

# アロキサン糖尿病ラットの肝臓における 糖代謝異常に関する研究

説田 武\*, 富宿 敦子\*

藤川 紀子\*, 三河 純子\*

## Abnormalities of Carbohydrate Metabolism in the Liver of Alloxan Diabetic Rats

Takeshi Setsuda, M. D., Atsuko Fushuku, Noriko Fujikawa  
and Junko Mikawa

糖尿病では膵ラ氏島からのインスリン分泌の不足により、糖質、脂質、タンパク質、水及び電解質などの代謝異常を伴う<sup>1)</sup>ことが知られている。また、糖尿病では種々のホルモン異常が存在する<sup>2)</sup>ことが指摘されている。最近 Unger<sup>2)</sup> らは、糖尿病では膵ラ氏島の $\alpha$ 及び $\beta$ 細胞に形態学的変化を認め、インスリン及びグルカゴンの分泌異常が示唆されることから、“double trouble” concept という概念を提唱した。また、Harper<sup>3)</sup>によれば、糖尿病の脂肪組織ではインスリンの不足により脂肪細胞の glucose 摂取が障害されるが、肝臓では肝細胞の glucose 摂取は血糖の濃度差に依存し、血中のインスリン値とは関係がないと云う。

吾々<sup>4)</sup>は最近、アロキサン糖尿病ラットの肝臓では正常ラットに比べてグリコーゲン量が異常に高値を示すことを確認したが、その本態については不明であった。そこで吾々は今回、糖尿病のさいの肝臓における糖代謝異常を明らかにする目的で、アロキサン糖尿病ラットを尿糖持続群(A群)、尿糖非持続群(B群)及びインスリン治療群の3群に分ち、血中のインスリン、糖、TG、NEFA、コルチコステロン値の測定、及び従来<sup>5)</sup>の方法に準じて肝臓、副腎丸脂肪組織(副腎脂)、副腎を invitro で incubate し、肝臓では glucose 摂取量、グリコーゲン、トリグリセライド(TG)、遊

離脂肪酸(NEFA)量及びメジウム中の glucose と NEFA 放出量、副腎脂では glucose 摂取量、TG、NEFA 量及びメジウム中の NEFA 放出量、また副腎ではメジウム中のコルチコステロン放出量の測定を行ない、比較検討すると共に、肝臓、副腎、膵ラ氏島、副腎脂の組織学的検索をも行なった。以下、興味ある2, 3の研究結果について述べる。

### 実験材料及び実験方法

体重 80g 前後の Wistar 系雄ラットの腹腔内に体重 kg 当り 180mg のアロキサンを1回注射し、糖尿病を発症したラットのうち、尿糖が持続した27匹をA群、非持続性の28匹をB群、アロキサン投与後7週目の糖尿病ラットに lente insulin を毎日 6~14u. ずつ16日間注射し、尿糖が消失又は著減した4匹を治療群とした。ラットは予め16時間絶食の後、軽くエーテル麻酔を行ない、開腹して肝静脈より採血、致死させ、血清の分離及び肝臓、副腎、膵臓、副腎脂の剔出を行なった。

肝臓、副腎脂及び副腎の in vitro でのインキュベーション実験は、従来<sup>5)</sup>の方法に準じて行なった。

肝臓(約 500mg)、或いは副腎脂(約 300mg)の組織切片を KRB buffer (pH 7.4) に牛血清アルブミン 0.2%, glucose 15mM (肝臓)、又は 5mM (副腎脂)を添加したメジウム中に入れ、37°C で60分間 preincubate した後、メジウムを更新して更に 30、

\* 栄養生理学、病理学研究室

60, 90分間 incubate した。肝臓では glucose 摂取量, グリコーゲン, TG, NEFA 量及びメジウム中の NEFA 放出量を, 又 15mM glucose の代わりに 15mM Na-acetate を添加したメジウム中への肝臓からの glucose 放出量を測定し, 又副腎脂では glucose 摂取量, TG, NEFA 量及びメジウム中の NEFA 放出量を測定した。副腎 (両側) を Sayers<sup>6)</sup> らに従い, 牛血清アルブミン 0.5%, glucose 11mM を添加した KRB buffer (pH 7.4) 中で予め60分間 preincubate した後, メジウムを更新して 30, 60, 90分間 incubate し, メジウム中のコルチコステロン放出量を測定した。又, 最近の報告<sup>7)</sup> を参考にして dbc-AMP (Sigma 製) 500 $\mu$ M を添加したメジウム中で副腎を30, 60分間 incubate し, メジウム中のコルチコステロン放出量を測定して副腎皮質予備能をしらべた。コルチコステロンは Zenker<sup>8),9)</sup> らの方法で抽出, 島津自記分光蛍光々度計 (RF-502型) を用いて蛍光測定を行った。

肝臓の glucose 摂取量は, 肝切片を glucose 添加メジウム中で incubate し, 消費されたメジウム中の glucose 量に, acetate 添加メジウム中に肝切片から放出された glucose 量を加えて求めた。なお, 糖は, Somogyi-Nelson 法で比色定量した。

肝臓のグリコーゲン量は, 肝臓を熱処理の後, エタノールを加えて沈殿, 分離し, 2N-HCl を加えて加水分解し, 0.5 N-NaOH で中和した後, Somogyi-Nelson 法で糖量を測定し, 肝臓 g 当りの mg で表した。

肝臓と副腎脂をクロロホルム・メタノール (2:1v/v)

混液中で氷冷しながらホモジナイズし, Folch 法で得た脂質抽出液のクロロホルムを吸引, 除去した後, TG を Van-Handel-川出変法<sup>10)</sup> で比色定量し, 又 NEFA を Dole<sup>11)</sup> 法で抽出の後, N<sub>2</sub> ガスを混和しながら  $\frac{N}{100}$  NaOH で滴定した。血清インスリン値の測定は 2 抗体法によった。

