

原 著

ラット脂肪細胞におけるグルココルチコイドの
インスリン拮抗作用

渡 辺 知 之

信州大学医学部第二内科学教室

(主任: 小田正幸教授)

ANTAGONISM OF INSULIN ACTION ON RAT ADI-
POCYTES METABOLISM BY GLUCOCORTICOIDS

Tomoyuki WATANABE

Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,

Shinshu University

(Director: Prof. M. Oda)

Key words: 脂肪細胞 (adipocytes)
インスリン抵抗性 (insulin resistance)
グルココルチコイド (glucocorticoids)

I. 緒 言

末梢組織のインスリン抵抗性は、肥満¹⁾、化学的糖尿病²⁾、内因性高脂血症患者³⁾、ob/ob マウス⁴⁾、視床下部内側核破壊ラット⁵⁾等に共通してみられる代謝異常であり、同時に高インスリン血症をとまうことが知られている。

この病態の機序は動物や人間の主として肝細胞、脂肪細胞、リンパ球などの細胞膜にあるインスリンレセプターとの関連において検討され、組織のインスリン抵抗性が、インスリンとそのレセプターとの結合能の低下とよく相関していることがあきらかとなった。

一方、Amatruda ら⁶⁾は、インスリン抵抗性を示す肥満した人間から得た大きい脂肪細胞は、標準体重の人間の小さな脂肪細胞にくらべインスリンとレセプターの結合は質的、量的に同じであることを報告している。そして肥満者の脂肪細胞にみられるインスリン感受性の低下は、レセプターの数の減少ではなく、それが細胞膜表面に拡散 (dilution) して粗になっているためか、あるいは細胞内のヘキソキナーゼを代表とする酵素の変動による糖、脂質代謝異常であるかと推測している。また Czech ら⁷⁾も脂肪細胞における

インスリン抵抗性の機序として、インスリンレセプターの変動よりむしろ、レセプターと結合したのちの細胞内酵素活性の変動を重要視する報告をおこなっている。

グルココルチコイドを一定期間投与すると、きわめて早期に高インスリン血症、耐糖能異常、また末梢組織のインスリン抵抗性が招来されることはよく知られており、多くの知見が集積されている⁸⁾⁹⁾。そしてその機序として in vivo および in vitro 実験によると、グルココルチコイドは脂肪細胞のインスリンレセプターの減少、あるいはブドウ糖の細胞膜透過を障害することにより、インスリンによるブドウ糖の代謝促進作用が阻害されると報告されている¹⁰⁾⁻¹⁵⁾。しかし細胞内酵素活性との相関は充分明らかにされてはいない。

そこで本研究は臨床的薬量に近いグルココルチコイドを3日間ラットに投与し、その副腎丸脂肪細胞におけるインスリン感受性を、ブドウ糖酸化、脂質合成促進作用、および脂質分解抑制作用について検討し、解糖系の律速酵素であるヘキソキナーゼ、そのアイソザイム、また脂肪合成に必要な NADPH 産生系として脂肪合成の律速酵素と考えられる5炭糖リン酸回路

脱水素酵素, NADP⁺-リンゴ酸脱水素酵素との相関について検討した。そしてグルココルチコイドのもたらす末梢組織のインスリン抵抗性, とくに脂肪細胞における代謝変動について, その作用機序を解析した。

II. 実験方法

ウイスター系雄性ラットをオリエンタル固型飼料にて飼育し, 体重 120~140g のものを実験に用いた。対照群, デキサメサゾン (以下 Dex. と略す) 群に分け, Dex. 群は Dex. 20 μ g/100g 体重を, 対照群は生食水を 3 日間腹腔内投与し, 最終投与後 12 時間, 早朝に断頭屠殺して血液, 副睾丸脂肪組織を採取し実験に供した。ブドウ糖負荷試験, インスリンの脂質分解抑制作用は一夜絶食させ, その他の実験には飽食の状態のラットを用いた。

ブドウ糖負荷試験は, 軽いエーテル麻酔下で, 体重 100g あたり 250mg のブドウ糖溶液を経口的に投与し, 尾静脈より 0, 30, 60, 90, 120, 180 分と計 6 回経時的に採血した。血糖は Glucose-Oxidase 法, 血漿 IRI はインスリンリアキット (ダイナボット RI 研究所) を用いた 2 抗体法で測定した。

遊離脂肪細胞は, Rodbell の方法¹⁹⁾に従い作製した。容量 25ml のシリコン化したポリエチレンバイアルに, 3.5% ウシ血清アルブミン (フラクシオン V) を含む Krebs-Ringer-bicarbonate 緩衝液 (pH 7.4) を 3ml 入れ, これに crude bacterial collagenase 10mg を添加してよく溶かした後, 3 匹のラットの副睾丸脂肪組織をすばやくとり出しインキュベートした。

ついで 95% O₂-5% CO₂ の混合ガス下で, 120 サイクル/分の速さで 37°C, 1 時間振盪したのち, 遊離した脂肪細胞をナイロンメッシュでろ過した。このようにして分離した脂肪細胞を, コラーゲナーゼを含まない同一の緩衝液 10ml で, 400 \times g 1 分間遠心洗浄の操作を 3 回くり返し脂肪細胞浮遊液を作成した。

