

# チアゾリジン誘導体と身体トレーニングの併用が 高フルクトース食誘発インスリン抵抗性ラットに及ぼす影響

## Influences of the Combination of Troglitazone and Voluntary Running on Insulin Resistance Induced by High-fructose Diet in Rats

北 越 香 織, 押 田 芳 治\*, 佐 藤 祐 造\*  
Kaori KITAKOSHI, Yoshiharu OSHIDA, Yuzo SATO

インスリン抵抗性改善薬であるチアゾリジン誘導体の一つ、トログリタゾンと身体トレーニングの併用効果を検討するために、ラットにインスリンクランプ法を実施した。Wistar系雌性ラットを以下の5群にわけ、3週間飼育した。すなわち(1)普通食(C), (2)高フルクトース食(FRU), (3)高フルクトース食+トログリタゾン(TG), (4)高フルクトース食+身体トレーニング(TR), (5)高フルクトース食+トログリタゾン+身体トレーニング(TG-TR)である。一晚絶食後、これらのラットにインスリン注入率3.0及び30.0 mU/kg BW/minの2段階euglycemic clamp法を実施した。血中グルコース濃度は頸静脈からの持続的なグルコース注入によって空腹時レベルに維持された。注入後60~90分, 150~180分のグルコース注入率(GIR)をインスリン作用の指標とした。クランプ終了後、骨格筋および肝臓中のグリコーゲン量を測定した。その結果、トログリタゾン投与はインスリン抵抗性を改善したが、C群と同レベルにまでは至らなかった。高フルクトース食摂取により減少したGIRは身体トレーニングによって改善され、正常レベルに達した。TG-TR群のGIRはTG群およびTR群よりも有意に高値であり、TR群はC群よりもさらに高値を示した。これらの結果は、トログリタゾンと身体トレーニングの併用が高フルクトース食誘発インスリン抵抗性を相対的に改善することを示唆している。

キーワード：チアゾリジン誘導体, euglycemic clamp法, グリコーゲン  
thiazolidinediones, euglycemic clamp, glycogen

### はじめに

肥満によるインスリン作用の低下(インスリン抵抗性)は2型糖尿病, 高血圧, 高脂血症といった生活習慣病を惹起することはよく知られている<sup>1)</sup>。したがって、インスリン抵抗性の発症, 進展メカニズムの解明はこれら生活習慣病の一次予防, 二次予防を行う上で極めて重要と考える。

一方、インスリン作用を刺激するチアゾリジン誘導

体の一つ、トログリタゾンはヒトおよび実験動物においてインスリン感受性を改善することが知られている。トログリタゾンはインスリン分泌を刺激することなく耐糖能を改善し<sup>2)</sup>、血糖値, 中性脂肪およびインスリン値を変化させる。しかし正常もしくはインスリン欠乏状態の動物では、チアゾリジン誘導体はインスリン抵抗性に対してほとんど効果をもたらさない<sup>3)</sup>。また、トログリタゾンはPPAR $\gamma$ と高い親和性があり、

インスリン抵抗性改善に関係していることが報告されている<sup>4)</sup>。しかし、その詳細な機構は明らかにされていない。

また身体トレーニングはインスリン感受性を増加させ、高血圧、高脂血症、脂肪の蓄積のような心疾患の危険因子を減少させることは広く知られている。身体トレーニングは筋肉の血流<sup>5)</sup>、筋肉量<sup>6)</sup>およびGLUT4蛋白質量<sup>7)</sup>を増大させる。よってトログリタゾンと身体トレーニングの併用はトログリタゾンもしくは身体トレーニング単独よりもさらに効果的にインスリン抵抗性を改善する可能性がある。

以前我々はトログリタゾンと身体トレーニングの併用が高脂肪食誘発インスリン抵抗性ラットに及ぼす影響について検討した。しかし高脂肪食を食べたラットには併用効果は認められなかった<sup>8)</sup>。そこで本研究では、トログリタゾンと身体トレーニングの併用が高フルクトース食誘発インスリン抵抗性ラットに及ぼす影響について2段階 euglycemic clamp 法を用いて検討した。

## 対象および方法

対象は6週齢のWistar系雌性ラットであり、1週間の予備飼育後、以下の5群に分けた。すなわち、1) 高フルクトース食(フルクトース60%含有; FRU)群、2) 高フルクトース食+トログリタゾン(TG)群、3) 高フルクトース食+身体トレーニング(TR)群、4) 高フルクトース食+トログリタゾン+身体トレーニング(TG-TR)群、5) 普通食(C)群である。トログリタゾンは食餌に0.2%混入して与えた。身体トレーニングを実施した群(TRおよびTG-TR群)は実験期間中回転ケージ内で飼育し、自発運動を行わせた。ラットは室温21~23°C、12時間の明暗サイクル環境下で、

