Insulin分泌の代謝性調節

第 2 報

Amino酸および脂肪負荷時のInsulin分泌調節機序の研究

東京大学医学部冲中内科教室

吉 沢 国 雄

METABOLIC CONTROL OF INSULIN SECRETION

II

STUDIES ON THE MECHANISM OF INSULIN SECRETION AFTER
THE ADMINISTRATION OF FATT AND AMINO-ACID

BY

Kunio Yosizawa

Okinaka Clinic, Department of Internal Medicine, University of Tokyo

梗概 糖以外の栄養素負荷後にも Insulin 分泌の亢進を招来するや否やを検討するため、正常犬に脂肪および蛋白源 Amino 酸を負荷して、その静脈血中 Insulin 濃度を測定した結果、明らかに Insulin 分泌の亢進を認めた。この成績は生体における蛋白および脂肪代謝の亢進時にも Insulin の追加分泌を必要とすることを明らかにするとともに、「Insulin 追加分泌の適応刺激は生体における代謝の進行に伴う Insulin 需要の増大過程による」という想定に有力な実験的根拠を与え、さらに糖尿病の食餌療法にさいし、特に食餌の全量制限が必要であるとする近代的傾向に対しても一つの実験的裏づけを与えたものとする。

I 緒 言

第1報において、わたくしは Zunz et LaBarre, Foà らの交叉循環試験を再検討し、これらの成績も過血糖が Insulin 追加分泌の適応刺激であるとする従来の一般的通念の根拠とは直ちに認め難いことを明らかにして、葛谷、小坂らがこの通念に対し提出した疑義に対して、さらに一つの実験的裏づけを与えた。小坂ら¹⁾は正常犬に葡萄糖を静注した場合、過血糖の時期に遅れて Insulin の追加分泌が起こり、過血糖を招来せぬ程度に少量の糖を持続的に大循環に静注したさいにも同様 Insulin 分泌は亢進するが、糖静注と同時に外部より適量の Insulin を持続注入すると Insulin の追加分泌が起こらない等の事実を認め、Insulin 分泌亢進の適応刺激は生体における代謝の進行に伴う Insulin 需要の増大過程で

はないかと想定した。こゝにわたくしは糖以外の栄養素負荷後にもあるいは Insulin 分泌の亢進を招くのではないかと考え、正常犬に脂肪および蛋白質源 Amino 酸を負荷したさいの静脈血中 Insulin 濃度を測定した結果、明らかに Insulin 分泌の亢進を認め、氏らの想定の実験的根拠を裏づけることができた。わたくしの得た成績は生体における蛋白および脂肪代謝の亢進時にも、Insulin の追加分泌を必要とすることを明らかにするとともに、糖尿病の治療上、特に重視されている食餌制限の必要性に対しても一つの有力な実験的根拠を与えるものと思われるのでこゝに報告する。

II 実験方法及び成績

(A) Amino 酸負荷時の Insulin 追加分泌に関する実験

第1表 Polytamin 3cc/kg 静注実験

犬		10.1kg ♂	8.0kg ♂	10.9kg ♂	14.3kg ♂	10.5kg ♀	平均値
静注セル Polytamin 量cc		30	24	33	43	32	
Polytamin 量cc/min		3/min	2.4/min	3.3/min	4.3/min	3.2/min	
N mg/kg/min		1.95 mg/kg/min	"	"	"	"	1.95 mg/kg/min
脾静脈血中 インスリン 濃度 mu/cc	静注前値	0.24		0.31	0.22		0.25
	60' 後	0.30					(0.30)
	120' "	0.40		0.46			0.43
	180' "	0.60	0.72	0.62	0.43		0.59±0.108
	240' "	0.90	1.20	1.00	0.95	1.05	1.02±0.116
	270' "				0.65	0.53	0.59
	300' "		0.54	0.45			0.49
			0.32			0.27	0.29

