齲蝕誘発性高蔗糖飼料のハムスター血糖 に及ぼす影響

奈良 美夫 柴田 治雄 森岡 俊夫

九州大学歯学部予防歯科学教室*

〔受付：昭和53年2月16日〕

抄録：蔗糖56%含有の diet #2000で長期間飼育されたハムスター（実験群）は、普通飼料で飼育されたハムスター（対照群）と比較して、全身の発育や糖代謝にどのように影響があるかを血液、尿、唾液などの検査によって検索した。一般発育は実験群が劣り、血球成分では白血球が実験群に少ないことを除き両群間に差異はなかった。血液生化学検査では実験群に血中 Ca^{++} 、およびグルコース値が高く、尿酸が低かった他は有意差が認められなかった。血液ガス測定結果は両群に有意差はなく、実験群に酸血症の傾向がみられた。空腹時血糖は両群に差はなく、飼料摂取時血糖は実験群が有意に高かった。なお唾液および尿中の糖量は両群共極めて低く差異は認められなかった。糖負荷試験では60分値が実験群に有意に高く、120分値も同様に高かった。このことは実験群において明らかに糖代謝異常があることを示唆するものである。

緒 言

ハムスター実験齲蝕系としては離乳期の動物の口腔内に齲蝕原性細菌を接種し、蔗糖56%含有の齲蝕誘発性飼料#2000で1～2ヶ月間飼育することにより臼歯部に発生する齲蝕を scoring している¹⁾。このような高蔗糖含有飼料で飼育されたハムスターが普通飼料で飼育されたハムスターと比較して、全身の発育や代謝にどのような影響があるかを把握することは重要であり興味ある点である。本実験は、高蔗糖飼料の長期間投与がハムスターの全身状態に及ぼす影響を血液、尿、唾液などの諸検査によってその実態を検索したものである。

実験材料と方法

1. 動物および飼料

米国 NIH 由来のゴールデンハムスターを自家繁殖させ、その離乳期（生後20日）のものを用いた。実験開始時の両群の平均体重は、26g であっ

た。飼料は対照群に標準固型飼料（オリエンタル酵母製 NMF 型）を、実験群には Keyes らの齲蝕誘発性飼料#2000²⁾を用いた。飼料ならびに飲料水（脱イオン水）は随時摂取できるようにし60日間飼育した。動物は各群ごとにステンレス製金網ケージに入れ、温度、湿度、騒音、照明時間が調節された環境下で飼育した。

2. 血液・尿・唾液の採取

血液の採取は、血球成分および血液生化学検査用にはネブタール麻酔下での心臓穿刺により、また糖負荷試験用には、後眼窩静脈叢穿刺によりそれぞれ採血した。

尿は膀胱に自然に貯溜しているものを開腹後膀胱圧迫によって採取した。

また唾液の採取はピロカルピンを腹腔内注射して刺激唾液を得た。

3. 血球成分の分析

白血球および赤血球数、血色素、ヘマトクリット、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)および平均赤血球血色素濃度(MCHC)

Influence of cariogenic high sucrose diet on blood sugar level of hamster

Yoshio NARA, Haruo SHIBATA and Toshio MORIOKA (Department of Preventive Dentistry, School of Dentistry, Kyushu University, Fukuoka)

* 福岡市東区馬出3丁目1番1号 (〒812)

Jap. J. oral Biol., 20 : 443-448, 1978.

