

ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおける低血糖予防のための炭水化物摂取について

石原 領子¹⁾, 瀧澤 理恵¹⁾, 三浦 俊宏¹⁾, 宇佐美 勝²⁾

¹⁾ 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 医療栄養学科

²⁾ 池田病院

要 旨

糖尿病患者では、合併症の発症や進展を阻止するために厳格な血糖のコントロールが求められるが、インスリン治療では、同時に低血糖に陥る場合もある。そこで、その低血糖の予防や改善にどのような炭水化物が有効であるか検討した。

Wistar ラットにストレプトゾトシン (60mg/kg/bw) を投与し、糖尿病 (STZ) ラットを作製した。ヒトインスリン (6.0U/kg/bw) を皮下注射し、血糖が 50mg/dl 未満の低血糖を確認後、グルコース、スクロース、アミロース、デンプン (2g/kg/bw) または、生理食塩水を経口投与した。STZ ラットでの炭水化物投与後の血糖の変化は、グルコース、スクロース、アミロースの投与が、15 分後に有意の血糖上昇を示した。また、グルコース、スクロースは、30 分後でも、他の炭水化物より血糖は高値であった。さらに、グルコースを投与した場合には、投与後 60、120 分でも血糖は高値を示した。スクロース、アミロース、デンプンの投与後の血糖は、投与 120 分後に低値を示した。その後、アミロース、デンプンは、血糖値の上昇傾向を認めたが、生理食塩水との比較では差を認めなかった。

単糖類のグルコースは、低血糖時の応急処置として最適である。そして、二糖類のスクロースや、多糖類のアミロースは、低血糖の予防に適していることが考えられる。目的に応じた炭水化物の選択が必要であることが示唆された。

緒言

糖尿病治療では、網膜症、腎症、神経障害、動脈硬化などの糖尿病合併症の発症、進展を阻止するために厳格な血糖コントロールが求められる。そして、糖尿病患者は、基本的な食事、運動療法に加え、薬物療法が適用されることも少なくない。なかでも、インスリン治療は、最も確実な血糖降下作用が期待できる。1型糖尿病患者では、インスリンを分泌する膵β細胞の破壊消失により、絶対的にインスリン分泌が不足する。そして、2型糖尿病患者においても、インスリンの相対的な不足により、インスリン治療が必要な症例がある。ところが現在のインスリン療法では、正常者の分泌パターンを完全に再現して血糖の正常化を得ることは非常に困難であり、血糖の変動は、不規則な生活、睡眠時間、また、食事や運動量、ストレスなどの生活変化により、大きな影響を受けるので、インスリン治療の糖尿病患者には、血糖の自己管理が必要となり、低血糖時の処置法や低血糖の予防については、十分な知識と対処法の習熟が必要になる。特に、インスリンの作用が強く現れた場合には、低血糖の危険性に曝される¹⁾²⁾。低血糖は、日中および夜間でも起こり、特に夜間の就寝時には、本人も家族も気づき難いため、死に至ることもあり、その応急処置として炭水化物の経口摂取が必要となる。しかし、その炭水化物の摂取により逆に高血糖に陥り、良好であった血糖コントロールが崩れてしまうことがある。しかしながら、糖尿病患者を低血糖に曝して、その改善のためにどのような炭水化物が有効であるか検討することは、非常に危険で困難である。そこで、糖尿病モデル動物を作製し、糖尿病患者が低血糖に陥った場合、その予防や改善にどのような炭水化物が有効であるか検討した。

材料及び方法

1. 動物

7週齢の雄のWistarラットを日本クレアより購入した。糖尿病モデル動物は、Wistarラットにストレ

プトゾトシン (60mg/kg/bw) (Sigma) を腹腔内投与し、ストレプトゾトシン誘発糖尿病 (STZ) ラットを作成した。対照群には、Wistarラットにクエン酸緩衝液 (和光純薬工業) の希釈液を投与したものをを用いた。そして、STZラットを作製1週間後、飽食状態での血糖が200mg/dl以上のラットを実験に使用した。動物には、固形飼料CE-2 (日本クレア) を自由摂取、及び自由摂水させた。また、室温 (23 ± 2°C)、湿度 (55 ± 5%)、明暗サイクル (08:00 ~ 20:00) が維持された飼育室にて飼育した。

