 日以降から血圧は緩やかに上昇し 70 日目で最高値 (約 240 mmHg) に達した。その後, 血圧の上昇はほぼ一定となった。結果として, DOCA-NaCl 誘発の高血圧に対しては, いずれの CJ-01 飲用群 (DOCA-pre, DOCA-post) においても顕著な抑制作用は認められなかった。

2. 腎重量の変動

左腎摘出後 90 日目の Sham 群および DOCA 群の腎重量を比較した。Sham 群では CJ-01 を飲用させた群 (Sham-CJ), 未処置群 (Sham-con) もほぼ同じ重量で約 1.9 g であった (Fig. 4)。一方, DOCA-con 群の腎は約

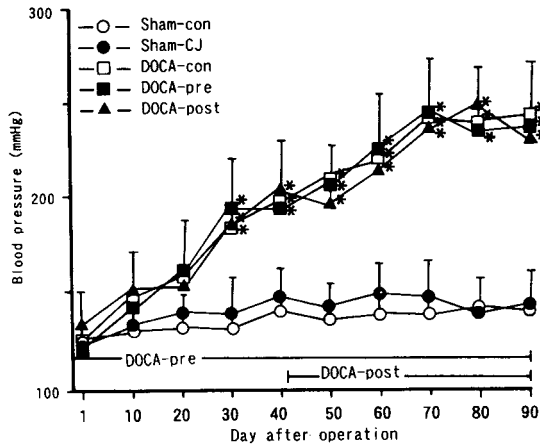


Fig. 3 Changes in blood pressure after DOCA-NaCl treatment in the sham-operated or hemi-nephrectomized rat compared to either with or without CJ-01 treatment. DOCA-pre; Treatment of CJ-01 started just after hemi-nephrectomy. DOCA-post; Treatment of CJ-01 started when the highest blood pressure was detected at 41st day after hemi-nephrectomy. *; Significant differences from Sham-con group, * $p < 0.01$

4 g と Sham 群と比較して著明な重量増加と共に著しい肥大が観察された。しかし、DOCA 群で CJ-01 を連続飲用させた群 (DOCA-pre) と腎摘出 41 日以降から連続服用させた群 (DOCA-post) の腎の肥大ならびに異常な腎重量の増加は未処置群 (DOCA-con) と比較して明らかな減少 ($p < 0.01$) が認められた (Fig. 4)。

3. 血液検査値の変動

Table I には左腎摘出後 90 日目の Sham 群および DOCA 群の血液検査値を比較した。Sham (Sham/NaCl) 群は CJ-01 の飲用有無において著明な差が認められる検査項目はなかった。一方、DOCA-con (Hemi-nephrectomy/DOCA-NaCl) 群は Sham-con 群と比較すると、総タンパク (TP), A/G 比, ALP, アルブミン (AL) 値の著明な低下が認められ、血中尿素窒素 (BUN), 総コレステロール (T-Cho), HDL-コレステロール (HDL-Cho), GPT の著明な上昇が計測された。しかし、DOCA 群における CJ-01 処置群 (Pre, Post) は未処置群 (con) と比較して、血中尿素窒素, 総コレステロール, HDL-コレステロール, GPT 等の値が著明に低下しており、殊に、Pre 群では Sham 群と比較して総コレステロールのみが統計的に有意な差を有する計測値であった。

4. 尿検査値の変動

Table II には左腎摘出 90 日後の Sham 群 (Sham/NaCl) および DOCA 群 (Hemi-nephrectomy/DOCA-NaCl) の尿検査値を比較した。Sham 群は CJ-01 の飲用有無の両群 (Con, CJ) において、尿素窒素 (UN), クレ

