

正常および糖代謝異常妊婦における赤血球インスリン受容体の解析

著者	豊田 長康
雑誌名	日本内分泌学会雑誌
巻	59
号	2
ページ	182-195
発行年	2007-03-29
その他のタイトル	Erythrocyte insulin receptors from normal and diabetic pregnant women
URL	http://hdl.handle.net/10076/2791

正常および糖代謝異常妊婦における
赤血球インスリン受容体の解析

三重大学医学部産婦人科学教室

(指導: 杉山陽一教授)

豊田長康

Erythrocyte Insulin Receptors from
Normal and Diabetic Pregnant Women

Nagayasu TOYODA

Department of Obstetrics and Gynecology

Mie University School of Medicine

Tsu, Mie, Japan

(Director: Professor Youichi Sugiyama, M.D.)

日 本 内 分 泌 学 会 雑 誌

第 59 卷 第 2 号 抜 冊

昭 和 58 年 2 月 20 日 発 行

正常および糖代謝異常妊婦における 赤血球インスリン受容体の解析

三重大学医学部産婦人科学教室

(指導: 杉山陽一教授)

豊田長康

Erythrocyte Insulin Receptors from
Normal and Diabetic Pregnant Women

Nagayasu TOYODA

Department of Obstetrics and Gynecology

Mie University School of Medicine

Tsu, Mie, Japan

(Director: Professor Youichi Sugiyama, M.D.)

Insulin receptors on erythrocytes were studied in normal and diabetic pregnant women to clarify the mechanism of insulin resistance in pregnancy. The assays of insulin receptors were performed according to the method of Kobayashi, which is a slight modification of the method of Gambhir. ^{125}I -insulin binding showed no significant differences between normal pregnant women during the first ($n=18$), the second ($n=15$) and the third ($n=54$) trimesters and nonpregnant controls ($n=52$). There were also no significant differences between the values before and after delivery ($n=8$). Reticulocyte counts significantly increased in pregnant women during the second trimester and during the later periods. There was a positive correlation between ^{125}I -insulin binding and reticulocyte counts in late pregnancy. These findings suggest that reticulocyte counts should always be considered in estimating erythrocyte insulin receptors in pregnancy.

Then, insulin binding in late pregnant women with reticulocyte counts below 10‰ ($n=20$) was studied. The value was slightly decreased as compared to that in the nonpregnant controls, but the difference was not significant. ^{125}I -insulin binding in gestational diabetes ($n=6$) was decreased, but that in overt diabetes ($n=4$) was not. Patients with overt diabetes had been receiving insulin therapy. Insulin resistance in normal pregnancy cannot be explained by the changes of insulin receptors from this study. It may be due to some post-receptor abnormalities. But decreased insulin binding might be one of the factors that manifest or deteriorate gestational diabetes.

まえがき

妊娠時には、耐糖能の正常な妊婦における血中インスリン濃度の上昇、妊娠糖尿病の発症、インスリン治療の必要な糖尿病合併妊婦の血糖コントロールに必要な投与インスリン量の増加など、妊娠時のインスリン抵抗性増大を示唆する現象がみられる¹⁷⁾¹⁹⁾²⁶⁾²⁷⁾。この妊娠時におけるインスリン抵抗性の増大は、近年、血中グルコース濃度を恒常的に保つようにグルコースを持続投与する検査法 (glucose clamp 法) によっても確認されている⁶⁾。しかし、妊娠時のインスリン抵抗性増大の機序に関しては、また、そのインスリン抵抗性の増大が何らかの関連を持つと推察されている妊娠糖尿病の発症機序に関しては、現時点においても不明な点が多い¹⁷⁾。

一方、近年、インスリン作用機構に関する研究が進歩し、インスリンがその標的細胞に作用する過程の第一段階が、インスリン受容体との結合であることが明らかにされた。そして、各種のインスリン抵抗性を示す病態がインスリン受容体の異常もしくは受容体以外の細胞内機構の異常に基づくものとして説明されている¹⁾³⁾¹⁰⁾¹²⁾²²⁾。

妊娠時のインスリン抵抗性増大の機序に関しても、インスリン受容体の面より検討された成績が現在までにいくつか報告²⁾⁹⁾¹⁸⁾²³⁾²⁴⁾²⁸⁾されているが、その成績は必ずしも一致していない。

