

氏名(本籍) 小野利夫

学位の種類 医学博士

学位記番号 医第2083号

学位授与年月日 平成元年2月22日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

最終学歴 昭和56年3月
東北大学医学部医学科卒業

学位論文題目 NIDDMモデルラットの耐糖能障害およびインスリン分泌障害の機序について

(主査)
論文審査委員 教授 豊田隆謙 教授 岡本 宏
教授 佐藤 徳太郎

論文内容要旨

【目 的】

インスリン非依存性糖尿病（NIDDM）の本態はインスリン作用の相対的な不足にあると考えられ、インスリン分泌量の低下とインスリン感受性の低下が挙げられる。分泌低下に注目してみると、ヒトNIDDMではインスリン初期反応低下と耐糖能障害は密接に関連している。また、分泌低下は膵B細胞の量的な減少によるという考えもある。NIDDMの耐糖能低下・インスリン分泌減少・含量減少の間の量的な関係を知るために、Streptozotocin（STZ）で作製した糖尿病ラットを用いて本研究を行なった。また临床上ヒトNIDDMは多様な病態を示し、実験動物にも種々のNIDDMモデルが存在する。そこでSTZラットの結果を基にして、自然発症のNIDDMモデルである後藤・柿崎ラット（GKラット）およびWBNラットのインスリン分泌障害の機序についても比較検討した。

【対 象】

STZ糖尿病ラットは生後1.5日のウィスター雄ラットに、I群30mg/kg、II群60mg/kg、III群90mg/kg、IV群120mg/kg体重のSTZを投与して作製し2か月齢で実験に用いた。GKラットも2か月齢の雄ラットを用いた。WBNラットは、2・5・10か月齢の雄ラットを用いた。

【方 法】

①経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）は体重kgあたりブドウ糖を2g経口投与して行った。②摘出膵灌流実験は豊田らの方法に従って行なった。グルコースおよびアルギニンに対する反応を調べるために、摘出膵をグルコース濃度4mMで20分間前灌流した後に、グルコース濃度を8.3mMに増加して10あるいは15分間灌流した。次いでアルギニン10mMを添加して5分間灌流した。またGKラットのインスリン分泌低下の機序を調べるためにCytochalasin-B（CCB）に対するインスリン反応も観察した。摘出膵をグルコース濃度4mMで灌流しCCB 5ug/ml、10ug/mlを20分間添加した。次にCCBの存在下でグルコース濃度を8.3mMに変えて15分間灌流した。③インスリン含量はKennyの方法に従ってインスリンを抽出し測定した。

【成 績】

①STZ糖尿病ラットではOGTTの血糖曲線はSTZ投与量の増加に応じて上昇した。前値から120分値までの血糖値の総和（ Σ BG）は対照群が490.8、I群639.1、II群722、III群794.6、

IV群1051.1mg/dlであった。灌流実験では、1相目のインスリン分泌増加量は対照群を100として、I群51%、II群33%、III群11%、IV群6.6%であった。膵1個あたりインスリン含量は、対照を100とするとI群48.9%、II群38.9%、III群31.2%、IV群18.8%であった。②GKラットのΣBGは1211.4mg/dlであった。灌流実験では、高濃度グルコース刺激によるインスリン分泌1相目が全く認められなかった。グルコース濃度4mMの下でCCBを添加するとインスリン分泌は2相性に上昇した。次いでCCB存在下にグルコース濃度を4mMから8.3mMに増加すると、CCB非存在下では全く認められなかったインスリン分泌初期相が観察された。膵1個あたりのインスリン含量は対照の70%であった。GKラットのB顆粒数は電顕写真上、対照より多い傾向を示した。③WBNラットのΣBGは2・5・10か月齢で各々557.8、709、1243.4mg/dlであった。グルコース刺激インスリン分泌の1相目は5か月齢・10か月齢で低下した。インスリン含量も5・10か月齢と順次低下した。④各変量の関係を見ると、STZ糖尿病ラットではΣBGと1相目のインスリン分泌増加量、ΣBGとインスリン含量の間に各々相関係数0.89、0.87の曲線相関が認められた。また、1相目のインスリン分泌増加量とインスリン含量の間には相関係数0.93の正の直線相関がみられた。WBNラットの1相目のインスリン分泌増加量と含量の関係はSTZモデルに類似したが、GKラットではSTZモデルの回帰直線からはずれていた。

