

## ALS系・ALR系マウスにおける視床下部障害性肥満の誘導と糖尿病態発現

—L-アスパラギン酸ナトリウム(MSA)投与による肥満誘導と糖尿病態—

山下 撰<sup>1)</sup>・石橋 光太郎<sup>2)</sup>・関口 富士男<sup>2)</sup>・佐藤 勝紀<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>農水省家畜衛生試験場飼料安全性研究部・<sup>2)</sup>第一製薬株式会社 試験研究センター・

<sup>3)</sup>岡山大学農学部

アロキサン誘発糖尿病高発症系マウス:ALSおよび低発症系マウス:ALR系は、Crj:CD-1(ICR)系マウスを基礎集団とし、アロキサン誘発糖尿病に対する感受性について選抜・分系育種された系統である。両系統は、岡山大学の猪らによって1980年に選抜が開始され、選抜開始後のアロキサン誘発糖尿病に対する尿糖陽性率が、高感受性側では20世代で98.8%、低感受性側では7世代で0%に達し、1987年に確立された<sup>1)2)</sup>。現在では岡山大学農学部、第一製薬(株)試験研究センターおよびアメリカのジャクソン研究所で兄妹交配により近交維持されている。

ALS系およびALR系マウスは、アロキサン誘発糖尿病に関してその感受性を異にする実験的糖尿病モデル動物であり、自然状態で糖尿病を発症することはない。しかし、両系統に肥満遺伝子(A<sup>7</sup>)を導入し作出されたコンジュニック系統のALS-A<sup>7</sup>系およびALR-A<sup>7</sup>系は肥満と共に糖尿病態を自然発症することが示されている<sup>3)</sup>。そこで、ALS系、ALR系の特性および両系統の肥満と糖尿病態発現との関連を明らかにする一環として、遺伝子導入ではなく肥満誘導を試みた。実験動物への肥満誘導には、遺伝子導入の外に、食事性や視床下部障害性の肥満誘導がある。本研究ではL-アスパラギン酸ナトリウム(MSA)投与による視床下部障害性肥満の誘導を行い、両系統に認められた誘発肥満とこれに伴う糖尿病態の発現について検討した。

### 材料および方法

視床下部障害性の肥満の誘発は、L-アスパラギン酸ナトリウム(MSA)を新生仔期に単回投与することで行った。実験には、第一製薬(株)試験研究センターで近交維持されているALS系およびALR系マウスを用いた。MSAは8%水溶液に調整し、生後3日以内の両系統のマウスに対して体重1g当たり4mgの割合で背部皮下に投与し、これをMSA群とした。また同容量の生理的食塩水を同様の方法で投与し、これを対照群とした。生後3週間で離乳し、離乳時より20週齢時まで肥満度、尿糖、血糖、末梢血清インス

リン(IRI)の測定および膵組織の光顕的検査を行った。肥満度はLee indexに従い、体重と鼻肛門長より算出した。尿糖測定にはグルコステックスを用い、(+++)以上を陽性とし、尿糖陽性個体の出現率を算出した。血糖値は飽食時血糖値とし、新ブロードシュガーテストを用いて測定した。末梢血清インスリンの測定には、ELISAによる酵素免疫測定法を用いた。膵の組織形態は、採取した膵をHE染色および抗インスリン抗体による免疫染色を行い、光顕的に検索した。

### 結果および考察

①肥満度:両系統共、雄および雌それぞれのMSA群において4週齢以降肥満度が対照群に比べ有意に上昇し、MSA投与による肥満誘導が認められた。しかしALS系雄のMSA群のみが8週齢をピークに痩せ始め、16週齢以降では対照群と肥満度が逆転し、明確な削瘦が認められた(Fig. 1)。他のMSA群は20週齢まで肥満の継続が認められた。②尿糖:尿糖陽性個体