第2表 10% Fatgen 4.4cc/kg 静注実験

使用犬	10.5kg ♂		9.2kg ♀		9.0kg ♂		11.3kg ♂		9.0kg ♀		12.0kg ♂	
10% Fatgen 静注量	47cc		41cc		40cc		50cc		40cc		43cc	
時間	インスリン濃度 mu/cc	血中総脂質mg	インスリン濃度	血中総脂質	インスリン濃度	血中総脂質	インスリン濃度	血中総脂質	インスリン濃度	血中総脂質	インスリン濃度	血中総脂質
静注前値		333		550				433				357
静注直後		825		1060				553		763		703
60' 後							0.34		0.48			
90' "	0.41				0.67			450		480		
120' "			0.50	597			0.9		0.86			
150' "	1.30		0.88		0.95			417		420	0.68	455
180' "			0.51	417			0.88		0.72			
210' "	0.78				0.41						0.53	
240' "			0.57									410
270' "					0.34						0.46	
300' "											0.34	

(1) 実験材料

総合 Amino 酸製剤として静注用 Polytamin 注射液を使用した。本剤は牛乳カゼイン酵素分解産物である Polytamin 原末 5 W/V % を含有し、鼠末の総窒素量 12~13%, 5 % 100cc 液中に必須 Amino 酸 2.55 g, 非必須 Amino 酸 1.65 g, 計 4.2 g の Amino 酸を含有し、体蛋白の基本組成である全 Amino 酸より成るものとされている。本剤 1 cc 中の窒素量は 6.5mg, 之を蛋白質に既算すればやく 40.625mg すなわち約 0.04 g に相当し、本剤 1 cc の静注は約 0.16 カロリー相当量の蛋

白を負荷したものと考えられる。

(2) 実験方法

15~6 時間空腹にした正常犬を Ravonol 麻酔し、その大腿静脈内に Polytamin 3 cc/kg (0.5 cal/kg) を生理食塩水で約倍量に稀釈し、10 分間で静注した。小坂らの下垂体副腎剝出ラット法により上腸十二指腸静脈血漿中の Insulin 分泌濃度を経時的に測定し、末梢血糖値は 10 分おきに耳静脈より採血し、Hagedorn-Jensen 氏法で測定した。

(3) 実験成績

1 図. 総合アミノ酸製剤(ポリタミン 3 cc/kg) 静注後の上臍十二指腸静脈血中インスリン濃度の変動

2 図. 脂肪(サラダ油)経口負荷後の上臍十二指腸静脈インスリン濃度の変動

5 例における上記 Polyamin 溶液静注後の上臍十二指腸静脈血中 Insulin 濃度の変動値は 1 表に示すごとくであり, これを図示すれば 1 図のごとくなる. 上臍十二指腸静脈血中 Insulin 濃度は, 静注開始後 4 時間で最高値(平均 $1.02 \text{ mu/cc} \pm 0.116$)を示し, 負荷前値の約 3~4 倍に相当し, 6 時間では前値に復し, 明らかに Insulin の追加分泌を示した. なお末梢血糖値は静注後有意の変動を示さず, 開腹後実験時間の経過するとともに低下の傾向を示した.

(B) 脂肪経口負荷時の Insulin 追加分泌に関する実験

(1) 実験材料

サラダ油(リノール酸, オレイン酸等を主として含有し脂肪 99.9%) 30cc 及び 80cc を卵黄 2 cc 及び水にて乳化せしめ約 100cc として使用した.

(2) 実験方法

約 15~16 時間空腹にした正常犬の 1 匹にサラダ油 30cc 乳化液を, 他の 2 匹に 80cc 乳化液をそれぞれ胃管を使用して十二指腸内に経口負荷し, 実験 (A) と同様に Ravonal 麻酔して開腹後, その

3 図. 脂肪製剤(10%ファットゲン 4.4cc/kg) 静注後の上臍十二指腸静脈インスリン濃度の変動

4 図. 脂肪(10%ファットゲン 4.4cc/kg, 30分間) 静注後の末梢血糖値, 血清総脂質並びに上臍十二指腸静脈インスリン濃度の変動

上臍十二指腸静脈血中の Insulin 分泌濃度を経時的に測定し, 末梢血糖値は 30 分ごとに採血測定した.

(3) 実験成績

2 図に示すごとく脂肪経口負荷後 3~4 時間後より Insulin 分泌は亢進し, 4 時間より 6.5 時間に至る間平均 0.8 mu/cc 負荷前値の約 3.2 倍に達する Insulin 追加分泌を認めた. なお末梢血糖値はほとんど不変であつた.

