

【研究報告】

インスリン感受性に対するマウス系統 および雌雄間の違いについて

宮田 徹¹・磯貝歩美²・葉袋裕二¹

要 約

実験動物のマウスは系統ごとに特性が異なり、系統間の違いを直接比較することは動物実験の結果を正確に解釈するために重要である。また薬物反応性などの違いから雌雄間の差異を明確にすることも求められている。本研究では、C57BL/6JとBALB/cマウスを用いて、インスリンの感受性に対する系統間および雌雄間の違いを試験した。インスリン投与による血糖値の低下は、C57BL/6Jマウスの雌で一番大きく、続いてC57BL/6J雄、BALB/c雌が同程度、BALB/c雄の順であった。インスリン受容体とインスリン受容体基質の肝臓における発現量は、C57BL/6Jマウスで雌の方が有意に高く、筋肉ではBALB/cがC57BL/6Jより顕著に低かった。肝臓リン酸化Aktのインスリンによる増加量は、血糖値低下の大きい系統と雌雄の順序となり、雄に比べて雌で、BALB/cよりC57BL/6Jでインスリンの感受性が高いことが分かった。

キーワード：マウス系統、性差、インスリン感受性

緒言

動物実験は病気の原因解明や治療法の開発、医薬品の開発、食品の安全性や有効性を試験するためにおこなわれ、人類の健康と福祉に貢献している。実験動物としてはマウスやラットの齧歯類が主に使用され、近交系やクローズドコロニーの系統が確立されている。実験動物は系統ごとに特性が異なり、研究目的に合わせた系統を選択しなければ目標とする結果は得られず、間違った解釈を与える原因にもなる。したがって、系統間の特性の違いを理解しておくことは重要である。

実験動物として最も多く用いられるマウスには、C57BL/6やBALB/c、DAB、C3H、A/Jなどの多数の系統が存在し、これらは主に個体ごとの実験誤差をなくすために近親交配によって創出された近交系のマウスである。このマウスは系統ごとにボディサイズや体色といった表現型をはじめ、光感受性やストレス応答性、繁殖能力などがそれぞれ異なる (Festing, 1979; 猪俣, 2009)。マウスで最初にゲノム配列が解読されたC57BL/6マウスは、遺伝学や発生学、神経学などの分野で広く用いられ

るが、特筆すべきは肥満や代謝研究である。C57BL/6Jマウスに牛脂またはラードを多く含んだ高脂肪食を摂取させると肥満を呈し、血中および肝臓脂質含量の増加、血糖値の上昇、インスリン抵抗性が生じる。これは食餌誘導性肥満モデルと呼ばれ、糖尿病、メタボリックシンドロームの病態を再現し、これら疾患の病因の理解、治療や予防に役立てられている (Buettner et al., 2007; Recena Aydos et al., 2019)。一方で、A/JおよびBALB/cマウスは食餌の影響を受けにくい系統とされる。高脂肪食摂取の影響はC57BL/6JとA/Jマウスで直接比較され、A/Jマウスでは体重の増加や血糖値の上昇が有意に低い (Surwit et al., 1997; Black et al., 1998)。BALB/cマウスは高脂肪食を摂取しても体重の増加が見られず、血糖値の異常やインスリン抵抗性が生じないという報告がある (Montgomery et al., 2013)。したがって、食餌の影響を調べる代謝研究では、その影響が生じにくいことからBALB/cマウスが用いられることは少ない。事実、PubMedで“C57BL/6J mice” “high-fat diet”と検索すると、2022年7月現在15,000件以上検索されるのに対して、“BALB/c mice” “high-fat diet”では約500件である。

¹ 玉川大学農学部生産農学科 東京都町田市玉川学園6-1-1

² 玉川大学農学部生物資源学科 東京都町田市玉川学園6-1-1

責任著者：宮田徹 miyata@agr.tamagawa.ac.jp

近年先進国では肥満に伴う高脂血症、動脈硬化症、非アルコール性脂肪性肝疾患などのメタボリックシンドロームが社会問題となっている。その原因の一つは内臓脂肪の蓄積で生じた慢性炎症からインスリン抵抗性が起きたためだと、食餌誘導性肥満モデルの研究によって提唱されている (Sun et al., 2012; Lauterbach et al., 2017)。インスリンは血糖値の調節だけでなく、グリコーゲンや脂肪酸の合成といった同化作用の促進にも関係する。インスリンは肝臓や筋肉細胞の受容体に結合すると、細胞内のインスリン受容体基質 (IRS) を活性化させて、インスリンシグナルを誘導する。それはPI3キナーゼ、PDK, Aktを次々にリン酸化して、AS160/TBC1D4を介してグルコーストランスポーター (GLUT) を含む小胞が細胞膜へ移動結合する。その結果、GLUTのグルコース取り込みによって、血糖値は低下する。また、グリコーゲンシンターゼの活性化、転写因子SREBP-1cによる *de novo* 脂肪酸合成に関わる酵素の発現を誘導するなど、代謝機能を広く制御している (Taniguchi et al., 2006)。インスリン抵抗性はこのようなインスリンシグナルが、機能しなくなることが原因で生じると考えられている。

