

Cycloserine, INAH 大量投与白鼠における糖尿病症状の発症について

和 知 勤 ・ 松 本 徹 二

国 立 大 阪 療 養 所

受 付 昭 和 35 年 9 月 30 日

緒 言

岡本¹⁾は Alloxan, Oxine 等による実験的糖尿病症状発症を報告したが、そのさい、膵臓ラ氏島の β 細胞中の亜鉛イオンとの関係を追求し、膵臓性糖尿病の発症および発症防止とラ氏島亜鉛との間にはきわめて密接な関係があることを主張した。

また古武²⁾、稲田³⁾、松村⁴⁾らは Oxine と化学構造が類似している Tryptophan の異常代謝産物である Xanthuren 酸 (XA) について種々の研究を行い、XA が白鼠に実験的糖尿病を発症させる物質であり、高脂肪高蛋白食で白鼠を長期間飼育すると糖尿病症状を発症することを報告した。また『ひと』の場合においても糖尿病患者の尿より XA の排泄を証明したが、一方、XA の前段階物質である 3-Hydroxykynurenine もまた糖尿病発症的な作用を有することを明らかにした。

Boone⁵⁾らは Isonicotinic acid hydrazide (INAH) 投与動物に Tryptophan を経口投与すると尿中 XA の排泄が増加するのを認めているが、著者ら^{6)~9)}も Cycloserine (CS), INAH を白鼠に長期間にわたり連日大量経皮投与し、さらに Tryptophan を負荷すると、その尿中に XA, 3-Hydroxykynurenine の排泄増加を認めたので、各種の飼料で飼育した白鼠の各群に CS, INAH を連日大量投与し、さらに Tryptophan を負荷したさいに尿糖、血糖にいかなる変動がみられるかにつき検討を行つたので報告する。

実 験 方 法

実験動物として雄性白鼠 (体重 150 g 前後) を用い、1 群を各 15 匹として次の 3 群に分け実験を行つた。なおこれらの白鼠は実験開始前基本飼料で 1 週間以上観察飼育し体重増加の順調で、血糖値も大抵一定 (80 mg/dl 前後) のものを用いた。

1) 第 1 群：基本食飼育群

基本飼料 (カゼイン 20 %, 澱粉 60 %, 砂糖 8 %, バター 8 %, 寒天 2 %, 乾燥酵母 1 %, 食塩 1 %) で飼育し、CS は体重 pro kg 300 mg INAH は pro kg 50 mg を 0.5 ml 前後の水溶液とし白鼠大腿部に毎日 1 回皮下注射した。対照白鼠には同量の生理的食塩水を同様注射した。

2) 第 2 群：高脂肪高蛋白食飼育群

飼料 (カゼイン 25 %, McCullum 塩 2 %, 寒天 3 %, バター 35 %, 砂糖 5 %, 澱粉 28 %, 乾燥酵母 2 %) は古武らの方法により調製し、CS および INAH は上記と同様に経皮投与し、さらに XA の体内蓄積をはかるため飼育開始後 3 カ月目より約 2 カ月間白鼠 1 匹あたり DL-Tryptophan 10 mg を食餌中に混入し摂食させた。

3) 第 3 群：高蛋白食飼育群

飼料 (カゼイン 37 %, 澱粉 44.5 %, 砂糖 7.4 %, 寒天 1.5 %, バター 7.4 %, 食塩 1.5 %, 乾燥酵母 0.7 %) で飼育し、CS および INAH の投与は上記と同様にした。さらに DL-Tryptophan を飼育開始後 15 週目より 2 週間にわたり白鼠 1 匹あたり 20 mg 食餌中に混入し摂食させた。

血糖は King & Garner 氏¹⁰⁾法、尿糖は Benedict 氏法、XA は Rosen & Huff 氏法によりそれぞれ測定した。

体重の測定、血糖の測定は食飼投与前の空腹時に行つた。

尿による XA, 3-Hydroxykynurenine, Kynurenine の Paperchromatography は 24 時間尿を濃縮しメチルアルコールにより除蛋白、除塩して行つた。展開剤としてはブタノール 4, 醋酸 1, 水 1 の比の醋酸ブタノールを使用し一次元、上昇法を用いた。呈色反応としては塩化鉄反応、Nynhydrin 反応、Ehrlich Diazo 反応、Ehrlich Aldehyde 反応および蛍光反応を行つた。

