Studies on Glucose-6-Phosphatase in Liver and Kidney

III. Studies on Experimental and Human Diabetics

Hirokazu SUGIYAMA

2nd Department of Internal Medicine, Gifu University School of Medicine, Gifu, Japan
(Director : Professor S. Hayase)

Variation of glucose-6-phosphatase (G6Pase) activity in rat liver and kidney was studied on the animals with experimental diabetes of the following types: cortisol-treated animals (intramuscular injection of hydrocortisone monohydrate, 10 mg per day for a week), alloxan diabetics (2 weeks after two intramuscular injections of alloxan monohydrate, 30 mg each), and glucose-loaded animals (intraperitoneal injection of 10 ml of 20% glucose solution per day for a week).

At the same time, variation of phosphoglucose isomerase (PGI) and of blood sugar level was measured. Histochemical examinations of liver and kidney G6Pase as well as histological examinations of Langerhans' islets of the pancreas were also performed with the same experimental animals.

Furthermore, variation of the liver and kidney G6Pase activity in human diabetics before and after insulin therapy was followed.

Materials and Methods

Male Wistar rats of an average weight of 180 g, fed with Oriental solid food (CE-II), were employed. A control group of animals were prepared each time under the identical experimental condition.

The animal was killed by decapitation and bleeding. Liver and kidney were removed and homogenized immediately. The 2% homogenate was centrifuged down at $1500 \times g$ for 5 minutes and 0.1 ml of the supernatant was used as an enzyme source. Sodium salt of glucose-6-phosphate was used as substrate and citrate buffer of pH 6.5 was employed. The G6Pase activity was determined according to Swanson's method and the specific activity was expressed by rP/r protein (determined by Cu-Folin method)/30 min. at $37^{\circ}C$. PGI was assayed by a method of Brun et al. and the specific activity was expressed by r fructose/ r protein/30 min. at $37^{\circ}C$. Blood sugar level was measured by Hagedorn-Jensen' method.

For histochemical examinations, liver and kidney were sliced continuously with Lirde Kryostat as soon as possible after bleeding of the animal, and the G6Pase activity was detected by Wachstein-Meisel's method. Histological examination of Langerhans' islets of the pancreas was performed by Gomori's PHE staining.

With human diabetics (clinical diabetes), liver and kidney G6Pase activity was assayed on biopsy specimens taken before and after insulin therapy.

Results

1. The G6Pase activity in liver and kidney of both the cortisol-treated and alloxan diabetic animals increased similarly, reflecting an increased gluconeogenesis (Table 1.).

2. With glucose-loaded animals, a result was obtained which suggests that hyperglycemia is not the sole factor determining the enzyme activity (Table 1.).

3. The PGI activity in liver and kidney was observed to have a behavior similar to the activity of G6Pase in the same organ. From this similarity to G6Pase, the possibility that PGI may play some regulatory role in gluconeogenesis was discussed (Fig. 1,2.).

4. Histochemical detection of liver and kidney G6Pase showed results parallel to those obtained by the above-mentioned quantitative assay, but no particular tissue region was detected which was responsible for the variation of G6Pase activity caused by each treatment (Photo. 1,2.).

5. Histological examination on Langerhans' islets of cortisol-treated animal revealed hypertrophy and hyperplasia of β -cells as well as hypertrophy and new formation of the islets themselves, while remarkable decrease in the number of the β -cells and hyperplasia of the α -cells were observed in the animals with alloxan diabetes. On glucose-loaded animals, such appreciable change was not observed (Photo. 3,4,5.).

6. Both the liver and kidney G6Pase activities in human diabetics, determined with the biopsy specimen, were found to fall after the control of the disease by insulin therapy. (Fig. 3.).

From these results, it is presumed that both the liver and kidney G6Pase is under hormonal control *in vivo* and participate in the regulation of carbohydrate metabolism.

(pp. 889~898)

肝, 腎 glucose-6-phosphatase に関する研究

(Ⅲ) 1. 実験的糖尿病における成績 2. ヒト糖尿病における成績

岐阜大学医学部第二内科 (担当: 早瀬正二教授)

杉 山 弘 和

(昭和43年2月28日受付)

実験的糖尿病 (alloxan, cortisol, glucose) における肝, 腎 G-6-Pase の活性の変動を, 組織化学的, 膝ラ氏島の態度, PGI 活性, 血糖の変動と合わせ検討し, さらにヒト糖尿病肝, 腎を insulin 加療前後について同一人について比較検討した. cortisol, alloxan 糖尿病では糖新生亢進を反映した, glucose 負荷糖尿病では過血糖のみが酵素活性を司る因子でないことを示唆した. ヒト糖尿病では insulin 加療後は加療前に比し肝, 腎とも G-6-Pase 活性の低下を認めた.