組織学的検査では, 10%ホルマリン液で固定した肝臓と副腎を用いて肝グリコーゲンは PAS 染色を, 又肝臓と副腎の脂肪は, 凍結切片についてズダンⅢ染色を行なった。ブアン液で固定した膵臓を用いてラ氏島の $\alpha$ -細胞は Grimelius 鍍銀染色を, 又  $\beta$ -細胞は aldehyde-fuchsin-trichrome 染色を行なった。

### 実験成績

#### (A) 一般的検査所見

A, B 両群ともに毛並みが悪く, 体重減少と下痢の傾向がみられた。A 群では体重増加が対照に比べて著しく不良で, 多飲と多尿を示し, 7例 (8~9週目) に白内障を認めた。尿糖が 0.5%以上の12例中1例にケトン尿を証明した。B 群は A 群に比べし症状が軽く, 体重増加は対照に比べて軽度であるが, 10週目以後はむしろ対照を上回るものが多くみられた。治療群では尿糖が消失, 又は著減し, 体重も急に増加する傾向を示し, 毛並みも良好となった。A, B 両群ともに肝臓と副腎は外観上対照と差がないが, 腹腔内脂肪と副腎脂の重量が減少し, とくに A 群で著明であった。

Table 1 は各群の体重及び肝臓, 副腎, 副腎脂の湿重量を週別に示したものである。A 群では体重減少が

Table 1 アロキサン糖尿病ラットの体重及び臓器の湿重量と比体重 (A, B 両群と治療群)

Week	Group	No. of rat	B. W. (g)	Liver		Epid. fat tissue		Adrenals
				Weight (g)	Weight to B. W. (%)	Weight (g)	Weight to B. W. (%)	Weight (g)
6	Control	3	324	10.2	3.1	3.8	1.1	22.0
	A	3	256	9.7	3.8	1.0	0.4	25.8
	B	3	289	10.5	3.6	2.6	0.9	28.9
10	Control	4	415	11.7	2.8	6.0	1.4	28.9
	A	3	287	11.4	3.9	1.5	0.5	26.0
	B	3	396	12.0	3.0	4.0	1.0	32.1
	Insulin treatment	2	240	8.8	3.6	2.2	0.9	22.9
16	Control	3	414	10.9	2.6	7.1	1.7	26.5
	A	4	321	13.8	4.2	1.9	0.5	27.8
	B	4	438	12.2	2.7	6.7	1.5	24.3

**Table 2** アロキサン糖尿病ラットの肝臓及び副腎脂のグリコーゲン, TG 及び NEFA 量 (A, B両群と治療群)

Week	Group	No. of rats	Liver			Epid. fat tissue	
			Glycogen ( $\mu\text{g/g}$ )	TG (mg/g)	NEFA ( $\mu\text{M/g}$ )	TG (mg/g)	NEFA ( $\mu\text{M/g}$ )
6	Control	3	1,330.5	5.9	7.3	582.2	18.3
	A	3	2,039.7	4.5	5.2	450.7	13.2
	B	3	2,447.7	3.2	4.4	583.7	12.5
10	Control	4	601.9	12.2	7.4	487.2	19.6
	A	3	7,768.1	4.1	7.9	468.9	17.5
	B	3	6,290.7	4.2	5.9	528.1	20.0
	Insulin treatment	2	771.2	0.3	6.8	513.4	18.8
16	Control	3	4,125.0	3.5	9.3	396.8	26.5
	A	4	8,925.0	2.3	4.5	525.7	6.8
	B	4	765.9	8.7	6.6	519.1	4.5

著しく、又肝臓と副腎の重量には著変がないが、肝臓の比体重は対照に比べてむしろ増加し、又副腎脂では重量、比体重ともに著減したが、B群では減少が軽度であった。

#### (B) 生化学的検査所見

**Table 2** は A, B 両群及び治療群の肝臓のグリコーゲン量、及び肝臓と副腎脂の TG, NEFA 量を週別に示したものである。

A群の肝臓では、グリコーゲン量が週を追って著増し、TG量は反対に減少し、NEFA量も減少の傾向を示した。B群の肝臓では、グリコーゲン量が6, 10週目に著増したが、16週目には著減し、又TG量は6, 10週目に低値で、16週目に高値を示したが、NEFA量は各週ともに低値であった。治療群の肝臓ではグリコーゲンとNEFA量は対照と差がないが、TG量は対照に比べて著しく低値であった。

A群の副腎脂では、TG量は対照に比べて6, 10週目はやや低く、16週目に多い傾向がみられ、又NEFA量は各週とも対照に比べて低値で、とくに16週目には著減した。B群の副腎脂では、TG量は6, 10週目では対照と差がなく、16週目ではむしろ対照を上回り、又NEFA量は減少傾向を示し、とくに16週目では著減した。治療群の副腎脂では、TG, NEFA量ともに対照と差がみられなかった。

**Fig. 1** は16週目の A, B 両群の肝臓を *in vitro* で incubate した際の肝臓の glucose 摂取量、グリコーゲン、TG, NEFA 量、及びメジウム中の NEFA 放出量の時間的変化を示す。glucose 摂取量は A, B 両

群とも同程度で、対照に比べて著明な経時的上昇を示した。A群では肝臓のグリコーゲン量が著しく高値であるが、incubate して30分後には著減し、60分後には再び上昇し、90分後には減少を示した。対照でも軽度ながらこれと似た経時的変動を認めた。B群では肝臓のグリコーゲン量が対照よりも低値で、incubate したのちの時間的変動も軽度であった。肝臓のTG量はA, B両群とも対照に比べて高値であったが、incubate したのちの経時的変動は軽度であり、又NEFA量はA, B両群とも低値で、とくにA群では著しく低値で、メジウム中のNEFA放出量も対照に比べて低値であった。然し、B群では対照との間に差がみられなかった。