実験に用いられる動物は、元来雄が多く用いられてきた。それは雌には性周期があり、性ホルモン濃度の変動が実験結果に支障をきたすためと考えられており、雌は発情期に自発運動量の増加や摂食量の減少が見られる (Sieck et al., 1977)。しかし、雄での実験結果が全てにおいて反映できるわけではなく、薬物の効果や安全性に関しては雌雄の差異を正確に示すべきとの指摘が多くなっている。

本研究ではマウス系統の特性と雌雄間の違いを直接比較するため、雌雄のC57BL/6JおよびBALB/cマウスを使用した。インスリンに対する血糖値低下の違い、肝臓と筋肉におけるインスリン受容体とインスリンシグナル分子であるIRS-1,2発現量の比較、インスリンシグナル伝達の強度の差異を調べるため、リン酸化Aktを検出した。インスリンの反応性に対するマウス系統間、雌雄間の違いを試験することで、実験動物を用いた試験結果の有効性を検証するための基礎データを得ることを目的とした。

材料および方法

実験動物

実験動物は日本クレア (株) から購入したC57BL/6JおよびBALB/cマウスを交配させて、得られた雌雄の仔を使用した。飼育室は室温25℃、湿度55%、12時間の

明暗サイクル (午前7時点灯) に維持した。プラスチック製のケージに木製床敷を入れ、固形MF飼料 (オリエンタル酵母工業 (株)) とUV殺菌した飲水が自由摂取できるようにした。生後4週齢で離乳し、雌雄別々にケージあたり2~3匹で飼育して、8~10週齢で実験に用いた。実験は玉川大学実験動物委員会の承認を得て (承認番号49号)、インスリン投与時と、肝臓および筋肉の採取時において、イソフルラン麻酔下で実験した。

インスリン負荷試験

インスリン投与後の血糖値の低下を、マウス系統および雌雄で比較した。マウスは4時間絶食し、ヒト遺伝子組み換えインスリン (ヒューマリン, 日本イーライリリー (株)) を体重1kgあたり0.75 Uで腹腔内投与した。血液はインスリン投与前と投与後30分おきに、ヘパリンを2 μ l入れたキャピラリーで尾から採取した。投与後120分まで採血し、血液は遠心分離して血漿を分析まで冷凍保存した。

血漿中のグルコース濃度は、グルコースオキシダーゼおよびペルオキシダーゼを用いた酵素法 (Bergmeyer and Bernt, 1974) で測定した。インスリン投与前を100%として、血糖値の減少率を計算した。また、血糖値の減少曲線下の面積を算出し (area under curve; AUC)、系統および雌雄で比較した。

定量RT-PCR

肝臓および筋肉におけるインスリン受容体とインスリン受容体基質を、マウス系統間、雌雄間で比較するため定量RT-PCRをおこなった。マウスの肝臓および大胸筋からISOGEN II ((株) ニッポンジーン) を用いて全RNAを抽出し、PrimeScript™ Reverse Transcriptase (タカラバイオ (株)) でcDNAを作製した。表1のプライマーを用いて、7500FastリアルタイムPCRシステム (サーモフィッシャーサイエンティフィック (株)) で発現量

表1 定量RT-PCRに用いたプライマー配列

遺伝子名	方向	配列
インスリン受容体 (IR)	フォワード	CCCAATGGCAACATCACACA
	リバース	CAGCTCGCTGTCTCTGCTT
インスリン受容体基質-1 (IRS-1)	フォワード	GCACCTGGTGGCTCTCTACAC
	リバース	TCGCTATCCGCGGCAAT
インスリン受容体基質-2 (IRS-2)	フォワード	CGGACGCCAAGCACAAGT
	リバース	CGCCGCTACAGCGAAGTACT
グリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH)	フォワード	TGGCCTCCAAGGAGTAAGAAAC
	リバース	GGCCTCTCTTGTCTCTCAGTATC

を測定した。結果は各臓器に含まれるグリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) に対する割合で表した。

