Vol.7 No.1
June 1994

CRJ LETTERS

巻頭論文

GKラット－インシュリン非依存性糖尿病モデル動物

Charles River Japan Inc.
FROM THE HAND OF THE VETERINARIAN TO RESEARCH

巻頭論文

GKラット－インシュリン非依存性糖尿病モデル動物

東北厚生年金病院　後藤　由夫　　鈴木　研一

1．糖尿病モデル動物とGKラット

実験的糖尿病は、Claude Bernardが家兎の第4脳室底を穿刺し一過性の糖尿病状態になることを発見したのにはじまるとされている。しかし、持続的高血糖状態は、von Meringらの膵摘出犬ではじめて得られたのである。その後、表1に示すように多くの実験的糖尿病が発見された。実験的糖尿病はすべて二次性糖尿病に分類されるものなので、一次性糖尿病のモデルとしての自然発症糖尿病動物が求められるようになった。犬などのペットや馬などの家畜が糖尿病になることは知られていたが、散発的な発生で、モデル動物となるようなものではなかった。従って、動物飼育場の火災事故の後に交雑によって発生した肥満高血糖マウスの発見は、実験動物の自然発症糖尿病である点で画期的なことであった。その後、表2に示すように多くの実験動物の自然発症糖尿病が偶発的に発見され、系統化されている。

2．GKラット作成の作業仮説

筆者は、糖尿病の研究には採血その他の実験遂行上、マウスよりも取扱いの容易なラットの自然発症糖尿病モデル動物があれば好都合であると思い、その作成を計画した。

遺伝性糖尿動物を作る方法としては、次のように考えた。多数の動物にGTT（糖負荷試験）を行い、その中から耐糖能の低下しているものを選ぶ。それを交配してまた多数のF_1を得て、それらについてもGTTを行い、耐糖能の低下しているものを選ぶ。この操作を何代も繰り返すと、図1の右のように代を重ねるごとに耐糖能低下の高度なものが現れ、ついには糖尿病状態のものが現れるのではなかろうか。もしも、何代繰り返しても図1の左のように子孫の耐糖能が低下しなければ、糖尿病遺伝子の有無によって糖尿病の発症が決定されるとする、当時広く支持されていた劣性遺伝説が正しいことになる。

この作業仮説にもとづいて実験をはじめた。対象動物としては繁殖の速いラットを選んだ。この考えは、当時の趨勢からすれば成功の可能性が少なく、従って賛同者を見出すことが困難で、ようやく1969年秋に雌40匹と雄40匹を求め、これらにGTTを行い、

表1　実験的糖尿病の年表

1849年	糖穿刺（Bernard）
1889年	膵全摘糖尿病（von Mering ＆Minkowski）
1892年	膵亜全摘後発症糖尿病（Sandmeyer）
1937年	下垂体エキス反復投与による持続的糖尿病（Young）
1937年	アロキサン糖尿病（Jacobs）
1941年	ラットのステロイド糖尿病（Ingle）
1944年	甲状腺エキス投与による糖尿病（Houssay）
1947年	腹腔内グルコース連続投与による糖尿病（Dohan ＆Lukens）
1950～58年	累代アロキサン糖尿病動物の子孫の糖尿病（岡本）
1957年	グルカゴン投与によるラットの糖尿病（Salter ら）
1960年	抗インスリン抗体投与による糖尿病（Wright ら）
1963年	ストレプトゾトシン糖尿病（Rakietin ら）
1964年	VMH損傷による肥満・高血糖ラット（Hales ら）
1968年	EMCウイルスM株接種によるマウスの糖尿病（Craighead ら）
1976年	ストレプトゾトシン頻回投与による膵島炎糖尿病（Like ら）

表2　動物の糖尿病の成因による分類

A.　自然発症糖尿病（特発性、一次性）
　1.　膵島炎を伴うもの
　　BBラット
　　NODマウス
　　チャイニーズハムスター（旭川）
　2.　膵島炎のないもの
　　肥満高血糖マウス
　　チャイニーズハムスター
　　KKマウス
　　スパイニイマウス
　　Wellesley雑種育成マウス
　　サンドラット（psammomys obesus）
　　スナネズミ（Mongolian gerbil）
　　GKラット
　　NSYマウス
　　eSSラット
　　WBN／Kobラット
　3.　家畜、愛玩動物などに散発的に現われるもの
B.　実験的糖尿病（症候性，二次性）
　1.　膵摘糖尿病
　　Minkowski型（全摘）
　　Sandmeyer型（亜全摘）
　2.　薬剤誘起糖尿病（化学的膵摘）
　　アロキンサン
　　ストレプトゾトシン
　　ジチゾン，オキシン
　3.　ウイルス性膵島炎
　4.　インスリン抗体誘発
　5.　ホルモン誘発

著者プロフィール
後藤　由夫
1948年東北大学医学部卒後、内科専攻。ペンシルベニア大学で糖尿病を研究（1958～60年）。東北大学助教授を経て弘前大学教授となりGKラット作成。東北大学教授、東北厚生年金病院長を経て、同顧問。現在、日本糖尿病協会理事長として啓蒙活動に当っている。

選抜し交配した。F_1を得たが、ラットの飼育環境がはなはだしく不良であったこと、当時学園紛争で落着いて計画的に実験を行うことが困難であったことなどから中止した。そして3年後に、新しい研究環境において、次のように再開した。

3. GKラット作成の経過

1973年10月に、日本クレア野川飼育場よりWistar系ラット雄130匹、雌81匹を求めて経口的ブドウ糖負荷試験を行った。負荷量は体重kg当たり2gで、20％グルコース液を注射器にとり、金属カテーテルを通して胃内に注入する方法である。一夜絶食として負荷した。採血は尻尾の先端を切り、Hagedornピペットで0.5mlとり、Somogyi法で除蛋白し、glucose－oxidase法（Glucostat）にて定量した。採血は前、30、60、90、120分の5時点で行い、採血時に放尿した場合には、それをTesTapeで検査した。耐糖能の程度は、5時点の血糖値の和（以下、血糖和と呼ぶ）をもって表現することにした。

正常Wistar系ラットの血糖和は雄では403～738mg／dℓに分布し、雌では341～682mg／dℓに分布した。これらのなかから雄9匹（血糖和738、728、709、700、693、683、655、631、621mg／dℓ）と雌9匹（682、667、658、651、644、633、610、597、588mg／dℓ）を選んで16組の交配を行い、$F_1$162匹（雄89、雌73）を得た。もっともGTTは、はじめのGTTでスクリーニングし、血糖和の大きいものや2時間値の高いもの、雄22匹、雌21匹を選び、これらについて第2回目のGTTを行って9匹ずつ選んだものである。

$F_1$162匹についてもGTTでスクリーニングし、雄35匹、雌28匹を選び、これらに再びGTTを行って雄12匹（血糖和789、757、745、701、698、694、669、622、622、656、653、636mg／dℓ）と雌13匹（794、793、760、745、742、711、709、692、689、679、622、658、590mg／dℓ）を選んで交配し、$F_2$204匹（雄116、雌88）を得た。F_2では血糖1,000mg／dℓを越えるものも現れ、GTT時尿糖陽性となるものも多数出現した。すなわち、GTT糖尿病型のものが出現したのである[1]。(図2)

同様な手法を繰り返してF_4を得たが、F_3とF_4との間の耐糖能の低下度が軽度であったので[2]、F_4の交配に当たっては、それまで意識的に避けてきた兄妹交

図1　作業仮説
斜線の血糖和の高いものを、次々に選抜交配する。

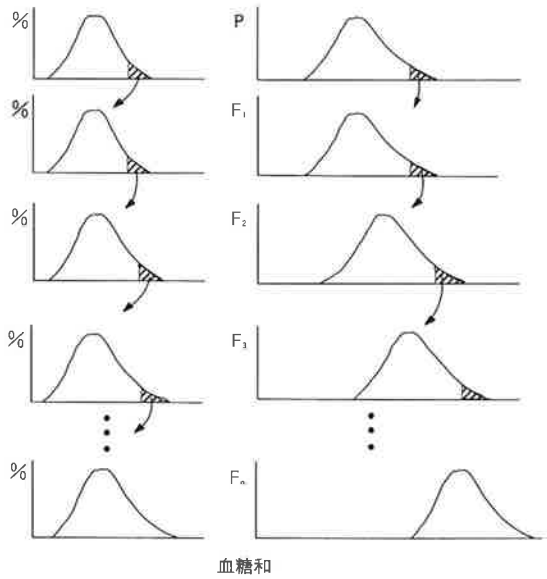
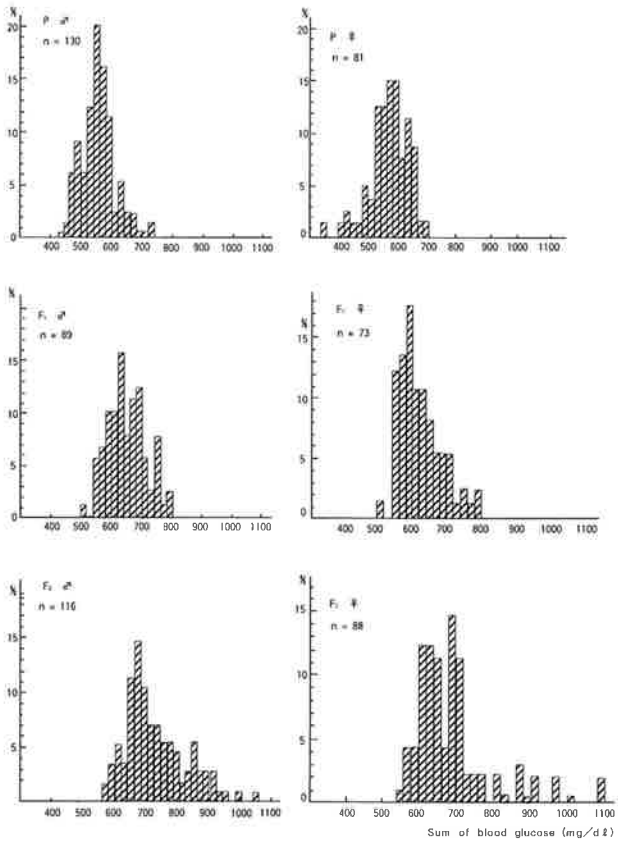