**Fig. 2** は16週目の A, B 両群の副腎脂を *in vitro* で incubate した際の副腎脂の glucose 摂取量、TG と NEFA 量、及びメジウム中の NEFA 放出量の時間的変化を示す。

glucose 摂取量は A, B 両群とも対照と同様、経時的上昇を示したが、A群では対照を上回るが、B群では対照と差がなかった。又、TG量はA, B両群とも対照を僅かに上回り、経時的上昇の傾向を示したが、反対にNEFA量はA, B両群とも対照に比べて著しく低値で、90分後には対照と同様、減少を示した。メジウム中のNEFA放出量はA, B両群とも対照と同様、経時的上昇を示したが、A群では対照を上回り、B群では対照を下回る結果が得られた。

**Table 3** は glucose の代わりに Na-acetate を添加したメジウム中で A, B 両群、及び治療群の肝臓をそ

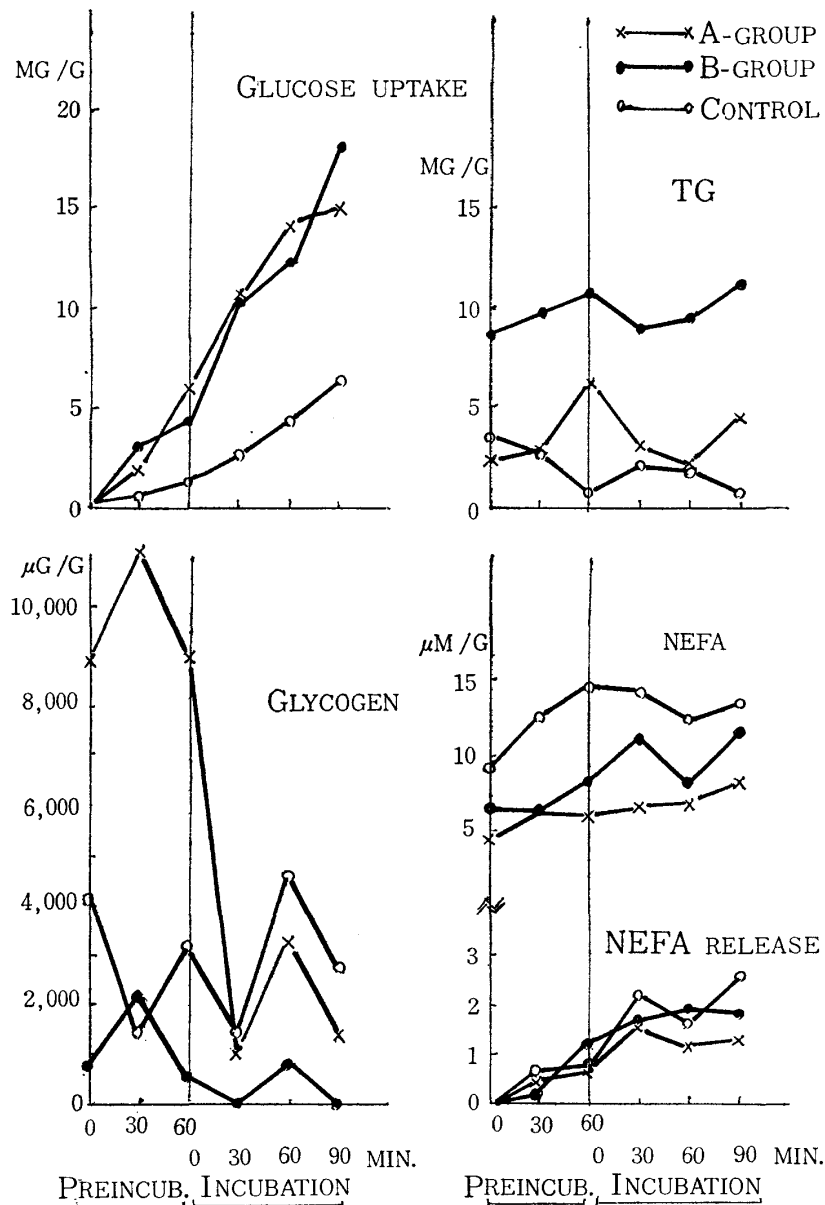


Fig. 1 アロキサン糖尿病ラット(16週目)の肝臓のインキュベーション成績——  
glucose 摂取量と NEFA 放出量及び TG とグリコーゲン量の時間的変化  
(A, B 両群)

れぞれ incubate した際の肝臓からの glucose 放出量を示す。なお、比較のために、各群の肝臓の glucose 摂取量を同時に表示した。A 群では 60 分と 90 分、とくに 90 分後の glucose 放出量が対照に比べて 6, 10, 16 週目ともに著しく多く、又 glucose 摂取量も亦、各週ともに対照に比べて著しく高値を示した。B 群では 16 週目に glucose 放出量の増加を認めしたが、6 及び 10 週目には glucose の放出を認めなかった。glucose 摂取量は 6 及び 16 週目には増加を示したが、10 週目にはむしろ減少を示した。治療群では glucose 放出量が対照に比べて少なく、反対に glucose 摂取量が増加した。

Table 4 (a) は A, B 両群及び治療群の副腎を in vitro で incubate した際のメジウム中へのコルチコステロン放出量を週別に示したものである。A, B 両群、とくに A 群では 60 分及び 90 分後のコルチコステロン放出量が対照に比べて多く、又治療群でも対照に比べて放出量が多かった。

Table 4 (b) は 10 及び 16 週目の A, B 両群の副腎を 500 μM dbc-AMP を添加したメジウム中で incubate した際のメジウム中へのコルチコステロン放出量を示す。A, B 両群では、各週ともに対照と同様、dbc-AMP 添加により副腎からのコルチコステロン放出量が増加し、dbc-AMP による副腎皮質の刺激効果が認