ウエスタンブロッティング

マウス系統間および雌雄での肝臓におけるインスリンシグナル伝達強度の違いを調べるため、Aktのリン酸化をウエスタンブロッティングで検出した。インスリン負荷試験同様、マウスを絶食しインスリンを腹腔内投与して、10分後に肝臓を得た。またインスリンを投与していないマウスからも肝臓を得た。肝臓はトリス緩衝食塩水 (TBS) でホモジナイズし、遠心分離した。上清のタンパク質濃度はBradford法で測定し、濃度を合わせた肝臓ホモジネートを10%アクリルアミドゲルを用いてSDS-PAGEにより電気泳動した。ゲルからメンブレン (Immobilon®-P, メルク (株))へタンパク質を転写した後、1%ウシ血清アルブミンを含むTBSでブロックした。一次抗体反応は、抗Akt抗体 (#9272, Cell Signaling Technology), 抗リン酸化Akt抗体 (#9271, Cell Signaling Technology) および抗β-アクチン抗体 (GTX110564, GeneTex) を用い、二次抗体反応はHRP標識抗ウサギIgG抗体 (#7074, Cell Signaling Technology) を使用した。メンブレンにTrident試薬 (GeneTex) を添加して化学発光をした後、Super RXフィルム (富士フィルム (株)) に露光してタンパク質を検出した。検出したタンパク質のバンドはImage Jを用いて定量化し、アクチンに対するAktとリン酸化Akt量を算出して、インスリン投与による変化量を求めた。

統計分析

上述したインスリン負荷試験、定量RT-PCR、ウエスタンブロッティングの実験には、それぞれ別のマウスを使用した。結果は平均値±標準誤差で示した。系統および雌雄間は一元配置分散分析で比較し、多重比較の場合にはチューキー検定をおこなった。有意水準は5%未満とした。

結果

インスリンによる血糖値低下のマウス系統間および雌雄間における違い

インスリンによる血糖値の低下にマウスの系統と雌雄で違いがあるかを調べるため、インスリン負荷試験をおこない比較した。インスリン投与後60分でマウスの血糖値低下は最大となり、120分までに徐々に回復した。マウスの系統間で比較するとBALB/cよりC57BL/6Jの方が、血糖値の低下が大きかった。雌雄間ではC57BL/6JおよびBALB/cマウス双方において、雄より雌の方が血糖値の低下が大きかった (図1A)。血糖値の減少曲線から計算したAUC値は、数値の小さい順に表示した (図1B)。AUC値は血糖値低下の一番大きいC57BL/6J雌が最も低く、続いてC57BL/6J雄、BALB/c雌が同程度であり、BALB/cの雄が一番高かった。インスリンによる血糖値の低下には、系統と雌雄間の顕著な違いが確認できた ($F(3,26) = 5.99, p = 0.003$)。

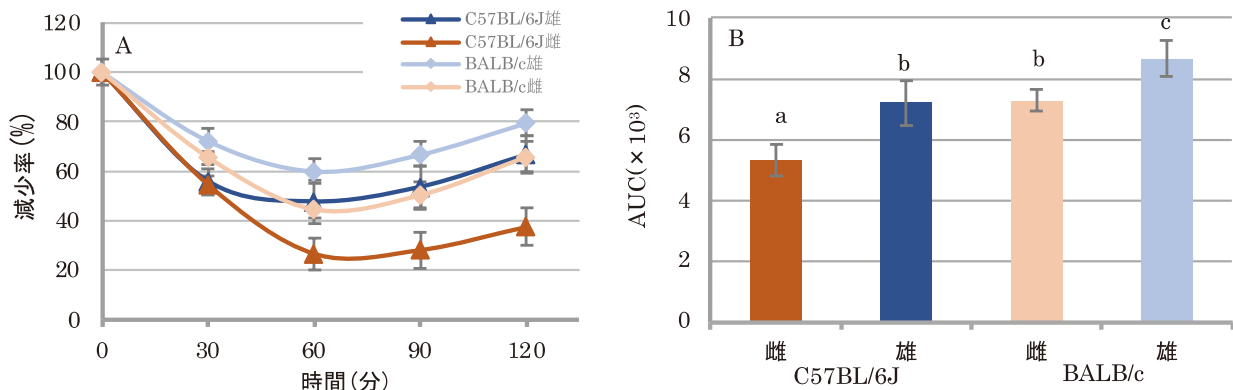


図1 マウスにおけるインスリン投与後の血糖値の減少率

C57BL/6J (雌雄各8匹) およびBALB/c (雌雄各7匹) マウスに、インスリンを投与して30分おきに尾静脈から採血し、グルコース濃度を測定した (A)。血糖値の減少曲線下の面積をAUCとして計算した (B)。結果は平均値±標準誤差で表記し、系統および雌雄間差は、一元配置分散分析およびチューキー検定で評価した。

マウス肝臓および筋肉におけるインスリン受容体とインスリン受容体基質の発現の違い

マウス系統および雌雄間でインスリン感受性の違いを調べるため、インスリン受容体 (IR) とインスリン受容体基質 (IRS-1,2) の発現量を定量RT-PCRで測定した。結果はGAPDHに対する割合で表示した。