正常妊娠時におけるヒトのインスリン受容体に関しては、Beck-Nielsenら²⁾が単核球を用いて検討した成績を最初に報告した。その報告においては、妊娠後期妊婦における単核球の¹²⁵I-insulin結合率は正常非妊婦に比し低下しており、その結合率の低下はScatchard analysisより、主としてインスリン受容体数の減少の結果生じたものと考えられ、そして、妊娠時のインスリン抵抗性増大は、そのインスリン受容体数の減少により生じている可能性があるとして述べられている。また、Paganoら²³⁾もヒト脂肪細胞を用いて同様の成績を報告している。しかし、その後の単核球もしくは赤血球を用いて検討された報告では⁹⁾¹⁸⁾²⁴⁾²⁸⁾正常妊娠時におけるインスリン受容体数の減少を証明できず、妊娠時のインスリン抵抗性増大はインスリン受容体以外の細胞内機構の変化によって生じていると推察されている。

耐糖能異常を示す妊婦におけるインスリン受容体に関しては、Paganoら²³⁾はインスリン治療を必要とした糖尿病合併妊婦における脂肪細胞の¹²⁵I-insulin結合率が正常妊婦に比し低値を示すことを報告し、Gratacosら⁹⁾は単核球を用いて、Whiteの分類におけるclass Aの症例では¹²⁵I-insulin結合率が上昇し、未治療のclass Bの症例では低下し、インスリン治療中のclass Bの症例では正常妊婦と有意差のないことを報告した。また、胎盤の膜分画を用いた検討では、Harrisonら¹⁰⁾がインスリン治療中の糖尿病合併妊婦で、Durán-Garcíaら⁴⁾が妊娠糖尿病妊婦で、それぞれ¹²⁵I-insulin結合率の低下を報告している。このように、耐糖能異常を有する妊婦に関しては、¹²⁵I-insulin結合率の低下傾向を示す報告が多いようであるが、特に妊娠糖尿病のみを取り上げた場合には、その報告も少なく、また成績の一致も得られていない。

今回私は、正常妊婦および耐糖能異常妊婦 (妊娠糖尿病および糖尿病合併妊婦) の赤血球におけるインスリン受容体を検討し、正常妊娠時に認められるインスリン抵抗性の増大がインスリン受容体の変化に基づくものかどうか、そして、特に妊娠時において糖負荷時の血糖値が糖尿病域を示す妊娠糖尿病は、その成因に不明な点が多く、インスリン受容体面より妊娠糖尿病の発症機序に関して考察を加えた。

材料と方法

1) 対象

昭和55年9月より昭和57年3月の間に、三重大学医学部附属病院産婦人科で診療した正常妊婦(妊娠初期18例, 妊娠中期15例, 妊娠後期54例)および耐糖能異常妊婦(妊娠糖尿病6例, 糖尿病合併妊婦4例)を対象とした。また, 正常非妊婦52例の値を対照として用いた。正常非妊婦および正常妊婦については, 体重(正常妊婦の場合は妊娠前体重)が標準体重($(身長(cm)-100) \times 0.9$ (kg))の120%を越える肥満者は除外した。

2) 試薬類

pure pork insulin (清水製薬より提供), bovine serum albumin (Fraction V, Sigma), Na 125 I (New England Nuclear), Lymphoprep (Nyegaard & Co. As. Oslo) を用い, di-n-butyl phthalate, Chloramine T, およびその他の化学試薬類は, 半井化学薬品製のものを使用した。

3) 125 I-insulin の作製

Freychet⁷⁾らの方法に従い, Chloramine T を用いてインスリンのヨード化を行った。得られた 125 I-insulin の specific activity は $60 \sim 120 \mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ の範囲にあった。

4) buffer

Gambhir⁸⁾による buffer G を使用した。その組成は, Tris 50, HEPES 50, NaCl 50, KCl 5, MgCl₂ 10, CaCl₂ 10, EDTA 10, Dextrose 10 (mMol) である。1%の bovine serum albumin を添加後, 2規定 NaOH にて pH を 8.0 に調製した。

5) 赤血球浮遊液の調整

早朝空腹時ヘパリン加血 5 ~ 7 ml を 1,000g で 10 分間遠心し, 血漿および buffy coat を除去後, 約 2 倍量の生理食塩水で希釈した。それを 2 ml の Lymphoprep 上に重層し, 400g で 20 分間室温で遠心した。上清, 単核球を含む Lymphoprep 層および buffy coat を除去し, buffer にて洗浄後, 再度 buffy coat を除去し, 2 倍量の buffer を加え, 結合実験に用いた。

6) 赤血球数および網状赤血球数の算定

赤血球浮遊液の赤血球数は, 改良型 Neubauer 血球計算盤を用いて算定し, 網状赤血球数は塗抹標本を methylene blue で染色し, 1,000 ~ 2,000 個の赤血球を数え, その中に占める網状赤血球の割合を算定した。