各食餌および水を自由摂取させた。3週間後、16時間絶食させたラットをsodium pentobarbitalで麻酔し、右頸静脈および左頸動脈にカテーテルを挿入した。右頸静脈に挿入したカテーテルはインスリンおよび20%グルコース溶液注入用であり、左頸動脈のカテーテルは血糖値および血漿インスリン濃度測定用に用いた。インスリン注入率3.0(L-clamp)および30.0(H-clamp) mU/kg BW/minの2段階 euglycemic clamp 法を、それぞれ90分間行った。

左頸動脈より10分ごとに採血して血糖値を測定し、空腹時レベルに維持されるようにグルコース溶液の注入速度を調節した。血糖値が安定した各clampの後半30分間のグルコース注入率(glucose infusion rate; GIR)を算出し、インスリン作用の指標とした。

血漿インスリン濃度はclamp前、L-clampおよびH-clamp終了後の計3回行い、RIA法にて測定した。またclamp終了後骨格筋および肝臓を採取し、グリコーゲン量を測定した。

データは平均値±標準誤差で示し、統計処理はone-way analysis of variance (ANOVA)で行った。

## 結果

### 1. 体重、血糖値、血漿インスリン濃度(Table. 1)およびトレーニング量(Fig. 1)

体重は、FRU群、TG群がC群に比べ有意に高値を示した(205±1, 206±2 vs. 194±2, P<0.05)。FRU群とTG群の間には有意差を認めなかった。身体トレーニングを行わせたTR群、TG-TR群はC群に比べ有意に低値を示した(179±2, 178±2, P<0.05)が、両者の間に有意差はなかった。また空腹時の血糖値は各群とも70 mg/dl前後で有意差はなく、clamp中もそのレベルに維持された。血漿インスリン濃度は空腹

Table. 1 Body weight, blood glucose concentrations and insulin levels during the clamp experiment

Group	BW(g)	Blood glucose(mg/dl)			Insulin(μU/ml)		
		Basal	Clamp		Basal	Clamp	
			3.0	30.0		3.0	30.0
Control	194±2 <sup>a</sup>	71±1	70±1	70±1	8±1	58±2	1046±38
FRU	205±1 <sup>b</sup>	71±1	70±1	69±1	10±1	58±5	1225±119
TG	206±2 <sup>b</sup>	71±1	71±1	70±1	9±1	58±7	1097±167
TR	179±2 <sup>c</sup>	72±1	71±2	69±1	10±1	64±4	1009±97
TG-TR	178±2 <sup>c</sup>	71±1	70±1	71±1	9±1	53±3	944±52

Values with different letters are significantly different(P<0.05)

Means±S.E.

時において  $10 \mu\text{U/ml}$  前後であり、L-clamp および H-clamp 終了時にはそれぞれ  $55, 1000 \mu\text{U/ml}$  前後に達し、いわゆる hyperinsulinemia および supra-physiological hyperinsulinemia に至った。身体トレーニング量は、回転ケージに慣れるまでの最初の 4, 5 日間は 1 日あたり 2000 m 前後と少なかったが、最終的には 7000 m 前後にまで至った。TR 群と TG-TR 群との間に有意差はなかった。

## 2. GIR (Table. 2)

L-clamp において、FRU 群は C 群に比べ有意に低値だった ( $3.4 \pm 0.1$  vs.  $8.2 \pm 0.1$ ,  $P < 0.05$ )。TG 群

( $6.1 \pm 0.2$ ) は FRU 群に比べ有意に高値を示した ( $P < 0.05$ ) が、C 群よりも低値だった ( $P < 0.05$ )。身体トレーニングを行わせた TR 群および TG-TR 群は FRU 群に比べ有意に高値を示した ( $7.5 \pm 0.2$ ,  $9.5 \pm 0.6$ ,  $P < 0.05$ )。さらに TR 群は C 群と同等レベルにまで達し、TG-TR 群は C 群よりも有意に高値であった ( $P < 0.05$ )。H-clamp においては L-clamp と同様の傾向を示した。

## 3. 骨格筋および肝臓中のグリコーゲン量 (Table. 3)

肝臓において、FRU 群のグリコーゲン量は C 群に比べ有意に低値 ( $6.0 \pm 0.2$  vs.  $11.9 \pm 0.8$ ,  $P < 0.05$ ) で