(C) 脂肪静注による Insulin 追加分泌に関する実験

(1) 実験材料

20% 精製胡麻油乳化製剤 Fatgen (特に葡萄糖を除いた静注用注射薬) を使用した. 本剤はリノール酸, オレイン酸, ステアリン酸, パルミチン酸および少量のミリスチン酸の Triglyceride にて 0.5μ 以下の脂肪球より成るとされている. 本剤を倍量の生理食塩水にて稀釈し, 10% Fatgen 液として使用した.

(2) 実験方法

約 15~16 時間空腹にした正常犬を Ravonal 麻

5 図. 総合アミノ酸製剤 (ポリタミン) 負荷後のインスリン追加分泌に及ぼす微量インスリン持続注入の影響

6 図. 三栄養素負荷後のインスリン追加分泌

7 図. 各種条件下のインスリン追加分泌

酔し, 10% Fatgem 4.4cc/kg (4 cal/kg) を30分間にその大腿静脈内に静注し, 実験 (A) と同様に上脘十二指腸静脈血中 Insulin 分泌濃度を

経時的に測定した. なお Fatgen 静注前後の血中総脂質量を Bloor 氏変法にて測定した. 末梢血糖値は Fatgen 静注中は5分おきにその後は10分おきに採血して測定した.

(3) 実験成績

6例において静注開始後2.5時間を頂点とし, 注射後5時間では前値に復する Insulin の追加分泌を認め, その最高値は静注前値のやく3倍 (平均約0.95mU/cc) に達した. 第2表はその実測値を, 3図はその値を一括図示して追加分泌濃度曲線を示した. なお3図には小坂らが正常犬に葡萄糖 (4 cal/kg) 静注後認めた Insulin 追加分泌の様相を比較のために一緒に示してある. 同時に測定した血中総脂質量は2表に示すごとく, 静注直後に増量して速かに旧に復し, また末梢血糖値は全く上昇せぬか, または注入直後軽度の上昇を示した. 4図は3図の曲線の一部を測定するため行なった実験成績の1例を図示したものである.

III 考 案

(1) Insulin 分泌の代謝性調節について

正常犬に5% Amino 酸混合液 Polytamin 3 cc/kg (約 0.5 cal/kg 相当量) を静注して Insulin 追加分泌を認め, また脂肪 (サラダ油) の経口投与, 脂肪静注 (糖を含有せぬ 10% Fatgen 4 cal/kg 相当量) によつても Insulin の追加分泌が起こることを認めたが, このさい末梢血糖値は全く上昇しないか短時間軽度の上昇を示したに過ぎない. このように Amino 酸および脂肪負荷により, 糖負荷時同様に Insulin 分泌が亢進する事実はまだ全く報告されておらず, きわめて注目すべき知見と思われる. 小坂らが葡萄糖 1 g/kg (4 cal/kg) 静注後に Insulin の追加分泌を認め, その適応刺激は過血糖ではなくて生体における代謝の進行に伴う Insulin 需要の増大過程ではないかと想定していることは緒言に述べたとおりである. わたくしも小坂らにならつて, 1例ではあるが正常犬に 6.5mU/cc の Insulin を大腿静脈内に点滴静注しつゝ, 静注開始と同時に

に Polytamin 3 cc/kg 静注を行なつたが、Polytamin 負荷後毎常起こる Insulin 追加分泌を認め得なかつた (5 図)。この事実は葡萄糖負荷時と同じく、負荷後の代謝過程に Insulin の追加分泌を必要とすることを示していると思われる。なお外部から静注した 6.5 mu/cc という Insulin 濃度は、Polytamin 3 cc/kg 静注後 4 時間目に観察された上臍十二指腸静脈血漿中、Insulin 濃度の最低値から静注前値の平均値を減じたもので、この濃度の Insulin が Polytamin 静注後 1 分間 10 cc の血流量で、上臍十二指腸静脈中を流れたものと仮定して 5 時間にわたり注入した (犬の体重 10 kg, ゆえに全量 0.195 u/kg である)。