2. 頸静脈内カテーテル装着法

動物は、ペントバルビタール (60mg/kg/bw) (大日本製薬) 麻酔下にて右頸部を切開し、右頸静脈を表出させカテーテルを右心房まで入れて固定した。そして、背部に切開を入れてカテーテルを取り出し固定後、背部、頸部の順に切開部を縫合した。カテーテル内には、ヘパリン (持田製薬株式会社) とポリビニルピロリドン (和光純薬工業) の混合液を充満させた。採血は、背部のカテーテルに注射器をつけて行い、血糖はグルテストセンサー (三和科学研究所) で測定した。

3. 低血糖時の炭水化物の投与試験

中間型インスリン製剤のヒューマカートN注 (日本イーライリリー) を用いて、対照群には2.0U/kg/bw、STZラットには6.0U/kg/bwのインスリンを首頸部に皮下注射し低血糖 (50mg/dl未満) 状態にした。尚、対照とSTZラットに注射したインスリン量は、低血糖状態になる最小量を事前に検討して用いた。そして、低血糖を確認した後に、グルコース、スクロース、アミロース、デンプン (2g/kg/bw) (和光純薬工業)、又は生理食塩水を経口投与した。採血は、自由摂食時とインスリン注射後、低血糖になるまでと、低血糖後の各種炭水化物の投与15、30、60、120、180分後に行い、血糖の変動を測定した。インスリン注射後は食餌を与えず、水は自由に与えた。また、炭水化物の投与実験では、対照、STZラットともに、前回の実験で注射したインスリンの影響を受けないように、

2回目以降の投与実験は、5日間以上間隔を空けて行なった。

4. 統計処理

結果は、平均±標準誤差で表し、有意差の検定は、分散分析-t検定(ANOVA)(StatView, SAS Institute Inc.)にて $p < 0.05$ 以下を有意とした。

結果

1. 体重、血糖値の変化

STZラット(匹数=7)の体重は $223 \pm 7g$ 、飽食時の血糖は $365 \pm 13mg/dl$ を示した。対照群(匹数=8)の体重は $290 \pm 8g$ 、血糖は $110 \pm 1mg/dl$ であり、STZラットは有意($p < 0.001$)に体重の低下、血糖値の上昇を認めた。

2. インスリン注射後の血糖の変化 (Fig. 1-a, 1-b)

対照群のインスリン注射前の血糖は $110 \pm 1mg/dl$ であったが、 $2.0U/kg/bw$ のインスリン注射後、30分では $65 \pm 2mg/dl$ 、60分では $55 \pm 2mg/dl$ 、そして、120分では $47 \pm 1mg/dl$ と低血糖の状態を示した ($p < 0.001$)。

STZラットのインスリン注射前の血糖は $358 \pm 13mg/dl$ と高値を示した。そして、 $6.0U/kg/bw$ のインスリン注射後、60分で $85 \pm 11mg/dl$ と著しく ($p < 0.001$) 血糖が低下し、120分にも $46 \pm 2mg/dl$ を示した ($p < 0.001$)。STZラットは、さらに180分では、 $45 \pm 6mg/dl$ を示した ($p < 0.001$)。また、対照、STZラットともに、インスリン注射前までは活発に動いていたが、低血糖の状態になるにつれ徐々に活動量が減り、ゲージの隅でうずくまっている状態であった。

