

## メタボリックシンドロームモデルラット (SHR/NDmcr-cp) における 肝臓水解物の血糖に及ぼす影響

井上尚典,<sup>a,b</sup> 日高修二,<sup>c</sup> 三浦直良,<sup>b</sup> 山田耕太郎,<sup>d</sup> 深堀勝博,<sup>d</sup>  
丸山真杉,<sup>e</sup> 河原 聡,<sup>a,c</sup> 太田一良,<sup>a,c</sup> 六車三治男<sup>\*,a,c</sup>

### Effects of Liver Hydrolysate on the Blood Glucose in Metabolic Syndrome Model Rats (SHR/NDmcr-cp)

Naonori Inoue,<sup>a,b</sup> Shuji Hidaka,<sup>c</sup> Naoyoshi Miura,<sup>b</sup>

Kotaro Yamada,<sup>d</sup> Masahiro Fukahori,<sup>d</sup> Masugi Maruyama,<sup>e</sup>

Satoshi Kawahara,<sup>a,c</sup> Kazuyoshi Ohta,<sup>a,c</sup> and Michio Muguruma<sup>\*,a,c</sup>

<sup>a</sup>Interdisciplinary Graduate School of Agriculture and Engineering, University of Miyazaki; 1-1 Gakuen Kibanadai-Nishi, Miyazaki 889-2192, Japan; <sup>b</sup>Consumer Healthcare Laboratories, Central Research Laboratories, Zeria Pharmaceutical Co., Ltd.; 2512-1 Oshikiri, Kumagaya, Saitama 360-0111, Japan; <sup>c</sup>Laboratory of Food Science and Nutrition, Department of Biochemistry and Applied Biosciences, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki; 1-1 Gakuen Kibanadai-Nishi, Miyazaki 889-2192, Japan; <sup>d</sup>Consumer Healthcare Products Development, Zeria Pharmaceutical Co., Ltd.; 10-11 Nihonbashi Kobuna-cho, Chuo-ku, Tokyo 103-8351, Japan; and <sup>e</sup>Department of Applied Physiology, Faculty of Medicine, University of Miyazaki; 5200 Kiyotake-cho Kihara, Miyazaki 889-1692, Japan.

(Received December 13, 2011; Accepted September 13, 2012)

Insulin resistance associated with visceral fat obesity has been suggested to be the pathological basis of metabolic syndrome. Many studies have demonstrated increased oxidant stress in diabetic patients and animal models of diabetes mellitus. In this study, the effect of liver hydrolysate administration on the blood glucose was examined in SHR/NDmcr-cp (SHR-cp) rats that show spontaneously occurring metabolic syndrome-like abnormalities. The SHR-cp rats were fed diets containing 5% liver hydrolysate for 12 weeks, and the fasting blood glucose and HbA1c were determined every 3 weeks. After administration of the liver hydrolysate-containing feed for 12 weeks, an oral glucose tolerance test was conducted and the plasma angiotensin II (AngII) concentrations were determined. The liver hydrolysate administration had no effect on the blood insulin levels in the oral glucose tolerance test, but significantly inhibited the *d*-glucose-induced increases of the blood glucose levels. Furthermore, the liver hydrolysate had almost no effect on the fasting blood glucose level, but tended to inhibit the increase of HbA1c. The plasma AngII concentration after the 12-week administration of liver hydrolysate remained significantly lower than that in the control group. These results indicate that a component of liver hydrolysate inhibits *d*-glucose-induced increase of the blood glucose level, and may improve insulin resistance. The angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibiting effect and antioxidant effect of liver hydrolysate may be involved in this effect.

**Key words**—liver hydrolysate; insulin resistance; angiotensin converting enzyme inhibition; angiotensin II; antioxidation; SHR/NDmcr-cp rat

## 緒 言

生活様式の欧米化に伴い、高血圧、糖尿病、脂質

<sup>a</sup>宮崎大学大学院農学工学総合研究科, <sup>b</sup>ゼリア新薬工業株式会社中央研究所コンシューマーヘルスケア研究部, <sup>c</sup>宮崎大学農学部応用生物科学科食品機能化学講座, <sup>d</sup>ゼリア新薬工業株式会社コンシューマーヘルスケア製品開発部, <sup>e</sup>宮崎大学医学部機能制御学講座

\*e-mail: muguruma@cc.miyazaki-u.ac.jp

異常症等の生活習慣病が大きな社会問題となっている。厚生労働省による平成19年の国民健康・栄養調査<sup>1)</sup>によれば、「糖尿病が強く疑われる人」及び「糖尿病の可能性が否定できない人」の推計は約2210万人とわが国の総人口の約17.5%を占めており、年々増加の一途をたどっている。