脂肪細胞の糖代謝におけるインスリン感受性は, インスリン添加による [U-¹⁴C]-glucose から ¹⁴CO₂, ¹⁴C-総脂質への転換量を指標とした。2ml の 3.5% 牛血清アルブミン (フラクシオン V) Krebs-Ringer-bicarbonate 緩衝液に [U-¹⁴C]-glucose をブドウ糖濃度 1mM あたり 0.1 μ Ci/ml となるように添加した。各反応バイアルに約 1 \times 10⁵ 個の遊離脂肪細胞を分注し, 総反応液量を 2.5ml とした。95% O₂-5% CO₂ の混合ガスをバイアルに飽和させ, 中央にハイアミン

カップをつるしたゴムキャップで密閉し反応を開始し, 80 サイクル/分の速さで, 37°C, 1 時間振盪後, 0.2ml の 1N 硫酸を反応液に加え反応を停止させた。そして反応液中より放出された ¹⁴CO₂ を, 0.2ml のハイアミンをハイアミンカップに加え, さらに 1 時間振盪し吸着させた。

また ¹⁴C-総脂質への転換量は, Dole¹⁷⁾の抽出液 (イソプロピルアルコール: ヘプタン: 1N 硫酸=40:10:1) を反応液に加えて 5 分間抽出器で振盪後 15 分間放置し, つぎにヘプタン, 水を追加して 3 分間振盪して総脂質を抽出した。一定量のヘプタン層をエバポレーターにて蒸発させ, 6ml のシンチレーション液を加え, その放射能を液体シンチレーション計数器で測定した。シンチレーション液は 0.4%, 2.5 diphenyloxazole, 0.05%, p-bis [2-(5-phenyloxazolyl)]-benzene Toluene 溶液にて測定した。

脂質分解の指標としては, 脂肪細胞からのグリセロール放出量をえらんだ。一夜絶食させたラットから遊離脂肪細胞を作製し, エピネフリンを脂質分解刺激剤として, ブドウ糖を含まない 3.5% 牛血清アルブミン (フラクシオン V) Krebs-Ringer-bicarbonate 緩衝液 (pH 7.4) に最大刺激濃度¹⁸⁾である 1 μ g/ml 濃度に添加した。95% O₂-5% CO₂ 混合ガス下に 80 サイクル/分の速さで, 37°C, 2 時間振盪をおこない, 0.25ml の 30% 過塩素酸を加えて除蛋白, 反応を停止させ固型 KHCO₃ で中和, 4°C, 30 分間放置後遠心し KClO₄ を沈澱させ上清をグリセロールの測定に用いた。グリセロールの測定は, 酵素法によるペーリンガー・マンハイム社製のキットを使用した。

遊離脂肪細胞の数は, 2% Osmium tetroxide-colloidine 塩酸緩衝液 (pH 7.4) で 37°C, 24 時間固定後, 光学顕微鏡で測定した¹⁹⁾。

脂肪組織のヘキソキナーゼ活性は, Bernstein と Kipnins の変法²⁰⁾により測定した。組織の 5 倍量の抽出液 (0.15M KCl: 10mM K phosphate, pH 7.0: 5mM NaEDTA: 5mM DTT: 10mM Glucose) で水中でホモジネートし, さらにスーパーソニックバイレーターで 1 分間超音波処理したのち, 800 \times g, 10 分間遠心してその上清を総ヘキソキナーゼ活性測定に用いた。また上清の一部は, 10 倍量の 10mM K phosphate, pH 7.0, 5mM NaEDTA, 5mM DTT で 45°C, 45 分間熱処理し, ヘキソキナーゼ I 型を測定した。総ヘキソキナーゼ活性と I 型との差をヘキソキナーゼ II 型とした。

ラット脂肪細胞のインスリン感受性

5炭糖リン酸回路脱水素酵素, NADP⁺-リンゴ酸脱水素酵素活性の測定は, 組織の2倍量の 0.25M sucrose で氷水中でホモジネート後, 12000×g, 15分間遠心後の上清を酵素活性に用いた。測定は "Methods in Enzymology"²¹⁾²²⁾の記載に準じ, 2mM グルコース6リン酸, L-リンゴ酸をそれぞれ基質として, 0.1M Tris 緩衝液, pH7.6 に 5mM MgCl₂, 0.1mM NADP⁺ 存在のもとに酵素活性を測定した。抽出液の蛋白量はビュレット法にて測定した。

推計学的検定は Students t-test を使用し, 平均値 ±SD で表現した。

Ⅲ. 試 薬

インスリンはノボ社の結晶豚インスリン, 生物学的活性 27.0 i. u./mg のものを用いた。コラーゲナーゼ (136U/mg) は Worthington 社より, [U-¹⁴C]-glucose (14.3mCi/mmol) は New England Nuclear 社より入手した。また牛血清アルブミン (フラクションV) は Sigma 社より入手し, 4°C, 24時間蒸留水にて透析後実験に用いた。デキサメサゾン[®]は万有製薬, L-エピネフリンは Sigma 社, ハイアミン 10X-OH は半井社のものを用いた。その他の試薬は市販最良品を用いた。

Ⅳ. 成 績

A. 空腹時血糖および血中インスリン

(図1)

対照ラットの空腹時血糖, 血漿 IRI は, それぞれ 102.9 ± 38.6 mg/dl, 25.1 ± 8.3 μU/ml であった。これに対し, Dex. 群ではそれぞれ 117.9 ± 38.6 mg/dl, 95.9 ± 18.3 μU/ml と空腹時血糖には有意の差はみられないが, IRI は Dex. 群で有意の増加 (P < 0.01) を認めた。また IRI/FBS は対照群 0.24 ± 0.08, Dex. 群 0.82 ± 0.18 と Dex. 群において有意 (P < 0.01) の高値をとった。