緒 言

前報¹⁾においてはホルモン環境変動下の肝, 腎 glucose-6-phosphatase (以下 G-6-Pase と略) の変動を甲状腺ホルモンの面より眺めた. 本報においてはラットについて, 実験的糖尿病として, cortisol, alloxan, glucose 負荷糖尿病群について研究し, 組織化学的検索ならびに膝ラ氏島の態度, phosphoglucose isomerase 活性 (以下 PGI と略), 血糖の変動も合わせ検討した. さらにヒト糖尿病肝, 腎生検材料による G-6-Pase 活性の変動をインスリン加療前後について同一人について比較検討した.

対象および方法

1. 実験的糖尿病

実験動物はすべてオリエンタル固型飼料 (CE-II 型) で飼育した雄性ウイスター系成熟ラット体重 180gm. 前後のものを使用した. 実験動物として, cortisol 糖尿病群は hydrocortisone acetate 10mg. 連日 1 週間筋肉内注射のものを, alloxan 糖尿病群は alloxan monohydrate 30mg. 2 回筋注後 2 週のを, glucose 負荷糖尿病群は 20% glucose 10ml. を連日 2 週間腹腔内注射のものをを用いた. 毎回同一条件下の対照群を用意した. 動物は断頭致死放血後ただちに肝, 腎をとりだし, G-6-Pase の活性定量, 組織化学的検索, 膝ラ氏島の態度を前報¹⁾と同一方法により検討し, G-6-Pase 活性値は $\gamma\text{P}/\gamma \text{ protein}/30\text{min.}/37^\circ\text{C.}$ で表わした. PGI は Brun らの方法²⁾に準じて測定し活性値は $\gamma \text{ fructose}/\gamma \text{ protein}/30\text{min.}/37^\circ\text{C.}$ で表わした. 血糖値は Hagedorn-Jensen 法で測定した.

2. ヒト糖尿病

ヒト糖尿病肝, 腎 G-6-Pase 活性の測定は, 同一患者のインスリン加療前とコントロール良好になつた治療後に同一日時 Silvermann 針にて肝, 腎を生検し測定に供した.

成 績

1. 実験的糖尿病

(1) cortisol, alloxan, glucose 糖尿病群の肝, 腎 G-6-Pase 活性におよぼす影響

肝, 腎 G-6-Pase 活性値を対照群活性値と比較すると, cortisol, alloxan 糖尿病群では Table 1. に示す

Table 1. Liver and kidney G-6-Pase activity in alloxan, cortisol and glucose loaded diabetic rats

Liver						
Group Animal No.	Cortisol		Alloxan		Glucose	
	Control	Tested	Control	Tested	Control	Tested
1	0.291	0.464	0.236	0.343	0.145	0.276
2	0.235	0.398	0.225	0.345	0.171	0.272
3	0.250	0.373	0.249	0.351	0.168	0.251
4	0.269	0.386	0.249	0.349	0.214	0.264
5	0.310	0.461	0.235	0.348	0.242	0.252
$\bar{x} \pm S D \#$	0.271 $\pm$ 0.032	0.416 $\pm$ 0.046**	0.239 $\pm$ 0.011	0.347 $\pm$ 0.003**	0.188 $\pm$ 0.042	0.263 $\pm$ 0.012**

Kidney						
Group Animal No.	Cortisol		Alloxan		Glucose	
	Control	Tested	Control	Tested	Control	Tested
1	0.271	0.319	0.360	0.414	0.222	0.208
2	0.266	0.366	0.367	0.422	0.272	0.264
3	0.256	0.390	0.340	0.444	0.238	0.207
4	0.248	0.312	0.342	0.405	0.281	0.216
5	0.267	0.341	0.346	0.421	0.258	0.205
$\bar{x} \pm S D \#$	0.262 $\pm$ 0.020	0.346 $\pm$ 0.035**	0.351 $\pm$ 0.013	0.421 $\pm$ 0.015**	0.254 $\pm$ 0.026	0.220 $\pm$ 0.027

Activity : γ phosphorus liberated per γ protein per 30 minutes at 37°C.

: mean with standard deviation.

** : $p < 0.01$

ように肝, 腎とも有意に活性の増加を認めた. (cortisol 対照群肝 0.271 ± 0.032 , 糖尿病群肝 0.416 ± 0.046 , 対照群腎 0.262 ± 0.020 , 糖尿病群腎 0.346 ± 0.035 ; alloxan 対照群肝 0.239 ± 0.011 , 糖尿病群肝 0.347 ± 0.003 , 対照群腎 0.351 ± 0.013 , 糖尿病群腎 0.421 ± 0.015). glucose 負荷糖尿病群では肝で有意の活性増加を認めたが (対照群肝 0.188 ± 0.042 , 糖尿病群肝 0.263 ± 0.012), 腎では有意の変動を認めなかった (対照群腎 0.254 ± 0.026 , 糖尿病群腎 0.220 ± 0.027).