7) 125 I-insulin の赤血球への結合実験

Gambhir⁸⁾の方法を改変した小林¹³⁾の方法に従い, 125 I-insulin の赤血球への結合実験を行った。スチロール製の試験管(シオノギチューブ)に赤血球浮遊液 400 μl , 125 I-insulin 50 μl (終濃度 0.4 ng/ml), 非標識インスリン 50 μl (終濃度 0, 1, 5, 10, 25, 50, 100 ng/ml) を混じ, 15°C にて 3.5 時間孵置した。1 時間ごとに手で試験管を振盪し, 3.5 時間の孵置の後, 反応液 100 μl を取り, buffer 200 μl と di-n-butyl phthalate 100 μl を重層した micro-centrifuge tube (容量 400 μl , ポリエチレン製) 内に重層した。1,500g にて 5 分間遠心することにより, 赤血球が最下層に, di-n-butyl phthalate が中間層に, buffer が上層に分離されるので, 中間層の位置で micro-centrifuge tube を鋏にて切断し, 赤血球の放射能を well type scintillation counter (Aloka) にて測定した。また多量の非標識インスリン(終濃度 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を混じた結合実験を平行して行ない, その場合の 125 I-insulin の赤血球への結合を非特異的結合とした。

8) 結合実験によって得られた結果の解析方法

赤血球浮遊液中の ^{125}I -insulinの総放射能に対する赤血球に結合した ^{125}I -insulinの放射能の割合を結合率とした。非特異的結合実験における結合率を非特異的結合率とし、各非標識インスリン濃度下における結合率より非特異的結合率を差し引き、それを特異的結合率とした。以下の成績の解析にあたっては、すべて特異的結合率を用い、結合率という言葉は特に注釈のない限り特異的結合率を意味する。また、特異的結合率は赤血球 2.4×10^9 個あたりの値に換算した。

ホルモンとホルモン受容体との結合の程度を左右する要素として、受容体数と親和性の2つが考えられており、そのいずれが変化しても、結合率に変化が生じる。受容体数と親和性の解析には通常Scatchard analysis²⁰⁾が適用されている。それは、(結合したホルモン量)と(結合していないホルモン量)の比を縦軸に、(結合したホルモン量)を横軸にとり、各ホルモン濃度下で測定した結合率より両値を算出してプロットするもので、得られた直線の傾きより親和性が、直線を延長した場合の横軸との交点より受容体数が計算できる。

9) 血糖, IRI の測定

血糖は mutarotase-glucose oxidase 法によるキット (和光純薬) を用い、血漿中の glucose 濃度を測定した。血漿 IRI (immunoreactive insulin) は radioimmunoassay によるキット (シオノギ製薬) を用いて測定した。

10) 統計学的検討

unpaired Student t test を用いた。

研究成績

1) 基礎的検討

実験期間中、同一健康男子より38回の採血を行ない、interassay variation を検討した(Fig. 1)。

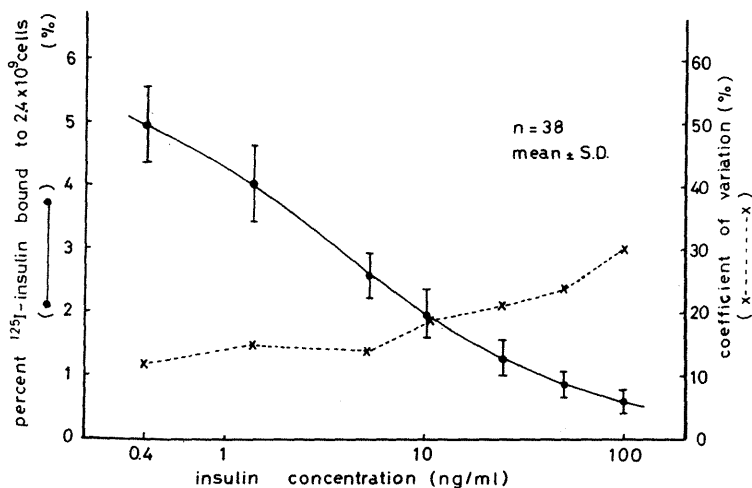


Fig. 1. Interassay variation of ^{125}I -insulin binding to erythrocytes determined by 38 times separate assays on one healthy man. Coefficient of variation = S.D./mean.