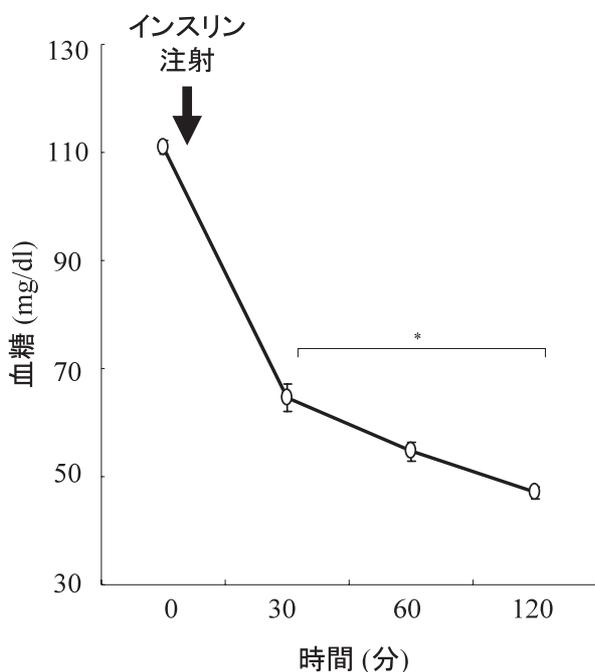


Fig. 1-a. 対照ラットでのインスリン注射後の血糖の変化
 $2.0U/kg/bw$ のインスリン注射後、対照群のラット(匹数=25)の血糖は、徐々に低下していった。そして、120分には低血糖を示した。

* $p < 0.001$ vs インスリン注射前の血糖(0分)

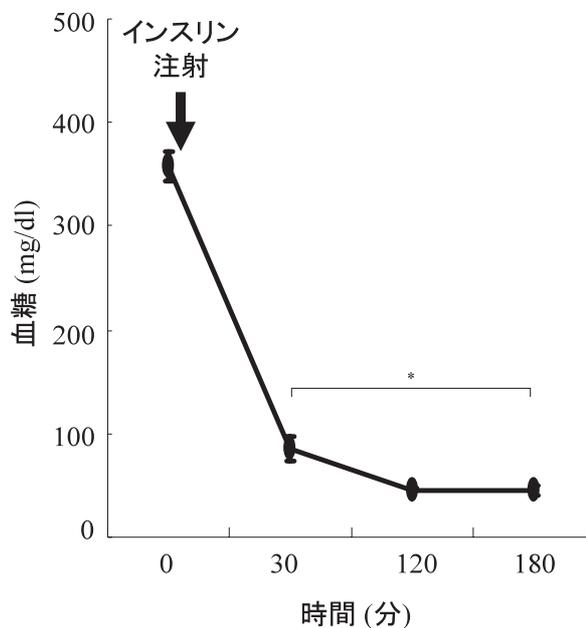


Fig. 1-b. STZラットでのインスリン注射後の血糖の変化
 $6.0U/kg/bw$ のインスリン注射後、STZラット(匹数=25)の血糖は、急激に低下していった。そして、120分には低血糖を示した。

* $p < 0.001$ vs インスリン注射前の血糖(0分)

3. 低血糖時の炭水化物の投与試験での血糖の変化 (Fig. 2-a, 2-b)

自由摂取状態の血糖値からインスリン注射後、低血糖を確認した後に各種炭水化物の投与試験を行った。対照群の血糖は、 $47 \pm 1\text{mg/dl}$ を示した。投与15分後、グルコース ($101 \pm 11\text{mg/dl}$)、スクロース ($93 \pm 5\text{mg/dl}$)、アミロース ($57 \pm 5\text{mg/dl}$)、デンプン ($73 \pm 14\text{mg/dl}$) は、生理食塩水 ($44 \pm 1\text{mg/dl}$) より有意 ($p < 0.05, 0.01, 0.001$) に血糖の上昇を示した。投与30分後では、グルコース ($92 \pm 9\text{mg/dl}$) とスクロース ($67 \pm 7\text{mg/dl}$) 投与の血糖は、アミロース ($53 \pm 4\text{mg/dl}$) やデンプン ($52 \pm 8\text{mg/dl}$) よりも高値であっ

