



Title	灌流肝臓における糖代謝律速酵素のホルモンによる誘導
Author(s)	黒田, 剛生
Citation	大阪大学, 1968, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29514
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	黒田剛生
	くろだ よしお
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1377 号
学位授与の日付	昭和 43 年 3 月 28 日
学位授与の要件	医学研究科外科系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文名	灌流肝臓における糖代謝律速酵素のホルモンによる誘導
論文審査委員	(主査) 教授 水野祥太郎 (副査) 教授 須田 正巳 教授 田中 武彦

論文内容の要旨

〔目 的〕

ホルモンによる酵素の誘導についてはかなり多く報告されているが、その大部分は全動物について調べられたものである。

一方生体には多くの内分泌器官があり、それぞれの器官から分泌されるホルモンは、あるいは相乗的に、あるいは拮抗的に働いて、ホルモン作用として現われてくる。それ故、全動物を用いる場合、現われてくるホルモンの効果は非常に複雑な要素を含んでいる。この点から、ホルモンの作用をより簡単な *in vitro* の系、例えば臓器灌流、臓器切片、培養細胞、無細胞系などを用いて研究しようという試みが多くなされている。これらの方法にはそれぞれ特徴があり、その研究目的に応じて使いわけらるべきであろう。

酵素の誘導を目的とする場合比較的長時間の実験が必要であり、またその条件ができるだけ生体に近く再現できることが望ましいことなどから臓器灌流が最も適当である。

Miller の灌流装置に種々の改良を加え、白鼠肝臓の灌流を行ない糖代謝の律速酵素であるグルコキナーゼ、ピルビン酸キナーゼ、グルコース 6 燐酸ホスファターゼおよびセリン脱水酵素についてインシュリンとグルココルチコイドの生理作用を調べた。

〔実験方法および成績〕

灌流装置として、最初 Miller の原法に近いものを使用して見たが、多くの不備な点があったのでこれを大幅に改良したものを用いた。改良点は、(1)人工肺とて円板回転型を用いた。(2)血液輸送にはポリエチレン膜を弁とし、ゴム袋の伸縮による人工心臓を用いた、(3)肝静脈にも人工心臓を接続して積極的に血液を吸引し肝臓のうっ血を防いだ、(4) pH stat で灌流液の pH を自動的に 7.4 に調節したことなどである。これによって灌流時間は延長し、灌流肝臓のうっ血は防がれ、灌流後の組織像

にもなら変化が認めず、酵素の誘導が証明されるようになった。

灌流液はヘパリン、ペニシリンを加えた全血約 100 ml で、これにホルモンを添加した。灌流用の肝臓は、白鼠をネムブータル麻酔をし、門脈と下室静脈にカニューレを押管し、周囲組織から分離して灌流装置に接続した。灌流開始前、開始後 2 時間および 4 時間に、同一肝臓から部分的に結紮切除した組織の酵素活性を測定した。

1) グルコキナーゼ：ホルモンを加えない場合には、灌流開始後 4 時間で酵素活性は灌流前の 50% まで低下したのに対し、インシュリンを添加した場合 4 時間後には 150 % まで上昇した。グルココルチコイド（トリアムシノロン）をインシュリンと同時に添加しておくと、灌流前のレベルを維持するのに止まった。RNA 合成阻害剤であるアクチノマイシン S をインシュリンとともに加えておくと 4 時間後には灌流前の 15% まで低下した。

2) ピルビン酸キナーゼ：インシュリン添加によって 4 時間後には灌流前の 150 % まで上昇したが、無添加では灌流前のレベルにとどまった。インシュリンとトリアムシノロン、またはアクチノマイシン S を同時に添加した場合も灌流前の活性とほとんど変らなかった。

糖新生系律速酵素

1) グルコース 6 磷酸ホスファターゼ：ホルモン無添加の場合、4 時間後もほぼ灌流前のレベルに過ぎなかったが、トリアムシノロンを加えた場合には灌流前の約 2 倍に達した。この活性上昇はインシュリンによって抑制され、アクチノマイシン S によっても抑制された。

2) セリン脱水酵素：ホルモン無添加の場合、酵素活性は 4 時間後には灌流前の 50 % まで下ったが、トリアムシノロン添加の場合は 13.0 % まで上った。この上昇はインシュリンによって抑えられた。アクチノマイシン S によっても阻害され 4 時間後には灌流前の 25% まで低下した。これらの事実はこの酵素がグルコキナーゼと同じように代謝回転のかなり早い酵素であることを思わせる。

〔総括〕

1) 白鼠の肝臓灌流によって、グルコキナーゼ、ピルビン酸キナーゼ、グルコース 6 磷酸ホスファターゼおよびセリン脱水酵素のホルモンによる誘導を認めた。

2) 解糖系の律速酵素であるグルコキナーゼとピルビン酸キナーゼはインシュリンによって誘導形成され、この誘導はトリアムシノロンによって解除された。

3) 糖新生系の律速酵素のグルコース 6 磷酸ホスファターゼおよびセリン脱水酵素はトリアムシノロンによって誘導されインシュリンはこの誘導を解除した。

4) これらの酵素の誘導は、いずれも、RNA 合成阻害剤であるアクチノマイシン S によって強く阻害されることから、酵素蛋白の de novo の合成であることは明らかである。

以上インシュリンとグルココルチコイドは肝臓における糖代謝律速酵素に対し相互に誘導情報を消し合う、相反的な chemical messenger であるということを灌流法によって明らかにし得たと思う。

論文の審査結果の要旨

本論文の内容は大きく2つに分れる。その1つは肝臓灌流装置の大幅な改色にある。従来から肝臓の灌流には Miller の方式が用いられているが、この方法によってはホルモンによる酵素の誘導実験はすべて失敗であった。それゆえその方法を改良し、ホルモンなど種々の条件下における酵素の *de novo* 合成に成功し、灌流装置を実用化したことに重要な意義がある。この肝臓灌流装置を用い、グルココルチコイドあるいはインシュリンによる糖代謝律速酵素の誘導に成功した。とくにインシュリンによる酵素の誘導については本研究が最初のものである。また酵素誘導に際してグルココルチコイドとインシュリンとの間に相反作用のあることを明瞭に証明した。これは肝臓灌流装置を用いることにより初めて実証されたわけである。

以上、本論文は学位論文として高く評価し、ここに推せんするものである。