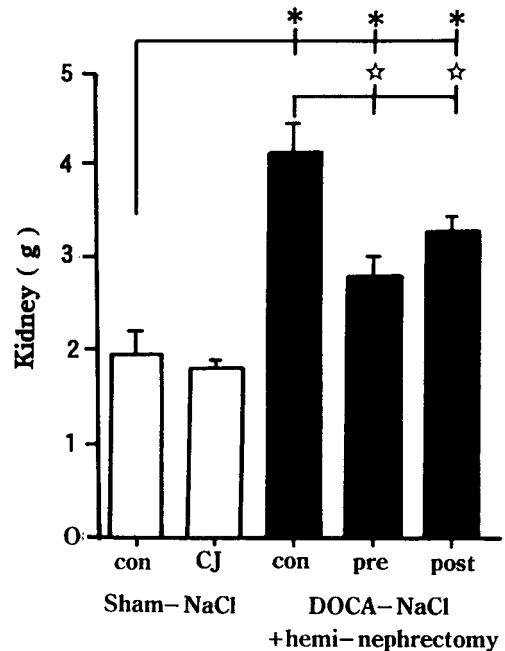


Fig. 4 Inhibitory effects of CJ-01 on the enlargement of kidney induced by the DOCA-NaCl/hemi-nephrectomy. *; Significant differences from Sham-con group, * $p < 0.01$, ☆; Significant differences from DOCA-con group, ☆ $p < 0.01$.

アチニンの増量, および, Ca, Mg を除く電解質の排泄が CJ-01 の飲用によって増加する結果が得られた。

DOCA 群は Sham 群と比較すると尿比重を除くいずれの検査項目でも著明な差が認められ ($p < 0.01$), 腎機能障害の発現が推察された。殊に、尿タンパク量の著しい増量が明らかとなった。一方、DOCA 群の CJ-01 服用群 (Pre, Post) は、タンパク質排泄に著明な改善効果が認められ、CJ-01 を片腎摘出した直後から処置した群 (Pre) では Sham 群とはほぼ同程度の計測値であった。

5. 血中内分泌物質の変動

腎ならびに循環系機能に関与する内分泌物質の中、レニン、アルドステロン、コルチゾール、アンギオテンシン II の変動について検索を行った成績を Table III に示す。Sham 群 (Sham/NaCl) は CJ-01 飲用有無の両群 (Con, CJ) において、CJ-01 投与によりレニンおよびアンギオテンシン II の上昇が認められた。DOCA 群 (Hemi-nephrectomy/DOCA-NaCl) と Sham 群を比較すると、殊に、CJ-01 未処置群 (Con) では高血圧性腎障害と深く関連性を有するレニン、アンギオテンシン II およびアルドステロンの著明な減少が認められた。さらに、コルチゾールの値も著明な低下が観察された。一方、DOCA 群のうち CJ-01 服用の両群共 (Pre, Post) に腎機能関連の内分泌物質低下に対する抑制効果が認められ



Fig. 5 (Photo) Pathological evidences on renal dysfunctions induced by the DOCA-NaCl/hemi-nephrectomy in the Sham-con (A), DOCA-con (B) and DOCA-pre (C) groups (original magnification: $\times 20$). These tissues were dyed with hematoxylin-eosin solution.

た。殊に、アルドステロンやコルチゾールの値は Sham 群の値までほぼ回復し、その他の測定値は Sham 群の値までの回復は示さないものの CJ-01 未処置群と比較すると有意な差をもって改善することが判明した。さらに、興味のあることは副腎機能関連の内分泌物質の低下を著明に改善することから内分泌機能の保護作用を有することが推測される。

6. 腎の病理組織学的所見

腎の病理組織写真および各群 4 ないし 5 例の病理所見の解析結果を表示した (Fig. 5, Table IV)。Sham 群 (Sham/NaCl) はいずれの腎においても顕著な組織障害は認められなかった (Fig. 5A)。いわゆる正常像を呈していた。しかし、DOCA 群 (Hemi-nephrectomy/DOCA-NaCl) はいずれも顕著な腎組織障害が認められた (Fig. 5B)。すなわち、尿細管上皮脱落、硝子円柱、間質炎 (Fig. 5B) や尿細管壊死脱落が明確であった。これらの病理所見は上述した剖見ならびに生化学的検査結果を支持するものとする。一方、CJ-01 服用群は病理組織所見で正常像を示す糸球体が散見された (Fig. 5C)。硬化性病変まで進行せずに分葉形成の像に留まっている糸球体が多かった。左腎摘出および DOCA-NaCl 連続投与群で CJ-01 処置と未処置群とで比較すると、処置群は組織障害の発現を抑制することが明らかとなった (Table IV)。さらに、CJ-01 の処置は糸球体以外の腎病変に対しても改善効果が認められた。

考 察

実験的高血圧-腎傷害モデル動物を作成して、食用キノコであるヒメマツタケの熱水抽出物質 CJ-01 の血圧および腎機能不全に及ぼす影響を検索した。

鉱質コルチコステロイドである DOCA と食塩を連続負荷した片腎摘出ラットは重症の腎性高血圧症モデル動

Table IV Inhibitory effects of CJ-01 on the pathological changes in kidney induced by the DOCA-NaCl and hemi-nephrectomy.

