

氏 名 (本籍)	さ さ き しん いち 佐 々 木 晋 一 (宮城県)
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 1 5 0 号
学位授与年月日	昭和 4 9 年 1 1 月 1 4 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院農学研究科 (博士課程) 畜産学専攻
学位論文題目	めん羊の腎臓における糖代謝とその 意義に関する研究

	(主 査)		
論文審査委員	教授 津田恒之	教授 松本達郎	
		教授 木村修一	

論文内容要旨

第一胃内発酵産物である酢酸，プロピオン酸，酪酸等の低級脂肪酸が，反芻動物のエネルギー要求の大半をまかなっているという事実については，これらの栄養の最も大きな特徴として，おびただしい研究報告が集積されている。一方，単胃動物のエネルギー供給の主源であるグルコースが消化管から殆んど吸収されない反芻動物でも糖新生により体内で糖を生成し，かつ単胃動物に匹敵する程大量のグルコースを体利用している事実が次第に明らかになってきた。著者は，いわば脂酸動物とも云うべき反芻動物におけるこの糖利用および糖新生の能力こそ反芻動物の栄養における他の大きな特徴であると考えられる。

この糖新生は従来主に肝で行なわれるとされていたが，最近になって腎の糖新生系の酵素が肝に劣らず高い活性を有し，血糖維持にも関与していることが明らかになつてきた。腎は肝と共に生体内の恒常性の維持に貢献する代表的な臓器であるが，その構造，機能の面で肝とは著しく相違しており，糖代謝についてもその機能と直接結びついた代謝制御の様式を有しているように考えられる。

また腎は糖新生を行なうばかりでなく，多量のグルコースを消費していることが最近の研究から明らかになりつつある。しかしながら，今まで行なわれてきたグルコース生成に関する量的研究においては，腎自身でのグルコース利用を無視した動静脈血のグルコース濃度較差法による見掛上のグルコース産生を求めたにすぎない。現在，反芻動物をも含めて種々の動物種における，腎のグルコース産生の生体内グルコース要求に対する寄与率を，量的に測定した報告は全く見られない。

そこで著者は，本論文において，反芻動物のグルコース利用性を明らかにし，その中に占める腎の糖生成の意義を明確にする目的で一連の研究を行った。

1. めん羊における糖利用性

(1) めん羊におけるグルコースの血中連続注入の影響とグルコースの利用能

反芻動物における糖代謝の特異性を解明する手がかりとして，第一胃内容を除去しためん羊に糖主体の栄養源を供給することによって，種々の代謝像の変化とグルコース利用能を検索した。

大ルーメンフ，ステルを装着しためん羊を実験に供した。実験を第1～第5の期間に分け，第1期を対照期，第2期を絶食期とし，グルコース注入期間を更に3段階に分け，維持熱量に対するグルコースの投与熱量の割合を50%期，100%期，120%期とした。グルコースは20%溶液とし，頸静脈内に定速連続注入した。

グルコース注入によって，絶食により減少した体重はそれ以上減少することなく維持された。血中乳酸濃度は50，100%期には変化しなかったが，120%期には100mg/dl以上に増

加した。血糖は50, 100%期には70~120mg/dlの値を保っていたが, 120%期の2日目には急激に480mg/dlにまで増加した。尿排泄糖量は50%期には注入量の1.6%, 100%期には12.5%にすぎず, 注入したグルコースはよく体利用されていると考えられた。肝及び筋グリコーゲン含量は正常めん羊のそれと差はなかった。血糖値, 尿排泄糖量などを考慮して算出したグルコースの利用性は, 50%期に98%, 100%期に87%, 120%期は70%とグルコースの注入量が増加するに伴ない減少した(表1)。

以上の結果から, 日量150~200g程度のグルコースがめん羊の体組織で利用され, 正常の生理機能を維持しうるということが観察された。

(2) めん羊のグルコース利用率

めん羊におけるグルコース利用率をU-¹⁴C-glucoseのprimed infusionによる同位元素希釈法によって測定した。日量乾草500g, 濃厚飼料450gを給与した正常採食期と96時間絶食期の2つの状態下で実験を行なった。血漿中のグルコースはイオン交換樹脂処理によって単離し, その比放射能を測定した。