図2　正常Wistarラット211匹、F_1ラット162匹、F_2ラット202匹の血糖和の分析（後藤ら、1975）



配を取り入れることにした。その結果得られたF_5は耐糖能にむしろ改善傾向が見られたが、図3にみるように、F_6以後は再び悪化し、F_7では血糖和がすべて700mg／dℓ以上となり、はじめの正常ラットの基礎集団の血糖和の範囲よりすべて逸脱した[3-4]。(図4)

上述のように齧歯動物の自然発症糖尿病では肥満を伴う場合が多いが、この選抜交配によって得られたラットでは肥満がない。Wistar系正常ラットのそれに較べると、むしろ少ない傾向がみられる。

このラットの選抜交配を繰返しているときには常時400匹前後のラットを飼育していたが、弘前大学では臨床研究棟の動物飼育室が地下にあったので、近くの川が氾濫したときには濁流が流れ込んでケージの一部が浸水したり、また、東北大学の旧耳鼻科研究室の動物小屋に移して飼育したときにはマイコプラズマ感染を起こして大半を失い、また、他所からきたラットを同じ部屋においたところKHFが陽性となり、大半を屠殺するなどの事件が起こった。その後、別の飼育室に移し、管理のよい動物実験施設に入れる前にF_{28}をSPF化し、それ以後は動物実験施設で飼育した。

図3　各世代のGTT平均曲線（M±SD）

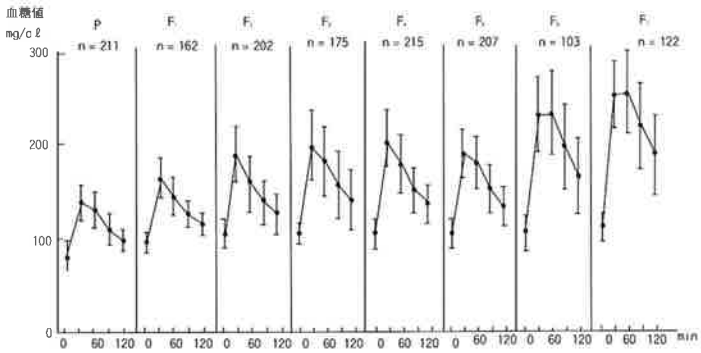
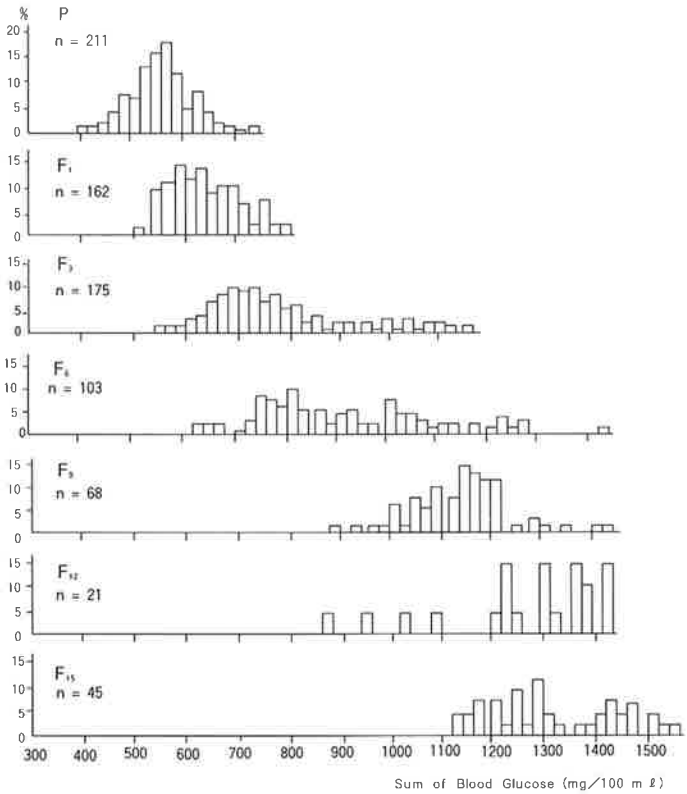


図4　各世代の血糖和の分布



4．糖尿病状態

最初に日本クレアより求めて基礎集団としたWistar系ラットの血糖和の頻度分布は正規分布を示し、それは正常範囲とみなすことができる。F_7になるとすべてのラットでこの範囲を逸脱し、高血糖の方に分布するようになる。各世代のGTTの平均値をF_{35}まで示したのが表3である。F_9以後に2時間値の平均値が200mg／dℓを越え、血糖和も1,100mg／dℓを越えている。しかしながら、空腹時血糖値（FBG）の上昇は比較的軽度である。すなわち、このラットの糖尿病は多飲、多尿の高血糖症状がない、いわゆるchemical diabetes（化学的糖尿病）ということになる。時にFBGが150を越えるものも出現するが、ごく少数である。

各世代の血糖和は表2と図5に示したが、F_{15}までは上昇を続けたが、その後、上述のトラブルで多

くを屠殺したときには血糖和も低下し、SPF化してからは血糖和も安定しているのがみられる。

5. 体重

齧歯動物の自然発症糖尿病では肥満を伴うものが多い。肥満高血糖マウス、Chinese hamster、KKマウス、Spiny mouse、Wellesley hybrid mouse、サンドラットなど、いずれも発症前に肥満する系が多い。われわれのラットでは肥満する時期がなく、はじめに基礎集団として求めたと同じ日本クレアのWistar系ラットを購入して飼育室で繁殖させ、その生長曲線と糖尿病ラット（F_8）の生長曲線とを比較すると、表4および図6のように、体重が正常ラットより幾分少ないのがみられる[5]。しかし、その差は有意ではなかった。すなわち、GKラットでは糖尿病状態が肥満と関連して起こるものではないことが理解される。

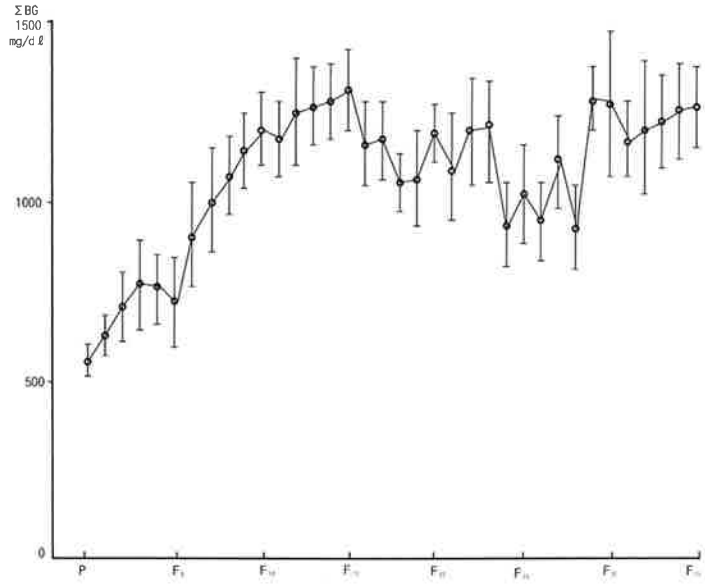
6. 正常ラットと交配したF_1の耐糖能

GKラットと正常Wistarラットを交配して得られたF_1ラットの耐糖能を血糖和としてみると、図7のように、血糖和はGKラットと正常ラットの中間ではなく、正常ラット寄りに分布するのがみられた。このことは、GKラットの糖尿病状態のいわゆる遺伝力は弱いことを示唆するものである。現在、NIDDMの遺伝の分子生物学的説明はなされていない。一部のNIDDMは異常インスリンやインスリンレセプターのアミノ酸異常など、点変異によって起こることが知られているが、それはNIDDMの特殊なタイプであり、NIDDMの大部分がこのような遺伝子異常によって起こることは考えにくい。GKラットの遺伝子分析は、その点でも興味ある課題と思われる。