	Sham/NaCl		Hemi-nephrectomy/DOCA-NaCl		
	Con	CJ	Con	Pre	Post
I. Normal	80	79	1	1	5
II. Proliferative change	0	0	0	0	0
III. Membranal-proliferative change	0	0	0	0	1
IV. Membraneous change	0	0	0	0	1
V. Lobullar change	0	0	34	54	71
VI. Sclerosing change	0	0	44	25*	42*

*; Significant differences from hemi-nephrectomy control, * $p < 0.01$

物として、各種降圧・腎疾患改善薬の検定に以前から使用されている。^{7,8)} 本研究において、左腎摘出ラットに DOCA と食塩を連用した群では、処置 41 日後から DOCA 未処置群と比較して著明な血圧上昇が認められる時期とほぼ同時に尿排泄量の増大が計測された (Fig. 1)。この異常な増加に対して、CJ-01 は血圧上昇前(腎摘出翌日)から投与した群 (Sham-CJ 群および DOCA-pre 群)、および、血圧上昇後に投与した群 (DOCA-post 群) のいずれもは血圧上昇に対する抑制作用は認められなかった (Fig. 3) ものの著明な腎機能障害改善効果が認められた (Fig. 5, Table IV)。

付記するに、CJ-01 の血圧上昇に及ぼす影響に関する研究は既に自然発症高血圧ラットでは降圧作用を見いだしている。¹⁾ しかしながら、DOCA-NaCl 負荷-腎摘出ラットでの本研究は CJ-01 の顕著な降圧作用は得られなかった (Fig. 3)。

DOCA および NaCl による腎性高血圧の発現機序として、ナトリウムイオンと水分の過剰摂取によってこれらが腎に異常貯留し、しかも、片腎摘出と鉍質コルチコイド作用を有する DOCA によってナトリウム貯留作用が加わり循環障害の生じることが要因と考えられている事、ならびに中枢性の血圧調節も関与していることが判明している。^{8,10)} しかしながら、異常な血圧の上昇は片腎摘出を併用した状態やハイマン腎炎のような膜性腎炎を伴った状態の方が明確である。^{8,11,12)}

本研究で、左腎摘出をして DOCA/NaCl 処置ラットの飲水量は血圧上昇 (Fig. 1 および 3) と並行して増加し尿量も著明に増量した (Fig. 2)。しかも、この増量は血圧が著明に上昇した時点で、対照群と比較して著明な差として認められた。すなわち、先述したごとく外因性の過剰の鉍質コルチコイドとナトリウムの相乗効果で腎の Na バランスが崩壊し、腎機能不全から循環系の異常で血圧が上昇したものと考えられる。^{9,10,13)} 本研究成績で血中の総タンパク、HDL コレステロール値やタンパク尿の異常上昇、さらにはコルチゾールの異常減少、および Na や K などの電解質異常が DOCA/NaCl 処置ラットで観察され、これらの異常値は CJ-01 を服用したいずれの群も著明な改善が認められた (Table I, II, III)。これらの成績は DOCA/NaCl 処置によって誘発される腎機能障害の悪化する前および後のいずれの投与にも拘わらず CJ-01 は改善作用を有することを実証するものである。

一方、腎細胞系には広範なアンギオテンシン受容体のうち、Type I 受容体の分布が優位であることが知られており、レニン分泌はレニン-アンギオテンシン系の活性化を誘発させアルドステロン分泌から昇圧作用に関連す

