

平成 22 年 5 月 18 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間： 2006～2009

課題番号：18590993

研究課題名（和文） 膵ランゲルハンス氏島と脂肪組織の微小循環調節に関する研究

研究課題名（英文）

Microcirculation in pancreatic islets and adipose tissue

研究代表者

岩瀬 正典（IWASE MASANORI）

九州大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：00203381

研究成果の概要(和文):膵ランゲルハンス氏島(ラ氏島)は膵臓内に島状に散在する小器官で、独自の微小循環系を有し、その血流は種々の機序で巧妙に調節されている。ブドウ糖はラ氏島血流量を増加させるが、連続投与すると、2回目のブドウ糖投与後のラ氏島血流量の増加は小さかった。また、糖尿病治療薬や降圧薬はラ氏島血流量に影響を与えた。最後に、妊娠中にアルコールを投与すると、ラット仔の膵臓の発育が障害されたが、ラ氏島血流量は正常であった。

研究成果の概要(英文): Islet of Langerhans is a small organ scattered through the pancreas. Islet has a unique microvascular system and its blood flow is meticulously regulated by some mechanisms. Glucose causes an increase in islet blood flow. In a repetitive administration of glucose, the increase in islet blood flow was smaller in the second administration than the first one. In addition, anti-diabetic and hypertensive medications affected islet blood flow, respectively. Finally, ethanol intakes during pregnancy induced impaired growth of pancreas without affecting islet blood flow in rats.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,300,000	0	1,300,000
2007年度	700,000	210,000	910,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
総計	3,400,000	630,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

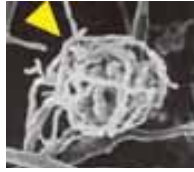
キーワード：

## 1. 研究開始当初の背景

膵ランゲルハンス氏島(ラ氏島)は下図に示すように豊富な毛細血管網を有しており、その血流は周囲の外分泌組織とは独立して調節されていることが知られている。しかし、

治療薬の影響や各種病態でどのような変化を呈するかは十分には理解されていない。また、最近、メタボリック・シンドロームにおける脂肪組織、特に内臓脂肪の重要性が注目されているが、脂肪組織の微小循環系の検討

はほとんど報告されていない。



## 2. 研究の目的

ラ氏島血流量への糖尿病治療薬や降圧薬の影響、ならびに、子宮内胎児環境や Staub-Traugott 効果による影響を検討した。また、ラ氏島血流量測定法を応用し、脂肪組織血流量を内臓脂肪と皮下脂肪に分けて測定することが可能か検討する。

## 3. 研究の方法

組織血流量の測定はカラーマイクロスフェアの reference sample 法を用いて、麻酔下のラットにて施行した。九州大学動物倫理委員会の承認を受けた。

## 4. 研究成果

(1) Staub-Traugott 効果によるラ氏島血流量の影響

Staub-Traugott 効果とは健康人にブドウ糖を反復投与すると、2度目に糖を与えた時の血糖上昇は初回投与時に比べ低いことを言う。しかしながら、そのメカニズムは明らかではない。グルコース投与はラ氏島血流量を増加させることが知られているが、Staub-Traugott 効果とラ氏島血流量との関係は知られていない。

麻酔下正常ラット(n=11)にグルコース刺激を連続して行い、1回目投与と2回目投与時のラ氏島血流量を比較検討した。対照群は非代謝性グルコースの 3-O-メチルグルコースを投与した。ブドウ糖静注3分後血糖は1回目 259±6 mg/dl、2回目 293±5 mg/dl、対照群は 99±3 mg/dl、104±3 mg/dl で、両群とも有意に上昇した(p<0.0001)。ラ氏島血流量はブドウ糖投与群で1回目 15.5±1.7 μl/min/mg islet、2回目 11.3±1.3 μl/min/mg islet で有意に減少したが(p<0.01)、対照群は 10.0±0.9 μl/min/mg islet、8.4±0.8 μl/min/mg islet で有意な変化を認めなかった。膵血流量や十二指腸血流量には両群とも有意な変化を認めなかった。

Staub-Traugott 効果はラ氏島血流量の増加を伴わずむしろ減少していたが、このラ氏島血流量の変化が Staub-Traugott 効果にどのように関係しているか今後の検討が必要である。

