Studies on Hexokinase and Glucokinase in Rat Liver

I. Effects of Fasting, Insulin and Cortisol on the Enzyme Activity

Noriyasu MORI

(The Second Department of Medicine, Gifu University School of Medicine)

In order to elucidate possible influences of certain hormones on the activity of hexokinase (HK) and glucokinase (GK) which play important roles in the initial step of sugar utilization, effect of fasting on the activity of these enzymes in rat liver, effect of insulin on the activity in the liver of alloxan-diabetic rats and also influences of varied hormonal environments on the activity in steroid-diabetic rats were investigated.

1. Markedly lowered level of the GK activity in rat liver as the result of fasting was restored almost to the normal level upon refeeding. The HK activity also tended to be decreased by fasting, and showed a tendency toward restoration after refeeding.

2. Remarkable fall in the GK activity was also observed in alloxan-diabetic animals which was restored almost to the normal level by insulin treatment for 48 hours. The HK activity also showed a similar tendency, though not being significant statistically.

3. In the liver of steroid-diabetic rats under the condition employed in the present study, the GK activity level proved to be higher than normal, and when insulin was administered to these animals, the level was increased furthermore.

4. The liver GK activity of adrenalectomized rats was significantly lower than normal and it was recovered nearly to the normal level by cortisol treatment.

5. Cortisol administration to alloxan-diabetic animals did not bring any increase in the enzyme activity, but, on the contrary, caused further decrease.

6. Upon alloxan treatment of rats followed by adrenalectomy, the liver GK activity was decreased notably, and when insulin was administered to these animals, restoration of the activity was observed. The extent of this increase was not influenced significantly by an administration of 10 mg of cortisol in addition to insulin.

7. From all these results, a close relationship between insulin and the activity of the enzymes under examination was revealed and the increased liver GK activity observed on the steroid-diabetic rats under the present experimental condition was presumed to be due to the intervention of insulin oversecretion. Cortisol is considered not to inhibit the GK-inducing effect of insulin.

(See pp. 976~981)

白鼠肝 Hexokinase, Glucokinase に関する研究

第一編 絶食, インスリンおよびコルチゾールの影響について

岐阜大学医学部第二内科 (担当: 早瀬正二教授)

森 矩 尉

本論文の要旨は第39回日本内分泌学会総会 (昭和41年, 東京).
第14回日本内分泌学会西日本地方会 (昭和41年, 広島) にて発表.

(昭和44年9月1日受付)

ホルモン環境変動下におけるラット肝 Hexokinase, Glucokinase 活性の変動を絶食群, 実験的糖尿病群 (alloxan, cortisol), 副腎摘出群および alloxan 処置後に副腎摘出群に insulin, cortisol 単独および併用投与を行なった. insulin cortisol 単独および併用群で GK 活性の上昇がみられることより cortisol 投与動物において insulin 過分泌の存在することを推論した. 又 insulin による GK 活性上昇を cortisol は阻害しなかった.

緒 言

Hexokinase, Glucokinase (以下 HK, GK と略す) は glucose 利用の第一段階を受け持ち, glucose に P を附加する phosphate-transferase 酵素である. HK については古くから知られており, 基質に用いた glucose の減少からの活性値の変動について多くの研究がなされて来たが¹⁾, 更に他の一つの磷酸化酵素として最近 GK の存在が確認され²⁾, その意義についての研究が急速に進んで来た. この二つの酵素は基質である glucose に対する affinity が著しく異なり, HK は低濃度の glucose に対するのに反し GK は高濃度の glucose に対し親和性があるとされている. 哺乳動物においては, 血糖 level を維持するためには, 筋, 脂肪組織などの末梢の糖消費と同時に肝がはなはだ重要な役割を果しているが, この肝の細胞内への glucose 移行は insulin に independent と³⁾いわれており, 一方 HK は各臓器に分布しているが, GK は主に肝に存在しているといわれているが故に, 糖代謝の第一段階としての HK, GK を肝について調べることは興味深い. 著者はこの二つの酵素活性に対する数種ホルモンの影響を知る目的でこの研究を行ない, まず本編においては,

- I. 絶食および食餌再投与の影響
- II. in vivo での insulin 投与の影響
- III. glucocorticoid の影響

について調べた成績を述べる.

