

＜2 型糖尿病モデル NSY マウスの疾患発症・進展に及ぼす ビタミン A 栄養状態の影響に関する研究＞

研究年度 平成 31 年度

研究期間 平成 31 年度～平成 31 年度

研究代表者名 駿河 和仁

1. はじめに

ビタミン A の多彩な生理作用の中で、近年、肥満や脂質代謝異常などの生活習慣病の予防や発症に関する研究成果が多く報告されている(1)。また糖尿病をはじめとする糖代謝異常に対してもビタミン A の栄養状態が関与していることが報告されているが、糖尿病の発症や進展に対しては改善作用を有することが報告されている一方で、改善作用を示さないとの報告もあり、いまだ不明な点も多い(2-4)。研究代表者らは、これまでビタミン A やその代表的な前駆体であるβ-カロテンの摂取が、普通食を摂取した 2 型糖尿病発症モデル NSY(Nagoya Shibuta Yasuda)マウスの血糖上昇抑制作用を示すことを明らかにしている(5)。2 型糖尿病モデル動物の中でも自然 2 型糖尿病発症を示す NSY マウスは、月齢依存的に軽度肥満、脂肪肝、および内臓脂肪蓄積を呈し、さらにインスリン分泌障害とインスリン抵抗性も加齢とともに増悪することから比較的日本人に多いタイプの 2 型糖尿病モデルとしての特徴をもつことが報告されている(6,7)。本研究では、高脂肪エネルギー食を摂取させた NSY マウスを用い、ビタミン A やβ-カロテンを摂取させた場合と、ビタミン A を潜在的に不足させた場合での糖尿病発症・重症化や肥満および脂質異常発症に対する影響について検討する。

2. 実験方法

4 週齢の雄性 NSY マウス(30 匹)を 7 日間粉末飼料(CRF-1)にて馴化後、5 群に分け、①AIN-93G コントロール食 (C 群)、②AIN-93G ベース高脂肪食 (HF 群)、③HF 群の食餌にレチニルアセテートを高用量 (100 mg/kg diet) 添加した食餌 (HA+群)、④HF 群の食餌にβ-カロテンを高用量 (600 mg/kg diet) 添加した食餌 (HB+群)、⑤HF 群の食餌からビタミン A のみを除いた食餌 (HA-群) を 5 週齢から 15 週齢時まで自由摂取させた。14 週齢時には、グルコース腹腔内負荷試験 (ipGTT) を行い、尾静脈より経時的に採血し血糖値をグルコメーターにて測定した。各飼育終了後はマウスを断頭にて屠殺し、体幹血(血清)、肝臓、小腸、内臓脂肪組織(副睾丸、腎周囲、腸間膜)等を採取した。血清および各組織の糖質、脂質代謝に関わる各指標を解析した。各実験結果は、Tukey の多重解析法により統計的有意差 ($p < 0.05$) を検定した。

3. 実験結果および考察

10 週間の飼育期間中の NSY マウスの 1 日当たりの平均摂餌量は、5 群間で有意な差は見られなかった。一方、体重増加量および食餌効率は、C 群に比べ H 群および HA-群で有意に高かったが、HA+群および HB+群に対しては有意な差は見られなかった (Table 1)。肝臓総重量は、各群間で有意な差は見られなかった。内臓脂肪組織重量では特に腸間膜脂肪組織において、C 群に比べ H 群および HA+群で有意に高値を示しており、HB+群および HA-群は有意な差は見られなかった。これらの結果から、ビタミン A やプロビタミン A であるβ-カロテンの十分な摂取は、高脂肪エネルギー食摂取による NSY マウスの体重増加を抑制する可能性が示唆されたが、その要因については肝臓や内臓脂肪組織重量の結果だけでは十分な説明はできなかった。今後は、皮下脂肪重量や骨格筋重量、その他の組織重量を含めた体組成全体からの解析が必要である。