小坂らの糖負荷時における Insulin 追加分泌曲線と、わたくしの得た Amino 酸および脂肪静注時における Insulin 追加分泌曲線とを一括図示すると 6 図のごとくである。脂肪は葡萄糖と等カロリー (4 cal/kg) を 30 分間に静注したものであるが、Insulin 分泌濃度の頂値は葡萄糖負荷時よりやや低く、かつ 30 分ほど遅れて出現し、その回復も遅延した。Amino 酸は蛋白質に換算して約 0.5 cal/kg を 10 分間に静注したが、その頂値は前二者より明らかに遅れて静注開始後約 4 時間で出現し、最高分泌濃度は前二者のほぼ中間に位し、正常値への回復は比較的速かであつた。以上のごとく三曲線間に多少の差異はあるが、この成績は犬の右迷走神経電気刺激時³⁾、および生長ホルモン筋注時⁴⁾の Insulin 追加分泌様相 (7 図参照) と著しく相異し、かつ三栄養素負荷時の Insulin 追加分泌量はほぼ相等しい。たゞし Amino 酸の静注量は蛋白質に換算して約 0.5 cal/kg であり、脂肪および葡萄糖静注量 (4 cal/kg) の約 $\frac{1}{8}$ に相当するが、三者間にはほぼ同様な Insulin 追加分泌を認めた事実は注目に値すると思われる。これについて改めて考察を試みることにする。Amino 酸および脂肪負荷時に、末梢血糖値の特異な上昇を認めないにかゝらず、Insulin の分泌亢進を認めた事実は、「Insulin 分泌の適応刺激は過血糖それ自体では

なくて、生体における代謝の進行に伴う Insulin 需要の増大過程にある」という前述した小坂らの想定に有力な実験的裏づけを与えたものと思う。

(2) 脂肪負荷量の $\frac{1}{8}$ カロリーに相当する Amino 酸静注により、ほぼ同様な Insulin 追加分泌を認めた事実についての考察

蛋白質は腸管内で一度 Amino 酸にまで分解されて吸収され、血中から肝および筋肉組織に運ばれ、ATP の作用下に Peptide 鎖を形成し各組織固有の蛋白質に合成されるが、そのさい各種 Amino 酸の必要量には一定比率があり、さらに蛋白は生体の必要量以上にはエネルギー源として貯蔵され得ないので、余剰の Amino 酸は脱アミノされてカロリー源として利用されるか、あるいはそのまゝ体外に排泄される。さらにある種の Amino 酸からは糖質が新生される。Amino 酸静注について Jonxis⁵⁾ は、平均体重 10.9 kg および 14.7 kg の二群の小児にそれぞれ 2.5% および 5% の牛乳蛋白水解物を含有する Amparon I, II を 24 時間にわたり、それぞれ α -amino N 254 mg/kg 及び 498 mg/kg に相当する量を静注し、そのさい尿中に遊離 Amino 酸が投与量の 5% および 8% 排泄されたと報じ、Silber⁶⁾ らは犬に 8% 結晶 Amino 酸混合液 Vuj-N を静注して、急速度 (N-12 mg/kg/min) で静注する場合は遊離 Amino 酸が 13% 排泄され、緩徐 (N-2 mg/kg/min) に行なう場合は 4% 排泄されることを報告した。Wilensky⁷⁾ は 5% Amino 酸溶液を毎分 30 滴 (約 2 cc) の速さで静注するとその 95% を体蛋白合成のために利用し得ると報じ、布施ら⁸⁾ は毎分 60 滴 (約 4 cc) を至適速度とした。小出来ら⁹⁾ は 9.12% 総合 Amino 酸混合液を毎分 60 滴の速度で静注して、注入 Amino 酸が体蛋白に合成されたことを窒素代謝平衡から確認している。このような報告からみて、わたくしが犬に静注した Polytamin 2.4~4.3 cc/min は、窒素量に換算するとやく 2 mg/kg/min となり (1 表参照)、投与 Amino 酸の大部分が体蛋白合成に利用されたものと考えられる。したがって、こ