A. 実験動物ならびに測定方法;

1. 実験動物:

体重200g前後の雄純系 wistar rat を実験に供した. 飼料はオリエンタル固型飼料 (CE II 型) を用い, 絶食の影響を調べた実験以外は実験前12時間絶食し水は自由に与えた.

2. 動物の処置:

a) 絶食動物

24時間, 48時間, 72時間絶食させ, 72時間絶食後オリエンタル固型飼料 CE II 型を投与し6時間後に HK,

GK 活性を測定した。

b) アロキサン糖尿病動物および insulin 投与動物

alloxan monohydrate (Sigma chemical Co.) を 145mg/kg 宛筋注し 2 週間後尿糖陽性のものを使用した。又 insulin 投与動物は上記のアロキサン糖尿病動物に 1 日 2 回 2 U 宛 24 時間 および 48 時間にわたり筋注した。

c) 副腎摘出動物

副腎はエーテル麻酔下に背部より摘出しその後は 1% 食塩水を水の代りに与え飼育した。摘出後 14 日目のものを用いた。

d) ステロイド糖尿白鼠

17-hydroxycorticoid acetate (cortisol) を 10mg 宛筋注し 1 週間後尿糖陽性のものを使用した。

e) 副腎摘出後 cortisol 投与動物

副腎摘出後 7 日目より cortisol 10mg 宛 7 日間筋注した。

f) ステロイド糖尿白鼠に insulin 投与動物

cortisol 10mg 宛筋注 9 日後 insulin 2U 宛 1 日 2 回 3 日間筋注した。(この間 cortisol は続けて筋注)

g) アロキサン投与後 cortisol および insulin 投与動物

アロキサン筋注 7 日後に cortisol 10mg 宛 7 日間筋注およびこの条件にさらに insulin 2U 宛 1 日 2 回 3 日間筋注した。

h) アロキサン処置, 副腎摘出後 cortisol および insulin 投与動物

アロキサン筋注 11 日目に副腎摘出し術後 3 日目より

① insulin 4U (毎日 2 U 宛 2 回 3 日間筋注)

② cortisol 10mg 宛 3 日間投与

③ insulin (4U) と cortisol 10mg 宛を 3 日間投与したもの 3 群を用意した。

3. 測定方法:

HK, GK は glucose-6-phosphate dehydrogenase dependent spectrophotometric method を用い, Vinuela 等の変法に従った。すなわち基質に glucose を用い, 補酵素 ATP を加え生じた glucose-6-phosphate を glucose-6-phosphate dehydrogenase と TPN の存在で TPN を還元せしめ, セルの巾 1.0 cm の石英セル内で波長 340m μ での吸光度の増加を測定した。動物を断頭し肝を出来るだけ早く取り出し, 肝重量を測定後, 0.15M KCL, 0.005M EDTA, 0.005M MgCl₂ (pH 7.0) を含んだ緩衝液約 20.0cc を注射器で門脈から注入し血液を除去後, 2.0 g の切片をとりテフロン加工ホモゲナイザーを用い組織重量の 4 倍量の上記緩衝液を加え 2 分間ホモジネートした。以上の操作は全て 4.0°C の恒温室で行なった。ホモジネートを久保田遠心器を用い 12,500 g, 15 分間遠心後, 脂肪層を取り除いた上清を日立製 40P 型超遠心機で 100,500 g, 45 分間遠心しその上清を酵素液とし, その活性を測定した。酵素活性測定の反応混合液は下記のとおりである。

50mM Tris HCl Buffer

10mM MgCl₂

0.1M Glucose

0.1U G6PD

5.0mM ATP

0.6mM TPN

0.1cc Supernatant Sample

Total 4.0ml pH 7.8

上記反応混合液での測定④と平行して二つの対照をとり,

⑤, 0.1M の glucose の代りに 0.5mM glucose

©, ATP および glucose を除いたもの,
とすると

②—⑥…GK

⑥—②…HK

で表はされる.