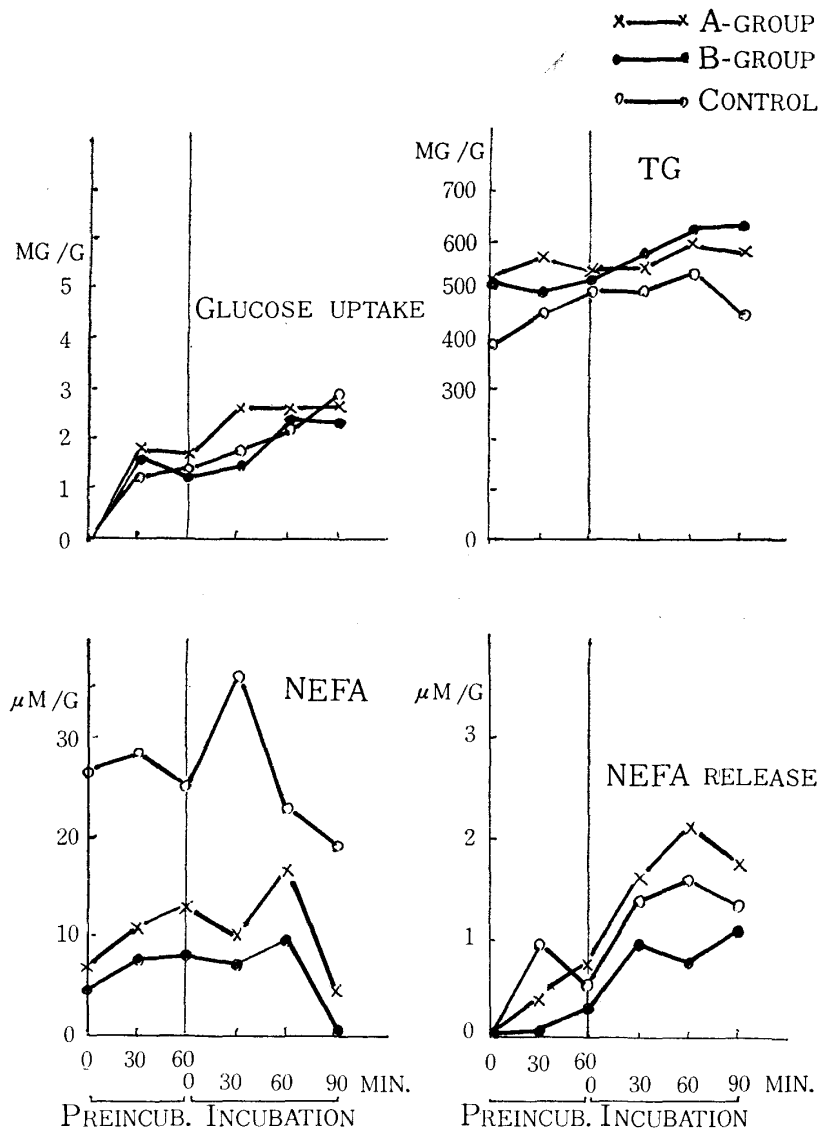


Fig. 2. アロキサン糖尿病ラット (16週目) の副腎脂のインキュベーション成績—glucose 摂取量と NEFA 放出量及び TG と NEFA 量の時間的变化 (A, B 両群)

められた。しかし、A群では、10週目の dbc-AMP による副腎皮質の刺激効果は対照と差がなかったが、16週目の刺激効果は対照に比べて僅かに弱いように思われた。

Table 5 は A, B 両群及び治療群の血中の glucose, TG, NEFA, コルチコステロン値を週別に示したものである。血糖値は A 群では 6, 10, 16 週目ともに対照に比べて著しく高く、B 群でも各週ともに高い傾向がみられた。更に又治療群でも著しく高値を示した。

血中の TG 値は、A, B 両群及び治療群では何れも対照に比べて低値であった。血中の NEFA 値は、10 週目では A, B 両群とも対照に比べて低く、治療群では高かったが、16 週目では対照に比べて A 群では高く、B 群では低い傾向がみられた。

血中のコルチコステロン値は、10 週目では対照に比べて A 群では増加を示したが、B 群と治療群では対照との間に差がなかった。16 週目では A, B 両群とも対照に比べて低値を示した。6, 10, 16 週目の血清インスリン値は、それぞれ対照では平均 92, 35, 116  $\mu\text{u/ml}$ 、又 A 群では平均 17, 4, 24  $\mu\text{u/ml}$  で、従って A 群では明らかに各週とも対照に比べて著しく低値であった。又、治療群では平均 63  $\mu\text{u/ml}$  で、対照の 92  $\mu\text{u/ml}$  に比べて低いが、A 群よりは高い値を示した。

(C) 各臓器の組織学的検査所見

A 群の肝臓では、とくに16週目にはグリコーゲン顆粒の沈着が著明で、(Photo. 1, 2) 反対に脂肪顆粒が著減した。A, B 両群とも副腎皮質では幅の増大傾向

**Table 3** アロキサン糖尿病ラットの肝臓を in vitro でインキュベートしたさいの glucose 摂取量と glucose 放出量 (6, 10, 16週目)

Week		6		10		16	
Incubation time (min.)		60	90	60	90	60	90
Glucose# uptake (mg/g)	Control	0.97	3.34	2.65	2.92	3.18	5.29
	A	4.16	6.94	4.52	6.23	8.36	9.18
	B	3.52	4.91	1.25	1.98	7.92	13.75
	Insulin treatment	—	—	9.81	14.07	—	—
Glucose## release (mg/g)	Control	0.97	2.27	0.89	1.06	0	0
	A	3.00	3.87	1.72	1.72	3.13	4.54
	B	0	0	0	0	3.26	7.37
	Insulin treatment	—	—	0.51	0.51	—	—