肝臓のIRおよびIRS-2の発現量はC57BL/6Jマウスにおいて、雄より雌で顕著に高かった。IRS-1も雌の方が高い傾向であった。BALB/cマウスではIR発現が雄より雌で有意に低く、IRS-1およびIRS-2発現は雄雌共に極めて少なかった (図2)。マウス系統および雌雄の4群で比較すると、全ての遺伝子発現に顕著な差異があった (IR;

$F(3,20) = 13.03, p = 6.08 \times 10^{-5}$, IRS-1; $F(3,20) = 31.40, p = 9.21 \times 10^{-8}$, IRS-2; $F(3,20) = 25.72, p = 4.55 \times 10^{-7}$). 特にBALB/cマウスではIRS-1とIRS-2の発現が低く、C57BL/6Jマウスとは顕著な違いがあることが分かった。

筋肉のIR, IRS-1, IRS-2はC57BL/6Jマウスにおいて雌雄の違いがなく、一定の発現量であった。一方BALB/cマウスは、IRを含めて全ての遺伝子で発現が極端に少なかった (図3)。筋肉においても全ての遺伝子でマウス系統および雌雄間の顕著な差異が認められ (IR; $F(3,20) = 53.35, p = 1.00 \times 10^{-9}$, IRS-1; $F(3,20) = 17.81, p = 7.22 \times 10^{-6}$, IRS-2; $F(3,20) = 32.17, p = 7.54 \times 10^{-8}$),

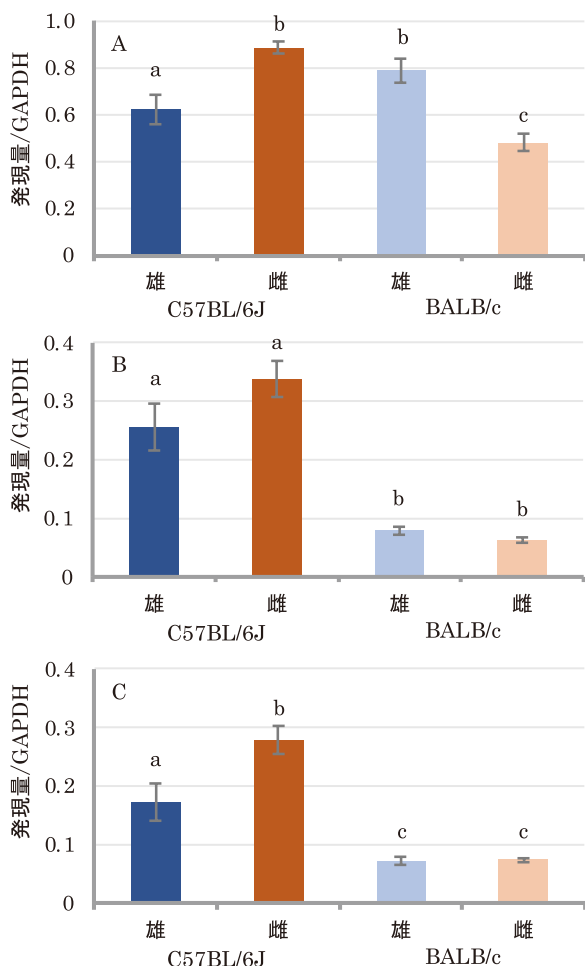


図2 マウス肝臓におけるインスリン受容体およびインスリン受容体基質の発現量

C57BL/6J (雌雄各5匹) およびBALB/c (雌雄各7匹) マウスの肝臓におけるインスリン受容体 (IR; A) とインスリン受容体基質 (IRS-1; B, IRS-2; C) を、定量RT-PCRで測定した。発現量はGAPDHに対する割合で表記した。結果は平均値 ± 標準誤差で示し、系統および雌雄間差は、一元配置分散分析およびチューキー検定で評価した。

