

実験動物としてのハタネズミ (4)

誌名	日本獣医畜産大学研究報告 = The bulletin of the Nippon Veterinary and Zootechnical College
ISSN	03738361
著者	工藤, 博 大木, 与志雄
巻/号	30号
掲載ページ	p. 61-64
発行年月	1981年2月

実験動物としてのハタネズミ

IV. 各種薬剤（アロキササン、ストレプトゾトシン、フロリジン） 投与による実験的糖尿病の誘発

工 藤 博・大木 与志雄

日本獣医畜産大学 生理化学教室

Microtus Species as Laboratory Animals

IV. Experimentally Induced Diabetes by the Administration of Various Drugs (Alloxan, Streptozotocine and Phloridzin).

Hiroshi KUDO and Yoshio OKI

Department of Physiological Chemistry, Nippon
Veterinary and Zootechnical College, 1-7-1 Kyonanchō,
Musashino City, Tokyo, Japan

これまで、薬物による実験的糖尿病の作成には、アロキササンが好んで用いられてきたが、ストレプトゾトシンの方が、膵臓β細胞を標的とする特異性の点など薬理生理的作用の面ではるかにすぐれているので、実験小動物を用いた例では、ストレプトゾトシンがアロキササンにとって代わろうという勢いがある¹⁾。しかし、山羊を含む反芻動物では、ストレプトゾトシンを用いての実験は、経済的理由から、実施困難である。いっぽう、ハタネズミは反芻動物に類似して複胃^{4,5)}を有し、第一胃内微生物^{7,8,9)}により発酵をおこない、VFAsをエネルギー源として利用している^{7,8)}。したがって、このような草食性小型動物であるハタネズミを用いて、糖と脂肪酸の代謝異常に関して、薬剤を用いて簡易に誘発発病させることができるなら、反芻動物を始めとする草食家畜のための基礎研究に果たす役割は大であると考えられる。以上の事柄を考慮しつつ、アロキササン、ストレプトゾトシンなどの薬剤による膵臓β細胞破壊に伴う実験的糖尿病——ケトosisの誘発、およびフロリジン投与による腎細尿管における糖再吸収機能障害に伴う実験的糖尿病の誘発など各種薬剤に対する反応性について、いわゆる“脂酸動物”としての草食性ハタネズミと“糖動物”としてのマウスを比較しつつ、若干の検討をおこなった。

材料および方法

1. 動物
 - a. 本邦産ハタネズミ (*M. montebelli*): 室内繁殖し、ハイキューブおよび草食動物用ペレット (GC-4 および ZC-4, O社製) で飼育している交雑群。
 - b. マウス (ICR): 室内繁殖し、マウス用固型飼料 (CMF, O社製) で飼育している交雑群。
2. 検体採集法
 - a. 血液: ハタネズミ、マウスともに大腿静脈より採血した。血糖測定用以外の検体はすべてヘパリン処理を行った。除蛋白を必要とする場合は、14% (V/W) メタリン酸を含む 5 N H₂SO₄ 溶液で行った。
 - b. 尿: ハタネズミ、マウスともに膀胱を圧迫し、ピーカーで受けて採尿した。検体は氷冷下で処理され、直ちに供試された。止むを得ない場合、プチルゴム栓で密栓の上、-20°C で凍結保存した。
3. 測定法: 血糖は全血を用い、OTB法⁶⁾により、尿糖は OTB法およびテストテープ (イーライリリー社, USA) により測定を行った。FFAは血清を用い、NEFA-Test Wako (和光純薬, 東京) により測定した。血液 (除蛋白) および尿中のケトン体は、蒸留水で2~5倍に希釈した検体を用い、ガスクロマトグラフ (GC-4,

Table 1. Effects of drugs on glucose and ketone bodies in blood and urine

Animal	Control		Alloxan 250mg/kg 500mg/kg 250mg/kg			STZ 100mg/kg		Phloridzin 5mg/kg		
	M.m.*	Mice (ICR)	M.m.	M.m.	Mice (ICR)	M.m.	Mice (ICR)	M.m.	Mice (ICR)	
No. of animals treated	10	5	7	12	6	6	6	3	6	
No. of animals dead	0	0	0	6	2	2	0	0	0	
No. of animals examined	10	5	7	4 (neg. #) 2 (posi. ##)	4	4	6	3	6	
Blood										
Glucose (mg/dl)	75	140	78	79	250	580	300	450	82	130
FFA (mEq/l)	0.55	0.5	0.51	0.49	0.68	1.25	1.95	0.73	1.68	1.12
Acetone (mg/dl)	2.3	—	2.8	—	14	15.1	36	6.2	—	—
β -Hydroxybutyric acid (mg/dl)	1.2	—	1.1	—	6.7	6	15.3	—	—	—
Urine										
Glucose (mg/dl)	—	—	—	—	2000 <	2000 <	2000 <	2000 <	—	610
Acetone (mg/dl)	3.8	2.8	3.4	2.5	26.7	30.4	92.2	30	9.4	—
Period	14 days after injection (ip)								2 hours after injection (im)	