インスリン抵抗性は、インスリン分泌低下とともに2型糖尿病発症の重要な因子である。<sup>2)</sup> 内臓脂肪型肥満に伴って生じるインスリン抵抗性は、高血

庄, 高血糖, 脂質異常症が同一患者に重複し, 心筋梗塞, 狭心症等, 冠動脈疾患等の発症率が増大するメタボリックシンドロームの病態基盤であると指摘されている.<sup>3,4)</sup> 非糖尿病患者の心筋梗塞発症率は初発が3.5%, 再発が18.8%であるのに対し, 糖尿病患者では初発であっても20.2%の高率となり, 再発では45.0%に達すると報告されている.<sup>5)</sup> また, インスリン抵抗性は糖尿病の発症に先行する病態と考えられており,<sup>2)</sup> メタボリックシンドロームを有する者は新規に糖尿病を発症するリスクが約2-15倍高くなることが報告されている.<sup>6)</sup>

肝臓水解物は, 哺乳類の肝臓を酵素と熱処理によって加水分解したものであり, 低分子ペプチドを主成分として各種アミノ酸, ヌクレオチド, ビタミン, ミネラル等を含む。肝臓水解物は, 古くより, 肝臓機能障害を起こした患者に肝臓の成分を補うことを目的とした肝臓疾患の治療薬として使用されている。<sup>7-9)</sup> 肝臓水解物の作用として, 肝再生促進作用,<sup>10)</sup> 色素排泄の促進作用,<sup>11)</sup> 抗肝線維化作用,<sup>12)</sup> アルコール代謝促進作用<sup>13)</sup>等が実験的に明らかにされている。

また, 肝臓水解物はアンギオテンシン変換酵素(angiotensin converting enzyme; ACE) 阻害活性を有し, 高血圧自然発症ラットの血圧を低下させることが確認されている。<sup>14)</sup> また, 肝臓水解物は抗酸化活性を有することが報告されている。<sup>15)</sup> 加えて, 糖尿病を併発した慢性肝疾患患者において, 肝臓水解物製剤の投与により, 肝機能改善に加え, 血糖値の低下傾向が示されたとの報告もある。<sup>16)</sup>

レニン-アンギオテンシン系とインスリン抵抗性との関連が明らかにされてきており, 降圧剤であるACE 阻害薬やアンギオテンシン II 受容体拮抗薬(angiotensin II receptor blocker; ARB) が糖尿病の新規発症を抑制することが報告されている。<sup>17-19)</sup> さらに, 酸化ストレスは, 糖尿病の発症・進展の一因であることが知られている。<sup>20,21)</sup>

そこで本研究では, メタボリックシンドローム様の異常を自然発症するモデル動物である SHR/NDmcr-cp (SHR-cp) ラットを用いて, 肝臓水解物投与の血糖に及ぼす影響について検討した。

## 材料と方法

### 1. 実験動物 8週齢雄性の SHR-cp ラットを

日本エスエルシー(株)より購入し, 1週間予備飼育した後に実験に使用した。SHR-cp ラットは1匹/ケージで飼育し, 予備飼育期間中は固形飼料(CRF-1, 日本チャールス・リバー(株))を, 実験期間中は粉末飼料(MF, オリエンタル酵母工業(株))を与えた。室温 23±1°C, 相対湿度 50±10%, 照明時間 12時間/日の条件下で飼育し, 水道水及び飼料は自由摂取させた。本研究は, 宮崎大学の動物実験委員会によって定められた宮崎大学動物実験規則に従い, 承認を得た上で実施した。

**2. 肝臓水解物の混餌飼料の調製方法** 肝臓水解物はゼリア新薬工業(株)より供与されたものを使用した。肝臓水解物の混餌飼料は, 粉末飼料の5%を肝臓水解物に代替して調製した。コントロール飼料及び肝臓水解物混餌飼料の成分は, Table 1 に示した。

**3. 肝臓水解物の投与プロトコル** SHR-cp ラットをコントロール群と肝臓水解物投与群の2群に分け, 各群の飼料を12週間与え, 各実験に用いた。

**4. 飼料摂取量及び体重の測定** 飼育期間中, 飼料摂取量は2-3日毎に測定し, 12週間の総摂取量を算出した。また, 体重は3週間毎に測定した。

**5. 収縮期血圧の測定** 収縮期血圧は, 18時間絶食後, 非観血式血圧測定装置(BP-98A, 株ソフトロン)を用いて尾動脈圧を測定した。収縮期血圧の測定は3週間毎に行った。なお, SHR-cp ラットは, 測定前に15分間保温(37°C)した。

