The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ラット横隔膜と3T3線維芽細胞の解糖代謝に対するインスリン作用について
Author(s)	鷲見, 誠一
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33836
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

【49】

氏名・（本籍）	鷲見誠一（すみ せいいち）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6155 号
学位授与の日付	昭和58年7月28日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**ラット横隔膜と3T3線維芽細胞の解糖代謝に対するインスリン作用について**
論文審査委員	（主査）教授 垂井清一郎 （副査）教授 田中 武彦　教授 和田 博

論文内容の要旨

（目　的）

解糖系はグルコースの基本的な代謝経路であり，細胞生命の維持と機能の発現に深く関わっていると考えられる。一方，インスリンは糖質などを同化し，かつ,細胞の成長を促すホルモンとして知られている。従って，グルコースの主要な利用経路である解糖系は，組織の機能特性に応じて，インスリンに対する反応性が異なる可能性が推測される。そこで本研究においては，筋運動時のエネルギー供給系として解糖系が働いている骨格筋と，細胞の生命維持と成長・増殖のためのグルコース利用系として解糖系が働いているマウス培養線維芽細胞を対象に選び，これらの組織・細胞の解糖代謝に対するインスリン作用を対比分析して，その作用機構を明らかにしようと試みた。

（方　法）

ウイスター系雄性ラットを断頭屠殺した後に横隔膜を取り出し，正中より2分して一片をホルモン処置試料，他片を対照とした。孵置溶液には25mM HEPES を加えた Hanks 液を用い，N_2 で飽和させた後に pH 7.4に調整した。37℃で10～30分間孵置した後，直ちに横隔膜をドライアイスにて圧迫凍結し，その過塩素酸抽出液に含まれる解糖系中間代謝物，乳酸，グリコゲン，ＡＴＰ等の濃度を測定した。また，Hanks 液中に遊出した乳酸の測定も行った。これらの測定には特異的酵素法を用いた。

培養線維芽細胞に対するインスリン効果の検討には，継代培養しているマウス３Ｔ３線維芽細胞を使用した。培養皿底に単層を形成した細胞を，胎児ウシ血清を除いた培養液で24時間処理した後に37℃でインスリンと共に孵置し，孵置溶液中に遊出した乳酸を測定した。また，細胞粗抽出液中に含まれるＰＦＫなどの解糖系酵素の活性を測定した。

（成　　績）

1. ラット横隔膜の糖代謝に対するインスリンおよびエピネフリンの効果

Hanks 液中に遊出する乳酸は孵置時間に比例して増加し，組織内の乳酸はほぼ一定であった。インスリン（4 μg／mℓ）単独，エピネフリン（10 μg／mℓ）単独およびエピネフリン存在下のインスリンは，乳酸産生量を増加させなかった。一方，組織グリコゲン含量はインスリンによって増加し，エピネフリンによって著明に減少した。ＰＦＫの基質であるフルクトース６燐酸（Ｆ６Ｐ）と生成物であるフルクトース１，６ビス燐酸（Ｆ１，６P_2）の組織内濃度はインスリンによって全く増減せず，従ってＦ１，６P_2／Ｆ６Ｐ比は不変であった。エピネフリンではグルコース６燐酸（Ｇ６Ｐ）およびＦ６Pが著増し，Ｆ1，６P_2 は増加しなかった。エピネフリンによってＰＦＫの基質（Ｆ６Ｐ）が増加した条件下においても，インスリンはＦ１，６P_2を増加させなかった。また，ＡＴＰ，クレアチニン燐酸はこれらのホルモンによって増減しなかった。

以上の嫌気的条件下における成績と同様に，好気的条件下（95％ O_2 ＋ 5％CO_2）においてもインスリンおよびエピネフリンは解糖を促進しなかった。

2. 培養線維芽細胞の解糖代謝に対するインスリンの効果

乳酸産生は 10ng／mℓ 以上のインスリン濃度で有意に増加し，250ng／mℓ 以上で最大効果が得られた。 インスリンと同時にフロリジン（0.3～3ｍＭ），パラヒドロキシ安息香酸水銀（0.1～0.25ｍＭ）を添加して孵置すると，乳酸産生は抑制された。解糖系の調節酵素であるヘキソキナーゼ，ＰＦＫ，ピルビン酸キナーゼ（ＰＫ）はインスリンによって活性が増大しなかった。また，ＰＦＫのＦ６Ｐに対する親和性，ＰＫのホスホエノールピルビン酸に対する親和性にも変化は見られなかった。

（総　　括）

1. インスリンはラット横隔膜のグリコゲンを増加させたが，乳酸産生を促進しなかった。またＧ６Ｐ，Ｆ６Ｐ，Ｆ１，６P_2 濃度はインスリンによって変化しなかった。
2. インスリンは培養線維芽細胞の乳酸産生を促進したが，この効果はグルコースの細胞膜透過の阻害剤により抑制された。解糖系の調節酵素の活性は，インスリンによって増大しなかった。
3. 以上の結果から，培養線維芽細胞においてはインスリンによりグルコースの取り込みが増加すると同時に解糖が亢進するのに反し，横隔膜においてはインスリンによって取り込みの亢進したグルコースは専らグリコゲン合成に利用され，解糖亢進にはつながらないことが明らかとなった。

論文の審査結果の要旨

本研究は，骨格筋と培養線維芽細胞を対象としてインスリンに対する解糖代謝の応答性を，急性効果を中心に組織固有の機能特性と関連づけて明らかにしたものである。

従来，骨格筋の解糖系に対するインスリンの効果は，その分析手法の僅かな相違によって成績が左右され，確たる見解が得られなかった。本研究では，骨格筋での糖代謝分析に使われる代表的な標本であ

る横隔膜を用い，綿密な解糖系中間代謝物濃度の分析によって，静止筋においては取り込みの亢進したグルコースがグリコゲン合成に利用される点に専らインスリンが働くことが実証された。これと対照的に，培養線維芽細胞では，インスリンによるグルコース取り込みの増加に一致して解糖が亢進することが明らかになった。

これらの成績は，組織によって異なったインスリンによる糖代謝変動を明らかにした点で意義があり，博士号の授与に値するものである。