実線で示した曲線が¹²⁵I-insulinの赤血球への結合曲線であり、点線で示した曲線が各インスリン濃度下における変動係数(標準偏差/平均)の変化を表わしている。インスリン0.4ng/ml濃度下における変動係数は12.1%と比較的良好な値であるが、インスリン濃度が上昇するに従い変動係数はしだいに大きくなり、インスリン100ng/ml濃度下では32.8%となった。

非特異的結合の、結合した総¹²⁵I-insulin量(特異的結合と非特異的結合の和)に対する割合は、インスリン0.4ng/ml濃度下で8.0~30%の範囲にあり、平均21%であった。

incubation中の¹²⁵I-insulinの分解率をtrichloroacetic acid沈澱法により検討したところ、0.89±1.31%となった。

2) 妊娠各時期における赤血球への¹²⁵I-insulinの結合

Fig. 2に正常非妊婦54例、妊娠初期妊婦18例、妊娠中期妊婦15例、妊娠後期妊婦52例の結合曲線を示した。インスリン低濃度域より高濃度域まで、4者間に結合率の有意の差は認められなかった。Fig. 3にそのScatchard analysisを示した。他のインスリン受容体に関する報告と同様に2相性の曲線が得られたが、4者間に、曲線の傾き(親和性)および曲線の延長線と横軸との交点(受容体数)に関し、著明な差は認められなかった。

3) 産褥期における赤血球への¹²⁵I-insulinの結合

8例の妊娠後期妊婦において、分娩前と分娩後5~10日に、赤血球への¹²⁵I-insulinの結合を同一人で比較した。Fig. 4に示したように、両者間に結合率の有意の変化は認められなかった。

4) 妊娠各時期、産褥期における網状赤血球数

Fig. 5に示したように、妊娠中期以降において有意($P < 0.01$)に網状赤血球数が増加していた。

5) 網状赤血球数と結合率との相関

インスリン0.4ng/ml濃度下における赤血球への¹²⁵I-insulinの結合率と、赤血球浮遊液中の網状赤血球数との相関を、妊娠後期妊婦において検討した(Fig. 6)。回帰直線は $y = 0.096x + 3.766$ 、相関係数は $r = 0.38$ となり、有意($P < 0.01$)の正相関を認めた。

6) 網状赤血球数が10%以下の妊娠後期妊婦における赤血球への¹²⁵I-insulinの結合

正常非妊婦に比し軽度の結合率の低下傾向を示したが有意ではなかった(Fig. 7)。

7) 妊娠糖尿病妊婦および糖尿病合併妊婦における赤血球への¹²⁵I-insulin結合

6名の妊娠糖尿病と考えられる妊婦および4名の糖尿病合併妊婦につき、赤血球への¹²⁵I-insulinの結合率を検討した。ここでの妊娠糖尿病(gestational diabetes)とは、妊娠時に初めて発見された比較的軽度の耐糖能異常者で、糖負荷試験の成績がWHO専門委員会勧告²⁹⁾によるIGT(impaired glucose tolerance)またはdiabetes mellitusに相当し、食餌療法でコントロール可能であった症例とした。4名の糖尿病合併妊婦のうち3名はインスリン依存型糖尿病(IDDM)と考えられ、1名はインスリン非依存型糖尿(NIDDM)と考えられる症例であるが、いずれもインスリン治療を行っていた。Fig. 8に示したように、妊娠糖尿病妊婦では結合率の低下傾向が認められ、インスリン低濃度域において正常非妊婦に比し有意($P < 0.01$)の差が認められた。糖尿病合併妊婦では特に著明な結合率の変化は認められなかった。

8) 正常非妊婦、正常妊娠後期妊婦、妊娠糖尿病妊婦、糖尿病合併妊婦の性状

Table 1に各々の年齢、体重、体重増加量、空腹時血漿IRI値、空腹時血糖値、網状赤血球数を示した。年齢は妊娠後期妊婦および妊娠糖尿病妊婦において正常非妊婦に比し有意に高く、妊娠後期妊婦の体重は妊娠糖尿病妊婦において正常非妊婦および妊娠後期妊婦に比し有意に重かった。体重増加量

は糖尿病合併妊婦において妊娠後期妊婦に比し有意に小さかった。空腹時血漿IRI値は正常非妊婦、妊娠後期妊婦、妊娠糖尿病妊婦の間に有意差を認めなかったが、空腹時血糖値は妊娠後期妊婦において正常非妊婦に比し有意に低く、妊娠糖尿病妊婦において妊娠後期妊婦に比し有意に高く、糖尿病合併妊婦において正常非妊婦、妊娠後期妊婦に比し有意に高かった。

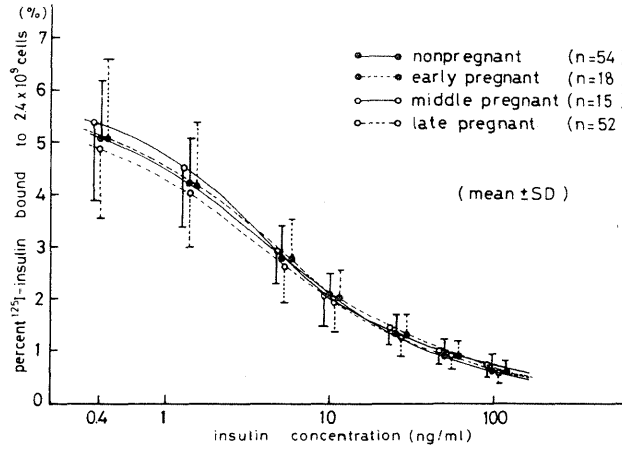


Fig. 2. ^{125}I -insulin binding to erythrocytes from pregnant and non-pregnant women.