B. ブドウ糖負荷試験 (図2)

体重 100g あたり 250mg の経口ブドウ糖負荷試験では, 各時点における両群の血糖値を比較すると, 30分, 60分値においてそれぞれ P < 0.05, P < 0.01 の有意差で Dex. 群で耐糖能の異常がみとめられた。

C. 糖代謝におけるインスリン感受性

1. インスリン濃度の影響 (図3)

脂肪細胞における [U-¹⁴C]-glucose から ¹⁴CO₂, ¹⁴C 総脂質へのとり込みを指標として, 1mM ブドウ

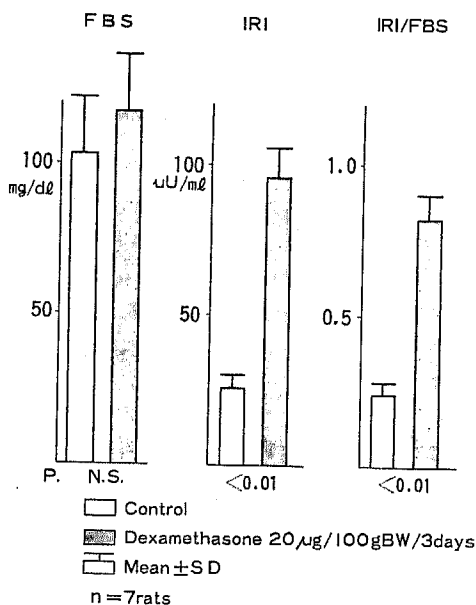


Fig. 1. Effect of dexamethasone on FBS and IRI

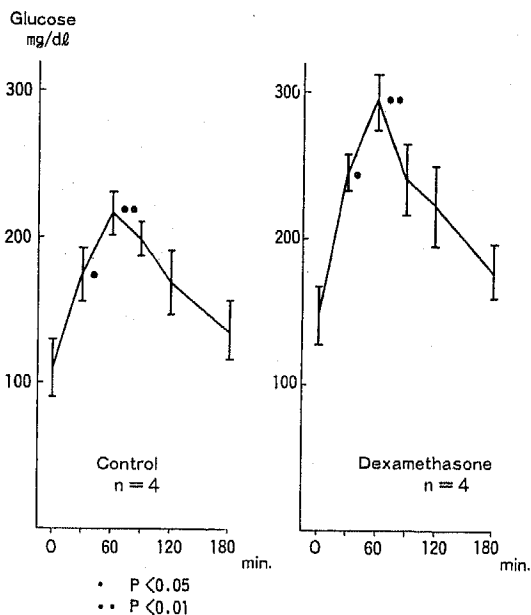


Fig. 2. Glucose tolerance test

糖存在下に, 各濃度のインスリンの糖代謝促進作用を検討した。

反応液中にインスリンを含まない basal level における ¹⁴CO₂ へのとり込みは, 対照群で 2344 ± 627

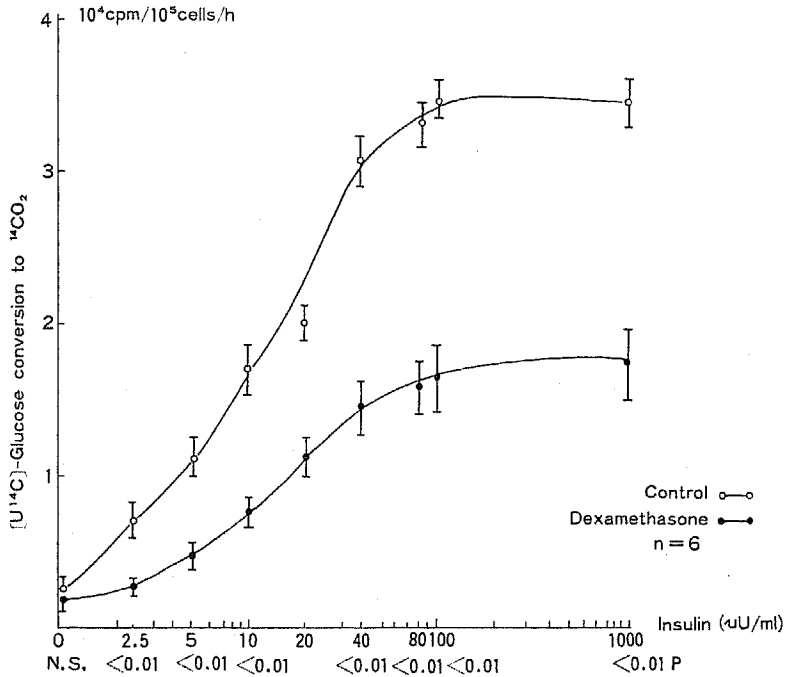


Fig. 3. Effects of various concentrations of insulin on [U-¹⁴C]-glucose metabolism

cpm/10⁵ cells/h, Dex. 群で 1905 ± 552 cpm/10⁵ cells/h で両群の間に有意の差はみられない。反応液中のインスリン濃度を 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, 100, 1000 μU/ml と増量させると両群において明らかな糖代謝促進作用がみられるが, 100 μU/ml を越えると, その促進作用は飽和となる。この結果は Rodbell¹⁹⁾の成績と一致する。インスリン 100 μU/ml 濃度においては, ¹⁴CO₂ へのとり込みは, 対照群 34942 ± 5631 cpm/10⁵ cells/h, Dex. 群 16522 ± 4312 cpm/10⁵ cells/h とインスリンに対する反応は両群の間に有意の差 (P < 0.01) が認められた。Basal level との相対比は, 対照群で 14.9 倍, Dex. 群で 8.6 倍と, インスリン 100 μU/ml 存在下では Dex. 群で対照群に比較して約 57% のインスリン感受性の低下がみられた。