# The liver was incubated in vitro in the glucose containing medium

## The liver was incubated in vitro in the sodium acetate containing medium

**Table 4 (a)** アロキサン糖尿病ラット (6, 10, 16週目) の副腎を in vitro でインキュベートした際のコルチコステロン放出量の時間的变化 (A, B 両群と治療群)

Week		6			10				16		
Group		Control	A	B	Control	A	B	Insulin treatment	Control	A	B
Incubation time (min.)	30	11	28	12	2	5	8	7	11	21	19
	60	20	50	22	4	10	14	11	25	49	37
	90	29	66	28	5	15	18	15	36	73	49

**Table 4 (b)** 同上 (500 $\mu$ M dbc-AMP 添加メジウム中でのインキュベーション)

Week		10			16		
Group		Control	A	B	Control	A	B
Incubation time (min.)	30	8	13	12	13	30	20
	60	15	25	21	28	54	46
	90	22	37	30	39	79	64

**Table 5** アロキサン糖尿病ラット (6, 10, 16週目) の血中の糖, TG, NEFA 及び  
コルチコステロン値 (A, B 両群と治療群)

Week	Group	No. of rats	The blood levels of			
			Glucose (mg/dl)	TG (mg/dl)	NEFA ( $\mu$ M/l)	Corticosterone ( $\mu$ g/dl)
6	Control	3	149	34.5	561.4	—
	A	3	331	—	—	—
	B	3	160	—	—	—
10	Control	4	188	42.3	516.0	20
	A	3	242	39.9	231.8	40
	B	3	169	36.7	315.6	21
	Insulin treatment	2	281	37.0	1217.4	16
16	Control	3	114	90.4	61.3	123
	A	4	361	67.8	646.2	65
	B	4	174	53.5	434.5	45

**Table 6** アロキサン糖尿病ラット (6, 10, 16週目) の膵ラ氏島の平均直径及びラ氏島  
1個当たりの平均  $\alpha$ -細胞数 (A, B 両群と治療群)

Week	6		10		16	
	Diameter ( $\mu$ )	No. of $\alpha$ -cell	Diameter ( $\mu$ )	No. of $\alpha$ -cell	Diameter ( $\mu$ )	No. of $\alpha$ -cell
Control	222	6	228	7	268	15
A	190	12	263	diffusely distributed	199	18
B	169	10	239	17	277	13
Insulin treatment	—	—	164	7	—	—

を認めたが、束状層のズダン顆粒は対照に比べて6週目は少なく、更に10及び16週目にはズダン顆粒を殆んど認めなかった。A群(16週目)の副辜脂の脂肪細胞の面積は、Abbe装置とプランメーターを用いて測定した結果、平均 $7,000\mu^2$ で、対照の平均 $24,000\mu^2$ に比べて約 $1/3$ に縮小することが確認された。(Photo. 3, 4)

**Table 6** は A, B 両群及び治療群の膵ラ氏島の大きさ(直径)及び  $\alpha$ -細胞数を週別に示したものである。

ラ氏島の形が大きくて整っているもの3~5個について、Abbe装置とプランメーターを用いて測定して得た面積からラ氏島の平均直径を求め、又ラ氏島1個当たりの平均 $\alpha$ -細胞数を求めた。A群では、ラ氏島の平均直径は対照に比べて6, 16週目ともに小さく、10週目では大きい傾向がみられた。B群では、対照に比べ

て6週目は小さいが10及び16週目は大きい傾向がみられ、又治療群では対照に比べて小さい傾向がみられた。

ラ氏島1個当たりの平均  $\alpha$ -細胞数は、A群では各週とも対照に比べて多く、とくに10週目にはラ氏島全域に  $\alpha$ -細胞が分布しているのを認めた。(Photo. 5, 6) B群では6, 10週目には対照に比べて  $\alpha$ -細胞の数が多かったが、16週目には少ない傾向がみられた。又、治療群では、 $\alpha$ -細胞の数は対照と差がなかった。

A, B 両群の膵ラ氏島では  $\beta$ -細胞の染色が不良で、脱顆粒が著明に認められた。

### 考 察

糖尿病の肝臓における糖代謝異常を究明する目的でアロキサン糖尿病ラットをA, B両群及びインスリ

ン治療群の3群に分けて肝臓及び副腎脂のインキュベーション実験を行うと同時に、血中のインスリン、糖、TG、NEFA、コルチコステロン値の測定、及び各臓器の組織学的検査を行ない、比較検討した。以下、2、3の興味ある知見を中心に考察してみたいと思う。

A群の肝臓では、グリコーゲンが著増し、又 glucose 添加メジウム中で肝切片を incubate すると、glucose 摂取量が対照に比べて著しく多く、又肝グリコーゲン量が正常肝と同様、incubate して30分後に劇的に著減するが、60分後には増加を示し、90分後に再び減少する。この事実は、糖尿病肝ではグリコーゲンの合成と分解が正常肝と似ていることを示唆する。Harper<sup>8)</sup>によれば、糖尿病の脂肪組織では glucose 摂取量、ないし脂肪細胞膜の glucose 透過性は血中インスリンの濃度に依存するが、肝臓の glucose 摂取量、ないし肝細胞膜の glucose 透過性は血中 glucose と肝細胞内 glucose の濃度差に依存し、血中インスリンの濃度は影響しないと云う。

要するに、糖尿病ラットでは睥ラ氏島からのインスリン分泌の低下により、体内では glucose の利用が障害される結果、血糖が上昇し、従って肝臓の glucose 摂取量が増大し、引いては肝グリコーゲンの著増を来たすものと思われる。然し又、糖尿病ラットの肝切片を glucose の代わりに Na-acetate を添加したメジウム中で incubate すると、肝臓からの glucose 放出量が対照に比べて著しく多い。この事から、糖尿病肝では glucose の摂取のみならず、放出も活発であると云える。