表3　選抜交配による各世代のGTT平均値　　単位：mg／dℓ

	N	0分	30分	60分	90分	120分	ΣGTT
P	211	79.9 ±11.9	140.5 ±18.6	130.0 ±18.4	109.4 ±16.3	98.5 ±13.5	558.8 ± 59.1
F_1	162	95.2 ±11.6	162.9 ±24.9	143.5 ±21.1	124.2 ±14.1	113.8 ±12.7	638.4 ± 63.1
F_2	202	102.9 ±16.4	187.4 ±31.9	158.4 ±30.6	137.4 ±27.0	125.0 ±22.4	710.7 ±102.5
F_3	175	102.9 ±12.6	197.2 ±38.1	1801.±38.5	153.6 ±35.7	138.4 ±32.1	772.7 ±134.5
F_4	215	102.4 ±16.4	202.3 ±21.6	175.0 ±32.2	147.7 ±24.9	132.9 ±21.1	761.1 ± 97.8
F_5	207	101.8 ±15.9	186.3 ±26.5	176.1 ±27.7	148.6 ±25.0	128.7 ±19.8	727.0 ±126.6
F_6	103	100.9 ±18.4	228.0 ±39.9	228.5 ±46.2	192.5 ±46.3	162.4 ±40.0	912.0 ±166.3
F_7	122	107.2 ±16.8	247.1 ±36.3	250.4 ±45.2	214.9 ±47.5	183.2 ±44.1	1002.7 ±166.0
F_8	78	100.6 ±12.7	261.7 ±30.2	278.2 ±28.7	240.0 ±30.3	195.0 ±27.4	1075.0 ±102.8
F_9	68	107.5 ±13.9	275.9 ±26.7	292.5 ±27.7	255.2 ±30.5	211.3 ±29.1	1142.5 ±102.1
F_{10}	68	113.8 ±11.7	265.7 ±29.3	304.4 ±27.9	277.7 ±30.7	240.6 ±31.9	1202.2 ±109.3
F_{11}	82	123.4 ±15.3	265.4 ±34.9	291.3 ±27.5	265.1 ±32.8	231.7 ±36.2	1177.9 ±106.8
F_{12}	21	122.4 ±27.7	259.4 ±30.9	313.0 ±42.6	303.2 ±46.0	265.7 ±40.3	1263.7 ±157.9
F_{13}	56	123.3 ±19.3	267.3 ±27.2	319.9 ±34.7	300.9 ±33.9	261.5 ±33.8	1272.8 ±122.0
F_{14}	60	111.7 ±17.9	261.0 ±24.4	322.0 ±28.9	312.6 ±31.2	277.1 ±34.3	1284.4 ±105.8
F_{15}	45	110.7 ±14.0	274.6 ± 3.7	329.7 ±32.1	323.1 ±28.7	287.2 ±28.7	1325.3 ±118.6
F_{16}	26	110.8 ±17.8	229.5 ±32.4	289.2 ±32.4	284.9 ±40.4	247.6 ±34.7	1162.0 ±113.4
F_{17}	19	124.3 ±14.6	264.6 ±25.8	304.7 ±31.2	270.9 ±34.0	224.2 ±31.7	1183.5 ±119.3
F_{18}	6	99.7 ± 8.5	232.5 ±12.2	282.5 ±33.1	255.3 ±33.1	192.7 ±89.2	1062.7 ± 89.2
F_{19}	7	85.9 ± 6.5	247.4 ±29.1	277.1 ±44.2	253.7 ±45.6	208.0 ±29.4	1072.1 ±145.0
F_{20}	23	110.0 ±15.3	264.5 ±21.2	275.8 ±53.7	257.0 ±16.9	241.5 ±19.5	1208.0 ± 82.7
F_{21}	20	114.0 ± 2.8	256.4 ±24.7	283.5 ±23.3	245.4 ± 4.9	198.0 ± 2.8	1100.3 ±152.7
F_{22}	31	116.0 ±27.5	284.5 ±63.1	300.3 ±38.9	264.5 ±12.3	223.0 ±14.0	1207.0 ±162.7
F_{23}	27	115.3 ±12.3	259.8 ±30.1	292.3 ±31.6	273.8 ±13.3	245.0 ±34.5	1215.5 ±172.8
F_{24}	21	85.7 ±24.0	209.7 ±14.2	237.7 ± 5.9	228.0 ±18.2	202.0 ±23.3	953.6 ±108.3
F_{25}	30	99.6 ±12.9	230.6 ± 8.8	263.8 ± 9.0	257.8 ± 8.7	217.6 ± 8.3	1029.7 ±144.9
F_{26}	69	10.37 ±12.1	203.9 ±18.0	228.4 ±26.4	219.5 ±24.7	197.4 ±18.9	962.4 ±116.8
F_{27}	59	108.2 ±11.3	236.0 ±19.7	267.8 ±23.7	261.3 ±22.6	236.8 ±20.8	1123.2 ±125.7
F_{28}	27	88.0 ±10.1	192.0 ±12.5	221.0 ±18.7	222.3 ±18.7	204.3 ±24.2	926.0 ±100.4
F_{29}	12	104.8 ± 8.3	320.8 ±79.9	323.1 ±25.5	311.7 ±16.5	276.4 ±27.3	1297.5 ± 87.2
F_{30}	49	100.0 ±16.8	270.1 ±32.8	324.5 ±28.9	306.7 ±33.2	265.4 ±35.7	1281.0 ±202.8
F_{31}	58	122.1 ±30.9	251.1 ±29.6	286.4 ±27.0	274.6 ±31.3	239.3 ±38.0	1173.6 ±116.1
F_{32}	49	153.8 ±38.2	265.4 ±39.1	294.2 ±44.1	262.3 ±45.1	231.6 ±48.3	1207.2 ±188.9
F_{33}	282	138.3 ±36.8	266.7 ±32.8	296.2 ±33.8	278.7 ±34.7	242.9 ±36.5	1222.9 ±133.6
F_{34}	200	162.5 ±30.8	286.4 ±39.9	304.5 ±32.8	274.0 ±32.8	239.0 ±37.1	1266.4 ±134.8
F_{35}	151	142.4 ±23.5	269.7 ±31.7	310.7 ±29.7	292.7 ±29.3	257.7 ±29.1	1273.2 ±113.6

図5 F_{35}までの各世代の血糖和の推移



7. インスリン分泌

1）糖負荷時のインスリン分泌反応

グルコースを経口負荷し、血糖と血漿インスリン反応をみると、図8のように、対照の正常Wistarラットに比べて血糖の上昇は明らかに高度で、一方、血漿インスリン反応は低値である。特に、血糖が急激に上昇する初期にインスリンの増加が軽度である。すなわち、GKラットではインスリン反応が低いのが特徴である。ヒトのNIDDMは、WHOの分類では肥満と非肥満とに分けられており、肥満NIDDMはインスリン抵抗性で高インスリン血症のあることが特徴としてあげられており、これが動脈硬化の促進因子となると考えられている。一方、わが国でみられるNIDDMの多くは肥満があっても軽

表4　Wistar系正常ラットと糖尿病ラット（F_8）の体重の比較　　単位：g

週齢	雄		雌	
	正常（n＝50）	糖尿病（n＝32）	正常（n＝50）	糖尿病（n＝17）
5	110.6±14.0	98.7±20.2	102.1±11.6	87.0±12.2
6	157.4±16.8	139.6±25.4	134.2±11.7	116.2±17.0
7	202.5±19.2	176.6±28.1	156.2±13.8	141.2±18.0
8	242.9±21.8	214.5±35.9	175.8±17.1	157.1±15.9
10	317.9±30.8	281.6±44.0	204.8±17.0	192.4±18.9
12	358.6±37.4	316.0±47.9	224.7±18.7	216.2±26.8
14	393.5±39.6	352.1±48.5	240.4±19.0	233.8±30.4
16	411.6±44.3	374.5±47.8	244.1±19.0	246.5±32.3

図6　体重曲線の比較（F_8）

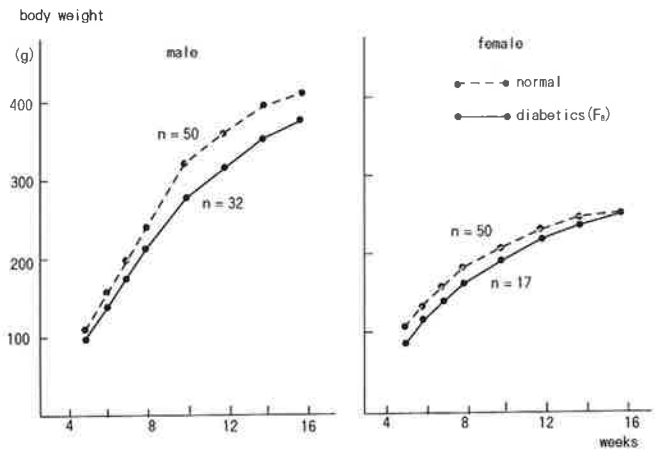
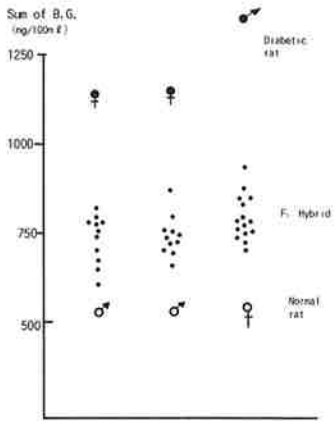


図7　GKラットと正常ラット交配によるF_1ラットの血糖和の分析

（後藤、Excerpta Medica ICS №549,1982）



度で、しかも高インスリン血症がないことが多い。従って、GKラットはインスリン分泌反応からみても非肥満NIDDMのモデルと位置付けることができる。

2）摘出潅流膵のインスリン分泌

膵をGrodskyの変法で潅流し潅流液中のグルコース濃度を急激に高めると、正常ラット膵では初期の急速に起こるインスリン分泌反応と、それにつづく緩徐な分泌との2相性の分泌反応が起こるのが特徴的である。これに対してGKラット膵ではインスリンの分泌は有意に低下し、とりわけインスリン初期分泌の障害が特徴的である（図9）。これに対してアルギニン負荷では初期分泌、後期分泌ともに保たれて、正常対照に比べて有意差を見なかった[6]。

このようなグルコースに対する分泌反応が低下し、アルギニンに対する分泌反応が保たれているのは、NIDDMに特徴的な所見である。

GKラットパリコロニー[7]における膵還流実験はさらに興味深い成績を報告している。ブドウ糖を全く含まない溶液で膵を還流すると、GKラットでは正常対照に比べてインスリンが奇異的に有意に上昇している（GKラット4.8±1.4ng／min。正常対照Wistarラット0.8±0.1ng／min）。20分のブドウ糖なしの前還流（基礎分泌期）後、16mMブドウ糖で急に負荷すると、正常対照は初期分泌の後に後期分泌を行い2相性の分泌パターンをみる。これに対して、GKラットではその分泌パターンが全く崩れてしまっている。ブドウ糖の刺激に対するインスリン増加量は、正常対照Wistarラットで11.48±1.6ng／min、GKラットで0.3±0.2ng／minとGKラットできわめて低値を示した。さらに注意深くみると、16mMブドウ糖負荷中にインスリン分泌がむしろ、奇異的に低下している。しかも、16mMブドウ糖負荷後、ブドウ糖を含まない還流液に戻すとインスリンは再上昇するのである。50分の前還流では、GKラットは病態の改善をみる。すなわちブドウ糖に反応し、インスリン分泌第1相が認められるようになった。

50分間の前還流後、GKラットが16mMのブドウ糖に反応したインスリン分泌量は、20分前還流して16mMのブドウ糖負荷に反応したインスリン分泌量よりも、12倍もインスリン分泌量が増えている（P＜0.001）。しかし90分の前還流では、もはやインスリン分泌は増加しなかった。GKラットは、こ