の測定は Coulter counter Model S (Coulter Diagnostic Inc., HIALEAH, FLORIDA, U.S.A.)³⁾ 自動分析装置によった。なお MCV, MCH, MCHC の算定はそれぞれ $MCV = Hct \times 10 / RBC$, $MCH = Hgb \times 10 / RBC$, $MCHC = Hgb \times 100 / Hct$ の式によった。

4. 血液生化学検査

Sequential multiple autoanalyzer (Technicon Instruments Corp., New York, U.S.A.)⁴⁾ によって血液の総蛋白量(T.P.), コレステロール, グルコース, 総ビリルビン, アルカリフォスファターゼ, LDH, GPT および GOT を測定した。なおグルコースについては自動分析のほかに manual での glucose oxidase 法⁵⁾によっても定量を行なった。

5. 血液ガス

I.L. meter (Instrumentation Lab., U.S.A.)⁶⁾ によって pH 値, 酸素分圧, 炭酸ガス分圧, 血漿重炭酸イオン濃度および base excess(酸・塩基平衡)⁷⁾を測定した。

6. 尿および唾液検査

尿中ケトン体の定性には Ketostix(三共, 東京)を, また尿中グルコース, pH, 蛋白質, 潜血の定性は Hemacombistix (マイルス三共, 東京)をそれぞれ用いた。

唾液のグルコース含量は glucose oxidase 法⁵⁾によって定量した。

7. 糖負荷試験

20時間絶食させた動物に体重100g あたりグルコース (和光純薬, 大阪) 0.2g を腹腔内に注射し, 注射直前, 注射後60分および120分の血糖値を glucose oxidase 法⁵⁾で測定した。

実験成績

1. 動物の一般発育

実験群と対照群の動物の一般発育を比較すると実験開始後20日, 40日および60日での体重はいずれも実験群において有意に低く ($p < 0.05$) また両群動物1匹1日あたりの飼料および飲料水の摂取量も実験群において低い傾向が認められた(表1)。肝湿重量も実験群に低い傾向があったが, 体重あたりに換算すれば両群においてほとんど差はみられない。

2. 血球成分

血球成分を両群で比較すると表2に示されるごとく赤血球, 血色素, ヘマトクリット, MCV, MCH, MCHC には差異は認められなかったが, 白血球数は実験群において低い ($p < 0.05$) ことが認められた。参考までに人の血球の正常値を表2

Table 1 Comparison of body and liver weight and dietary consumption of hamsters reared with and without high-sucrose diet for 60 days

Diet	No. of animals	Body weight (g)			Dietary consumption (g/day/animal)	Liver wet weight* (g)
		day 20	day 40	day 60		
Lab. Chow	9	58 ± 5*	82 ± 5*	106 ± 4*	8.9(12.1)	3.4 ± 0.6
# 2000	9	44 ± 11*	46 ± 15*	70 ± 14*	7.0(10.6)	2.9 ± 0.5

Significance $p < 0.05$ $p < 0.05$ $p < 0.05$
() : water consumption (ml/day) * : Specimens were obtained from 6 animals

Table 2 Comparison of blood cells, hemoglobin and hematocrit of hamsters reared with and without high-sucrose diet for 60 days

Diet	No. of animals	WBC $\times 10^3$	RBC $\times 10^6$	HGB g/dl	HCT %	MCV $\mu 3$	MCH μg	MCHC %
Lab. Chow	7	5.1 ± 0.7*	7.69 ± 0.22	16.6 ± 0.6	45.6 ± 1.6	59 ± 1	21.5 ± 0.2	36.2 ± 0.4
#2000	7	3.9 ± 0.7*	7.66 ± 0.47	16.3 ± 1.0	46.1 ± 2.8	60 ± 1	21.2 ± 0.3	35.3 ± 0.7
Significance		$p < 0.05$						
Human standard value		4-9	4	12-16	35-45	90	30	30-35

Table 3 Comparison of sugar in blood, saliva and urine and ketone body of hamsters reared with and without high-sucrose diet

	Blood sugar (mg/dl)		Salivary sugar (mg/dl)	Urinary sugar	Ketone body in urine
	Starvation	Feeding			
Lab. Chow	115±13 (N=16)	118±19* (N=7)	2.8±1.1 (N=6)	negative (N=6)	negative (N=6)
# 2000	106±28 (N=15)	218±62* (N=5)	2.8±0.7 (N=6)	negative (N=6)	negative (N=6)

* : $p < 0.05$

Table 4 Comparison of biochemical substances in blood of hamsters reared with and without high-sucrose diet for 60 days

Diet	T.P. gm%	Ca mg%	Chol. mg%	BUN mg%	Uric Acid mg%	Creat. mg%	T. Bili. mg%	Alk. Phos. mU/ml	LDH mU/ml	GPT mU/ml	GOT mU/ml
Lab. Chow (N=7)	6.1 ±0.2	10.9* ±0.6	167 ±12	21.4 ±1.3	4.1* ±1.2	0.14 ±0.14	0.10 ±0.07	207 ±14	363 ±124	101 ±23	142 ±56
#2000 (N=7)	6.5 ±0.4	12.5* ±0.9	179 ±38	18.8 ±3.4	2.5* ±0.9	0.16 ±0.08	0.10 ±0.05	201 ±37	257 ±49		130 ±99
Significance		$p < 0.01$			$p < 0.05$						
Human standard value	6-8	8.5- 10.5	150- 300	10-20	2.5- 8.0	0.7- 1.4	0.15- 1.00	30-85	100- 225	7-40	7-40

に示したが、人とハムスターの間には血球成分の数値にかなりの差が存在している。

3. 血液生化学検査

表3は両群の血糖、唾液糖、尿糖および尿中ケトン体を測定したものである。空腹時血糖は対照群で115mg/dl、実験群で106mg/dlと差が認められないが、自由摂取時血糖は対照群が118mg/dl、実験群が218mg/dlであり実験群に明らかな高値が示され、両群間に有意差が認められた($p < 0.05$)。唾液中グルコース量はきわめて微量であり両群において差異は認められず、また尿糖および尿中ケトン体も両群ともに陰性であった。

表4は血液の総蛋白量(T.P.)、カルシウム(Ca^{2+})、コレステロール(Chol.)、血中尿素窒素(BUN)、尿酸、クレアチニン(Creat.)、総ビリルビン(T. Bili.)、アルカリフオスファターゼ(Alk. Phos.)、LDH、GPTおよびGOT値を示したもので Ca^{2+} および尿酸値を除いて他は両群に有意差は認められなかった。すなわち Ca^{2+} は実験群において有意($p < 0.01$)に高く、尿酸は低い($p < 0.05$)結果を得た。ちなみに人の標準値を表の下欄に示した。

ここで注目されることは血中 Ca^{2+} 値が高いことで、血糖が高くなると必然的に膵臓におけるインスリンの分泌が促されることになるが、インスリンの分泌に Ca^{2+} の存在が密接に関係している¹⁰⁾ことを考えればこの現象は全く合目的であると考えられる。また実験群のGPT値が表に示されていないのは7例中2例においてこの値が異状に高く定量できず、平均値を求め得なかったためである。なお血中尿酸については、尿酸がプリン体の生体における最終代謝産物であり、このものがプリン体のみから生合成されるだけでなく生体内総尿酸量の約 $\frac{1}{2}$ が摂取したあらゆる食品から生合成される²⁰⁾ので、本ハムスター実験についても実験群にみられた尿酸の低値は飼料摂取量がこの群に低かったためか或はdiet #2000自体にプリン体の含量が低いからいずれかに起因すると考えられる。

4. 血液ガス測定結果

表5に示すごとく血液のpH、酸素分圧(PO_2)、炭酸ガス分圧(PCO_2)、bicarbonate(HCO_3^-)およびbase excess(B.E.)の値はいずれも両群において有意差は認められなかったが、pH値が実

Table 5 Comparison of blood gases of hamsters reared with and without high-sucrose diet for 40 days.

Diet	No. of animals	pH	PO ₂ mmHg	PCO ₂ mmHg	HCO ₃ ⁻ mEq/l	B. E. mEq/l
Lab. Chow	6	7.319±0.054	33.8±12.5	66.4±13.6	31.9±3.9	+4.6±3.1
#2000	6	7.245±0.130	23.8± 6.4	74.3±16.0	29.8±2.9	+2.3±1.9
no significant difference						
Human standard		7.360	40.0	46.0	25.0	0

Figure 1 Glucose tolerance test of hamsters reared with and without high-sucrose diet (#2000) for 60 days

験群に低いことからこの群の動物に酸血症（血液のpHが正常より低い場合は酸血症 acidemia⁷⁾という）の傾向のあることが示された。また実験群に炭酸ガス分圧が高く酸素分圧が低い傾向がありこのことは呼吸性障害を示唆しているが、試料血が心臓を穿刺して採取されているのでそれが動静脈血のいずれかの区別ができず、そのためにこれらの数値の意義づけをすることはできない。一方代謝性因子としての bicarbonate および base excess の値については特定の障害を裏付けるような変化は示されなかった。ちなみに人の正常値は表の下欄に示した。

5. 糖負荷試験結果

飼料自由摂取時の血糖値が実験群に高いことから通法に従いブドウ糖負荷試験を実施した。負荷直前、負荷後60分、120分の動物の血糖値を両群で比較すると図1に示すごとくで、負荷後60分の血糖値は実験群に有意に高く(p<0.01)、また120分値においても有意差はないが高血糖の持続がみられた。このことは実験群の動物に明らかにインスリン作用が減弱した結果として耐糖能が低下した

ことを示すものである。

考 察

蔗糖は小腸において加水分解されてグルコースとフラクトースになって吸収される。Wilson ら⁸⁾はフラクトースがハムスターの腸管を通過する間にグルコースに変換されること、また Ginsburg ら⁹⁾は ¹⁴C-フラクトースを用いモルモットにおいてフラクトースの70%がグルコースに変換することを観察している。このことは蔗糖の過剰摂取が血中グルコース量を著しく上昇させることを示唆するものである。Herbert ら¹¹⁾はラットに蔗糖を過剰に投与すると血清コレステロールの増加と中性脂肪の減少と肝重量の増大を認め、服部¹²⁾はSDラットを高蔗糖飼料で飼育すると動物の発育が少なからず遅延し、血清 triglyceride が高くなること、また糖負荷試験の結果も高血糖が持続することを報告している。本実験でも高蔗糖飼料で飼育するとハムスターの発育の遅れや耐糖性の低下が認められた。また本論文を書き上げる直前に関本ら¹³⁾はサル、ビーグル犬、ラット、うさぎなど多種類の哺乳動物に総カロリーの40%が蔗糖で補給された飼料で長期間飼育すると、これらの動物に耐糖能曲線の糖尿病変化が起こることを報告し蔗糖投与期間が7~12ヶ月以内では糖負荷後30分、60分および90分で実験群において有意に高血糖を示し120分では殆んど平常値にもどるが投与3年に及ぶと耐糖能が人にみられると同様に糖尿病型を呈し糖代謝異常と血管病変が出現することを認めている。2ヶ月間高蔗糖飼料をハムスターに与えた本実験でも糖負荷試験により高血糖が認められたことは実験期間を延長すると耐糖能が更に低下し重症になることが予測される。そしてこ

のような現象は文明のもたらした単純糖質への純化と精製が自然の栄養素の配合を極端な比率に変化させたり、糖の吸収速度や血中濃度の急激な上昇と下降の連続による生体内の混乱状態とその反復により遂には代謝異常が不可逆性状態に陥ることになる結果であると関本ら¹³⁾は説明している。

糖尿病をその病期によって分類¹⁴⁾すると、臨床的に症状のない前糖尿病 (Prediabetes)、通常の血糖検査では検出されず症状のない潜在糖尿病 (Latent diabetes)、糖負荷試験で検出されるが尿糖が稀にしか検出されず無症状の化学的糖尿病 (Chemical diabetes)、および尿糖が陽性で空腹時血糖が高く典型的な症状や合併症のみられる顕性糖尿病 (Overt diabetes) の4つとされている。本実験動物は糖負荷試験によって血糖が有意に高くなり糖尿病型を示すことからこの状態を上記の分類に照らすと chemical diabetes に相当すると考えられる。