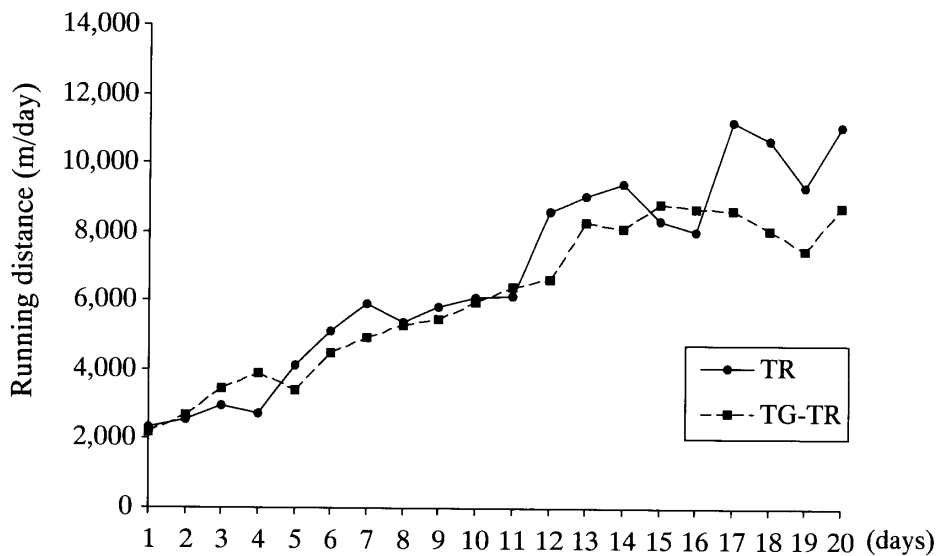


Fig. 1 Running distances during the experiment for the voluntary running (TR) and troglitazone + voluntary running rats (TG-TR). Values are means. There were no significant differences between TR and TG-TR group.

Table. 2 Glucose infusion rate (GIR) during the euglycemic clamp experiment (insulin infusion rate 3.0 and 30.0 mU/kg body weight/min)

Group	GIR (mg/kg/min)	
	L-clamp (3.0 mU/kg/min)	H-clamp (30.0 mU/kg/min)
Control	$8.2 \pm 0.1^a$	$12.8 \pm 0.3^a$
FRU	$3.4 \pm 0.1^b$	$6.1 \pm 0.4^b$
TG	$6.1 \pm 0.2^c$	$10.0 \pm 0.3^c$
TR	$7.5 \pm 0.2^a$	$13.3 \pm 0.9^a$
TG-TR	$9.5 \pm 0.6^d$	$18.6 \pm 1.4^d$

Values with different letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

Means  $\pm$  S. E.

あり、TG 群 ( $8.0 \pm 0.3$ ,  $P < 0.05$ ) は FRU 群よりも有意に高値であった。さらに TR 群 ( $9.7 \pm 0.9$ ,  $P < 0.05$ ) は TG 群よりも有意に高値であり、TG-TR 群 ( $11.8 \pm 0.3$ ,  $P < 0.05$ ) は TR 群よりもさらに高値で C 群と同レベルに至った。

骨格筋において、FRU 群のグリコーゲン量は C 群に比べ有意に低値だった ( $4.8 \pm 0.4$  vs.  $7.1 \pm 0.4$ ,  $P < 0.05$ )。また FRU 群、TG 群、TR 群の間に有意差は認めなかったが、増加傾向が見られた。さらに TG-TR 群はこれらの群よりも有意に高値 ( $6.4 \pm 0.1$ ,  $P < 0.05$ ) であり、C 群と同レベルに至った。

### 考察

インスリン抵抗性は肥満、高血圧、2 型糖尿病などでみられる病態であり、高フルクトース食がインスリン抵抗性を引き起こす要因の一つとなっている。その詳細な機構は明らかになっていないが、高フルクトース食は高中性脂肪血症を招き<sup>9)</sup>、遊離脂肪酸 (FFA) の  $\beta$  酸化を亢進させ、その結果 glucose-FFA cycle によりグルコース利用が低下すると言われている。また glucose-6-phosphatase や PEPCK の関与も指摘されている。

またトログリタゾンは、細胞レベルにおいて末梢組織のグルコース輸送・利用に関与し、インスリン作用を改善する薬剤である。近年、脂肪細胞において PPAR $\gamma$  との親和性が報告され、TNF $\alpha$  や脂肪酸の減少に関わっているとされる<sup>10)</sup>が、詳細は明らかにされていない。

一方、身体トレーニングは体脂肪、血液中の脂肪酸を減少させるだけでなく、グルコース輸送に関わってその利用を促進することが報告されている<sup>11)</sup>。

