

氏 名 (本 籍) 辻 中 克 昌 (大阪府)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 (論) 第 3 2 5 号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 授 与 年 月 日 平成16年 9月 8日

学 位 論 文 題 目 Diet high in lipid hydroperoxide by vitamin E deficiency induces insulin resistance and impaired insulin secretion in normal rats  
(ビタミンE欠乏による高過酸化脂質食はSDラットにインスリン抵抗性とインスリン分泌障害を誘導する)

審 査 委 員 主査 教授 堀 池 喜八郎

副査 教授 山 路 昭

副査 教授 岡 村 富 夫

## 論文内容要旨

※整理番号	328	氏名 (ふりがな)	辻なかかつまさ 辻中克昌
学位論文題目	Diet high in lipid hydroperoxide by vitamin E deficiency induces insulin resistance and impaired insulin secretion in normal rats (ビタミン E 欠乏による高過酸化脂質食は正常ラットにインスリン抵抗性とインスリン分泌障害を誘導する)		
<p>【背景と目的】</p> <p>酸化ストレスは、組織や細胞、さらには遺伝子までも傷害し、癌や老化や生活習慣病をはじめとする様々な病態を形成する大きな要因になることが明らかにされている。特に膵臓は酸化ストレスに対する防御系が虚弱で、糖尿病の高血糖状態では活性酸素種の過剰産生が生じ、酸化ストレスが亢進することが報告されている。そこで、正常ラットにおいて食餌由来過酸化脂質が酸化ストレスを介して催糖尿病作用を示すか否か、インスリン抵抗性とインスリン分泌の観点より検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>1) 5 週齢雄性 Sprague-Dawley(SD)ラットをビタミン E を除去し、エアレーションにより作製した過酸化脂質食(lipid peroxide: LPO 食)とコントロール食(Control: C 食)にて 10 週間飼育し以下の検討を行った(それぞれ LPO 群、C 群)。2) 餌、血漿、ヒラメ筋中の過酸化脂質定量は (thiobarbituric acid-reactive substances: TBARS)法により測定した。3) インスリン抵抗性はインスリンを 0.9U/kg/h で、ソマトスタチンを 120<math>\mu</math>g/kg/h で、ブドウ糖を 1.44g/kg/h で 120 分間、頸静脈より注入し定常状態の血糖値を測定する恒常血糖値法(Steady-State Blood Glucose: SSBG)にて検討した。4) インスリン分泌は経口ブドウ糖負荷試験(Oral Glucose Tolerance Test: OGTT、ブドウ糖 2g/kg 負荷)における 0、30、60、90、120 分の血糖増加面積(<math>\Sigma \Delta G_{0-120}</math>)、インスリン増加面積(<math>\Sigma \Delta I_{0-120}</math>)で評価した。5) インスリン抵抗性のメカニズムを考察する為、ヒラメ筋における insulin receptor substrate-1 (IRS-1) 蛋白の発現をウエスタンブロット法を用いて検討した。6) 膵ラ氏島 <math>\beta</math> 細胞のインスリン分泌低下のメカニズムを考察する為、インスリン、NF-<math>\kappa</math>B-p50 の抗体を用いて免疫組織化学法にて検討した。</p> <p>【結果】</p> <p>1) LPO 群の餌、血漿、ヒラメ筋中の LPO 濃度は C 群に比較しそれぞれ 12 倍、1.5 倍、1.6 倍有意に高値であった。10 日間の LPO 食投与により、血中ビタミン E には有意差を認めないにもかかわらず、食餌中の LPO 濃度依存的に血中の LPO 値が上昇したことより、この上昇は、ビタミン E の欠乏ではなく食餌中の LPO の吸収が寄与するものと考えられた。2) LPO 群の空腹時インスリン濃度と SSBG 法の定常状</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、  
 2 千字程度でタイプ等で印字すること。  
 2. ※印の欄には記入しないこと。

態における血糖値は C 群に比較し共に 1.7 倍有意に高値であり、インスリン抵抗性の存在が示唆された。3) OGTT における LPO 群の  $\Sigma \Delta G_{0-120}$  は C に比較し 1.3 倍有意に高く、 $\Sigma \Delta I_{0-120}$  は 0.7 倍と有意に低く、インスリン追加分泌能の低下が示唆された。4) LPO 群ラットのヒラメ筋における IRS-1 蛋白の発現は C 群に比較して約 50%低下していた。5) 免疫組織学的検討にて酸化ストレスマーカーとしての NF- $\kappa$ B-p50 の細胞内局在は LPO 群のみ  $\beta$  細胞核にその発現を認めた。

#### 【考察】

ビタミン E 欠乏による LPO 食は正常ラットにインスリン抵抗性とインスリン分泌低下を誘導することが証明された。その機構として、インスリンの細胞内伝達を担う蛋白である IRS-1 の発現低下が LPO 負荷食のラットにおけるインスリン抵抗性の一因である可能性が示唆された。一方、インスリン分泌低下に関しては、炎症時に発現しアポトーシスを誘導すると考えられている転写因子 NF- $\kappa$ B の膵臓での発現が過酸化脂質によって誘導されることを見出し、これがインスリン分泌低下の一因と考えられた。

LPO 食によるインスリン抵抗性とインスリン分泌能低下が、血中 LPO 濃度の上昇によるものか、あるいはビタミン E の欠乏によるものかを明らかにするため 10 週間 LPO 食を負荷したラットに、さらに LPO 食にビタミン E を過剰補充した食餌 (LPO+Vit.E) で 5 週間飼育し検討した。その結果、C 群に比較し (LPO+Vit.E) 群は血中ビタミン E 濃度は正常を越えた高値を示したにもかかわらず、血中およびヒラメ筋肉中の過酸化脂質濃度は依然高値を示し、インスリン抵抗性とインスリン分泌能の低下の改善は認められなかった。この事実より、インスリン抵抗性とインスリン分泌能の低下が食餌由来 LPO の吸収による血中 LPO の上昇に起因している可能性が高いものと考えられた。

#### 【結論】

ビタミン E 欠乏過酸化脂質食にて飼育された正常ラットでは酸化ストレスを介してインスリン抵抗性が増強し、インスリン分泌が低下し、耐糖能障害が誘導された。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	328	氏名	辻 中 克 昌
------	-----	----	---------

(学位論文審査の結果の要旨)

膵臓は酸化ストレスに対する防御系が弱く、高血糖状態では活性酸素の過剰産生による酸化ストレスが亢進することが知られている。本研究は、ラットにおいて食餌由来の過酸化脂質が酸化ストレスを介して催糖尿病作用を示すか否かについて、インスリン抵抗性とインスリン分泌の観点から検討したものである。

主な研究結果として次のことがあげられる。1) ビタミンE 欠乏過酸化脂質負荷食に由来する過酸化脂質 (LPO) は消化管から吸収され、血中 LPO 値は上昇する。2) LPO 食によって、insulin receptor substrate-1 の発現は低下し、インスリン抵抗性が誘導される。さらに、3) LPO 食によって、酸化ストレスマーカーでもある NF- $\kappa$ B-p50 が膵臓ラ氏島 B 細胞に発現され、インスリン分泌の低下が引き起こされる

このように本論文は、酸化ストレスによる耐糖能障害の惹起を明らかにしたものであり、博士 (医学) の学位論文に値する。

(平成16年 8 月26日)