低用量ストレプトゾトシン誘発緩徐進行性マウス糖尿病モデルの作製と 低分子量キトサンの糖尿病進行予防効果

伊藤 幹雄

The Production of Mouse Model of Slowly Progressive Diabetes Mellitus and the Preventive Effect of Low Molecular Weight Chitosan on the Progression of the Diabetes Mellitus

Mikio Ito

Laboratory of Analytical Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Meijo University;
150 Yagotoyama, Tempaku-ku, Nagoya 468-8503, Japan.

(Received April 5, 2013)

The aim of our study was to produce a new diabetic model by a single i.p. injection of various doses of streptozotocin (STZ) to 8-week-old male Institute of Cancer Research (ICR) mice. When STZ was i.p. injected at doses ranging from 75 to 200 mg/kg, in the group injected 200 mg/kg STZ, the non-fasting serum glucose levels markedly rose from 1 week after STZ administration and the high glucose levels were maintained for 9 weeks. The serum glucose levels in the group administered 100 mg/kg STZ were within a normal range at 1 week after STZ administration, but thereafter continued to increase gradually till 9 weeks. In contrast with the serum glucose levels, a marked reduction in the percentage of the relative numbers of β -cells in the islets of pancreas from 1 week in mice injected 200 mg/kg STZ was observed. On the other hand, in 100 mg/kg STZ mice, the number of β -cells was almost normal percentage at 1 week and then continued to gradually decrease as the time went on throughout 24-week-observation. These results indicate that only the 100 mg/kg STZ injection produces slowly progressive diabetes mellitus in mice. Low molecular weight (LMW) chitosan (chitosan lactate, average of molecular weight: 20000) was administered as drinking water from prediabetic stage (from 2 weeks after 100 mg/kg STZ injection). The 0.2% or 0.8% LMW chitosan administration prevented the progression of 100 mg/kg STZ-induced slowly progressive diabetes mellitus. The mechanisms, which LMW chitosan is effective in this model may be discussed on β -cells.

Key words—streptozotocin; slowly progressive diabetes; Institute of Cancer Research mice; chitosan

はじめに

糖尿病は、免疫機序で発症する1型糖尿病（インスリン依存型糖尿病：insulin-dependent diabetes mellitus; IDDM）と2型糖尿病（non-insulin-dependent diabetes mellitus; NIDDM）に分類される。1型糖尿病は一般には25才以下に発症するので、若年型糖尿病とも呼ばれている。1型糖尿病患者の一部に2型糖尿病と同様に、NIDDMで始まり、その後年々徐々に進行し、5、6年後にはIDDMになるものもある。1型糖尿病患者数は、糖尿病患者数の

5%以内であるが、一方残りの95%は中高年以降に発症する2型糖尿病である。2型糖尿病は遺伝的な要因に加えて食事、運動などの生活習慣が関係して発症するので代表的な生活習慣病である。2型糖尿病は、非肥満で、インスリン分泌障害とインスリン抵抗性を持つもの、並びに肥満で高インスリン血症、インスリン抵抗性を持つものに分類される。

ストレプトゾトシン（streptozotocin; STZ）はglucosamineのN-nitroso誘導体で、*Streptomyces acromogenes*から抽出された広範囲抗菌スペクトルを有する抗生物質で、¹⁾ 膵島 β 細胞の迅速、かつ不可逆的な細胞壊死を引き起こす β 細胞毒で、²⁾ 成熟ラット、マウス、モルモットあるいはハムスターに静脈内あるいは腹腔内注射すると1型IDDMが惹起されるので、1型糖尿病の実験的動物モデルを作

The author declares no conflict of interest.