M.m.*: *Microtus montebelli*

neg. #: Animals observed as negative reaction

posi. ##: Animals observed as positive reaction

FID, Shimadzu) で測定を行った。カラムは silicon OV-17 を用いた。

結 果

1. ハタネズミとマウスにおける各種薬剤投与による糖尿—ケトン尿症誘発の動物種差。

Table 1 に各種薬剤を投与した時のハタネズミとマウスの血液および尿中のグルコースおよびケトン体などを測定した結果を示した。それらは下記の通りであった。

アロキサンの投与量で死亡 (2/6 例) するものがあり、検査した動物 (4/6 例) は何れも、血液および尿中の糖、FFA、ケトン体の著しい増量が見られた。これに対し、ハタネズミでは 250 mg/kg のアロキサンを投与しても、死亡するものはなく、また血液および尿中のグルコース、ケトン体などに何の影響も及ぼさなかった。そこで 500 mg/kg を投与した結果、半数 (6/12 例) が死亡した。生存したこの群のハタネズミ 6 匹のうち 4 匹は、血液および尿中のグルコース、FFA、ケトン体の変化が認められず、2 匹が血液および尿中のグルコース、ケトン体の増加を認めたが、FFA の著明な増加は認められなかった。

ストレプトゾトシン: ストレプトゾトシン (100 mg/kg) を投与したハタネズミでは、血液および尿中のアセ

トン、グルコース、血液はすべて著明に増加していた。3 種類の薬物のうち、ストレプトゾトシンが最も高い血糖値 (300 mg/dl)、FFA (1.95 mEq/l)、血中ケトン体 (アセトン; 36 mg/dl、 β ハイドロキシ酪酸; 15.3 mg/dl)、尿中アセトン (92.2 mg/dl) を記録した。マウスでは血液と尿中に高濃度のグルコース、尿中にアセトン (30 mg/dl) を認めたが、血液中の FFA (0.73 mEq/l) とアセトン (6.2 mg/dl) は、わずかに増加したに過ぎなかった。

フロリジン: フロリジン投与群では、ハタネズミ、マウスともに血液 FFA の増加が見られたが、血糖およびケトン体の著明な増量は見られなかった。しかし、マウスにおいては明瞭な糖尿を認めた。

2. ハタネズミにおけるストレプトゾトシンの投与量と糖尿—ケトン尿症誘発の関係

Table 2 はハタネズミに 35~200 mg/kg のストレプトゾトシンを腹腔内投与し、2 週間後の血液および尿中のグルコース、ケトン体などを測定した結果である。35 mg/kg ではコントロールと変わらないが、75 mg/kg 以上では、血液および尿中のグルコース、ケトン体、FFA はすべて、著明に増量した。100 mg/kg 投与群では 6 匹中 2 匹が死亡し、200 mg/kg では、すべてのハタネズミが、18~48 時間以内に死亡した。

Table 2. Effects of STZ on glucose and ketone bodies in blood and urine of *M. montebelli*

	Control	35mg/kg	75mg/kg	100mg/kg	150mg/kg	200mg/kg
No. of animals treated	10	6	6	6	5	6
No. of animals dead	0	0	0	2	4	6
No. of animals examined	10	6	6	4	1	0
Blood	Glucose (mg/dl)	75	80	292	300	320
	FFA (mEq/l)	0.55	0.51	0.92	1.95	2.06
	Acetone (mg/dl)	2.3	2.5	36.7	36.0	38.3
	β -Hydroxybutyric acid (mg/dl)	1.2	1.3	13.8	15.3	19.7
Urine	Glucose (mg/dl)	—	—	2000<	2000<	2000<
	Acetone (mg/dl)	3.8	3.7	22.1	92.2	98.4

Sampling was made 2 weeks after STZ injection

考 察

各種薬剤に対する反応性はいわゆる“糖動物”であるマウスと“脂酸動物”であるハタネズミでは大きな相違が認められた。すなわちハタネズミはマウスに較べて、アロキサン投与により、血液および尿中の糖、ケトン体の増量を惹起しがたく、ストレプトゾトシンに関しては、ハタネズミの方がケトーシスの傾向が強く、同時に血液 FFA の増加が著しかった。フロリジン投与の場合は、マウスでは尿糖が認められたが、ハタネズミは陰性であった。ストレプトゾトシンの糖尿病誘起作用は、アロキサンよりもすぐれているとされているが、その一つに、ストレプトゾトシンは投与量を加減することによって、軽症から重症までの糖尿病を容易に作り出すことができるという特性を持っている。著者の行ったストレプトゾトシン 35 mg/kg~200 mg/kg 投与量では、この特性を十分に追認できる結果は得られなかったが、35mg/kg~75 mg/kg の間の投与量をさらに詳細に検討すれば、軽症から重症までの段階的な発症例を作り出すことが可能と思われる。薬物による実験的糖尿病の作成には、アロキサンよりもストレプトゾトシンの方が、すぐれているが、経済的な理由から牛のような大動物での実験は困難である。そこで同じ草食性の“脂酸動物”である小型のハタネズミを用いて糖尿病—ケトーシスその他の代謝障害に関する基礎的研究を行ない、草食動物としての共通特性を明らかにすれば、反芻動物の糖尿病—ケトーシス^{2),9)}を始めとする栄養障害の特性¹⁰⁾を理解するための有用な参考資料となるであろうと思われる。