(2) cortisol, alloxan, glucose 糖尿病群の肝, 腎 G-6-Pase 活性と PGI 活性ならびに血糖値との関係

Fig. 1., 2. に肝, 腎 G-6-Pase 活性とともに同一実験群, 対照群各 5 例の PGI 活性値と血糖値の平均値を示した. PGI 活性値は肝, 腎とも, cortisol, alloxan 糖尿病群で G-6-Pase とまったく同一の態度をとって有意に増加したが (cortisol 肝対照群 4.15 ± 0.94 , 肝糖尿病群 9.28 ± 0.98 , 腎対照群 8.23 ± 1.06 , 腎糖尿病群 12.10 ± 0.86 ; alloxan 肝対照群 3.95 ± 0.51 , 肝糖尿病群 6.90 ± 0.46 , 腎対照群 7.13 ± 0.39 , 腎糖尿病群 9.97 ± 1.02), glucose 負荷糖尿病群では肝, 腎とも有意の変動を認めなかった (glucose 肝対照群 3.70 ± 0.94 , 肝糖尿病群 3.96 ± 0.47 , 腎対照群 7.30 ± 1.66 , 腎糖尿病群 7.89 ± 0.68).

これらの実験群の血糖値は cortisol 糖尿病群が 282 ± 30.3 , alloxan 糖尿病群が 438 ± 68.1 , glucose 負荷

Fig. 1. Comparison of liver G-6-Pase, PGI activity and blood glucose level in cortisol, alloxan and glucose loaded diabetic rats.

Open bar : mean value of control group (five animals).

Hatched bar : mean value of treated group (five animals).

G-6-Pase activity : γ phosphorus liberated per γ protein per 30 minutes at 37°C.

PGI activity : γ fructose produced per γ protein per 30 minutes at 37°C.

Blood glucose level : mg. per dl.

** : $p < 0.01$

Fig. 2. Comparison of kidney G-6-Pase, PGI activity and blood glucose level in cortisol, alloxan and glucose loaded diabetic rats.

Open bar : mean value of control group (five animals).

Hatched bar : mean value of treated group (five animals).

Activity is expressed as shown in Fig. 1.

** : $p < 0.01$

糖尿病群が 463 ± 14.8 (mg/dl) といずれも対照群に比し有意の高血糖値を示した。

(3) 肝、腎 G-6-Pase 活性の組織化学的検索

cortisol, alloxan 糖尿病動物および glucose 負荷糖尿病動物の肝、腎 G-6-Pase の実験群、対照群各 5 例の組織化学的検索の結果は cortisol, alloxan 糖尿病動物では肝、腎とも対照に比し著明な活性増加を示す組織所見を呈している。

負荷群ではわずかに活性の増加を肝で認めた。腎ではほとんど変化を示さなかつた。Photo. 1, 2 に cortisol, alloxan 糖尿病動物の G-6-Pase 活性の増加した腎所見を示した。処置の相違による肝、腎の活性変動の組織部位的特徴は認めなかつた。腎での増加の部位は主に近位尿細管細胞で糸球体はいずれの処置でも対照と同様活性をほとんど認めなかつた。

(4) 膝ランゲルハンス氏島の態度

以上実験に供した cortisol, alloxan, glucose 負荷糖尿病群の膝ランゲルハンス氏島の組織所見を対照群と比較すると, cortisol 糖尿病群では β 細胞の肥大, 増生を, また島自身の肥大, 新生を認めた。(Photo. 3.). alloxan 糖尿病群では β 細胞の著減と α 細胞の増生を認めた (Photo. 4.). glucose 群では β 顆粒の減少, β 細胞の軽度肥大を認め島の変化は認めなかつた (Photo. 5.).

2. ヒト糖尿病

ヒト糖尿病患者における肝、腎 G-6-Pase 活性を insulin 加療前と、加療後に肝、腎を同一日に生検し測定した。対象とした患者は18才から63才までの入院患者で男子2例、女子3例、計5例である。

Photo. 1. Distribution of G-6-Pase in cortisol treated rat kidney. ($\times 100$)

The enzymatic activity increased, compared with that of normal rat kidney. Incubated for 15 minutes in G-6-P, adjusted to pH 6.5.

Photo. 2. Distribution of G-6-Pase in alloxan treated rat kidney. ($\times 100$)

The enzymatic activity increased, compared with that of normal rat kidney.

Photo. 3. Islet of Langerhans' in cortisol treated rat.

There are revealed hypertrophy and hyperplasia of the β -cells as well as hypertrophy and newformation of the islet them selves, compared with islet of normal rat. (PHE, $\times 100$)

Photo. 4. Islet of Langerhans' in alloxan treated rat.

There are revealed marked decrease in the number of the β -cells and hyperplasia of the α -cells were observed, compared with islet of normal rat. (PHE, $\times 100$)

Photo. 5. Islet of Langerhans' in glucose loaded rat.

