

Alloxan糖尿病家兎のAceton体及び糖排泄に及ぼす TCA-Cycle構成物質及び糖の影響

岡山大学医学部生化学教室 (主任: 水原舜爾教授)

大 石 哲 也

〔昭和30年4月10日受稿〕

脂肪の多い、炭水化物の少ない食餌を摂取したとき、或いは飢餓、糖尿病等の場合には、所謂 aceton 体が尿中に増加することはよく知られた事実である。又糖尿病以外の場合の aceton 体は、炭水化物を摂取することにより消失することも、古くからよく知られているが、その機構について詳細が判明したのは比較的近年のことである。

即ち脂肪酸の酸化によつて生ずる aceto 醋酸は acetyl-coenzyme A となり、之が oxalo 醋酸と縮合して TCA-cycle により完全に水と CO₂ に分解されるのである¹⁾。従つて糖の分解物はすべて antiketogenic な作用があることが考えられる。

又実際 Beatty 等²⁾は rat の ketonuria が TCA-cycle 構成物質及び之等と密接な関係のある amino 酸 (aspartate, glutamate, alanine) を投与することにより、消失することを報告している。

しかしながら糖尿病の場合には glucose の利用が阻止されている。即ち Cori 等³⁾の研究によると組織の glucokinase が抑制されているという。

従つて糖尿病の場合にもやはり、TCA-cycle 構成物質が減少している。故に TCA-cycle 構成物質を投与すれば aceton 体の排泄だけは減少することが考えられる。Steinborn⁴⁾は糖尿病小児の ketonuria が pyruvate, lactate, alanine を投与することにより、例外はあるが多くの場合減少することを報告している。しかしながら anaerobic glycolysis も aerobic glycolysis も、すべて可逆反応であるから、TCA-cycle member の投与が、糖尿病の場合

の尿中の糖に如何なる影響を及ぼすかを同時に知る必要がある。即ち糖尿病に於て aceton 体の減少が起つても、糖の排泄が高まるならば、果して患者自身に好結果をもたらすか否かが問題となる。よつて著者は alloxan 糖尿病家兎に於ける尿中糖及び aceton 体排泄に及ぼす、TCA-cycle member, fructose 及び glucose の影響を比較した。

実験方法

2500~2700gm の家兎を使用し、その耳静脈に 5% alloxan を 100mg/kg, 5 時間の間隔を置いて 2 回に分割注射し、いずれも 24 時間~48 時間で糖尿及び aceton 尿を起し得た。これに oxalo 醋酸、琥珀酸、枸橼酸、葡萄糖及び果糖を夫々 0.5M. 溶液、2ml を静注し、24 時間毎に尿量比重、aceton 体及び糖を測定し、注射前の状態にかえるまで観察した。

尿中 aceton 体は小出、向山、安田氏法⁵⁾により Pulfrich の Stufenphotometer により比色定量した。

尿中糖は Fujii-Akutsu 法⁶⁾により定量した。

実験成績

I) oxalo 醋酸の影響

oxalo 醋酸注射後 24 時間で aceton 体総排泄量は $\frac{1}{3}$ 以下になり、48 時間目にも、これを持続し、96 時間で元に帰る。一方尿中の糖排泄は注射後著明に増加し、48 時間後、一度排泄量が注射前より減少し、72 時間位で注射前の状態となる (図1, 表1)。