図8　ブドウ糖負荷試験におけるインスリン分泌反応

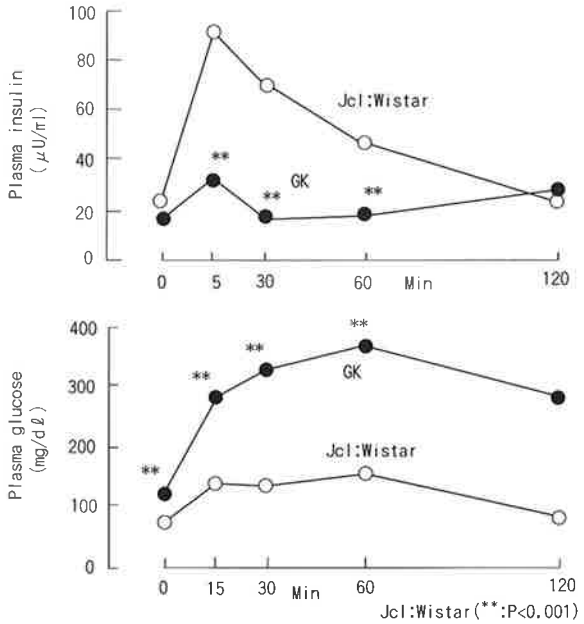
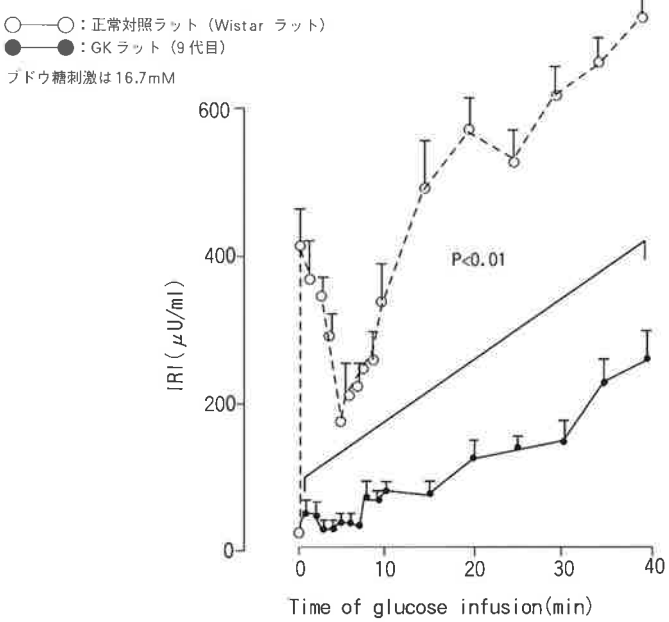


図9　ブドウ糖刺激インスリン分泌膵潅流実験（文献6より引用）



れらの条件下でもインスリン分泌第2相はまったく欠如していた。しかも奇異なことに、還流液中のブドウ糖濃度を高濃度から低濃度に切り替えると、それまでのインスリン分泌反応が逆に改善し、分泌がよくなった。

20分の前還流後、19mMアルギニンに対するインスリン分泌をみると、GKラットは正常対象ラットに比べて18倍のインスリン分泌量を示した。このアルギニンに対するインスリン過剰反応は50分、90分の前還流後に部分的に是正されたが、インスリン過剰分泌は保たれていた。これらのGKラットのインスリン分泌様式は、新生児にストレプトゾトシンを投与して作成した、インスリン非依存性糖尿病の性格を有する新生児ストレプトゾトシンラット（NSTZラット）のインスリン分泌様式に類似していた[8-9]。GKラットは、これらの摘出膵灌流の成績からもインスリン分泌上インスリン非依存性糖尿病モデルといえる。

ブドウ糖にはαアノマーとβアノマーがあるが、仁木らによればαアノマーはβアノマーよりもインスリン分泌に対して強力な作用を示す[10]。膵B細胞がこの2つのアノマーを見分けられるかどうかは結論がまだ出ていないが、解糖系酵素のいくつかは、この分別ができるとされている[11-12]。NSTZラットの膵ではブドウ糖αアノマーとβアノマーの分別がなされない[13-14]。インスリン依存性糖尿病モデルのBBラットでも同様であり[15]、さらにこの異常がGKラットでも認められている[16]。

B細胞の解糖系酵素であるglucokinase, Phosphoglucose isomerase, phoglucomutaseはブドウ糖のαアノマーに特異的に反応するわけであるが、ブドウ糖のαアノマーに反応が悪いという事実は、GKラット膵B細胞の糖代謝に異常が存在するものと思われる。NSTZラットでブドウ糖利用は異常ないが、ブドウ糖酸化に異常があることから膵島ミトコンドリア異常が考えられ、GKラットでは膵島ミトコンドリアのFAD連関glycerophosphate dehydrogenase活用が低下し、ブドウ糖酸化と解糖の比の変化をきたし、ブドウ糖刺激インスリン分泌低下の原因となる[17]。また、ATP感受性K^+チャンネルが障害されていることも、やはりブドウ糖刺激インスリン分泌低下をきたす[18]。

GKラットストックホルムコロニーとの共同研究では、GKラットの膵島DNA含量は正常対照ラットよりも約65％減少していることが判明し、膵島DNA当たりのインスリン含量は、GKラットと正常対象ラットでは有意差がなかったところから、GKラットの膵島当たりのインスリン含量低下はDNA含量低下と関連することが示唆された。

また、単離ラ氏島のインスリン分泌をみた成績から、正常ではブドウ糖、アルギニン、glyceraldehyde、α－ketoisocaproate、グリベンクラミドに対してインスリンはよく分泌されるが、GKラットではブドウ糖とglyceraldehydeには反応しないか、反応しても著しく低下した反応しか得られなかった。その他の物質にはよく反応を示したのと対照的に、ブドウ糖関連物質に対する反応性の悪さが、単離膵島実験でも示された。膵島DNA当たりのGKラットのブドウ糖利用は、正常対照ラットの2.7倍も高いことが示された。

しかし、GKラットのブドウ糖酸化率は、GKラット、正常対照ラットともに有意差が認められていない。ブドウ糖酸化／ブドウ糖利用の比をみると、GKラットでは15％、正常対照ラットでは30％であった。ブドウ糖代謝回転（全リン酸化ブドウ糖に対する脱リン酸化の比率）をみると、GKラットでは16.4％と推定されるが、正常対照ラットでは6.4％と推定された（$p<0.01$）（表5）。結論として、GKラットではブドウ糖に対するインスリン反応は著しく低下しているが、非ブドウ糖刺激にはインスリン分泌反応がよく保たれている。また、膵島におけるブドウ糖代謝異常はGKラットのインスリン分泌異常と関連することである[19]。

さらに、ストックホルムグループはGKラットと正

表5　GKラット膵島におけるブドウ糖代謝（文献19より引用）

Estimation	Control islets (n＝7)	GK islets (n＝6)
^{3}H incorporated into glucose (A) (picoatom・ng islet DNA^{-1}・h^{-1})	0.09 ±0.01	0.56 ±0.10^a
Glucose utilization (B) (pmol・ng islet DNA^{-1}・h^{-1})	1.28 ±0.11	3.12 ±0.66^b
Total glucose phosphorylation (C) (A＋B；pmol・ng islet DNA^{-1}・h^{-1})	1.37 ±0.11	3.68 ±0.64^b
Glucose cycling (100・A／C；％)	6.4 ±1.0	16.4 ±3.4^b
Glucose oxidation (D) (pmol・ng islet DNA^{-1}・h^{-1})	0.40 ±0.05	0.54 ±0.07
Ratio glucose oxidation／total glucose phosphorylation (D／C；％)	30 ±3	15 ±2^a

Mean ±SEM.
$^a p<0.001$, $^b p<0.01$ vs control islets

常対照ラットとの交配実験を行った[20]。交配は雌雄GKラットを、それぞれ雌雄を変えて正常対照Wistarラットと掛合わせた。これらクロス交配させて得られた仔の耐糖能、膵還流実験のブドウ糖に対するインスリン、ソマトスタチン反応は、GKラットと正常対照ラットとのちょうど中間の値を示した。ちなみに、GKラットのブドウ糖刺激ソマトスタチン分泌は膵還流実験で全く認められない。GKラットが雄でクロス交配をしても、雌でクロス交配しても、その仔の耐糖能には有意差が認められなかった。これは、GKラットの糖尿病の遺伝形式がポリジーンであることからくる結果と考えられる。GKラットの高血糖は生後8日目から認められるが、GKラットと正常対照ラットの仔（hybrid）の血糖値は正常値との中間に位置する。

膵B細胞の糖輸送担体（GLUT2）の問題を、UngerとOrciらとのグループ共同研究を行った[21]。GKラットは、B細胞中のGLUT2陽性率は12週齢で正常対照ラットの85％で、48週齢では34％のみであることが判明した（表6）。また、GLUT2のmRNA発現は12週齢GKラットで正常対照ラットの50％であった。

また、48週齢GKラットのブドウ糖刺激インスリン分泌反応をみると、正常対照ラットの28％であり、この時点のB細胞におけるGLUT2陽性率は正常対照の85％であり、初期3－O－methyl－D－glucose輸送率は77％であった。しかし、この程度のGLUT2の発現量低下の程度と、GLUT2輸送機能の低下のみでGKラットのブドウ糖刺激インスリン分泌の著しい低下を、現段階では、十分説明できたとはいえない。

他の肥満型糖尿病モデルラットであるZucker diabetic fatty（ZDF fa／fa）ラット[22]、db／dbマウスと比較してみると、ZDF fa／faラットとdb／dbマウスはB細胞におけるGLUT2の発現が悪く、high－Kmブドウ糖輸送に関する異常が問題である。しかし、Zucker diabetic fatty（ZDF fa／fa）ラットの糖尿病発現は雄に限られ、db／dbマウスは最終的にインスリン依存性糖尿病へ形質が変化してしまう点で、必ずしもヒトインスリン非依存性糖尿病モデルに擬することができない。この点で、GKラットは性によらず、インスリン非依存性糖尿病状態が持続し、GLUT2発現が軽度障害されていながらインスリン分泌高度障害型糖尿病モデルとして位置付けられる[21]。

表6　GKラットにおけるGLUT－2陽性率（文献21より引用）

	n	GLUT2-positive β-cells（%）	Islets per pancreas（%）	β-cells per islet（%）	Non-β-cells per pancreas（%）
12 wk old rats					
Wistar	3	95.1 ±1.7	1.6 ±0.3	87.2 ±5.0	0.2 ±0.1
GK	3	84.7 ±0.3 *	0.8 ±0.2	76.8 ±5.0	0.2 ±0.1
24 wk old rats					
Wistar	3	98.9 ±1.4	1.9 ±0.6	86.4 ±4.0	0.2 ±0.1
GK	3	47.8 ±6.2 *	0.8 ±0.1	80.7 ±2.4	0.2 ±0.1
48 wk old rats					
Wistar	3	99.4 ±0.4	1.6 ±0.7	75.9 ±7.0	0.3 ±0.1
GK	3	34.3 ±2.3 **	0.9 ±0.1	66.1 ±12.0	0.3 ±0.1

Data are means±SE.
*$p<0.01$ vs. Wistar rats.
**$p<0.0001$ vs. Wistar rats.

