

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業））
分担研究報告書

ストレプトゾトシン誘発糖尿病マイクロミニピッグの開発

研究分担者 谷本昭英 国立大学法人鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 分子細胞病理学分野 教授

研究要旨

【目的】マイクロミニブタにストレプトゾトシン (STZ) を単回投与することで1型糖尿病を誘発し、心血管系にトリグリセリドの蓄積が起る中性脂肪蓄積心筋血管症 (TGCV) モデルを作製する。

【方法】1頭のマイクロミニブタに STZを 250mg/kg BW投与し、1型糖尿病を作製する。STZ 投与直後より普通食による飼育を行った。STZ 投与食後のブドウ糖補充は行わない。

【結果】高血糖状態に加えて、高トリグリセリド血症を誘導することができた。また、メカニズムは不明であるが、Insulin に対する反応性の低下も観察された。

【考察】今回の実験条件では、STZ 投与直後においてもブドウ糖補充は必要ないと思われる。STZ 250mg/kg 投与でも著明な高血糖に加えて、持続的高トリグリセリド血症が観察された。中性脂肪蓄積心筋血管症は高コレステロール血症を伴わない中性脂肪の蓄積が心血管に見られる病態であり、普通食での飼育でよりヒトの病態に近いと考えられた。

【結論】マイクロミニブタに STZ 単回投与により、1型糖尿病と高トリグリセリド血症を誘発することに成功した。今後の研究で、心血管系にトリグリセリドの蓄積が確認出来れば、TGCV のモデル動物として、治療戦略の構築に重要なツールのひとつになることが予想される。

A. 研究目的

研究目的は、マイクロミニブタにストレプトゾトシン (STZ) を単回投与することで1型糖尿病を誘発し、高トリグリセリド血症に基づいて、心血管系にトリグリセリドの蓄積が起る中性脂肪蓄積心筋血管症 (TGCV) モデルを作製することである。今年度は、STZ の濃度の変更、STZ 投与直後のブドウ糖補充の省略、普通食での飼育を行い、前年度の実験条件と比較検討することで、TGCV の病態にもっとも近いモデルの作成を試みる。

食餌は STZ 投与日から通常飼料を体重の3%/body 与えた。今回の実験では、高コレステロール・高脂肪食負荷は行わなかった。

STZ 投与後4週と6週において、Insulin tolerance test (ITT)を行った。Insulin はそれぞれ、0.1 および 0.2 U/kg BW を頸静脈内投与し、投与前、投与後15分、30分、60分、90分および120分後に、血糖値を測定した。

B. 研究方法

実験には9ヵ月齢の雄性マイクロミニブタ1頭を用いた。STZは濃度100 mg/mLで100 mLクエン酸緩衝液 (pH4.5) に溶解し、インフュージョンポンプを用いて、2 mL/min の速度で耳介静脈内に投与した。総量は250mg/kg BWとした。STZ 投与直後から連日、簡易血糖値測定器を用いて、耳介静脈を一部注射針で傷つけて血

C. 研究結果

STZ 投与後の2日目より、空腹時血糖値が約300~400mg/dL に上昇した。経口GTTにおいては、試験前の絶食によっても血糖値の十分な低下が見られず、ブドウ糖負荷後の血糖値の低下も遅く、グルコースクリアランスの遅延を認めた。ITTにおいては、0.1 および 0.2 U/kg BW のいずれの Insulin 濃度でも、血糖値の十分

な低下は見られず、Insulin 感受性の低下の存在が示唆された。血中の総コレステロールは約 100mg/dL と正常範囲であったが、トリグリセリドは約 400~700mg/dL であり、持続的な高値が見られた。

現在、飼育継続中 (STZ 投与後 16 週) で、体重が減少傾向にあるが (約 1 kg 減) 健康状態に問題はなく経過している。

D. 考察

STZ の投与条件が 250mg/kg BW でも十分に高血糖を誘導することができた。この間の健康状態は STZ 300mg/kg BW 投与の動物と比較してかなり良好であり、STZ 投与直後においてもブドウ糖補充は必要ないと思われた。

今回実験では、STZ 投与直後から普通で飼育したところ、高トリグリセリド血症が持続性に見られた。同様の高トリグリセリド血症は、前年度にも STZ 投与直後の普通食飼育期間に観察されたが、高脂肪食負荷によりトリグリセリドが低下したことは、興味深い現象であるが、メカニズムや意味は不明である。また、マウスにおいて同様の STZ 誘発性の糖尿病モデルを作成した際には、高トリグリセリド血症にはならない (personal communication) ことが言われており、この点は、マイクロミニブタのヒトの病態モデルを再現する実験動物としての優秀さを示している。

ITT の結果からは、Insulin 感受性の低下が疑われたが、これが持続的高トリグリセリド血症によるものか現在のところは不明であり、今後の検討課題のひとつである。

TGCV は高コレステロール血症を伴わないトリグリセリドの蓄積が心・血管系に見られる病態であり、糖尿病誘導後の長期観察で著明なトリグリセリドの蓄積が見られるようであれば、普通食での飼育のほうが理想的であり、今年度の実験条件は、十分にこれに該当する結果と考察された。

E. 結論

マイクロミニブタに STZ 単回投与により、1 型

糖尿病と高トリグリセリド血症を誘発することに成功した。今後の研究で、心血管系にトリグリセリドの蓄積が確認出来れば、TGCV のモデル動物として、治療戦略の構築に重要なツールのひとつになることが予想される。

現在も、高血糖および高トリグリセリド状態のブタを継続して飼育中であり、6 か月以上の飼育後に剖検に付し、生化学的、組織学的および MS imaging による心血管へのトリグリセリドの蓄積を検討する予定である。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし