ストレプトゾトシン糖尿病ラットにおける炎症反応, 肉芽形成, 組織修復

井上農夫男・西方 聡・河村正昭*, 古屋悦子・滝田裕子・西風 脩**

*Streptozotocin diabetes: prolonged inflammatory response
with delay of granuroma formation*Nobuo Inoue・Satoshi Nishikata・Masaaki Kawamura*,
Etsuko Furuya・Hiroko Takita・Osamu Nishikaze**

糖尿病生体の炎症反応については, その初期を対象と

した研究から, noxious agents や chemical mediators
に対する反応は低下していることが知られている¹⁾. そ
れゆえに, lysosomal enzyme や chemical mediator の
測定側からだけでは, 糖尿病生体の炎症過程を把握する
のは困難である. したがって, 炎症の度²⁾を表示する上

表 1 component values in diabetic and control rats injected with 2% carrageenin

component	group	days after carrageenin injection		
		7	14	21
fluid LPO ^{#1}	diabetic	51.6±14.35 ^{*5)}	>31.6±6.41 ^{*5)}	-27.5±7.91
	control	31.7±9.01 ^{*3)}	>25.1±3.07 ^{*5)}	-27.4±11.56
fluid LDH ^{#2}	diabetic	16.2±2.67 ^{*1)}	>13.3±3.82 ^{*5)}	-10.4±3.78
	control	12.6±2.12 ^{*5)}	-11.3±2.13 ^{*4)}	>8.69±2.85
fluid LAP ^{#3}	diabetic	1.86±0.160 ^{*5)}	>1.48±0.224 ^{*5)}	-1.42±0.208
	control	1.55±0.134 ^{*5)}	>1.28±0.129 ^{*4)}	-1.23±0.141
fluid β -Gl ^{#4}	diabetic	264±39.4 ^{*5)}	>174±35.7 ^{*5)}	-175±31.0
	control	181±26.8 ^{*5)}	>130±26.0 ^{*5)}	-127±25.2
fluid proamidase ^{#5}	diabetic	2.83±2.304 ^{*5)}	<31.2±15.45 ^{*5)}	-32.2±10.51
	control	11.5±5.38 ^{*5)}	<38.1±5.44 ^{*5)}	-43.7±10.36
fluid proamidase / β -Gl	diabetic	54.2±35.62 ^{*5)}	<1140±731 ^{*5)}	-1153±419
	control	389±251 ^{*5)}	<1879±605 ^{*5)}	-2349±541
fluid protein ^{#6}	diabetic	29.1±2.43 ^{*5)}	<33.9±3.77 ^{*5)}	-33.2±2.58
	control	30.6±1.83 ^{*5)}	<34.5±2.64 ^{*5)}	-40.0±3.59
pouch fluid volume ^{#7}	diabetic	1.9±1.07 ^{*5)}	<3.7±1.28 ^{*4)}	>1.7±1.75
	control	2.4±0.46 ^{*5)}	<4.1±0.82 ^{*4)}	>2.5±1.81
pouch weight ^{#8}	diabetic	12.0±2.99 ^{*5)}	>9.16±2.095 ^{*5)}	>5.36±1.447
	control	16.3±3.05 ^{*5)}	>11.6±1.90 ^{*4)}	>8.62±1.441

#1 : pmol malondialdehyde/mg protein. #2 : Wroblewski units/min/mg protein.

#3 : μ mol 5-aminosalicylic acid $\times 10^{-3}$ /min/mg protein. #4 : nmol p-nitrophenol/h/mg protein. #5 : p-nitroanilin/min/mg protein. #6 : mg/mL. #7 : mL. #8 : g. #2,3,4,7 : Normal distribution obtained by square root calculation, square root values are indicated. Mean $\pm$ SD is given, asterisks between values being compared : *1 : P<0.05.

* : P<0.025. *2) : P<0.02. *3) : P<0.01. *4) : P<0.005. *5) : P<0.001

* Department of Oral Surgery II, School of Dentistry, Hokkaido University 北海道大学歯学部
口腔外科学第二講座** Department of Biochemistry, School of Dentistry, Hokkaido University 北海道大学歯学部
口腔生化学講座