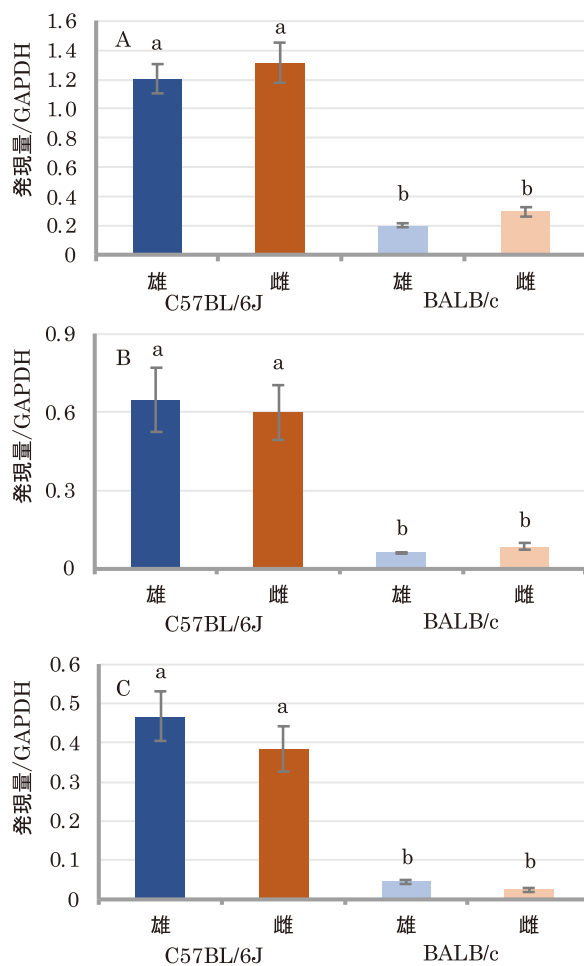


図3 マウス筋肉におけるインスリン受容体およびインスリン受容体基質の発現量

C57BL/6J (雌雄各5匹) およびBALB/c (雌雄各7匹) マウスの筋肉におけるインスリン受容体 (IR; A) とインスリン受容体基質 (IRS-1; B, IRS-2; C) を、定量RT-PCRで測定した。発現量はGAPDHに対する割合で表記した。結果は平均値 ± 標準誤差で示し、系統および雌雄間差は、一元配置分散分析およびチューキー検定で評価した。

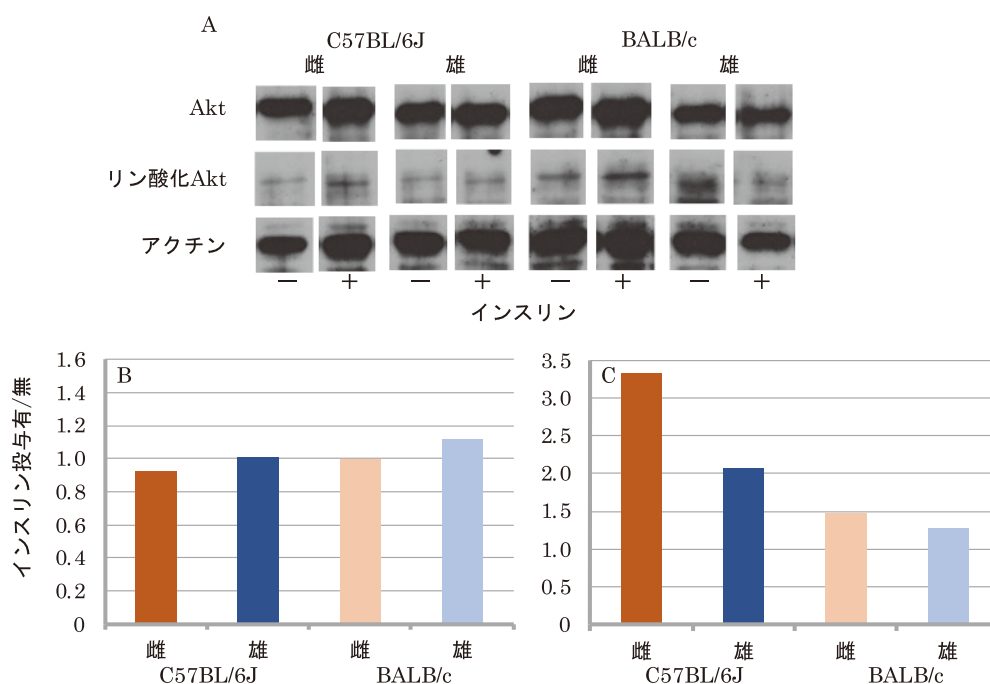


図4 マウス肝臓におけるインスリンシグナル分子Aktのリン酸化

C57BL/6J (インスリンを投与していない雌雄各3匹, インスリンを投与した雌雄各3匹) およびBALB/c (インスリンを投与していない雌雄各3匹, インスリンを投与した雌雄各3匹) マウスの肝臓におけるAkt, リン酸化Akt, アクチンタンパク質をウエスタンブロッティングで検出した (A). 各タンパク質量をバンドから定量化しAkt (B) とリン酸化Akt (C) はアクチンに対する割合を算出した後, インスリン投与による変化量を求めた.

インスリンの受容に関わる遺伝子発現が, BALB/c マウスで特に低下していることが分かった.