糖尿病の肝臓における解糖系では、糖分解よりも糖合成の方向に酵素活性が強く働く<sup>11,12)</sup>ことが知られている。吾々もアロキサン糖尿病ラットの肝臓ではグリコーゲンが著増し、かつ肝臓からの glucose 放出量が多いことから、肝臓における糖新生が活発であることを推定した。

さて、糖新生には少くともグルカゴンやコルチコステロンなどのホルモンが関与することが知られている。グルカゴンはグリコーゲン分解を促進して血糖を上昇させる作用があり、又コルチコステロンは脂肪組織や筋などからアミノ酸、乳酸、グリセロールなどを動員し、肝臓で glucose やグリコーゲンに変化させる働<sup>9,12)</sup>があり、いずれも糖新生作用があると考えられる。吾々はとくにA群ラットの睥ラ氏島では  $\alpha$ -細胞の増加傾向を認めたことから、グルカゴン分泌の亢進が示唆された。Unger<sup>9)</sup> (1976) は若年者糖尿病の睥ラ氏島において、免疫蛍光染色法を用いてラ氏島の

減少と  $\beta$ -細胞の著減或いは消失の他に、 $\alpha$ -細胞とD-細胞 (Somatostatin 分泌細胞) の増加を認めたが、同時に胃、腸からのグルカゴン分泌の増加をも認め、更に実験的糖尿病でも同様の所見を得たことから、“double trouble” 仮説を提唱した。即ち、糖尿病の睥ラ氏島では  $\beta$ -細胞の減少の他に、 $\alpha$ -細胞の増加がみられ、従って糖尿病の発症にはインスリン分泌の減少のみならず、グルカゴンの過剰分泌が関与し、とくに内因性高血糖の発現にはグルカゴンが関係することを示唆した。吾々のA群ラットの睥ラ氏島における所見は、彼の見解を支持するものと考えられる。要するに、糖尿病ラットの血糖上昇を伴った糖代謝異常には、グルカゴンの過剰分泌が一役を買っているように考えられる。

アロキサン糖尿病ラットの副腎を *in vitro* で incubate した吾々の成績では、副腎皮質からのコルチコステロン分泌の亢進を示唆する結果が得られた。cAMP 或いは dbc-AMP のラット副腎に対するステロイド産生効果が Saffran<sup>7)</sup> らによって認められている。吾々も dbc-AMP を添加したメジウム中で6及び10週目の副腎を incubate すると、対照と同様、dbc-AMP による副腎皮質の刺激効果のあることを認めた。しかし、16週目の副腎では、対照に比べて dbc-AMP による刺激効果がやや低く、従って副腎皮質予備能が低下する傾向にあることが示唆された。組織学的に A, B 両群とも副腎皮質の肥大傾向を認めたが、束状層のズダン顆粒は減少又は減少傾向を示した。恐らくコルチコステロン分泌の亢進像を示すものであろう。前述の如く、ステロイドホルモンには糖新生作用があるが、糖尿病のように細胞膜の glucose 透過性の低下により糖の利用障害が存在する場合には、糖新生機序の亢進はエネルギー代謝の面では合目的な適応現象と云えよう。何れにせよ、コルチコステロンが糖尿病ラットの糖代謝異常に何んらかの役割を果しているものと思われる。

前述のように、糖尿病では睥ラ氏島からのインスリン分泌が低下するために、glucose の膜透過性が一般に障害され、体内での糖利用が妨げられる結果、glucose に代って NEFA が必然的にエネルギー源に利用されることになり、特に脂肪組織では脂肪分解が亢進するようになる。吾々はアロキサン糖尿病ラットの副腎脂を *in vitro* で incubate した結果、とくにA群ではメジウム中の NEFA 放出量が対照に比べて多いことを知った。又 A, B 両群、とくに尿糖が出現し、体重の減少が著明であったA群では、腹腔内脂肪



と副腎脂の重量が著しく減少し、脂肪細胞が萎縮するのを認めた。

これらの事実は、glucose の代りに NEFA がエネルギー源として利用される結果、脂肪組織では脂肪分解が活発であることを示唆する。吾々のA群では血中の TG 値が低いが、NEFA 値はとくに16週目には高値を示したが、恐らく脂肪組織からの NEFA の動員が亢進した結果と考えられる。又、肝臓の TG 量は各週とも対照に比べて低値で、又組織学的にも肝臓の脂肪顆粒が対照に比べて著しく少ないことがズダン染色で確認された。反対に、肝臓のグリコーゲン量が対照に比べて著しく多く、グリコーゲン顆粒の著しい増加が PAS 染色で確認された。

尿糖が持続しなかったB群ラットでは、対照に比べて肝臓の glucose 摂取量、及びグリコーゲン量が高値を示し、A群との間に大差がなかった。肝臓の TG 量もA群と同様、対照に比べて低値で、インキュベーション後の経時的増加も軽度であった。副腎脂のインキュベーションでは、glucose 摂取量が対照に比べて低値で、又 NEFA 放出量の経時的増加の傾向を認めたが、A群及び対照に比べて軽度であった。膵臓ではA群に比べてラ氏島の萎縮と $\beta$ -細胞の脱顆粒が軽度で、又 $\alpha$ -細胞数が対照よりは多いが、A群に比べて少ない傾向が認められた。

アロキサン注射後7週目の糖尿病ラットに lente insulin を16日間、毎日6~14u. を注射して尿糖が消失又は著減した治療群では、肝臓の glucose 摂取量が著しく高値で、又肝グリコーゲン量及び膵ラ氏島の $\alpha$ -細胞数の正常化の傾向が認められた。

なお、副腎からのコルチコステロン分泌量は、B群、治療群ともに対照に比べて多く、又B群では dbc-AMP による副腎皮質の刺激効果は対照、或いは6及び10週目のA群とほぼ同様であった。