血糖は Hagedron-Jensen 法で測定した.

単位は室温 (21.0—24.0°C) で1分間に 1 μ mole の glucose の phosphorylation を肝 1.0g 湿重量, total liver 当り, 100g body weight 当りにつき算出した.

B. 実験成績 ;

I. 絶食の影響について

GK活性は絶食の時間が長くなると次第に活性低下を示し, 肝g当りについてみると, 24時間で約 1/2 (56.0%), 48時間で約 1/3 (28.8%), 72時間で約 1/9 (11.7%)と低下を示した. このように低下した GK活性は72時間絶食後6時間食餌を再投与すると正常に近い値迄活性値の復活がみられた. (table. 1) このように絶食や食餌の再投与でGK活性の変動がみられるが, これを百分率で表はしたのが(table. 2)である. 一方HK活性も全肝重量当り, 100g体重当りでみると低下の傾向を示し, 食餌再投与で回復の傾向を示している.

Table 1. Effect of fasting and refeeding with balance diet on hepatic hexokinase and glucokinase activities of normal rats

Condition of rat	Body weight	Liver weight	per g. of liver		per whole liver		per 100g. body weight	
			HK	GK	HK	GK	HK	GK
Fed (4)	200.0 ±7.0	7.7 ±0.3	0.14 ±0.04	0.87 ±0.09	1.10 ±0.27	6.72 ±0.55	0.58 ±0.19	3.37 ±0.38
Fasted : 24 hours (5)	154.0 ** ±4.7	4.6 ** ±0.4	0.14 ±0.03	0.49 ** ±0.10	0.65 * ±0.10	2.20 * ±0.44	0.42 ±0.07	1.43 ** ±0.27
48 hours (5)	150.0 ** ±5.0	5.1 ** ±0.2	0.13 ±0.03	0.25 ** ±0.04	0.69 * ±0.14	1.28 ** ±0.22	0.44 ±0.10	0.82 ** ±0.14
72 hours (4)	151.0 ** ±5.0	4.8 ** ±0.4	0.13 ±0.02	0.10 ** ±0.02	0.60 ** ±0.15	0.46 ** ±0.04	0.38 ±0.09	0.30 ** ±0.04
Refed (4)	151.0 ** ±17.2	5.6 ** ±0.2	0.14 ±0.03	0.83 ±0.06	0.76 * ±0.15	4.58 ** ±0.38	0.49 ±0.10	2.91 ±0.24

() indicates number of rats.

* indicates statistical significance at 5 per cent level.

** indicates statistical significance at 1 per cent level.

The values indicates means and thier standard deviations

Table 2. Decreasis in percentage of liver glucokinase activity in fasted rats

Treatment	Body weight	Liver weight	GK Activity		
			per g. of liver	per whole liver	per 100g. body weight
Fed	100%	100%	100%	100%	100%
Fasted : 24 hours	77.0	69.7	56.3	32.7	42.4
48 hours	75.0	66.2	28.8	19.1	24.3
72 hours	75.5	62.3	11.7	6.8	8.9
Refed	75.5	72.7	95.4	68.2	86.3

Table 3. Effect of insulin administration on liver hexokinase and glucokinase activities of alloxan diabetic rats

