平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業）

日本人の食事摂取基準を改定するためのエビデンスの構築に関する研究

－微量栄養素と多量栄養素摂取量のバランスの解明－

主任研究者　　柴田　克己　　滋賀県立大学　　教授

主任研究者の報告書

9. 非肥満インスリン非依存型糖尿病ラットにおけるビタミン量が血糖値におよぼす影響

主任研究者　　柴田　克己　　滋賀県立大学　　教授

研究要旨

持続する高血糖状態を示す糖尿病では，糖代謝異常であり糖質代謝に関わるビタミンであるビタミン B_1，B_2，ナイアシンの必要量が高まると考えられる．しかし現在の食事摂取基準では糖尿病に対してビタミンの付加量は設けられていない．本研究では，非肥満非インスリン依存性糖尿病ラット（GK ラット）におけるビタミン量が血糖値におよぼす影響について検討した．3 週齢雄性 Wistar 系ラット，GK ラットにそれぞれ飼料 1 kg 中にビタミン混合を 0.3%，1.0% 含む食餌を与え，約 7 週間飼育した．その間，週おきの血糖値測定および 2 回の経口ブドウ糖負荷試験を行った．結果，非肥満非インスリン依存性糖尿病ラットにおいてビタミン量の違いによる血糖上昇抑制効果は認められなかった．よって，遺伝的に糖尿病になるリスクを有するものでは，二次予防としてのビタミン負荷は有効ではないことが示唆された．

A．目的

糖尿病患者の食事療法において，ビタミンに関しては，明確な指示量などは示されてはいない．また，糖尿病患者において欠乏症がみられるとの報告はない．糖代謝異常である糖尿病では，糖質代謝に関わるビタミンであるビタミン B_1，B_2，ナイアシンの代謝変動が考えられる．実際，ビタミン B_1 が糖尿病の進行または進展予防に効果があると報告されている[1)]．また，これまでに糖尿病患者におけるビタミン摂取が糖尿病の進展予防に効果があった[2)]との報告はあるが，一致した結果は得られていない．本研究では，非インスリン依存性糖尿病ラットにおけるビタミン量が血糖値におよぼす影響について検討した．

B．実験方法

1．動物飼育

本実験は滋賀県立大学動物実験委員会の承認を受けた．飼育室の温度は22℃前後，湿度は50%前後，午前6時～午後6時を明，午後 6 時～午前 6 時を暗とした．3 週齢雄性 Wistar 系ラット，GK ラットを日本クレア株式会社（東京）より購入し，それぞれ 2 群，計 4 群に分け，約 7 週間飼育した．20%カゼイン食に 0.3%, 1.0%となるように AIN-93 VX を添加したものを Wistar 系ラット（Ctrl-0.3%, Ctrl-1.0%），GK ラット（GK-0.3%, GK-1.0%）に与えた．飼料と水は自由摂取とし，1 日ないし2日おきの午前9時～10時に新しいものと交換した．また，その際に体重と飼料摂取量を測定した．飼育最終日の採尿後にラットを断頭屠殺し，血液を採取した．

2．血糖値の測定

血糖値は毎週空腹時にラット尾静脈より採血を行い，小型血糖測定機（株式会社三和科学研究所，愛知）にて血糖測定を行った．また，4，9 週齢に経口ブドウ糖付加試験（OGTT）を行った．

3．統計処理

数値はすべて平均値 ± 標準誤差（SEM）で表した．検定は，One-way Analysis of Variance（ANOVA）により行い，p 値が 0.05 以下のとき統計的有意差があるものとした．計算には GraphPad Software 社 (San Diego, CA, USA) の GraphPad Prism 4 を使用した．

C．結果

1．ビタミン量の違いが，体重増加量・飼料摂取量に及ぼす影響

実験期間中の飼料摂取量，体重増加量を図 1 に示した．最終日の体重増加量，飼料摂取量において，Ctrl 群と GK 群との間にそれぞれ約 1.2 倍の差が認められた．一方，ビタミン量（0.3%と 1.0%）の違いによる差は Ctrl 群，GK 群ともに認められなかった．

2．ビタミン量が血糖値におよぼす影響

実験期間中，毎週ラットの血糖値測定を行った（図 2）．4，5 週齢では 4 群間の血糖値に差は認められなかったが，6 週齢以降 GK 群の血糖値は Ctrl 群に比して約 2 倍に増加していた．ビタミン量（0.3%と 1.0%）の違いによる差は Ctrl 群，GK 群ともに認められなかった．