のさい Insulin 分泌の亢進を招くのは、負荷した Amino 酸から体蛋白が合成される過程に Insulin を必要とするためではないかと考えられる。

脂肪は腸管内において一度脂肪酸とグリセリンに水解されるが、あるいは 0.5μ 以下の Chylomicron に乳化されて、腸壁より吸収される。血中に移行した中性脂肪は α -Lipoprotein¹⁰⁾ に吸着されて、肝あるいは脂肪組織に運ばれるが、まず α -Lipoprotein-lipase の作用下に血漿内および細胞表面、あるいは細胞内等で一度活性脂肪酸に水解された後¹¹⁾、一部は貯蔵脂肪として合成され、一部はカロリー源として利用され、さらに一部は糖原に合成される¹²⁾。異¹³⁾は脂肪を静注すると速かに血中脂肪酸量が増加するが、直ちに正常値に復することを報じ、Schafiroff らは重水素で label した Tristearin 静注により速かに重水素が呼気及び尿中に出現することを認めた。静注された脂肪が大部分カロリー源として利用され、著明な蛋白節約作用を認めたとする報告は多い。Chaikoff ら¹²⁾は C^{14} Tripalmitin 乳剤を静注してその 5% が糖原に、6~8% が貯蔵脂肪に合成され、残余が異化燃焼することを認めた。これらの報告よりみて、静注された脂肪も経口負荷時と同様に直ちに酵素の作用下に活性脂肪酸に水解された後、一部は貯蔵脂肪に、一部は Acetyl CoA を通じて糖原に合成され、大部分が異化されて酸化燃焼すると思われる。

一方 Insulin の不足時に脂肪の異化が亢進し¹⁵⁾、脂肪酸からケトン体の生成は正常であり¹⁶⁾、糖尿病犬の末梢ケトン体処理能¹⁷⁾、脾全剝犬の焦性葡萄糖処理能¹⁸⁾は正常犬と同速度であり、さらに糖尿病犬においては脂肪からの葡萄糖新生が増加する(糖原の増加ではない)^{12) 19)}等の報告からみて、脂肪の異化的代謝過程は Insulin を必要とせず、したがって脂肪負荷後に認められた Insulin 分泌の亢進は活性脂肪酸から組織脂肪の合成される同化的代謝過程および糖原の合成過程に必要なのではないかと考えられる。上述せるごとく

Chaikoff らによれば静注せる脂肪量の約 11~13% が合成過程に使用されたことになるが、Amino 酸は静注されたほとんど大部分が同化されて蛋白に合成されたと思われるので、負荷量に著しい差がある脂肪と Amino 酸静注後、ほぼ同量の Insulin 分泌を認めた事実は、脂肪と Amino 酸との間において同化合成に用いられる割合に著しい差がある事実によつて説明が可能となるのではなからうかと思う。

また Stetten ら¹⁰⁾によれば重水素を利用した実験で、1日15gの糖を投与した正常ラットは投与量の約 3.3% (0.5g) を糖原に、約 13% (1.9g) を貯蔵脂肪に変化することを認め、さらに氏らは C^{14} 葡萄糖をラットに与えて 3% が糖原として、約 30% が脂肪として合成され、67% が CO_2 と H_2O にまで酸化燃焼されたと報じている。葡萄糖静注後、はたして何が貯蔵脂肪及び糖原に合成され、何% が異化燃焼されるかは不明であるが、少なくともその一部が体脂肪および糖原に合成され、大部分がカロリー源として異化燃焼することは確実であり、その合成的代謝機転に Insulin の追加分泌を必要とすると考えれば、Amino 酸負荷時の 8 倍相当カロリーの葡萄糖を静注して、両者にほぼ同量の Insulin 追加分泌を認めた事実も説明が可能であろうと思われる。わたくしは Insulin には糖質、脂質、蛋白質の三大栄養素が体内において直接にあるいは相互移行的に糖原、体脂肪、体蛋白に合成される同化的代謝過程を促進せしめる作用があり、それらの代謝の進行に伴ない、Insulin の需要が増大して追加分泌が行なわれるのではないかと想定している。この想定はさらに体内における合成的代謝過程がいずれも ATP または高エネルギー化合物の存在を必要とする事実に照らし、今日なお充分明らかでない Insulin 作用機序に関し示唆する点も少なくないと思われる。