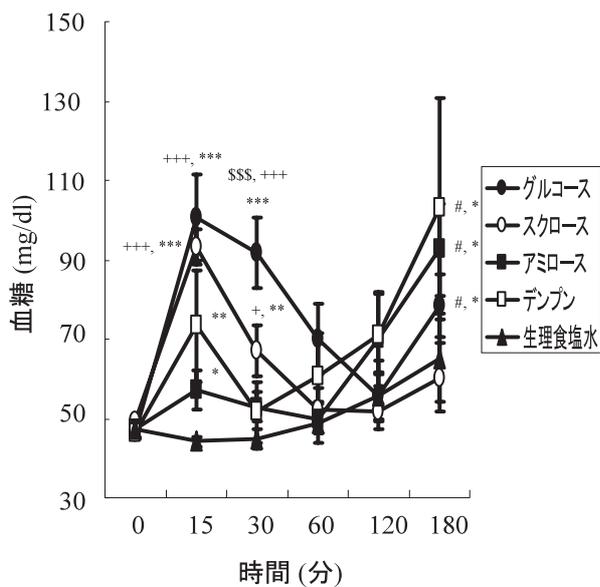


Fig. 2-a. 対照ラットでの低血糖時の炭水化物の投与試験での血糖の変化

グルコース (匹数=5)、スクロース (匹数=5)、アミロース (匹数=5)、デンプン (匹数=5) は、投与15分後、生理食塩水 (匹数=5) の投与より血糖の上昇を示した。投与30分後では、グルコースとスクロースは、他の炭水化物よりも高値であった。投与後120分には、グルコースとスクロースともに低値を示した。デンプンは30分後に、アミロースは60分後に、それぞれ低値を示したが、その後、血糖の上昇を示した。

$p < 0.05$ vs スクロース, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs アミロース, ^{sss} $p < 0.001$ vs デンプン, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs 生理食塩水

た ($p < 0.05, 0.001$)。グルコース ($70 \pm 9\text{mg/dl}$) を投与したときの血糖は、投与後60分でも他の炭水化物より高値を示したが有意な差は認めなかった。投与後120分には、グルコース ($56 \pm 9\text{mg/dl}$) とスクロース ($52 \pm 2\text{mg/dl}$) ともに血糖は低値を示し、その後、血糖値の上昇を認めたが、他の炭水化物や生理食塩水との差はなかった。デンプン投与の血糖は、投与30分後 ($52 \pm 8\text{mg/dl}$) に低値を示したが、その後、急激な血糖の上昇を示した ($p < 0.05$)。アミロース投与の血糖は、投与60分後 ($50 \pm 4\text{mg/dl}$) に低値を示し、その後、血糖の上昇を認めた ($p < 0.05$)。

STZラットの投与前の血糖値は、 $46 \pm 2\text{mg/dl}$ を示した。投与15分後、グルコース ($299 \pm 37\text{mg/dl}$)、