There are revealed no appreciable change, compared with islet of normal rat. (PHE, $\times 100$)

療2ヶ月後一尿糖2g/日以下, 血糖負荷試験, 空腹時120, 負荷後1時間203, 負荷後2時間129mg/dl—第2回目 (insulin 加療後) の肝, 腎生検を施行す。

症例2. A.S. 20才, 男, 公務員。

心悸亢進, 口渴を主訴として来院す。母親が糖尿病で加療中。約3年前に糖尿病と言われているが加療を受けていない。体格小, 栄養中等度。血圧最高値120, 最低値70mmHg。心濁音界正常, 心音純。知覚障害は認めないが腱反射は低下している。ECGに異常所見を認めない。赤血球数 465×10^4 , 白血球数8200, Hb 85% (ザーリー)。尿蛋白陰性, 比重1033, 尿糖2.3g/dl, アセトン体陰性。1日尿量3000~4900ml, 1日尿糖量98~230g, PSP正常。眼底所見に異常を認めず。肝機能検査所見正常。血糖負荷試験 (50g. ブドウ糖) 空腹時191, 負荷後1時間333, 負荷後2時間276mg/dl。 (入院後第1回目—insulin 加療前—肝, 腎生検施行)。

食餌制限 (1900Cal.) と insulin 50 単位/日で加療コントロール3ヶ月後一尿糖1日10g以下, 血糖負荷試験, 空腹時133, 負荷後1時間240, 負荷後2時間189mg/dl—第2回目 (insulin 加療後) の肝, 腎生検を施行す。

症例3. J.T. 30才, 男, 会社員。

口渴と全身倦怠感を主訴として末院す。肺結核の既往歴がある。糖尿病の家族歴はない。来院約6ヶ月前より口渴を自覚しだし最近その程度が増強したという。また背部, 臀部に癬をみるものがたびたびあるという。体格, 栄養中等度。血圧最高値120, 最低値76mmHg。心濁音界正常, 心音純。知覚障害は認めないが腱反射は低下している。胸部レ線所見にて左上肺野に陳旧性結核病巣を認める。ECGには異常所見を認めない。赤血球数 455×10^4 , 白血球数5500, Hb 97% (ザーリー)。尿蛋白弱陽性, 比重1030, 尿糖5.6g/dl, アセトン体陰性。1日尿量1800~2600ml, 1日尿糖量76~125g, PSP正常。眼底に異常所見を認めない。肝機能検査所見正常。血糖負荷試験 (50g. ブドウ糖) 空腹時274, 負荷後1時間404, 負荷後2時間394mg/dl。 (入院後第1回目—insulin 加療前—肝, 腎生検施行)。

食餌制限 1900Cal.) と insulin 80 単位/日の加療コントロール6ヶ月後一尿糖10g/日以下, 血糖負荷試験, 空腹時135, 負荷後1時間219, 負荷2時間239mg/dl—第2回目 (insulin 加療後) の肝, 腎生検を施行す。

症例4. F.Y. 46才, 女, 主婦。

口渴を主訴として来院す。家族歴, 既往歴には特記すべきものはない。約1年前より口渴を自覚しだし, 最近食欲増進, 多尿にも気づくようになった。体格中等度, 栄養良好。血圧最高値126, 最低値98mmHg。

症例1. S. M. 18才, 女, 会社員。

口渴を主訴として来院す。家族歴, 既往歴には特記すべきものはない。約1年前より口渴を自覚し, 入院前には多尿, 多食にも気づくようになった。体格, 栄養は中等度。血圧最高値130, 最低値80mmHg, 心濁音界正常, 心音純。知覚障害認めず。腱反射正常。胸部レ線, ECGに異常所見を認めない。赤血球数 400×10^4 , 白血球数7200, Hb 83% (ザーリー)。尿蛋白陰性, 尿糖1.5g/dl, 尿アセトン体陰性, 1日尿糖量8~20g, PSP正常。眼底所見に異常を認めず。肝機能検査所見正常。血糖負荷試験 (50g. ブドウ糖) 空腹時184, 負荷後1時間332, 負荷後2時間242mg/dl。 (入院後第1回目—insulin 加療前—肝, 腎生検施行)。

食餌制限 (2000Cal.) と insulin 10 単位/日の加

心濁音界正常, 心音純, 知覚障害なし, 腱反射正常, ECG に異常所見を認めない. 赤血球数 425×10^4 , 白血球数 5200, Hb 98% (ザリー). 尿蛋白陰性, 尿糖 1.8g/dl, アセトン体陰性. 1 日尿量 1200~1600ml., 1 日尿糖量 16~36g. PSP 正常. 眼底所見に異常を認めず. 血糖負荷試験 (50g. ブドウ糖) 空腹時 172, 負荷後 1 時間 232, 負荷後 2 時間 210mg/dl. (入院後第 1 回目—insulin 加療前—肝, 腎生検施行).

食餌制限 (1700Cal.) と insulin 15 単位/日で加療コントロール 1 ヶ月後—尿糖 1 日 5g 以下, 血糖負荷試験, 空腹時 107, 負荷後 1 時間 180, 負荷後 2 時間 130mg/dl—第 2 回目 (insulin 加療後) の肝, 腎生検を施行す.

症例 5. A.U. 63 才, 女, 無職.