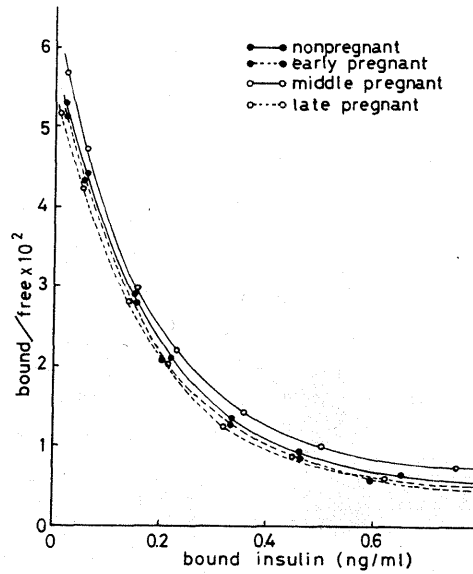


Fig. 3. Scatchard analysis of ^{125}I -insulin binding to erythrocytes from pregnant and nonpregnant women.

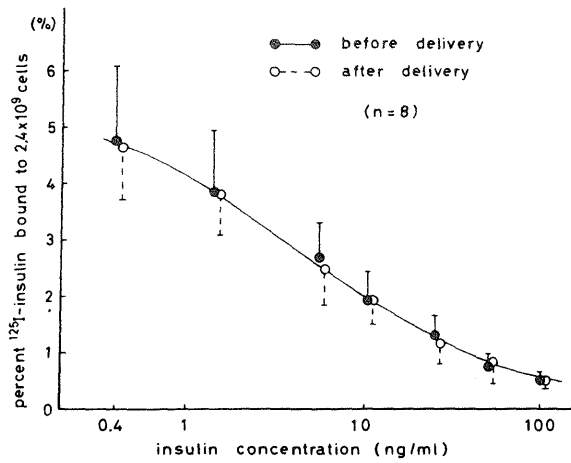


Fig. 4. ¹²⁵I-insulin binding to erythrocytes before and after the delivery.

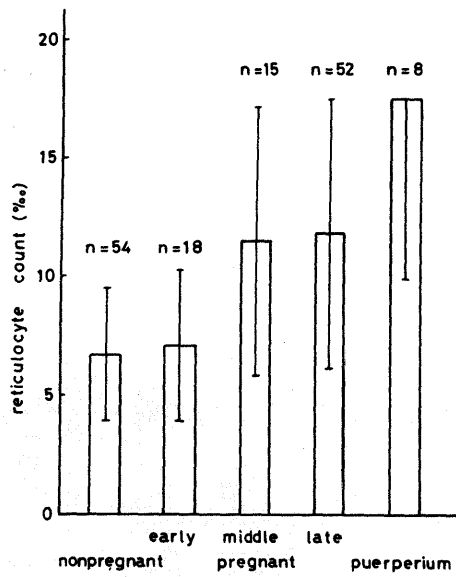


Fig. 5. Reticulocyte counts in nonpregnant, pregnant and puerperial women.

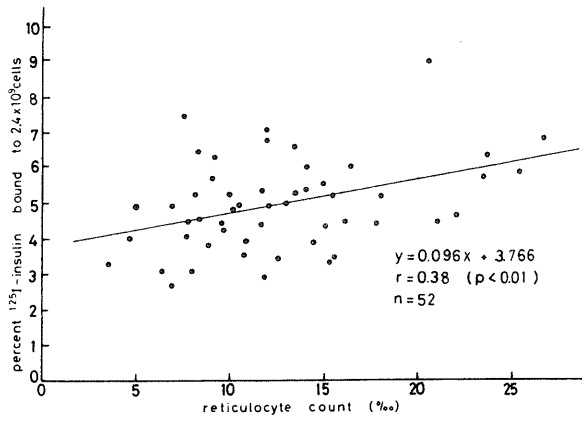


Fig. 6. Correlation between ^{125}I -insulin binding to erythrocytes and reticulocyte counts during late pregnancy.