**6. 空腹時血糖値及び糖化ヘモグロビン (glycated hemoglobin A1c; HbA1c) 値の測定** 空腹時血糖値及びHbA1c値は, 18時間絶食後, ラット尾静脈への穿刺による採血を行い, それぞれ自己検査用

Table 1. Nutritional Composition of the Diets Used in the Present Study

Ingredients	Control diet (%)	Liver hydrolysate diet (%)
Moisture	7.2	7.0
Crude protein	23.7	26.3
Crude fat	5.2	4.9
Crude fiber	2.7	2.6
Ash content	5.8	5.8
Carbohydrate	55.4	53.4
Total	100	100

グルコース測定器 (メディセーフミニ, テルモ(株)) 及びグリコヘモグロビン A1c キット (DCA2000HbA1c カートリッジ, バイエルメディカル(株)) を用いて測定した。空腹時血糖値及び HbA1c 値の測定は 3 週間毎に行った。

**7. 経口糖負荷試験における血糖値及び血中インスリン値の測定** 12 週間飼育した SHR-cp ラットに *d*-グルコース溶液 (0.75 g/mL) を 2 mL/kg の用量で経口投与した。血糖値及び血中インスリン値は、*d*-グルコース投与前及び投与 30, 60, 90, 120 分後に測定した。血糖値の測定方法は空腹時血糖値の測定と同様に行った。血中インスリン値は、超高感度ラットインスリン測定キット (株森永生科学研究所) を用いて ELISA 法により測定した。SHR-cp ラットは経口糖負荷試験の 18 時間前から絶食させた。

**8. 血漿中のアンジオテンシン II (AngII) 濃度の測定** 12 週間飼育後の SHR-cp ラットの血液を採取し、血漿中 AngII 濃度を Angiotensin II (Human, Rat, Mouse, Canine)-EIA kit (Phoenix Pharmaceuticals, Inc.) を用いて ELISA 法により測定した。

**9. 統計学的解析** 得られた実験値はすべて平均値±標準偏差 (mean±S.D.) で示した。同一個体で反復測定を行った測定値に対しては次の統計学的検討を行った。測定時間あるいは測定時期の要因に対応のある二要因の分散分析を行い、有意な測定時間あるいは測定時期×群の交互作用が認められた場合には、測定時間毎あるいは測定時期毎に 2 群について分散分析を行い比較した。その他の測定値に対しては 2 群間の検定には Student の *t* 検定を行った。統計学的有意性は危険率 5% を基準として判定した。

## 結 果

### 1. 肝臓水解物の体重及び総摂取量に及ぼす影響

3 週間毎に測定した体重推移を Fig. 1 に示した。コントロール群及び肝臓水解物投与群は加齢とともに体重は増加した。体重に対して、測定時期の要因に対応のある二要因の分散分析を行った結果、有意な測定時期×群の交互作用は認められなかった。飼料の総摂取量も両群に有意な差は認められなかった (Table 2)。

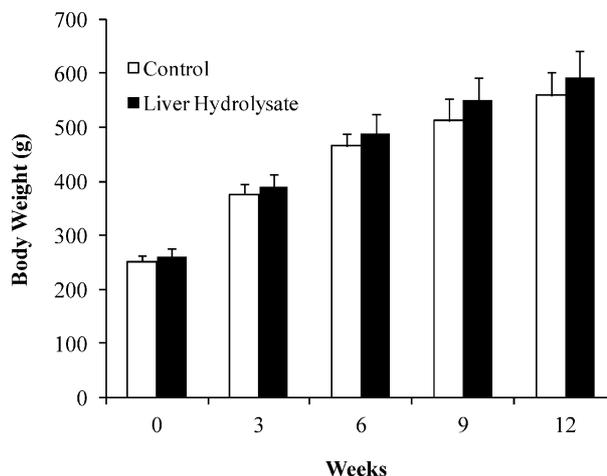


Fig. 1. Effect of Liver Hydrolysate on the Body Weigh in SHR/NDmcr-cp Rat

The liver hydrolysate-treated group was given diet supplemented with 5 % liver hydrolysate for 12 weeks. Each column represents the mean±S.D. of six rats.