名城大学薬学部薬効解析学研究室（〒468-8503 名古屋市天白区八事山150番地）

e-mail: mitoh@meijo-u.ac.jp

本総説は、平成24年度退職にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

製するのに広く使用されてきている。³⁻⁶⁾ STZ はまた生後 1 日あるいは 2 日のマウスあるいはラットへ投与することにより、インスリン分泌障害を持つ 2 型糖尿病の動物モデルを作製するのに使用されている。⁷⁻⁹⁾

われわれは既に、8 週齢の雄性 Institute of Cancer Research (ICR) マウスへ低用量 (100 mg/kg) STZ を単回腹腔内投与することにより緩徐進行性糖尿病マウスモデルを作製することに成功している。¹⁰⁾

この緩徐進行性糖尿病マウスモデルは、STZ の注射により、 β 細胞数は経過的に徐々に減少していくが、非絶食時の血清インスリン値は、長期間正常値が維持され、血清グルコース値のみが、経過的に増加する緩徐進行性 1 型糖尿病に酷似している。われわれが開発した緩徐進行性糖尿病マウスモデルを最初に紹介したい。

キチン質は、昆虫の甲殻、カニ、エビなどの殻、イカの骨、菌類の細胞壁などにカルシウム、タンパク質と結合して存在し、生物界では年間 1000 億トンが産生されている。キチン質からカルシウムとタンパク質を除いたものがキトサンであり、このキチンを脱アセチル化して得られたものがキトサンである。キチンとキトサンは化学的にはそれぞれ *N*-アセチルグルコサミンとグルコサミンのポリマーであり、分子量 100 万以上の多糖体で、動物性食物繊維である。キチンは、酸、水、アルカリ溶液に不溶であるが、キトサンは酸によく溶解しキチンよりも利用し易い。

次に、キチン・キトサンの消化管からの吸収について述べると、キチンは胃液に不溶で、そのまま小腸へ送られ、腸液中のリゾチームや腸内細菌の産生するキチナーゼで分解される。一方キトサンは、胃液で溶解し腸内ではアルカリ性のため凝集して腸液中のリゾチームや腸内細菌の産生するキトサナーゼで分解される。そして、それぞれのオリゴ糖あるいは単糖に分解され吸収されると考えられているが、その詳細については明らかではない。キトサンは、免疫増強作用、^{11,12)} 降圧作用、¹³⁾ 血清コレステロール低下作用、¹⁴⁻¹⁶⁾ 抗菌作用、^{17,18)} 創傷治癒促進作用¹⁹⁻²¹⁾ 及び抗潰瘍作用²²⁾ のような多くの有益な薬理作用を持つことが明らかにされている。

2 型糖尿病でも、まだ自覚症状のみられない時期

で、血糖値が高い場合には、最初に食事療法と運動療法が行われる。この療法を 2, 3 ヶ月続けても血糖高値である場合に経口血糖降下薬が単剤で使用される。それでもコントロールできない場合には、作用機序の異なる薬剤の併用療法が行われる。経口血糖降下薬でも効果が認められない場合は、糖尿病はかなり進行しており、多飲及び多尿などの自覚症状が認められ、最終的にはインスリン療法へ移行する。2 型糖尿病でまだ自覚症状のみられない初期では、大半の患者は薬物療法を拒否して進行が進んでしまうことが多い。2 型糖尿病の進行を阻止あるいは抑制するためにはできる限り、自覚症状のみられない時期から薬物療法を開始すべきと思われる。

次に、われわれが開発したこの緩徐進行性マウス糖尿病モデルの進行を抑制するのに有効性を示した低分子量キトサンについて紹介したい。²³⁾

1. 緩徐進行性マウス糖尿病モデルの作製

1) STZ 注射後の非絶食時の血清グルコース値、インスリン値及び総コレステロール値

STZ の腹腔内注射後、9 週間の観察において、150 及び 200 mg/kg STZ 投与群では非絶食時の血清グルコース値は既に 1 週目から投与量に依存して正常対照群に比べて著しく上昇し、9 週目においても上昇率は 1 週目とほぼ同程度であった (1-9 週: 正常対照群, 約 200 mg/dL; 150 mg/kg STZ 投与群, 599-700 mg/dL; 200 mg/kg STZ 投与群, 700-800 mg/dL)。一方、100 mg/kg STZ 投与群では注射後 1 週目ではほぼ正常値を示したが、その後 9 週目まで、経過的に増加を続けた (1 週: 266 ± 58 mg/dL, 9 週: 682 ± 56 mg/dL)。その後、100 mg/kg 及び 200 mg/kg STZ 投与群は、12 週と 24 週目の追加実験を行ったが、両群とも血清グルコース値の増加率は 9 週目とほぼ同程度であり、100 mg/kg STZ 投与群のみが緩徐進行性の血糖上昇を示した [Fig. 1 (A)]。しかし、75 mg/kg STZ 投与群では 9 週間の観察を通して、ほぼ正常値を示した。