正常採食めん羊のグルコース利用率は 2.44 ± 0.46 mg/min/kgであり, 血糖値が高い程グルコース利用率も大きかった。96時間絶食により血糖値は18.4%低下し, グルコース利用率も 1.68 ± 0.35 mg/min/kgと正常採食時の約30%減少した。この際, 血糖値の低下が少ない程グルコース利用率の減少は小さかった(表2)。

これらの実験結果はイヌや人における値とほぼ同じであり, 反芻動物も単胃動物に匹敵する程グルコースをよく体利用していることが明らかとなった。

2. めん羊の腎組織切片における糖新生

肝に劣らず高い酵素活性を有しているといわれている腎の糖新生能を, めん羊の腎皮質スライスを用いて測定し, 考察を加えた。

めん羊を2つのグループに分け, 一方を対照めん羊として通常の飼料を給与し, 他方を10~14日間絶食させた。まためん羊と比較するためにラットを実験に供した。動物を放血屠殺した後, 腎を直ちに摘出し, 皮質部分を分離して皮質組織切片を調製した。先づ組織切片をKRP緩衝液中で30分間振盪培養した後, その切片を二分し, 一方に各種の基質を加え, また残りの切片を対照として, 2時間振盪培養した。そしてグルコース及びグリコーゲン量を測定し, 各基質によるそれぞれの生成量を求めた。

めん羊の肝グリコーゲン含量は2.4%, グルコース含量は0.5%であり, 腎のグリコーゲン及びグルコース含量はいずれも0.05%であり, 肝に比べて非常に小さく, 腎は炭水化物の貯蔵臓器でないことが明らかにされた。

正常および飢餓めん羊とも, 低級脂肪酸では, プロピオン酸が非常に高い糖新生率を示したが,

酢酸及び酪酸では全くグルコースとグリコーゲンの生成がみられなかった。4種のアミノ酸の中、グルタミン酸だけが高い糖新生率を示し、他は非常に低かった。しかし飢餓時にはアラニン、セリンからの糖新生率が増加し、グルタミン酸ではむしろ減少した。種々の有機酸からの糖新生率は、フマル酸、コハク酸において高く、乳酸、ビルビン酸がそれに次いだ。またラットにおいて著しい糖新生率を示したオキサロ酢酸はめん羊では非常に低い割合を示したにすぎなかった。

3. 無麻酔めん羊におけるグルコース代謝

腎におけるグルコース産生は、すでにめん羊をはじめ種々の動物において測定されてきたが、それらは腎動静脈血のグルコース濃度較差から測定された見掛上のグルコース産生量であって、組織で消費されるグルコースを加えた腎の総グルコース産生量ではない。そこで無麻酔下でめん羊の腎におけるグルコースの代謝を量的に測定するため、先づ長期間採血可能な腎静脈カニューレ装着技法を完成した上で、次に同位元素希釈法と腎血流量測定を同時に行なった。そして腎におけるグルコース総産生率と利用率及び全生体における利用率を同時に測定し、腎の糖新生の全生体への寄与率を定量的に検索した。

供試する一週間に以前に外科手術により、右腎静脈内にシリコンラバーを装着したポリビニールカニューレを、また頸動脈、頸静脈、後大静脈内にポリビニールカニューレを挿入しためん羊を実験に供した。そして正常採食期、96時間絶食した飢餓期の2つの状態について実験を行なった。グルコース代謝の動態及び腎血流量測定のため、後大静脈内に $U-^{14}C$ -glucose及びp-アミノ馬尿酸を Primed infusion した。

正常採食めん羊の動脈、腎静脈、頸静脈血の P_{O_2} はそれぞれ 77, 36, 28 mmHg であり、腎が盛んに酸素を消費していることが示された。腎動静脈血のグルコース濃度差から、正常採食めん羊では腎がグルコースを放出する (1.27 mg/dl) のに対して、飢餓めん羊では逆にグルコースを取り込む (-1.38 mg/dl) ことを知った。腎血流量は正常採食、飢餓めん羊とも約 20 ml/min/kg で有意差はなかった。

全生体のグルコース利用率 (TBGU) は、正常採食めん羊では 2.20 mg/min/kg であり、飢餓めん羊では正常めん羊のその 76% に減少した。同様に腎でのグルコース産生率は、正常めん羊で 0.47 mg/min/kg 、飢餓めん羊で 0.21 mg/min/kg と正常の 45% に減少し、TBGU に対する割合も正常めん羊の 2.05% から飢餓では 12.6% に減少した。それに対して腎におけるグルコース利用率は正常採食めん羊で 0.26 mg/min/kg 、飢餓めん羊で 0.27 mg/min/kg と変化がなかった (表 3, 図 1)。また正常採食めん羊の腎はそれ自身産生したグルコースの 60% を利用した。

