

## ラット小腸での炭水化物吸収に及ぼすインスリンの影響

石原領子<sup>1)</sup>，三浦俊宏<sup>1)</sup>，宇佐美勝<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 鈴鹿医療科学大学保健衛生学部医療栄養学科

<sup>2)</sup> 池田病院

### 要 旨

小腸からの炭水化物の吸収に及ぼすインスリンの影響について，小腸の灌流実験によりラットの小腸を用いて検討した。11週齢のWistarラットを24時間絶食後，小腸の灌流実験を行なった。上腸間膜動脈のグルコース濃度を60，300mg/dlと，それぞれにインスリン製剤100U $\mu$ /mlを加えた灌流液を設定後，消化管管腔内灌流液の3%グルコースを30分間灌流した。小腸より吸収されたグルコース量は，門脈より流出した増加量より算出した。

動脈側のグルコース濃度を60mg/dlから300mg/dlに増加させると，30分間に小腸から吸収されたグルコース量は有意に減少した。動脈側のグルコース濃度が60mg/dlの時インスリンを加えると，小腸から吸収されたグルコース量は明らかに減少した。一方，動脈側のグルコース濃度が300mg/dlでは，インスリンを加えると吸収量は有意に増加した。これらの結果により，小腸からの炭水化物の吸収は，インスリンの影響を受ける可能性が示唆された。

## 緒言

肝臓や腎臓は内因性のグルコースを放出している組織であり、糖新生やグリコーゲン分解に関与しているグルコース-6-フォスファターゼ (G-6-P) が発現している<sup>1),2),3)</sup>。Martineらは、ヒトやラットの小腸でもG-6-Pが発現し<sup>4)</sup>、さらに48時間絶食やインスリン不足により、小腸でのG-6-P酵素活性やG-6-P mRNA発現量が著しく増加する<sup>4),5)</sup>ことから、小腸組織にもインスリン感受性があることを報告している。近年、小腸での消化吸収については、炭水化物や脂質の吸収のために十二指腸や小腸上部からインスリン分泌促進ホルモンである胃抑制ペプチド (Gastric inhibitory polypeptide : GIP) などが放出され、グルコース誘発による膵β細胞からのインスリン分泌作用にとっても重要な働き<sup>6)</sup>をしていることが明らかとなり、基礎的研究が活発に行われている<sup>7)</sup>。このように、小腸は、栄養素の消化吸収と、その吸収された炭水化物によって膵β細胞からのインスリン分泌が増加し、上昇した血糖値が正常値に戻るといった臓器間のネットワークに密接に関連していることが考えられる。しかしながら、小腸からの吸収について、インスリンの影響を検討した報告は少ない。1日に摂取される栄養素の中では炭水化物が最も多く、小腸からの炭水化物の吸収は、体内のエネルギーや血糖調節に重要な役割をはたしている。そこで、小腸の灌流実験によって、ラットの小腸からの炭水化物の吸収に及ぼすインスリンの影響を検討した。

## 材料及び方法

### 1. 動物

7週齢で雄のWistarラットを日本クレアより購入し11週齢まで飼育した。動物には、固形飼料(日本クレア)を自由摂取、及び自由摂水させた。そして、室温(23±2℃)、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. 灌流液の調整

上腸間膜動脈側の灌流液は、Krebs-Ringer bicarbonate (KRB) 緩衝液に4%デキストランと0.5%ウシ血清アルブミンを加え、グルコース濃度を60, 300mg/dlに調節した。また、それぞれの灌流液に中間型インスリン製剤ヒューマカートN注(日本イーライリリー)を100μU/ml加えた。上腸間膜動脈側の灌流液は実験開始前に十分にガスを満たし37℃の恒温槽内に保持し、さらに実験開始から終了までガスを満たした。