Time after insulin administration	Body weight	Liver weight	Blood sugar	per g. of liver		per whole liver		per 100g. body weight	
				HK	GK	HK	GK	HK	GK
0 hour (4)	160.0 ±21.2	6.1 ±0.6	221.0 ±78.0	0.12 ±0.03	0.27 ±0.13	0.75 ±0.23	1.67 ±0.84	0.48 ±0.17	1.08 ±0.63
24 hours (4)	200.0 ±41.2	9.8 ±1.0	214.5 ±10.5	0.12 ±0.05	0.46 ±0.11	1.10 ±0.44	4.38 ** ±1.02	0.43 ±0.25	2.30 ±0.66
48 hours (4)	285.0 ±26.9	11.6 ±1.5	200.0 ±66.6	0.18 ±0.03	0.67 ** ±0.06	1.05 ±0.37	7.66 ** ±0.67	0.50 ±0.12	2.79 ** ±0.36
normal (5)	214.0 ±13.6	7.5 ±1.1	119.6 ±10.3	0.13 ±0.04	0.78 ±0.18	0.97 ±0.41	5.82 ±1.28	0.36 ±0.07	2.71 ±0.51

Each value indicate mean±SD

() : indicates number of rats

* : P<0.05

** : P<0.01

II. アロキサン糖尿病白鼠肝 HK, GK 活性とインスリン投与の効果について

table. 3 にみられるようにアロキサン糖尿病動物ではGKの著明な活性低下がみられる。正常群に比し著しく減少したアロキサン糖尿病白鼠肝のGK活性は insulin 注射後24時間で活性値の復活がみられ、48時間ではほぼ正常に近い値を示した。一方HK活性は insulin 48時間処置群で増加の傾向を示した。

III. glucocorticoid の影響について

1. 正常ならびに副腎摘出白鼠肝 HK, GK 活性におよぼす glucocorticoid の影響について

正常白鼠に cortisol 10mg 宛1週間筋注すると、体重、肝重量の有意の減少がみられ、この時血糖値は過血糖を示している (Table 4 参照)。酵素活性についてみると肝HK活性は著変を示さないが、GK活性

Table 4. Effect of cortisol on the activities of hexokinase and glucokinase in the livers of normal and adrenalectomized rats

Treatment	Body weight	Liver weight	Blood sugar	per g. of liver		per whole liver		per 100g. body weight	
				HK	GK	HK	GK	HK	GK
Nontreated (5)	214.0 ±13.6	7.5 ±1.0	119.6 ±10.3	0.13 ±0.04	0.71 ±0.14	0.97 ±0.41	5.82 ±1.28	0.36 ±0.07	2.71 ±0.51
Cortisol (5)	160.0 ** ±8.9	7.2 * ±0.3	162.2 ** ±1.7	0.11 ±0.02	0.97 * ±0.07	0.78 ±0.15	7.01 ±0.54	0.48 ±0.06	4.39 * ±0.38
Adrenalectomized (5)	241.8 ±24.2	8.4 ±0.9	180.0 ±5.6	0.11 ±0.03	0.47 ** ±0.11	0.90 ±0.31	3.97 ±1.07	0.37 ±0.11	1.66 ** ±0.48
Adrenalectomized +Cortisol (5)	198.4 ±17.7	9.0 ±1.2	167.6 ±9.1	0.08 ±0.01	0.08 ±0.16	0.69 ±0.16	7.01 ±1.09	0.36 ±0.10	3.58 ±0.74

Each value indicate Mean±SD

() : indicates number of rats

* : P<0.05

** : P<0.01

は有意 (P<0.05) に活性上昇を示した。一方副腎摘出をするとHK活性は正常に比べ著変しないが、GK活性は有意 (P<0.01) に低下するのがみられる。この摘出白鼠に摘出後1週間目より cortisol 10mg 宛7日間筋注すると低下したGK活性の復活 (P<0.01) がみられ、一方HK活性は不変であつた。

2. Steroid 糖尿白鼠肝 HK, GK 活性におよぼす insulin の影響について

Table 4 で示されたように, cortisol 投与でGK活性の上昇がみられたが, これに insulin がどのように影響するかを調べてみた. cortisol 10mg 宛筋注9日後, insulin 4U 宛3日間筋注すると (この間 cortisol は続けて筋注), cortisol 投与での過血糖は正常値近くまで低下を示し, 肝酵素ではHK活性の上昇の傾向を, GK活性は cortisol 単独の場合よりも更に活性上昇をせしめた. 一方正常群を100とした時の活性値の増加率をみると, 肝1.0g当たりでは, cortisol 投与で 39.7%, cortisol と insulin 併用で73.0%と著しい増加率を示している. (Table 5)