腎動静脈血のグルコース濃度較差法によって求めた見掛上のグルコース産生は、正常めん羊において 0.22 mg/min/kg であり、TBGU に対する割合は 8.7% であり、腎静脈血のグルコース濃度を 2% だけ増加させた。一方、絶食めん羊では -0.06 mg/min/kg と腎静脈血糖濃度を増加

させることはなかった(図2)。

以上の結果から、反芻動物の腎が多量のグルコースを利用するが、同時に腎自身もグルコースを産生していることが明らかになった。

4. めん羊における腎の糖新生とアンモニア産生の関係

最近 *in vitro* における研究で、腎の糖新生能が代謝性アシドーシス時に増加し、代謝性アルカローシス時に減少するということが明らかになりつつある。しかし、アシドーシス時に増加するアンモニア産生と糖新生の関係については依然不明の点が多い。そこで塩酸を注入しアシドーシスを惹き起しためん羊について、血液の酸塩基組成の変化が腎のグルコース産生能と腎アンモニア産生能とにいかなる影響を及ぼすかを検索した。そして腎機能に及ぼす糖新生の意義を論議し、あわせて糖代謝に関する肝と腎の臓器固有性について考察した。

正常採食期、後大静脈血内に51時間にわたり0.3 N HClを定速連続注入して作成したアシドーシス期、および環境温35~40℃に暴露して惹起された呼吸性アルカローシス期の3つの状態下で、同位元素希釈法により、めすめん羊の腎におけるグルコース産生と、利用率ならびに全生体におけるグルコース利用率を求めた。また、腎におけるアンモニア産生量を測定し、腎のグルコース産生との関係を量的に検索した。

正常動脈血及び尿のpHはそれぞれ7.498, 7.481であり、アシドーシス期には7.281, 4.719と減少した。アルカローシス期には血液pHは7.568と上昇したが、尿pHには変化がなかった。血液HCO₃濃度もアシドーシス期には減少し、特にその尿中排泄量は正常の10mmole/hrから0.02mmole/hrと激減した。逆にアンモニアの尿中排泄量は、アシドーシス期には正常時(1.13^{mg}/hr)の13倍に増加し、腎におけるアンモニア産生も9倍に増加した。しかしアルカローシス期では変化がなかった(表4)。

全生体のグルコース利用率(TBGU)は正常めん羊で2.20^{mg}/min/kgであり、アシドーシス期にやや減少したが、有意差はなかった。

腎におけるグルコース産生率は正常、アシドーシスめん羊でそれぞれ0.47, 0.85^{mg}/min/kgであり、TBGUに対する割合は正常めん羊の20%に対しアシドーシスめん羊では40%と2倍に増加したが、アルカローシスめん羊ではグルコースの産生が認められなかった。腎におけるグルコースの利用率は正常、アシドーシス、アルカローシスめん羊でそれぞれ0.26, 0.63, 0.53^{mg}/min/kgであり、TBGUに対する割合はそれぞれ12, 31, 25%であった。正常めん羊とアシドーシスめん羊で見掛上の腎グルコース産生には変化がなかったが、アルカローシスでは負の値となった(表5, 図1,2)。

以上のことより、正常めん羊の肝はTBGUの80%のグルコースを産生し、アシドーシスでは60%を産生していることが推定できた。このことは、アシドーシスにより肝での糖新生能が25%

も抑制されることを示唆するものである。また、腎で産生されたアンモニアがすべてグルタミンから由来し、脱アミノされた残基すべてが腎において糖に合成されたものと仮定すると、腎で産生されたグルコースの約30%がグルタミンから新生されたものであるということが推定できる(図3)。

本研究において、第一胃内発酵産物である低級脂肪酸にエネルギー要求の大半を依存している反芻動物においても単胃動物に匹敵する程多量のグルコースを利用し得ることが明らかとなった。また、反芻動物の腎は肝と同様に糖新生能が高く、そのグルコース産生量は体グルコース要求量の20%を占め、また腎自身もかなりのグルコースを利用していることが明らかになった。アシドーシス期におけるアンモニアの生成および排泄の問題は、糖新生との関連において複雑な過程を含んでいることが判明した。以上の結果は腎における糖代謝様式が決して肝の垂流でなく、腎の機能と直接結びついた代謝様式を有することを示すものであった。