消化管管腔内灌流液は、生理食塩水で3%グルコース溶液を作製した<sup>8)</sup>。

### 3. 小腸の灌流実験

11週齢のWisterラットを24時間絶食後、Levinら<sup>9)</sup>の方法を参考にして小腸の灌流実験を行った。ペントバルビタール麻酔(60mg/kg体重)下にて開腹し、胃動脈と小腸以外の腸に分布している血管を結紮した。上腸間膜動脈にカニューレを固定し、グルコース濃度を一定にした動脈灌流液を流量4.0ml/minで灌流を開始し、門脈と回腸下部にチューブを固定し37℃に設定した恒温槽内に維持した。その後、小腸の生理機能を安定させるために動脈灌流液を前灌流として20分間灌流し、5分毎に門脈から流出する灌流液の採取を行った。さらに、動脈灌流液は、小腸の吸収実験を開始した30分間も灌流し、前灌流開始から実験が終了する50分間、小腸の組織維持のために灌流を行った。20分間の前灌流が終了後、消化管管腔内灌流液の3%グルコース溶液は、流量1.0ml/minで、十二指腸から回腸下部の部位を30分間灌流した。そして、門脈へ流出する灌流液を2分おきに採取しグルコース濃度を測定した。前灌流開始5分、10分、15分、20分の門脈中グルコース濃度の平均値から、消化管管腔内に3%グルコースを灌流後の30分間に増加した門脈中のグルコース濃度の総和量を算出した。

小腸での栄養素の消化吸収は、消化管管腔内に食物が到達すると消化酵素により単糖類になり、そして、

小腸粘膜上皮組織細胞中より粘膜下組織に出て毛細血管に入り、門脈系を経て肝臓に運ばれる。今回、小腸を体内での生理状態に近い実験系<sup>9)</sup>を参考に、十二指腸から回腸下部の部位の間で、消化管腔内に3%グルコース溶液を注入し、そのグルコースが吸収されて門脈中に流出した灌流液中のグルコース濃度を測定した。そして、その門脈中のグルコース濃度の総和量を、小腸から吸収されたグルコース量とした。

#### 4. 灌流液のグルコース濃度の測定

灌流液中のグルコース濃度の測定は、グルコースC II-テストワコー（和光純薬工業）で測定した。

#### 5. 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)(Stat View, SAS Institute Inc.)にて $p < 0.05$ 以下を有意とした。

### 結果

#### 1. 門脈中のグルコース濃度の時間経過

動脈側のグルコース濃度が60mg/dlの時の門脈中のグルコース濃度は、消化管腔内へのグルコース注

入より著しく増加し、30分間の灌流実験において増加の経過をたどった。動脈側のグルコース60mg/dlにインスリン100 $\mu$ U/mlを加えると、グルコース注入後8分までは、グルコース濃度が60mg/dlの時間経過と同じであった。しかし、10分後からは、門脈中のグルコース濃度は増加を示したが、グルコース濃度60mg/dlと比べると有意に低値であった( $p < 0.05, 0.01, 0.001$ ) (図1)。

次に、動脈側のグルコース濃度を300mg/dlに増加させると、消化管腔内へのグルコース注入を開始後、緩やかな門脈中のグルコース濃度の増加を示したが、グルコース注入14分後でほぼ最大に達し、その後、門脈中のグルコース濃度には変化がなかった。動脈側のグルコース濃度300mg/dlにインスリン100 $\mu$ U/mlを加えた時の経過は、消化管腔内へのグルコース注入を開始後、急激に増加を示した。そして、8分後からは緩やかな時間経過を示した。動脈側のグルコース濃度が300mg/dlの場合、インスリンを加えると門脈中のグルコース濃度は明らかに高値を示した( $p < 0.05, 0.01, 0.001$ ) (図2)。