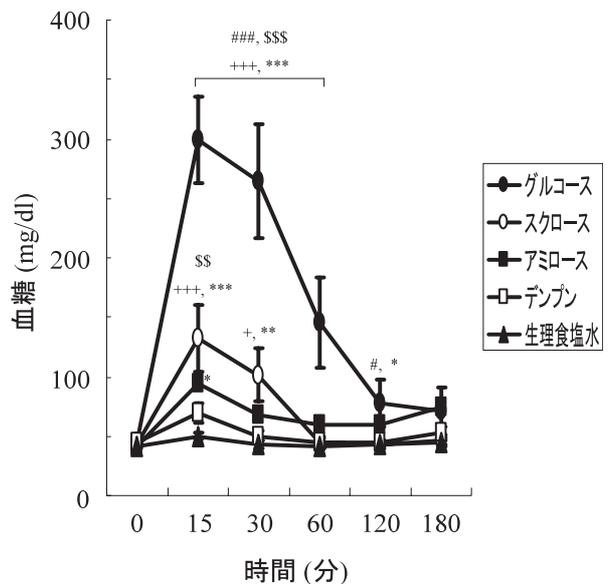


Fig. 2-b. STZラットでの低血糖時の炭水化物の投与試験での血糖の変化

グルコース (匹数=5)、スクロース (匹数=5)、アミロース (匹数=5) は、投与15分後、デンプン (匹数=5) や生理食塩水 (匹数=5) より有意に血糖の上昇を示した。グルコースとスクロースは、30分後には他の炭水化物より高値であった。グルコースを投与したときの血糖は、投与後60分以降でも高値を示した。スクロース、アミロース、デンプンの血糖は、投与120分後に低値を示した。アミロースとデンプンは、180分後には血糖の上昇傾向を認めた。
$p < 0.05$, ### $p < 0.001$ vs スクロース, * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ vs アミロース, ^{ss} $p < 0.01$, ^{sss} $p < 0.001$ vs デンプン, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs 生理食塩水

スクロース (132 ± 28mg/dl), アミロース (94 ± 14mg/dl) は, 生理食塩水 (50 ± 3mg/dl) より有意 (p < 0.05, 0.01, 0.001) に血糖の上昇を示した。また, 投与 30 分後では, グルコース (264 ± 48mg/dl) とスクロース (102 ± 22mg/dl) 投与の血糖は, 他の炭水化物や生理食塩水より高値であった (p < 0.05, 0.01, 0.001)。さらに, グルコースを投与したときの血糖は, 投与後 60 分 (146 ± 38mg/dl) でも他の炭水化物より高値を示した (p < 0.001)。そして, グルコースは, 120 分 (78 ± 20mg/dl) でも血糖の高値を示した (p < 0.05)。スクロース (43 ± 2mg/dl), アミロース (59 ± 9mg/dl), そして, デンプン (45 ± 2mg/dl) 投与後の血糖は, 投与 120 分後に低値を示した。そして, 180 分後では, アミロース (74 ± 9mg/dl) とデンプン (52 ± 5mg/dl) は, 血糖値の上昇傾向を認めたが, 生理食塩水との比較では差を認めなかった。

4. 炭水化物投与後の血糖増加量 (Fig. 3-a, 3-b)

低血糖時の状態から各種炭水化物投与後の 180 分間の血糖増加量は, 対照群では, グルコースが 165 ± 28mg/dl, スクロースが 88 ± 21mg/dl, アミロースが 87 ± 23mg/dl, デンプンは 86 ± 45mg/dl, 生理食塩水は 23 ± 24mg/dl であった。グルコースを投与したときの血糖増加量は, スクロース, アミロース, そして, 生理食塩水と比較して有意 (p < 0.05, 0.001) に多かった。また, スクロースとアミロースを投与したときの血糖増加量は, 生理食塩水よりも明らか (p < 0.05) に多かった。

STZ ラットは, グルコースが 633 ± 129mg/dl, スクロースが 153 ± 45mg/dl, アミロースが 144 ± 52mg/dl, デンプンは 38 ± 15mg/dl, 生理食塩水は 9 ± 3mg/dl であった。グルコースを投与したときの増加量が最も多く, 他の炭水化物に比して有意 (p < 0.001) に増加した。次に, スクロース, アミロースの