表7　GKラットeuglycemic clamp法における恒常血漿ブドウ糖とインスリン値の比較

	Basal	Insulin infusion（mU／h）	
		30	120
	Steady state plasma glucose（mg／dl）		
Wistar	122 ±5	143 ±11 #	103 ±8#
GK	185 ±28 **	224 ±61 *	125 ±29##
	Steady state plasma insulin（μU／ml）		
Wistar	56 ±15	69 ±10	243 ±53##
GK	98 ±38 *	114 ±39 *	490 ±83##**

Sixteen week old, male GK and Wistar rats were subjected to a euglycemic clamp.
Mean±SD（n＝5）. #$p<0.05$ and ##$p<0.01$ vs basal, and *$p<0.05$ and **$p<0.01$ vs Wistar rats.

8. インスリン抵抗性

GKラットでは飽食時の血中インスリンがむしろ上昇していることから、インスリンの分泌異常に加えて、インスリンの作用を受ける側にも異常があることが考えられる。この問題を解決するために、GKラットの糖代謝におけるインスリン感受性を、euglycemic clamp法と放射性同位元素を用いた糖代謝速度測定法を組み合わせて算定を行った[23]。正常ラットでは120mU／時のインスリン注入による恒常血漿インスリン（SSPI）の上昇に応じて、末梢組織による糖利用は1.9倍に増加し、肝臓の糖産生（HGP）は完全に抑制される。血糖およびインスリンが高値のGKラットではインスリン注入によりSSPIは高値になり、恒常血糖値は正常になった。SSPIに対する糖利用反応曲線は正常対照ラットと差を認めなかったが、糖産生はインスリン注入で抑制されない（表7）。

単離脂肪組織による糖利用をみると、GKラット単離脂肪組織ではインスリン感受性は正常対照に比べてむしろ上昇し、脂肪組織でのインスリン抵抗性が存在しないことを示唆している。

しかしながら、肝臓におけるインスリン抵抗性の詳細な発症機構は、まだよくわかってはいない。肝細胞膜へのインスリン結合およびインスリン受容体のチロシンキナーゼ活性の低下も、まだ可能性として残っている。特にインスリンが受容体に結合してからの細胞内情報伝達系については、今後の問題として残されている。

9. 肝酵素活性

次に、F_6ラットの4～5ヵ月齢のものとWistar系正常ラット、およびストレプトゾトシン糖尿病ラットについて、肝の糖代謝関連酵素活性を測定した[24]。その成績は表8に示すように、ストレプトゾトシン糖尿病ラットとかなり異なったパターンになっていることがわかった。グリコーゲンの合成酵素も分解酵素もその活性が増していることが、まず気づかれる。

奇異に思われるのは、hexokinaseとglucokinase活性が低下しておらず、上昇していることである。hexokinase活性はインスリン非依存性糖尿病患者の肝生検組織の分析結果と一致する所見である。また、Wellesley hybrid mouseでは食餌制限すると血糖値などが正常化してくるが、この場合に自由食により高血糖状態となったときには上昇していたglucokinase活性が低下するのとも一致する所見である。

そのほかの解糖系の律速酵素活性には、差はみられない。糖新生系の酵素活性、また五炭糖リン酸回路のはじめの脱水素酵素にも活性亢進がみられる。

これら糖代謝関連の酵素活性は世代および月齢、また摂食状態によって異なる成績が得られる。

糖代謝調節因子fructose－2、6－bisphosphate（F2、6P2）の肝臓における含量は、正常対照ラットと比べてGKラットでは低かった。また、肝臓においてF2、6P2含量は、インスリン投与により正常対照ラットでは増加したが、GKラットでは変化せず有意に低かった（表9）。GKラット肝臓の糖代謝系酵素のうちインスリン誘導性の解糖系酵素、glucokinase、

表8　肝糖代謝関連酵素活性

Enzymes	Normal rats	Spontaneously diabetic rats	Streptozotocin diabetic rats
Glycogen metabolism			
Glycogen content (mg/g.w.w.)	48.7 ±3.7 (8)	50.8 ±2.1 (12)	42.1 ±0.7 (6)
Glycogen phosphorylase (U/g.w.w.)	11.3 ±0.4 (18)	14.6 ±0.65 (12)**	10.1 ±0.5 (6)
Glycogen synthetase (U/g.w.w.)	0.86 ±0.07 (16)	1.73 ±0.15 (12)**	0.78 ±0.07 (6)
Glycolytic enzymes			
Hexokinase＋glucokinase	2.91 ±0.13 (19)	4.28 ±0.29 (12)**	0.85 ±0.09 (6)**
Glucokinase	2.44 ±0.12 (19)	3.82 ±0.27 (12)**	0.36 ±0.13 (6)**
Phosphofructokinase	2.13 ±0.18 (8)	1.77 ±0.17 (10)	1.64 ±0.12 (6)
Pyruvate kinase	69.4 ±2.5 (12)	77.1 ±3.6 (11)	38.0 ±3.5 (5)**
Gluconeogenic enzymes			
Glucose-6-phosphatase	8.75 ±0.32 (21)	10.66 ±0.48 (12)*	16.07 ±0.97 (6)**
Fructose-6-diphosphatase	12.6 ±0.4 (14)	14.5 ±0.4 (12)*	11.6 ±0.5 (6)
Pentose-phosphate shunt enzyme			
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	2.73 ±0.22 (12)	4.81 ±0.70 (11)*	1.57 ±0.13 (6)*

Activities are expressed in units (μmoles／min)／g tissue, a unit being defined as μmoles substrate used per min.
*P＜0.01, **P＜0.001 (vs the enzyme activity in the normal rats); Mean±SE, ( ) experimental number.

pyruvate kinase活性は、いずれの週齢においても血中インスリンの高値に応じて増加していた。また、インスリン抑制性の糖新生系酵素、glucose－6－phosphatase、fructose－1、6－diphosphatase活性については、正常対照ラットとの間に差を認めなかった（表9）。

F2、6P2は解糖系のphosphofructokinaseを活性化するとともに、糖新生系のfructose－1、6－diphosphataseを阻害するので、糖代謝を急性に調節する因子として重要である。またインスリンはF2、6P2の増加を介して解糖を優位にする。GKラットでは血漿インスリンが高いにもかかわらず、肝臓のF2、6P2含量が減少する傾向にあり、またインスリンを投与して血漿インスリン値を約5倍にしても、含量は有意に低かった。従って、GKラットの肝臓においてはインスリンによるF2、6P2の代謝調節になんらかの異常が存在し、そのことがHGP増加の一因になっている可能性がある。また、GKラットに認められる糖処理能の低下には、この異常に加えて糖刺激性インスリン分泌の低下も関与すると推測される。

肥満型インスリン非依存性糖尿病モデルラット（Wistar fattyラット）では肝臓でのインスリン誘導性のglucokinase活性は低く、インスリン抑制性のglucose－6－phosphatase活性は増加しており、GKラットではそれと異なる代謝パターンとなっている[25－26]。

10．膵島形態学

早期には変化はみられないが、生後4ヵ月以後にラ島の円形、卵円形の形がくずれて膵島の辺縁が不規則になり、18ヵ月もすると分葉状になってくる。膵島の周囲および膵島内にも線維が増し、ちょうど肝硬変で偽小葉が形成されると同様な像になる（図10）[27]。生後4ヵ月後になると膵島内に線維性の間質が入り込む、いわゆる膵島線維化像が現れてくる。それが進行すると、あたかも膵内分泌細胞が変性脱落し、そこに線維組織が置換したようにみえる。それぞれの膵島の大きさはまちまちで、多くの膵島は不規則に変形する。加齢により膵島の変形は進み、膵島内線維化もまた進む。老齢GKラットの膵島B細胞には空泡変性を示す部位も認められる。膵島炎を示唆する所見は認められない。このように膵島の変形が進行しても、耐糖能は月齢とともに低下することはない。

免疫組織化学的に検討すると、正常では膵島は円形で、中央部にB細胞が集中し、周辺はグルカゴンを分泌するA細胞でB細胞周辺を取り囲んでいる。GKラットではB細胞には、はじめ明らかな変化はないが、数ヵ月以後に減少してくる。B細胞数に変化のない時期においても、GTT時のインスリン分泌に異常が現れてくるのは興味ある現象といえる[28]。F_5、F_6のラ島B細胞の電顕的検索ではB顆粒が細胞内に多数存在し、インスリンの合成は行われても、それが分泌される過程に障害のあることを示唆する像がみられる。

A細胞およびD細胞の増加はみられない。膵島の線維化が進行するとB細胞とA細胞の正常な組織配列が崩れ、B細胞とA細胞はばらばらになる[29]。表10は膵島の計測結果である。

ヒト糖尿病の膵島病変の一つとしては硝子様物質の沈着があり、アミロイド物質として報告されてきた[30]。近年、この物質は、アミリン（islet amyloid polypeptide；IAPP）とポリペプチドが同定されたヒトインスリン非依存性糖尿病膵島に沈着するアミロイド物質、あるいは硝子様物質であることが判明した[30－32]。ヒトではこのアミリンは、そのアミノ酸構成配列の性状により線維状構造をとりやすく、また水に不溶性で間質に沈着しやすい性質を有している。種によるアミノ酸配列の違いによってヒト、猫、アライ熊は膵島にアミロイドが沈着しやすく、マウス、ラット、モルモット、犬

表9　GKラット肝酵素活性における比較（文献23より引用）

		Wistar	GK
4	week old		
	Liver weight (g)	4.17 ±0.29	4.47 ±0.56
	Hexokinase	4.9 ±0.9	7.0 ±1.4*
	Glucokinase	11.1 ±0.3	15.5 ±1.2**
	Pyruvate kinase	58.3 ±3.8	98.0 ±10.9**
	Glucose－1, 6－phosphatase	73.2 ±4.1	67.9 ±2.3
	Fructose－1, 6－diphosphatase	50.5 ±6.0	48.0 ±3.0
12	week old		
	Liver weight (g)	14.0 ±1.4	14.9 ±0.6
	Hexokinase	5.8 ±0.9	5.5 ±0.7
	Glucokinase	10.9 ±0.8	16.6 ±0.9**
	Pyruvate kinase	71.6 ±10.2	155 ±8.7**
	Glucose－1, 6－phosphatase	65.2 ±6.5	72.6 ±5.0
	Fructose－1, 6－diphosphatase	47.5 ±2.8	50.9 ±2.5

Male GK and Wistar rats were used. Enzyme activity was expressed as nmol/min/mg protein. Mean±SD (n＝5) *p＜0.05 and **p＜0.01 vs Wistar rats.