100 mg/kg 及び 200 mg/kg STZ 投与群の非絶食時の血清インスリン値を測定した [Fig. 1 (B)]。100 mg/kg STZ 投与群の血清インスリン値は 1 週から 24 週目までほぼ正常値が維持された。しかし、200 mg/kg STZ 投与群の血清インスリン値は 1 週から 24 週目まで測定値以下でほとんど分泌されなかった。

Fig. 1. Changes in (A) Non-Fasting Serum Glucose, (B) Insulin and (C) Total Cholesterol Levels in Mice after a Single i.p. Injection of Various Doses of STZ¹⁰⁾

Each plot denotes the means $\pm$ S.E. for 8–10 mice. Significantly different from the respective normal, ** $p < 0.01$.

非絶食時の血清総コレステロール値を測定した [Fig. 1 (C)]. 200 mg/kg STZ 投与群のみが、1 週目から正常対照群よりも有意に上昇し 7 週目まで増加を続け、以後 24 週まで高値を維持した [Fig. 1 (C)].

2) STZ 注射後の体重、尿量、飲水量及び飼料摂取量の変動

200 mg/kg STZ 投与群の体重は、9 週間の観察において、STZ 処置前よりも有意に減少したが 150 mg/kg STZ 投与群ではこの期間を通して STZ 処置前とほとんど差がなかった [Fig. 2 (A)]. 75 mg/kg 及び 100 mg/kg STZ 投与群では、時間経過に伴って増加を続け、正常群との間に有意差はなかった。100 mg/kg STZ 投与群の体重は 24 週目まで測定したが、同様に正常群と差がなかった。

一方、150 mg/kg 及び 200 mg/kg STZ 投与群の 24 時間当たりの尿量、飲水量及び飼料摂取量は、9 週間の観察において、正常群よりも著しく多く、多飲、多尿及び過食を示した [Figs. 2 (B)–(D)]. 100 mg/kg STZ 投与群の尿量、飲水量及び飼料摂取量も、非絶食時の血清グルコース値と同様に経過的に増加を示した。しかし、75 mg/kg STZ 投与群で

Fig. 2. Changes in (A) Body Weight, (B) Urine Volume, (C) Drinking Water and (D) Food Consumption in Mice after a Single i.p. Injection of Various Doses of STZ¹⁰⁾

Each plot denotes the means $\pm$ S.E. for 8–10 mice. Significantly different from the respective normal, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

は、観察期間において正常群との間に差はみられなかった。

3) 経口グルコース負荷試験

経口グルコース負荷試験を、100 mg/kg STZ 注射後、3 日、1 週、2 週、4 週、5 週、7 週、9 週及び 12 週後に行った。100 mg/kg STZ 投与群と正常対照群のマウスはグルコース負荷前 18 時間絶食され、絶食後グルコース 2 g/kg が経口投与された。グルコース負荷後、正常群と比較して血清グルコース値は経過的に増加を続け、この耐糖能は STZ 注射後、2 週から実験終了の 12 週まで低下を続けた [Fig. 3 (A)]。一方、グルコース負荷によるインスリン反応は、1 週目までは正常値を維持したが、2 週目から減少し、12 週目においては完全に消失した [Fig. 3 (B)]。

4) 膵臓の組織学的観察 (膵島面積と β 細胞数)

200 mg/kg STZ 投与群では、STZ 処置後既に 1 週目から膵島面積が縮小し、 β 細胞数の著しい減少

が観察された [Fig. 4 (Right)]。一方、100 mg/kg STZ 投与群では、1 週目においては膵島面積はまだ正常値を示し、 β 細胞数も同様に正常値を示したが、その後観察期間最終の 24 週まで徐々に減少を続けた [Fig. 4 (Left)]。

以上、実験結果で示したように、100 mg/kg STZ 注射後 1 週目では、非絶食時の血清グルコース値は、ほぼ正常値を示したが、その後経過的に 24 週間の観察期間、増加を続けた。