る。¹⁴⁾ 殊に、レニン分泌とアンギオテンシン II とは強い相関性を有しており、血圧上昇ばかりでなく extracellular matrix に影響を及ぼし、異常増量を誘発することから腎障害を惹起させる。^{15,16)} しかしながら、DOCA-NaCl および片腎摘出ラットでの腎傷害および高血圧の発現にはレニン-アンギオテンシン系の直接関与を否定する説もあり、Na 貯留による機能性傷害が結果として中枢性血圧調節機構の異常や循環動態を悪化させ重篤な高血圧症を惹起させると示唆されている。¹⁷⁾ 本研究成績においても血中のレニン、アンギオテンシン II、アルドステロン値は DOCA-NaCl 処置によって著しく低下するが、これらの低下は CJ-01 投与によって抑制される。しかしながら、CJ-01 は DOCA-NaCl 誘発の腎障害には改善作用を有していたものの、血圧異常上昇には影響を及ぼさなかった。これらの結果はレニン-アンギオテンシン系と DOCA-NaCl 誘発の血圧異常上昇の直接関与は低いものと考えられる (Table III)。

片腎摘出ラットに DOCA ならびに NaCl を負荷することによって、高血圧を伴った重篤な尿細管系の排泄機能不全、さらには腎硬化症を誘発させる原因として、上記以外に電解質類のバランス崩壊、炎症性因子 (TGF- β 1 や extracellular matrix) の増量、さらには循環器系での ET-1 活性異常が示唆されている。^{18,22)}

すなわち、DOCA ならびに NaCl を負荷した片腎摘出ラットの高血圧ならびに腎機能傷害誘発の原因は多岐に亘ることから、CJ-01 の作用機序については本研究成績のみで詳細に議論することは困難である。しかし、Kim 等はアンギオテンシン II の Type I 受容体拮抗作用と extracellular matrix の修復作用を有する薬物 (TCV-116, enalapril) を 3 週間 DOCA-NaCl 負荷-腎摘出ラットに投与したところ血圧に影響を及ぼさないものの腎障害の著明な改善作用を認めた。¹⁶⁾

以上の知見ならびに本研究での形態学ならびに病理組織学的成績 (Fig. 4, Fig. 5)、ならびに、CJ-01 の構成成分を加味する⁶⁾ と、CJ-01 の腎機能障害改善作用発現機序の一つに extracellular matrix の修復作用が含まれることは示唆される。

結 論

高血圧症と関連する腎機能障害に対するヒメマツタケ (CJ-01) 子実体の熱水抽出物質の効果について検索を行った。

1) 左腎摘出ラットに DOCA ならびに NaCl 負荷を処置することによって重篤な腎機能不全が誘発された。しかも、この腎障害は尿細管壊死脱落を伴い、腎硬化症を惹

起するものであった。

2) CJ-01 連続服用は著明に DOCA 誘発の腎障害を改善し、しかも、投与開始時期（血圧の上昇前と後）によって差がなかったことから予防のみならず治療効果をも有する可能性が考えられた。