本研究で我々はトログリタゾンと身体トレーニング

はインスリン抵抗性改善機構が異なっていると推察している。また GIR と肝臓におけるグリコーゲン量とが同様の傾向を示したことから、その改善機構には肝臓でのグリコーゲン合成が深く関与している可能性がある。GIR、肝臓グリコーゲンの結果から、TG 群、TR 群、TG-TR 群各々の FRU 群との差から相加作用が認められたことを考慮すると、トログリタゾンと身体トレーニングは、作用点が異なる可能性が示唆された。さらに以前の研究において、トログリタゾンは高脂肪食誘発インスリン抵抗性を改善しなかったため、食餌組成の違いがインスリン抵抗性発症機構の違いを引き起こすことも考えられる。

いずれにしても高フルクトース食がインスリン抵抗性を招くことは明らかであり、今後食生活によってもたらされる種々の生活習慣病のモデルとして利用する価値は高い。またチアゾリジン誘導体、身体トレーニングによる高フルクトース食誘発インスリン抵抗性改善機構はさらなる検討を要すると思われる。

### 参考文献

- 1) DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin Resistance: A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 14:173-194, 1991
- 2) Mimura K, Umeda F, Hiramatsu S, Taniguchi S, Ono Y, Nakashima N, Kobayashi K, Masakado M, Sako Y. Effects of a new oral hypoglycemic agent (CS-045) on metabolic abnormalities and insulin resistance in type 2 diabetes. *Diabet Med* 11:685-691, 1994
- 3) Fujita T, Sugiyama Y, Taketomi S, Sohda T,

Table. 3 Glycogen contents in gastrocnemius muscle and liver

Group	Glycogen (mg/g tissue)	
	Muscle	Liver
Control	$7.1 \pm 0.4^a$	$11.9 \pm 0.8^a$
FRU	$4.8 \pm 0.4^b$	$6.0 \pm 0.2^b$
TG	$5.3 \pm 0.5^b$	$8.1 \pm 0.3^c$
TR	$5.4 \pm 0.1^b$	$9.7 \pm 0.9^d$
TG-TR	$6.4 \pm 0.1^a$	$11.8 \pm 0.3^a$

Values with different letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

Means  $\pm$  S. E.

- Kawamatsu Y, Iwatsuka H, Suzuoki Z. Reduction of insulin resistance in obese and/or diabetic animals by 5-[4-(1-methylcyclohexylmethoxy) benzyl]-thiazolidine-2,4-dione (ADD-3878, U-63287, ciglitazone), a new antidiabetic agent. *Diabetes* 32: 804-810, 1983
- 4) Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA. An antidiabetic thiazolidinedione is a higher affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR-gamma). *J Biol Chem* 270: 12953-12956, 1995
- 5) Edelman SV, Laakso M, Wallace P, Brechtel G, Olefsky JM, Baron AD. Kinetics of insulin-mediated and non-insulin-mediated glucose uptake in humans. *Diabetes* 39 (8): 955-964, 1990
- 6) Torgan CE, Brozinick JT, Banks EA, Cortez MY, Wilcox RE, Ivy JL. Exercise training and clenbuterol reduce insulin resistance of obese Zucker rats. *Am J Physiol* 264 (3 Pt 1): E373-379, 1993
- 7) Banks EA, Bronzinick JT, Yaspelkis BB III, Kang HY, Ivy JL. Muscle glucose transport, GLUT-4 content, and degree of exercise training in obese Zucker rats. *Am J Physiol* 263 (5 Pt 1): E1010-1015, 1992
- 8) Kitakoshi K, Oshida Y, Han YQ, Sato Y. Effects of troglitazone and voluntary running on insulin resistance induced high fat diet in the rat. *Horm Metab Res* 33 (6): 365-369, 2001
- 9) Thorburn AW, Stoliën LH, Jenkins AB, Khouri S, Kraegen EW. Fructose-induced in vivo insulin resistance and elevated plasma triglyceride levels in rats. *Am J Clin Nutr* 49: 1155-1163, 1989
- 10) Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Murakami K, Motojima K, Komeda K, Ide T, Kubota N, Terauchi Y, Tobe K, Miki H, Tsuchida A, Akanuma Y, Nagai R, Kimura S, Kadowaki T. The mechanisms by which both heterozygous peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) deficiency and PPAR-gamma agonist improve insulin resistance. *J Biol Chem* 276(44): 41245-54, 2001
- 11) Nakai N, Shimomura Y, Ohsaki N, Sato J, Oshida Y, Ohsawa I, Fujitsuka N, Sato Y. Exercise training prevents maturation-induced decrease in insulin sensitivity. *J Appl Physiol* 80 (6): 1963-1967, 1996

## 注

\* 名古屋大学総合保健体育科学センター