Table 1 NSY マウスの摂餌量、食餌効率、体重増加量および各組織重量

	C	H	HA+	HB+	HA-
平均摂餌量 (kcal/日)	1.74±0.03	1.82±0.03	1.85±0.05	1.81±0.05	1.86±0.04
体重増加量 (g)	10.5±2.1 ^a	20.5±2.5 ^b	17.1±0.9 ^{ab}	14.5±1.4 ^{ab}	20.1±2.5 ^b
食餌効率 (体重増加 g/摂餌量 100 kcal)	7.9±1.5 ^a	15.0±1.7 ^b	12.3±0.5 ^{ab}	10.6±1.0 ^{ab}	14.5±1.8 ^b
肝臓重量 (上段:g、下段:g/10 g 体重)	1.42±0.11 0.35±0.01	1.78±0.10 0.37±0.02	1.74±0.14 0.37±0.02	1.67±0.15 0.34±0.03	1.75±0.19 0.36±0.03
腸間膜脂肪組織重量 (上段:g、下段:g/10 g 体重)	0.63±0.06 ^a 0.16±0.01	0.90±0.10 ^b 0.19±0.01	0.88±0.07 ^b 0.18±0.01	0.83±0.03 ^{ab} 0.17±0.01	0.83±0.04 ^{ab} 0.17±0.01
副睾丸脂肪組織重量 (上段:g、下段:g/10 g 体重)	1.35±0.12 0.33±0.02	1.69±0.20 0.35±0.03	1.56±0.19 0.33±0.05	1.44±0.17 0.30±0.04	1.62±0.21 0.34±0.05
腎周囲脂肪組織重量 (上段:g、下段:g/10 g 体重)	0.88±0.10 ^a 0.22±0.02	1.00±0.10 ^{ab} 0.21±0.01	1.09±0.06 ^{ab} 0.23±0.02	1.07±0.04 ^{ab} 0.22±0.01	1.22±0.08 ^b 0.26±0.02

平均±S.E. (n=6) , a-b:異なる記号間で有意差あり(p<0.05, Tukey)。

10 週間飼育後に屠殺した後の空腹時血清グルコース濃度およびインスリン濃度は、いずれも各群間で有意な差は見られなかった (Fig.1 上図)。一方、飼育 9 週時に腹腔内グルコース投与試験(ipGTT)を行った結果、グルコース投与以降、各群の血糖値はいずれの群も投与 120 分まで上昇し続けたが、投与 30 分以降は C 群に比べ H 群ではその値が高かった (Fig.1 下図)。また、グルコース投与 30 分以降の HA+群、HB+群および HA-群の血糖値はいずれも H 群とほとんど差がなく、C 群に比べ高い値を示した (Fig.1 下図)。昨年

度の我々の研究結果(5)では、高濃度のスクロース溶液を 10 週間与えた NSY マウスにおいて ipGTT 時の血糖値の上昇が、高用量のビタミン A やβ-カロテン添加食摂取により抑制されることを明らかにしており、その機序のひとつとして、ビタミン A やβ-カロテンによる骨格筋でのインスリン抵抗性の改善作用が示唆された。これらの 2 つの研究結果が異なっている要因については、高スクロース投与と高脂肪食摂取の異なる食事因子による糖尿病発症・増悪への影響の違いによるものと考えられるが、再現性も含めさらに検討が必要である。