Table 5. Effect of insulin on the activities of hexokinase and glucokinase in the livers of cortisol treated rats

Treatment	Body weight	Liver weight	Blood sugar	per g. of liver		per whole liver		per 100g. body weight	
				HK	GK	HK	GK	HK	GK
Non-treated (5)	206.0 ±10.4	6.9 ±0.7	126.8 ±11.2	0.12 ±0.02	0.63 ±0.08	0.87 ±0.21	4.40 ±0.67	0.42 ±0.10	2.14 ±0.30
Cortisol (5)	144.3 ** ±15.0	9.5 ±0.6	174.4 ** ±41.1	0.12 ±0.03	0.88 * ±0.15	0.80 ±0.20	5.70 ±1.05	0.55 ±0.13	3.94 ** ±0.66
Cortisol+Insulin (5)	140.0 ±11.0	6.6 ±0.6	137.6 ±34.0	0.15 ±0.02	1.09 ** ±0.11	0.99 ±0.16	7.11 ** ±0.82	0.71 ±0.11	5.04 ** ±0.84

Each value indicate Mean±SD

(): indicates number of rats

*: P<0.05

**: P<0.01

3. アロキサン糖尿病白鼠肝 HK, GK 活性におよぼす cortisol と insulin の影響について

以上の実験より cortisol 処置で上昇したGK活性は insulin 処置で更に活性上昇することが判つた. 次に insulin 欠乏と考えられるアロキサン処置白鼠で cortisol と insulin の影響を in vivo で調べてみた. アロキサン筋注14日後に cortisol 10mg 宛7日間筋注すると, アロキサン処置で低下したGKは更に活性低下を示し, 有意 (P<0.01) の低下がみられた. 同じような条件で cortisol と insulin 2U 宛1日2回3日間筋注すると, 低下したGK活性の復活がみられた. 一方HK活性は alloxan, cortisol および insulin 等の処置で有意の変化は認められなかつた. (Table 6)

4. アロキサン処置後副腎摘出した白鼠肝 HK, GK 活性におよぼす insulin の誘導効果と cortisol の影響について

Table 7 に示すようにアロキサン加副腎摘出条件下ではGK活性は著減するが, これに insulin 投与を

Table 6. Effect of insulin and cortisol on the activities of hexokinase and glucokinase in the livers of alloxan diabetic rats

Treatment	Body weight	Liver weight	Blood sugar	per v. of liver		per whole liver		per 100g. body weight	
				HK	GK	HK	GK	HK	GK
Alloxan (5)	198.0 ±30.6	8.5 ±2.0	377.0 ±35.9	0.12 ±0.02	0.20 ±0.08	0.98 ±0.28	1.44 ±0.24	0.48 ±0.10	0.68 ±0.08
Alloxan+Cortisol (5)	152.0 ±13.3	7.3 ±0.6	369.0 ±106.7	0.10 ±0.02	0.05 ** ±0.01	0.80 ±0.14	0.26 ** ±0.06	0.52 ±0.06	0.26 ** ±0.03
Alloxan+Cortisol+Insulin (5)	178.0 ±23.1	8.8 ±1.5	186.2 ±7.7	0.10 ±0.04	0.34 * ±0.06	0.96 ±0.26	3.02 ** ±0.70	0.52 ±0.14	1.70 ** ±0.38

Each value indicate Mean±SD

(): indicates number of rats

*: P<0.05

**: P<0.01

Table 7. Effect of insulin and cortisol on the activities of hexokinase and glucokinase in the livers of alloxan diabetic adrenalectomized rats