ではアミノ酸組成が親水性になっており、沈着が認められない[33]。

免疫組織化学的に正常ヒト膵島でこのアミリンはB細胞にのみ局在し、正常対照ラットでも同様にB細胞のみに存在することが証明されている。これに対して、糖尿病ヒト膵島では膵島線維化部にアミロイド沈着があって、同部にもアミリンの存在が証明されているが、GKラットではこのアミリンは膵島線維化部（瘢痕部）には存在しない[34]。この違いは、ヒトでは糖尿病膵B細胞で酸フォスファターゼ活性のあるライソゾームに一致してアミリン活性が陽性であることから、ライソゾームが過剰のインスリンとアミリン両者をB細胞で分解し、蓄積することにより、不溶性アミリンがライソゾーム内で大量に線維を形成してB細胞を破壊するのではないかと考えられている[35]。

しかし、ラットアミリンはアミロイド形成をせず、また膵島内線維にアミリン免疫活性もみないので、GKラットの膵B細胞変性にアミリンが関係するとは考えにくい。GKラット膵B細胞変性の成因とならんで、今後さらに検討が必要なところである。

GKラットでは免疫組織化学的に糖輸送担体（GLUT2）の低下が確認されている。GKラットのB細胞におけるGLUT2陽性率は、正常対照に比べて、週齢を追うに従って有意に低下している（12週齢：85％、24週齢：48％、48週齢：34％）。また、電顕によるB細胞の免疫細胞化学では、GKラットの細胞膜とmicrovilliのGLUT2は正常対照の半分ほどに低下している。

In situ hybridizationでGLUT2とプロインスリンのmRNAを、GKラットB細胞における発現をみると、GLUT2のmRNAは51％にまで減少しているにも拘わらず、プロインスリンmRNAは正常対照とほぼ同程度である。これらの成績からmRNAレベル、細胞レベル、組織レベルのいずれでもGLUT2の減少が証明されている。

11. 慢性合併症

1） 末梢神経障害

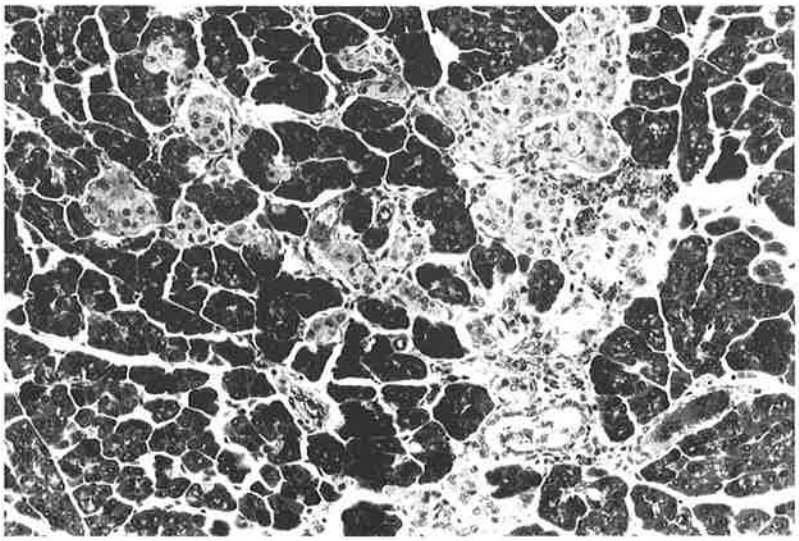
糖尿病では神経障害が非常に早期に現れることが知られている。八木橋はF_6ラットの生後6～8ヵ月の神経を検索し、有髄神経線維数の減少、特に小経線維の減少、節性脱髄、軸索変性などを認め、末端性軸索変性の像を呈することを指摘している。また、紋輪間距離の短縮、不均一性も認めている。

透過電顕では髄鞘崩壊、断裂、軸索変性などを認めているが、さらにvasa nervosumの基底膜の肥厚、多層化、血管内腔狭窄傾向などを認めている[35－36]。さらに八木橋[37]は、生後2ヵ月齢の糖尿病ラットで軸索内小器官脱失、空胞変性などの像も認めている。山田ら[38]は尾部で運動神経最大興奮伝導速度（MCV）を測定し、生後10週より35週まではMCVが速くなるが、F_{13}ラットでは対照とした同週齢のWistar系正常ラットよりも、どの週齢においても遅いことを認めている。

なお、F_{13}ラットと正常ラットを交配すると、生まれてくる仔ラットのGTTはちょうど中間に位置するが、MCVも中間値をとることをみている。

形態学的な腓腹神経の検討では、GKラットは24週齢までは神経束の形態計測上、正常対照ラットと有意差がない。24週齢以降は有髄神経の面積、軸索面積、軸索／ミエリン鞘の面積比はともに、GKラットで正常対照ラットに比べて有意な変化がみられる。このことは、生後早期のMCVの低下は必ずしも形態学的な異常を伴ったものではないと言える[39]。

図10　GKラット膵島



生化学的な観点から糖尿病性神経障害にはポリオール代謝異常をまず第一にあげられている。持続する高血糖環境下では、アルドース還元酵素含有細胞ではポリオール代謝が亢進し、細胞内にソルビトールが大量に蓄積し、浸透圧の上昇が細胞内の水分およびNaの増加を招き、細胞機能に悪影響を与える[40]。

さらに、ソルビトールの蓄積に伴って、組織内のミオイノシトールの枯渇が起き、Na／K－ATPaseを含む細胞膜結合性酵素における細胞内燐酸化代謝回転（phosphoinositide代謝）が低下し、細胞機能低下をもたらす。特に、Na／K－ATPase活性低下は神経伝導速度の遅延に直接的に関連している[41]。

ガスクロマトグラフィーを用いてブドウ糖、ソルビトール、果糖（フルクトース）、ミオイノシトールを測定した成績をみると、表12のように週齢の若いGKラットでは、正常対照ラットに比べてポリオール含量はブドウ糖、ソルビトール、果糖は高く、ミオイノシトールは低いが有意差をみない。しかし、週齢が高いGKラットでは有意にブドウ糖、ソルビトール、果糖は高く、ミオイノシトールは低い（表10）[12]。

これらの事実を総合すると、電気生理学的に神経伝導速度の低下は必ずしもポリオール代謝異常や形態異常を伴っているわけではなく、高血糖によって引き起こされる代謝異常全体のなかで理解すべき問題であることがわかる。高血糖それ自体が大きい問題であって、生化学的にあるいは形態学的に初期変化を認めるようになる時期は、糖尿病性神経障害の機能的異常期である。この段階を越えて加齢が進むと、神経障害は生化学的、形態学的に有意な異常を伴い、組織変性期とでも言うべき段階になる。

2）腎障害

GKラットの糖尿病性腎障害は、その耐糖能障害が中等度であることを反映して、臨床的に明らかな蛋白尿を認めることはない。腎糸球体には人間の糖尿病にみられる結節型硬化症はみられない。びまん型の軽度の変化がみられる。

八木橋[13-14]はWistar系正常ラットの腎糸球体毛細血管基底膜の加齢による変化を詳細に検索し、さらに

表10　膵島の内分泌細胞計測所見

項目	Wistar	GK
ΣBG（mg/dl）	603± 47（5）	1217± 12（5）
膵島面積（μm²）	23± 2（5）	21± 12（5）
変形率（%）	92.1±0.06（5）	78.6±0.04（5）
膵島当り内分泌細胞数/islet	237.0± 7.1（5）	101.0± 2.4（5）
インスリン含量（μg/g）	21.8± 3.0（4）	14.5± 0.8（4）
グルカゴン含量（μg/g）	2.78±0.55（4）	1.16±0.05（4）

M±SE（匹数）

表11　GKラット神経伝導速度の推移

Animals	Age（months） 2	4	6	7	8
GK rats（n＝4）	36.6±2.4*	38.5±2.2*	47.1±2.3**	50.5±1.5	53.6±4.4
Controls（n＝4）	40.4±2.4	45.9±1.7	51.7±1.8	54.4±1.7	63.5±4.8

Values are mean ±SD expressed as m／sec.
*p＜0.05；**p＜0.01（vs controls）.