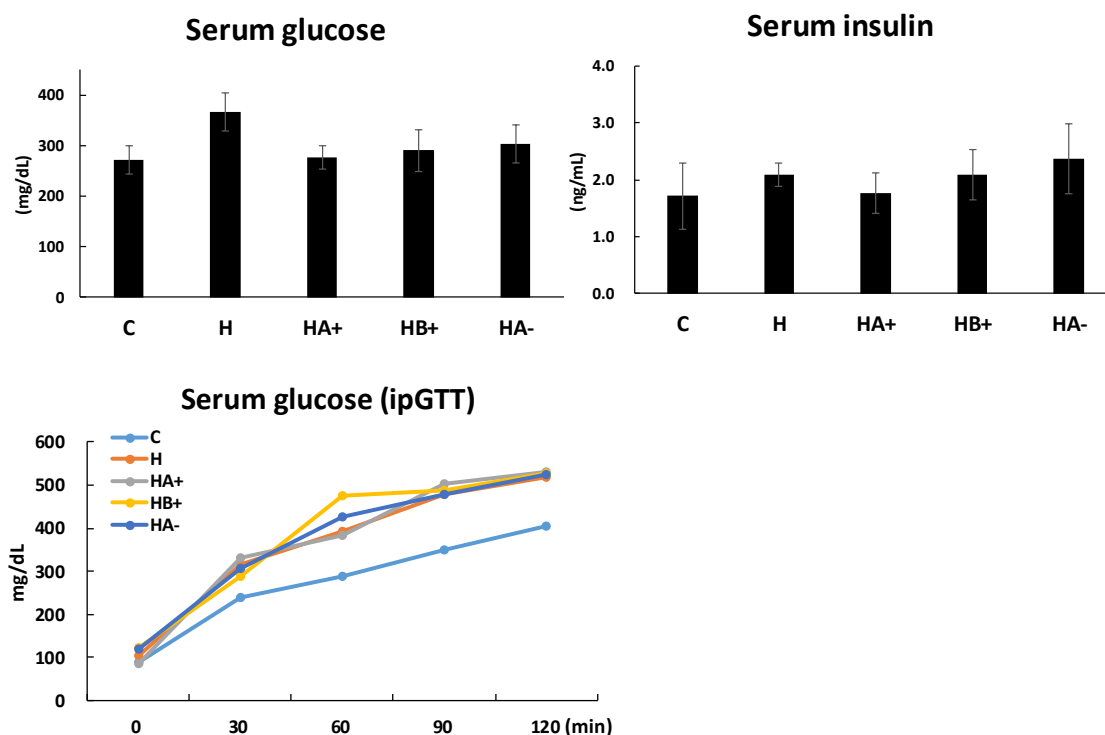


Figure 1 血糖値および血清インスリン濃度
平均+S.E. (n=6)。いずれも各群間で有意差なし(Tukey)。

10 週間飼育後に屠殺した後の空腹時血清トリグリセリド(TG)濃度は、C 群に比べ H 群で低い傾向($p=0.059$)を示しており、HA+群、HB+群および HA-群でも H 群と同様に低値を示した(Fig.2 上左図)。一方、肝臓の TG 量は、C 群に比べ H 群で有意に高値を示しており、HA+群、HB+群および HA-群でも H 群と同様に高い傾向をしめした(Fig.2 下左図)高い傾向。血清および肝臓の総コレステロール(TC)量はいずれも、各群間で有意な差は見られなかった(Fig.2 上下右図)。これらの結果から、H 群では肝臓の TG 量有意に高く、血清の TG 濃度は有意に低かったことから、肝臓の TG の同化亢進または異化抑制が起こっている可能性と同時に、血中への TG 分泌機能の低下も起こっているものと考えら

れる。また、これらの変動にはビタミン A の栄養状態は大きく影響しないものと考えられた。ビタミン A は肝臓の脂肪酸の酸化亢進や脂肪酸およびトリグリセリドの合成を抑制することが報告されている(8,9)が、本研究結果ではその効果が見られなかったことから、糖尿病の発症により脂質代謝調節機能が影響を受けている可能性が考えられる。