口渴を主訴として来院す. 肺結核の既往歴がある. 糖尿病の家族歴はない. 来院 1 年前より口渴を自覚しだし, 約 6 ヶ月前頃より多食, 多尿, 下肢の神経痛様の疼痛も自覚するようになった. 体格, 栄養中等度. 血圧最高値 150, 最低値 96mmHg. 心濁音界左に 1.5 横指拡大, 心音純. 両下腿に触覚の鈍麻を認め, 腱反射は低下している. 赤血球数 421×10^4 , 白血球数 4800, Hb 85% (ザリー). 尿蛋白陰性, 尿糖 2.8g/dl, 1 日尿量 1600~2000ml., 1 日尿糖量 38~120g. 尿アセトン体陰性. PSP 正常. 眼底所見は動脈硬化 (KW 1 度) の所見を認める. ECG 所見は左室肥大. 肝機能検査所見に異常を認めない. 血糖負荷試験 (50g. ブドウ糖) 空腹時 156, 負荷後 1 時間 288, 負荷後 2 時間 186mg/dl. (入院後第 1 回目—insulin 加療前—肝, 腎生検施行).

食餌制限 (1700Cal.) と insulin 45 単位/日で加療コントロール 3 ヶ月後—尿糖 10/日以下, 血糖負荷試験, 空腹時 126, 負荷後 1 時間 186, 負荷後 2 時間 160mg/dl—第 2 回目 (insulin 加療後) の肝, 腎生検を施行す.

結果を Fig. 3 に示した. 加療前対象とした患者はいずれも clinical diabetes の状態で, 加療後はコントロール良好になった時期を選んだ. 肝, 腎 G-6-Pase 活性は insulin 加療後は加療前に比しすべての症例で活性の低下を認めた.

考 案

1. 実験的糖尿病

先人による従来の業績を考慮に入れて本研究の示す 2~3 の問題点に焦点をしぼって考察し, 実験的糖尿病における肝, 腎 G-6-Pase, PGI 活性変動の意義を論じてみよう.

(1) 実験的糖尿病動物の肝, 腎 G-6-Pase, PGI 活性について

cortisol 投与による血糖の上昇, 肝糖原増加の報告は多く³⁾⁴⁾⁵⁾, その原因として Renold ら⁶⁾は蛋白からの糖新生増加を注目し, また pyruvate からの糖新生亢進も多くの人々によつて認められてきた⁷⁾⁸⁾⁹⁾. 肝内酵素活性の変動もよく追求されてをり, 糖新生系の key enzyme である G-6-P-ase¹⁰⁾, FDPase¹¹⁾, phosphoenolpyruvate carboxykinase¹²⁾, pyruvate carboxylase¹³⁾ などはいずれも活性増加が認められ, その他

Fig. 3. Liver and kidney G-6-Pase activity in biopsy samples from human diabetics before and after insulin treatment.

Before : before insulin treatment.

After : after insulin treatment.

G-6-Pase activity : γ phosphorus liberated per γ protein per 30 minutes at 30°C.

transaminase¹⁴⁾, PGI¹¹⁾, phosphoglucomutase¹¹⁾などの活性上昇も報告されている。しかし糖利用系の glucokinase¹⁵⁾, phosphofructokinase¹⁶⁾や糖原分解に関与する phosphorylase¹⁷⁾, 5炭糖回路の G-6-PD¹⁸⁾などは活性が増加するとも、減少するとも報告されている。最近 Weber ら¹⁹⁾は cortisol が G-6-Pase などの4種の糖新生系酵素を誘導するとの注目すべき見解を発表し、その結果糖新生亢進がおこるものと解釈している。

alloxan 糖尿病では糖利用の低下がみられるのであるが²⁰⁾, 糖新生系に関してはステロイド糖尿病の場合と同じく亢進しており、肝酵素活性の変動についても G-6-Pase など²¹⁾の糖新生系酵素活性の上昇が報告されてきた。これについても Weber¹⁹⁾は cortisol による糖新生系酵素の誘導をインスリンが抑制すると述べ、糖尿病においてはこの抑制がとれるために糖新生亢進がくるものと説明している。

一方腎の糖代謝についてはその報告は少ない²²⁾。cortisol 投与による G-6-Pase 活性上昇の報告もあるが²³⁾²⁴⁾, 最近糖尿病動物で腎にも糖新生亢進の存在するとの報告もあるが、その意義づけはまだ判然としたものではない²²⁾。

著者は前報¹⁾において肝、腎 G-6-Pase 活性が甲状腺機能の変化に応じて鋭敏に反応し、糖新生の状態を反映するものとの見解をのべ、腎 G-6-Pase がよく肝のそれと一致した態度をとるのに注目して腎が肝とともに生体内糖調節に関与する可能性を指摘した。

本研究の酵素活性測定の結果をまとめてみると、cortisol 投与糖尿病動物においても、alloxan 糖尿病動物においても肝、腎 G-6-Pase はともに活性上昇し、糖新生亢進を忠実に示しているものと考えられる。ここでもまた腎 G-6-Pase は肝とよく一致した動きを示し、ホルモン異常に際して肝と同じく活発な反応を示すものと考えられる。また PGI 活性が G-6-Pase と同じ態度をとって変動したことも注目すべき成績と思われる。