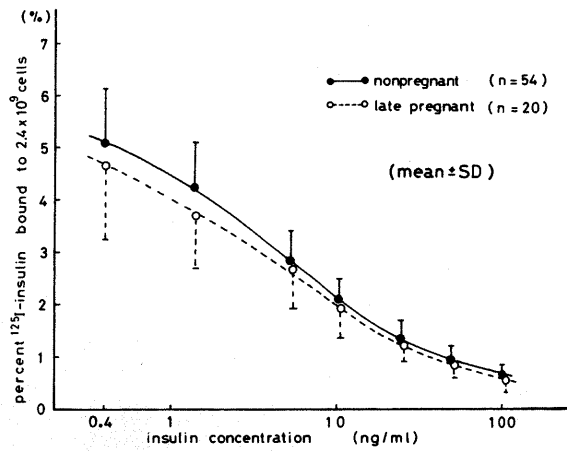


Fig. 7. ^{125}I -insulin binding to erythrocytes from late pregnant women with their reticulocyte counts below 10%.

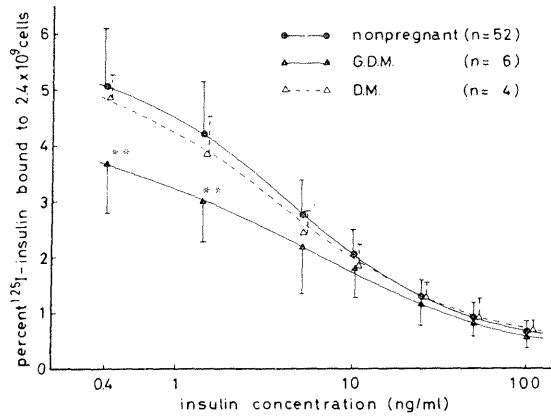


Fig. 8. ¹²⁵I-insulin binding to erythrocytes from pregnant women with abnormal glucose tolerance.
 G.D.M.: gestational diabetes mellitus
 D.M.: pregnancy complicated with diabetes mellitus
 **: significantly different from nonpregnant (P<0.01)

Table 1. Characteristics of the subjects.

	n	age (yr.)	body weight (kg)	weight gain (kg)	IRI (μ U/ml)	FPG (mg/dl)	reticulo- cyte (%)
nonpregnant	54	24.3 \pm 5.3	50.3 \pm 5.7	-	9.6 \pm 2.1	84.3 \pm 9.4	6.7 \pm 2.8
late pregnant	52	29.5** \pm 3.6	49.0 \pm 5.7	11.7 \pm 2.8	10.9 \pm 4.4	79.1** \pm 9.2	11.8** \pm 5.7
G.D.M.	6	31.4** \pm 1.5	59.6** \pm 8.2 ##	8.0 \pm 7.3	9.0 \pm 4.8	88.6 \pm 9.9 #	12.9** \pm 9.0
D.M.	4	25.8 \pm 3.0	47.4 \pm 5.3	5.4 \pm 4.2 ##	-	96.8* \pm 8.2 ##	21.6** \pm 17.4 #

G.D.M.: gestational diabetes mellitus
 D.M.: pregnancy complicated with diabetes mellitus
 IRI: immunoreactive insulin
 FPG: fasting plasma glucose

* (P<0.05), ** (P<0.01): significantly different from nonpregnant

(P<0.05), ## (P<0.01): significantly different from late pregnant

9) インスリン治療の前後でインスリン受容体を測定し得た1症例について

糖尿病合併妊婦のうちNIDDMの1例は、インスリン治療の前後でインスリン受容体の測定を行なうことができたので、その成績をFig.9にscatchard plotにより示した。妊娠27週におけるインスリン使用前の曲線の傾きは急峻であり、親和性が上昇していると考えられるが、妊娠40週における

インスリン治療後の曲線では、ほぼ正常の親和性に復していた。空腹時血糖は、インスリン治療前190.4、治療後106.4 (mg/dl) であり、網状赤血球数は治療前46.3、治療後46.0 (%)であった。

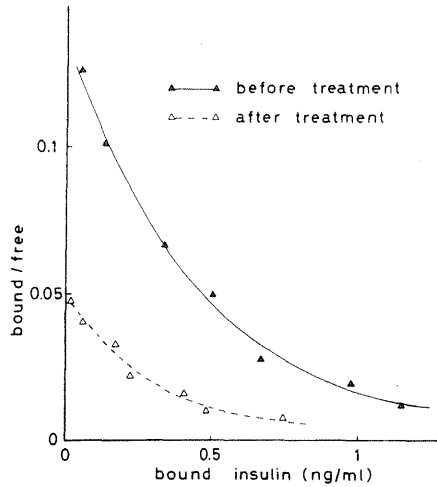


Fig. 9. Scatchard analysis of 125 I-insulin binding to erythrocytes from a diabetic pregnant woman before and after the insulin treatment.