表1 めん羊の血中にグルコースを連続注入した時のグルコース利用率¹⁾

実験日	維持熱量に 対する注入 割合	注入日量 g	尿排泄糖量 g	体内残留量 (一尿糖) g	血糖値 ¹⁾ mg/dl	血中余糖濃 度 ²⁾ (一正常血糖) mg/dl	血中グルコース 濃度 ³⁾ (一正常血糖) mg/dl	体脂肪利用量 (体内残留一C) g	利用率 体利用量 注入量	平均利用率
1	60%	161.6	3.1	158.5	63.0	21.6	0.5	158.0	97.7	
2	"	159.1	0.6	158.5	57.0	15.6	0.4	158.1	99.4	98%
3	"	160.0	4.1	155.9	118.0	76.6	2.0	153.9	96.2	
4	100%	295.1	21.0	274.1	80.0	38.6	1.0	273.1	92.6	
5	"	292.6	53.3	239.3	83.0	41.6	1.0	238.2	81.4	87%
6	120%	382.2	66.0	316.2	210.0	168.6	4.3	311.9	81.6	
7	"	339.0	131.1	207.9	480.0	438.6	11.1	196.8	58.0	

1) 組織利用及び肝グリコーゲンを含む 2) 正常血糖値: 41.4mg/dl 3) 体重: 33.0kg

表2. 給餌後4~6時間と97~99時間に測定しためん羊のグルコース利用率

Sheep No	Fed Sheep			Fasted Sheep		
	Body weight kg	Blood glucose concentration mg/dl	Glucose utilization rate mg/min/kg	Body weight kg	Blood glucose concentration mg/dl	Glucose utilization rate mg/min/kg
12	51.0	50.3	2.16	46.5	38.3	1.27
13	40.0	46.4	2.48	34.6	41.9	1.89
15	40.0	58.3	2.58	36.0	46.4	1.87
Mean ±S.D	43.7	51.7 ±6.0	2.41 ±0.22	39.0	42.2* ±4.1	1.68** ±0.35

* P < 0.01

** P < 0.001

表3 正常採食めん羊と飢餓めん羊の腎におけるグルコースの産生率と利用率

Sheep No.	Normal fed					
	A. R. G. P		R. G. U		N. R. G. P	
	mg/min/kg	g/hr	mg/min/kg	g/hr	mg/min/kg	g/hr
B	0.26	0.54	0.19	0.41	0.07	0.14
A					0.37	0.86
C					0.12	0.37
C	0.44	1.35	0.28	0.86	0.16	0.49
D	0.60	1.44	0.42	1.00	0.18	0.44
E	0.57	1.32	0.15	0.35	0.42	0.97
J	0.51	1.23	0.21	0.51	0.30	0.73
L	0.43	1.41	0.32	1.06	0.11	0.35
Mean	0.47	1.22	0.26	0.75	0.22	0.54
±S.D	±0.12	±0.32	±0.10	±0.31	±0.13	±0.28

Sheep No.	Fasted					
	A. R. G. P		R. G. U		N. R. G. P	
	mg/min/kg	g/hr	mg/min/kg	g/hr	mg/min/kg	g/hr
C	0.15	0.42	0.20	0.55	-0.07	-0.13
D	0.22	0.45	0.29	0.59	-0.05	-0.14
J	0.27	0.58	0.33	0.72	-0.06	-0.14
Mean	0.21	0.48	0.27	0.62	-0.06	-0.14
±S.D	±0.06	±0.07	±0.07	±0.09	±0.01	±0.01

A. R. G. P: actual renal glucose production rates

R. G. U : renal glucose utilization rates

N. R. G. P: net renal glucose production rates

表4 正常採食、アシドーシス、アルカローシスめん羊の動脈血及び腎静脈血のNH₃濃度と腎におけるNH₃産生及び尿中NH₃排泄量

Sheep No.	Normal fed			
	$\mu\text{g}/\text{dl}$		mg/hr	
	A	RV	Production	Excretion
I				1.58
J	35.62	33.68	0.61	0.27
L	30.64	35.51	4.51	1.55
Mean				1.13
$\pm S.D$	33.13	34.60	2.56	± 0.75

