



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | インスリン分泌に対するビタミンDの役割について                                                                                                                         |
| Author(s)    | 田中, 祥介                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1986, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/35591">https://hdl.handle.net/11094/35591</a>                                                             |
| rights       |                                                                                                                                                 |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|         |                         |      |     |          |
|---------|-------------------------|------|-----|----------|
| 氏名・（本籍） | た田                      | なか中  | よし祥 | ゆき介      |
| 学位の種類   | 医                       | 学    | 博   | 士        |
| 学位記番号   | 第                       | 7389 | 号   |          |
| 学位授与の日付 | 昭和61年                   | 7月   | 3日  |          |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第2項該当            |      |     |          |
| 学位論文題目  | インスリン分泌に対するビタミンDの役割について |      |     |          |
| 論文審査委員  | (主査)                    |      |     |          |
|         | 教授                      | 藪内   | 百治  |          |
|         | (副査)                    |      |     |          |
|         | 教授                      | 坂本   | 幸哉  | 教授 垂井清一郎 |

### 論文内容の要旨

#### 〔目 的〕

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>に対する受容体蛋白およびビタミンD依存性カルシウム結合蛋白が各種動物の膵組織に存在することが明らかにされ、さらにそれらが膵B細胞に局在することが証明されて以来、インスリン分泌に対するビタミンD(D)の役割が注目されている。1980年、NormanらはD欠乏ラットでは灌流膵よりのインスリン分泌は低下しており、D補充により分泌の回復することを報告した。しかし、Dを補充すれば血漿カルシウム(Ca)値や摂食量も増加するため、インスリン分泌促進作用がDの直接作用か、Caあるいは摂食量の増加を介する作用かは不明である。そこで本研究はD補充によるインスリン分泌促進作用が、D自体の直接作用か、Caや摂食量の増大を介する作用かを明らかにするために行った。

#### 〔方法ならびに成績〕

3週齢のSprague-Dawley系ラットをD欠Ca欠乏飼料(Ca含量0.02%) 5～6週間飼育し、D欠乏ラットを作製後、Grodskyらの方法に従って以下の単離膵灌流実験を行った。

実験－1) — 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, Ca10日間補充 —

作製したD欠乏ラットを4群に分類した。第1群D(−)Ca(−)群：実験期間中D欠Ca欠乏飼料で飼育。第2群D(−)Ca(+)群：Ca75mg/kg/日を10日間腹腔内に投与。第3群D(+)Ca(−)群：1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 250ng/日を10日間腹腔内に投与。第4群D(+)Ca(+)群：1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>およびCaを同量10日間投与。4群について2.5mM Ca濃度下で16.7mM ブドウ糖刺激による膵灌流実験を行った。

実験－2) — 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, Ca 3日間補充 —

補充期間を3日間に短縮し3群(第1群D(−)Ca(−)群, 第2群D(−)Ca(+)群, 第3群D(+)Ca(−)群)に

分類した。3群について実験-1)と同様の腭灌流実験を行った。実験-1), 2)とも灌流直前に末梢血を採取した。

実験-3)—— $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の直接作用の検討——

$2.5\text{nM } 1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を灌流液に添加し、ブドウ糖濃度 $5.5\text{mM}$ で50分間灌流した後に $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 濃度はそのまま、ブドウ糖濃度をさらに $16.7\text{mM}$ に上昇させ、30分灌流し、灌流液中のインスリンを測定した。

これらの実験より以下の成績を得た。

実験-1) in vivoの成績①体重：補充群は $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群に比較して有意( $P<0.05$ )に増加したが、補充群間には有意差はなかった( $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群 $105\pm 9(\pm \text{SE})\text{g}$ ,  $\text{D}(-)\text{Ca}(+)\text{群}129\pm 9\text{g}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(+)\text{群}136\pm 10\text{g}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(-)\text{群}142\pm 11\text{g}$ )。②血漿 $25\text{OH D}$ 値：4群とも感度以下であった。③血漿 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 値： $\text{D}(-)$ 群は正常ラットに比較して約 $\frac{1}{3}$ に減少し $\text{D}(+)$ 群では約4倍に増加した( $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群 $25\pm 9\text{pg/ml}$ ,  $\text{D}(-)\text{Ca}(+)\text{群}27\pm 8\text{pg/ml}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(-)\text{群}337\pm 40\text{pg/ml}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(+)\text{群}347\pm 55\text{pg/ml}$ )。④血漿Ca値： $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群は著明な低値を示し、補充群間では $\text{D}(+)\text{Ca}(+)\text{群}$ が最も高値を示した( $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群 $4.0\pm 0.2\text{mg/dl}$ ,  $\text{D}(-)\text{Ca}(+)\text{群}6.5\pm 0.5\text{mg/dl}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(-)\text{群}6.8\pm 0.4\text{mg/dl}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(+)\text{群}8.2\pm 0.3\text{mg/dl}$ )。⑤血漿P値：血漿Ca値と逆の変動を示した( $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群 $9.0\pm 0.3\text{mg/dl}$ ,  $\text{D}(-)\text{Ca}(+)\text{群}5.7\pm 0.3\text{mg/dl}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(+)\text{群}5.3\pm 0.2\text{mg/dl}$ )。⑥血糖値：4群間に有意差はなかった。⑦血漿インスリン値：血漿Ca値と同様の変動を示した( $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群 $\leq 3\mu\text{U/ml}$ ,  $\text{D}(-)\text{Ca}(+)\text{群}7\pm 2\mu\text{U/ml}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(+)\text{群}14\pm 4\mu\text{U/ml}$ )。