Table 2. Total Food Intake during the Experiment

	Total food intake (g)
Control diet	2601.0±76.2
Liver hydrolysate diet	2560.2±122.4

Each value represents the mean±S.D.

**2. 肝臓水解物の収縮期血圧に及ぼす影響** 3 週間毎に測定した収縮期血圧の結果を Fig. 2 に示した。収縮期血圧に対して、測定時期の要因に対応のある二要因の分散分析を行った結果、有意な測定時期×群の交互作用は認められなかった。

**3. 肝臓水解物の空腹時血糖値及び HbA1c 値に及ぼす影響** 3 週間毎に測定した空腹時血糖値及び HbA1c 値の結果を Fig. 3 に示した。空腹時血糖値及び HbA1c 値に対して、それぞれ、測定時期の要因に対応のある二要因の分散分析を行った結果、HbA1c 値に対して、有意な測定時期×群の交互作用が認められた ( $p < 0.01$ )。そのため、HbA1c 値に対して測定時期毎に分散分析を行ったが、いずれの時期においても有意差は認められなかった。

**4. 肝臓水解物の経口糖負荷試験における血糖値及び血中インスリン値に及ぼす影響** 12 週間混餌投与後の SHR-cp ラットの経口糖負荷試験における血糖値及び血中インスリン値の測定を行った (Fig. 4)。血糖値及び血中インスリン値に対して、それぞれ、測定時間の要因に対応のある二要因の分

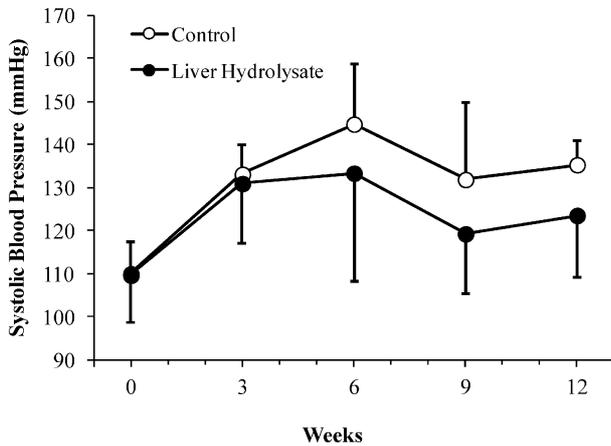
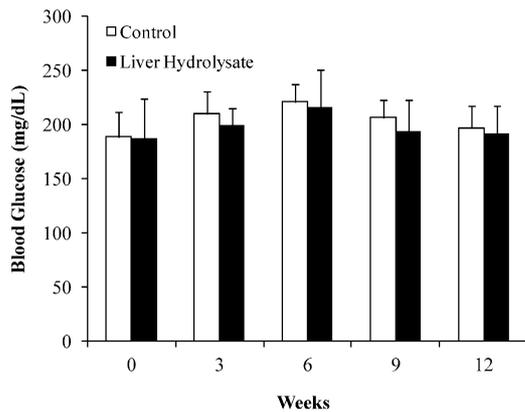


Fig. 2. Effect of Liver Hydrolysate on Systolic Blood Pressure in SHR/NDmcr-cp Rat

The liver hydrolysate-treated group was given diet supplemented with 5 % liver hydrolysate for 12 weeks. Each point represents the mean  $\pm$  S.D. of six rats.

a) Blood Glucose



b) HbA1c

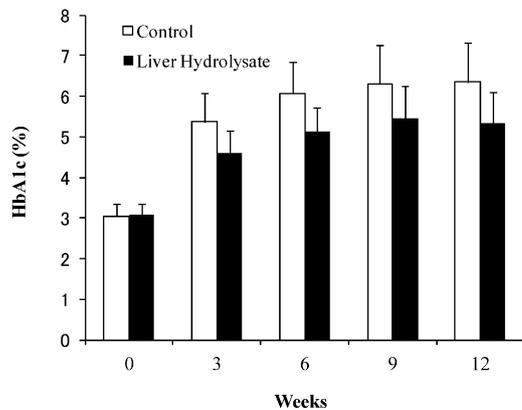
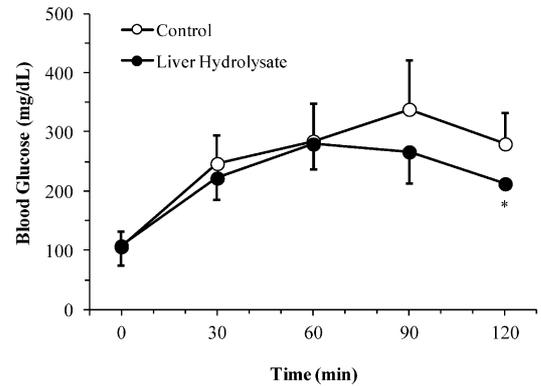