表12　神経組織内ポリオール含量の比較（文献42より引用）

Rats	mmol／mg protein Glucose	Sorbitol	Fructose	Myo－inositol
Wistar（12 wk）（n＝8）	1.37±0.15	0.74±0.04	1.47±0.06	2.85±0.23
GK（12 wk）（n＝5）	4.43±0.51	1.26±0.44	2.52±0.56	2.45±0.15
Wistar（36 wk）（n＝8）	1.63±0.07	0.79±0.14	1.48±0.07	2.32±0.10
GK（36 wk）（n＝10）	5.17±0.38*	1.62±0.11*	5.35±0.38*	1.91±0.09*

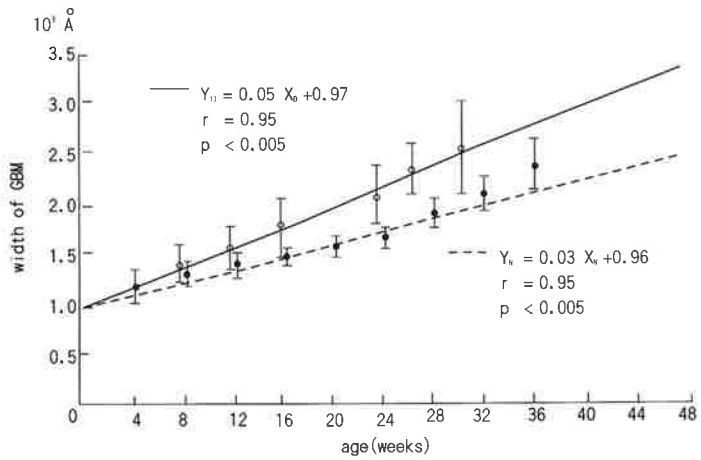
Values are means ±SE. *p＜0.01 vs Wistar rats.

これとF_5、F_6の糖尿病ラットの加齢による変化とを比較した[45]。その成績は図11に示すように、糖尿病ラットでは12週齢より明らかに肥厚を示すようになる。その後のF_{15}について行った柿崎と及川[28]の成績では、生後5週目に正常ラットとの間に有意の差がみられている。糖尿病状態が重症化することによって、その時期はもっと早くなる可能性がある。Siperstein らは筋肉毛細血管基底膜の肥厚は不連続的にすでにprediabetic stageに起こり、加齢によって進むものとは別個であるということを提唱したが、八木橋ら[45]の成績はこれを否定し、肥厚は加令によって連続的に起こり、肥厚の速度が正常よりも速いことを示すもので、より妥当なものと思われる。

尿中微量アルブミンは糖尿病初期腎障害のパラメーターとして重要視されて久しい。GKラットでも尿中微量アルブミンが増加していく。病理形態像からみると、腎糸球体の軽度の肥厚をみるが、Kimmelstiel－Wilson型の結節性病変やびまん性病変の典型像をみることはない[46]。尿中微量アルブミンが認められ腎糸球体基底膜肥厚があることから、糖尿病性初期腎症（不顕性腎症）のモデルであると考えられる。

しかしながら、GKラットの腎病変は初期腎症からなかなか進行しない。GKラットの血糖値が中等度高値であることも、初期腎症程度の重症度でとどまっている原因であると思われるが、NODマウス[47]、KKマウス[48]、チャイニーズハムスター[49]、NSYマウス[50]など腎病変がそれぞれ異なり、結節性病変、基底膜の肥厚、基底膜にIgG、IgA、IgMが沈着するなどの、モデルによる多様性が認められる。

図11　腎糸球体毛細血管基底膜の厚さの加齢による変化
実線は糖尿病ラット（F_5,F_6）,破線は正常ラット



3）網膜病変

糖尿病では網膜症が特徴的であるが、ラットでは網膜症が起こりにくい。そこで網膜血管の透過性亢進の有無を検討した。メチル青液を静注し、その濾出状況をビデオカメラで撮影して正常Wistarラットと比較した。その成績によれば、GKラットでは網膜血管外への濾出が速かに起こるのが観察された。

4）その他

腸管膜の微小循環をin situで顕微鏡で観察すると、微小血管に血小板塊の循環が稀ならず認められ、血小板機能の亢進と微小循環の障害が示唆された。

GKラットをオリエンタルMFで飼育した群と、VD_2 35万単位／kg／日を4日間投与し動脈硬化食（MF82.3％、コレステロール2％、コール酸0.5％、ラード10％、蔗糖5％、メチルサイオウラシル0.2％）で6週間飼育した群とで大動脈を比較すると、後者では大動脈壁構造が破壊されるのがみられる。このことは、GKラットでは動脈硬化が起こりやすいことを示唆するものと思われる[51]。

おわりに

以上、GKラットに関して行われた研究の概略を述べたが、GKラットは次のように特徴づけることができる。

（1）高血糖状態は軽度で、ケトーシスを来すこともなく、インスリン注射なしでも死亡することはない。（2）肥満がない。従って非肥満NIDDMのモデルである。（3）高インスリン血症がない。（4）膵島には4ヵ月以後に腺維化が起こり円形、楕円形構造が失われ不規則な形となる。（5）グルコース刺激に対するインスリン分泌障害があるが、アルギニンには正常に反応する。（6）末梢神経障害および細小血管障害など、糖尿病に特徴的な慢性合併症が起こる。

文　献

1) Goto Y, Kakizaki M, Masaki N. : Spontaneous diabetes produced by selective breeding of normal Wistar rats. Proc Jap Acad 51: 80-85, 1975
2) Goto Y, Kakizaki M, Masaki N. : Production of spontaneous diabetic rats by repetition of selective breeding. Tohoku J exp Med 119:85-90, 1976
3) Goto Y, Kakizaki M. : Hereditary mechanism of spontaneous-diabetes rats. In : clinico－genesis of diabetes mellitus. Mimura G, Baba S, Goto Y, Kobberling J Eds, Excerpta Medica, Amsterdam pp 273-279, 1982
4) Goto Y, Suzuki K, Sasaki M, et al. : GK rat as a model of nonobese, noninsulin-dependent diabetes. Selective breeding over 35 generations. In : Frontiers in diabetes research. Lessons from animal diabetes Ⅱ. Shafrir E, Renold AE, eds, John Libbey, London, pp 301-303, 1988
5) 柿崎正栄, 柾木尚義, 八木橋操六, 豊田隆謙, 後藤由夫：糖尿病性血管障害の発生とその予防に関する研究. 代謝異常治療研究基金研究業績集 4, 34-39, 1977
6) 木村健一：累代選抜交配による自然発症糖尿病ラット（SSDR）の潅流膵からのインスリン・グルカゴン分泌動態——グルコースに対する特異的なインスリン分泌初期相の欠如について. 弘前医学 31:68-90, 1979
(Kimura K, Toyota T, Kakizaki M, et al. : Impaired insulin secretion in the spontaneous diabetes rats. Tohoku J exp Med 137:453-359, 1982)
7) Portha B, Serradas P, BailbeD, et al. : B-Cell insensitivity to glucose in the GK rat, a spontaneous nonobese model for type Ⅱ diabetes. Diabetes 40:486-491, 1991
8) Portha B, Kergoat, M. : Dynamics of glucose-induced insulin release during the spontaneous remission of streptozotocin diabetes induced in newborn rat. Diabetes 34:574-579, 1985
9) Portha B, Blondel O, Serradas P et al. : The rat models of noninsulin dependent diabetes induced by neonatal streptzotocin. Diabetes Metab 15:61-75, 1989
10) Niki A, Niki H, Niki I, et al. : Insulin secretion by anomers of D-glucose. Science 186:150-151, 1974
11) Malaisse WJ, Malaisse-Lagae F, Sener A : Anomeric specificity of hexose matabolism in pancreatic islets. Physiol Rev 63:773-786, 1983
12) Meglasson MD, Matschinsky FM : Pancreatic islet glucose metabolism and regulation of insulin secretion. Diabetes／Metab Rev 2:163-214, 1986
13) Niki A, Niki H, Hashioka T et al. : Insulin release by D-glucose anomers in a non-insulin-dependent diabetes rat model. Diabetes Res Clin Practice 7:S87-S92, 1989
14) Niki A, Niki H, Niki I et al. : Insulin release by glucose anomers in a rat model of non-insulin-dependent diabetes. Diabetologia 31:65-67, 1988
15) Leclercq-Meyer V, Marchand J, Malaisse WJ : Anomeric specificity of the insulin and glucagon secretory responses to D-glucose in lean and obese Zucker rats. Pancreas 2:645-652, 1987
16) Niki A, Niki H, Hashioka T, et al. : Insulin release by glucose anomers in the GK rat, a rat model for spontaneous non-insulin-dependent diabetes. In : Lessons from animal diabetes, The Tokyo Workshop 1990. Goto Y, Kanazawa Y Eds, Smith-Gordon Nishimura, London pp 87-92, 1990
17) Ostenson CG, Abdel-Halim SM, Rasschaeret J, et al : Deficient activity of FAD-linked glycerophosphate dehydrogenase in islets of GK rats. Diabetologia 36:722-726, 1993
18) Tsuura Y, Ishida H, Okamoto Y, et al. : Glucose sensitivity of ATP-sensitive K＋channels is impaired in β-cells of the GK rat. A new Genetic model of NIDDM. Diabetes 42:1446-1453, 1993
19) Ostenson CG, Khan A, Abdel-Halim

