

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
大前 貴裕	主査 教授 勝 健 一 副査 教授 林 秀 行 副査 教授 花 房 俊 昭 副査 教授 田 窪 孝 行 副査 教授 北 浦 泰
主論文題名 Hyperlipidemia and Fat Absorption in Model Rats with Type 2 Diabetes Mellitus (2型糖尿病モデルラットにおける高脂血症と脂肪吸収機能に関する検討)	
学位論文内容の要旨	
<p>《目的》</p> <p>食生活の向上やエネルギーの過剰摂取に伴い、糖尿病や高脂血症などの生活習慣病は増加傾向にある。なかでも遺伝要因や環境要因とが複雑に絡み合った2型糖尿病患者は激増し、糖尿病の85%以上を占めている。糖尿病では血清脂質代謝異常を高頻度に合併しており、血清トリグリセリド値の上昇とHDLコレステロール値の低下、LDLコレステロール値の増加や食後高脂血症などのリポ蛋白の量的異常を認める。2型糖尿病には高率に高脂血症を合併し、動脈硬化性疾患の発症と密接な関係がある。脂質の調節には食餌性脂肪を吸収する小腸の役割が重要である。そこで、申請者は2型糖尿病モデル(OLETF)ラットを用いて、糖尿病進行過程における小腸絨毛の形態的变化を確認するとともに、^{13}C-trioctanoin 呼気試験による脂肪吸収機能について検討を行った。糖尿病の発症が確認された28週齢、36週齢、44週齢の2型糖尿病ラットを対象に、小腸絨毛上皮の高さを測定し、^{13}C-trioctanoinを投与後に経時的に呼気中$\Delta^{13}\text{CO}_2$濃度を測定した。</p> <p>《対象と方法》</p> <p>1. 対象</p> <p>生後28週後(28W群, 6匹)、36週後(36W群, 6匹)、44週後(44W群, 8匹)のOLETF(Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty)雄性ラット(OLETF群)および対照としてLETO(Long-Evans Tokushima Otsuka)雄性ラット(LETO群)をそれぞれ20匹ずつ用いた。</p> <p>2. 方法</p> <p>1) 血液・生化学的検査</p> <p>総蛋白(Biuret法)、空腹時血糖(酵素法)、ヘモグロビンA1c(ラテックス凝集比濁法)、血清インスリン(RIA2抗体法)、総コレステロール(酵素法)、トリグリセリド(GPO/HIDAOS法:グリセリン消去法)を測定した。</p> <p>2) 組織学的観察</p> <p>(1) 小腸</p> <p>小腸を摘出し、幽門輪から回腸末端までの長さを測定した。摘出した小腸は幽門輪から20cm 肛側(上部小腸)を3cm 切除し、$3\mu\text{m}$のパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(H.E.)染色を施し</p>	

た。光学顕微鏡下にビデオマイクロメーターを用い、粘膜筋板から絨毛先端部までの高さ(絨毛長)を各々の検体で無作為に各3ヶ所ずつ測定し、その平均値を求めた。

(2) 膵臓

摘出膵臓は20%緩衝ホルマリンに24時間固定後、パラフィン包埋をおこなった。インスリン抗体組織染色により検討を行った。

3) ^{13}C -trioctanoin 呼気試験

24時間絶食後のラットを密室型チャンバーに30分間放置した。チャンバー内の空気を密閉状態で十分に攪拌した後、20ml採取し前値(前呼気)とした。換気後引き続いて、 ^{13}C -trioctanoin 20mg/kg溶液をゾンデによりラット胃内に投与し、前呼気採取と同様の方法で30分後にチャンバー内の空気(呼気)を採取した。以後30分毎に120分まで計4回、同様の方法で呼気を採取した。呼気中 $\Delta^{13}\text{CO}_2$ 濃度の測定は磁場型同位体比質量分析装置を使用し、30分後、60分後、90分後、120分後の結果について ^{13}C -trioctanoin投与前の基礎値(前値)からの増加率($\Delta^{13}\text{CO}_2$:%= ^{13}C -trioctanoin投与後 ^{13}C -trioctanoin投与前)を算出し、それぞれ30分値、60分値、90分値、120分値とした。各群における $\Delta^{13}\text{CO}_2$ の最も高い値をピーク値とし、また $\Delta^{13}\text{CO}_2$ の総和を計算して全曲線下面積とし、各々について検討をおこなった。

4) ^{13}C -acetate 呼気試験

44週齢のOLETF群、LETO群をそれぞれ6匹ずつ用いて ^{13}C -acetateによる胃排出能呼気試験を行った。 ^{13}C -trioctanoin呼気試験と同様に24時間絶食後のラットを同様の密室型チャンバーに15分間放置した。チャンバー内の空気を十分に攪拌した後、20ml採取し前値とした。換気後引き続いて、 ^{13}C -acetate 2mg/kg溶液(50%ブドウ糖液に溶解)をゾンデによりラット胃内に投与し、15分後にチャンバー内の空気(呼気)を攪拌後20ml採取した。以後15分毎に180分まで計12回同様の方法で呼気を採取した。 ^{13}C -acetate投与前の基礎値(前値)からの増加率($\Delta^{13}\text{CO}_2$:%= ^{13}C -acetate投与後 ^{13}C -acetate投与前)を算出し、各群における $\Delta^{13}\text{CO}_2$ の最も高い値をピーク値とし、各々について検討をおこなった。