Fig. 3. Effect of Liver Hydrolysate on Fasting Blood Glucose (a) and Fasting Serum HbA1c Levels (b) in SHR/NDmcr-cp Rat

The liver hydrolysate-treated group was given diet supplemented with 5 % liver hydrolysate for 12 weeks. Each column represents the mean  $\pm$  S.D. of six rats. Repeated-measures ANOVA revealed a significant treatment  $\times$  time interaction for serum HbA1c levels ( $p < 0.01$ ).

a) Blood Glucose



b) Blood Insulin

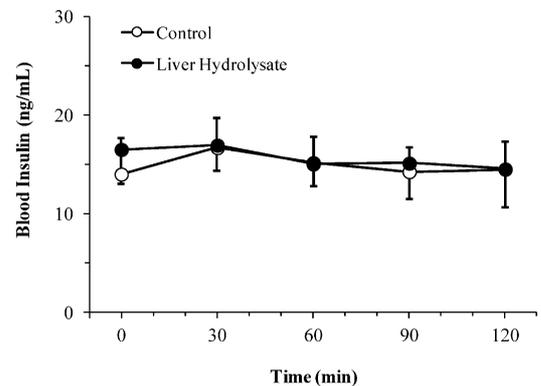


Fig. 4. Effect of Liver Hydrolysate on Blood Glucose Levels (a) and Blood Insulin Levels (b) after Glucose Loading in SHR/NDmcr-cp Rat

The liver hydrolysate-treated group was given diet supplemented with 5 % liver hydrolysate for 12 weeks. After 18 h fast, 1.5 g/kg body weight of *D*-glucose was administered orally. A small amount of blood was collected at 0, 30, 60, 90 and 120 min after administration of *D*-glucose. Each point represents the mean  $\pm$  S.D. of six rats. Repeated-measures ANOVA revealed a significant treatment  $\times$  time interaction for blood glucose levels ( $p < 0.05$ ). \* $p < 0.05$ , significant difference from the control groups (post-hoc one-way ANOVA at 12 week).

散分析を行った結果、血糖値に対して有意な測定時間  $\times$  群の交互作用が認められた ( $p < 0.05$ )。そのため、血糖値に対して測定時間毎に分散分析を行った。その結果、投与 120 分後において群間の有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。

##### 5. 肝臓水解物の血漿中 AngII 濃度に及ぼす影響

12 週間混餌投与後の SHR-cp ラットの血漿中 AngII 濃度を測定した (Fig. 5)。その結果、肝臓水解物投与群の血漿中 AngII 濃度は、コントロール群の血漿中 AngII 濃度と比較して有意に低値を示した ( $p < 0.05$ )。

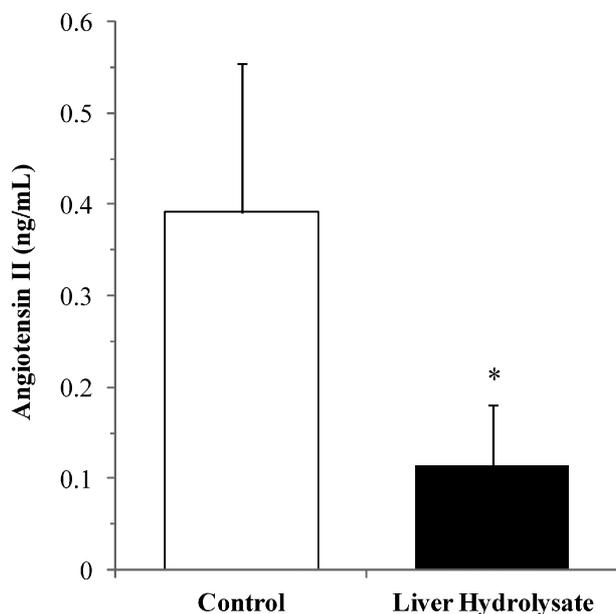


Fig. 5. Effect of 12-Weeks Treatment with Liver Hydrolysate on Plasma Angiotensin II Level in SHR/NDmcr-cp Rat

The liver hydrolysate-treated group was given diet supplemented with 5 % liver hydrolysate for 12 weeks. Each column represents the mean  $\pm$  S.D. of six rats. \* $p < 0.05$ , significantly different from the control group, (Student's *t* test).