SM, et al.: Abnormal insulin secretion and glucose metablolism in pancreatic islets from the spontaneously diabetic GK rat. Diabetologia 36:3-8, 1993
20) Ostenson CG, Abdel-Halim SM, Grill V, et al.: Impact of diabetic inheritance on glucose intolerance and insulin secretion in spontaneously diabetic GK-Wistar rats. Diabetologia 34 (Suppl 2):A76, 1991
21) Ohneda M, Johnson JH, Inman LR, et al.: GLUT2 expression and function in β-cells of GK rats with NIDDM: dissociation between reductions in glucose transport and glucose-stimulated insulin secretion. Diabetes 42:1065-1072, 1993
22) Johnson JH, Ogawa A, Chen L, et al.: Underexpression of β-cell high Km glucose transporter in noninsulin-dependent diabetes. Science 250:546-549, 1990
23) 杉山泰雄, 小高裕之, 志村佳子ら：自然発症糖尿病GKラットの高血糖発症における肝インスリン感受性の役割. 糖尿病 32:593-599, 1989
24) 北原明夫, 豊田隆謙, 柿崎正栄, 後藤由夫：Activities of hepatic enzymes in spontaneous diabetes rats produced by selective breeding of normal Wistar rats. Tohoku J exp Med 126: 7-11, 1978
25) Matsuo T, Sugiyama Y, Ikeda H, et al.: Predisposition to hyperglycemia and hypertriglycerdiemia in two genetically obese rats-Wistar and Zucker fatty rats. In: Lessons from Animal Diabetes. Shafrir E, Renold AE Eds. John Libbey, London and Paris, pp 257-267, 1984
26) Sugiyama Y, Shimura Y, Ikeda H: Pathogenesis of hyperglycemia in genetically obese-diabetic rats. Wistar fatty: Presence of hepatic insulin resistance. Endocrinol Jpn 36:65-73, 1989
27) 柿崎正栄, 藤谷　浩, 後藤由夫：自然発症糖尿病ラットのラ島. Diabetes J 7: 105-108, 1979
28) 柿崎正栄, 及川真一：自然発症糖尿病ラットの早期病変. 糖尿病 22(12):1307-1311, 1979
29) 鈴木研一, 佐々木雅佳, 小野利夫ら：自然発症糖尿病GK（後藤ー柿崎）ラットの現況. 糖尿病動物 1:125-133, 1987
30) Ehlich JC, Ratner IM: Amyloidosis of the islets of Langer-hans. Am J Pathol 38:49-59, 1961
31) Westermark P, Westermark C, Wilander E, et al.: Amyloid fibrils in human insulinoma and islets of Langerhans of the diabetic cat are derived from a neuropeptide-like protein also present in normal islet cells. Proc Natl Acad Sci USA 84: 3881-3885, 1987
32) Cooper GJS, Willis AC, Clark A, et al.: Purification of a peptide from amyloid-rich pancreas of type 2 diabetic patients. Proc Natl Acad Sci USA 84:3881-3885, 1987
33) Betsholtz C, Svesson V, Porsman F, et al.: Islet amyloid polypeptide (IAPP), cDNA cloning and identification of an amyloidogenic region associated with the species-specific occurrence of related diabetes mellitus. J Exp Med 183:484-493, 1989
34) 鈴木研一, 鈴木　進, 阿部茂樹ら：アミリン（islet amyloid polypeptide）の自然発症糖尿病GKラットにおける病理組織学的意義. 糖尿病動物 4:97-104, 1990
35) 八木橋操六：糖尿病患者および糖尿病ラットの末梢神経病変ー病理組織学的変化およびその関連性について. 後藤由夫, 堀内光（編）：糖尿病性神経障害. 文光堂 pp. 40-53, 1979
36) 後藤由夫, 柿崎正栄, 八木橋操六：Neurological findings in spontaneously diabetic rats. Excerpta Medica ICS No. 581, 後藤ら編 Diabetic Neuropathy 72-79, 1982
37) 八木橋操六：自然発症糖尿病ラットについて. 病理形態学的立場から. 糖尿病 22:1246-1250, 1979
38) 山田憲一, 柿崎正栄：自然発症糖尿病ラットについて. 電気生理学的立場から. 糖尿病 22:1243-1246, 1979
39) Yagihashi S, Goto Y, Kakizaki M,

et al.：Peripheral neuropathy in selectively－inbred spontaneously diabetic rats：Electrophysiological, morphometrical and freeze-replica studies. Tohoku J exp Med 138:39-48, 1982
40) Kinoshita JH, Futtermman S, Satoh K, et al.：Factors affecting the formation of sugar alcohols in ocular lens. Biochem Biophys Acta 74:340-350, 1963
41) Greene DA, Lattimer SA, Sima AAF：Sorbitol, phoshoinositide and the sodiumpotassium ATPase in the pathogenesis of diabetic complications. N Engl J Med 316:599-606, 1987
42) Suzuki K, Yen-Chung H, Toyota T, et al.：The significance of nerve sugar levels for the peripheral nerve impairment of spontaneously diabetic GK (Goto-Kakizaki) rats. diabetes Res 14:21-25, 1990
43) 八木橋操六, 加世田延寛：Age-related changes of glomerular basement membrane in normal rats. Tohoku J exp Med 126：27－49, 1978
44) 八木橋操六：Quantitative estimation of age-related thickening of glomerular basement membrance in normal rats. Tohoku J exp Med 126:85-93, 1978
45) 八木橋操六, 後藤由夫, 柿崎正栄, 加世田延寛：Thickening of glomerular basement membrane in spontaneously diabetic rats. Diabetologia,15:309-312, 1978
46) 鈴木研一, 松本雅博, 豊田隆謙ら：GKラットにおける糖尿病性腎障害. 腎疾患モデル. pp82-85, 腎と透析.東京医学社 1991
47) Kobayashi T, Sakaguchi T：Renal changes in KK mice：Especially the relationship between suck and glomerular changes observed just after birth. J Clin Electron Microscopy 13: 5, 1980
48) Funakawa S, Ogawa M, Ito H, et al.：Rapid development of renal complications in non-obese diabetic (NOD) mice. Biomed Res 5:291, 1984
49) 森川秋月, 衛藤雅昭, 関口雅友ら：自然発症糖尿病チャイニーズハムスターにおける腎病変. 腎疾患モデル. pp86-90, 腎と透析. 東京医学社 1991
50) 柴田昌雄：NSYマウス. 腎疾患モデル. pp59-63, 腎と透析. 東京医学社 1991
51) 後藤由夫：糖尿病と動脈硬化. 動脈硬化 14:247-258, 1986

日本チャールス・リバーからのお知らせ

◆◆◆In-VitroからIn-Vivo 実験研究に、チャールス・リバーのミニブタ◆◆◆

米国チャールス・リバー社のミニブタは、欧米の医学・薬学の
研究分野で幅広く使用され、ご好評をいただいております。

■In-Vitro に、Yucatan Skin set

Yucatan Micropig及びYucatan Minipigは、皮膚構造が特にヒト皮膚に類似しており、薬学、化粧品学等の経皮吸収研究分野での有用なモデルです。

In－Vitro実験に対応できるよう、米国チャールス・リバー社において皮膚採取等のサービスを行っております。

品　名	Yucatan Skin set
規　格	皮膚片のみ タテ約10cm×ヨコ約10cm （表皮75～125 μm、角質層10～40 μm、皮下脂肪 0.5～1.0cm） 1頭分を採取します ・4ヵ月齢　約12枚／頭 ・5ヵ月齢　約12～16枚／頭 ・6ヵ月齢　約16枚／頭
配　送	－80℃凍結保存後、ドライアイス内包装し冷凍宅配
納　期	通常、ご希望納入日の3週間前までにご注文ください
研究分野	製剤DDS及び化粧品の経皮吸収
その他	血液、臓器等の採取サービスについてもお問い合わせください
参考文献	Hairless Micropig Skin: A Novel Model for Studies of Cutaneous Biology: Robert M. Lavker, et. al., Am, J. Pathol. 138 (3) 687－697 (1991) Characterization of the Yucatan Miniature Pig Skin and Small Intestine for Pharmaceutical Applications: Tamie Kurihara-Bergstrom, et. al., Laboratory Animal Science. 36 (4) 396－399 (1986)

■In-Vivoに、Live Animal Swineミニブタ3種

Yucatan Micropig及びYucatan Minipigは Meine州Windham生産場で、Hanford Minipigは New Hampshire州Pittsfield生産場で維持・生産されているものを米国より輸入し、国内検疫後にお届けいたします。

品　名	Yucatan Micropig	Yucatan Minipig	Hanford Minipig
外　観	Hairless 皮膚は薄黒色		被毛は白 皮膚は白色
性　質	おとなしく、静かで、馴れやすい		馴れやすい
月齢指定	標準体重（kg）		
満2ヵ月齢	6～8	7～9	8～11
満3ヵ月齢	9～12	10～15	12～19
満4ヵ月齢	13～14	16～20	20～27
満5ヵ月齢	15～17	21～25	28～33
満6ヵ月齢	18～20	26～30	34～42
検　疫	家畜法定伝染病予防法により国内検疫（16日）が必要です		
配　送	VARI-KENNEL輸送ケージを使用し、専用車にて配送		
納　期	通常、ご希望納入日の4ヵ月前までにご注文ください		
研究分野	経皮吸収、創傷・火傷モデル、動脈硬化、高脂血症モデル、肝臓・膵臓・腎臓等代謝系疾患モデル、臓器移植モデル		
参考文献	Swine as Models in Biomedical Research, Swindle, M. M. (ed.), Iowa State University Press, Ames, IA. (1992)		

※価格は別途お見積りいたします。受注から配送まで、日本チャールス・リバーが一貫してお引受けいたします。
※畜産用ベビーブタ、ワクチン薬理研究用SPFブタ、実験手技用コンベブタも取扱っております。（国内生産）
■お問い合わせ：本社営業部　☎045(474)9340　FAX 045(474)9341

価格改訂へのご協力ありがとうございました。

本年4月1日付け価格改訂に際しましては、早速ご理解、ご協力を賜り誠にありがとうございました。これを機に弊社では、高品質の動物の安定供給と有用情報の提供に一層努めてまいります。今後ともご指導、ご支援を賜りますようお願い申し上げます。

Diseases Free
Under Barrier System
IFFA CREDO

ICO CATSは、アビシニアンと
ヨーロッパ系ネコとの交配種。
医薬・薬学の研究用として、
すでに世界中で
高い評価を得ている実験動物です。
特に、高品質ワクチンの
製造用として、
最高の品質を誇っています。

■ICO CATS(FELIS CATUS)

WONDER OF FINEST QUALITY

定期的にヘルス・モニタリングを実施。ご要望により、ヘルス・リポートをお届けいたします。

《非売品》

CRJ LETTERS　Vol. 7 No. 1（通巻第12号）
この小冊子に関するご意見、ご要望を下記までお寄せください。

発　行　日：平成6年6月20日
発　行　所：日本チャールス・リバー株式会社
〒222 横浜市港北区新横浜2－3－8
東伸24 新横浜ビルB－4階
電話045(474)9340
企画・編集：日本チャールス・リバー株式会社
制　　作：株式会社ティ・ティ・アイ

日本チャールス・リバー株式会社

●弊社の英文社名は **Charles River Japan, Inc.** です。

動物についてのお問合せ、ご注文先
国内飼育動物　☎045(474)9350　ファックス045(474)9351
輸入動物　☎045(474)9333　ファックス045(474)9341