図1. Oxalo 醋酸注射後, 尿中, 糖, Aceton 体排泄量の変化

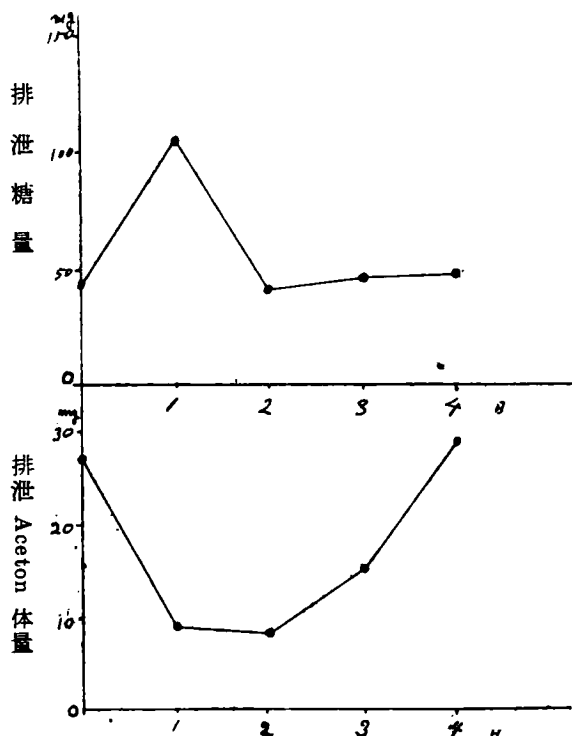
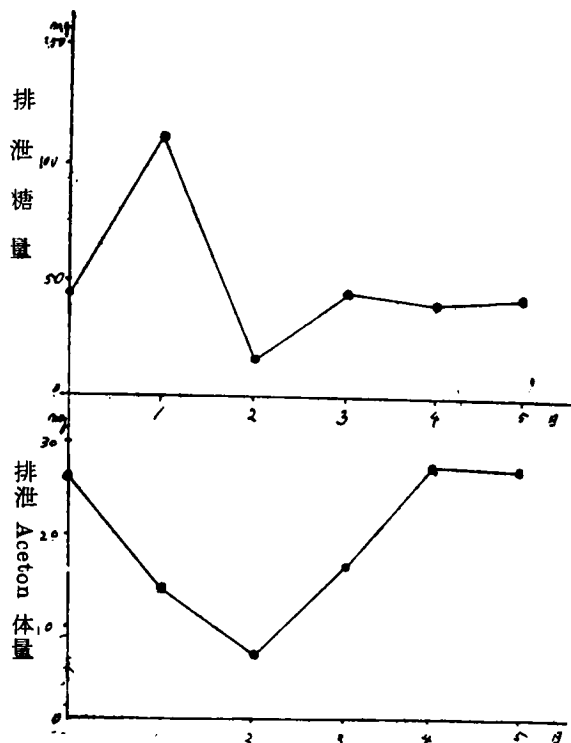


図2. 琥珀酸注射後, 尿中, 糖, Aceton 体排泄量の変化



第1表 alloxan 糖尿病家兎に於ける oxalo 醋酸注射の影響

	注射前	注射後			
		1日	2日	3日	4日
尿量 ml	240	135	170	190	290
比重	1014	1020	1016	1014	1012
aceton+aceto 醋酸 mg/dl	7.4	4.3	2.9	4.4	6.4
β-oxy 酪酸 mg/dl	3.9	2.2	2.2	3.6	3.5
aceton 体 total mg	27.1	8.8	8.7	15.2	28.7
糖 mg/dl	18	79	25	24	16
糖 total mg	43.2	106.7	42.5	46.2	46.4

第2表 alloxan 糖尿病家兎に於ける 琥珀酸注射の影響

	注射前	注射後				
		1日	2日	3日	4日	5日
尿量 ml	230	280	160	215	250	240
比重	1014	1014	1013	1015	1014	1014
aceton+aceto 醋酸 mg/dl	7.4	2.7	2.3	4.7	7.2	7.4
β-oxy 酪酸 mg/dl	4.0	2.3	2.1	3.4	3.9	3.9
aceton 体 total mg	26.2	14.0	7.0	17.4	27.8	27.1
糖 mg/dl	19	40	11	21	16	18
糖 total mg	43.7	112	17.6	45.2	40.0	43.2

II) 琥珀酸の影響

琥珀酸を注射すると, oxalo 醋酸と同様な結果が得られた。ただ oxalo 醋酸では24時間後すでに aceton 体排泄が最低となつてゐるが, 琥珀酸では48時間後が最低となつており, 又48時間後の糖排泄量の減少が特に著明である(図2, 表2)。