¹⁴C-総脂質へのとり込みは, ブドウ糖酸化に対するインスリンの促進作用と平行して変動し, basal level では両群の間に差はないが, 各濃度のインスリン添加により, 両群の間に有意の差 (P < 0.01) が生じた (図 4)。

[U-¹⁴C]-glucose から ¹⁴CO₂, ¹²C-総脂質への転換量の比 (¹⁴CO₂ : ¹²C-総脂質) は Minemura と Crofford²³⁾によると, basal level では 0.39 ± 0.038, イ

ンスリン 100 μU/ml 刺激では 0.59 ± 0.017 と報告されている。今回の実験では対照群において, basal level では 0.46 ± 0.085, インスリン 100 μU/ml 刺激では 0.64 ± 0.078 であった。一方 Dex. 群ではそれぞれ 0.42 ± 0.105, 0.62 ± 0.124 であり, Minemura と Crofford の報告に近い値と考えられる。また対照群と Dex. 群で [U-¹⁴C]-glucose から ¹⁴CO₂, ¹⁴C-総脂質への転換量の比には有意の差はみられなかった。

1. ブドウ糖濃度の変化にたいするインスリンの糖代謝促進作用 (図 5)

反応液中のブドウ糖濃度を 0.1, 10mM に変化させ, インスリン無添加と, 100 μU/ml 濃度に添加したときのブドウ糖酸化促進作用について検討した。Basal level では, 各ブドウ糖濃度において両群の間に差はみられなかったが, インスリン添加により 0.1mM で P < 0.01, 10mM で P < 0.05 の有意の差で Dex. 群のインスリン感受性の低下がみられた。

3. ブドウ糖濃度の影響 (図 6)

反応液中のブドウ糖濃度を 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40mM ([U-¹⁴C]-glucose はブドウ糖 1mM に対し, 0.1 μCi/ml に添加) と変化させ, インスリンを添加しない basal level において両群のブドウ糖酸化を比

ラット脂肪細胞のインスリン感受性

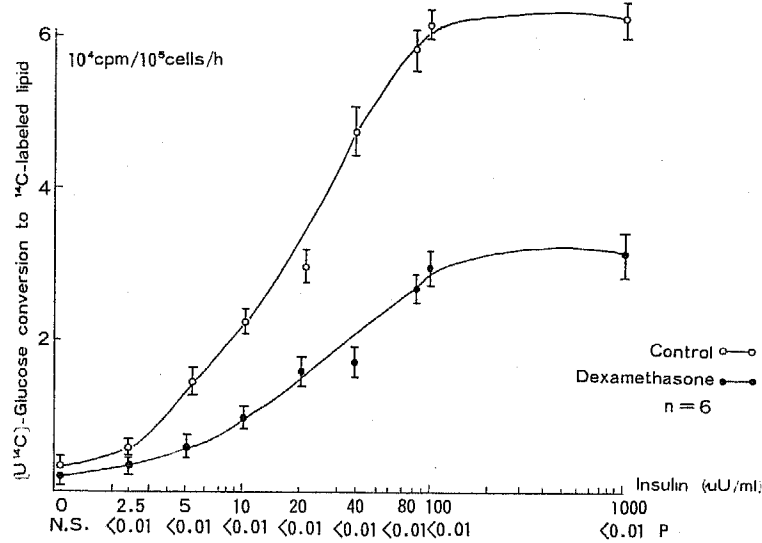


Fig. 4. Effects of various concentrations of insulin on [U-¹⁴C]-glucose metabolism

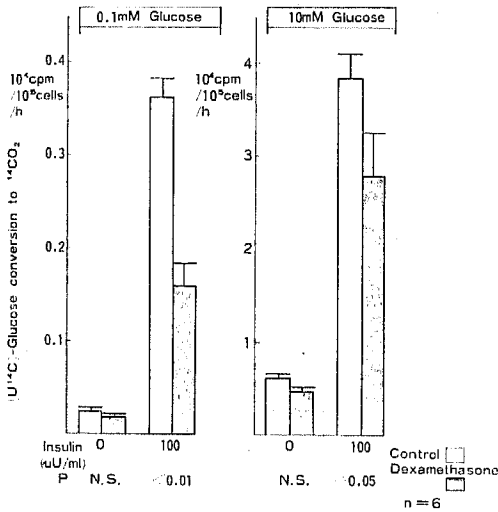


Fig. 5. Effects of glucose concentrations on [U-¹⁴C]-glucose oxidation with or without added insulin