マウス肝臓におけるインスリンシグナルの系統および雌雄間の違い

マウス系統間および雌雄間におけるインスリンの細胞内シグナル伝達の違いについて調べるため, Aktのリン酸化をウエスタンブロッティングで調べた. 図4の結果はインスリン負荷試験で得られた血糖値の低下が, 大きい順に表示した. 肝臓におけるAkt量はバンドが大きく検出でき, インスリンを投与していないマウスと投与したマウスの差異はなかった. リン酸化Aktは量が少なくバンドが小さかったが, インスリンの投与で増大した(図4A). ウエスタンブロットのバンドから定量化をおこなない, インスリン投与有無でのAktおよびリン酸化Aktを比較した. Aktはインスリンの投与によって変化がほとんどなかったのに対し (図4B), リン酸化Aktは系統と雌雄で違いが見られた. C57BL/6J雌がリン酸化Aktの量が3倍以上と多くなり, 続いてC57BL/6J雄, BALB/c雌となった. BALB/cの雄はリン酸化Aktの増加がわずかであった (図4C). リン酸化Aktのインスリン投与によ

る増加量は, インスリン投与後の血糖値の低下が大きい順序となった.

考察

実験動物のマウスには特性の異なる多くの系統があり, 系統間の違いを直接比較することは動物実験の結果を正確に解釈する上で重要である. また, 雌雄間の差異を明確に示すことが求められてきている. 本研究ではインスリンの感受性に対する違いを, 雌雄のC57BL/6JおよびBALB/cマウスを使用して試験した.

インスリンによる血糖値の低下を評価するインスリン負荷試験では, C57BL/6Jマウスの雌で最も血糖値が低下し, 続いてC57BL/6Jの雄, BALB/cの雌, 雄の順で血糖値の低下は緩やかになった. 同系統のマウスでは, 雄より雌の方が血糖値の顕著な低下を示した. 肝臓におけるIRとIRSの発現量はC57BL/6Jマウスにおいて雄よりも雌で高かった. BALB/cマウスの肝臓IR発現量は, 雄より雌で低く, IRS-1および2はC57BL/6Jマウスに比べて顕著に低下していた. インスリン負荷試験で血糖値の低下に雌雄間で差異が見られたのは, IRおよびIRSの発

現量に起因すると考えられる。すなわち、IRとIRSの発現が高ければ、インスリンに対する感受性が高まり、血糖値はより低下する。C57BL/6Jマウスの肝臓で見られたように、雌では発現量が高かったために、雌で血糖値の低下が顕著に起きたと考えられる。また、筋肉ではIRとIRSの発現量が、C57BL/6JよりBALB/cマウスで大きく低下していた。インスリン負荷試験における血糖値の低下は、BALB/cよりC57BL/6Jマウスで顕著に大きく、肝臓も含めた系統間の受容体およびインスリンシグナル分子であるIRSの発現量の違いが、系統間の血糖値低下の差異を生じさせる原因になっていることが示唆された。インスリンシグナルは細胞内でのリン酸化カスケード反応を経て伝達される。肝臓のAktおよびリン酸化Aktを検出した実験では、リン酸化Aktのインスリン投与後の変化量が、マウス系統間および雌雄で異なっていた。それはC57BL/6J雌で一番増加し、続いてC57BL/6Jの雄、BALB/cの雌、雄の順であった。これはインスリン投与後の血糖値の低下が大きい、系統、雌雄の順序であり、インスリンシグナル伝達の強度が系統および雌雄間で異なり、血糖値の低下に影響を与えていたと考えられる。一方、BALB/cマウスの肝臓におけるIR発現量は、雌よりも雄で高かった。それぞれの系統の雄同士を比較した場合、IRの発現量はC57BL/6JよりもBALB/cマウスで高い。これはインスリンに対する血糖値の低下とは整合性のない結果である。BALB/cマウス雄の肝臓IRの役割として、血糖調節以外の細胞増殖といった機能 (Abu Rmilash et al., 2020; Khamzina et al., 2003) があるのかもしれない。今後の検討課題である。しかし、Aktリン酸化の結果から、インスリンによる血糖値低下の程度はマウス系統と雌雄間で異なるインスリンシグナル強度に起因していると解釈できる。Macotela et al. (2009) は脂肪組織を対象として雌雄のインスリン感受性の違いをC57BL/6マウスで調べている。インスリン投与後の血糖値の低下は雌で大きく、生殖腺周囲脂肪細胞におけるリン酸化Akt量も雄より雌で有意に上昇した。ラットでも雌の方がインスリン感受性が高いという結果が得られており (Guerre-Millo et al., 1985)、本研究ではBALB/cマウスでも同様であることが確認できた。

C57BL/6Jマウスは食餌誘導性肥満モデルとして、高脂肪食の摂取後肥満となり、糖尿病やメタボリックシンドロームの実験に使用されている。その肥満モデルの原因はニコチンアミドヌクレオチドトランスヒドロゲナーゼ (Nnt) 遺伝子の欠損と考えられており、膵臓β細胞からのインスリン分泌の低下や耐糖能異常が生じやすい