#### 2. 門脈中のグルコース濃度の総和量 (図3)

上腸間膜動脈側のグルコース濃度が60mg/dlの総

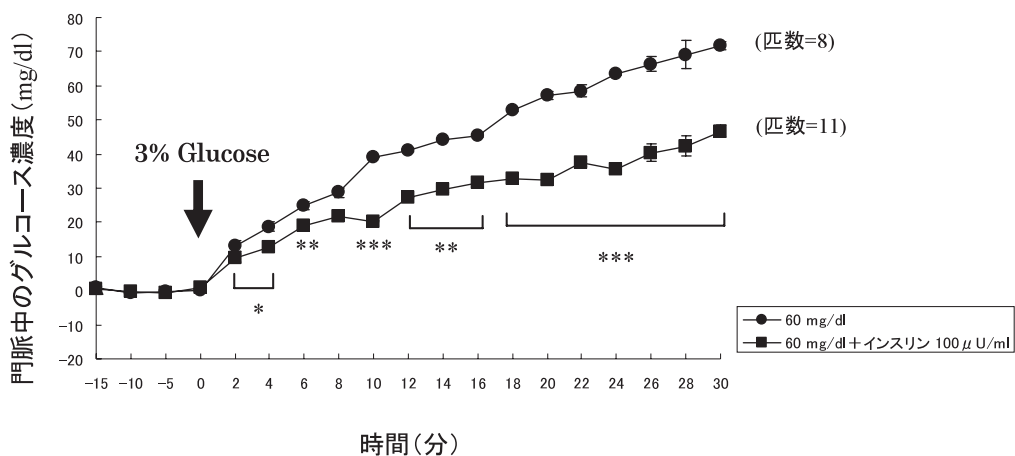


図1 動脈側のグルコース濃度が60 mg/dlの時の門脈中グルコース濃度の時間経過  
上腸間膜動脈のグルコース濃度が60mg/dlの時、門脈中のグルコース濃度の経過は、インスリン100 $\mu$ U/mlを追加すると明らかに減少した。  
\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  vs. 上腸間膜動脈側のグルコース濃度60mg/dl

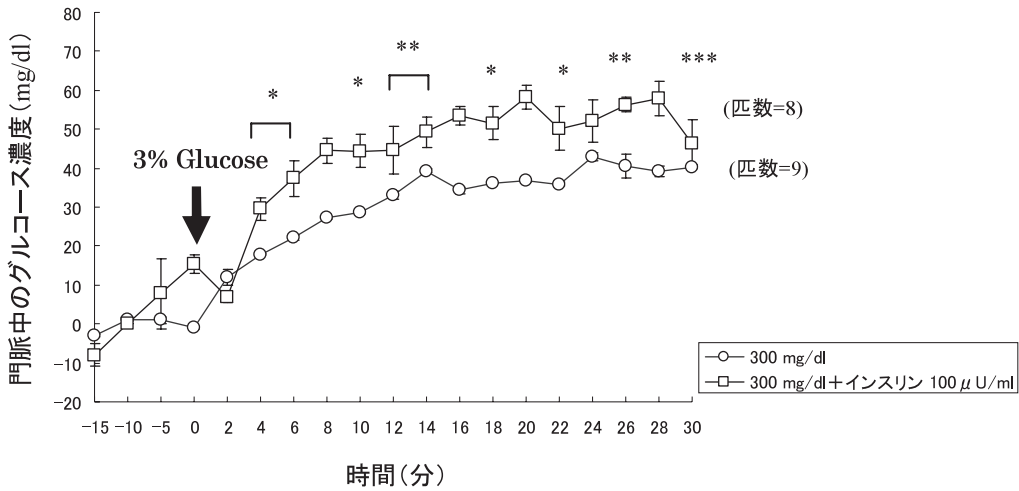


図2 動脈側のグルコース濃度が 300mg/dl の時の門脈中グルコース濃度の時間経過  
 上腸間膜動脈のグルコース濃度が 300mg/dl の時、門脈中グルコース濃度の経過は、インスリン 100 μU/ml を追加すると有意に増加した。