STZ 25–100 mg/kg のラットへの静脈内注射により、投与量に依存した高血糖が惹起されると報告されている。¹⁰⁾ われわれの実験においても、150 mg/kg 及び 200 mg/kg STZ 投与群では 200 mg/kg 投与群の方が高血糖を示し、同様な結果が得られている。

このマウス糖尿病がどのような機序で進行するのかは明らかではないが 100 mg/kg STZ 注射後、非絶食時の血清グルコース値は 2 週以後増加を続けるが、血清インスリン値は実験最終の 24 週目まで正

Fig. 3. Changes in (A) Serum Glucose and (B) Insulin Responses to Oral Glucose Loading (2 g/kg) in Mice after a Single i.p. Injection of 100 mg/kg STZ¹⁰⁾

Blood samples were collected at 0.5 h (0 h in figure) before and at 0.5, 1, 2 and 4 h after glucose loading for determination of serum glucose. Each plot denotes the means $\pm$ S.E. for 8 mice. Significantly different from the respective normal, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Fig. 4. Changes in the Percentage of the Number of Glucagon (α -Cells) - and Insulin-Immunoreactive Cells (β -Cells) in the Islets of Pancreata in Mice after a Single i.p. Injection of 100 or 200 mg/kg STZ¹⁰⁾

常値が維持されている。この結果から、STZ の攻撃により機能低下した β 細胞、あるいはその攻撃から免れた β 細胞が正常血糖値を維持するため、オーバーワークしたことが考えられる。われわれはさらに、マウスの系統差についても検討したが、緩徐進行性糖尿病が惹起されたのは、ICR マウス以外に ddY 系マウスに惹起され、BALB/c 及び C57BL/6 マウスでは惹起されなかった。²⁴⁾

われわれが作製した緩徐進行性糖尿病マウスモデルは、2 型糖尿病と同様に発症初期はインスリン非依存型で始まるが、その後進行を続け、後にインスリン依存型に進行するものと思われる。2 型糖尿病でも発症初期は多飲、多尿などの自覚症状は全くなく、健康診断などで発見されることが多い。その後、食事療法、運動療法、経口血糖降下薬で十分に血糖をコントロールできない場合は進行を続け、インスリン注射を必要とするインスリン依存型に進行する。2 型糖尿病の治療はまだ自覚症状のない時期から薬剤治療を開始すべきで、その意味で、われわれの開発した緩徐進行性糖尿病マウスモデルは自覚症状のない 100 mg/kg STZ 投与後 2 週目から被験薬投与を開始することによって、被験薬物が疾患の進行を阻止できるか否かが評価でき、優れた 2 型糖尿病モデルと思われる。

2. 低分子量キトサンの緩徐進行性マウス糖尿病の進行に対する効果

この研究では、低分子量キトサン（平均分子量 20000 のキトサン乳酸塩、Fig. 5）を蒸留水に溶解し被検化合物を 0.2% 及び 0.8% の水溶液とした。

Fig. 5. Chemical Structures of Chitin and Chitosan²³⁾

Reproduced with permission from Biological and Pharmaceutical Bulletin Vol. 23 No. 12. Copyright 2000 The Pharmaceutical Society of Japan.

最初の実験では、正常マウスに対するキトサンの血糖低下作用があるか否かを試験するため、0.8% キトサン水溶液を正常マウスに飲水投与した。糖尿病マウスには 0.2% 及び 0.8% の両濃度のキトサン水溶液を 100 mg/kg STZ 腹腔内注射後 2 週目（Fig. 6 では 0 週）から 21 週間（23 週目）マウスに飲水投与した。

1) 非絶食時の血清グルコース値に対する効果

正常マウスに 0.8% キトサン水溶液を 2 週目から 23 週目まで 21 週間飲水投与したが、非絶食時の血清グルコース値は観察期間ほぼ正常値（約 200 mg/kg）を示し、血糖低下作用は観察されなかった。次に、100 mg/kg STZ の腹腔内注射による緩徐進