ことが報告されている (Toye et al., 2005; Freeman et al., 2006)。すなわち、膵臓β細胞のグルコース感受性が弱く、グルコース投与後の血中インスリン濃度の上昇が低い。本研究では雄マウスの肝臓を除きIR発現がC57BL/6Jマウスで高かった。通常血中インスリン濃度は、C57BL/6JとBALB/cマウスで差異が無いことが確認されているもの (Harizi et al., 2007)、系統間におけるIR発現量の差異は、インスリンの分泌能力の違いによるものかもしれない。また、BALB/cマウスにおいてはIRとIRS発現量が極めて少なく、系統間の顕著な違いを見出した。BLAB/cマウスはストレプトゾトシンのような薬物によって1型糖尿病を誘発する際に用いられることがあるが (Alam et al., 2018)、肥満や代謝研究での実験ではほとんど使用されない。私たちが40%ラードを含む飼料をマウスに与えた予備的な実験では、摂食6週目以降C57BL/6Jマウスで体重が顕著に増加するのに対して、BALB/cマウスでは変化がなかった。すなわち食餌の影響がマウスの系統間で異なる。ヒトにおいても肥満になりやすい、またはなりにくい体質があり、日本人を含むアジア系の人種は肥満にはなりにくいが、糖尿病のリスクは高いと指摘されている (Chan et al., 2009; Sugimoto et al., 2019)。最近では痩せた日本人女性が標準体重者に比べて、耐糖能異常の割合が高いと報告された (Sato et al., 2021)。したがって、耐糖能異常やインスリン抵抗性のような血糖調節の不全は、食生活の問題だけでなく、個人の体質の違いによるところが大きいと考えられる。実験動物のマウスは系統ごとに特性が異なり、その違いを詳細に解析していくことにより、いわゆるヒトの体質の違いを見つけるヒントを与えてくれるかもしれない。糖尿病やメタボリックシンドロームに関しては、インスリン分泌やインスリンシグナリング、グルコース取り込み能力や代謝調節機構を、多くの系統間でさらに比較することで病因の詳しい作用機序を解明することが期待できる。

本研究ではC57BL/6JとBALB/cのマウス系統間と雌雄間で、インスリンに対する血糖値の低下の程度が異なり、それはインスリン受容体とインスリンシグナルの発現および機能に起因していることが示唆された。