## 考 察

本研究では、レプチン受容体遺伝子変異による過食と遺伝的高血圧により、肥満、高血圧、高血糖、高脂血症、高インスリン血症、インスリン抵抗性といったメタボリックシンドローム様の異常を自然発症する SHR-cp ラット<sup>22)</sup>を用いて、ACE 阻害作用及び抗酸化作用を有すると報告されている肝臓水解物投与の血糖に及ぼす影響について検討した。SHR-cp ラットに 5% 肝臓水解物 12 週間摂取後に *d*-グルコース経口投与による糖負荷試験を行った結果、肝臓水解物投与は、血中インスリン値に影響を及ぼさなかったものの、糖負荷後の血糖上昇を有意に抑制した。空腹時血糖値に対しては、肝臓水解物投与は影響を及ぼさなかった。したがって、肝臓水解物は SHR-cp ラットのインスリン感受性を改善したと考えられる。

最近の臨床試験である FISIC 研究<sup>23)</sup>において、ACE 阻害薬のイミダプリルの投与は、高血圧以外に 1 つ以上の心血管疾患危険因子を有する軽症～中等症の高血圧患者のインスリン抵抗性を改善させた。空腹時血糖値及び血中インスリン濃度には影響を与えなかったとの結果が得られている。ACE 阻

害薬あるいは ARB は、他の臨床試験<sup>24,25)</sup>及び各種のモデルラット (KK-Ay マウス,<sup>26,27)</sup> OLETF ラット,<sup>28)</sup> Zucker ラット,<sup>29)</sup> フルクトース負荷高血圧モデルラット<sup>30)</sup>において、糖負荷時の血糖上昇の亢進を抑制することが報告されている。AngII は、血管平滑筋細胞<sup>31)</sup>や心筋<sup>32)</sup>において、インスリンによる IRS-1 や PI3 キナーゼ等の細胞内シグナル伝達系の活性化を抑制することが報告されており、AngII の生成を抑制する ACE 阻害薬及び AngII の受容体を遮断する ARB は、骨格筋及び脂肪細胞において IRS-1 のチロシンリン酸化、IRS-1 と PI3 キナーゼの結合、PI3 キナーゼ活性の促進及び GLUT4 の細胞膜への移行増加<sup>27)</sup>を示し、骨格筋へのグルコースの取り込みを促進すること<sup>26,29)</sup>が明らかにされている。骨格筋への糖の取り込みは、糖負荷によって増加した血糖値を低下させる役目を果たすため、ACE 阻害薬による骨格筋のインスリン抵抗性の改善は、糖負荷後の血糖値上昇の亢進に対する改善効果に関与するものと考えられる。本研究において、肝臓水解物を 12 週間投与した群では血漿中 AngII 濃度はコントロール群に比べ低値を示した。肝臓水解物は ACE 阻害活性を有するペプチドを含有する可能性が示されている<sup>14)</sup>ことから、本研究における糖負荷後の血糖値抑制効果は、肝臓水解物に含まれる ACE 阻害ペプチドによってインスリン抵抗性が改善し、骨格筋や脂肪細胞への糖の取り込みを促進させたことにより示された可能性が考えられる。

肝臓水解物を 12 週間投与した群では血漿中 AngII 濃度はコントロール群に比べ低値を示したが、収縮期血圧はコントロール群に比べ低下傾向がみられたものの有意差は認められなかった。SHR ラットを用いた試験<sup>33)</sup>において、血漿中 AngII 濃度が 16.5 pg/mL のときの血圧が前の週の血圧より上昇しているという結果が得られていることから、肝臓水解物投与群の血漿中 AngII 濃度が約 115 pg/mL である本研究においても血圧の低下が認められなかった可能性が考えられる。正常血圧のインスリン依存性糖尿病患者に低用量のカプトプリルを 4 年間投与したところ、糖尿病性腎症の進展が予防されたとの報告<sup>34)</sup>があり、血圧が低下しなくとも血中の AngII 濃度を低く抑えることは、糖尿病患者にとって重要なことと考えられる。

SHR-cp ラットは 14 週齢まで収縮期血圧の上昇が認められ、それ以降 44 週齢まではほぼ定常状態であり、あまり上昇していない。<sup>35)</sup> 本研究に用いた SHR-cp ラットの収縮期血圧は、両群ともに 6 週目 (15 週齢) から 9 週目 (18 週齢) にかけて低下しているように見えるが、SHR-cp ラットの収縮期血圧は 14 週齢以降、あまり上昇しないことから、6 週目から 9 週目にかけて低下しているように見えるのは、バラツキによるものと考えられる。