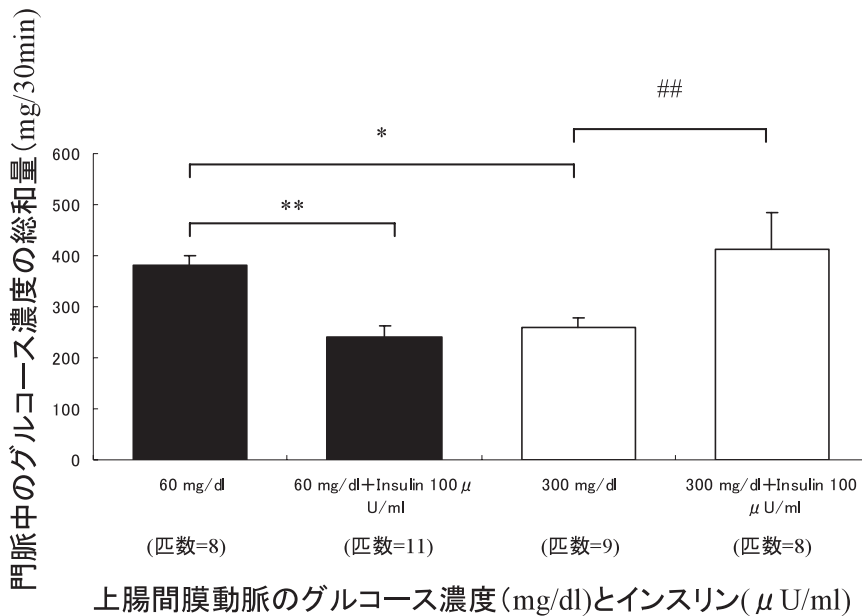


図3 門脈中のグルコース濃度の総和量  
 上腸間膜動脈のグルコース濃度が 60mg/dl の総和量は、インスリンを加えると有意に減少した。しかし、上腸間膜動脈側のグルコース濃度が 300mg/dl の総和量はインスリンを加えると明らかに増加した。そして、上腸間膜動脈のグルコース濃度が 60mg/dl から 300mg/dl に上昇すると、総和量は有意に減少した。  
 \* p < 0.05, \*\* p < 0.01 vs. 上腸間膜動脈側のグルコース濃度 60mg/dl  
 ## p < 0.01 vs. 上腸間膜動脈側のグルコース濃度 300mg/dl

和量は 380 ± 19mg/30min であり、インスリン 100 μU/ml を加えた総和量は 241 ± 20mg/30min であった。上腸間膜動脈のグルコース濃度が 60mg/dl

の時、インスリンを加えると総和量は明らか (p < 0.01) に減少した。

一方、上腸間膜動脈側のグルコース濃度が

300mg/dlの総和量は $260 \pm 19\text{mg}/30\text{min}$ であり、インスリン $100 \mu\text{U}/\text{ml}$ を加えると $411 \pm 74\text{mg}/30\text{min}$ であった。上腸管膜動脈のグルコース濃度が300mg/dlの時、インスリンを加えると総和量は有意 ( $p < 0.01$ ) に増加した。また、動脈側のグルコース濃度が60mg/dlから300mg/dlに上昇すると、総和量は著しく ( $p < 0.05$ ) 減少した。

## 考察

小腸は栄養素の中で最も多くの炭水化物を吸収し、体内のエネルギーや血糖調節に重要な役割をはたしている。また、小腸組織にはインスリン感受性があることが報告<sup>4),5)</sup> されているが、消化吸收などの生理機能とインスリン感受性については十分な基礎的研究は行なわれていない。本研究では、小腸の灌流実験によって、ラットの小腸からの炭水化物の吸収に及ぼすインスリンの影響を検討した。

正常のラットでは、上腸間膜動脈側のグルコース濃度が60mg/dlの時、小腸からの炭水化物の吸収は増加した。また、動脈側のグルコース濃度を300mg/dlに上昇させると、炭水化物の吸収は明らかに減少した。これはMokudaら<sup>10)</sup> や、以前行った実験<sup>11)</sup> の結果と同様であった。小腸において、炭水化物は消化酵素により分解され、上皮細胞に存在するナトリウムイオングルコース共輸送担体 (SGLT1) の能動輸送の働きにより、管腔側のグルコースが細胞内に取り込まれる。そして、基底膜に存在するグルコース輸送担体 (GLUT2) によって毛細管側に移行し、門脈を経由して肝臓に運ばれる<sup>12),13)</sup>。今回の研究より、上腸間膜動脈側のグルコース濃度が60mg/dlと低い状態では、炭水化物の吸収は増加したが、これは体内の血糖を正常な状態に維持するためではないかと考えられる。そして、炭水化物の吸収が増加して、動脈側のグルコース濃度が300mg/dlのように高血糖の状態になると、毛細血管内のグルコース濃度が上皮細胞内のグルコース濃度より高値になるため、促進拡散のGLUT2の働きにより濃度勾配がなくなりグルコース輸送は止まると考えられる。また、GLUT2は基質に対して親和性