(2) 糖尿病治療薬がラ氏島血流量に及ぼす影

肥満 2 型糖尿病モデルの Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF)ラットは糖尿病発症以前よりラ氏島血流量が対照の Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO)ラットより増加しているが、糖尿病の罹病期間に伴いラ氏島血流量が減少する(Iwase et al., Diabetes 2002)。この OLETF ラットに食餌制限を行い、糖尿病の発症を予防すると、ラ氏島血流量の減少が起こらず、ラ氏島血流量増加が継続した。今回、OLETF ラットと LETO ラットを 10 週齢より 16 週齢までアカルボース 0.04%含有飼料で飼育し、ペントバルビタール麻酔下でカラーマイクロスフェア法にてグルコース iv 投与前後のラ氏島、膵、十二指腸、結腸の血流量を測定した。随時およびグルコース iv 投与後血糖はアカルボースにより LETO ラットで変化しなかったが、OLETF ラットでは有意に減少した(投与なし 146±8 mg/dl, 372±7 mg/dl 投与あり 123±5 mg/dl, 337±5 mg/dl, p<0.001)。随時およびグルコース投与 iv 後インスリン濃度はアカルボースにより LETO ラットで有意に変化しなかったが、OLETF ラットでは有意に減少した(投与なし 11.4±1.0 ng/ml, 32.5±4.0 ng/ml 投与あり 7.1±0.7 ng/ml, 24.1±1.3 ng/ml, p<0.001, p<0.05)。ラ氏島容量は LETO ラットで変化なかったが、OLETF ラットではアカルボース投与によって有意に減少した(投与なし 3.3±0.1% 投与あり 2.4±0.2%, p<0.001)。ラ氏島血流量の基礎値は LETO ラットでアカルボースによる影響はなかったが、OLETF ラットではアカルボース投与で有意に増加し(投与なし 8.2±1.2 μl/min/mg 投与あり 11.1±1.0 μl/min/mg, p<0.05)、LETO ラットより有意に高値であった(p<0.001)。グルコース iv 投与後、ラ氏島血流量は増加したが、LETO ラットでアカルボースによる変化はなかった。一方、OLETF ラットはアカルボース投与の有無にかかわらず LETO ラットより有意に高値であり(p<0.05)、さらに、アカルボース投与により有意に増加した(投与なし 12.6±1.4 μl/min/mg 投与あり 17.7±0.7 μl/min/mg, p<0.01)。

グルコシダーゼ阻害薬アカルボースはラ氏島血流量を有意に増加させた。これらの変化は食餌制限の際にみられた変化と同じであった。

(3) 降圧薬がラ氏島血流量に及ぼす影響

糖尿病、肥満、高血圧ではラ氏島血流量が変化していることが報告されている。アンジオテンシン II 受容体はラ氏島に発現していることが知られているが、アンジオテンシン II 受容体拮抗薬(ARB)がラ氏島血流量に及ぼす影響は報告されていない。今回、我々は ARB をラットに急性および慢性に投与し、ラ氏島

血流量の変化を検討した。

SD ラットのラ氏島血流量を麻酔下でカラムイクロスフェア法にて測定した。急性効果はオルメサルタン (0.1 mg/kg) 静注前と10分後にラ氏島血流量を測定した。さらに、オルメサルタン静注5分後にグルコース(0.5 g/kg)静注前と3分後にラ氏島血流量を測定した。慢性効果はオルメサルタン 5 mg/kg/日 またはカンデサルタン 8 mg/kg/日 を飲料水に溶解し、5週齢から4週間経口投与し、グルコース投与前と3分後のラ氏島血流量を測定した。

#### 急性効果

オルメサルタンを静注すると、血圧が $107 \pm 6$  mmHg より $72 \pm 6$  mmHgと低下したが、血糖、IRI、ラ氏島血流量、膵血流量に変化を認めなかった。しかし、グルコース投与によるラ氏島血流量の増加は対照群に比べ( $5.6 \pm 0.6$   $10.4 \pm 1.0$   $\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$ )、オルメサルタン群ではその増加が有意に抑制された( $5.1 \pm 0.7$   $6.4 \pm 0.6$   $\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$ ,  $p < 0.01$ )。グルコース投与後の膵血流量もオルメサルタン群で有意に低下した( $2.1 \pm 0.2$  vs  $1.1 \pm 0.1$   $\text{ml}/\text{min}/\text{g}$ ,  $p < 0.01$ )。

#### 慢性効果

血圧はオルメサルタン、カンデサルタン投与により有意に低下した(対照群 $109 \pm 4$  mmHg, オルメサルタン $93 \pm 3$  mmHg,  $p < 0.01$ , カンデサルタン $78 \pm 3$  mmHg  $p < 0.001$ )。血糖、IRIには有意差を認めなかったが、ラ氏島血流量はグルコース投与前は3群間で有意差を認めなかったが(対照群 $8.8 \pm 1.0$  オルメサルタン $5.8 \pm 0.6$  カンデサルタン $7.1 \pm 1.1$   $\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$ , ns) グルコース投与後はARB投与群で有意に低値であった(対照群 $15.9 \pm 1.4$  オルメサルタン $9.4 \pm 1.1$   $p < 0.01$ , カンデサルタン $10.2 \pm 1.8$   $\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg}$   $p < 0.05$ )。膵血流量には各群間に有意差を認めなかった。

糖尿病モデルではラ氏島毛細血管圧の上昇と組織学的障害が報告されており、ラ氏島血行動態の異常がラ氏島機能障害に関与することが推測されている。ARBの糖尿病発症抑制効果はラ氏島微小循環への影響を介する可能性がある。