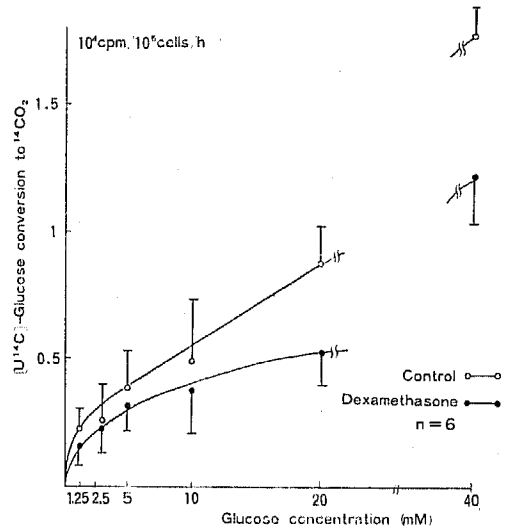


Fig. 6. Effects of graded concentrations of glucose on [U-¹⁴C]-glucose oxidation

較すると、ブドウ糖濃度10mMまでは両群の間に差がみられないが、20, 40mMの高濃度では軽度 ($P < 0.05$) の差がみられた。

D. ヘキソキナーゼおよび脂肪合成系酵素の変動 (表1)

脂肪組織のヘキソキナーゼ活性は、対照群におい

てI型は 8.7 ± 2.8 mU/mg 蛋白、II型は 46.8 ± 12.6 mU/mg 蛋白であり、Dex. 群ではそれぞれ 4.3 ± 1.2 mU/mg 蛋白、 22.2 ± 4.5 mU/mg 蛋白であった。両アイソザイムとも Dex. 群で、約 $\frac{1}{2}$ の活性低下が認められ、とくにII型は著しい ($P < 0.001$) 活性低下を示

Table 1. Effect of dexamethasone on enzyme activities in the adipose tissue

	Control	Dexamethason	
	n = 6	Mean ± SD	Mean ± SD
Hexokinase I	8.7 ± 2.8	4.3 ± 1.2	<0.025
Hexokinase II	46.8 ± 12.6	22.2 ± 4.6	<0.001
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	11.1 ± 2.2	9.5 ± 1.2	<0.01
Malate dehydrogenase (decarboxylating) (NADP)	6.1 ± 1.1	6.1 ± 0.2	NS

(mU./mg. protein)

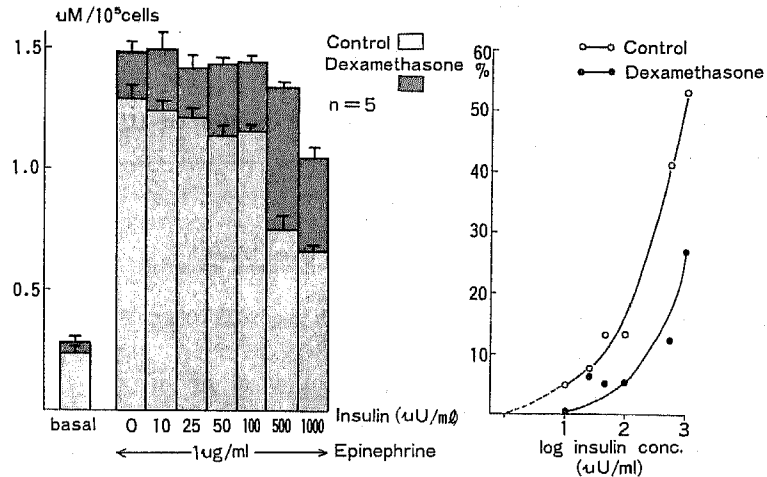


Fig. 7. A. Glycerol release

B. Inhibition of glycerol release

した。

5 炭糖リン酸回路脱水素酵素活性は対照群で 11.1 ± 2.1mU/mg 蛋白, Dex. 群で 9.5 ± 1.2mU/mg 蛋白と Dex. 群で有意 (P < 0.01) の活性低下をみとめた。一方 NADP⁺-リンゴ脱水素酵素活性には両群の間に有意の差はみられなかった。

E. 脂質分解抑制作用 (図 7)

脂肪細胞からのグリセロール放出は, basal state では両群で差がないが, エピネフリン最大刺激では, Dex. 群で増加 (P < 0.01) を示した。

エピネフリン最大刺激によるグリセロール放出に対して, インスリンを各濃度に添加したときの脂質分解抑制作用について検討した。この抑制率 (%) の dose-response 曲線は, 図 7. B のごとく, Dex. 群で

は右への移行を示し明らかにインスリンの脂質分解抑制作用における感受性の低下がみられた。

V. 考 察

グルココルチコイドを生体に投与することにより, 脂肪組織や筋において糖利用を妨げ, 肝において糖新生を促進する結果, 血糖値を上昇させ, また一方では投与後きわめて早期に高インスリン血症をもたらすことはよく知られている²⁴⁾本実験でもデキサメサゾンを経日投与後のラットにおいて, 耐糖能異常, 高インスリン血症がみとめられた。

この高インスリン血症の機序については, なお異論のあるところで, これまでに 2, 3 の可能性があげられている。グルココルチコイドは, 末梢組織において

インスリンに拮抗的な作用をもっている。Marco ら²⁶⁾は、この拮抗作用による末梢のインスリン感受性の低下が血糖上昇を介して、代償的なインスリン分泌増加をきたすとしている。一方 Perley と Kipnins²⁶⁾は、人にグルココルチコイドを投与すると、投与前後で血糖値は不変であるが、血中インスリンは飛躍的に高値をとることを報告しており、また Malaise と Malaise-Lague²⁷⁾は *in vitro* の実験で、グルココルチコイドが直接膵B細胞に働きかけ、インスリン分泌刺激に対する感受性を高めるとしている。

デキサメサゾン投与により、図3、4のごとく、生理的濃度のみならず非生理的高濃度のインスリンによっても、ブドウ糖酸化、脂質合成促進作用に対する脂肪細胞のインスリン感受性の低下がみられた。