が低い<sup>14)</sup> との報告があるため、上腸間膜動脈側のグルコース濃度が増加するにつれ、小腸からの炭水化物の吸収は減少したと推測される。

今回の結果では、上腸間膜動脈側のグルコース濃度が60mg/dlでは、インスリンを加えると炭水化物の吸収は有意に減少した。一方、動脈側のグルコース濃度が300mg/dlでは、インスリンにより炭水化物の吸収は明らかに増加した。小腸からの炭水化物の吸収に対するインスリンの作用は、動脈側のグルコース濃度が60mg/dlで小腸からの吸収が増加している時は吸収を抑制し、グルコース濃度が300mg/dlで吸収が減少している時は吸収を増加させることが示唆された。小腸からの炭水化物の吸収はGLUT2などの糖輸送担体によるため<sup>12),13)</sup>、インスリンは動脈側のグルコース濃度が60mg/dlの場合では糖輸送担体を減少させ、グルコース濃度が300mg/dlでは糖輸送担体を増加させると推測される。インスリンによる吸収の減少はGeorgeら<sup>15)</sup> の報告でも確認されており、ラットの小腸での炭水化物の代謝がインスリンによって短時間に調節され、炭水化物の吸収がインスリンの影響を受けていることが考えられる。また、インスリン受容体の作用は不明であるが、小腸上皮細胞にインスリン結合部があることも示唆されている<sup>16)</sup>。

小腸の灌流実験はLevinら<sup>9)</sup> の方法を参考にしたが、この灌流実験系では、小腸の消化管管腔から門脈までの組織を含んでいるため、門脈まで流出してくる組織間でグルコースが取り込まれている可能性も考えられる。そして、消化管管腔からの栄養素の補給は、上皮細胞の機能維持に必要で、エネルギー生産のかなりの部分は、動脈血の基底膜側から上皮内に取り込まれた基質に依存すると考えられている<sup>17)</sup>。また、動脈側のグルコース濃度が300mg/dlでは、高濃度のため消化管管腔から門脈までの組織で取り込まれる量が少なく、門脈に流出している可能性も推測される。このように、小腸の組織内でどの程度のグルコース量を取り込まれているかについては不明なため、radioactive glucoseを行った研究が今後必要と考えられる。最近のin vitroでの報告<sup>18)</sup> によれば、インスリンが小腸で



の糖輸送に直接影響することが示唆されていることから、小腸の組織間でグルコースが取り込まれている可能性も考えられるが、インスリンは小腸の GLUT2 や SGLT1 などの糖輸送担体に作用し小腸からのグルコース吸収の増減に関与していることが示唆される。しかし、このインスリンが糖輸送に影響する作用機序は明らかになっていないため、今後さらなる検討が必要と考えられる。