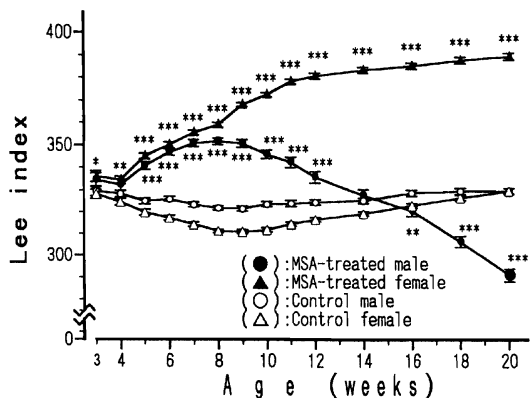


Fig. 1 Changes of Lee-Index in ALS strain mice. Values are the mean  $\pm$  S.E.  $n \geq 30$ . \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  versus each Control group

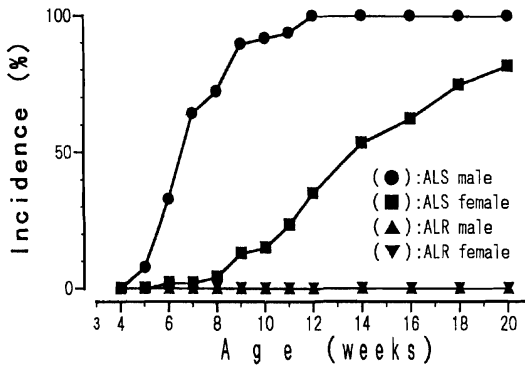


Fig. 2 Incidence of glycosuria in MSA-treated ALS and ALR strains mice  $n \geq 30$

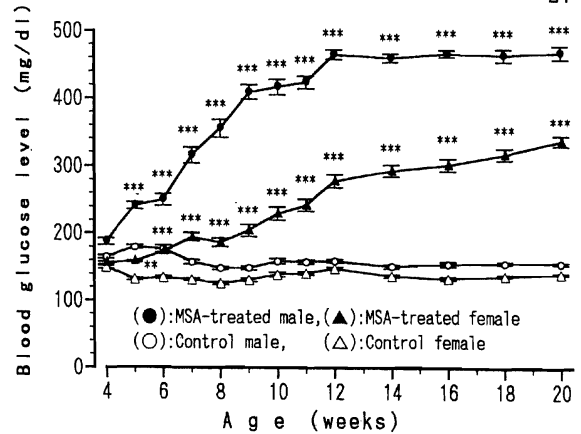


Fig. 3 Changes of blood glucose level in ALS strain mice Values are the mean  $\pm$  S.E.  $n \geq 30$   
\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  versus each Control group

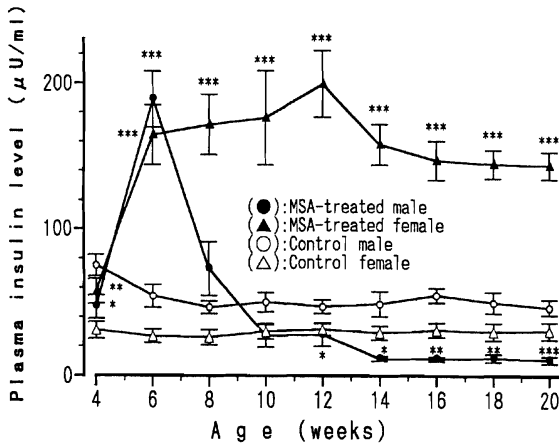


Fig. 4 Changes of plasma insulin level in ALS strain mice  
Values are the mean  $\pm$  S.E.  $n = 10$   
\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  versus each Control group

は、ALS系のMSA群にのみ認められた。尿糖陽性個体出現率は、雄が12週齢以降100%を示したのに対し、雌は12週齢で34%、20週齢で81%を示した (Fig. 2)。他の群で尿糖陽性個体は認められなかった。③血糖値: 飽食時血糖値は、ALS系のMSA群でのみ、5週齢以降対照群に比べ有意に高い値が認められた。20週齢時に雄は $473 \pm 8.7 \text{ mg/dl}$ 、雌は $354 \pm 17.9 \text{ mg/dl}$ の値を示した (Fig. 3)。ALR系のMSA群での血糖値上昇は認められず、対照群とほぼ同様の推移を示した。④末梢血インシュリン: IRIは両系統の雌雄とも対照群と異なる変化を示した。ALS系においてはMSA群で雄と雌との間に明らかに異なる推移が認められた。雄は6週齢時に $189 \mu \text{U/ml}$ と、対照群