インスリンが脂肪細胞の糖、脂質代謝におよぼす作用機構は、ホルモンの膜への結合（レセプター）、ブドウ糖のリン酸化、解糖系、TCA サイクル、5炭糖経路など、各ステップが相互に関連して脂肪細胞全体の代謝調節がなされていると考えられる。

グルココルチコイド投与による細胞膜レセプターの変動に関して、Olefsky¹⁵⁾は、デキサメサゾンを急性、慢性にラットに投与し、その副腎丸脂肪細胞のインスリンレセプターの変動を検査し報告している。急性投与では、レセプターの数の減少を認めたが、慢性投与では、レセプターの数の正常への回復を認めた。一方同時におこった肝細胞膜のレセプターでは、急性、慢性投与どちらにおいても減少を示し、急性慢性実験によるインスリンの標的細胞における感受性の一様でないことを報告している。

脂肪細胞におけるブドウ糖の膜透過は、担体によっておこなわれる受動輸送、すなわち促進拡散であり、インスリンによって促進を受けることが知られている。反応液中のブドウ糖濃度が0.5mM 以下になると、ブドウ糖の酸化の律速段階がブドウ糖の膜透過レベルとなるため、発生する¹⁴C¹⁴O₂を測定することは、間接的にブドウ糖の膜透過速度を測定することになる²⁸⁾。本実験において、ブドウ糖濃度0.1mM におけるインスリンの膜透過促進作用は、デキサメサゾン群で著しく低下していた。このことは、ブドウ糖の膜透過レベルにおける障害が、グルココルチコイドによるインスリン抵抗性の一つの律速段階であることを意味していると考えられる。*in vitro* 実験系におけるグルココルチコイドの糖代謝抑制作用は、膜透過レベルにおける障害と考えられており、大方の意見の一致を

みている¹⁰⁾¹²⁾⁻¹⁵⁾。しかし今回の *in vivo-in vitro* 実験では、膜透過レベルの障害は、前述の Olefsky¹⁵⁾の結果と照し合わせると、グルココルチコイドを *in vivo* に投与したときにみられる膜透過レベルの障害は、インスリンの脂肪細胞膜への結合の低下による二次的な結果である可能性も否定できない。

ヘキソキナーゼは解糖系の律速酵素として、またそのアイソザイムの変動は糖代謝調節に特異的な役割をはたしていることが知られている²⁹⁾。アイソザイムにはI、II、III、IV型の4種が知られており、肝臓におけるIV型（グルコキナーゼ）を除けば、とくにII型の活性は組織のインスリン感受性と密接な関係があり、絶食、ストレプトゾトシン糖尿病ラットで著しい活性低下が認められることが報告されている³⁰⁾。本実験でも、総ヘキソキナーゼの活性低下のみならず、とくにII型の活性が著しく低下していたことは、グルココルチコイド投与による脂肪組織のインスリン感受性低下には、ブドウ糖のリン酸化の段階も一つ重要な律速段階として関与していると考えられる。

このヘキソキナーゼが生体内組織のインスリン感受性において重要であるということは、次のような報告からも支持されている。すなわちヘキソキナーゼは、グルコース-6-リン酸により非競合的阻害を受け、また可逆的に細胞膜へ結合するとされており、このことがインスリン作用のカギになっていることが知られている³¹⁾。また Karpartin³²⁾は、結合型ヘキソキナーゼのグルコース-6-リン酸に対するKiは、可溶性のそれより3倍高いこと、結合型ヘキソキナーゼがこの酵素にとって生理的に活性な型であることを報告し、さらに Bernstein ら²⁰⁾は、筋肉などでは大部分が可溶性であるが、脂肪組織ではII型の約 $\frac{1}{3}$ が結合型であり、I型には結合型は見い出されなかったことを報告している。

脂肪合成に必要な補酵素の産生系として、5炭糖リン酸回路脱水素酵素、NADP⁺-リンゴ酸脱水素酵素は、脂肪酸合成の律速酵素と考えられており、脂肪酸合成系と平行して変化する。これらの酵素はホルモン条件、栄養状態、遺伝的肥満症などで脂肪酸合成速度の変動と対応して一律に変化するとされている³³⁾。今回の実験では、デキサメサゾン投与後3日目において、前者はDex. 投与群で有意の活性低下がみられたが、後者は対照群と有意の差はみられなかった。

脂肪細胞に貯蔵されているトリグリセライドは、cAMP dependent protein kinase の作用で活性化を

うけるリパーゼにより、脂肪酸とグリセロールに分解される。水解されたグリセロールは、脂肪組織におけるグリセロキナーゼの欠如により再エステル化をうけないとされている。このグリセロール放出を脂質分解の指標としてみると、basal levelにおける脂質分解では両群の間に差がないが、エピネフリン刺激による脂質分解では、Dex. 群で有意の高値を示した。この成績は、グルココルチコイドの脂肪動員に対する「許容効果」によるものと考えられる。すなわち Shafrir と Kerperis³⁴⁾らは、ラットの副腎丸脂肪組織を用いた *in vitro* の実験結果から、エピネフリンによる脂肪組織からの脂肪酸とグリセロールの放出が、コルチゾール処理によってともに増強され、コルチゾール単独ではほとんどその効果のないことを示した。同様の現象は *in vivo* 実験においても認められている³⁵⁾。このようにグルココルチコイドは他のホルモン、とくにカテコールアミンやグルカゴンに対して応答しやすい状態に組織を維持する作用があることが知られており、この作用はグルココルチコイドの「許容効果」とよばれている。

