

## 糖尿病モデルラットの組織中の微量元素含有量

大塚久美, 後藤政幸

### Tissue Contents of Calcium and Other Trace Metals in Experimental Diabetic Rats

Kumi OTSUKA and Masayuki GOTOH

In order to study the metabolism of trace metals in diabetics, the calcium (Ca), copper (Cu), iron (Fe), magnesium (Mg), manganese (Mn) and zinc (Zn) concentrations in the cerebrum, kidney, liver, pancreas and testes by streptozotocin-diabetic rats were analyzed. Normal rats were used as controls. Our data show that the concentrations of Cu, Mg and Zn in kidney and liver, of Fe, Mg and Zn in pancreas, and of Fe and Zn in testes of the diabetic rats were significantly higher than in the control rats. Nevertheless, the concentrations of Ca in cerebrum, Ca and Fe in kidney, and Ca in pancreas of the diabetic rats were significantly lower than in the controls. These results suggest that the hormonal imbalance of the insulin-dependent diabetic condition influences trace metal metabolism.

キーワード：糖尿病、疾患モデルラット、ストレプトゾトシン、微量元素、ホルモン

#### 緒 言

糖尿病は重篤で慢性的な内分泌性疾患である。近年、糖尿病の治療法も含めて、本症と微量元素との関連を示した報告が多々見られるようになった<sup>1,2)</sup>。一般に糖尿病の食事療法は、全体のカロリーを押さえ、かつ栄養のバランスのとれた食事内容であることを要求されるが、その時の各種微量元素について、何がどの程度必要とされるのかは未だ十分に解明されていない。解明のための基礎的研究として、糖尿病によるホルモン機能異常から誘導される各組織の金属濃度の変化を把握することが必要と考える。

本研究は、ストレプトゾトシン糖尿病ラットを用いて肝臓、腎臓、膵臓、精巣および大脳について亜鉛、カルシウム、鉄、銅、マグネシウムおよびマンガンの組織内濃度を調べ、糖尿病による微量元素代謝への影響を究明しようとした。

## 試料および分析方法

生後5週齢のWister系雄性ラットにストレプトゾトシン150mg/kgを腹腔内注射して3週間後における糖尿病発症の観察を行った。実験期間中、市販の飼料とイオン交換水を与えた。ラットは体重測定、次いでエーテル麻酔後採血し、その後脱血により屠殺した。さらに肝臓、腎臓、膵臓、精巣および大脳の各臓器を摘出した。血糖値はテルモ社製簡易血糖測定器メディセーフ(GOD/POD法)で測定した。5組織について亜鉛、カルシウム、鉄、銅、マグネシウムおよびマンガン进行分析した。金属の分析は衛生試験法・注解<sup>3)</sup>に従った。金属標準溶液は和光純薬製(原子吸光分析用)、硝酸および過塩素酸は和光純薬製(精密分析用)を使用した。ガラス器具は硝酸(1+1)に1日以上浸漬した後、使用直前にイオン交換水で洗浄した。原子吸光光度計は島津製AA-670型を用いた。なお、ストレプトゾトシン投与群および対照群における使用ラット数はそれぞれ5匹とした。

ラットの組織中金属濃度は対照群との間でstudent-t検定により有意差検定を行い、 $p < 0.01$ を有意とした。

## 結 果

表1にストレプトゾトシン投与および対照ラットの体重および血糖値(血漿グルコース)を平均値±標準偏差値で示した。ストレプトゾトシン投与3週間後ラットの血糖値は高値であり重症の糖尿病となった。また当該ラット群は正常な体重増加を示さなかった。本実験条件でストレプトゾトシン投与を行うことにより、膵臓 $\beta$ 細胞破壊に起因するインスリン分泌能力低下の糖尿病ラットを作成することができた<sup>4)</sup>。

糖尿病および対照群における各組織中の金属濃度(平均値±標準偏差値)を表2に示した。糖尿病群の肝臓と腎臓中の亜鉛、銅およびマグネシウム濃度は対照群に比べ有為に高かった。

表1. ストレプトゾトシン投与および対照ラットの体重および血糖値

グ ル ー プ		投 与 前	3 週 間 後
ストレプトゾトシン投与	体 重 (g)	100±8	118±20
	血漿グルコース (mg/dl)	110±6	561±41
対 照	体 重 (g)	100±7	250±11
	血漿グルコース (mg/dl)	110±5	100±7

1) 値は平均値±標準偏差値を示している。(n=5)