#### (4) 子宮内胎児環境がラ氏島血流量に及ぼす影響

妊娠期間中の様々な外的、内的要因が胎児に影響し、出生後もその影響が持続し、さらには、成人期の生活習慣病の発症と関連する可能性があることが、プログラミング仮説として疫学研究や動物実験で報告されている。今回が妊娠中のエタノール暴露が仔の膵ランゲルハンス氏島血流量、インスリン分泌、耐糖能に影響を与えるかを検討した。

妊娠ラットを購入し、妊娠3日から7日まで3%エタノール、14日まで4%エタノール、分娩まで5%エタノールを投与した。出生直後の体重はエタノール投与群で有意に減少し( $5.35 \pm 0.01$  g vs.  $5.98 \pm 0.13$  g,  $p < 0.05$ )、血糖がエタノール投与群で有意に低値であった( $26 \pm 5$  mg/dl vs.  $81 \pm 6$  mg/dl,  $p < 0.001$ )。膵重量および膵インスリン含量には有意差を認めなかった。9週齢では、体重に有意差はなかったが、エタノール群の膵重量は対照群より有意に減少していた( $1.03 \pm 0.03$  g vs.  $1.22 \pm 0.04$  g,  $p < 0.001$ )。経口糖負荷試験で、エタノール群で負荷後30分の血糖が有意に高値であったが( $145 \pm 2$  mg/dl vs.  $112 \pm 6$  mg/dl  $p < 0.001$ )、前値、60分、120分値には有意差を認めなかった。ラ氏島容積、ラ氏島血流量、膵血流量、十二指腸血流量は両群間に有意差を認めなかった。インスリン分泌を詳細に検討するため、ラットよりラ氏島を分離し、バッチインキュベーション法にて検討した。エタノール群で3.3 mM glucoseにおける基礎分泌が有意に低下していたが(ラ氏島1個あたり  $2.4 \pm 0.4$   $\mu\text{U}/\text{hr}$  vs.  $3.6 \pm 0.8$   $\mu\text{U}/\text{hr}$ ,  $p < 0.05$ )、16.7 mM glucose、10 mM L-arginine刺激によるインスリン分泌には有意差を認めなかった。一方、ラ氏島インスリン含量はエタノール群で有意に増加していた( $692 \pm 64$   $\mu\text{U}$  vs.  $542 \pm 40$   $\mu\text{U}$ ,  $p < 0.05$ )。

胎児期のエタノール暴露は出生後の膵の発育を障害し、耐糖能を軽度低下させ、インスリン基礎分泌を低下させた。これらの知見は耐糖能障害の発症機序における子宮内胎児環境の重要性を支持する所見であった。

#### (5) 脂肪組織血流量測定の試み

脂肪組織は腸間膜脂肪、副睾丸周囲脂肪、腎周囲脂肪の腹腔内臓脂肪組織と皮下脂肪組織を用いた。麻酔下ラットの上行大動脈内にカテーテルを留置し、40万個、50万個、60万個のマイクロスフェアを注入し、各脂肪組織を消化後、マイクロスフェア数をカウントした。マイクロスフェアのサイズは $10 \mu\text{m}$ と $15 \mu\text{m}$ を用いた。

内臓脂肪の血流量はマイクロスフェアが組織に取り込まれ、測定可能であったが、皮下脂肪はマイクロスフェア数が非常に少なく、測定ができなかった。投与するマイクロスフェア数をさらに増加させれば、皮下脂肪組織にも取り込まれたが、全身の血行動態への影響があり、脂肪組織血流量の測定はできなかった。皮下脂肪組織血流量を測定するためには体表からアプローチできるレーザー

血流計がより適していると考えられ、今後の検討が必要である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3件)

Iwase M, Uchizono Y, Nohara S, Sasaki N, Sonoki K, Iida M, Angiotensin II type 1 receptor antagonists prevent glucose-induced increases in islet blood flow in rats. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 査読有、69巻、145-150ページ、2009年

Iwase M, Imoto H, Oku M, Shibata S, Sonoki K, Iida M, Acarbose feeding increases pancreatic islet blood flow in obese glucose-intolerant Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. Pancreas, 査読有、37巻、228-230ページ、2008年

岩瀬正典、新時代の糖尿病学(1) 膵島の血流、日本臨床増刊号、査読無、66巻、115-118ページ、2008年

[学会発表](計3件)

Iwase M, Iida M, Acarbose feeding increases pancreatic islet blood flow in obese glucose-intolerant OLETF rats. American Diabetes Association, 68th Scientific Sessions, San Francisco, USA, 2008年6月

岩瀬正典、Effects of acarbose on pancreatic islet blood flow in rats. 4th International Glucobay Workshop, 大阪, 2007年10月

岩瀬正典、アルカボースは糖尿病ラットの膵ランゲルハンス氏島血流量を増加させる、第49回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、2006年5月

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

岩瀬 正典 (IWASE MASANORI)

九州大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：00203381