インスリンによる脂質分解抑制作用は、Dex. 群で相対的な感受性低下を示していた。このインスリンの脂質分解抑制作用の機序についてはなお確立されていない。Adenylate cyclase の阻害³⁶⁾と Phosphodiesterase の活性化³⁷⁾の2説があり、少なくともインスリンの糖代謝促進作用とは異なる機序で作用していることが明らかとなっている。今回の実験において、Dex. 群でインスリンの脂質分解抑制作用に対する感受性の低下がみられたことは、Adenylate cyclase-cyclic AMP 系の変動を示唆する所見と思われる。

脂肪組織は生体全体のブドウ糖の代謝回転の5%に貢献しているにすぎないという報告がある³⁸⁾。グルココルチコイドのもたらす末梢組織のインスリン抵抗性は、脂肪組織のみならず肝臓あるいは筋肉等の関与するところが多く、Olefsky¹⁵⁾の報告にみられるレセプターの問題、ヘキソキナーゼおよびそのアイソザイムの変動等の生体内各組織にみられる感受性の異動は、今後注目されることである。

VI. 結 論

1) 臨床的薬理量に近いデキサメサゾンを経口投与し、耐糖能、血中インスリン値の変化を観察した。またその副腎丸脂肪細胞のインスリン感受性を、ブドウ糖酸化、脂質合成促進作用、脂質分解抑制

作用について観察し、脂肪組織の解糖系律速酵素のヘキソキナーゼ、そのアイソザイムおよび脂肪合成系酵素との相関について検討した。

2) デキサメサゾン投与群では耐糖能異常また高インスリン血症がみられた。

3) インスリンによるブドウ糖酸化、脂質合成促進作用は basal level では有意の差はみられないが、インスリンによるその促進作用は生理的濃度のみならず、非生理的高濃度においてもデキサメサゾン群で有意の低下がみられた。またブドウ糖濃度 0.1mM におけるインスリンの膜透過促進作用においても同様の結果がえられた。

4) デキサメサゾン群でヘキソキナーゼ活性の低下がみられ、とくに II 型の著名な活性低下がみられた。また脂肪合成系の律速酵素である 5 炭糖リン酸回路脱水素酵素活性は、デキサメサゾン群で有意の活性低下がみられたが、NADP⁺-リンゴ酸脱水素酵素活性には変動はみられなかった。

5) デキサメサゾン群では、エピネフリン刺激による脂質分解は亢進していた。一方インスリンの脂質分解抑制作用に対する感受性は低下していた。

6) 以上の結果から、臨床的薬理量に近いデキサメサゾンを経口投与することにより、その副腎丸脂肪細胞において、インスリンによるブドウ糖酸化、脂質合成促進作用、脂質分解抑制作用にたいする感受性の低下がみられた。その機序として、ブドウ糖の膜透過、およびリン酸化、5 炭糖リン酸回路の酵素系の変動が大きく関与していることが明らかとなった。また脂質分解抑制作用に関与する Adenylate cyclase-cyclic AMP 系の変動も示唆された。

本論文の要旨は、昭和52年5月第20回日本糖尿病学会総会において発表した。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜りました小田正幸教授に深甚なる謝意を表するとともに、御協力をいただいた糖尿病班の諸氏に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Archer, J. A., Gorden, P. and Roth, J.: Defect in insulin binding to receptors in obese man. *J. Clin. Invest.*, 55: 166-174, 1975
- 2) Reaven, G. M., Bernstein, R., Davis, B. and Olefsky, G. M.: Nonketotic diabetes mellitus