3) CJ-01 服用による腎機能障害改善作用発現機序の一つとして細胞外マトリックスの修復作用が考えられる。

4) CJ-01 服用は、腎不全、尿細管転送障害、腎硬化症、間質性腎炎、糸球体腎炎等の予防ならびに治療、腎移植予後治療、腎透析併用治療に効果的であると思われる。

謝 辞

本研究の一部は文部省科学研究費（基盤研究 B）（YW）によっておこなわれたものである。

References

- 1) Higaki, M.: The edible mushrooms and natural control. Seminar on agriculture and health science in 1993, pp.2-5, 1993. (松岡宮都: きのこと自然循環, セミナー-農業と健康, pp.2-5, 1993.)
- 2) Chihara, G., Maeda, Y., Hamuro, J., Sasaki, T. and Fukuoka, F.: Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes*. (Berk.) Sing. *Nature* **222**, 687-688, 1969.
- 3) Kosei Hakusho in 1997, 2nd Life-habit diseases, pp.50-79. Ed., MHW, Gyosei, Tokyo, 1997. (厚生白書平成9年版, 第2章生活習慣病, pp.50-79, 厚生省編, きょうせい, 東京.)
- 4) Higaki, M., Eguchi, F. and Watanabe, Y.: A stable culturing method and pharmacological effects of the *Agaricus blazei*. *Folia Pharmacol Jpn* **110**, 98-103, 1997. (松岡宮都, 江口文陽, 渡辺泰雄: 薬理活性を有するヒメマツタケの安定栽培法と効能, 日薬理誌 **110**, 98-103, 1997.)
- 5) Eguchi, F., Yoshimoto, H., Yoshimoto, T. and Higaki, M.: Physiological factors affecting mycelial growth of *Agaricus blazei*. *Mokuzai Gakkai* **40**, 666-671, 1994. (江口文陽, 吉本博明, 吉本高明, 松岡宮都: ヒメマツタケの菌糸成長に及ぼす要因, 木材学会誌 **40**, 666-671, 1994.)
- 6) Eguchi, F., Yoshimoto, H. and Higaki, M.: A year-round cultivation method of *Agaricus blazei* (CJ-01) and the effect of hot water extract from its fruit bodies. *DABIA* 511-518, 1997.
- 7) Brown, J.J., Fraser, R., Lever, A.F., Robertson, J.I.S.: Hypertension with aldosterone excess. *British Medical J.* **2**, 391-396, 1972.
- 8) Tikkanen, I., Fyhrquist, F., Miettinen, A. and Tornroth, T.: Autologous immune complex nephritis and DOCA-NaCl load: A new model of hypertension. *Acta path. Microbiol. Scand. Sect. A*, **88**, 241-250, 1980.
- 9) Gavras, H., Brunner, H.R., Laragh, J.H., Vaughan, E.D. Jr., Koss, M., Cote, L.J. and Gavras, I.: Malignant hypertension resulting from deoxycorticosterone acetate and salt excess, role of renin and sodium in vascular changes. *Circul Res* **36**, 300-314, 1975.
- 10) Schenk, J. and McNeill, J.H.: The pathogenesis of DOCA salt hypertension. *J. Pharmacol. Toxicol. Meth* **27**(3), 161-170, 1992.
- 11) Bernard, N.S., Alexander, E.A., Couser, W.G. and Lewinsky, N. G.: Renal sodium retention during volume expansion in experimental nephritic syndrome. *Kidney Int.* **14**, 478-485, 1978.
- 12) Churchill, P.C., et al.: Genetic susceptibility to hypertension induced renal damage in the rat. Evidence based on kidney specific genome transfer. *J. Clin. Investigation* **100**(6), 1373-1382, 1997.
- 13) Friedman, P.A.: Codependence of renal calcium and sodium transport. *Annu. Rev. Physiol.* **60**, 179-197, 1998.
- 14) Matsusaka, T. and Ichikawa, I.: Biological functions of angiotensin and its receptors. *Annu. Rev. Physiol.* **59**, 395-412, 1997.
- 15) Kagami, S., Border, W.A., Miller, D.E. and Noble, N.E.: Angiotensin II stimulates matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor β expression in rat glomerular mesangial cells. *J. Clin. Invest.* **93**, 2431-2437, 1994.
- 16) Kim, S., Ohta, K., Hamaguchi, A., Omura, T. and Yukimura, T.: Contribution of renal angiotensin II type 1 receptor to gene expressions in hypertension-induced renal injury. *Kidney Int.* **46**, 1346-1358, 1994.
- 17) Tikkanen, I.: Different blood pressure response to DOCA-NaCl treatment in autoimmune and N,N'-diacetylbenzidine induced nephropathies. *Acta path. Microbiol. Scand. Sect. C*, **89**, 193-197, 1981.
- 18) Border, W.A., Okuda, S., Languino, L.R., Sporn, M.B. and Ruoslahti, E.: Suppression of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor β 1. *Nature* **346**, 371-374, 1998.
- 19) Kuncio, G.S., Neilson, E.G. and Haverty, T.: Mechanism of tubulointerstitial fibrosis. *Kidney Int.* **39**, 550-556, 1991.
- 20) Kim, S., et al.: Role of angiotensin II in renal injury of deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Hypertension* **24**, 195-204, 1994.
- 21) Kohno, M., et al.: Renoprotective effects of a combined endothelin type A/type B receptor antagonist in experimental malignant hypertension. *Metabolism* **46**(9), 1032-1038, 1997.
- 22) Kohno, M., Yasunari, K., Murakawa, K., Ueda, M., Tatsumi, Y. and Yoshikawa, J.: Plasma immunoreactive endothelin 1 in essential hypertension. *Am. J. Med.* **88**, 614-618, 1990.