Aschcroft ら^{15,16)}はインスリン分泌速度とグルコース代謝との間には密接な関係がありインスリンの分泌促進が β -細胞内のグルコース代謝を促進すること、また Hellman ら¹⁰⁾はインスリンの分泌に Ca^{2+} は不可欠であり Ca^{2+} の欠乏やアドレナリン添加はインスリン分泌を抑制し glucose oxidase を阻害することを報告している。さらに Deris ら¹⁷⁾は Ca^{2+} によるインスリン分泌の促進を実験的に証明し Ca^{2+} がインスリン分泌の引き金になるとしている。本実験において血中 Ca^{2+} が実験群に高いことが示されたがこのことは膵臓でのインスリン分泌の促進との関連において興味ある現象といえよう。また血中に動員される Ca^{2+} が主として生体硬組織に由来すると考えられるだけに歯槽骨や歯質との関連に関心を抱かせるものである。

表2で示された如く血球成分を両群で比較すると白血球数が実験群に有意に少ないことが解ったので白血球の分析¹⁸⁾も行ったがその理由については解明できなかった。

また両群1例宛ではあるが血中 Albumin/Globulin 比を測定したところ実験群が1.46に対し対照群が2.65であり、前者にこの比が低いことが解った。Globulin は通常減少することは稀であり、

Albumin は容易に減少するとされている¹⁸⁾。A/G 比が低い場合は栄養失調、消化吸收障害および慢性肝炎などがあり、従って本実験の実験群に栄養素を合成する素材である食餌の質または量の不足からくる栄養失調的な現象があるのかもしれない。

他方 *Streptococcus mutans* を口腔内へ接種し diet #2000で飼育したハムスターについて同様に血液性状などを調べたが、この場合非接種群との間にとくに認められるような差異はなかった。このことは上述のような糖代謝異常が口腔内への接種菌の有無に直接関係のないことを意味している。

高蔗糖含有飼料の全身的影響を詳細に把握するためには実験群と対照群の飼料を isocaloric にすると共に、蔗糖の代替品の検討を併せ行ない、嗜好の問題からくるカロリー摂取量が両群において差が生じないように考慮した実験を更に積み重ねなければならない。

また高蔗糖飼料で飼育したハムスターに齲蝕が多発し通常の飼料では発症しにくい¹⁹⁾が、口腔内における蔗糖と齲蝕原性細菌の関連による局所作用のほかに、本実験の結果が示したような糖代謝異常をはじめとするいくつかの全身的变化がハムスター齲蝕の発症に何等かの影響を示すかどうかについては今後の実験にまたなければならない。目下糖尿病を発症させた動物で齲蝕との関連を追究することを計画中である。

結 論

離乳期のハムスターに蔗糖56%含有齲蝕誘発性飼料 diet #2000を与えた実験群と通常の固型飼料 (オリエンタル NMF) を与えた対照群について、飼料投与2ヶ月後の両群動物の一般発育ならびに血液・尿および唾液の性状を比較検討した。一般発育は対照群に比して実験群が劣り、血球成分は白血球数を除き両群に差異は認められなかった。血球生化学検査では実験群に Ca^{2+} および血糖が高く尿酸の値が低かった他は有意差がなかった。血液ガス測定では両群に有意差は観察されなかったが実験群に酸血症の傾向が示された。空腹時血糖は両群に有意差がなく、飼料自由摂取時血糖が実験群に有意に高かった。なお唾液および尿

中の糖量は極めて低く両群において 差は認められなかった。

糖負荷試験を行なった 結果は60分後の血糖値が実験群に有意に高く120分値も 実験群に高かった。このことは実験群において 明らかに糖代謝異常の存在を示唆するものである。

謝 辞

稿を終えるにあたり本実験にご協力を頂いた九州大学医学部附属病院中央検査室の関係各位に深く感謝致します。また本実験に種々貴重なお助言を賜った九州大学医学部第二内科の仲村吉弘博士に厚く謝意を表します。