要するに、糖尿病ではインスリン不足により体内では糖利用が障害される結果、必然的にエネルギー源を特に脂肪組織における脂肪分解と、主として肝臓における糖新生に求めざるを得なくなる。吾々の成績でも明らかのように、脂肪組織では TG の分解が促進して NEFA の動員が亢進し、更にこの状態が長く持続すれば脂肪組織の消耗と脂肪細胞の萎縮を来たすようになる。又、肝臓ではインスリン不足にも拘らず、glucose 摂取が活発で、グリコーゲン量が多く、肝臓からの glucose 放出量も増大する。従って、糖尿病ラットの肝臓では糖代謝異常が存在し、これには糖新生機序の活発化が関係しているものと推察される。一

方、副腎では組織学的に皮質の肥大傾向が、又副腎のインキュベーション実験ではコルチコステロン分泌の亢進傾向がみられた。また、膵ラ氏島では $\beta$ -細胞の減少及び $\alpha$ -細胞の増加傾向がみられ、インスリン分泌の低下と同時に、グルカゴン分泌の亢進を示唆する結果が得られた。

以上の所見を総合すると、糖尿病ラットではグルカゴンやコルチコステロンの分泌が亢進する傾向があり、この事が又上述の糖新生機序の亢進と関連しているように思われる。しかも糖尿病における糖新生機序の存在は、インスリン不足による体内での糖利用障害に対するエネルギー補給の面で甚だ合目的な適応現象と言えよう。然し、糖尿病のさいの肝臓における糖新生を確認するためには、更にアラニン添加メジウム中で肝臓を incubate して glucose 放出量が増加することを確かめること、更に又酵素学的に解糖系を逆行する化学過程に関与する各酵素、例えば G-6-Pase, F-1, 6-Pase, PEP-carboxykinase, Pyruvate carboxylase などの酵素活性が亢進することを確かめることが必要であろう。

## む す び

糖尿病のさいの肝臓の糖代謝異常を明らかにする目的で、アロキサン糖尿病ラットをA、B両群及びインスリン治療群に分ち、肝臓、副腎脂、副腎のインキュベーション実験を行なうと同時に、血中のインスリン、糖、TG、NEFA、コルチコステロン値の測定、及び各臓器の組織学的検索をも行ない、比較検討した結果、次の結論を得た。

### (A) A 群

- 1) 肝臓のグリコーゲン量が著増し、反対に TG 量が減少した。
- 2) 肝臓のインキュベーション実験では、肝臓の glucose 摂取量と放出量の増加を認め、又グリコーゲンは対照と似た時間的変動を示した。肝臓の TG 量の時間的変動が少なく、NEFA 放出量は対照に比べて少なかった。
- 3) 副腎脂のインキュベーション実験では、対照に比べて TG 量及び NEFA 放出量の経時的増加が著明であった。
- 4) 副腎のインキュベーション実験では、コルチコステロン放出量が対照に比べて多く、又 dbc-AMP 添加による副腎皮質の刺激効果が10週目では対照と差がなかったが、16週目では副腎皮質予備能が低下する傾向がみられた。

5) 糖尿病ラットでは 6, 10, 16週目ともに対照に比べて血清インスリン値が著減し、血糖値が著しく高く、また血中の TG と NEFA 値が低いが、血中のコルチコステロン値は10週目には対照よりも高いが、16週目には低値を示した。

6) 組織学的検査では、肝臓のグリコーゲン顆粒の沈着がとくに16週目に著明で、反対に脂肪顆粒が著減した。副腎皮質では幅の増大傾向及びズダン顆粒の減少傾向が、又腓ラ氏島ではラ氏島の平均直径が小さく、 $\beta$ -細胞の減少と脱顆粒、及び  $\alpha$ -細胞の増加傾向が認められた。

#### (B) B 群

(1) 肝臓のグリコーゲン量は A 群と同様、著増するが、TG 量は反対に A 群と同じく減少した。

(2) 副腎脂のインキュベーション実験では、NEFA 放出量の経時的増加を認めたが、A 群に比べて軽度であった。

(3) 腓ラ氏島では、A 群に比べてラ氏島の萎縮が軽度で、又  $\alpha$ -細胞の数は対照よりも多いが、A 群に比べて少ない傾向が認められた。

#### (C) インスリン治療群

肝臓のグリコーゲン量及び腓ラ氏島の  $\alpha$ -細胞数が正常化する傾向が認められた。

以上より、フロキササン糖尿病ラットの肝臓では、糖代謝異常が存在し、とくに糖新生機序の活発化が示唆されたが、これにはグルカゴンやコルチコステロンの分泌亢進が関連しているように思われた。