実 験 成 績

1) 第 1 群における血糖、尿糖 および 体重 に対する 影響

基本食飼育群に CS を投与し約 7 週間後 L-Tryptophan 水溶液 (pro kg 500 mg) を大腿部皮下に注射し血糖測定を行うと、図 1 に示すように血糖値の上昇は著明で、Tryptophan 注射後 9 時間目に最高値 478 mg/dl を示し、かつ尿糖も $\equiv$ (1.5 % 以上) を示した。かかる高血糖状態は 2~3 日持続し、その後はむしろ低血糖となり尿糖も陰性となつた。Tryptophan 投与前では、対照動物、CS 投与動物ともにその血糖値は 80 mg/dl 前後で尿糖も陰性であつた。

体重の増減は図1に示すように対照動物に比して体重の比較的減少および絶対的減少の傾向を示し、Vitamin B₆ (VB₆) 欠乏と思われる症状^{6)~9)}はCS投与開始後約4週間後から発症した。

図1 基本食飼育群におけるCS投与白鼠の血糖、尿糖および体重の変動

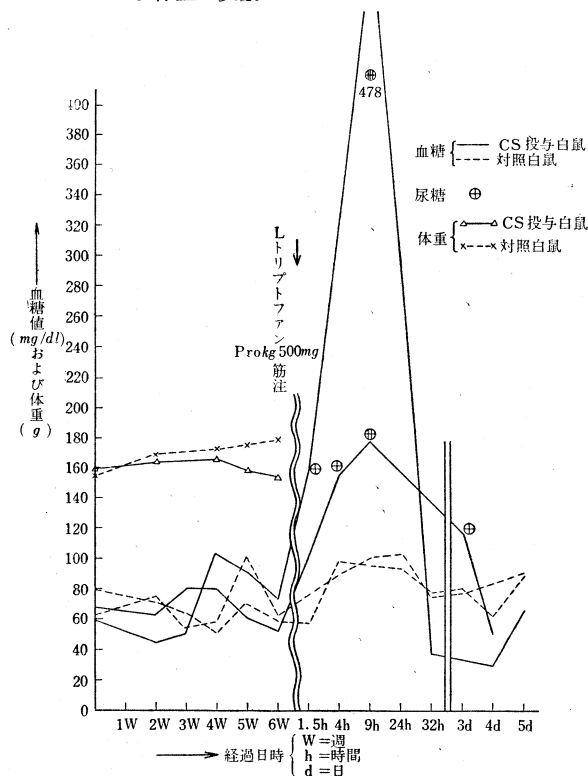
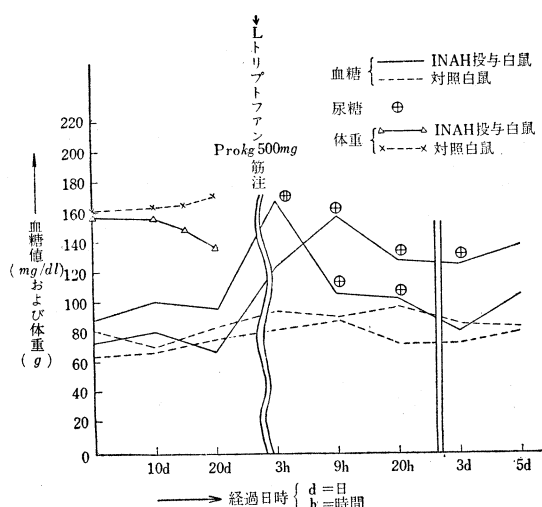


図2 基本食飼育群におけるINAH投与白鼠の血糖、尿糖および体重の変動



INAH投与白鼠においては約1ヵ月後Tryptophanを上記と同様注射し、血糖測定を行うと図2に示すよ

うにその血糖値の上昇はCSの場合ほど高度ではないが、160 mg/dl 前後におよびかつ尿糖の出現(+~++)を認めた。この場合の体重の減少はCSの場合よりやや高度にかつ早期に認められ、VB₆欠乏と思われる症状の発症状態はCS投与動物の場合と大差はなかった。

なおこの群の対照動物においてはTryptophanを負荷しても終始血糖値は100 mg/dl 以下でかつ尿糖の出現は認められなかった。

2) 第2群における血糖、尿糖および体重に対する影響

高脂肪高蛋白食飼育群においてはCS, INAH投与動物はともに図3, 4に示すように投与開始後約5~6ヵ月で血糖値の軽度上昇(120~140 mg/dl)を示しかつ尿糖の出現(+~++)を認めた。

