

平成 17 年度教員特別研究報告書

Ⅱ型糖尿病発生過程における生体組織酸化と抗酸化能の変化

高林 ふみ代¹、吉田直樹²

- 1) 静岡県立大学短期大学部第一看護学科
- 2) 静岡県立大学短期大学部歯科衛生学科

1 はじめに

Ⅱ型糖尿病は、インスリン感受性低下を本態とする全身性糖代謝機能不全であるが、摂取熱量増加・消費熱量減少とともに、近年本邦で増加している。また、潜在糖尿病患者も多いと予測され、21世紀の国民病になるのではないかと危惧されている。

研究者はこれまで、膵臓組織の酸化ストレス傷害と膵臓癌発生の可能性について実験動物を用いて検討し、酸化ストレスが膵臓がんの発生に関連する知見を得、発表した¹⁾。また、組織の酸化ストレス指標8-oxo-2'-deoxyguanosine(8-oxodG)の消長が老化や紫外線による組織傷害とも関連することを示した²⁻⁵⁾。

一方、糖尿病に関しても病状の進展と生体組織の酸化ストレス増大が関連することや疫学研究で膵臓癌の関連因子のひとつに糖尿病が上げられるなど、糖尿病と膵臓癌の膵組織酸化ストレスを介した関連が予想される。

本研究は、疫学研究で指摘されている糖尿病と膵臓癌発生の関連を生化学的に明らかにすることを目的とするが、本年度は NSY と ICR マウスの経時的組織酸化ストレス変化を測定する。しかし、100%の NSY がⅡ型糖尿病を発症するのに 50 週の飼育期間を要することから、今回は飼育と測定の完了した 12・24 週齢の結果を報告する。

2 方法

1) 動物組織試料の作成

雄性Ⅱ型糖尿病自然発生マウス(NSY)とその原種のICRマウス(雄性)各40匹(もに日本SLC、静岡)を、実験週齢(12、24、36、50週齢)まで短大部飼育施設で通常飼育(25±3℃、12hr毎明暗)した。餌はオリエンタルMF(オリエンタル酵母、東京)、飲水は水道水を自由摂取させた。ただし、飼育はまだ継続しており、結果を報告できるのは、24週齢までである。

2) 耐糖能の検討

12、24週齢に達した動物を2群(1群5匹)に分け14時間絶食後、一群に糖負荷試験(Glucose Tolerance Test: GTT)を施した。糖負荷量は、2g glucose/kg body weightとし、35%ブドウ糖液(70%大塚糖液を蒸留水で希釈したもの)をゾンデにより経口投与した。一時間後に血糖値を測定し耐糖能の変化を検討した。また、2群ともに膵

臓を摘出し-80℃で保存した。

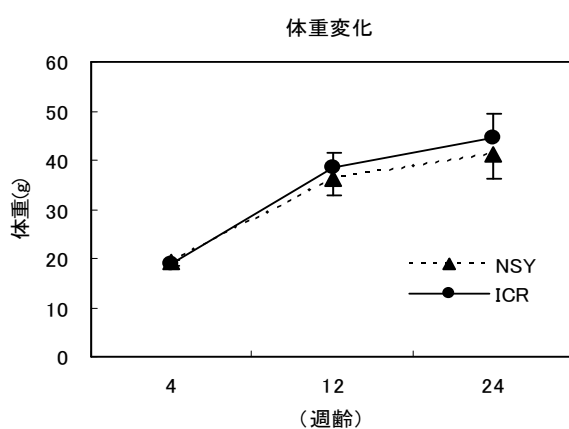
3) DNA の酸化ストレス測定

凍結組織からアルゴン雰囲気下で DNA を抽出したのち、nucleaseP1 と alkaline phosphatase で加水分解し、酸化ストレス指標物質 8-oxodG を HPLC と組み合わせた電気化学検出器 (ECD) で測定した。