Sheep No.	Acidotic			
	$\mu\text{g}/\text{dl}$		mg/hr	
	A	RV	Production	Excretion
I				8.27
J	35.45	46.01	4.49	1.64
L	47.88	61.34	39.77	31.46
Mean				13.79
$\pm S.D$	41.67	53.68	22.13	± 9.04

Sheep No.	Alkalotic			
	$\mu\text{g}/\text{dl}$		mg/hr	
	A	RV	Production	Excretion
F	34.08	33.52	1.38	1.70

A : arterial blood ammonia concentration

RV : renal venous blood ammonia concentration

表5 正常採食、アシドーシス、アルカローシスめん羊の腎におけるグルコースの産生率と利用率

Sheep No.	Normal fed					
	A. R. G. P		R. G. U		N. R. G. P	
	mg / min / kg	g / hr	mg / min / kg	g / hr	mg / min / kg	g / hr
A					0.37	0.86
B	0.26	0.54	0.19	0.41	0.07	0.14
C					0.12	0.37
C	0.44	1.35	0.28	0.86	0.16	0.49
D	0.60	1.44	0.42	1.00	0.18	0.44
E	0.57	1.32	0.15	0.35	0.42	0.97
J	0.51	1.23	0.21	0.51	0.30	0.73
L	0.43	1.41	0.32	1.06	0.11	0.35
Mean	0.47	1.22	0.26	0.75	0.22	0.54
±S.D	±0.12	±0.34	±0.10	±0.31	±0.13	±0.28

Sheep No.	Acidotic					
	A. R. G. P		R. G. U		N. R. G. P	
	mg / min / kg	g / hr	mg / min / kg	g / hr	mg / min / kg	g / hr
J	0.94	2.25	0.60	1.43	0.34	0.83
L	0.75	2.48	0.66	2.19	0.09	0.29
Mean	0.85	2.37	0.63	1.81	0.22	0.56

Sheep No.	Alkalotic					
	A. R. G. P		R. G. U		N. R. G. P	
	mg / min / kg	g / hr	mg / min / kg	g / hr	mg / min / kg	g / hr
F	0	0	0.53	1.24	-0.53	-1.24