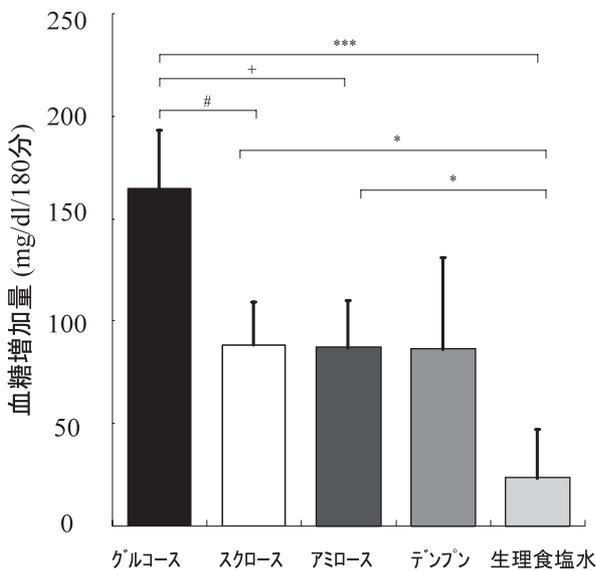


Fig. 3-a. 対照ラットでの炭水化物投与後の血糖増加量
グルコース (匹数 = 5) を投与したときの血糖増加量が最も多かった。スクロース (匹数 = 5) とアミロース (匹数 = 5) を投与したときの血糖増加量は, 生理食塩水 (匹数 = 5) よりも多かった。
#p < 0.05 vs スクロース, *p < 0.05 vs アミロース, *p < 0.05, ***p < 0.001 vs 生理食塩水

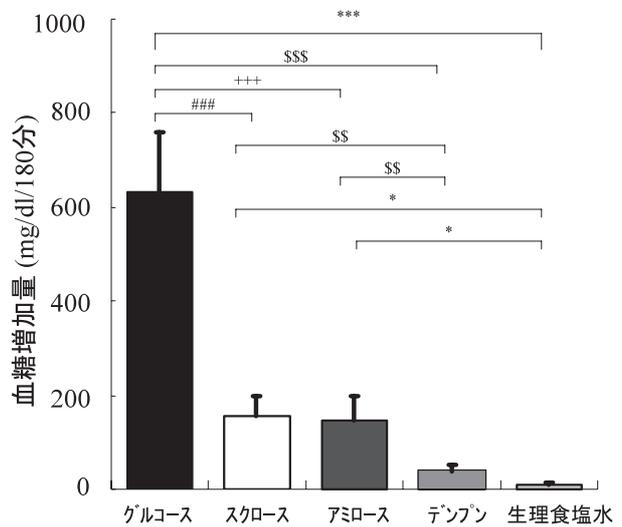


Fig. 3-b. STZ ラットでの炭水化物投与後の血糖増加量
グルコース (匹数 = 5) を投与したときの増加量が最も多かった。次に, スクロース (匹数 = 5), アミロース (匹数 = 5) の負荷による増加量が多かった。
###p < 0.001 vs スクロース, +++p < 0.001 vs アミロース, **p < 0.01, ***p < 0.001 vs デンプン, *p < 0.05, ***p < 0.001 vs 生理食塩水

負荷による増加量が多く、デンプンと生理食塩水に対して明らか ($p < 0.01, 0.001$) に増加した。

考察

糖尿病患者のインスリン治療では、厳格な血糖のコントロールをめざせばめざすほど低血糖に陥る危険が増す。時には、重症低血糖となり昏睡に至ることもあり¹⁾²⁾ 糖尿病患者がインスリン治療を嫌う理由の1つとなっている。したがって、インスリン治療中に、低血糖の対処方法や予防法について、適切な情報を与えることが求められる。そこで、低血糖の予防や改善にどのような炭水化物が有効であるか検討した。

今回、作成したSTZラットは、ストレプトゾトシンが膵β細胞を選択的に破壊して作成した1型糖尿病のモデルラットであることがRakietinら³⁾により報告されている。対照群は、インスリン投与後120分まで、そして、STZラットは、インスリン投与後180分まで、低血糖の状態が続いた。また、中間型インスリンを使用したにもかかわらず、両群のラットの血糖は急激に低下した。対照のラットでは、正常に分泌している内因性インスリンに加え、インスリン注射によってインスリン量が増えたためと考えられる。STZラットでは、内因性のインスリン分泌が低下しているため、インスリン注射により抹消のインスリンレセプターは増加し、血糖が急激に低下したと考えられる。