本研究の要旨は、第14回日本糖尿病学会近畿地方会(昭和52年11月、神戸)で発表した。

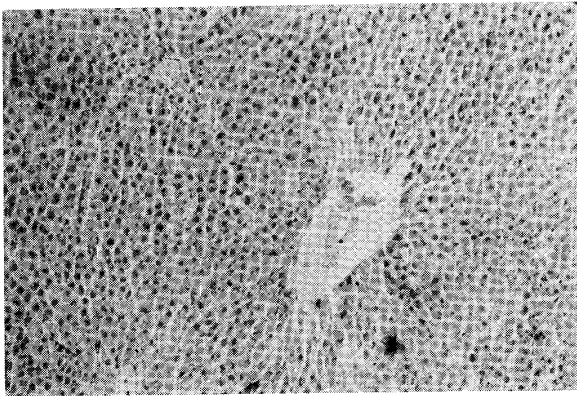
## 謝 辞

血清インスリンの測定に協力して頂いた京都専売病院栄養科森本昌親先生及び玉田妙子氏に感謝する。

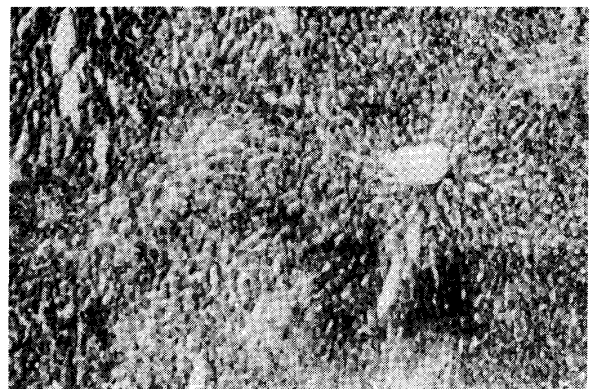
## 主要参考文献

- 1) 垂井清一郎：糖尿病，病態の生化学 I，617-645 (1968)
- 2) R. H. Unger：Diabetes 25, 136-149 (1976)
- 3) 三浦義彰監訳：ハーパー・生化学 482-492 (1975) 丸善
- 4) 北野須磨子，本山恭子：糖尿病ラットの肝及び脂肪組織における糖及び脂質代謝に関する *in vitro* の研究 (未発表)
- 5) 説田武，大井恵子，小田文子，西尾和子，山本晶子：京都女子大学食物学会誌 31, 7-20 (1976)
- 6) Sayers, G., R. L. Swallow & W. D. Giordano：Endocrinology 88, 1063-1068 (1971)
- 7) Pearlmutter, A. F., E. Rapino & M. Saffran：Endocrinology 89, 963-968 (1971); 92, 679-686 (1973)
- 8) Zenker, N. & D. E. Bernstein：J. B. C. 231, 695 (1958)
- 9) 丹羽正治，他：臨床化学分析 VI, 121-125; 148-149 (1969) 東京化学同人
- 10) 川出真坂：臨床化学分析 III, 40-56 (1966) 東京化学同人
- 11) 春日誠次：同上 106-112 (1966) 東京化学同人
- 12) 勝沼信彦，市原明編：代謝調節 5-6 (1968) 朝倉書店

写 真 (その 1)

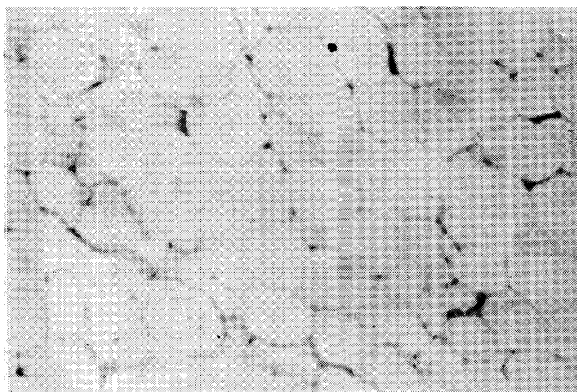


**Photo. 1.** 対照ラット (10週目) の肝臓におけるグリコーゲン顆粒の沈着 (PAS 染色) (10×10)

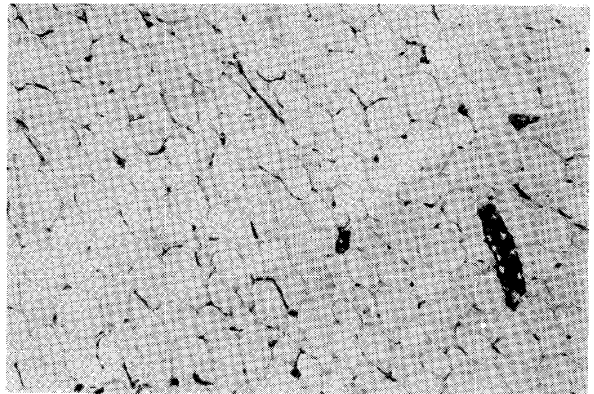


**Photo. 2.** A群ラット (16週目) の肝臓におけるグリコーゲン顆粒の著しい沈着 (PAS 染色) (10×10)

写 真 (その 2)

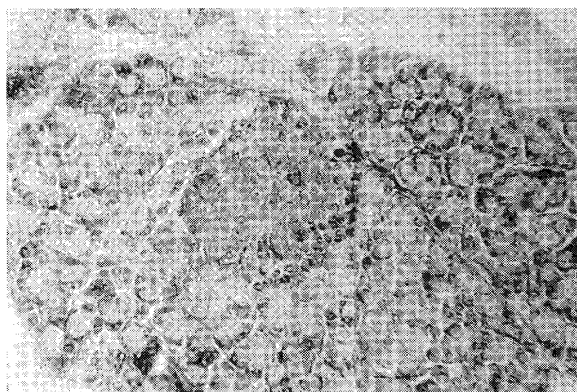


**Photo. 3.** 対照ラット (16週目) の副睾脂における脂肪細胞 (HE 染色) (10×20)

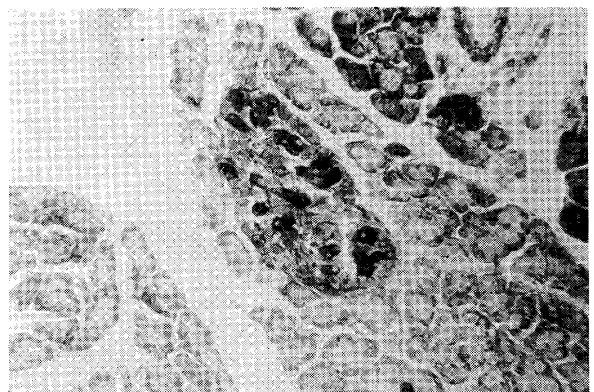


**Photo. 4.** A群ラット (16週目) の副睾脂における脂肪細胞の萎縮 (HE 染色) (10×20)

写 真 (その 3)



**Photo. 5.** 対照ラット (10週目) の膵ラ氏島における $\alpha$ -細胞 (Grimelius 鍍銀染色) (10×20)



**Photo. 6.** A群ラット (10週目) の膵ラ氏島における $\alpha$ -細胞の著しい増殖 (Grimelius 鍍銀染色) (10×20)