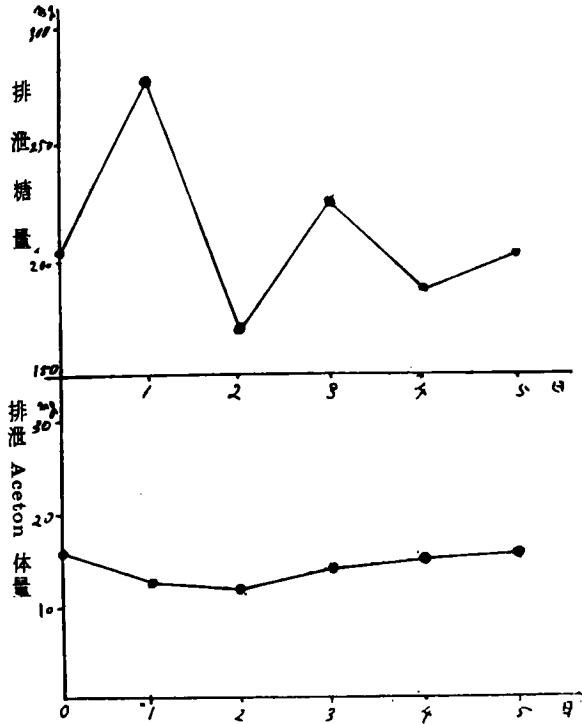
III) 枸橼酸の影響

枸橼酸注射の影響も, 琥珀酸と同様であるが, 尿中糖の減少が著しく, aceton 体の減少度が少ない(図3, 表3)。

第3表 alloxan 糖尿病家兎に於ける 枸橼酸注射の影響

	注射前	注射後				
		1日	2日	3日	4日	5日
尿量 ml	120	150	150	150	150	150
比重	1015	1016	1016	1016	1016	1016
aceton+aceto 醋酸 mg/dl	7.5	5.5	5.2	5.8	6.3	6.5
β-oxy 酪酸 mg/dl	5.6	3.0	2.8	3.5	3.7	3.8
aceton 体 total mg	15.7	12.7	12.0	14.0	15.0	15.5
糖 mg/dl	170	186	113	150	124	134
糖 total mg	204	279	169	225	186	201

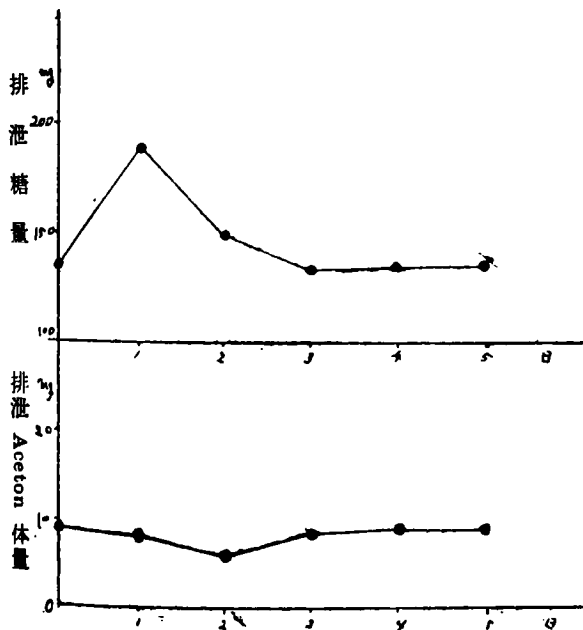
図3. 枸橼酸注射後，尿中，糖，Aceton 体排泄量の変化



IV) 果糖の影響

果糖を注射すると aceton 体の排泄は琥珀酸等と同様であるが，その減少度は少い。糖尿に対する影響としては，24時間尿に於て排泄が増すことは同様であるが，48時間もなお注射前より排泄量が多く，尿中糖の減少が著しくない(図4，表4)。