4，9 週齢における OGTT では，Ctrl 群，GK 群間で各血糖値測定時間（30，60，90，120 分）における血糖値および血糖下面積（AUC）に差が認められた．ビタミン量（0.3%と 1.0%）の違いによる差は Ctrl 群，GK 群ともに認められなかった（図 3）．

D．考察

持続する高血糖状態を呈する糖尿病では特に，糖代謝異常であることから糖代謝に関わるビタミン B_1，ビタミン B_2，ナイアシンの必要量が高まると考えられる．これまでにWistar 系雄性ラットでは，AIN-93 VX ビタミン mix を 0.3%含む飼料摂取による成長障害は見られないことからラットにおけるビタミン必要量としている．しかし，ビタミン必要量が亢進していると示唆される糖尿病では，0.3%ビタミン食でも生体に何らかの影響が見られるのではないかと考えた．また，ビタミンを負荷することによる血糖上昇抑制効果を期待した. 本実験では 0.3%ビタミンを含む飼料をラットの必要量とし, 1.0％ビタミンを含む飼料はビタミンを負荷した飼料とし，ビタミン量の違いが糖付加後の血糖上昇抑制効果に与える影響について検討した．

本実験において 0.3%，1.0%のビタミン量の違いによる血糖上昇抑制効果は認められなかった．2 型糖尿病患者のモデルとして汎用される GK ラットは多因子遺伝によって発症すると考えられており，胎生期より膵ランゲルハンス島の形成不全・ベータ細胞数減少が見られる．血糖値の上昇は 4 週齢以降からではあるが　生まれながらにして糖尿病のリスクをもっているモデル動物である．本研究でのビタミン量が糖尿病の発症と発症後の糖付加後血糖上昇に対し抑制効果が見られなかったことより，既に糖尿病発症遺伝子を有するものではビタミン負荷は血糖抑制に有効ではないと考えられる．

E．健康危機情報

特記する情報なし

F．研究発表

1．発表論文

なし

2．学会発表

なし

G．知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1．特許予定

なし

2．実用新案登録

なし

3．その他

なし

H．引用文献

1. Thornalley PJ, Babaei-Jadidi R, Al Ali H, Rabbani N, Antonysunil A, Larkin J, Ahmed A, Rayman G, Bodmer CW. High prevalence of low plasma thiamine concentration in diabetes linked to a marker of vascular disease. *Diabetologia*. (2007) 50, 2164-70.
2. Kamal M, Abbasy AJ, Muslemani AA, Bener A　Effect of nicotinamide on newly diagnosed type 1 diabetic children. *Acta Pharmacol Sin* (2006) 27, 724-7.