対照動物においても約6~7ヵ月後より軽度の血糖上昇(100~120 mg/dl)を認めたが、飼育期間5~7ヵ月において実験動物、対照動物の間には血糖値、尿糖に明らかに差異があり前者の方が高度である。なお実験開始後5ヵ月目にほぼ定量的に行ったPaperchromatographyによりINAH, CS投与動物の尿においてはともにXA, 3-Hydroxy-kynurenine およびKynurenineの著明なSpotを、対照動物においては軽度のSpotを認めた。

また尿中XAの定量を行ったところ、INAH, CS投与動物においては両者とも1日量2~4 mg, 対照動物においては1日量1~2 mgの値を示した。

しかしながら体重は実験、対照動物ともに図3, 4, 5に示すように増加の傾向(とくに初期において著明)を示し、実験開始後7ヵ月でCS投与動物で180 g, INAH投与動物で164 g, 対照動物では230 gの平均値を示した。またVB₆欠乏と思われる症状の発症は前記第1群より著明に遅延して実験動物では約4ヵ月, 対照動物では約6ヵ月目ごろから認められた。

3) 第3群における血糖、尿糖および体重に対する影響

高蛋白食飼育群においては図6に示すように、約14週間後から12日間DL-Tryptophanを1匹あたり20 mg食餌中に混入することにより軽度の血糖値の上昇(100~140 mg/dl), 尿糖の出現(+~++)を認め、さらに実験開始後5ヵ月後L-Tryptophan水溶液をpro kg 500 mg経皮投与すると著明な一過性高血糖(150~200 mg/dl)および尿糖の出現(+~++)を認めた。なおこの群の対照動物においては終始血糖値、尿糖に著明な変動は認めなかった。