表 2. 糖尿病および対照ラット各組織中の金属濃度

		組織中金属濃度 ( $\mu\text{g/g}$ 湿重量)					
金 属	グループ	肝 臓	腎 臓	膵 臓	精 巢	大 脳	
亜鉛	対 照	23 $\pm$ 4.5	17 $\pm$ 1.1	16 $\pm$ 2.9	23 $\pm$ 2.9	12 $\pm$ 2.5	
	糖尿病	38 $\pm$ 5.5*	24 $\pm$ 1.3*	25 $\pm$ 3.2*	31 $\pm$ 2.7*	13 $\pm$ 2.1	
カルシウム	対 照	17 $\pm$ 2.9	30 $\pm$ 3.3	66 $\pm$ 8.3	10 $\pm$ 1.7	39 $\pm$ 3.6	
	糖尿病	16 $\pm$ 2.8	23 $\pm$ 3.1*	46 $\pm$ 7.8*	10 $\pm$ 2.0	25 $\pm$ 4.3*	
鉄	対 照	130 $\pm$ 24	100 $\pm$ 10	22 $\pm$ 4.6	19 $\pm$ 2.7	11 $\pm$ 1.9	
	糖尿病	140 $\pm$ 22	84 $\pm$ 5.2*	36 $\pm$ 4.5*	25 $\pm$ 2.8*	13 $\pm$ 2.5	
銅	対 照	4.0 $\pm$ 0.5	6.0 $\pm$ 0.7	0.95 $\pm$ 0.29	1.7 $\pm$ 0.3	2.2 $\pm$ 0.1	
	糖尿病	9.9 $\pm$ 1.5*	12 $\pm$ 3.4*	1.1 $\pm$ 0.36	2.0 $\pm$ 0.4	2.2 $\pm$ 0.4	
マグネシウム	対 照	230 $\pm$ 16	200 $\pm$ 29	330 $\pm$ 43	180 $\pm$ 19	160 $\pm$ 20	
	糖尿病	310 $\pm$ 24*	280 $\pm$ 33*	420 $\pm$ 34*	190 $\pm$ 20	160 $\pm$ 18	
マンガン	対 照	1.7 $\pm$ 0.3	0.85 $\pm$ 0.28	2.4 $\pm$ 0.3	0.30 $\pm$ 0.06	0.30 $\pm$ 0.05	
	糖尿病	1.9 $\pm$ 0.4	0.96 $\pm$ 0.23	2.7 $\pm$ 0.5	0.35 $\pm$ 0.06	0.30 $\pm$ 0.04	

1) 値は平均値 $\pm$ 標準偏差値を示している。(n = 5)

2) \*: p < 0.01

また膵臓中の亜鉛、鉄およびマグネシウム濃度、精巣中の亜鉛および鉄濃度は有為に高かった。しかしながら、糖尿病群の腎臓中のカルシウムおよび鉄濃度、膵臓中のカルシウム濃度、大脳中のカルシウム濃度は対照群に比べ有為に低かった。以上の成績から、糖尿病により微量金属の代謝異常が発生したことが分かった。

## 考 察

糖尿病は成人の5~10%を占める生活習慣病である。糖尿病は合併症のリスクを高め、重症になると、失明、腎臓病、心不全、神経障害を発症する。成因の一つとしてインスリンの分泌異常により糖尿病が発病するが、一般にこのインスリン分泌調節にカルシウムが深く関与していることが理解されている。糖尿病群の膵臓中のカルシウム濃度が有意に減少したのは、インスリン分泌抑制と関連していると考えられる。

腎臓および大脳のカルシウム濃度が顕著に減少した理由は今後検討すべきである。現在のところ糖尿病ラットに関して大脳に関する微量金属分布の報告を多く見ない。本研究において、大脳中の他の金属濃度はほとんど変化が見られなかったのに対してカルシウム濃度だけが有意な減少を示したことは大変興味深い。脳髄変質症(エンセファロパチア症候群)と脳中カルシウムとの関係については多々報告されている<sup>5,6)</sup>。本研究に認められた糖尿病ラットにおける脳中カルシウム濃度の成績と脳髄変質症との関連性はさらに研究されるべきである。

本研究で検討を行った全組織において、概ね亜鉛、銅およびマグネシウム濃度は増加し、カルシウム濃度は減少した。特に、腎臓と膵臓のマグネシウムおよびカルシウム濃度にそれぞれの傾向が顕著に認められた。2臓器に見られたカルシウム濃度の減少とマグネシウム濃度の増加は、細胞内における両金属の拮抗作用が起因していると考えられる。この件に関しては、骨組織を用いてより詳細に検討すべきである。