灌流実験に関する成績 ブドウ糖刺激時のインスリン分泌量 $\Sigma\Delta\text{IRI}$ (基礎分泌からの増加量)は $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群に比較してDあるいはCaの補充により増加し両者を補充するとさらに増加した( $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群 $980\pm 216\mu\text{U}/20\text{min}$ ,  $\text{D}(-)\text{Ca}(+)\text{群}3,050\pm 832\mu\text{U}/20\text{min}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(-)\text{群}2,890\pm 530\mu\text{U}/20\text{min}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(+)\text{群}4,250\pm 161\mu\text{U}/20\text{min}$ )。

実験-2) 補充期間を3日間に短縮すると3群間における体重での有意差はなくなり、カロリー摂取量はほぼ同一と考えられた( $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群 $103\pm 10\text{g}$ ,  $\text{D}(-)\text{Ca}(+)\text{群}105\pm 11\text{g}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(-)\text{群}105\pm 10\text{g}$ )。他のin vivoの成績は実験-1)と同様の結果を示した。

灌流実験に関する成績も実験-1)と同様に $\Sigma\Delta\text{IRI}$ は $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群に比較してDあるいはCaの補充により増加したが、補充間には有意差はなかった( $\text{D}(-)\text{Ca}(-)$ 群 $847\pm 173\mu\text{U}/20\text{min}$ ,  $\text{D}(-)\text{Ca}(+)\text{群}3,423\pm 925\mu\text{U}/20\text{min}$ ,  $\text{D}(+)\text{Ca}(-)\text{群}3,102\pm 549\mu\text{U}/20\text{min}$ )。

次いで、実験-1), 2)におけるD欠乏群での灌流腭からのインスリン分泌量( $\Sigma\Delta\text{IRI}$ )と体重および血漿Ca値との相関を検討した。体重とは有意な相関を得られなかったが、血漿Ca値とは有意( $P<0.01$ )な正の相関が得られた。

実験-3)  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を添加し、80分間灌流しても総インスリン分泌量は非添加群に比較して増大しなかった(添加群 $1,520\pm 265\mu\text{U}/80\text{min}$ , 非添加群 $1,610\pm 185\mu\text{U}/80\text{min}$ )。

[総括]

1) D欠乏状態でも大量のCaを注入すればインスリン分泌能は $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 過剰状態におけるレベ

ルまで回復した。加えて、D欠乏ラットの灌流膵におけるインスリン分泌量は体重、すなわちカロリー摂取量とは相関を示さず血漿Ca値と有意な正の相関を示したことから、D補充に伴うインスリン分泌促進にはやはりCaが大きく関与していることが明らかにされた。

2) しかし一方、同量のCa量が投与されたD欠乏群とD補充群を比較すると(D(-)Ca(-)群 vs D(+)Ca(-)群, D(-)Ca(+)群 vs D(+)Ca(+)群), D補充群の方がインスリン分泌が増大しておりD自体にもインスリン分泌促進作用を有する可能性も示唆された。

3) 灌流液にCaあるいは $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ を十分補充しても80分間ではインスリン分泌作用は認められず、DあるいはCaが膵B細胞に作用する場合には急性効果ではなく、ある程度のlatent periodを要することが示唆された。

### 論文の審査結果の要旨

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -受容体蛋白がラット膵B細胞で証明され、Dと膵内分泌機能相関を示唆する成績が報告されている。本研究は単離膵灌流法によりD補充によりインスリン分泌促進作用がDの直接作用かCa量あるいは摂食量の増大を介する作用かを詳細に検討し、その作用がCaを介する作用と共にDにも直接作用を有することを証明した。さらにDが作用する場合には、latent periodを要することも証明し、Dの細胞内Ca調節機構を考える上で興味深い。