表 2 component values in rats injected with 4 % or 2 % carrageenin

component	group	days after carrageenin injection		
		7	14	21
fluid LPO ^{#1}	4 % carr.	72.2±17.42 ^{*5)}	>42.3±5.98 ^{*5)}	>36.8±8.03 ^{*1)}
	2 % carr.	50.7±11.35 ^{*5)}	>30.0±3.20 ^{*5)}	-28.4±3.01 ^{*5)}
fluid LDH ^{#2}	4 % carr.	14.3±2.29 ^{*2)}	>12.1±2.25 ^{*5)}	>8.46±1.58 ^{*5)}
	2 % carr.	12.4±1.78 ^{*5)}	>8.00±2.34 ^{*5)}	-7.32±2.50 ^{*5)}
fluid LAP ^{#3}	4 % carr.	2.72±0.285 ^{*5)}	>2.15±0.480 ^{*5)}	>1.83±0.280 ^{*1)}
	2 % carr.	2.36±0.232 ^{*5)}	>1.79±0.163 ^{*5)}	-1.67±0.178 ^{*5)}
fluid β -GI ^{#4}	4 % carr.	268±36.2 ^{*5)}	>158±26.3 ^{*5)}	-138±42.6 ^{*5)}
	2 % carr.	205±38.2 ^{*5)}	>95±34.1 ^{*5)}	-95±29.2 ^{*4)}
fluid proamidase ^{#5}	4 % carr.	1.3±1.87 ^{*5)}	<36.5±12.78 ^{*5)}	-38.8±7.99 ^{*1)}
	2 % carr.	6.8±3.15 ^{*5)}	<45.5±10.04 ^{*5)}	-45.7±9.45 ^{*1)}
fluid proamidase / β -GI	4 % carr.	19.6±27.2 ^{*5)}	<1167±494 ^{*5)}	<1656±426 ^{*3)}
	2 % carr.	168±82.4 ^{*5)}	<2417±957 ^{*5)}	-2639±966 ^{*4)}
fluid protein ^{#6}	4 % carr.	33.5±2.04 ^{*5)}	-34.8±1.83 ^{*5)}	-34.0±1.88 ^{*5)}
	2 % carr.	34.2±2.03 ^{*4)}	<36.9±2.63 ^{*2)}	<40.8±3.32 ^{*4)}
pouch fluid volume ^{#7}	4 % carr.	4.9±1.34 ^{*5)}	<7.8±0.78 ^{*5)}	<9.5±1.37 ^{*5)}
	2 % carr.	3.5±1.13 ^{*4)}	<5.2±1.53 ^{*5)}	-5.8±1.51 ^{*5)}
pouch weight ^{#8}	4 % carr.	16.3±3.18 ^{*5)}	>10.6±1.76 ^{*4)}	>8.5±1.76 ^{*5)}
	2 % carr.	11.1±2.73 ^{*5)}	>6.6±0.31 ^{*5)}	>4.3±1.23 ^{*5)}

for legend see footnote to table 1

記物質に加えて、組織損傷の度、組織修復の度を表示する物質を測定し、炎症過程を多角的に解析する必要があると考えている。すでに、西風らはラットカラゲニン炎症モデルを対象に、組織損傷の度、組織修復の度をそれぞれ表示する物質として過酸化脂質 (LPO)^{2),3)}, proamidase⁴⁾を報告している。

今回、われわれは糖尿病生体の炎症反応、特にその組織修復過程を明らかにすべく、糖尿病ラットのカラゲニン空気嚢炎症モデルを対象に、炎症の度 (β -glucuronidase) に加え、組織損傷の度 (LPO) ならびに組織修復の度 (proamidase) を表示する物質を測定し、さらに、糖尿病の炎症過程をより明確なものにするためにカラゲニン多量投与実験炎症モデルと比較検討をした。

材料と方法

体重約 120~140 g の Wistar 系雄ラット (n=102) を用い、48匹に streptozotocin 溶液 (2.8 mg/ml pH 4.5-0.5M citrate buffer) 70 mg/kg を、エーテル麻酔下にラット尾静脈より投与し、糖尿病 (血糖値 400~470 mg/dl) を誘発した。しかし、経過中 6 匹が死亡したため、残り 42 匹を糖尿病群 (diabetic) とした。対照群 (control) 54匹には citrate buffer を投与した。streptozotocin

投与後 6 日目に両群のラット背部皮下に 空気 6 ml を注入し空気嚢を作製し、翌日、同部位に 2 % carrageenin (0.9 % NaCl に溶解) 4 ml を注入した。さらに、体重約 200 g の Wistar 系雄ラット (n=96) を 2 群に分け、それぞれ 4 % carrageenin 4 ml (4 % carr 群, n=48), 2 % carrageenin 4 ml (2 % carr 群, n=48) を投与した。carrageenin 投与後 7 日, 14 日, 21 日目にラットを屠殺し、血液、滲出液、肉芽嚢組織を採取した。滲出液中の LPO⁵⁾, LDH⁶⁾, LAP⁷⁾, β -glucuronidase (β -GL)⁸⁾, protein⁹⁾, proamidase (dextran sulfate で活性化したもの, 基質: H-D-Val-Leu-Arg-p-nitroanilide, Tris-HCl buffer, pH 8.2)⁴⁾ ならびに滲出液量肉芽重量について測定した。