Treatment	Body weight	Liver weight	Blood sugar	per g. of liver		per whole liver		per 100g. body weight	
				HK	GK	HK	GK	HK	GK
Nontreated (5)	180.0	7.6 ±0.5	140.4 ±9.2	0.18 ±0.04	0.92 ±0.26	1.32 ±0.18	6.98 ±2.06	0.68 ±0.16	3.82 ±1.10
Alloxan+Adrenalectomized (5)	153.0 ±24.0	6.6 ±1.4		0.18 ±0.08	0.14 ±0.10	0.94 ±0.52	1.02 ±1.36	0.76 ±0.40	0.46 ±0.14
Alloxan+Adx.+Cortisol (4)	180.0 ±32.4	8.3 ±1.5	363.0 ±70.9	0.06 ±0.02	0.08 ±0.05	0.42 ±0.18	0.72 ±0.53	0.26 ±0.05	0.36 ±0.23
Alloxan+Adx.+Insulin 4U (5)	240.0 ±20.0	9.2 ±0.7	118.8 ±25.0	0.14 ±0.06	0.56 ±0.22	1.22 ±0.62	4.70 ±1.86	0.54 ±0.30	1.94 ±0.68
Alloxan+Adx.+Cortisol+Insulin (5)	180.0 ±14.1	8.7 ±0.9	200.7 ±16.0	0.14 ±0.04	0.64 ±0.20	1.28 ±0.38	5.66 ±1.70	0.76 ±0.20	3.28 ±1.03

Each value indicate Mean±SD

(): indicates number of rats

*: P<0.05

**: P<0.01

加えるとある程度の活性値の回復がみられる。cortisol 投与ではこのような効果はなくかえって更に低下の傾向を示している。insulin 投与に cortisol 投与を併せ加えると、insulin 投与の場合と同程度の活性上昇をきたした。

考 察

以上の成績から肝の HK, GK 活性は食餌条件や insulin, cortisol などのホルモンの影響を大きく受けていることがわかるが、以下 insulin, cortisol 両ホルモンの効果、その相関に焦点をしばって考察を加えてみたい。

I. Insulin との関係について

肝GK活性は絶食で著明に低下し、食餌再投与で回復し、アロキサン糖尿病動物では低下著明であり、これに insulin 投与すると回復がみられるなど本酵素活性と insulin の密接な関係を示している¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾。一方HK活性は一般に insulin の影響をうけないものと考えられてきたが⁹⁾¹¹⁾¹²⁾、本研究結果にみられるように、絶食で低下、食餌再投与で上昇の傾向を示し、アロキサン糖尿病動物でも低下し、それに insulin 投与を加えると上昇してくる成績など、GK活性の動きに比べると軽微ではあるが、HKもまた insulin の影響をうけている可能性が考えられる成績である。又 McLean 等¹³⁾も脂肪組織を用いての成績であるが、Hexokinase type II が絶食やアロキサン糖尿病白鼠で低下し肝GK活性と同じ様な態度を取ると述べている。

II. Cortisol 投与による肝 GK 活性上昇機構について

Cortisol 10mg 投与動物で肝GK活性上昇がみられ、副腎摘出動物で低下をみた成績 (Table 4) はこのホルモンが本酵素活性に密接な関係をもつことを示すものである。しかし (Table 6) にみられるように、アロキサン投与で豚ラ氏島のβ細胞を障害しておくでGK活性は著減するのであるが、この糖尿動物に cortisol 投与を加えても上述の正常動物での cortisol 投与による本酵素活性上昇効果がみられなくなる結果は、このGK活性上昇効果が cortisol の直接作用でなく insulin を介する可能を示すものと考えられる。アロキサン糖尿病動物に cortisol 投与し、さらに insulin 投与を加えるとGK活性の上昇してくる成績は (Table 6)、アロキサンが投与初期に肝細胞に毒性に働くので本酵素活性の上昇機構の阻害があるか否かをみるためにつけ加えた実験であるが、insulin によるGK誘導効果が保存されていることを示している。一般に cortisol が糖新生亢進に働くことは周知のことであり¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾、本研究の cortisol 投与動物はいづれもある程度の糖尿をみとめ血糖値の上昇がみられている。すなわち、cortisol 投与によるGK活性上昇機構と