SHR-cp ラットにおいて、抗酸化活性を有するアスタキサンチン (50 mg/kg/d, 22 週間投与) がインスリン抵抗性を改善すること<sup>36)</sup>が報告されている。また、C57BL/6J マウスへの脂肪持続注入により骨格筋のインスリン抵抗性を誘発させるモデルにおいて、グルタチオン (100  $\mu$ mol/kg/h, 4 時間注入) 及び抗酸化剤であるテンポール (16  $\mu$ mol/kg/min, 4 時間注入) の併用投与はインスリン抵抗性の発現を抑制すること、<sup>37)</sup> フルクトース負荷高血圧モデルラットにおいて、抗酸化活性を有するタウリン (300 mg/kg/d, 35 日間投与) がインスリン抵抗性を改善すること<sup>38)</sup>等、インスリン抵抗性改善と抗酸化作用との関連性が報告されている。肝臓水解物は抗酸化性のペプチドを有する可能性が示されており、<sup>14)</sup> 本研究で認められた糖負荷後の血糖値抑制効果には、肝臓水解物の抗酸化性ペプチドに基づくインスリン抵抗性の改善が関与している可能性も考えられる。

本研究において、肝臓水解物は空腹時血糖値に対してはほとんど影響を及ぼさなかったが、HbA1c 値の上昇を抑制させる傾向が認められた。この HbA1c 値の抑制傾向は、肝臓水解物による食後の血糖値の低下を反映した効果であると考えられる。2 型糖尿病患者において、空腹時血糖値よりも食後血糖値が心血管イベント発生のリスク因子であることが報告されている。<sup>39)</sup> また、インスリン抵抗性は糖尿病の発症に先行する病態と考えられており、ACE 阻害作用及び抗酸化作用を有する肝臓水解物あるいはその精製物は、肝疾患のみならず、インスリン抵抗性を改善し糖尿病の新規発症抑制に寄与する可能性が考えられる。

以上、本研究により、肝臓水解物がメタボリックシンドロームモデル動物である SHR-cp ラットにおいて糖負荷後の血糖上昇の亢進を抑制する効果が示

され、肝臓水解物がインスリン抵抗性を改善する可能性が示唆された。

## REFERENCES

- 1) Ministry of Health, Labour and Welfare: <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2008/12/h1225-5.html>, cited 18 October, 2011.
- 2) Sumida Y., *Medicina*, **42**, 216–220 (2005).
- 3) Reaven G. M., *Diabetes*, **37**, 1595–1607 (1988).
- 4) DeFronzo R. A., Ferrannini E., *Diabetes Care*, **14**, 173–194 (1991).
- 5) Haffner S. M., Lehto S., Rönnemaa T., Pyörälä K., Laakso M., *N. Engl. J. Med.*, **339**, 229–234 (1998).
- 6) Nakanishi N., Takatorige T., Fukuda H., Shirai K., Li W., Okamoto M., Yoshida H., Matsuo Y., Suzuki K., Tataru K., *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **64**, 59–70 (2004).
- 7) Sanbe K., Fujisawa K., Ueno Y., Kawada H., Okumura H., Iwamura K., Obata H., Hirayama C., Ota Y., Takino T., Suzuki H., Shikata T., Onoda T., *Rinsho to Kenkyu*, **55**, 2842–2853 (1978).
- 8) Fujisawa K., Suzuki H., Yamamoto S., Hirayama C., Shikata T., Sanbe K., *Kan Tan Sui*, **4**, 801–819 (1982).
- 9) Nakajima O., *J. New Remedies & Clinics*, **48**, 1618–1626 (1999).
- 10) Fukuda Y., Sawata M., Washizuka M., Higashino R., Fukuta Y., Tanaka Y., Takei M., *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **114**, 233–238 (1999).
- 11) Nagai K., *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi*, **67**, 633–639 (1970).
- 12) Hirayama C., Kishikawa H., Kume T., Tada H., *Nissin Igaku*, **45**, 528–533 (1958).
- 13) Washizuka M., Hiraga Y., Furuichi H., Izumi J., Yoshinaga K., Abe T., Tanaka Y., Tamaki H., *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **111**, 117–125 (1998).
- 14) Inoue N., Hamasaki A., Hidaka S., Miura N., Fukahori M., Maruyama M., Kawahara S., Ohta K., Muguruma M., *Yakugaku Zasshi*, **133**, 107–115 (2013).
- 15) Aimoto T., Hirata M., Hiraki Y., Dote C., Inoue N., Imai K., *Yakugaku Zasshi*, **114**, 89–93 (1994).