謝辞

本実験の実施にあたっては、玉川大学農学部生物資源学科の学生に多くの協力をいただいた。本研究の一部は玉川大学農学部共同研究助成により実施された。深い謝意を表する。

引用文献

- Abu Rmilah, A., Zhou, W. and Nyberg, S. 2020. Hormonal contribution to liver regeneration. *Mayo Clinic Proceedings. Innovations, quality & outcomes* 4: 315–338.
- Alam, M. B., An, H., Ra, J. S., Lim, J. Y., Lee, S. H., Yoo, C. Y. and Lee, S. H., 2018. Gossypol from cottonseeds ameliorates glucose uptake by mimicking insulin signaling and improves glucose homeostasis in mice with streptozotocin-induced diabetes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 5796102.
- Bergmeyer, H. U. and Bernt, E. 1974. D-glucose Determination with glucose oxidase and peroxidase. In (Bergmeyer, H. U., ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*, pp. 1205–1215. Academic Press, London.
- Black, B. L., Croom, J., Eisen, E. J., Petro, A. E., Edwards, C. L. and Surwit, R. S. 1998. Differential effects of fat and sucrose on body composition in A/J and C57BL/6 mice. *Metabolism* 47: 1354–1359.
- Buettner, R., Schölmenrich, J. and Bolheimer, L. C. 2007. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity* 15: 798–808.
- Chan, J. C., Malik, V., Jia, W., Kadowaki, T., Yajnik, C. S., Yoon, K. H. and Hu, F. B. 2009. Diabetes in asia: epidemiology, risk factors, and pathophysiology. *Journal of the American Medical Association* 301: 2129–2140.
- Festing, M. F. W. 1979. Inbred Strains of mice. In (Festing, M. F. W. ed) *Inbred Strains in Biomedical Research*, pp. 137–266. The MacMillan Press, London.
- Freeman, H. C., Hugill, A., Dear, N. T., Ashcroft, F. M. and Cox, R. D. 2006. Deletion of nicotinamide nucleotide transhydrogenase: a new quantitative trait locus accounting for glucose intolerance in C57BL/6J mice. *Diabetes* 55: 2153–2156.
- Guerre-Millo, M., Leturque, A., Girard, J. and Lavau, M. 1985. Increased insulin sensitivity and responsiveness of glucose metabolism in adipocytes from female versus male rats. *The Journal of Clinical Investigation* 76: 109–116.
- Harizi, H., Homo-Delarche, A., Amrani, A., Coulaud, J. and Mormede, P. 2007. Marked genetic differences in the regulation of blood glucose under immune and restraint stress in mice reveals a wide range of corticosteroid sensitivity. *Journal of Neuroimmunology* 189: 59–68.
- 猪俣智夫. 2009. 比較実験動物学 各種実験動物の特性 (実験動物の種と系統). 現代実験動物学 (笠井憲雪, 吉川泰弘, 安居院高志, 編), pp. 126–131. 朝倉書店, 東京.
- Khamzina, L., Gruppuso, P. A. and Wands, J. R. 2003. Insulin signaling through insulin receptor substrate 1 and 2 in normal liver development. *Gastroenterology* 125: 572–585.
- Lauterbach, M. A. and Wunderlich, F. T. 2017. Macrophage function in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Pflügers Archiv : European journal of physiology* 469: 385–396.
- Macotela, Y., Boucher, J., Tran, T. T. and Kahn, C. R. 2009. Sex and depot differences in adipocyte insulin sensitivity and glucose metabolism. *Diabetes* 58: 803–812.
- Montgomery, M. K., Hallahan, N. L., Brown, S. H., Liu, M., Mitchell, T. W., Cooney, G. J. and Turner, N. 2013. Mouse strain-dependent variation in obesity and glucose homeostasis in response to high-fat feeding. *Diabetologia* 56: 1129–1139.
- Recena Aydos, L., Aparecida do Amaral, L., Serafim de Souza, R., Jacobowski, A. C., Freitas Dos Santos, E. and Rodrigues Macedo, M. L. 2019. Nonalcoholic fatty liver disease induced by high-fat diet in C57BL/6 models. *Nutrients* 11: 3067.
- Sato, M., Tamura, Y., Nakagata, T., Someya, Y., Kaga, H., Yamasaki, N., Kiya, M., Kadowaki, S., Sugimoto, H., Kawamori, R. and Watada, H. 2021. Prevalence and features of impaired glucose tolerance in young underweight Japanese women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 106: e2053–e2062.
- Sieck, G. C., Nance, D. M., Ramaley, J. A., Taylor, A. N. and Gorski, R. A. 1977. Prepubertal cyclicity in feeding behavior and body weight regulation in the female rat. *Physiology and Behavior* 18: 299–305.
- Sugimoto, D., Tamura, Y., Takeo, K., Kaga, H., Someya, Y., Kakehi, S., Funayama, T., Furukawa, Y., Suzuki, R., Kadowaki, S., Nishitani-Yokoyama, M., Shimada, K., Daida, H., Aoki, S., Kanazawa, A., Kawamori, R. and Watada, H. 2019. Clinical features of nonobese, apparently healthy, Japanese men with reduced adipose tissue insulin sensitivity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 104: 2325–2333.
- Sun, S., Ji, Y., Kersten, S. and Qi, L. 2012. Mechanisms of inflammatory responses in obese adipose tissue. *Annual Review of Nutrition* 32: 261–286.
- Surwit, R. S., Petro, A. E. and Collins, P. S. 1997. Low plasma leptin in response to dietary fat in diabetes- and obesity-prone mice. *Diabetes* 46: 1516–1520.
- Taniguchi, C. M., Emanuelli, B. and Kahn, C. R. 2006. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. 7: 85–96.
- Toye, A. A., Lippiat, J. D., Proks, P., Shimomura, K., Bentley, L., Hugill, A., Mijat, V., Goldsworthy, M., Moir, L., Haynes, A., Quarterman, J., Freeman, H. C., Ashcroft, F. M. and Cox, R. D. 2005. A genetic and physiological study of impaired glucose homeostasis control in C57BL/6J mice. *Diabetologia* 48: 675–686.

Differences in Insulin Sensitivity between Strains and Sexes of Laboratory Mouse

Tohru Miyata¹, Ayumi Isogai², Yuuji Minai¹

Abstract

Each strain of the laboratory mouse has different characteristics. Direct comparison between strain differences is important for accurate interpretation of the findings of animal experiments. The differences between the sexes need to be clarified. In this study, strain and sex differences in insulin sensitivity were determined using C57BL/6J and BALB/c mouse. The decrease in blood glucose levels by insulin administration was greatest in female C57BL/6J mouse, followed by similar in C57BL/6J males and BALB/c females, and less in BALB/c males. The expression levels of insulin receptor and insulin receptor substrates in the liver are significantly higher in females than in males in C57BL/6J mice. In the muscle, its receptors were markedly lower in BALB/c than in C57BL/6J. The amounts of phosphorylated Akt increased by insulin in the liver were in the same order as the decrease in blood glucose levels. Insulin sensitivity was found to be higher in females than in males and in C57BL/6J than in BALB/c mouse.

Keywords: Mouse strains, Sex difference, Insulin sensitivity

¹ Department of Agri-Production Sciences, College of Agriculture, Tamagawa University, 6-1-1 Tamagawagakuen, Machida, Tokyo, 194-8610, Japan

² Department of Bioresource Sciences, College of Agriculture, Tamagawa University, 6-1-1 Tamagawagakuen, Machida, Tokyo, 194-8610, Japan