炭水化物投与試験より対照では、単糖類のグルコース、二糖類のスクロースは、投与後急速に血糖は上昇したが、デンプンやアミロースは、投与30分、60分後から血糖の上昇を認めた。一方、STZラットでは、単糖類のグルコース、二糖類のスクロース、多糖類のアミロースは、投与後急速に血糖は上昇し、グルコース、スクロースは、投与30分後に最も高値を示した。さらに、グルコースを負荷したときの血糖は、投与120分後でも高値を示した。本来、正常な状態では、低血糖に対する拮抗ホルモンが分泌され、それ以降は高血糖をきたす⁴⁾。また、低血糖になるとインスリン拮抗ホルモン(カテコールアミン、グルカゴン、成長ホルモン、コルチゾルなど)が増加し、脂肪分解が亢進す

る。肝臓では糖新生が亢進し、血糖を上げようとする。しかし、糖尿病での低血糖の状態では、血糖のcounterregulatory hormone(特にカテコールアミン)の反応の低下、さらに交感神経系のsensitivityの低下の両者が関係している⁵⁾。そして、インスリン拮抗ホルモンの低血糖に対する分泌反応が遅れ、分泌量も少ない⁶⁾⁷⁾。特に、糖尿病の肝臓では、グリコーゲン量の減少⁸⁾や、グリコーゲンの顆粒が小さいこと⁹⁾など、インスリン不足によりグリコーゲンが枯渇していることが明らかとなっている。そのため、インスリン注射により肝臓内でのグリコーゲン合成が著しくなり、血糖の上昇が認めなかったと考えられる。

グルコースを投与した場合は、単糖類のため小腸での消化吸収が速やかに行なわれる¹⁰⁾¹¹⁾ため、急速に血糖の上昇と高血糖のピークを示したと考えられる。また、二糖類のスクロースは、グルコースとフルクトースが α -1, 2- β -グリコシド結合をしたものである。そのため、グルコース負荷より遅れて血糖の上昇とピークを認めたことが推測される。しかし、STZラットでは、投与したスクロース、多糖類のアミロースの炭水化物は、グルコースの投与の場合と同じく、投与15分後で血糖の頂値を認めた。高血糖を示すSTZラットでは、急激に低血糖に陥ったため、炭水化物の構造の違いや吸収速度の差が認め難く、投与15分後で血糖のピークが確認されたと推測される。アミロースやデンプンなどの糖質は、単糖類や二糖類より消化吸収の速度が遅い¹²⁾¹³⁾ので、アミロース、デンプンの負荷後の血糖は、負荷120分後に低値を示し、その後、アミロース、デンプンは、血糖値の上昇傾向を認めたと考えられる。川崎ら¹⁴⁾は、1型の糖尿病患者に夜間から早朝に低血糖を頻発したため、コーンスターチを就寝前に捕食したところ、低血糖が消失したことを報告している。

したがって、単糖類のグルコースは、インスリン治療による急速な低血糖時の応急処置として最適であり、二糖類のスクロースや、多糖類のアミロースは、就寝前の摂取によっては夜間時の低血糖の予防や、運動時前の摂取により運動中や後の低血糖の回避に有効