A. R. G. P: actual renal glucose production rates

R. G. U : renal glucose utilization rates

N. R. G. P: net renal glucose production rates

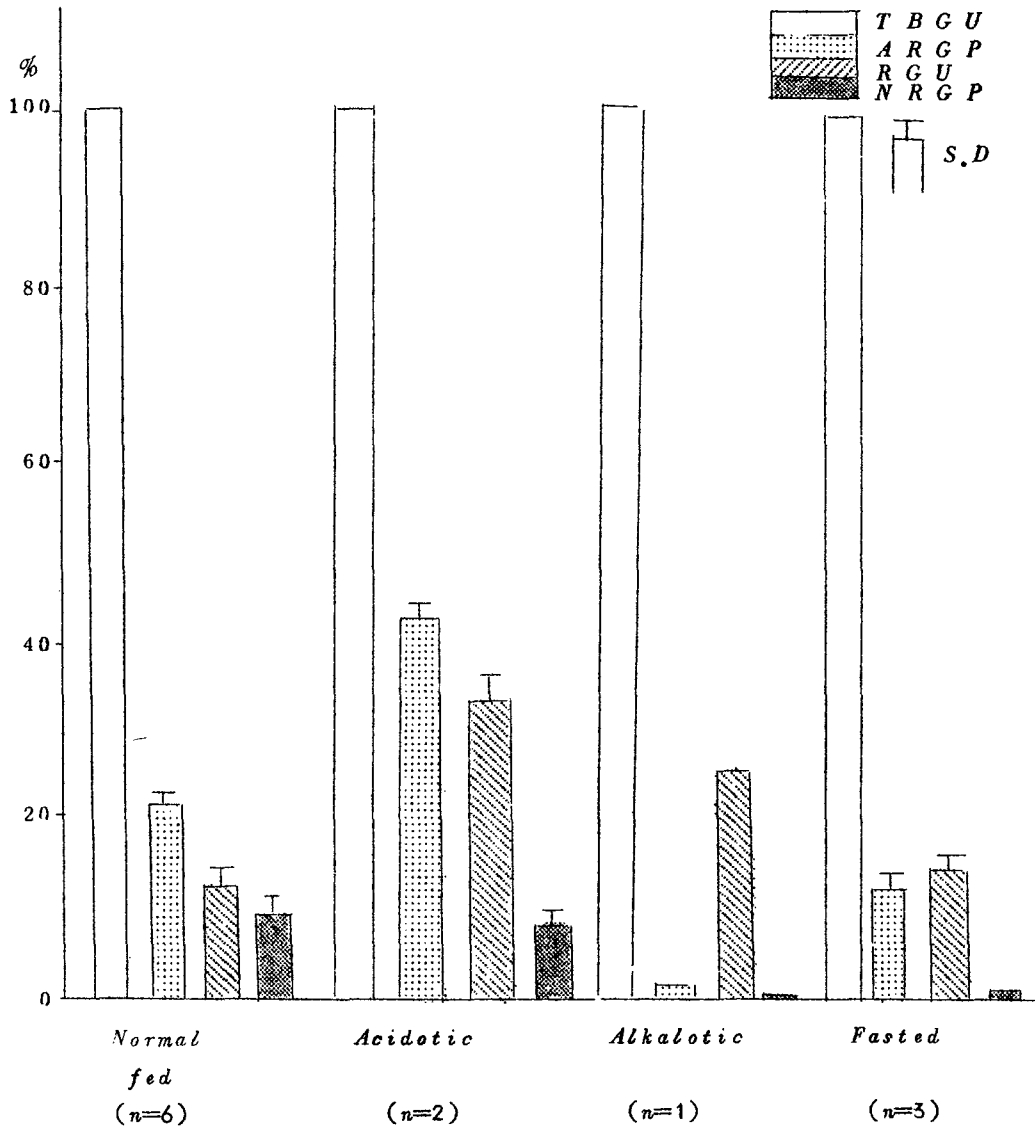


図1 全生体のグルコース利用に対する腎のグルコース産生及び利用の割合

TBGU : total body glucose utilization
ARGP : actual renal glucose production
RGU : renal glucose utilization
NRGP : net renal glucose production

