Biological Activities of Deshistidine-glucagon

**Yoshio IKEDA, Norio OBAYASHI, Hiroshi SAITO, Yasuhiko MATSUURA,
Takashi SANO and Tomio TANESE**

4th Department of Internal Medicine, Jikei University School of Medicine,
Tokyo, Director Masakazu Abe

The biological activities of deshistidine-glucagon (DH-glucagon) which was prepared by removal of a N-terminal amino acid, histidine, from glucagon were compared both in vitro and in vivo experiments with those of native glucagon. DH-glucagon was supplied from Novo laboratories. The results of the experiments obtained were as follows:

1) DH-glucagon (in an amount of 30 μg) lacked the blood-sugar increasing action due to the glycogenolysis after intraperitoneal administration in rats.

2) Increase of the glucose uptake by the epididymal adipose tissue of a rat could not be found in a in vitro experiment in the presence of DH-glucagon in an amount of 0.1 μg to 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$

3) Lypolysis increasing action of DH-glucagon (in an amount of 0.1 μg to 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) as indicated by the release of glycerol in vitro was also apparently absent as compared to that of glucagon.

From the above results the biological activities of DH-glucagon were discussed.

(See pp. 605~607)

Deshistidine-glucagon の生物活性について

慈恵医科大学 阿部内科

池田 義雄, 尾林 紀雄

斉 藤 浩, 松浦 晴彦

佐野 隆志, 種瀬 富男

(昭和46年9月23日受付)

Glucagon からN末端アミノ酸である Histidine をとりのぞいた Deshistidine-glucagon (DH-glucagon)について, その生物活性を, in vivo と in vitro で Native-glucagon のそれと比較検討した. DH-glucagon をラットの腹腔内に投与したさいの血糖上昇作用および DH-glucagon を in vitro に添加したさいの, ラット副睪丸脂肪組織へのブドウ糖のとりこみ, medium 中への Glycerol 放出は Glucagon と比較して明らかに欠如した. このように DH-glucagon には Glucagon にみられるような活性の認められないことを示唆した.

Glucagon からその N末端アミノ酸である Histidine をとりのぞいた Deshistidine-glucagon (DH-glucagon) についてその生物活性を in vivo と in vitro で, Native glucagon のそれと比較検討した.

材料と方法

実験には Donryu 系雄性ラット (250~300 g) と, その摘出副睪丸脂肪組織 (副睪脂) を用いた. 副睪脂法の概要は既報の如くである¹⁾.

5匹を一群としたラットの腹腔内に DH-glucagon 30 μ g を投与して DH-glucagon の血糖におよぼす影響を経時的に観察した. 対照には等量の生理食塩水投与群と, glucagon 30 μ g 投与群をおいた.

ラットの副睪脂を用いた in vitro の実験では, DH-glucagon を添加したさいのブドウ糖とり込み (Glucose uptake) におよぼす影響と, Glycerol 放出を指標とした脂肪異化作用におよぼす影響とについて, glucagon との比較の上で観察した.

実験に用いた DH-glucagon, と glucagon はいずれも NOVO 研究所より小玉株式会社を通じて供与されたものである.

実験成績

1. DH-glucagon の血糖におよぼす影響

図1は, DH-glucagon 30 μ g/0.3ml, glucagon 30 μ g/0.3ml, そして等量の生理食塩水のそれぞれを, ラット腹腔内に投与した前後の血糖値の変動を示したものである. 血糖値は5匹を一群としたさいの平均値で示されている.

Glucagon の投与により血糖は速やかに上昇し, 15分後に頂値を示した. これに対して DH-glucagon では血糖上昇がみられず, 生理食塩水投与ラットとの間になんら有意差を認めなかつた. すなわち DH-glucagon はラットの腹腔内投与後の糖原分解による血糖上昇作用を欠如するという成績である.