図3 高脂肪高蛋白食飼育群におけるCS投与白鼠の
血糖、尿糖および体重の変動

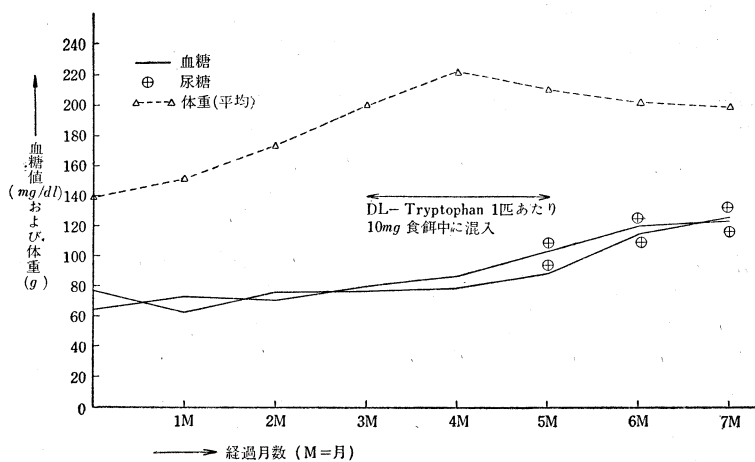


図4 高脂肪高蛋白食飼育群におけるINAH投与白鼠の
血糖、尿糖および体重の変動

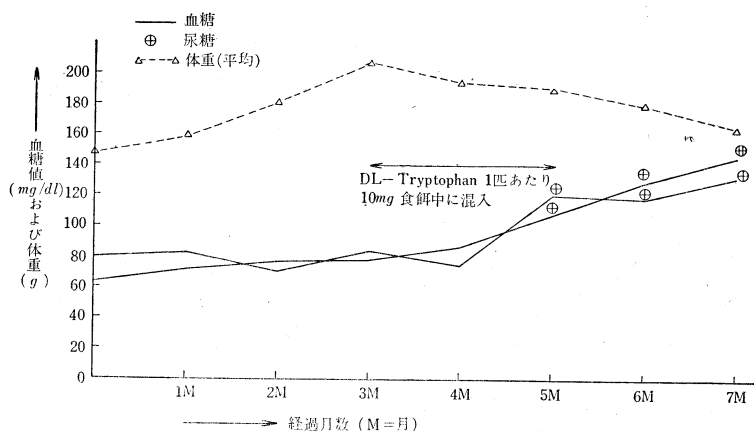


図5 高脂肪高蛋白食飼育群における対照白鼠(生理的食塩水注射)の
血糖、尿糖および体重の変動

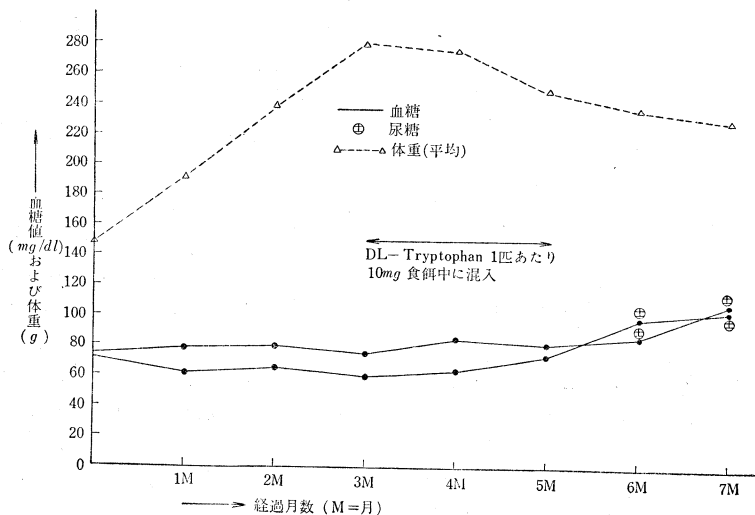
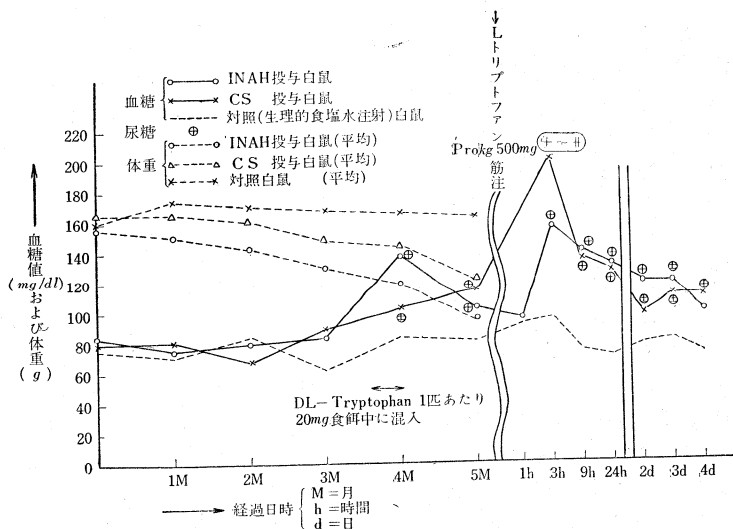


図6 高蛋白食飼育群の血糖、尿糖および体重の変動



体重に対する影響は実験動物では図6に示すように第1群と同様に比較的小さく減少の傾向を認め、しかもVB₆欠乏と思われる症状の発症は第1群よりやや遅延するが、第2群よりは早期に現われる傾向を示した。

考 案

著者らは先にCSおよびINAH大量投与白鼠肝のKynurenine transaminase, Tyrosine transaminase 活性の低下を認め、青木¹²⁾、庄司¹³⁾および著者らもINAHおよびCSがTryptophanase¹⁴⁾、グルタミン酸脱炭酸酵素活性¹⁵⁾を阻害するという一連のVB₆酵素系に関しての報告をしているが、著者らの実験において糖尿病症状発症を認めたのはこれらの薬剤がTryptophanの中間代謝異常をおこしKynurenineより以下の代謝経路を阻害したため、3-Hydroxykynurenine, XAの体内蓄積がおこり古武らの主張する機作によってかかる成績が得られたものと考えられる。

高蛋白食飼育群においては基本食飼育群と著明な差異を認めなかったが、著者らはあらかじめカゼイン量を60%として試験的に飼育したところ、白鼠の摂食率がきわめて悪く、ために体重の急激な減少をきたす結果となった。もし白鼠がかかる高率の高蛋白で飼育できるものならば、基本食飼育群よりもさらに早期に糖尿病症状を発症するはずである。ともあれこの程度の高蛋白飼料(カゼイン37%、澱粉44.5%)では基本食飼料(カゼイン20%、澱粉60%)飼育群のINAHおよびCSのVB₆酵素系阻害作用を含めての毒性を増大するよりむしろ緩和する傾向にあるもののようである。