要 約

アロキサン、ストレプトゾトシンなどの薬剤による膵臓 β 細胞破壊に伴う実験的糖尿病—ケトーシスの誘発、およびフロリジン投与による実験的糖尿病など、各種薬剤に対する反応性について、いわゆる“脂酸動物”としての草食性ハタネズミと、“糖動物”としてのマウスと比較検討した。その結果、次の事が明らかになった。

(1) アロキサン：ハタネズミはアロキサンに対し感受性が低く、250 mg/kg の腹腔内投与では何の影響もなく、500 mg/kg の投与量で一部のハタネズミの尿糖、ケトン体の出現を見た。これに対し、マウスでは 250 mg/kg の投与により、尿および血液中の糖、FFA、ケトン体の著しい増加が見られた。

(2) ストレプトゾトシン：ハタネズミでは、本剤の投与により、他の薬剤と較べて、最も高い血糖値(300mg/dl)、FFA (1.95 mEq/l)、血中ケトン体 (51.3 mg/dl) および尿中アセトン (92.2 mg/dl) を記録した。マウスでは、血糖および尿糖は高値を示したが、ケトン体の増加はハタネズミ程、著しくなかった。

(3) フロリジン：ハタネズミ、マウスともに、FFA の増加が見られた。ハタネズミでは、グルコース、ケトン体に関して、ほとんど影響を受けなかったが、マウスでは明瞭な尿糖の出現を認めた。

文 献

- 1) 阿部正和 (1977). 糖尿病. 講談社, 東京. p. 20~25.
- 2) 本好茂一 (1974). 牛の膵内分泌と糖尿. 家畜生化学研究会, 6: 43-66.

- 3) 小野憲一郎 (1980). ウシにおける膵内分泌異常糖尿病とケトosis. 栄養生理研究会報, 24: 184-198.
- 4) GOLLEY, F. B. (1960). Anatomy of the digestive tract of *Microtus*. J. Mammal., 41: 49-99.
- 5) 後藤信男 (1975). ハタネズミの飼育・繁殖と消化管の特性. シンポジウム, 実験動物の開発改良 (第 3 回), 講演集, 24~28.
- 6) 小長谷勝利 (1977). 臨床化学実習書. 日本衛生技術専門学校, 東京.
- 7) KUDO, K., OKI, Y., and MINATO, H. (1979). *Microtus* species as the laboratory animals. I. Bacterial flora of the esophageal sac of *Microtus montebelli* fed on different rations and its relationship to the cellulolytic bacteria. Bull. Nippon. Vet. Zootec. Coll., 28: 13-19.
- 8) 工藤 博 (1980). 草食性ハタネズミにおける発酵生産物の産生, 利用および実験的糖尿病ケトン尿症に関する研究. 栄養生理研究会報, 24(1): 17-34.
- 9) Kudo, H. and OKI, Y. (1981). Fermentation and VFA productions in the esophageal sac of *Microtus montebelli* fed on different rations. Jpn. J. Vet. Sci., 43: 299-305.
- 10) 梅津元昌 (1968). 乳牛の科学. 農山漁村文化協会, 東京. p. 337-444.

SUMMARY

Experimentally induced diabetes by the administration of drugs such as alloxan, streptozotocine and phloridzin were comparatively studied by using *Microtus* and mice.

1) Alloxan: *Microtus* was low sensitive to alloxan, and there was no effect by *ip* administration of 250 mg/kg of alloxan. A part of *Microtus* showed glucosuria and ketone body by the administration of 500mg/kg of alloxan. Whereas, marked increase of glucose, FFA and ketone body in blood and urine were observed by the administration of 250 mg/kg of alloxan in mice.

2) Streptozotocine: Among the drugs used, by the administration of streptozotocine, the highest blood glucose value (300 mg/dl), FFA (1.95 mEq/l), blood ketone bodies (51.3 mg/dl) and urine acetone (92.2 mg/dl) were observed in *Microtus*. In mice, glucose in blood and urine showed high level, but the ketone bodies were very low level, as compared with *Microtus*.

3) Phloridzin: Both *Microtus* and mice showed the higher FFA in blood. As far as glucose and ketone body concerned, phloridzin had no effect on *Microtus*. Only in mice obvious glucosuria was observed.