【結 論】

①STZで作製したNIDDMモデルラットでは、インスリン含量の減少で代表されるようなB細胞量の減少が耐糖能低下の大きな要因になっていることが明かにされた。またB細胞量の減少はグルコース刺激による1相目のインスリン分泌増加量の低下とも深く関わっていることが示された。②自然発症の非肥満型NIDDMモデルラットのうちWBNラットでは、STZ糖尿病ラットと類似した機序、すなわちB細胞量の減少によって1相目のインスリン分泌量の低下、耐糖能の低下が生じているものと推定された。しかし、GKラットではインスリン含量の減少に比べて、インスリン分泌増加量 耐糖能の低下が著しく、インスリンの開口放出の過程に何らかの障害があるものと考えられていた。このように、インスリン分泌低下に限ってみてもNIDDMの病態は一様ではないことを明らかにした。

審査結果の要旨

本論文はヒトインスリン非依存性糖尿病（NIDDM）でインスリン分泌初期反応低下と耐糖能障害が密接に関連していることに着目し、三種のNIDDMモデルラットにおける耐糖能低下・インスリン分泌減少・膵臓内インスリン含量減少の間の量的関係を検討したものである。

NIDDMモデルラットとして、Streptozotocin（STZ）を生後1.5日のウイスター雄ラットに30mg, 60mg, 90mg, 120mg/kg体重投与して作成した糖尿病ラット、自然発症糖尿病ラットとして、後藤・柿崎（GK）ラット（2カ月齢）、WBN雄ラット（2・5・10カ月齢）が用いられた。

STZ糖尿病ラットでは経口ブドウ糖負荷試験時の血糖曲線、及び前値から120分値までの血糖値の総和がSTZ投与量に比例して上昇した。血糖値の総和と膵血流実験での高濃度グルコース刺激下インスリン分泌の第一相におけるインスリン分泌増加量との間には相関係数0.89の負の曲線相関が認められた。また、膵臓内インスリン含量との間にも相関係数0.87の負の曲線相関が認められ、STZで作製したNIDDMモデルラットでは、インスリン含量の減少で代表されるようなB細胞量の減少が耐糖能低下の大きな要因になっていることが示唆された。さらに第一相目のインスリン分泌増加量とインスリン含量の間にも相関係数0.93の正の直線相関が見られたことから、B細胞量の減少がグルコース刺激による第一相のインスリン分泌増加量の低下とも深く関わっていることが示唆された。

自然発症NIDDMモデルラットのうちWBNラットは月齢とともに耐糖能が低下し、グルコース刺激下インスリン分泌第一相、インスリン含量も月齢とともに順次低下した。第一相目のインスリン分泌増加量と含量の関係はSTZモデルに類似しており、WBNラットでもB細胞量の減少によって第一相目のインスリン分泌量の低下、耐糖能の低下が生じていると推測された。

GKラットでは膵臓内インスリン含量の減少に比し、第一相目のインスリン分泌増加量・耐糖能の低下が著しく、STZラットやWBNラットでみられたような相関を認めなかった。GKラットのB細胞内顆粒数が電顕写真上、対照に比べ多い傾向にあったため、インスリンの開口放出の過程に何らかの障害があることが推測されたので、細胞膜下Cell Webの破壊をきたすCytochalasin-B（CCB）の効果を膵血流実験で試みたところ、CCB非存在下では全く認められなかったインスリン分泌第一相が観察された。

以上、本論文はインスリン分泌低下に限ってみてもインスリン非依存性糖尿病の病態が一様ではないことを、三種のモデルラットを使って明らかにした研究であり、学位に値するものと考えられる。