( $54.1 \mu \text{U/ml}$ )に比べきわめて高い値を示したが、その後急激に減少し、14週齢以降は $10 \mu \text{U/ml}$ 前後の値で推移した。また雌は6週齢以降、全週齢で $140 \mu \text{U/ml}$ 以上の高い値を示した (Fig. 4)。一方、ALR系のMSA群は雌雄ともに6週以降 $70 \sim 80 \mu \text{U/ml}$ と対照群に比べ3倍程度の高い値を示し推移した。また両系統とも雄および雌の対照群は、全週齢を通じほぼ一定の値で推移した。⑤膵の組織形態: 両系統共MSA群で異常が認められた。特にALS系における雄の膵島は6週齢以降不定形を示し、16週齢以降は極端に萎縮して抗インシュリン抗体染色によりその痕跡を確認できる程度であった。また、ALS系雌およびALR系雄のMSA群では、12週齢以降肥大した膵島が数多く認められた。また、ALR系の膵島においてもMSA群の雌雄ともに12週齢以降過形成の傾向が認められた。

両系統ともMSA投与により肥満が誘導された。さらに、ALS系は肥満誘発に伴い、糖尿病態を示すことが明らかとなった。この糖尿病態には明確な雌雄差が認められ、雄は雌に比べ重篤であり、尿糖陽性後は高血糖状態を持続したまま急激に削瘦状態へと移行した。これは膵島の消失および末梢血インシュリン値の推移と呼応するものであった。雌では、肥満と高血糖状態の継続および膵島の過形成が認められた。また、本結果には示していないが、20週齢以降は尿糖陽性個体出現率、血糖値とも減少し糖尿病態の寛解が認められる。また、ALR系のMSA群では、肥満誘発とともに高インシュリン血症と膵島の過形成が認められたが、血糖値上昇や尿糖陽性などの糖尿病態が認められなかった。

以上のことより、ALS系においては、雌雄ともに視床下部障害性の肥満誘導においても糖尿病態を発現することが示された。この糖尿病発現は肥満に関わる何らかの因子に対する膵島の感受性の差に因るものと考えられ、肥満と糖尿病発現に関わる遺伝子の存在が示唆される。さらに両系統は、同じ視床下部傷害性の肥満誘導引き金とする糖尿病発現に違いが認められることから、多因子遺伝病であるインスリン非依存型糖尿病(NIDDM)研究のモデル動物となりうると考えられる。そのためにも今後、アロキサンの誘発糖尿病に対する両系統間での感受性の違いと肥満を引き金とする糖尿病発現との関連性、およびALS系における糖尿病発症に認められた雌雄差についての検討を詳細に行う必要がある。

### 要約

ALS系、ALR系マウスは、アロキサン誘発糖尿病について高発症および低発症方向に選抜・分系育種され、近交系として遺伝的に固定された系統である。しかし、アロキサンに対する感受性以外の特性は明確にされていないことから、両系統の特性および糖尿病態との関係を明らかにする目的で、L-アスパラギン酸ナトリウム(MSA)を用いて肥満誘導を行っ

た。その結果、両系統とも肥満を誘発したが、ALS系のみには明確な雌雄差を伴う糖尿病態が認められた。本結果は、肥満と糖尿病態に関わる遺伝子が存在する事を示唆しており、ALS系、ALR系マウスはインスリン非依存型糖尿病(NIDDM)研究のモデル動物となりうると考えられる。

### 文献

- 1) SEKIGUCHI, F., K. ISHIBASHI, H. KATOH, Y. KAWAMOTO and T. INO : Genetic Profile of Alloxan-induced Diabetes-susceptible Mice (ALS) and resistant Mice. *Exp. Anim.* 39(2):269-272, 1990.
- 2) INO, T., Y. KAWAMOTO, K. SATO, K. NISHIKAWA, A. YAMADA, K. ISHIBASHI and F. SEKIGUCHI : Selection of Mouse Strains Showing High and Low Incidences of Alloxan-induced Diabetes. *Exp. Anim.* 40(1):61-67, 1991.
- 3) SEKIGUCHI, F., K. ISHIBASHI, Y. KAWAMOTO and T. INO : Diabetic Peculiarity of the ALS-A<sup>y</sup> and ALR-A<sup>y</sup> Strains. *Exp. Anim.* 40(3):323-329, 1991