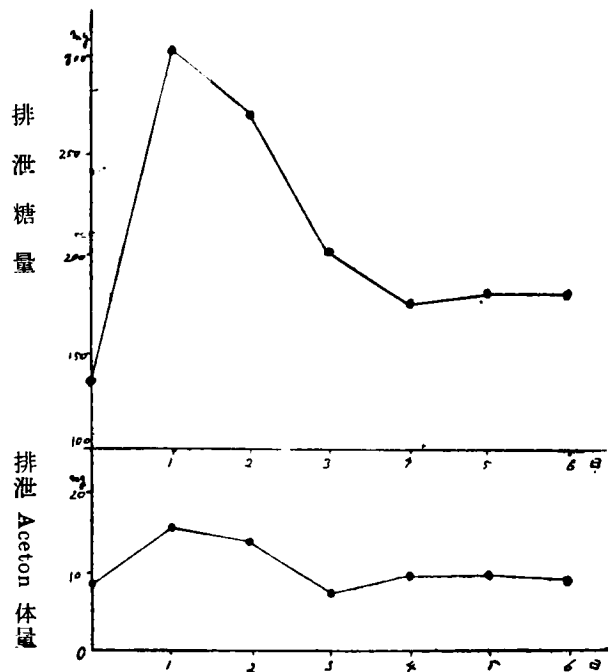
図4. Fructose 注射後，尿中，糖，Aceton 体排泄量の変化



第4表 alloxan 糖尿病家兎に於ける果糖注射の影響

	注射前	注射後				
		1日	2日	3日	4日	5日
尿量 ml	100	100	150	150	150	150
比量	1016	1018	1017	1016	1017	1016
aceton + aceto 醋酸 mg/dl	6.2	6.0	2.5	4.2	4.2	4.3
β -oxy 酪酸 mg/dl	2.7	2.0	1.2	1.5	1.5	1.6
aceton 体 total mg	8.9	8.0	5.6	8.6	8.6	8.8
糖 mg/dl	136	190	100	88	90	90
糖 total mg	136	190	150	133.6	135	135

図5. Glucose 注射後，尿中，糖，Aceton 体排泄量の変化



第5表 alloxan 糖尿病家兎に於ける葡萄糖注射の影響

	注射前	注射後					
		1日	2日	3日	4日	5日	6日
尿量 ml	150	150	150	100	150	100	150
比量	1017	1016	1016	1018	106	1018	1019
aceton + aceto 醋酸 mg/dl	4.1	7.2	6.0	4.8	4.3	6.5	3.8
β -oxy 酪酸 mg/dl	1.4	3.3	3.2	2.6	1.8	2.9	1.5
aceton 体 total mg	8.3	15.8	13.8	7.2	9.5	9.5	8.9
糖 mg/dl	90	202	180	200	116	180	119
糖 total mg	136	303	270	200	175	180	179

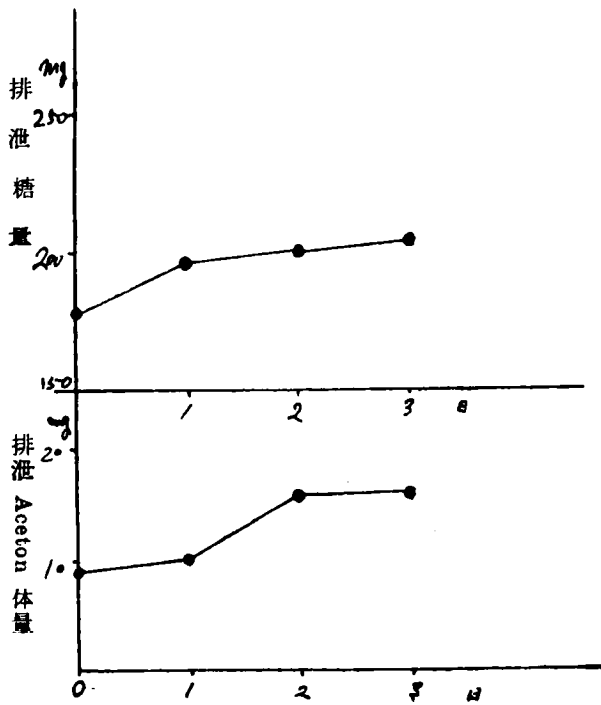
V) 葡萄糖の影響

葡萄糖を注射すると、他の物質の注射の場合と異り、aceton 体は増量し、3日目位から旧に復している。糖排泄は、24時間で激しく上昇し、その後次第に減少するが、5日後も、もとの level より高濃度を保つ(図5, 表5)。