高脂肪高蛋白食飼育群における糖尿病症状は、実験動物群の方が対照動物群より早期に発症していることは事

実であるが、古武らの報告による脂肪酸中間代謝産物によるTryptophan中間代謝阻害に加えて、CSおよびINAHがTryptophan代謝に関与するVB₆酵素系を阻害するものならば基本食飼育群に比しより早期にかつ高度にVB₆酵素系に対する阻害作用があらわれるべきである。しかるに基本食飼育群および高蛋白食飼育群のCS, INAH投与白鼠にみられた体重の絶対的減少は高脂肪高蛋白食飼育群のものには認められなかったこと、VB₆欠乏と思われる症状も高脂肪高蛋白食飼育群にもつともおそく発症したことを考えあわせると、脂肪または脂肪代謝産物がCSおよびINAHのVB₆酵素系阻害に対し拮抗または防禦の機作を有することを示唆するのかもしれない。また一方では最近INAHの毒性緩和または分解に関して金属イオンが影響するという報告^{16)~18)}もある。著者らの実験した3群の飼料を比較すると高脂肪高蛋白食飼育群のみがその飼料中に塩類を比較的多量に含有している事実より、この点も十分検討しなければならないと考えられる。

しかしながら第2群の対照動物においても高脂肪高蛋白食飼育開始後6~7ヵ月では血糖値も100~120mg/dlに上昇、尿糖も(±)と次第に糖尿病前駆所見を呈している。古武らの実験ではその飼育期間は著者らよりさらに長期にわたっているため、著者らのこの対照群の飼育をさらに長期継続する場合は古武らの報告と同様な成績が得られるものと思われる。

結 論

1) 白鼠を基本食飼育群、高脂肪高蛋白食飼育群、高蛋白食飼育群の3群に分け長期にわたり飼育し、これにCS, INAHを連日大量投与してTryptophanを負荷すると血糖値の上昇、尿糖の出現を認めた。

2) 高脂肪高蛋白食飼育群において CS, INAH 投与動物は対照動物に比し, より早期にかつ高度に血糖上昇および尿糖の出現を認めた。

3) 基本食飼育群, 高蛋白食飼育群の対照動物は Tryptophan の負荷に関係なく終始糖尿病症状は認めなかった。

4) 基本食飼育群および高蛋白食飼育群の CS, INAH 投与動物で体重の比較的減少および絶対的減少を認めた。

5) CS および INAH 投与動物で VB₆ 欠乏症状と思われる症状は基本食飼育群にもつとも早期に, 高脂肪高蛋白食飼育群にもつともおそく発症した。

稿を終るに臨み終始御懇切なる御助言および貴重なる試薬を恵与戴きました名古屋大学栄養学古武彌人教授, 阪大生化学坂本幸哉助教授, 阪大第三内科堂野前維摩郷教授, 伊藤文雄博士, 御鞭撻戴きました国立大阪療養所岩崎祐治所長に深甚なる謝意を表します。

また終始熱心に実験に協力して戴いた宇野鶴子氏に謝意を表します。

本論文の要旨は昭和 33 年 5 月 日本結核病学会総会において発表した。

文 献

- 1) 岡本：医学のあゆみ, 10 : 1, 昭25.
- 2) 古武：診療, 10 : 177, 昭32.
- 3) 稲田：和歌山医学, 4 : 120, 昭28.
- 4) 松村：和歌山医学, 4 : 117, 昭28.
- 5) Boone, I.U., et al. : J. Lab. Clin. Med., 46 : 549, 1955.
- 6) 和知・松本：第14回日本結核病学会近畿地方会, 昭31年11月, 第32回日本結核病学会総会, 昭32年4月.
- 7) 松本：結核, 33 : 283, 昭33.
- 8) 和知・松本：第15回日本結核病学会近畿地方会, 昭32年4月.
- 9) 松本：結核, 33 : 338, 昭33.
- 10) King, E.J., & Garner, R.J. : J. Clin. Path., 1 : 30, 1947.
- 11) Rosen, F., Huff, J.W., & Perlzweid, R.H. : J. Biol. Chem., 167 : 573, 1947.
- 12) 青木：結核, 32 : 605, 昭32.
- 13) 庄司・山上：結核, 29 (増刊号) : 121, 昭29.
- 14) 和田・伊藤・森末・和知・松本：第16回日本結核病学会近畿地方会, 昭32年11月.
- 15) 和知・松本：第33回日本結核病学会総会, 昭33年5月.
- 16) Pansy, F.E., Koerber, W.L., Stander, H., & Donovan, R. : Am. Rev. Tuberc., 68 : 284, 1953.
- 17) Lewin, E., & Hirsch, J.G. : Am. Rev. Tuberc., 71 : 732, 1955.
- 18) 西：大阪医学会雑誌, 10, 1421, 昭33.