糖尿病群の亜鉛濃度は全組織中において高くなった。Failla and Kiser<sup>7)</sup>やFeng et al<sup>8)</sup>はそれぞれ作成した糖尿病ラットの肝臓、腎臓、膵臓あるいは精巣で類似の結果を報告しており、本研究はそれらを支持する成績であった。亜鉛はインスリンの構造変化を誘導し、そのレセプターに働き作用を増大させることが知られている<sup>9)</sup>。これらの結果は、糖尿病ラットにおけるインスリンの分泌不足が異常な亜鉛代謝を引き起こすことを示している。現在のところ大脳を用いた研究はほとんど見ないが、本研究の結果において、大脳中の亜鉛濃度は対照群の成績と大きな相違は認められなかった。

糖尿病群における鉄濃度は腎臓で低く、膵臓および精巣で高くなり、アロキサン糖尿病ラットを用いて検討したFeng et al<sup>8)</sup>の結果と類似していた。以上のことから糖尿病は鉄の代謝変化を誘導させることが判明した。現在のところ糖質の恒常性に関する鉄の役割は不明瞭であり、かつ糖尿病における鉄代謝の研究は未だ不十分である。この件は今後十分に検討すべきであると考えられる。

一般に糖尿病は合併症としてインポテンツ等の抹消神経障害を発生させ、生殖力や精子数減少を引き起こす。糖尿病群の精巣における亜鉛や鉄濃度の著しい増加は性的不全と何らかの関連があるのかも知れない。この件に関してはさらに検討してその機序を解明すべきである。

本研究では、糖尿病モデルラットを用いて組織中の微量元素濃度を測定してその変化を検討したが、糖尿病における微量元素の生物学的役割を解明するためにはさらなる研究が必要と考える。

## 要 約

- 1) ストレプトゾトシン糖尿病ラットの肝臓、腎臓、膵臓、精巣および大脳中の微量元素濃度は正常ラットの場合とは異なっていた。全臓器において亜鉛とマグネシウム濃度は増加したが、カルシウム濃度は減少した。
- 2) 糖尿病群の膵臓中のカルシウム濃度は有為に低く、インスリン分泌抑制との関連性が推察された。

- 3) 糖尿病群の脳において、カルシウム濃度は有為に低かったが、他の金属については変化が認められなかった。

## 謝 辞

研究の遂行にあたり、実験試料一部の提供および貴重な助言を戴いた山口大学医学部公衆衛生学講座芳原達也教授と瀧田覚先生に深謝致します。また、分析機器の使用に際し多大な協力を戴いた本学大学院村田光範教授ならびに杉浦令子先生に厚くお礼を申し上げます。

## 文 献

- 1) Navarro-Alarcon M, Lopez-G de la Serrana H, Perez-Valero V: Serum and urine selenium concentrations as indicators of body status in patients with diabetes mellitus. *Sci Total Environ* 228: 79-85, 1999
- 2) Cser A, Sziklai-Laszlo I, Menzel H, et al: Selenium status and lipoproteins in healthy and diabetic children. *J Trace Elem Electrolytes Health* 7: 205-210, 1993
- 3) 日本薬学会：衛生試験法・注解1990、255-272、1990、金原出版株式会社
- 4) 木村修一・家森幸男：疾患モデル動物、26-60、1994、建帛社
- 5) Kastrup O, Maschke M, Wanke I, Diener HC: Posterior reversible encephalopathy syndrome due to severe hypercalcemia. *J Neurol* 249 (11): 1563-1566, 2002
- 6) Gilman SC, Kumaroo KK, Hallenbeck JM: Effects of pressure on uptake and release of calcium by brain synaptosome. *J Appl Physiol* 60 (4): 1446-1450, 1986
- 7) Failla ML, Kiser RA: Hepatic and renal metabolism of copper and zinc in the diabetic rat. *Am J Physiol* 244: E115-E121, 1990
- 8) Feng W, Qian Q, et al: Tissue contents and subcellular distribution of chromium and other trace metals in experimental diabetic rats after intravenous injection of Cr 50-enriched stable isotopic tracer solution. *Metabolism* 50 (10): 1168-1174, 2001
- 9) Faure P, Roussel A, Coudray C, et al: Zinc and insulin sensitivity. *Bio Trace Elem Res* 32: 305-310, 1992

大塚 久美 (家政学部健康栄養学科助手補)

後藤 政幸 (家政学部健康栄養学科教授)