しては、血中過量の cortisol により糖新生亢進し過血糖をきたし二次的に insulin の過分泌を生じ、この過剰の insulin の誘導効果として GK 活性上昇をみたものと考えられる。Walker 等¹⁷⁾は類似の実験を行ない cortisol 投与により肝 GK 活性低下の報告をしているのであるが、著者の実験との相違点としては、著者の場合は体重 200 g のラットに投与を開始したのであり、彼らは 140 g のものに同量の cortisol 投与を行なっている。彼らの場合にはより過量の cortisol のため膵ラ氏島の β 細胞は早期に疲弊し insulin 欠乏の傾向にあつた可能性が考えられ、そのために GK 活性低値を示したのではないかと推測される。最近人の血中インスリン測定可能となり、cortisol 投与の比較的早期に insulin 過剰がみとめられ¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾、長期投与例では正常ないし低下の傾向がみとめられている。これは上記の GK 活性の動きからの著者の推論を支持するとともに、Walker 等¹⁷⁾の報告もよく理解出来る成績である。cortisol 投与により反応性の insulin 分泌が充分存在する場合に GK 活性上昇をきたし、insulin 分泌が充分でなくなると低下してくるものと理解すべきであろう。Table 6 に示したアロキサン糖尿病動物に cortisol 投与をした場合、アロキサン単独のものよりこの酵素活性がさらに低下する傾向を示す成績も insulin 反応性分泌のないためと考えられる。

III. Insulin の GK 誘導効果と Cortisol の関係

Cortisol は insulin-antagonist の強力な一員であり、Steroid 糖尿はその極端な例であり、antagonistic な作用に対する insulin の適合不全状態と理解される。しかし Table 7 にみる如く、insulin による GK 活性誘導効果には cortisol は阻害に働かない。Weber 等²²⁾²³⁾も同様の見解を述べさらに cortisol による糖新生系の酵素誘導には insulin が抑制的に作用するとのべている。すなわちこの二つのホルモンは、一方は糖利用系の酵素を誘導し、他は糖新生系の酵素を誘導して糖調節に対して拮抗的であるが、直接の酵素誘導効果に対しては cortisol は insulin 効果に拮抗しないと考えられる。

以上のごとく、著者は本研究結果より、insulin-dependent の酵素である GK 活性の動きから、cortisol 投与動物において insulin 過分泌の存在することを推論した。steroid 糖尿の比較的早期においてはこの両ホルモンの過剰が共存し、肝では糖新生も糖利用もともに亢進して複雑な代謝が営まれているものと推測される。

総括ならびに結語

白鼠肝 Hexokinase, Glucokinase 活性について、絶食の影響、アロキサン糖尿病白鼠に対する insulin の影響、ステロイド糖尿病白鼠肝のホルモン環境変動下での活性値について調べた。

1. 絶食で著減した GK 活性は食餌の再投与で正常値近くまで復活がみられた。HK 活性も絶食で低下の傾向を示し食餌の再投与で復活の傾向を示した。

2. アロキサン糖尿病動物でも GK 活性は著明に低下するが insulin 投与で復活を示し、48時間 insulin 投与ではほぼ正常値まで回復がみられた。HK 活性も同じ様な傾向を示したが有意ではない。

3. 本研究で取上げた条件下のステロイド糖尿病白鼠肝では GK 活性は上昇を示し、これに insulin を追加投与すると更に活性上昇を示した。

4. 副腎摘出白鼠肝の GK 活性は低下を示し、cortisol 投与で正常値近くまで復活がみられた。

5. アロキサン処置群に cortisol 投与で GK 活性上昇を示さずかえつて更に低下した。

6. アロキサン処置後副腎摘出では、GK 活性は著減し、これに insulin を投与すると活性の復活がみられた。これに cortisol 10mg 投与を更に加えても insulin による GK 活性上昇の程度は変らない。