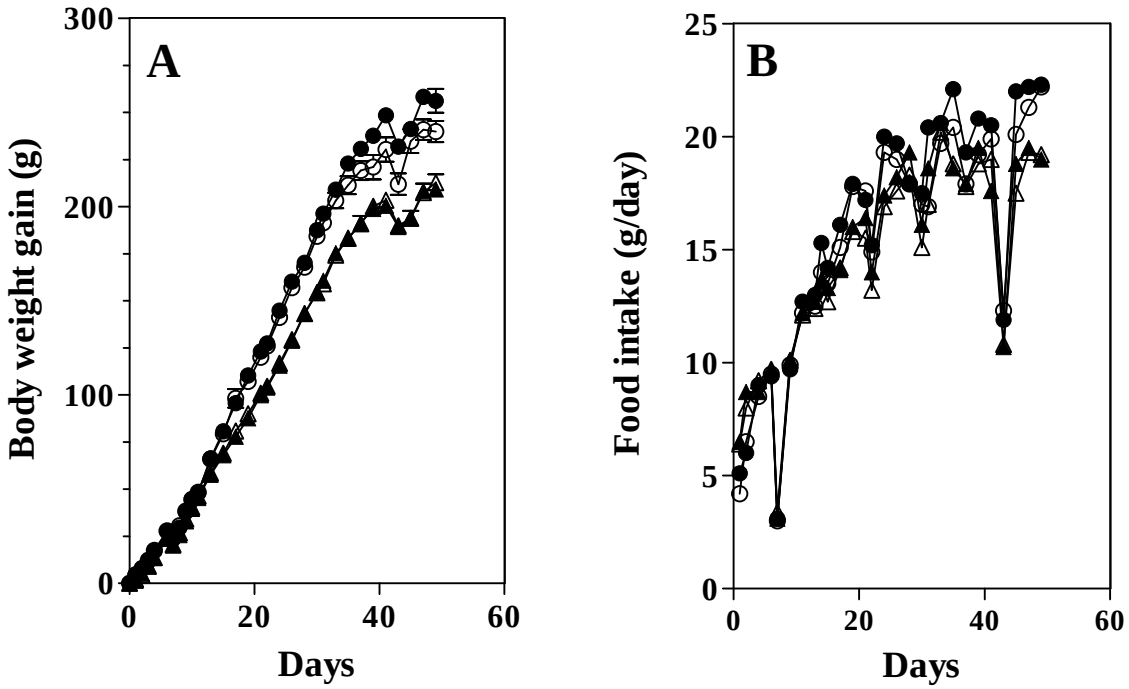

図 1. ビタミン量が GK ラットの体重増加量（A）および飼料摂取量（B）におよぼす影響
○：Ctrl-1.0% VX 群，●：Ctrl-0.3% VX 群，△：GK-0.3% VX 群，▲：GK-1.0% VX 群
数字は平均値 ± 標準偏差で示した.