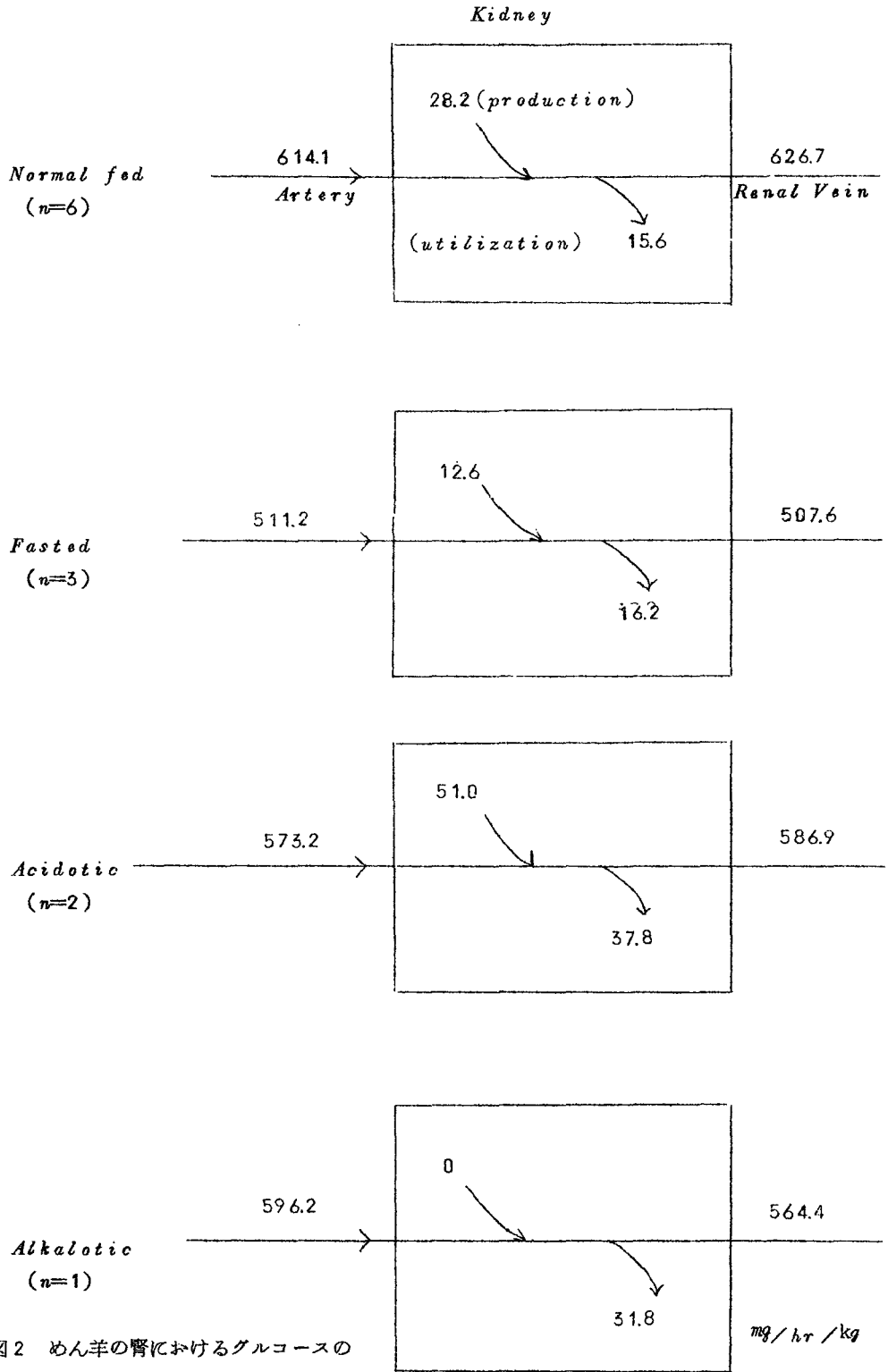


図2 めん羊の腎におけるグルコースの動的代謝

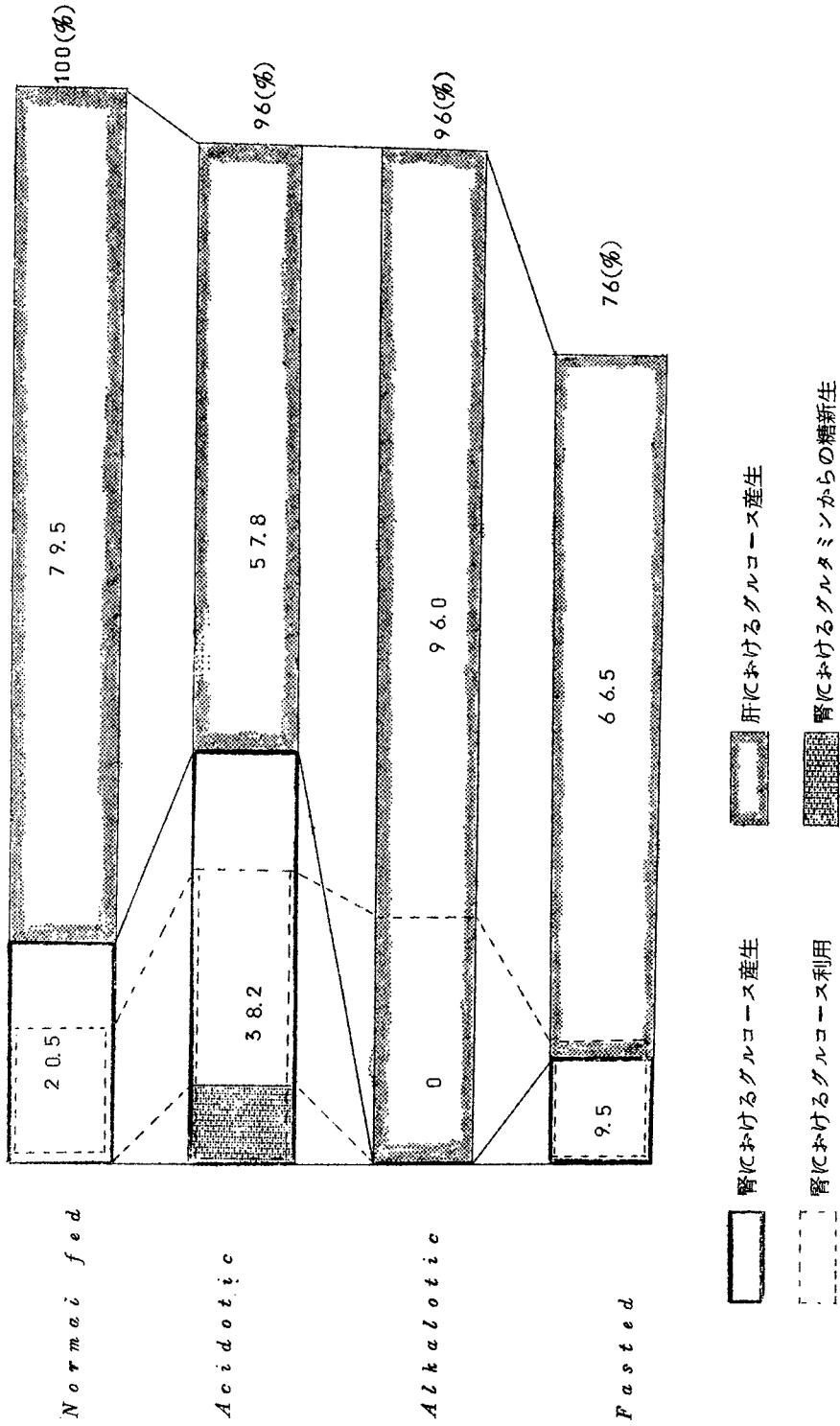


図3 全生体のグルコース産生に対する腎と肝のグルコース産生の割合
 (正常採食めん羊の全生体のグルコース産生を100とする)

審査結果の要旨

第一胃内醱酵産物である低級脂肪酸が反芻動物のエネルギー要求の大半をまかなっている事実については既に多くの研究業績があるが、一方、単胃動物のエネルギーの主源であるグルコースが消化管から殆ど吸収されないにもかかわらず、体内に多量の糖が糖新生作用により存在し、かつ利用されているという事実も次第に明らかになりつつある。

本論文はめん羊を用い、グルコースの利用性を明らかにし、次に肝と共に高い糖生成、利用能を有するとされる腎に着目し、その糖代謝機能を明確にすると同時に全生体に対するその意義について解明を試みたものである。

著者は先づ第一胃内容を除去しためん羊に、グルコースの注入を行い、日量150-200g程度のグルコースがめん羊の体組織で利用され、正常の生理機能を維持し得ることを観察したのち、グルコースの利用率をU-¹⁴C-glucoseのprimed infusionによる同位元素希釈法によって測定した結果、正常めん羊で 2.44 ± 0.46 、飢餓めん羊で $1.68 \pm 0.35 \text{ mg/min/Kg}$ の値を得、反芻動物も単胃動物に匹敵する程、グルコースを利用することを明らかにした。