行性糖尿病マウスモデルに対するキトサンの効果を検討した。100 mg/kg STZ 投与対照群では、注射後2週目から23週目まで非絶食の血清グルコース値は経週の上昇し、緩徐進行性の血糖上昇を示した(0週, 198 ± 3 mg/dL; 2週, 273 ± 47 mg/dL; 5週, 440 ± 66 mg/dL; 9週, 518 ± 71 mg/dL; 13週, 584 ± 58 mg/dL; 23週, 788 ± 53 mg/dL) [Fig. 6 (A)]. これに対して、0.2%及び0.8%キトサン水

溶液を飲水投与したとき、経週的な血糖上昇が著明に抑制された(23週: 0.2%キトサン水溶液, 316 ± 63 mg/dL; 0.8%キトサン水溶液, 427 ± 83 mg/dL; 糖尿病対照群, 788 ± 53 mg/dL) [Fig. 6 (A)].

2) 非絶食時の体重, 24時間当たりの飼料摂取量, 飲水量及び尿量に対する効果

(a) 体重

体重増加に関する図は省略したが、23週間の観

Fig. 6. Effect of 0.2% or 0.8% LMW Chitosan Given from a Prediabetic Stage on Non-Fasting Serum Glucose Levels (A) and on Food and Drinking Water Consumption and Urine Volume per 24 h (B) in Normal and Low Dose STZ-induced Slowly Progressive Diabetic Mice²³⁾

LMW chitosan was given as drinking water for 21 weeks, from 2 weeks after a single i.p. injection of 100 mg/kg STZ. Each plot denotes the means $\pm$ S.E. for 8–10 mice. Significantly different from the respective normal control, $^{\#}p < 0.05$, $^{\#\#}p < 0.01$. Significantly different from the respective diabetic control, $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$. Reproduced with permission from Biological and Pharmaceutical Bulletin Vol. 23 No. 12. Copyright 2000 The Pharmaceutical Society of Japan.

察を通して、糖尿病マウスに 0.2%あるいは 0.8% キトサン水溶液投与した群と 100 mg/kg STZ を注射された糖尿病対照群との間に有意差はなかった (0 週: 0.2%キトサン水溶液群, 34.4 ± 0.5 g; 0.8%キトサン水溶液群, 34.2 ± 0.4 g; 糖尿病対照群, 34.0 ± 0.3 g; 23 週: 0.2%キトサン水溶液群, 45.0 ± 0.9 g; 0.8%キトサン水溶液群, 44.0 ± 1.1 g, 糖尿病対照群, 44.7 ± 1.1 g).

(b) 24 時間当たりの飼料摂取量, 飲水量及び尿量

STZ 注射後 12, 18 及び 22 週目に測定されたとき, 飼料摂取量は, 18 週及び 22 週には 0.2%あるいは 0.8%キトサン水溶液群と糖尿病対照群との間に有意差は認められなかったが, 12 週において両濃度のキトサン水溶液群は糖尿病対照群と比較して有意に少なかった (0.2%キトサン水溶液群, 6.1 ± 0.7 g; 0.8%キトサン水溶液群, 6.2 ± 0.9 g; 糖尿病対照群, 9.1 ± 1.6 g, $p < 0.05$) [Fig. 6(B), Food].

一方, 糖尿病対照群の 24 時間当たりの飲水量と尿量は, 測定したいずれの週においても正常群と比較して著しい高値を示し, 多飲及び多尿を示した。これに対して, 0.2%あるいは 0.8%キトサン水溶液

群はいずれの週においても糖尿病対照群と比較して低値を示し, 糖尿病による多飲及び多尿を抑制した (22 週における飲水量と尿量; 0.2%キトサン水溶液群, それぞれ 7.9 ± 1.2 mL 及び 2.4 ± 0.9 mL; 0.8%キトサン水溶液群, それぞれ 12.8 ± 4.4 mL 及び 6.0 ± 2.9 mL; 糖尿病対照群, それぞれ 28.4 ± 5.1 mL 及び 20.6 ± 4.5 mL, $p < 0.05$ あるいは $p < 0.01$) [飲水量: Fig. 6(B), Drinking Water; 尿量: Fig. 6(B), Urine].