7. 以上の結果から、insulin と本酵素活性との密接な関係を述べ、本実験条件でのステロイド糖尿病ラットでは、insulin 過分泌を介して肝 GK 活性の上昇がくるものと推論した。また cortisol は insulin による GK 活性の誘導効果を阻害しないものと考えられる。

終りに臨み、御校閲を賜った早瀬正二教授、御助言を賜った木島滋二前教授、長崎大学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った京都大学老年医学教室竹内三郎助教授に深謝

する。また岐阜大学法医学教室沢田英夫助教授の御教示、御助言に感謝する。

文 献

- 1) LONG, C. : *Biochem. J.*, 50 : 407, (1950).
- 2) UTTER, M.F. : *J. Biol. Chem.*, 185 : 499, (1950).
- 3) VESTLING, C.S., A.K. MYLROLE, U. IRISH and N.H. GRANT, J. : *Biol. Chem.*, 115 : 789, (1950).
- 4) DIPIETRO, D.L. and S. WEINHOUSE : *J. Biol. Chem.*, 235 : 2542, (1960).
- 5) VAUGHAN, D.A., J.P. HANNON and L.N. VAUGHAN : *Am. J. Physiol.*, 199 : 1041, (1960).
- 6) WALKER, D.G. : *Advances in Enzyme Regulation*, 3 : 163, (1965).
- 7) CAHILL, G.F., J. ASHMORE, A. SCOTTEARLE and S. ZOTTU : *Amer. J. Physiol.*, 192 : 491, (1958).
- 8) ABRAHAM, S., B. BORREBAEK and I.L. CHAIKOFF : *J. Nutrition*, 83 : 273, (1964).
- 9) SHARMA, G., R. MANJESHWAR and S. WEINHOUSE : *J. Biol. Chem.*, 238, 3840, (1963).
- 10) MARGARITA, S., E. VINUELA and A. SOLS : *J. Biol. Chem.*, 238 : 3535, (1963).
- 11) SHARMA, C., R. MANJESHWAR and S. WEINHOUSE : *J. Biol. Chem.*, 238 : 3540, (1963).
- 12) HENRY, C.P., C. PERAINO, N. PRIES and A.L. KENNAN : *Advances in Enzyme Regulation*, III : 237, (1964).
- 13) McLEAN, P., J.B. ROWN, K. GREENSLADE and K. BREW : *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 23 : 117, (1966).
- 14) HAYNES, R.C. : *Endocrinology*, 71 : 399, (1962).
- 15) EISENSTEIN, A.B. : *Advances in Enzyme Regulation*, III : 121, (1964).
- 16) BERNARD, R.L., R. MAHLER, J. ASHMORE, D. ELWYN, A.B. HASTINGS and S. ZOTTU : *Endocrinology*, 70 : 47, (1962).
- 17) WALKER, D.G. and S. RAO : *Biochem. J.*, 90 : 360, (1964).
- 18) MICHAEL, P. and D.M. KIPNIS : *New Eng. J. Med.*, 274 : 1237, (1966).
- 19) HAUSBERGER, F.X. and A.J. RAMSAY : *Endocrinology*, 56 : 533, (1955).
- 20) CAMAPBELL, J., K.S. RASTOGI and H.R. HAUSLER : *Endocrinology*, 79 : 749, (1966).
- 21) 吉田秀雄, 横尾定美, 奥村賢太郎, 進藤岱三, 阿部信行, 阿部敦, 藤井正道, 木村浩久, 飯田優, 油谷持朗, 河野勝之裕 : *日内分泌誌*, 44 : 79, (1968).
- 22) WEBER, G., R.L. SINGHAL and S.K. SRIVASTAVA : *Advances in Enzyme Regulation*, III : 43, (1965).
- 23) WEBER, G., R.L. SINGHAL, N.B. STAMM, M.A. LEA and E.A. FISHER : *Advances in Enzyme Regulation*, IV : 59, (1965).