VI) 脂肪食の影響

毎日20滴ずつ olive 油を加えた食餌を与えると、aceton 体も、糖も共に排泄量が増加する(図6, 表6)。

図6. Olive 油投与による尿中、糖、Aceton 体排泄量の変化



第6表 alloxan 糖尿病家兎に於ける olive 油投与の影響

	量	単位	注射	注射後		
			前	1日	2日	3日
尿	ml		150	100	100	120
比	重		1016	1016	1016	1015
aceton+aceto 醋	酸	mg/dl	3.8	6.7	9.0	7.5
β -oxy 酪	酸	mg/dl	1.5	3.0	6.7	5.6
aceton 体 total	糖	mg	8.9	9.7	15.7	15.7
糖 total		mg/dl	119	195	200	170
		mg	179	195	200	204

考 按

alloxan 糖尿病家兎に於ても TCA-cycle member は凡て尿中 aceton 体を減少せしめるが、同時に又糖の排泄を増加せしめる。このことは糖尿病に於ても glycolysis が可逆的なることを示すもので、hexokinase 以外の enzyme は抑制されていないことを意味する。

fructoe が糖の排泄を増加し、aceton 体の排泄を減少せしめることは、fructokinase が糖尿病に於ても正常であることを意味する。

次に glucose 投与が糖の排泄を増加させることはわかるが、これが aceton 体の排泄を増加せしめるのは何故であろうか。この点については今後の研究を待たねばならない。

次に脂肪を投与すると aceton 体及び糖の排泄が増加するが、現在脂肪から糖への変化にはやはり、oxalo-醋酸の存在を必要とすることが一般に認められている。即ち脂肪酸から生じた acetyl-coenzyme A が oxalo 醋酸と縮合し、TCA-cycle を通つて oxalo 醋酸となり、これが p-enolpyruvate にかわり、逆に glucose を生ずる経路が考えられているに過ぎない。しかしながら oxalo醋酸は糖尿病に於ては減少している筈である。

しかるにこの実験に於ては alloxan 糖尿病家兎に於て脂肪を投与すると、尿中糖の増量を見ている。この実験では脂肪が直接糖に変化したとはいえないが、その可能性を残している。

糖尿病の場合、果してその脂肪から糖の合成が起るか、或いは脂肪投与が糖合成の他の過程を促進するものであるかどうかは今後の研究に待たねばならない。

結 論

1) oxalo 醋酸、琥珀酸、枸橼酸、果糖の投与は alloxan 糖尿病家兎の尿中 aceton 体排泄を減ずるが、葡萄糖及び脂肪の投与は之を増加さす。

2) oxalo 醋酸, 琥珀酸, 枸橼酸, 果糖, 葡萄糖及び脂肪の投与は alloxan 糖尿病家兎の尿中糖排泄を増加さす。

本研究は日本学術会議中間代謝班の研究費に負う

所が多い。記して謝意を表する。

又実験にさいし、種々御援助いただいた黒田正清氏に感謝します。

文 献

- 1) Bensch, F. L., *Advances in Enzymol.*, **8**, 343. (1948)
- 2) Beatty, C. H., and West, E. S., *J. Biol. Chem.* **190**, 603. (1951)
- 3) Price, W. H., Cori, C. F., and Colowick, S. P., *J. Biol. Chem.* **160**, 633. (1945)
- 4) Steinborn, K., *Klinische Wochenschrift*, **31**, 633, (1953)
- 5) 小出靖, 向山弘茂, 守田トミ *生化学* **25**, 306. (1953)
- 6) Fujii, N., and Akutsu, N., *J. Biochem.* **25**, 237. (1937)

Department of Biochemistry, Medical Faculty of Gokayama University
(Directed by Prof. Dr. Shunji Mizuhara)

The Effect of Sugar Metabolites upon Ketosis of Alloxan Diabetic Rabbit.

By

Tetsuya Oishi

The administration of oxaloacetate, citrate, succinate, and fructose caused a decrease in ketonuria in alloxan diabetic rabbits, while glucose and fat increased ketone body urinary excretion in rabbits fed alloxan.

However, all these substances administered caused a increase in urinary sugar excretion in rabbits fed alloxan.