- : insulin deficiency or insulin resistance? Amer. J. Med. 60 : 80-88, 1976
- 3) Larsson, B., Björntorp, P., Holm, J., Schersten, T., Sjöström, L. and U. : Adipocyte metabolism in endogenous hypertriglyceridemia. *Metabolism*, 24 : 1375-1389, 1975
 - 4) Kahn, C. R., Neville, D. M. and Roth, J. : Insulin-receptor interaction in the obese-hyperglycemic mouse. *J. Biol. Chem.*, 248 : 244-250, 1973
 - 5) Cristophe, J., Jeanrenaud, B., Mayer, J. and Renold, A. E. : Metabolism in vitro of adipose tissue in obese-hyperglycemic and goldthioglucose-treated mice. *J. Biol. Chem.*, 236 : 642-652, 1961
 - 6) Amaturda, J. M., Livingstone, J. N. and Lockwood, P. H. : Insulin receptor : Role in the resistance of human obesity to insulin. *Science*, 180 : 264-266, 1975
 - 7) Czech, M. P., Richardson, D. K. and Smith, C. J. : Biochemical basis of fat cell insulin resistance in obese rodents and man. *Metabolism*, 26 : 1057-1078, 1977
 - 8) Kiddie, M. T., Jasani, M. K., Buchanan, K. D. and Boyle, J. A. : The relationship between glucose tolerance, plasma insulin and glucocorticoids therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Metabolism*, 17 : 730-739, 1968
 - 9) Serrans, R., Hawkins, F. G. and Escor, F. M. : Insulin secretion in addisons disease, effect of hydrocortisone treatment. *Hormon. Metab. Res.*, 6 : 17-26, 1974
 - 10) Fain, J. N., Scow, R. O. and Chernick, S. S. : Effects of glucocorticoids on metabolism of adipose tissue in vitro. *J. Biol. Chem.*, 238 : 54-58, 1963
 - 11) Olefsky, J. M., Johnson, J., Liu, F., Jen, P. and Reaven, G. M. : The effects of acute and chronic dexamethasone administration on insulin binding to isolated rat hepatocytes and adipocytes. *Metabolism*, 24 : 517-527, 1975
 - 12) Yorke, R. E. : The influence of dexamethasone on adipose tissue metabolism in vitro. *J. Endocr.*, 39 : 329-343, 1967
 - 13) Czech, M. P. and Fain, J. N. : Antagonism of insulin action on glucose metabolism in white fat cells by dexamethasone. *Endocrinology*, 91 : 518-522, 1972
 - 14) Livingston, J. N. and Lockwood, D. H. : Effect of glucocorticoids on the glucose transport system of isolated fat cells. *J. Clin. Invest.*, 56 : 1499-1508, 1975
 - 15) Olefsky, K. M. : Effect of dexamethasone on insulin binding, glucose transport and glucose oxidation of isolated rat adipocytes. *J. Clin. Invest.*, 56 : 1499-1508, 1975
 - 16) Rodbell, M. : Metabolism of isolated fat cells. I. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. *J. Biol. Chem.*, 239 : 375-380, 1964
 - 17) Dole, V. P. : The relation between non-esterified fatty acid in plasma and the metabolism of glucose. *J. Clin. Invest.*, 35 : 150-154, 1956
 - 18) Lamberts, S. W. J., Timmermans, H. A. T., Blankestign, M. K. and Binkenhager, J. C. : The mechanism of the potentiating effect of glucocorticoids on catecholamin-induced lipolysis. *Metabolism*, 24 : 681-689, 1975
 - 19) Hirsh, J. and Gallian, E. : Methods for the determination of adipose cell size in man and animals. *J. Lipid Res.*, 9 : 110-119, 1968
 - 20) Bernstein, R. S., Kipnins, D. M. and Missouri, H. : Regulation of rat hexokinase isoenzymes. *Diabetes*, 22 : 913-922, 1973
 - 21) Kornberg, A. and Horecker, B. L. : In "Methods in Enzymology I", pp. 323-332, Colowick, S. P. and Kaplan, N. O. Academic Press, New York, 1955
 - 22) Ochoa, S. : In "Methods in Enzymology I", pp. 739-753, Colowick, S. P. and Kaplan, N. O. Academic Press, New York, 1955
 - 23) Minemura, T. and Crofford, O. B. : Insulin-receptor interaction in isolated fat cells. *J. Biol. Chem.*, 244 : 5158-5188, 1969
 - 24) Kitabuchi, A. E., Jones, G. M. and Duck-

- worth, W. C. : Effect of hydrocortisone and corticotropine on glucose-induced insulin and proinsulin secretion in man. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 37 : 79-88, 1973
- 25) Melani, M. J., Goberna, F., Rott, R. and Peiffer, W. H. : Einfluss der Prednisolonbehandlung auf die insulinsekretion der ratte. *Diabetologia*, 4 : 365-373, 1968
- 26) Perley, M. and Kipnins. : Effect of glucocorticoids on plasma insulin. *New Engl. J. Med.*, 274 : 1237-1242, 1966
- 27) Malaise, W. J. and Malaise, L. : Insulin secretion in vitro by pancreatic tissue from normal adrenalectomized and cortisoltreated rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 124 : 924-928, 1967
- 28) Crofford, O. B. and Renold, A. E. : Glucose uptake by incubated rat epididymal adipose tissue. Rate limiting steps and site of insulin action. *J. Biol. Chem.*, 240 : 14-21, 1965
- 29) Katzen, H. M. : The multiple forms of mammalian hexokinase and their significance to the action of insulin. *Adv. Enz. Reg.*, 10 : 335-356, 1972
- 30) Katzen, H. M. : The effect of diabetes and insulin in vivo and vitro on a low Km form of hexokinase from various rat tissue. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 24 : 531-536, 1966
- 31) Hernandez, A. and Crane, R. K. : Association of heart hexokinase with subcellular structure, *Arch. Biochem. Biophys.*, 113 : 223-229, 1966
- 32) Karpartin, S. : Soluble and particulate hexokinase of frog skeletal muscle. *J. Biol. Chem.*, 242 : 3525-3530, 1967
- 33) Gibson, D. M., Lyons, R. T., Scott, D. F. and Muto, Y. : Synthesis and degradation of the lipogenic enzymes of rat liver. *Adv. Enzyme. Regul.* 10 : 187-204, 1972
- 34) Shafir, E. and Kerperis. : Fatty acid esterification and release as related to the carbohydrate metabolism of adipose tissue. *Arch. Biochem. Biophys.* 105 : 237-246, 1964
- 35) Corbin, J. D. and Park, C. R. : Permissive effects of glucocorticoids on lipolysis in adipose tissue. *Fed. Proc.*, 28 : 702, 1968
- 36) Hepp, K. D., Menaham, A. and Wieland, O. : On the role of 3', 5'-cyclic AMP phosphodiesterase in insulin action on rat liver and adipose tissue. *Hormo. Metab. Res.*, 1 : 93-94, 1969
- 37) Manganiello, V. and Vaughan, M. : An effect of insulin on cyclic adenosine 3'-5'-monophosphate phosphodiesterase activity in fat cells. *J. Biol. Chem.* 248 : 7167-7170, 1973
- 38) Rabinowity, D. : Some endocrine and metabolic aspects of obesity. *Ann. Rev. Med.* 21 : 241-258, 1970

(53. 6. 15 受稿)