## 文献

- 1) Mittelman S, Bergman RN: Liver glucose production in health and disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* **5**, 126-135, 1999.
- 2) Adroque H: Glucose homeostasis and the kidney. *Kidney Int* **42**, 1266-1282, 1992.
- 3) Mithieux G: New knowledge regarding glucose-6 phosphatase gene and protein and their roles in the regulation of glucose metabolism. *Eur J Endocrinol* **136**, 137-145, 1997.
- 4) Martine C, Fabienne R, Carine Z, et al.: Rat small intestine is an insulin-sensitive gluconeogenic organ. *Diabetes* **50**, 740-746, 2001.
- 5) Leese HJ, Mansford RL.: The effect of insulin and insulin deficiency on the transport and metabolism of glucose by rat small intestine. *J. Physiol* **212**, 819-838, 1971.
- 6) Tsukiyama K, Yamada Y, Miyawaki K, et al.: Gastric inhibitory polypeptide is the major insulinotropic factor in KATP null mice. *European Journal of Endocrinology* **151**, 407-412, 2004.
- 7) Chaikomin R, Wu KL, Doran S, et al.: Concurrent duodenal manometric and impedance recording to evaluate the effects of hyoscine on motility and flow events, glucose absorption, and incretin release. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **292**, G1099-G1104, 2007.
- 8) Gomez-Zubeldia MA, Roper F, Sanchez-Casas P, et al.: The effect of acarbose on the intestine metabolism of glucose in vitro. *Acta Diabetol* **30**, 85-88, 1993.
- 9) Levin SR, Pehlevanian MZ, Lavee AE, et al.: Secretion of insulinotropic factor from isolated, rat intestine. *Am J Physiol* **236**, 710-720, 1979.
- 10) Mokuda O, Sakamoto Y, Ikeda T, et al.: Direct inhibitory effect of high glucose in mesenteric artery on glucose absorption from isolated perfused rats intestine. *Ann Nutr Metab* **33**, 330-332, 1989.
- 11) 石原領子, 宇佐美勝, 三浦俊宏, 他: GK ラットにおける小腸からのグルコース吸収について: 腸管灌流での検討. *糖尿病*, 第 44 巻, 191-196, 2001.
- 12) 宮本賢一, 南久則, 武田英二: 小腸上皮細胞におけるグルコース輸送担体. *生体の科学* 45 (杉靖三郎編), 医学書院, 東京, 38-41, 1994.
- 13) Hirayama BA, Wong HC, Smith CD, et al.: Intestinal and renal Na<sup>+</sup>/glucose cotransporters share common structures. *Am J Physiol* **261**, 296-304, 1991.
- 14) Thorens B.: Molecular and cellular physiology of GLUT-2, a high-Km facilitated diffusion glucose transporter. *Int Rev Cytol* **137**, 209-238, 1992.
- 15) George LK, Anita J, James PR, et al.: The acute regulation of glucose absorption, transport and metabolism in rat small intestine by insulin *in vivo*. *Biochem. J* **219**, 1027-1035, 1984.
- 16) Forgue-Lafitte ME, Marescot MR, Chamblier MC, et al.: Evidence for the presence of insulin binding sites in isolated rat intestinal epithelial cells. *Diabetologia* **19**, 373-378, 1980.
- 17) 清水誠, 薩秀夫, 小川暢祐: 腸管上皮細胞. *日本臨牀* 55, 日本臨牀社, 大阪, 225-229, 1997.
- 18) Zahedi Asl S, Alipour M.: The effects of insulin on glucose and fluid transport in the isolated small intestine of normal rats. *Life Sci* **81**, 26-30, 2007.

# The effects of insulin on carbohydrate absorption in the rat small intestine

Eriko ISHIHARA<sup>1)</sup>, Toshihiro MIURA<sup>1)</sup> and Masaru USAMI<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Clinical Nutrition, Faculty of Health Science, Suzuka University of Medical Science

<sup>2)</sup>Ikeda Hospital

**Key Words:** Small intestine, Glucose, Absorption, Insulin, Perfusion, Rat

---

## Abstract

In this study, we examined the effects of insulin on carbohydrate absorption in the normal rat small intestine. Eleven week-old Wistar rats were fasted for 24 hr and then sacrificed. The small intestine was isolated and perfused *in vitro*. The superior mesenteric artery was then perfused with Krebs-Ringer buffer containing 60 or 300 mg/dl glucose. Each perfusion solution containing glucose supplemented with insulin at 100  $\mu$ U/ml. The luminal perfusion was started with a 3% glucose solution at 20 min following vascular perfusion for 30 min. After the pre-perfusion for 20 min, the luminal perfusion was started with a 3% glucose solution infused into the lumen from the duodenum for 30 min. The total glucose solution was calculated from the glucose concentration in the perfusate flowing out of the portal vein. The increased amount of glucose from the pre-perfusion was also calculated.

Glucose absorption was significantly decreased in normal rats, when the glucose concentration in the arterial perfusate was increased to 60 and 300 mg/dl. In the case of the addition of insulin, the increase in carbohydrate absorption after the glucose infusion into the lumen was significantly decreased when the perfusate glucose concentration in the arterial perfusate was 60 mg/dl. On the other hand, upon the addition of insulin, the carbohydrate absorption was significantly increased when the perfusate glucose concentration in the arterial perfusate was 300 mg/dl. These results suggest that carbohydrate absorption may be affected by insulin.