(3) 本実験成績の糖尿病食餌療法にける意義
糖尿病の食餌療法として今日なお一部に糖質制限を厳重にし、蛋白、脂肪の制限を緩やかにする

ものがあるが、わたくしの実験にみるように、蛋白、脂肪の摂取時にも **Insulin** の需要が増大する以上、含水炭素のみを極端に制限することはむしろ誤りであり、脂肪、蛋白質の過剰摂取も嚴重にいましむべきであると思われる。各栄養素の体内における合成的同化過程に **Insulin** が必要であろうとするわたくしの想定は、中年以降の糖尿病が少なからず肥満を前提とする事実の説明に多くの示唆を与え、標準体重を維持する程度のカロリー摂取を糖尿病の食餌療法の標準とすべきことを指示する。糖尿病における食餌療法の規準はすでに葛谷²⁰が述べているごとく、「正常人の通常食べる総べての食品を食べてよいが、その全量に注意し、標準体重を維持し得る最小量に留めること」にあらう。わたくしの得た実験成績は経験上から定められた食餌療法の近代的傾向に対し、一つの実験的裏づけを与え得たものと信ずる。

IV 結 論

(1) 正常犬に総合 **Amino** 酸あるいは脂肪を負荷したさいの上臍十二指腸静脈血中 **Insulin** 濃度を直接測定し、次の成績を得た。

a) 総合 **Amino** 酸静注により **Insulin** 分泌は亢進する。この **Insulin** 分泌の亢進は外部から適量の **Insulin** を補足することにより出現しなくなる。

b) 経口的にまたは静脈内に脂肪を負荷すると **Insulin** 分泌の亢進を招く。

c) **Insulin** 分泌亢進の様相は負荷する栄養素により、それぞれ異なる。

(2) **Insulin** 分泌の代謝性調節機序について若干の考察を加えた。

(3) さらに本成績は糖尿病の食餌療法にあたり、特に食餌の全量制限が必要であるとする近代的傾向に対する一つの実験的裏づけを与えるものである点に論及した。

(本実験成績の概要は第 31 回日本内分泌学会総会の特別講演にて発表された)。

文 献

- 1) 小坂樹徳, 尾形安三, 石丸安世, 井出健彦, 吉沢国雄, 葛谷信貞: 日本内分泌会誌, 33 : 255 (1957).
- 2) 小坂樹徳: 日本内分泌会誌, 33 : 571 (1957).
- 3) 沖中重雄, 葛谷信貞, 小坂樹徳, 尾形安三, 石丸安世, 井出健彦, : 日内会誌, 45 : 442 (1956).
- 4) 井出健彦, 葛谷信貞, 小坂樹徳, 吉沢国雄, 金東昭雄, 二宮陸雄, 石渡和男: 日本内分泌東部会誌—2—1 : 15 (1958).
- 5) Jonxis, J.H.P. & Huisman T.H.J.: Metabolism VI; 175 (1957).
- 6) Silber R. H., Seeler, A.D. & Howe, E.E.: J. Biol. Chem. 164: 639 (1946).
- 7) Wilensky: 医学のあゆみ, 1 : 349 (1946) より引用.
- 8) 布施信良, 王子喜一: 日本臨床, 7 : 23 (1949).
- 9) 小出来一博他: 総合臨床, 8 : 110 (1959).
- 10) Cohn, E.J.: J. Am. Chem. Soc. 68 : 459 (1946).
- 11) Korn, E.D.: J. Biol. Chem. 215 : 1 (1955), 226 : 833 (1957).
- 12) Chaikoff et al.: J. Biol. Chem. 198 : 115 (1952), Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 70 : 384 (1949).
- 13) Tatsumi, W.: Arch. Jap. Chir. 26 : 1 (1957).
- 14) Schafiroff, B.G.P. et al.: Exp. Med. & Surg. 9 : 184 (1951). [28より引用]
- 15) DiLuzio, N.P. & Zilvers mit, D. B.: J. Biol. Chem. 96 : 25 (1932).
- 16) Stadie, W. C.: J. Biol. Chem. 132 : 423 (1940).
- 17) Chaikoff, I.L., Soskin, S.: Am. J. Physiol. 87 : 58 (1928).
- 18) Flock, E., Bollman, J.L. & Mann, F.C.: J. Biol. Chem. 125 : 49 (1938).
- 19) Stetten, D.W., Jr. & Boxer, G.E.: J. Biol. Chem. 155 : 231 (1944), 156 : 271 (1945).
- 20) 葛谷信貞: ホルモンと臨床, 3 : 907 (1955).