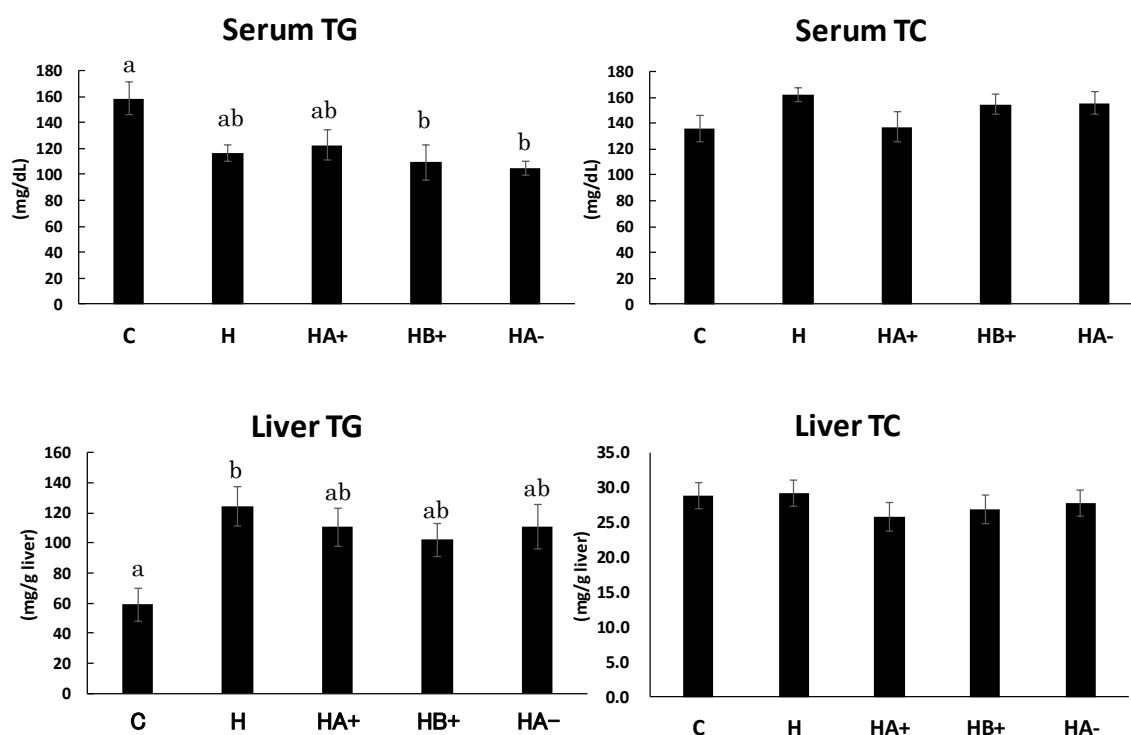


Figure 2 血清および肝臓脂質量

平均±S.E. (n=6) , a-b:異なる記号間で有意差あり(p<0.05, Tukey)。

4. 終わりに

本研究では、ビタミン A の栄養状態の違いが、高脂肪エネルギー食摂取による糖尿病や脂質代謝異常の発症に及ぼす影響について検討を行った。先行研究である高スクロース投与条件下の糖尿病発症に対するビタミン A やβ-カロテン摂取による抑制作用と異なり、本研究で仔なった高脂肪エネルギー摂取の食餌条件下ではビタミン A の栄養状態の違いによる差は見られなかった。また、血中および肝臓のトリグリセリド量の変動に対しても、ビタミン A の栄養状態の違いによる差は見られなかった。ビタミン A やβ-カロテンの摂取が、糖尿病の発症抑制や脂質代謝改善作用を示すことが報告されているが、本研究結果からその発症に関わる食餌要因の違いにより効果を示さない場合もある可能性が示唆された。

5. 引用文献

- (1) Jeyakumar SM, Vajreswari A. (2015) Vitamin A as a key regulator of obesity & its associated disorders: Evidences from an obese rat model. *Indian J Med Res.* 141(3):275-284.
- (2) Rhee EJ, Plutzky J. (2012) Retinoid metabolism and diabetes mellitus. *Diabetes Metab J.* 36(3):167-180.
- (3) Trasino SE, Gudas LJ. (2015) Vitamin A: a missing link in diabetes? *Diabetes Manag (Lond).* (5):359-367.
- (4) Iqbal S, Naseem I. (2015) Role of vitamin A in type 2 diabetes mellitus biology: effects of intervention therapy in a deficient state. *Nutrition.* 31(7-8):901-907.
- (5) 井手由美子 (2018) 2 型糖尿病発症モデル NSY マウスの糖代謝に及ぼすビタミン A 投与の影響. 平成 30 年度 長崎県率大学看護栄養学部栄養健康学科 卒業論文.
- (6) Ueda H, Ikegami H, Yamato E, Fu J, Fukuda M, Shen G, Kawaguchi Y, Takekawa K, Fujioka Y, Fujisawa T, et al. (1995) The NSY mouse: a new animal model of spontaneous NIDDM with moderate obesity. *Diabetologia.* 38(5):503-508.
- (7) Ueda H, Ikegami H, Kawaguchi Y, Fujisawa T, Nojima K, Babaya N, Yamada K, Shibata M, Yamato E, Ogihara T. (2000) Age-dependent changes in phenotypes and candidate gene analysis in a polygenic animal model of Type II diabetes mellitus; NSY mouse. *Diabetologia.* 43(7):932-938.
- (8) Oliveros LB, Domeniconi MA, Vega VA, Gatica LV, Brigada AM, Gimenez MS. (2007) Vitamin A deficiency modifies lipid metabolism in rat liver. *Br J Nutr.* 97(2), 263-272.
- (9) Bonet LM, Ribot J, Plou A (2012) Lipid metabolism in mammalian tissues and its control by retinoic acid. *Biochim Biophys Acta.* 1821, 177-189.