3 結果

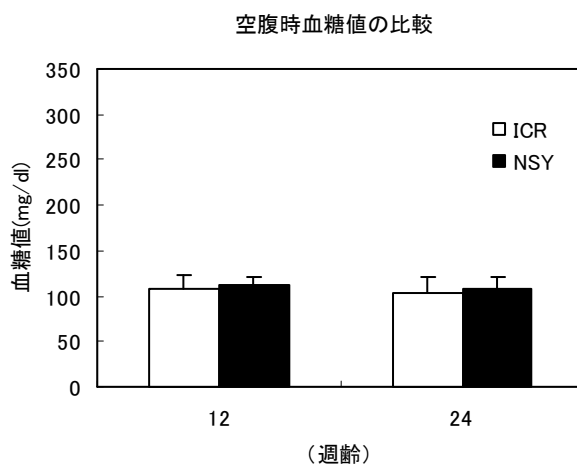
1) 体重変化

飼育期間中、NSY は ICR に比較して低めに推移したが、有意差はなかった。



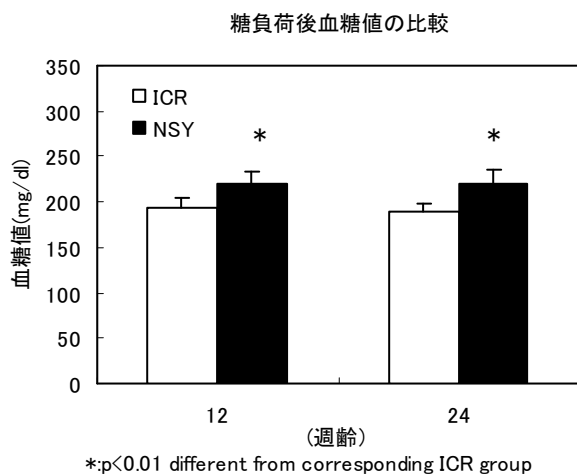
2) 空腹時血糖値の変化

12, 24 週齢ともに 105 ± 5 mg of glucose/dl の範囲であった。NSY と ICR に差はなかった。



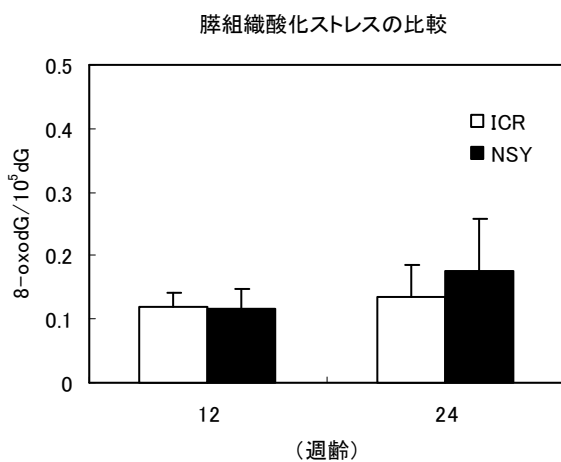
3) 糖負荷後血糖値の変化

NSY では加齢に伴い糖負荷後血糖値は上昇したが、12・24 週齢とも ICR より有意に高値であった ($p < 0.01$)。



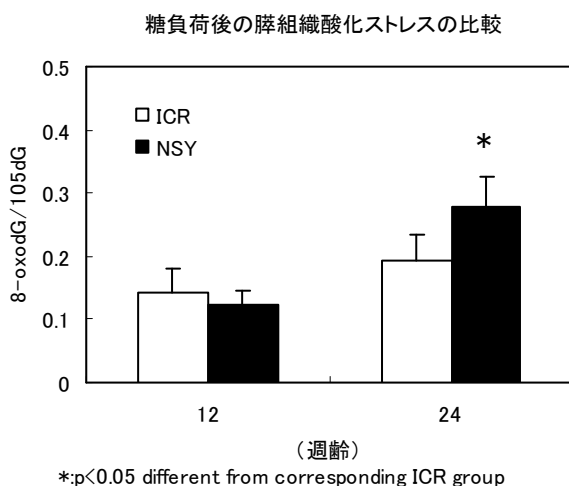
4) 空腹時膵組織 8-oxodG の変化

ICR・NSY ともに加齢に従い酸化ストレス (8-oxodG) が漸増したが、両者に有意差はない。



5) 糖負荷後膵組織 8-oxodG の変化

ICR・NSY とともに加齢にともない糖負荷後の 8-oxodG は増加した。12・24 週齢のいずれでも NSY は ICR より高値を示したが、24 週齢では有意であった ($p<0.05$)。



4 考察

NSY (Nagoya Shibata Yasuda) マウスは、ICR マウスを origin とするⅡ型糖尿病モデルマウスである。ICR マウスに Streptozocin により糖尿病を発症させた雌雄を Glucose Tolerance Test を指標に選抜交配して得られた⁶⁾。糖尿病発症率は、50 週齢で雄性 100%、雌性 30%である。また、空腹時血糖の上昇は緩徐であるが、耐糖能異常が加齢とともに顕著になるという特徴があり、Ⅱ型糖尿病の初期病変を反映する動物モデルとして期待できる。

今回の報告は 24 週齢までである。NSY は ICR に比べ空腹時血糖に差はないものの 12 週齢から耐糖能異常がみられ、かつ、糖負荷によって膵組織により大きな酸化ストレスが誘発されていた。NSY では酸化ストレスに対する消去能が ICR に比較して弱い可能性がある。

また、一般に酸化ストレス指標である 8-oxodG は一時的に上昇しても DNA の修復にともない回復をする。しかし、糖負荷をかけない状態でも加齢に伴い NSY の 8-oxodG は ICR より高めに推移することから NSY では酸化ストレスの修復能も低下している可能性があるといえる。人の場合は膵組織の酸化ストレスを直接測定することはできないが、糖尿病患者の血液の酸化ストレスは健康人と比較して高いことが報告されているので、膵組織にかんしても酸化傷害が健康人より多く蓄積している可能性がある。

今後は、飼育を続け各週齢時の膵組織 RNA を得、酸化ストレスの消去系酵素と修復系酵素の発現の違いについて検討していきたい。

これらの結果は、2006年3月のUSフォーラムにおいて一部が発表された。また、3月29日に日本薬学会大126年会（仙台）で発表される予定である。

引用文献

- [1] Takabayashi F, Tahara S, Kaneko T. *Pancreas*. 15, 109-12 (1997)
- [2] Toyooka T, Ibuki Y, Takabayashi F. *Environ Mol Mutagen*. 47, 38-47 (2006)
- [3] Mizoi M, Takabayashi F, Nakano M, et al. *Toxicol Lett*. 14;158, 87-94 (2005)
- [4] Takabayashi F, Tahara S, Kaneko T. *Biofactors*. 21(1-4):335-7 (2004)
- [5] Takabayashi F, Tahara S, Kaneko T. *Gerontology*. 50, 57-63 (2004)
- [6] Shibata M, Yasuda B, *Tohoku J Exp Med* 130, 139-142,(1980)