

氏名・(本籍)	こ じま ひで と 小 島 秀 人 (香川県)
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博第32号
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当
学位授与年月日	昭和62年3月24日
学位論文題目	肝細胞における脂肪酸酸化とケトン体産生に対するホルモン作用と protein kinase の役割

主査 教授	上 田 潔
副査 教授	繁 田 幸 男
副査 教授	野 崎 光 洋

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

肝ケトン体産生はホルモンにより調節されており、グルカゴンおよびカテコラミンはケトン体産生を上昇させ、臨床上認められる糖尿病性ケトアシドーシス時には重要な役割を持つと考えられる。しかしケトアシドーシス同様に高度インスリン欠乏状態にありながら高ケトン血症を示さない非ケトン性高浸透圧性昏睡の病態は明らかでない。またケトン体産生調節は従来より細胞内 malonyl-CoA の増減で説明されているが、種々の protein kinase を介する直接的なホルモンによるケトン体産生の律速酵素である carnitine palmitoyltransferase (以下CPT) 活性調節機構の解明も重要である。本研究は 1) 肝ケトン体産生調節に関与するホルモンの役割、2) それらホルモンとCPT活性の関連、3) 現在想定されている protein kinase のケトン体代謝における機序解明を目的とした。

〔方 法〕

自由摂食下のSD系雄性ラットより0.025%コラゲナーゼ含有緩衝液で肝灌流後に肝細胞を単離した。脂肪酸酸化は0.3mmol/l アルブミン結合 [U-¹⁴C] palmitate (比1:1) を用いてホルモンおよび薬物を加え肝細胞を1時間反応解置した。反応終了後ケトン体はPCA上清中の¹⁴Cを、¹⁴CO₂はscintilamine-OH吸着分画の放射能を測定した。CPT活性は放射性 palmitate を含まない条件で20分間反応解置後 cell を0.5% Triton X-100 にて可溶化後、遠心上清を用いて palmityl-CoA からのカルニチン依存性 CoA 放出率を測定した。

〔結 果〕

グルカゴンおよびカテコラミン (エピネフリンおよびノルエピネフリン) は脂肪酸酸化を用量依存的に促進し、それぞれ最大60%、30%増加した。グルカゴンによる促進は adenylate

cyclase を直接活性化するホルスコリンおよび second messenger である dibutyryl cyclic AMP (以下 db-cAMP) にても再現された。またカテコラミンによる増加は α_1 -blocker であるプラゾシンおよびカルモジュリンの特異的拮抗剤である W-7 で抑制され α_2 -blocker であるヨヒンビンでは抑制されなかった。c-Kinase の活性化を介すると言われるワゾプレシン、c-kinase を直接活性化する phorbol 12-tetradecanoate 13-acetate (以下 TPA)、さらに second messenger である diacylglycerol は単独では作用を持たず、グルカゴンおよびエピネフリンの同時添加にて両ホルモンのケトン体増加作用を抑制した。

一方 CPT はグルカゴンおよびエピネフリンにより活性化され、この作用は V_{max} よりも K_m を変化させることより酵素の基質に対する親和性の増加によるものであった。エピネフリンによる CPT 活性化はプラゾシン、W-7 で抑制されヨヒンビンでは抑制されなかった。また TPA はグルカゴンおよびエピネフリンによる CPT 活性化とともに抑制し、[U- 14 C] palmitate を用いたケトン体産生での結果と平行していた。

また GH、インスリン、 T_3 およびデキサメサゾン は 1 時間反応にて肝ケトン体産生に有意の早期作用を認めなかった。

[考 察]

グルカゴンによる肝ケトン体産生増加はホルスコリン、db-cAMP にても再現できたことより、cAMP を second messenger とする cAMP-dependent protein kinase (以下 A-kinase) による CPT の磷酸化 (Harano et al) を介すると考えられた。またカテコラミンによるケトン体産生促進は α_1 -レセプターを介し、グルカゴン作用同様 CPT の基質に対する親和性の増加であり、 Ca^{++} -calmodulin-dependent protein kinase (以下 Ca^{++} -kinase) による CPT の磷酸化の介在が示唆された。

グルカゴンに対する c-kinase 系の抑制作用は cAMP 産生を抑制することが報告されており、adenylate cyclase での直接の阻害作用の可能性もある。またカテコラミンに対する抑制作用はカテコラミンによる細胞内 Ca^{++} 増加を c-kinase が抑制的に作用することが考えられる。しかし上記 3 つの異なる protein kinase が CPT の別の部位での磷酸化を介して活性を調節していることも十分考えられる。

その他のホルモンでは GH、インスリン、 T_3 、デキサメサゾンは短期のケトン体産生には有意の作用は示さなかったが、長期 (24 時間培養) ではインスリン、高濃度ステロイドはケトン体産生に抑制的に働き、グルカゴンは CPT 合成を誘導する示唆を得たが、今後の検討課題と考えられる。

高度のインスリン欠乏下で認められる糖尿病性ケトアシドーシス時には、グルカゴン、カテコラミンが重要な役割を持ち、一方高ケトン血症を認めない非ケトン性高浸透圧性昏睡時には著明な高浸透圧下に上昇を示すワゾプレシンがケトン体産生抑制に重要な役割を持つことが示唆される。

[結 論]

肝ケトン体産生に対しグルカゴンは A-kinase の活性化を介して、カテコラミンは Ca^{++} -

kinase の活性化を介して CPT の活性化を行ないケトン体産生を増加させると考えられた。またバソプレシンは c-kinase の活性化を介して A-kinase 系、Ca²⁺-kinase 系に抑制作用を持ち、肝ケトン体産生を調節していることが明らかとなった。

学位論文審査の結果の要旨

インスリン欠乏下においてケトン性昏睡および非ケトン性高浸透圧昏睡の二つの病態が起こるが、この差異を生ずる機構は未だ明らかではない。本論文はこのような臨床上の問題点を解明するために、ラット単離肝細胞を用いてケトン体産生におよぼす種々のホルモン作用を検討し、同時に律速酵素である carnitine palmitoyl transferase (CPT) の活性を測定したものである。

得られた結果は次の通りであった。

- 1) グルカゴンによるケトン体産生の促進作用は cyclic AMP 依存性 protein kinase を介するもので、CPT のリン酸化を引き起こす。
- 2) エピネフリンによるケトン体産生促進作用は、 α_1 -レセプターを介する Ca²⁺-Calmodulin 依存性 protein kinase が関与する。
- 3) バソプレシンは C-kinase の活性化を介してグルカゴン、エピネフリンのケトン体産生促進作用に対し拮抗阻害すると考えられる。
- 4) CPT 活性もそれぞれケトン体産生と同様の変動を示し、グルカゴン、エピネフリンによる palmitoyl CoA に対する親和性の増大、バソプレシンによる抑制が観察された。

臨床症例をみると非ケトン性高浸透圧昏睡では高度の脱水により血中バソプレシンが著しい高値を示し、これがケトosis の発症に抑制的に作用すると考えられる。

以上、本論文は肝のケトン体産生に対するホルモン作用を明らかにしたもので、従来不詳であった糖尿病性昏睡の 2 病型の病態生理の解明に寄与するところ大であり、医学博士の学位論文として価値あるものと認める。