考 察

ヒト赤血球のインスリン受容体の測定は、1977年 Gambhirら⁸⁾により初めて報告されたが、それ以後、比較的少量の採血で測定可能である利点のために、各種のインスリン抵抗性病態の発症機序を解明する手段としてしばしば用いられてきた¹⁵⁾。しかし、赤血球を用いるこの方式を妊娠時のインスリン受容体の評価に適用する場合には、注意を要する若干の問題点がある。第一の問題点として、赤血球がインスリンの標的細胞ではないことがあげられる。しかし、ラットにおいて赤血球と脂肪細胞のインスリン受容体が相関することが報告¹⁰⁾されており、赤血球を用いることにより、他の標的細胞のインスリン受容体の変化をある程度推測することは可能ではないかと考えられる。第二の問題点として、赤血球インスリン受容体の数の調節 (down regulation) が他の細胞に比し緩慢と考えられ、2~3ヵ月を経ないと赤血球の全部が影響を受けない¹³⁾と考えられていることがあげられる。しかし、妊娠期間は約9ヵ月であり、すでに妊娠中期には、高インスリン血症などの妊娠時に特徴的な糖代謝の変化が出現することが明らかにされている¹¹⁾ので、赤血球によっても、妊娠時のインスリン受容体の数の調節をとらえることは可能ではないかと考えられる。第三の問題点として、赤血球の成熟に伴うインスリン受容体の数の減少があげられる。すなわち網状赤血球数と赤血球への 125 I-insulin結合率が正の相関をすることが報告⁵⁾¹⁶⁾されており、その場合の結合率の変化は主として受容体数の変化によるとされている。したがって、妊娠時を含めて、造血能に変化を来たし得る状態において赤血球インスリン受容体の検討を行なう場合には、常に網状赤血球数を考慮に入れる必要があると考えられる。以上の諸条件を考慮に入れるならば、妊娠時のインスリン

受容体の評価に赤血球を用いることは可能ではないかと考えられる。

今回使用した測定系の精度については、Fig. 1に示したように、インスリン低濃度域では比較的良好な精度を示しているが、インスリン高濃度域では変動係数がやや高値となり、少数例の検討を行なう場合には、インスリン高濃度域の判定を慎重に行なう必要があると考えられる。

正常妊婦の赤血球インスリン受容体については、妊娠各時期および産褥期に有意の結合率の変化は認めず、Scatchard analysisによっても親和性および受容体数に著明な変化は認められなかった(Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4)。しかし、妊娠中期以降では網状赤血球数が有意に上昇しており(Fig. 5)、また、妊娠中においても網状赤血球数と結合率が正の相関をすることが確認されたので(Fig. 6)、特に妊娠中期以降におけるインスリン受容体の検討に際しては、網状赤血球数を考慮に入れる必要があると考えられる。そこで、網状赤血球数が、正常非妊婦とほぼ同程度と考えられる10%以下の妊娠後期妊婦20例に限ってインスリン受容体を検討したところ(Fig. 7)、正常非妊婦に比し結合率の若干の低下傾向を認めた。しかし、個体間のばらつきが大きいこともあり、有意差を認めるには至らなかった。

インスリン受容体の数の調節因子の一つとして血中インスリン濃度があり、結合率と血中インスリン値が逆相関し、その結合率の変化は主として受容体数の変化であることが報告²²⁾されている。妊娠時には一般に高インスリン血症が認められる¹⁹⁾ので、妊娠時にインスリン受容体数が減少することが期待される。それにもかかわらず、妊娠時にインスリン受容体数が減少するという報告が少なく、今回の検討においても受容体数の有意の減少が認められなかった原因の一つとして、妊娠時の高インスリン血症の程度がそれほど大きくはないことがあげられる。インスリン受容体の減少の程度は、糖負荷時のinsulin areaよりもむしろ空腹時のインスリン値と良く相関することが報告²³⁾されているが、今回検討した正常妊婦と非妊婦との間には、空腹時IRIに関して有意差は認められなかった。

次に耐糖能異常を伴った妊婦の検討では、妊娠糖尿病妊婦で結合率の低下傾向が認められ、非妊婦に比し、インスリン低濃度域において有意差を認めた(Fig. 8)。インスリン高濃度域においては両者の間に有意差を認めなかったが、その原因の一つはインスリン高濃度域における測定値のばらつきが大きいことにあると考えられる。したがって、症例数を考慮に入れると、今回の成績からは妊娠糖尿病妊婦における結合率の低下が親和性の低下によるものか受容体数の減少によるものかを断定することは難しいと思われる。しかし、いずれにせよ、生理的な濃度に近いインスリン低濃度域において結合率が低下していることは、インスリン抵抗性を増大させる一因になると考えられる。