- 16) Tsutsui S., Murabayashi N., Saitou T., Takekoshi I., Hamasaka M., *J. New Remedies & Clinics*, **44**, 1570–1580 (1995).
- 17) Hansson L., Lindholm L. H., Niskanen L., Lanke J., Hedner T., Niklason A., Luomanmäki K., Dahlöf B., de Faire U., Mörlin C., Karlberg B. E., Wester P. O., Björck J. E., *Lancet*, **353**, 611–616 (1999).
- 18) Yusuf S., Sleight P., Pogue J., Bosch J., Davies R., Dagenais G., *N. Engl. J. Med.*, **342**, 145–153 (2000).
- 19) Yusuf S., Ostergren J. B., Gerstein H. C., Pfeffer M. A., Swedberg K., Granger C. B., Olofsson B., Probstfield J., McMurray J. V., *Circulation*, **112**, 48–53 (2005).
- 20) Baynes J. W., *Diabetes*, **40**, 405–412 (1991).
- 21) Rains J. L., Jain S. K., *Free Radic. Biol. Med.*, **50**, 567–575 (2011).
- 22) Yamamoto J., Ikeda K., Nara Y., Iemori Y., *Himan Kenkyu*, **10**, 329–330 (2004).
- 23) Fogari R., Zoppi A., Salvadeo S. A., Mugellini A., Lazzari P., Santoro T., Derosa G., *Hypertens. Res.*, **34**, 509–515 (2011).
- 24) Sekiya M., Yamasaki Y., Tsujino T., Shiba Y., Kubota M., Kawamori R., Kamada T., *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **29**, 49–56 (1995).
- 25) van der Zijl N. J., Moors C. C., Goossens G. H., Hermans M. M., Blaak E. E., Diamant M., *Diabetes Care*, **34**, 845–851 (2011).
- 26) Shiuchi T., Cui T. X., Wu L., Nakagami H., Takeda-Matsubara Y., Iwai M., Horiuchi M., *Hypertension*, **40**, 329–334 (2002).
- 27) Shiuchi T., Iwai M., Li H. S., Wu L., Min L. J., Li J. M., Okumura M., Cui T. X., Horiuchi M., *Hypertension*, **43**, 1003–1010 (2004).
- 28) Oda N., Sawai Y., Itoh Y., Hayakawa N., Kato R., Shimazaki K., Mokuno T., Kotake M., Nishida Y., Hamada M., Masunaga R., Nakai A., Itoh M., Nagasaka A., *Nippon Nainbumpi Gakkai Zasshi*, **73**, 487–493 (1997).
- 29) Henriksen E. J., Jacob S., Kinnick T. R., Teachey M. K., Krekler M., *Hypertension*, **38**, 884–890 (2001).
- 30) Navarro-Cid J., Maeso R., Perez-Vizcaino F., Cachafeiro V., Ruilope L. M., Tamargo J., Lahera V., *Hypertension*, **26**, 1074–1078 (1995).
- 31) Folli F., Kahn C. R., Hansen H., Bouchie J. L., Feener E. P., *J. Clin. Invest.*, **100**, 2158–2169 (1997).
- 32) Velloso L. A., Folli F., Sun X. J., White M. F., Saad M. J., Kahn C. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 12490–12495 (1996).
- 33) Kawano S., Aoki M., Hori S., *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, **39**, 465–471 (1986).
- 34) Mathiesen E. R., Hommel E., Giese J., Parving H. H., *BMJ*, **303**, 81–87 (1991).
- 35) Yamamoto J., Ikeda K., Yamori Y., *Adiposcience*, **2**, 243–248 (2005).
- 36) Hussein G., Nakagawa T., Goto H., Shimada Y., Matsumoto K., Sankawa U., Watanabe H., *Life Sci.*, **80**, 522–529 (2007).
- 37) Kim B. S., Cha H. N., Kim Y. W., Kim J. Y., Dan J. M., Park S. Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **110**, 370–380 (2009).
- 38) El Mesallamy H. O., El-Demerdash E., Hammad L. N., El Magdoub H. M., *Diabetol. Metab. Syndr.*, **2**, 46–56 (2010).
- 39) Cavalot F., Petrelli A., Traversa M., Bonomo K., Fiora E., Conti M., Anfossi G., Costa G., Trovati M., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **91**, 813–819 (2006).