次に肝に劣らず高い酵素活性を有する腎の糖新生能を腎皮質スライスを用いて測定した結果、低級脂肪酸ではプロピオン酸、アミノ酸ではグルタミン酸、有機酸ではフマル酸、コハク酸において高く、一方、ラットで高い値を示したオキザロ酢酸は非常に低い割合を示すことを知った。

更に生体内における腎の糖生成、利用能を明らかにするため、腎静脈カニューレ装着技法を開発し、腎血流量測定のためのp-アミノ馬尿酸、グルコース代謝の動態を知るためのU-¹⁴C-glucoseを後大静脈内に注入し、動脈、腎静脈、頸静脈血の分析から、全生体でのグルコース利用率、腎でのグルコース利用率、腎でのグルコース産生率、および利用率を求めた。その結果、腎でのグルコース産生率は正常めん羊で 0.47 mg/min/Kg 、飢餓めん羊で 0.21 mg/min/Kg であって、全生体のグルコース利用率に対する割合は、それぞれ20.5%、12.6%となり、又、腎での利用率は正常、飢餓めん羊で共に 0.26 mg/min/Kg 程度で差はなかった。

次に反芻動物の飼育時にしばしば遭遇する代謝性アシドーシスおよび呼吸性アルカローシス時における腎の糖代謝能の変化を知るため、めん羊について実験した結果、グルコース産生率は、アシドーシス、アルカローシス時にそれぞれ 0.85 mg/min/Kg 、および腎であり、アシドーシス時では正常時の2倍に増加することを知った。一方、利用率は、それぞれ0.63、 0.53 mg/min/Kg となり、見掛上のグルコース産生は、アシドーシスで変化なく、アルカローシスでは負となった。

以上、本研究はめん羊の糖代謝能を明らかにし、その中に占める腎の意義を正常および代謝異常時について考究し、腎の機能と直接関連する代謝様式を有することを示したものであって、家畜生理学に多くの知見を与えたものとして審査員一同、農学博士の学位を授与するに値すると判定した。