3) STZ 投与後 24 週目の膵島のグルカゴン (α 細胞) 及びインスリン-免疫反応細胞 (β 細胞) の相対的な数に対する効果

STZ 注射後 24 週目に測定された糖尿病対照群の α 細胞に対する β 細胞の相対的な数の割合は, 正常群と比較して著しく減少していた [Fig. 7(Left)]. α 細胞数と β 細胞数をパーセント数で示すと理解しやすい [Fig. 7(Right)]. この糖尿病対照群の β 細胞数の著しい減少は, STZ 注射後 2 週目から 0.2%あるいは 0.8%キトサン水溶液を飲水投与したが, キトサン水溶液は著明に β 細胞数の減少を抑制した。

キトサンは上述のように, 低用量 STZ 誘発緩徐進行性糖尿病の発症前から, 投与することにより著

Fig. 7. Effect of 0.2% or 0.8% LMW Chitosan Given from a Prediabetic Stage on the Relative Numbers of Glucagon (α -Cells) - and Insulin-Immunoreactive Cells (β -Cells) in Normal and Low Dose STZ-induced Slowly Progressive Diabetic Mice²³⁾

LMW chitosan was given as drinking water for 21 weeks, from 2 weeks after a single i.p. injection of 100 mg/kg STZ. At the beginning of 24 weeks, pancreata were taken from these animals for glucagon and insulin immunostaining. Each plot denotes the means $\pm$ S.E. for 8–10 mice. Significantly different from the normal control, $^{*}p < 0.01$. Significantly different from the diabetic control, $^{**}p < 0.01$. Reproduced with permission from Biological and Pharmaceutical Bulletin Vol. 23 No. 12. Copyright 2000 The Pharmaceutical Society of Japan.

しい効果を示した。キトサンの糖尿病に対する効果に関する研究は、肥満のインスリン抵抗性マウス糖尿病モデルの KK-A^y マウスでも行った。²⁵⁾ KK-A^y マウスの非絶食時の血清グルコース値を、5 週齢から 16 週齢まで 11 週間測定したが、糖尿病対照群の非絶食時の血清グルコース値は、既に 5 週齢で正常 ICR マウスと比較して著しく上昇しており、以後 16 週齢まで増加を続けた。5 週齢から、11 週間、0.05%、0.2% 及び 0.8% キトサン水溶液を飲水投与するとキトサンは濃度依存的に非絶食時の血清グルコース値及びトリグリセリド値の増加を著明に抑制した。同様に、キトサン水溶液の飲水投与はこの糖尿病マウスで観察された多飲及び多尿も抑制した。

また、非絶食時の血清インスリン値を 6, 10 及び 14 週齢に測定したが、糖尿病対照群では、いずれの週齢においても高インスリン血症を示し、3 濃度のキトサン水溶液の飲水投与は、10 週齢から濃度依存的に高インスリン血症に対しても低下作用を示し、高インスリン血症改善作用を示した。2 型糖尿病は、非肥満で、インスリン分泌障害とインスリン抵抗性を持つもの、並びに肥満で高インスリン血症、インスリン抵抗性を持つものに分類されるが、低分子量キトサンは両タイプの 2 型糖尿病に対して、有効性を持つと考えられる。キトサンの抗糖尿病作用機序についてはまだ明らかにされていないが、キトサンには細胞活性化作用があり、われわれも既にラットの四塩化炭素肝臓障害に対してキトサンが有効性を示し、キトサンが減少した肝細胞の再生を促進することを明らかにしている（未投稿論文）。 β 細胞の減少を抑制することから、膵島 β 細胞の再生活活性化作用により、抗糖尿病作用を持つと考えられる。これらの薬物は、100 mg/kg STZ 注射後 10 週間粉末飼料に混ぜ投与された。今回、図を省略したが、この糖尿病マウスへ STZ 注射後、2 週目から 18 週間 0.2% キトサン水溶液を飲水投与すると 18 週までの緩徐進行性の血糖上昇を抑制していた。その後、0.2% キトサン水溶液の飲水投与を 5 週間中止したが、5 週後においても 5 週前と同程度の血糖上昇の抑制が維持されていた。この結果からもキトサンは膵 β 細胞の再生活活性化作用を持つと思われる。いったん糖尿病が進行した場合、他の病気と違って、減少した β 細胞は糖尿病発症前の数、機能に回復できない。したがって、糖尿病患者の薬物療