ステロイド糖尿病、アロキサン糖尿病いずれについても G-6-Pase も PGI も一様に肝、腎ともに活性上昇に動いているようであるが、Fig. 1, 2. の結果について詳細に眺めてみると必ずしも一様ではない。各実験群の成績を平均値について対照に対する増減を%で表わし各条件別に比較してみると次のようである。

a) cortisol 群と alloxan 群の比較: G-6-Pase 活性についてみると肝では cortisol 群で +53%, alloxan 群で +45%, 腎では cortisol 群で +32%, alloxan 群で +19%であり、PGI 活性についてみると肝では cortisol 群で +117%, alloxan 群で +72%, 腎では cortisol 群で +46%, alloxan 群で +39%であった。cortisol 投与糖尿病と alloxan 糖尿病との比較については、cortisol の投与量、投与期間によっても異なり、alloxan 糖尿病の程度によっても違うと思われるので結論的なことは言えない。しかし本研究において著者の取りあげた条件では cortisol 投与糖尿病群での G-6-Pase, PGI の活性上昇が alloxan 群に比べて肝、腎ともに大であった。

b) 肝、腎の活性変動の比較: G-6-Pase 活性についてみると、対照に比し cortisol 群では肝で +53%, 腎で +32%, alloxan 群では肝で +45%, 腎で +19%の増加である。また PGI 活性についてみると、cortisol 群では肝で +117%, 腎で +46%, alloxan 群では肝で +72%, 腎で +39%の増加であった。

実験糖尿病において G-6-Pase は肝での活性増加が著明であり、腎は同じく増加するがその程度がより軽度であるといえる。PGI も同じ傾向を示している点が興味深い。

c) G-6-Pase と PGI の活性変動の比較: cortisol 群の肝では G-6-Pase +53%, PGI +117%, 腎では G-6-Pase +32%, PGI +46% の増加がみられた。alloxan 群の肝では G-6-Pase +45%, PGI +72%, 腎では G-6-Pase +19%, PGI +39% の増加がみられた。

G-6-Pase の活性変動よりも PGI のそれの方が明らかに大であった。bifunctional enzyme の1つである PGI²⁵⁾が糖新生系の key enzyme としての G-6-Pase²⁵⁾とよく一致した動きを示しながら、しかもより敏感に糖尿病状態に反応している点は極めて注目すべき成績である。

(2) 腎酵素活性の動きについて

すでに述べたように著者は前報¹⁾において甲状腺機能の異常にさいし腎 G-6-Pase が肝とよく一致して動

くことより腎 G-6-Pase もホルモン支配をうける可能性をのべてきた。本研究結果からも cortisol 過剰による糖尿病状態でも、インスリン欠乏による alloxan 糖尿病の場合でも等しく肝, 腎とともに活性上昇をもつて反応している。腎でのこの糖新生系酵素の活性上昇が何何を意味するかは興味深い問題である。腎糸球体は glucose のような低分子の物質を自由に通過させると考えられるので、糖尿病状態の腎では過血糖により glucose の濾過量が増加し、尿細管での glucose 再吸収もまた一定程度までは増加する。G-6-Pase 活性の増加はこの再吸収増加を反映するのか、あるいは肝と同じく糖新生亢進を物語るとはいずれとも決めがたい。この点を解明する目的で糖負荷過血糖動物の実験を加えた。この動物での成績はあきらかに過血糖を示しながら腎 G-6-Pase 活性は不変であつた。すなわち、G-6-Pase は過血糖にもとづく二次的な糖再吸収の増加によつて活性が上昇してくるのでなく、ホルモン異常に敏感に反応して活性が上昇しているものと考えられる。これらの成績から腎 G-6-Pase はその反応程度は前述したように肝より軽度であるが、肝と同じくホルモン支配をうけているものと考えられ、糖尿病動物では腎においても糖新生亢進の存在する可能性が考えられる。教室の竹内、笠原ら²⁶⁾はこの G-6-Pase の動きに注目して内臓別出動物で実験し、糖尿病動物の *in vivo* での腎糖新生亢進の存在を確かめている。

(3) G-6-Pase, PGI 活性変動の意義

PGI 活性がホルモン異常に際して糖新生系酵素である G-6-Pase とよく一致する点については既に述べてきた。本研究で糖負荷糖尿病群の肝でのみ不一致の成績がみられる。G-6-Pase は活性上昇しているのに PGI は活性の変動をみないのである。一般に糖負荷動物ではインスリンの過分泌を伴ない、肝 glucokinase も増加してくるので²⁷⁾、肝糖代謝としては糖利用促進に傾くと考えられるので、PGI の step でも G-6-P から F-6-P の方向に代謝の流れは盛んなものと思われる。この場合の G-6-Pase 活性上昇の機序について考えてみると、糖負荷で糖新生亢進が生ずると考え難いことであり、cortisol の過分泌もまた考えにくい。G-6-Pase はホルモン支配、特に cortisol の強力な支配をうけるようではあるが、それ以外の因子でも動きうるものと考えられ、この場合 glucokinase 活性の上昇を介して基質である G-6-P の細胞内での増加が考えられるのであり、基質による本酵素誘導の可能性が推測される。次に既に指摘したところであるが PGI 活性が G-6-Pase よりもより敏感に変動していた成績はこれまでの通念に反する所見であり、強調しておきたい点でもある。Weber ら²⁵⁾によれば PGI のごとき酵素は律速段階にはなりにくく、その変動もより鈍感であるべきであるが、糖新生系の律速酵素である G-6-Pase よりもより敏感に糖新生亢進状態に反応しており、また糖新生の考えにくい糖負荷群の肝で G-6-Pase 活性が上昇しているのに PGI は不変であつた事実は極言すれば PGI の方が G-6-Pase より忠実に糖新生を反映する可能性も考えられる。このように考えると G-6-Pase と PGI が共に一致した変動を示す時は pyruvate を経由する糖新生系の動きを物語ると理解してよいであろう。