2. DH-glucagon のラット副睪脂の Glucose uptake におよぼす影響

ラット副睪脂を用いる in vitro の実験で, glucagon 添加は Glucose uptake を著明に高める作用のあ

Fig. 1. Hyperglycemic effect of deshistidine-glucagon

ることが分かった。

図2の白いバーは glucagon 0.1 µg/ml, 1.0 µg/ml, 10.0 µg/ml を, それぞれ添加したさいの Glucose uptake である。いずれの濃度においても, 対照よりも有意な Glucose uptake の促進がえられている。

これに対して, 斜線のバーで示した DH-glucagon 0.1 µg/ml, 1.0 µg/ml, 10.0 µg/ml の各濃度によつては, Glucose uptake の促進を認めることができなかった。

3. DH-glucagon のラット副辜脂の脂肪異化におよぼす影響

Fig. 2. Effect of deshistidine-glucagon on glucose uptake of isolated rat adipose tissue

Glucagon は脂肪異化促進ホルモンの代表的なものである。ラット副辜脂を用いる in vitro の実験でも, glucagon は著明な脂肪異化作用を示す。

表1の中段は glucagon を in vitro に添加したさいの Glycerol 放出を示したものである。glucagon 0.1 µg/ml 以上の濃度で副辜脂からの Glycerol 放出は有意に促進されている。

これに対して, DH-glucagon の場合には 0.1 µg/ml, 1.0 µg/ml, 10.0 µg/ml のいずれの濃度によつても, 対照と比較して, Glycerol 放出の有意な促進は認められなかった。

Table 1. Lipolytic activity of DH-glucagon
In vitro test on isolated rat adipose tissue

Sample	Concentration µg/ml	Glycerol released µMol/g/4hrs.
DH-Glucagon	0.1	4.2
	1.0	4.7
	10.0	5.0
Glucagon	0.1	7.6
	1.0	9.8
	10.0	18.2
Control	—	4.8

Values are the mean of 12 experiments.

実験成績に対する考察

DH-glucagon は, one step の Edman degradation によつて, glucagon からそのN末端アミノ酸であ

る Histidine をとりさつたものである。

Felts ら (1969)²⁾ は, glucagon の構造と機能との関係について検討し, このさい DH-glucagon が, in vitro における脂肪異化作用を欠如することを明らかにした。次いで Sundby (1970)³⁾ は, DH-glucagon の化学的性状, 生物活性, および免疫活性についてくわしく検討した。その結果, DH-glucagon は glucagon と比較して化学的性状, および生物活性が異なることを明らかにした。しかし免疫活性については両者に差異がみられないという成績を示している。

DH-glucagon をラットの腹腔内に投与したさいの血糖上昇に対する効果, および in vitro におけるラット副睾脂への Glucose uptake と medium 中への Glycerol 放出におよぼす影響について検討した今回の成績は, いずれも Felts ら (1969)²⁾, および Sundby (1970)³⁾ の成績と一致するものといえる。

1 コのアミノ酸がはずれているということだけで, かくも見事に生物活性が消失するということは, ホルモンの構造と機能を考えるさい極めて興味深い点である。

なお Sundby (1960)³⁾ は DH-glucagon の生物活性に関して, インスリン分泌作用におよぼす効果にもふれているが, この点については現在検討中である。

総 括

Glucagon から N 末端アミノ酸である Histidine をとりのぞいた Deshistidine-glucagon (DH-glucagon) について, その生物活性を in vivo と in vitro で, Native-glucagon のそれと比較検討した。DH-glucagon は NOVO 研究所より供与されたものである。実験結果は以下の如くである。

- 1) DH-glucagon (30 μ g) はラットの腹腔内投与後の糖原分解による血糖上昇作用を欠如した。
 - 2) DH-glucagon (0.1 μ g~10.0 μ g/ml) によるラット副睾丸脂肪組織の in vitro での Glucose uptake の促進は認められなかった。
 - 3) 同様に DH-glucagon (0.1 μ g~10.0 μ g/ml) による in vitro における Glycerol 放出を指標とした脂肪異化促進効果も glucagon のそれと比較して明らかに欠如した。
- 以上の成績より DH-glucagon の生物活性について考察した。

要旨は内分泌学会東部部会46年6月例会で発表した。

参 考 文 献

- 1) 池田義雄: 日本臨牀 23: 964, 1965.
- 2) Feltz, P.W. M.E.C. Ferguson, K.A. Hagey, E.S. Stitt, & W.M. Mitcrell Presented at the 5th Meeting of E.A.S.D. in Montpellier, 1969.
- 3) Sundby, F.: Presented at the 7th Congress of the International Diabetes Federation in Buenos Aires, 1970