法は、疾患の進行を阻止するために糖尿病の自覚症状の出る前から開始すべきである。低分子量キトサンには恐らく膵島 β 細胞再生活活性化作用があり、本化合物と現在臨床で使用されている種々の経口血糖降下薬との併用により相乗効果が期待される。また、糖尿病の進展には、フリーラジカルが関与しており、われわれもキトサンの抗酸化作用を検討したが、キトサンにはビタミン C あるいは E のような直接的な抗酸化作用はないが、われわれの臓器に存在するフリーラジカル [スーパーオキシドアニオン (O_2^-) 及び過酸化水素 (H_2O_2)] 消去酵素を増加させ、フリーラジカル消去作用を示すことを明らかにしている。

最近、われわれは、この緩徐進行性糖尿病マウスモデルを使用して、3 種の経口血糖降下薬、スルホニル尿素剤のトルブタミド、ピグアナイド系薬剤のメトホルミン及び α -グルコシダーゼ阻害薬、アカルボースの効果について検討し、興味ある結果を得た。²⁶⁾ これらの薬物は、100 mg/kg STZ 注射後 10 週間粉末飼料に混ぜ投与された。3 種の薬物において、メトホルミン及びアカルボースは STZ 注射後 2 週目から投与し、この糖尿病にみられた緩徐進行性の高血糖、多飲及び多尿を抑制した。しかし、トルブタミドはこのモデルでインスリン分泌が認められる 4 週目までは有効性を示したが、長期投与では他の 2 剤と違って糖尿病対照群と比較して非絶食時の血清グルコース値はさらに上昇し、尿量及び飲水量も増加し悪化作用を示した。トルブタミドではないが、ラットの 2 型糖尿病モデルでの実験で、スルホニル尿素剤のグリクラジドとインスリンとの併用による長期投与は、グリクラジドが β 細胞機能を低下させるばかりでなく、インスリンの有益な効果を消失させることが報告されている。²⁷⁾ それゆえに、トルブタミドは β 細胞からのインスリン分泌を促進し、血糖低下作用を示すが、長期投与により、膵島 β 細胞のオーバーワークにより悪化作用を示したものと思われる。ヒトの緩徐進行性 1 型糖尿病は 2 型糖尿病と同様にインスリン非依存型で発症するが、その後緩徐進行性を続け、数年後にインスリン依存型へ進行する。この進行性糖尿病では、治療薬として初期からインスリン療法が行われる。この進行性糖尿病にはインスリンを投与することにより、疲労した β 細胞の仕事量を軽減するため、

進行を抑制すると思われる。キトサンには 21 週間の長期投与で β 細胞数の減少を著明に抑制したことから、本化合物には β 細胞活性化作用があると思われる。上述したように、2 型糖尿病の治療は既に進行した自覚症状のみられる時期からの薬物療法は遅く、自覚症状の出現する前から開始すべきと思われる。初期の薬物療法として、 β 細胞の疲労を回復させ、細胞増殖活性化作用のある薬物が糖尿病の進行を阻止するのに有効と思われる、今後このような薬物の出現が待たれる。また、現在、臨床で使用されている各種の経口血糖降下薬とキトサンのような化合物との併用治療により β 細胞の機能障害が協力的に抑制され、糖尿病の進行が阻止されるかもしれない。

おわりに

今回、8 週齢の雄性 ICR マウスヘストレプトゾトシン 100 mg/kg を単回、腹腔内注射することにより、緩徐進行性の糖尿病マウスモデルの作製とその特徴について紹介したが、2 型糖尿病の薬物治療は、疾患の進行を阻止するために、糖尿病の自覚症状のない時期から開始すべきで、是非この糖尿病マウスモデルを使用して新しい経口糖尿病治療薬の有効性を検討してもらいたいと願っている。また、2 型糖尿病において、膵島 β 細胞が減少し、自覚症状が出現してからの血糖コントロールは遅く、 β 細胞の再生は望めない。 β 細胞の再生は肝細胞や胃粘膜上皮細胞と違って非常に悪く、いったん減少してからでは薬物で血糖をコントロールしても元の状態の β 細胞の機能及び細胞数には回復しない。是非、このモデルを使用して、糖尿病発症前から投与を開始し、いろいろと被験薬の効果を検討してもらいたい。