(4) 肝, 腎 G-6-Pase 組織化学的検索とその意義

肝における組織化学的検索による G-6-Pase 活性は G-6-Pase 活性定量と同一の態度で増加を示し、活性増加の肝内における組織部位的特徴は特に認められず、腎における増加も近位尿細管細胞における変動が主で、糸球体には活性を認めず活性変動に関与しない。Lee ら²⁸⁾によれば腎皮質内糖新生の中心である pyruvate からの glucose 産生は髄質では認められないとしているし、腎の糖新生の場合は G-6-Pase の分布領域と密接は相関があることが推察され²⁹⁾、本研究よりも腎糖新生の場合は皮質内近位尿細管細胞と推察される。

(5) 膵ランゲルハンス氏島の態度

膵組織検索の結果については cortisol 投与糖尿病動物と alloxan 糖尿病動物とでのランゲルハンス氏島組織所見の明らかな対照が印象的である。すなわち前者ではランゲルハンス氏島自体の増生と肥大があり、また島内での β 細胞の著明な増生が目立つのであるが、これらは cortisol 投与による糖新生亢進、過血糖にたいする反応性の変化と考えられる。この組織所見のみから現在のランゲルハンス氏島機能を推測することは危険であるが、少なくとも cortisol が生体内糖代謝に与えてきた影響の一面の歴史を物語ると受け取ることができるであろう。一方 alloxan 糖尿病ではランゲルハンス氏島自体も萎縮性であり、 β 細胞

の著減が特徴的である。同じく糖新生亢進所見を示し、糖尿病状態ではあるが、この2種類の実験的糖尿病の本質的な相違がよく理解できる所見と思われる。

2. ヒト糖尿病

1957年 Weber³⁰⁾ が正常ラットとヒトの肝内 G-6-P に連なる4つの酵素、すなわち phosphoglucomutase, PGI, G-6-Pase, G-6-PD について検討を加え、これらの酵素はラットでもヒトでも同一の活性態度を示すことを報告した。糖尿病肝生検材料による G-6-Pase 活性の研究は1957年 Patrick ら³¹⁾ によつて報告され上昇した活性は insulin あるいは carbutamide 加療により低下することが報告された。武内ら³²⁾ は加療前の糖尿病肝生検の G-6-Pase 活性を組織化学的に糸球体腎炎、本態性高血圧症などと比較検討し、酵素活性の差異は認めなかつたとしているが、これは組織化学的な検討であつて量的な関係を確実にいいうるものとは思えない。著者は同一糖尿病患者について肝、腎生検を同時に行ない、さらに insulin 加療前、後に分けて G-6-Pase 活性を測定比較すると insulin 加療によりコントロールが良好になつた後は加療前に比し肝、腎とも活性の低下を認めた。insulin が糖新生系に関与する酵素活性を低下させることは明らかで³³⁾、ヒト肝、腎の糖尿病状態での糖新生亢進像を insulin により正常に復帰させた所見と考えられる。

結 語

ホルモン環境変動下の肝、腎 G-6-Pase 活性の変動をラット実験的糖尿病として cortisol 糖尿病群、alloxan 糖尿病群、glucose 負荷糖尿病群について測定し合わせて PGI 活性の変動、血糖値の変動、肝、腎 G-6-Pase の組織化学的検索、膵ランゲルハンス氏島の態度を同一動物で検討し、さらにヒト糖尿病肝、腎 G-6-Pase 活性の変動を insulin 加療前後について測定し次の結果をえた。

1. cortisol, alloxan 糖尿病の肝、腎 G-6-Pase 活性は同一態度をとりともに活性増加を示し、糖新生亢進を反映する動きを示した。
2. glucose 負荷糖尿病群では過血糖のみが酵素活性を司る因子でないことを示唆する所見をえた。
3. 肝、腎 G-6-Pase と PGI 活性の比較で PGI 活性は糖新生の key enzyme の1つである G-6-Pase と類似の態度をとり、何んらかの意味で PGI も rate limiting enzyme となつて生体内糖代謝に関与しているものと思われる。
4. 肝、腎 G-6-Pase の組織化学的検索では活性値定量と同一の態度をとつたが、各処置による肝、腎の活性変動の部位的特徴は認めなかつた。腎糖新生の作用の場は近位尿細管細胞と思われる。
5. 膵ランゲルハンス氏島の態度は cortisol 糖尿病群では β 細胞の肥大、増生、島自身の肥大、新生を認め、alloxan 糖尿病群では β 細胞の著減と α 細胞の増生を認め、glucose 負荷糖尿病群では対照との間に著変を認めなかつた。
6. ヒト糖尿病 insulin 加療前後の肝、腎生検による G-6-Pase 活性の変動は肝、腎とも加療コントロール後は活性低下を認めた。
7. 肝、腎 G-6-Pase は生体内でともにホルモン支配をうけ生体内糖代謝調節に関与しているものと思われる。

