



Title	Hepatic insulin resistance induced by chronic hindlimb ischemia
Author(s)	畠崎, 聖弘
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45440
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	畠崎聖弘
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第19250号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Hepatic insulin resistance induced by chronic hindlimb ischemia (下肢血流障害によるインスリン抵抗性発症機序の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 堀 正二 (副査) 教授 松田 暉 教授 萩原 俊男

論文内容の要旨

〔目的〕

閉塞性動脈硬化症は糖尿病患者において健常人に比し合併率が約3倍高い重篤な血管合併症である。この閉塞性動脈硬化症を合併する糖尿病患者では、血糖コントロールが著しく困難となることが経験される。この原因として、虚血肢でのインスリン抵抗性の増悪が最も考えられるが、閉塞性動脈硬化症の発症進展とインスリン抵抗性との関連を明確にした報告は数少ない。また、それらの報告も閉塞性動脈硬化症とインスリン抵抗性の関連を示すにとどまり、閉塞性動脈硬化症がインスリン抵抗性を惹起するのか、あるいは動脈硬化促進因子であるインスリン抵抗性を有する症例に進行した閉塞性動脈硬化症が発症するのか、その因果関係は明らかではない。さらに、これまでの検討では、急性下肢虚血モデルでのインスリン抵抗性の発現や、ヒトでの全身のインスリン抵抗性についての検討が主で、インスリン標的臓器レベルでの臓器特性やその機序についての詳細な解明がなされていない。今回、慢性下肢血流障害が糖代謝動態とインスリン作用に及ぼす影響を検討し、その臓器特性および機序を解明すべく、下肢血流障害モデルラットを用いて解析を試みた。

〔方法ならびに成績〕

10週齢の雄性SD ratを用い、右大腿動脈を鼠径部で剥離・結紮した下肢血流障害モデル(FAL群)と右大腿動脈の剥離のみを行うコントロールラット(Sham群)を作製した。まず手術2週間後に体重、空腹時血糖値、血漿インスリン濃度の測定、および腹腔内グルコース負荷試験を施行した。同時期に安定同位体標識トレーサーを用いた正常血糖高インスリンクランプ法(insulin infusion rate: 6.0 mU/kg/min)を用い、インスリン感受性の評価を行った。本法では、gas chromatography mass spectrometry法で標識グルコース(6,6-²H₂グルコース)のエンリッチメントを測定し、肝からの内因性糖産生および末梢組織の糖利用率を弁別評価することが可能である。実験終了時に肝臓を摘出し、糖代謝関連酵素の解析をNorthern blot法で解析した。下肢血流はクランプ実験終了後、マイクロスフェアを注入した後に両大腿筋を摘出し、筋組織中のマイクロスフェア数を測定することにより評価した。

手術2週間後では、健側肢に対する手術肢の血流比はFAL群で約50%と有意に低下していたが、体重と空腹時血糖値は両群間(FAL群、Sham群)に有意差を認めなかった。平均空腹時インスリン値はSham群が13.0 μU/mlに

対して FAL 群の方が $19.8 \mu \text{U/ml}$ と有意に高値を示しインスリン抵抗性が示唆された。さらに、腹腔内ブドウ糖負荷試験でも、FAL 群の方がブドウ糖投与 30 分以降の血糖値が有意に高値を示し、インスリン値も 60 分以降高い値を示し、手術 2 週間後の FAL 群で耐糖能障害が認められた。より詳細にインスリン抵抗性を評価するため行った正常血糖高インスリンクランプでは、空腹時に相当する basal 期での糖代謝は、両群間の糖代謝に有意差を認めないが FAL 群の方が血中のインスリン濃度が有意に高いことから、手術後 2 週間の FAL 群にインスリン抵抗性の存在を示唆した。

正常血糖高インスリンクランプ時で全身のインスリン抵抗性を示すブドウ糖注入速度 (GIR) は FAL 群では Sham 群に比し有意に低値を示し、FAL 群ではインスリン抵抗性が認められた (18.3 ± 2.6 vs. $21.8 \pm 2.8 \text{ mg/kg/min}$, $p < 0.05$)。この時、末梢組織の糖利用率は両群に有意差を認めなかつたが (24.5 ± 2.2 vs. $25.6 \pm 3.7 \text{ mg/kg/min}$, $p = 0.76$)、内因性糖産生 EGP は FAL 群で有意に高値でインスリンによる内因性糖産生の抑制率も FAL 群で有意に低下 (23.2 ± 8.1 vs. $53.3 \pm 16.8\%$, $p < 0.05$) していた。糖産生の主要臓器である肝臓においてインスリン作用障害が示唆されたことから、肝臓における糖代謝の重要な酵素について解析を行った。ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ、グルコース 6-ホスファターゼの mRNA 発現量に差はなかつたが、グルコキナーゼ mRNA 発現量は FAL 群で有意に低値を認めた。以上、2 週間の慢性下肢虚血ラットにおいて、末梢組織（下肢）より肝臓においてインスリン抵抗性が認められた。さらに、下肢血流障害ラットでみられた肝臓グルコキナーゼ mRNA 量の低下が、高インスリン血症下での肝臓の糖産生抑制障害の一因と考えられた。

[総括]

慢性下肢血流障害は、末梢組織だけではなく肝臓でのインスリン抵抗性を惹起し、耐糖能障害を来たすことが示された。

論文審査の結果の要旨

閉塞性動脈硬化症 (ASO) は糖尿病患者において健常人に比し合併率が高い重篤な血管合併症である。糖尿病に ASO を合併した際、インスリン抵抗性が悪化することが報告されているが、その詳細なメカニズムについてはいまだ明らかにされていない。閉塞性動脈硬化症合併糖尿病患者の血糖管理を行う上でこのインスリン抵抗性のメカニズムを解析する必要がある。申請者は、慢性下肢血流障害が糖代謝動態とインスリン作用に及ぼす影響及びその臓器特性とメカニズムを解明すべく、右大腿動脈を結紮した下肢血流障害モデルラットを用いて解析を試みた。下肢血流障害モデルラットは、体重と空腹時血糖値に有意差を認めなかつたが、平均空腹時インスリン値は有意に高値を示しインスリン抵抗性が示唆された。さらに、腹腔内ブドウ糖負荷試験でも下肢血流障害モデルラットは耐糖能障害が認められた。インスリン抵抗性の臓器特性を詳細に評価するため行った正常血糖高インスリンクランプでは、全身のインスリン感受性を示すブドウ糖注入速度は下肢血流障害モデルラットでは有意に低値を示しインスリン抵抗性が認められた。この時、末梢組織の糖利用率は両群に有意差を認めなかつた半面、下肢血流障害モデルラットでインスリンによる内因性糖産生の抑制率が低下していることから、内因性糖産生臓器である肝臓でのインスリン抵抗性が考えられた。肝臓においてインスリン作用障害が示されたことから、肝臓における糖代謝の重要な酵素について解析を行ったところ、グルコキナーゼ mRNA 発現量の低下を認め、これが高インスリン血症下での肝臓の糖産生抑制障害の一因であることが示された。以上、本研究は、慢性下肢血流障害が肝臓でのインスリン抵抗性を惹起し、耐糖能障害を来たすことを新規に示し、閉塞性動脈硬化症合併糖尿病患者の血糖コントロールを行ううえでの治療選択に新しい可能性を見出した。以上より、本論文は学位の授与に値すると考えられる。