謝辞 キトサンのご提供を頂いた焼津水産化学工業株式会社、三澤義知氏に深謝します。

REFERENCES

- 1) Herr R. R., Eble T. E., Bergy M. E., Jahnke H. K., *Antibiot. Annu.*, **60**, 236-240 (1959).
- 2) Junod A., Lambert A. E., Orci L., Pictet R., Gonet A. E., Renold A. E., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **126**, 201-205 (1967).
- 3) Rakieten N., Rakieten M. L., Nadkarni V.,

- Cancer Chemother. Rep.*, **29**, 91-98 (1963).
- 4) Brosky G., Logothetopoulos J., *Diabetes*, **18**, 606-611 (1969).
- 5) Jonod A., Lambert A. E., Stauffacher W., Renold A. E., *J. Clin. Invest.*, **48**, 2129-2139 (1969).
- 6) Rerup C. C., *Pharmacol. Rev.*, **22**, 485-518 (1970).
- 7) Giroix M. H., Portha B., Kergoat M., Bailbe D., Picon L., *Diabetes*, **32**, 445-451 (1983).
- 8) Tsuji K., Taminato T., Usami M., Ishida H., Kitano N., Fukumoto H., Koh G., Kurose T., Yamada Y., Yano H., Seino Y., Imura H., *Metabolism*, **37**, 1040-1044 (1988).
- 9) Wang R. N., Bouwens L., Kloppel G., *Diabetologia*, **37**, 1088-1099 (1994).
- 10) Ito M., Kondo Y., Nakatani A., Hayashi K., Naruse A., *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **9**, 71-78 (2001).
- 11) Tokoro A., Tatewaki N., Suzuki K., Mikami T., Suzuki S., Suzuki M., *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 784-790 (1988).
- 12) Marcinkiewicz J., Polewska A., Knapezyk J., *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, **39**, 127-132 (1991).
- 13) Kato H., Taguchi T., Okuda H., Kondo M., Takara M., *J. Tradit. Chin. Med.*, **11**, 198-205 (1994).
- 14) Sugano M., Watanabe S., Kishi A., Izumi M., Ohtakara A., *Lipids*, **23**, 187-191 (1988).
- 15) Ormrod D. J., Holmes C. C., Miller T. E., *Atherosclerosis*, **138**, 329-334 (1998).
- 16) Lee J. K., Kim S. U., Kim J. H., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **33**, 833-839 (1998).
- 17) Amako K., Shimodori S., Imoto T., Miake S., Umeda A., *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 603-605 (1987).
- 18) Tsai G. J., Su W. H., *J. Food Prot.*, **62**, 239-243 (1999).
- 19) Prudden J. F., Nishihara G., Baker I., *Surg. Gynecol. Obstet.*, **105**, 283-286 (1957).
- 20) Okamoto Y., Shibasaki K., Minami S., Matsuhashi A., Shigemasa Y., *J. Vet. Med. Sci.*, **57**, 851-854 (1995).
- 21) Kratz G., Arnander C., Swedenborg J., Back M., Falk C., Gouda I., Larm O., *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.*, **31**, 119-123 (1997).
- 22) Ito M., Ban A., Ishihara M., *Jpn. J. Phar-*

- macol.*, **82**, 218–225 (2000).
- 23) Kondo Y., Nakatani A., Hayashi K., Ito M., *Biol. Pharm. Bull.*, **23**, 1458–1464 (2000).
- 24) Hayashi K., Kojima R., Ito M., *Biol. Pharm. Bull.*, **29**, 1110–1119 (2006).
- 25) Hayashi K., Ito M., *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 188–192 (2002).
- 26) Hayashi K., Kondo Y., Kojima R., Ito M., *Oyo Yakuri*, **84**, 19–27 (2013).
- 27) Kawai K., Suzuki S., Murayama Y., Watanabe Y., Yamashita K., *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **12**, 163–172 (1991).