終りに臨み、御校閲を賜つた早瀬正二教授、御助言を賜つた木島滋二前教授、法医学教室須山弘文教授に深謝するとともに、終始御指導御鞭撻を賜つた竹内三郎講師に深謝する。また法医学教室前岡勇夫博士、中央検査室青木教学兄の御教示、御助言に感謝する。

本論文の要旨は第37回日本内分泌学会総会（昭. 39. 6. 東京）、第6回医化学シンポジウム総会（昭. 41. 12. 大阪）にて発表した。

文 献

- 1) 杉山弘和 : 日内分泌誌, 44 : 769, (1968).
- 2) BRUNS, F.H. and K. HINSBERG : Biochem. Z., 325 : 532, (1954).
- 3) DE BODO, R.C. and N. ALTSZULER : Physiol. Rev., 38 : 389, (1958).
- 4) 正木清孝 : 日内分泌誌, 37 : 12, (1962).
- 5) 宮城 健 : 日内分泌誌, 40 : 12, (1965).
- 6) RENOLD, A.E., C.T. TENG, F.B. NESBETT and A.B. HASTINGS : J. Biol. Chem., 204 : 535, (1953).
- 7) FAJANS, S.S. : Metabolism, 10 : Metabolism, 10 : 951, (1961).
- 8) THORN, G.W., A.E. RENOLD and G.E. CAHILL, JR. : Diabetes, 8 : 337, (1959).
- 9) KVAM, D.C. and R.E. PARKS, JR. : Am. J. Physiol., 198 : 21, (1960).
- 10) WEBER, G. and A. CANTERO : Cancer Res., 15 : 105, (1955).
- 11) WEBER, G. : Advan. Enzyme Regulation, 1 : 1, (1963).
- 12) LARDY, H.A., D.O. FORSTER, E. SHRAGO and P.D. RAY : Advan. Enzyme Regulation, 2 : 39, (1964).
- 13) CHAIKOFF, I.L. and W.M. FITCH : Biochim. Biophys. Acta., 57 : 588, (1962).
- 14) 王子亘由 : 日内分泌誌, 36 : 1944, (1961).
- 15) VINUELA, E., M. SALAS and A. SOLS : J. Biol. Chem., 238 : 1175, (1963).
- 16) 弓狩康三 : 代謝, 2 : 16, (1965).
- 17) KERPPOLA, W. : Endocrinol., 51 : 192, (1952).
- 18) TEPPERMAN, H.M. : Am. J. Physiol., 202 : 401, (1962).
- 19) WEBER, G., R.L. SINGHAL, N.B. STAMM and S.K. SRIVASTAVA : Federation Proc., 24 : 745, (1965).
- 20) ASHMORE, J., G.F. CAHILL, JR., A.B. HASTINGS and S. ZOTTU : J. Biol. Chem., 224 : 225, (1957).
- 21) 原田隆浩, 楯野正幸, 中野春子, 奥田拓道, 藤井節郎 : 医化学シンポジウム, 6 : 65, (1966).
- 22) 竹内三郎, 永井俊夫, 細川禎正, 杉下 功, 杉山弘和, 加藤賢治, 伊東毅, 笠原信男, 佐橋守正, 森 矩尉, 若園昌稔 : 日内会誌, 54 : 78, (1965).
- 23) ASHMORE, J. and G. WEBER : Vitamins and Hormones, 17 : 91, (1959).
- 24) FROESCH, E.R., J. ASHMORE and A.E. RENOLD : Endocrinol., 62 : 614, (1958).
- 25) WEBER, G., R.L. SINGHAL and S.K. SRIVASTAVA : Advan. Enzyme Regulation, 3 : 43, (1965).
- 26) 笠原信男 : 近日発表予定.
- 27) 杉山弘和, 森 矩尉, 竹内三郎 : 医化学シンポジウム, 6 : 72, (1966).
- 28) WAGLE, S.R. : Diabetes, 15 : 19, (1966).
- 29) MCCANN, W.P. : Am. J. Physiol., 203 : 572, (1962).
- 30) WEBER, G. and A. CANTERO : Science, 126 : 977, (1957).
- 31) PATRICK, S.J. and J.A. TULLOCH : Lancet, 1 : 811, (1957).
- 32) 武内重五郎, 高沢 至, 高松弘明, 和田美知子 : Nephrology, 8 : 96, (1966).
- 33) FREEDLAND, R.A., T.L. CUNLIFFE and J.G. ZINKL : J. Biol. Chem., 241 : 5448, (1966).