結果と考察

表 1, 2 は糖尿病群, 4 % carr 群とそれぞれの対照群の 7 日, 14 日, 21 日目にける各物質の動きをみたものである。

LPO, LDH は 4 群とも 7 日から 21 日にかけて減少した。糖尿病群は 4 % carr 群と同様に対照群より高値を示した。LPO は脂質の過酸化によって産生され、細胞膜などの蛋白質と結合することによって組織 (細胞) の

損傷をもたらす。また、LDH は細胞の損傷に関連して遊離されることが知られている。カラゲニン炎症の滲出液中の LPO, LDH はおもに滲出液周囲の肉芽組織に由来するとされている³⁾。したがって、糖尿病群ならびに 4% carr 群は対照群に比し組織損傷は大きいと考えられる。

LAP, β -GL は 4 群とも 7 日から 21 日にかけて減少した。糖尿病群は 4% carr 群と同様に対照群より高値を示した。LAP, β -GL は両者とも滲出液中の peroxidase と相関を示すことから白血球由来とされている^{3,4)}。 β -GL は滲出液量や肉芽組織中の水解酵素 (β -GL など) とは相関がみられず、LAP との相関が強いことから、組織反応よりむしろ白血球の phagocytosis との関連性が指摘されている⁴⁾。

proamidase, proamidase/ β -GL 比は 4 群とも 7 日から 21 日にかけて増加し、LPO, LDH, LAP, β -GL とは逆の動態を示した。糖尿病群は 4% carr 群と同様に対照群より低値を示した。proamidase の高値は LDH, β -GL の低値を伴い、それは炎症組織が healing の方向にあることを示し⁴⁾、proamidase/ β -GL 比はさらに healing との関係を明確にするものである。したがって、糖尿病群と 4% carr 群の組織修復は対照群より遅れていると考えられる。

滲出液量、肉芽重量は糖尿病群と 4% carr 群とは相反する動態、すなわち 4% carr 群は対照群より高値を、糖尿病群は低値を示した。4% carr 群における炎症反応は、組織損傷の度、炎症の度が高値を示し、これに

じて滲出液量、肉芽重量は高値を示していることから、侵襲に応じた生体の適応反応*と考えられる。一方、糖尿病群においては、組織損傷の度、炎症の度は 4% carr 群と同様の動態を示しながらも、滲出液量、肉芽重量は低値を示していることから、その反応は非適応性炎症反応*であることが示唆される。このような糖尿病生体の炎症反応は chemical mediator に対する組織反応の低下¹⁾によるもので、ひいては炎症反応の遷延化をまねくと考えられる。

結 論

streptozotocin 誘発糖尿病ラットのカラゲニン炎症の組織修復過程においてつぎのことがみられた。

①滲出液中の LPO, LDH, LAP, β -GL は高値を、proamidase, proamidase/ β -GL 比は低値を示し、糖尿病群の組織損傷の度、炎症の度は強く、組織修復には遅れがみられた。

②滲出液量、肉芽重量は低値を示し、糖尿病群の組織反応には低下がみられた。

このように、糖尿病生体は非適応性炎症反応を示し、その過程は遷延化していることが示唆された。

文 献

- 1) Garcia-Leme, J., et al.: Eur. J. Pharmacol. 23: 74, 1973.
- 2) Nishikaze, O., et al.: Int. J. Tiss. Reac. 4: 261, 1982.
- 3) Nishikaze, O., et al.: Int. J. Tiss. Reac. (in press)
- 4) Nishikaze, O., et al.: Int. J. Tiss. Reac. (in press)
- 5) Yagi, K.: Biochem. Med. 15: 212, 1976.
- 6) Babson, A.L., Philips, G.E.: Clin. Chim. Acta 12: 210, 1965.
- 7) Akatsuka, K., et al.: Jpn. J. Clin. Pathol. 26: 85, 1978.
- 8) Furuya, E.: Clin. Chem. 23: 982, 1977.
- 9) Daughady, W.H., et al.: J. Lab. Clin. Med. 39: 663, 1952.

* われわれは、peroxidase (β -GL, LAP), LPO (LDH), proamidase はそれぞれおもに滲出液中白血球、肉芽組織、血液に由来し、炎症を滲出液、肉芽組織、全身側より概括的に把握する手法 (炎症管理手法) とし、同手法は炎症経過に伴い、上昇あるいは下降の一方向性を示すものとしている^{3,4)}。この場合、炎症経過とともに concave, convex の動態を示す因子 (滲出液量、肉芽重量、その他) は上記手法の下にその意義位置づけが明確となる。これより 4% carr 群は炎症反応に伴う適応反応、糖尿病群は非適応反応とされる。