《結果》

1) 血液生化学的検査所見

総蛋白質値、ヘモグロビンA1c値、総コレステロール値は各時期群ともLETO群と比較しOLETF群では有意に高値であった。

インスリン値は28W群では両群間に有意な差は認めなかったが、36W群および44W群ではLETO群に比べ、OLETF群で有意に高値であった。

血糖値は各時期群ともLETO群と比較しOLETF群では有意に高値を認めた。

トリグリセリド値は各時期群ともLETO群と比較しOLETF群では有意に高値を認めた。

2) 組織学的検査

(1) 小腸

全長は各時期群ともLETO群と比較しOLETF群では有意差をもって長くなっていた。

絨毛高は28W群ではLETO群とOLETF群の間に有意差を認めないが、36W群および44W群にはLETO群と比較しOLETF群では有意に増加しており絨毛の増高を示した。

(2) 膵臓

OLETF群(44W群)ではLETO群(44W群)に比し、著明な線維化を認めていた。膵ラ氏島における β 細胞の占める割合は、両群間に有意な変化は見られなかった。

3) ^{13}C -trioctanoin 呼気試験

いずれの群も呼気中 $\Delta^{13}\text{CO}_2$ 濃度のピークは60分値に存在した。ピーク値は36W群および44W群においてLETO群に比しOLETF群で増加を認めていた。比は各時期群間に有意な差はなかったが、28W群に対して36W群および44W群では増加傾向を示していた。また曲線下面積は28W群におい

ては LETO 群および OLETF 群に有意な差はないものの、36W 群および 44W 群では OLETF 群が有意に増加していた。

4) ^{13}C -acetate 呼気試験

胃排出能の評価として ^{13}C -acetate を用いた呼気試験での $^{13}\text{CO}_2$ のピーク値は両群共に 30 分値に存在し、ピーク後は両群ともほぼ同じレベルで漸減していた。

《考 察》

2 型糖尿病モデルの OLETF ラットでは、36 週齢の血清インスリン値は対照の LETO ラットと比して有意に増加しており、インスリン依存性であるリポ蛋白リパーゼの活性が亢進され、トリグリセリドの産生が低下していることを推察した。44 週齢の OLETF ラットではインスリンの低下に従い、リポ蛋白リパーゼの活性が低下し、血液中の内因性トリグリセリドおよび食餌性の外因性トリグリセリドが増加するため、36 週齢の OLETF ラットよりも高値になるものと考えた。OLETF ラットの呼気中 $^{13}\text{CO}_2$ 排出濃度は、36W 群、44W 群では対照群に比べて有意に高値を示しており、脂肪の吸収が対照に比べて上回っていると推察した。また、OLETF ラットは、糖尿病の発症・進展とともに、小腸の長さは長くなり、小腸絨毛上皮の高さも高くなり、吸収面積の増加が推察された。呼気中 $\Delta^{13}\text{CO}_2$ 濃度は、OLETF 群は 36 週齢から有意に上昇しており、形態変化および脂肪吸収亢進が始まる時期は糖尿病の発症後に起こるものと推察した。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	乙 第 号	氏 名	大前 貴裕
論文審査担当者		主 査 教授 勝 健 一 副 査 教授 林 秀 行 副 査 教授 花 房 俊 昭 副 査 教授 田 窪 孝 行 副 査 教授 北 浦 泰	
主論文題名 Hyperlipidemia and Fat Absorption in Model Rats with Type 2 Diabetes Mellitus (2型糖尿病モデルラットにおける高脂血症と脂肪吸収機能に関する検討)			
論文審査結果の要旨			
<p>2型糖尿病は高率に高脂血症を合併し、動脈硬化性疾患の発症と密接な関係がある。脂質の調節には食餌性脂肪を吸収する小腸の役割が重要である。</p> <p>本研究は、2型糖尿病モデル(OLETF)ラットを用いて、糖尿病進行過程における小腸絨毛の形態的变化を確認するとともに、^{13}C-trioctanoin 呼気試験による脂肪吸収機能について検討したものである。</p> <p>申請者は、本研究において、OLETF ラットは対照(LETO)ラットに比し、</p> <ol style="list-style-type: none"> ① 血糖値、コレステロール値、トリグリセリド値が有意に高値であったこと。 ② 小腸絨毛高は週齢経過とともに優位に増加していたこと。 ③ ^{13}C-trioctanoin 呼気試験では、$^{13}\text{CO}_2$のピーク値、曲線下面積ともに36W群および44W群において有意に増加しており、脂肪吸収の亢進あるいは脂肪吸収総量の増加が示唆されたこと。 ④ ^{13}C-acetate 呼気試験では $^{13}\text{CO}_2$のピーク値に達する時間はともに30分後であり、胃排出能に差はないこと。 <p>などを明らかにしている。</p> <p>申請者の検討結果より、OLETF 糖尿病ラットでは糖尿病の発症、進展とともに小腸絨毛の増高などによる吸収面積増加とそれに伴う脂肪吸収亢進あるいは吸収総量増加を推察している。小腸からの脂肪吸収過剰が糖尿病に合併する高脂血症の病因の一つと推察している。今後は小腸絨毛変化がどの段階から起こり得るか、また食事療法やインスリン治療による血糖値、トリグリセリド値のコントロールを行うことによって、絨毛の変化は可逆性か否か等の検討が必要である。</p> <p>以上により、本論文は本学学位規程第3条第2項に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p><主論文公表誌> BULLETIN OF THE OSAKA MEDICAL COLLEGE 52(2): 45-58, 2006</p>			