であると考えられる。よって、目的に応じた炭水化物の選択が必要であることが示唆された。

文献

- 1) Bell SJ, Forse RA: Nutritional management of hypoglycemia. *Diabetes Educ* **25**(1), 41-47, 1999.
- 2) Watkins PJ: ABC of diabetes. Hypoglycaemia. *Br Med J (Clin Res Ed)* **285**(6337), 278-279, 1982.
- 3) Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni MV: Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother Rep* **29**, 91-98, 1963.
- 4) Somogyi M: Diabetogenic effect of hyperinsulinism. *Am J Med* **26**(2), 192-198, 1959.
- 5) Fritsche A, Stumvoll M, Grub M, et al.: Effect of hypoglycemia on beta-adrenergic sensitivity in normal and type 1 diabetic subjects. *Diabetes Care* **21**(9), 1505-1510, 1998.
- 6) No authors listed: Hypoglycemia in the diabetes control and complications trial. The diabetes control and complications trial research group. *Diabetes* **46**(2), 271-286, 1997.
- 7) Amiel, SA, Sherwin RS, Simonson DC, et al.: Effect of intensive insulin therapy on glycemic thresholds for counterregulatory hormone release. *Diabetes* **37**(7), 901-907, 1988.
- 8) Thorburn A, Andrikopolos S, Proietto J: Defects on liver and muscle glycogen metabolism in neonatal and adult new Zealand obese mice. *Metabolism* **44**(10), 1298-1302, 1995.
- 9) Van de WG, Sestoft L, Folke M, et al.: The onset of liver glycogen synthesis in fasted-refed rats. Effects of streptozocin diabetes and of peripheral insulin replacement. *Diabetes* **33**(10), 944-949, 1984.
- 10) Wolever TM, Miller JB: Sugars and blood glucose control. *Am J Clin Nutr* **62**(1), 212-221, 1995.
- 11) Csaky TZ, Fischer E: Intestinal sugar transport in experimental diabetes. *Diabetes* **30**(7), 568-574, 1981.
- 12) Jenkins DJ, Kendall CW, Axelsen M, et al.: Viscous and nonviscous fibers, nonabsorbable and low glycaemic index carbohydrates, blood lipids and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* **11**(1), 49-56, 2000.
- 13) Wursch P, Pi-Sunyer FX: The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes. A review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan. *Diabetes Care* **20**(11), 1774-1780, 1997.
- 14) 川崎陽子, 安部美科子, 江上由利子, 他: 未調理コーンスターチ捕食により難治性の夜間低血糖が改善した2症例. *糖尿病*, 第**41**巻5号, 406-412, 1998.

The intake of carbohydrates for the prevention of hypoglycemia in streptozotocin-induced diabetic rat

Eriko ISHIHARA¹⁾, Rie TAKIZAWA¹⁾, Toshihiro MIURA¹⁾,
Masaru USAMI²⁾

¹⁾Department of Clinical Nutrition, Faculty of Health Science, Suzuka University of Medical Science

²⁾Ikeda Hospital

Key Words: Hypoglycemia, Carbohydrate, Insulin, STZ rats, Monosaccharide, Disaccharide, Polysaccharide

Abstract

Diabetic patients require strict blood glucose control to prevent the development of complications. However, insulin-treated diabetic patients may be ensnared in hypoglycemia. In this study, we examined how carbohydrates have a beneficial effect on the prevention and improvement of hypoglycemia.

Diabetic (STZ) rats were obtained by injecting streptozotocin (60 mg/kg/bw) in normal Wistar rats. STZ rats were subcutaneously injected with intermediate-acting insulin. STZ rats developed hypoglycemia 120 min after the injection of insulin. After blood glucose concentrations showed less than 50 mg/dl of glucose, sucrose, amylose, or starch, as respective carbohydrates (2 g/kg/bw), and normal saline was orally administered to the control and STZ rats. After each carbohydrate load, blood glucose was raised 15 min after the administration of glucose, sucrose, and amylose. In the case of glucose and sucrose, blood glucose at 30 min was higher than with other carbohydrates. Following glucose loads, blood glucose remained at high levels at 60 and 120 min. On the other hand, blood glucose levels from sucrose, amylose and starch loads decreased at 120 min. The blood glucose of amylose and starch showed an upward tendency, however they were not different when compared with normal saline.

Glucose from monosaccharides is better suited to treat hypoglycemia as a stopgap measure. Sucrose from disaccharides and polysaccharide amylose are adequate for preventing hypoglycemia. These data suggest that a carbohydrate should be carefully chosen on its basis to prevent hypoglycemia when treating diabetes mellitus.