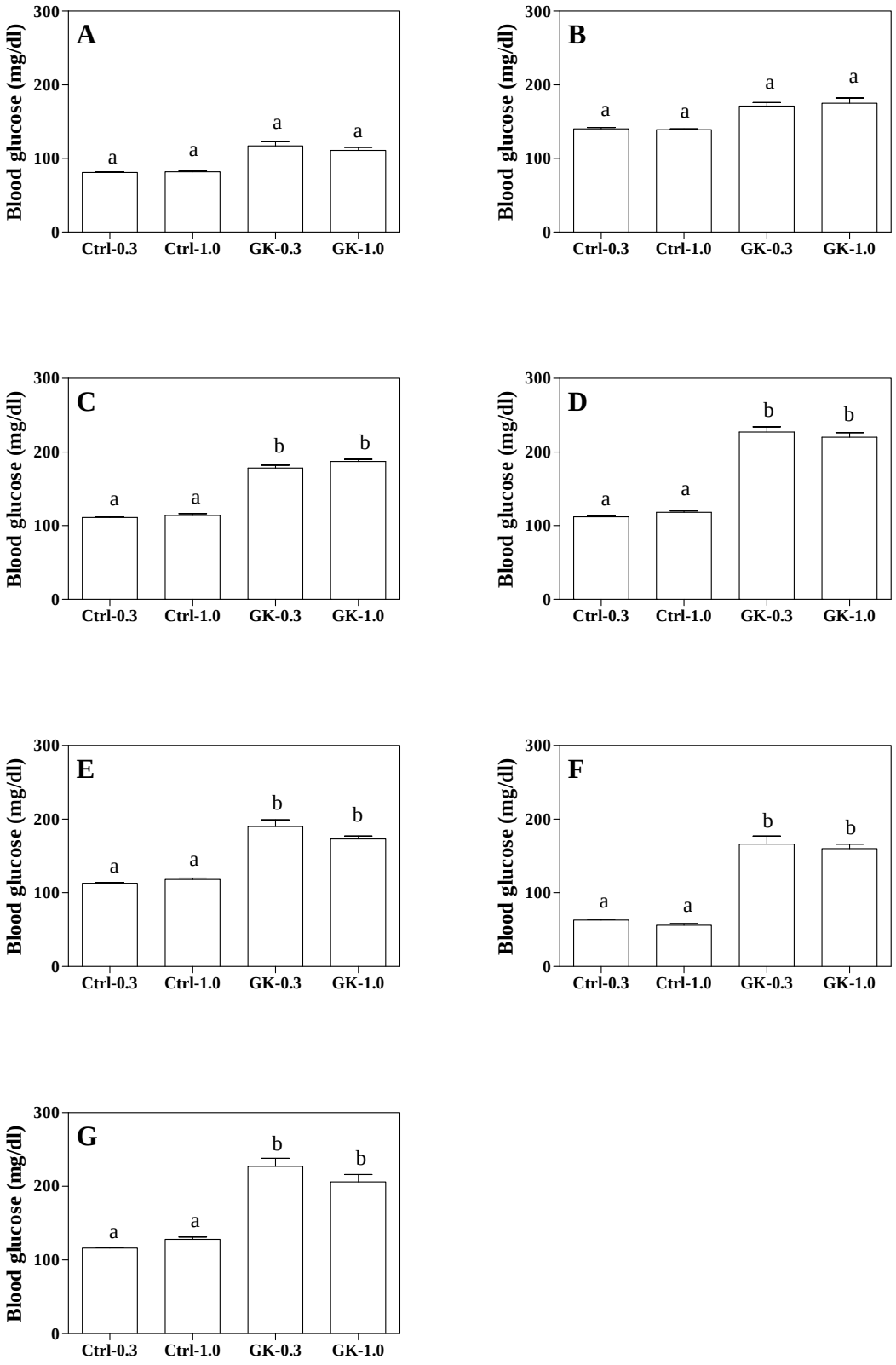

図 2. ビタミン量が血糖値におよぼす影響

血糖値は，毎週（A：4 週目，B：5 週目，C：6 週目，D：7 週目，E：8 週目，F：9 週目，G：10 週目）ラット尾静脈より採血行った．値は平均値 ± 標準誤差として示した．異なる添え字は有意差を示す.

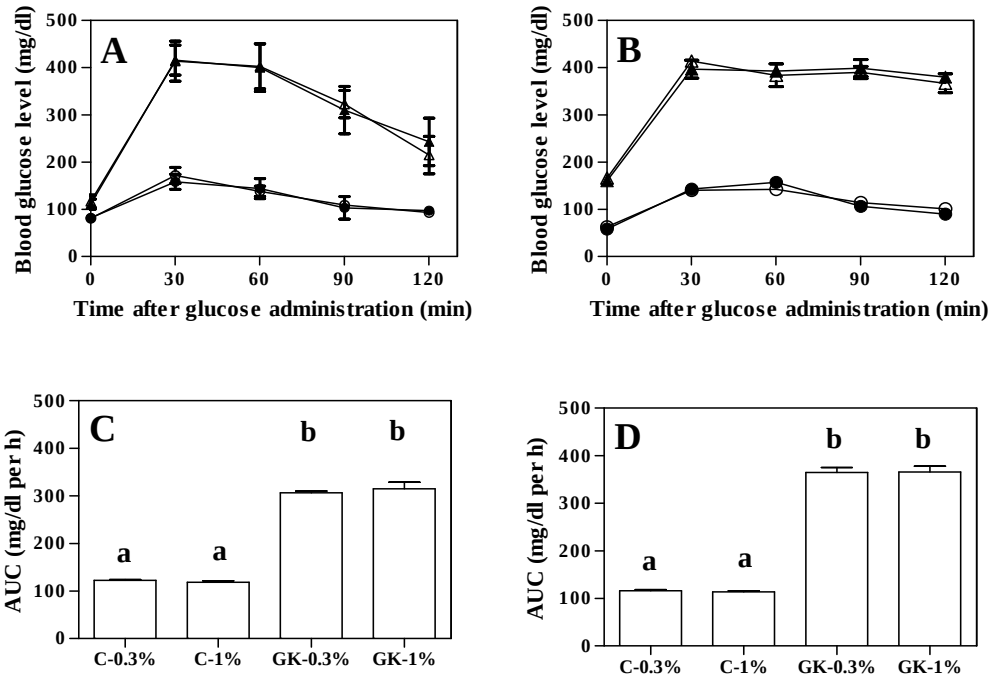

図 3. ビタミン量が経口ブドウ糖付加試験（OGTT）におよぼす影響

A：4 週齢での OGTT，B：9 週齢での OGTT，C：4 週齢での血糖下面積（AUC），D：9 週齢での血糖下面積（AUC）．OGTT は空腹時（0 分），30，60，90，120 分に行った．

図 3－A・B ○：Ctrl-1.0% VX 群，●：Ctrl-0.3% VX 群，△：GK-0.3% VX 群，▲：GK-1.0% VX 群．値は平均値 ± 標準誤差として示した．異なる添え字は有意差を示す．