本論文の要旨は昭和52年12月2日第25回 IADR 日本部会(東京)において報告した。

文 献

- 1) FITZGERALD, R. J. and KEYES, P. H.: Demonstration of the etiologic role of streptococci in the experimental caries in the hamster, *J. Am. Dent. Assoc.* **61**: 9-19, 1960.
- 2) KEYES, P. H.: Dental caries in the Syrian hamster. VIII. The induction of rampant caries activity in albino and golden animals, *J. Dent. Res.* **38**: 525-533, 1959.
- 3) PINKERTON, P. H.: An assessment of the Coulter counter model S. *J. Clin. Path.* **23**: 327-335, 1970.
- 4) TECHNICON: Auto-analyzer methodology, SMA 12/60. Oct. 1970.
- 5) WENER, W. H., REY, H. G. und WIELINGER, H.: Über die Eigenschaften eines Neuen Chromogens für die Blutzucker Bestimmung nach der GOD/POD-Methode, *Fresenius'Z. analyt. Chem.* **252**: 224-228, 1970.
- 6) OPERATOR's manual 813 pH/blood gas analyzer and acid base calculator, Instrumentation Laboratory Inc., Lexington, Mass. U.S.A., 1976.
- 7) 酸塩基平衡: 肺機能と酸塩基平衡, 酸塩基平衡と臨床シリーズ pp. 55-70, 1973.
- 8) WILSON, T. H. and VINEENT, T. N.: Absorption of sugars in vitro by the intestine of the golden hamster, *J. Biol. Chem.* **219**: 851-866, 1955.
- 9) GINSBURG, V. and HERS, H. G.: On the conversion of fructose to glucose by guinea pig intestine, *Biochim. Biophys. Acta* **38**: 427-434, 1960.
- 10) HELLMAN, B., IDAHL, L., LERNMARK, Å., SEHLIN, J. and TÅLJEDAL, I.: The pancreatic beta-cell recognition of insulin secretagogus. Effect of calcium and sodium on glucose metabolism and insulin release, *Biochem. J.* **138**: 33-45, 1974.
- 11) HERBERT, J. A.: Effect of exercise on lipid metabolism of rats fed high carbohydrate diets, *J. Nutr.* **105**: 718-725, 1975.
- 12) 服部吉秀: 蔗糖過剰摂取に関する実験的研究(第1報), ラットにおける meal eating と蔗糖過剰摂取について, 歯学, **64**: 12-22, 1976.
- 13) 関本 博, 中田 勲, 高折雅章: 砂糖と動脈硬化と糖尿病, *Diabetes J.* **5**: 153-159, 1977.
- 14) 坂本信夫: 糖尿病の分類, 糖尿病のすべて pp. 234-241, 南江堂, 1971.
- 15) ASHCROFT, S. J. H., HEDESKOV, C. J. and RANDLE, P. J. Glucose metabolism in mouse pancreatic islets, *Biochem. J.* **118**: 143-154, 1970.
- 16) ASHCROFT, S. J. H., WEARASINGHE, L. C. C. and RANDLE, P. J.: Interrelationship of islet metabolism, adenosine triphosphate content and insulin release, *Biochem. J.* **132**: 223-231, 1973.
- 17) DERIS, G., SOMERS, G. and MALAISSE, W. J.: Stimulation of insulin release by calcium, *Biochim. Biophys. Res. Comm.* **67**: 525-529, 1975.
- 18) 金光 泉, 金井正光: 臨床検査法提要, VI 53-67, VII 13-24, 金原出版, 東京, 1972.
- 19) 柴田治雄, 奈良美夫, 森岡俊夫: 粉末標準飼料の齶蝕誘発性の欠如, 未発表資料, 1977.
- 20) 山村雄一: 新内科学, 1巻, pp. 476-479, 南山堂, 東京, 1977.