糖尿病合併妊婦においては、結合率の著明な変化は認められなかった。非妊時の糖尿病患者に関しては、特に未治療のNIDDM患者において、結合率の低下が認められるという報告が多い^{1), 20), 22)}。今回の検討で糖尿病合併妊婦において著明な結合率の低下が認められなかった理由としては、症例数の少ないことも考えられるが、全例インスリン治療中の値であること、網状赤血球数が有意に多いことが考えられる。NIDDMの1例については、インスリン治療前と治療後に検討しており、治療前に親和性の上昇が認められ、治療後にほぼ正常の親和性に復していた(Fig. 9)。このインスリン治療前の親和性の上昇の理由は明確ではないが、非妊症例に関し、大角ら^{20), 21)}はコントロール不良な未治療の糖尿病患者で代謝異常の高度な場合には、赤血球インスリン受容体の親和性が上昇する場合のあることを報告しており、自験例もそれに一致するのではないかと考えられる。

以上、正常および耐糖能異常妊婦における赤血球インスリン受容体について検討を加えた。正常妊婦においては、若干の結合率の低下傾向を示したが、非妊婦に比し有意差は認められなかった。今回の成績からは、正常妊娠において認められるインスリン抵抗性の原因をインスリン受容体の変化のみに求めることは難しいと考えられる。したがって、正常妊婦におけるインスリン抵抗性増大の一部は、インスリン受容体以外の細胞内機構の変化に基づく可能性があると考えられる。

一方、妊娠糖尿病妊婦に関しては有意の結合率の低下が認められた。妊娠糖尿病の発症機序は現在でも明らかではないが、基本的には、妊娠時のインスリン抵抗性増大に対して膵インスリン分泌が不十分な場合に発症すると考えられる。インスリン受容体における結合率の低下は妊娠時のインスリン抵抗性をさらに増大させると考えられ、それが、妊娠糖尿病の発症もしくは増悪の一因となっている可能性があると考えられる。

結 語

正常および糖代謝異常妊婦における赤血球インスリン受容体を検討したところ、以下の成績が得られた。

- 1) 正常妊婦では、妊娠初期、中期、後期、産褥期の各時期において、非妊婦に比し結合率の有意の変化を認めず、受容体数および親和性のいずれにおいても、著明な変化は認められなかった。
- 2) 妊娠中期以降に網状赤血球数の有意な増加が認められ、かつ、網状赤血球数と結合率の間の有意の正相関が、妊娠後期妊婦において認められた。
- 3) 網状赤血球数が10%以下の妊娠後期妊婦について検討したところ、非妊婦に比し若干の結合率の低下傾向が認められたが、その差は有意ではなかった。
- 4) 妊娠糖尿病妊婦では結合率の低下傾向が認められたが、インスリン治療を行っている糖尿病合併妊婦では著明な結合率の変化は認められなかった。

以上の成績により、正常妊娠におけるインスリン抵抗性増大の一部は、インスリン受容体以外の細胞内機構の変化にもとづく可能性のあること、妊娠糖尿病においては、結合率の低下がその発症もしくは増悪因子の一つとなっている可能性のあることが推察される。

稿を終えるにあたり、この研究の機会を与えられ、御指導、御校閲を賜った杉山陽一教授、直接の御助言、御教示をいただいた村田和平講師、および実験法の御教示と数々の有益なる御示唆を賜った、滋賀医科大学第三内科、小林正先生ならびに教室員諸氏に心より感謝いたします。

文 献

- 1) Beck-Nielsen, H.: The pathogenic role of an insulin-receptor defect in diabetes mellitus of the obese. *Diabetes*, 27: 1175-1181, 1978.
- 2) Beck-Nielsen, H., Kühl, C., Pedersen, O., Bjerre-Christensen, C., Nielsen, T.T. and Klebe, J.G.: Decreased insulin binding to monocytes from normal pregnant women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 49: 810-814, 1979.
- 3) De Pirro, R., Fusco, A., Lauro, R., Testa, I., Ferretti, G. and De Martinis, C.: Insulin receptors on monocytes and erythrocytes from obese patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51: 1437-1439, 1980.
- 4) Durán-García, S., Gomez Nieto, J. and Maranon Cabello, A.: Effect of gestational diabetes on insulin receptors in human placenta. *Diabetologia*, 16: 87-91, 1979.
- 5) Eng, J., Lee, L. and Yalow, R.S.: Insulin receptors on monocytes and erythrocytes from obese patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 49: 810-814, 1979.

- R.S.: Influence of the age of erythrocytes on their insulin receptors. *Diabetes*, 29: 164-166, 1980.
- 6) Fisher, P.M., Sutherland, H.W. and Bewsher, P.D.: The insulin response to glucose infusion in normal human pregnancy. *Diabetologia*, 19: 15-20, 1980.
- 7) Freychet, P., Roth, J. and Neville, D.M.Jr.: Monoiodoinsulin: Demonstration of its biological activity and binding to fat cells and liver membranes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 43: 400-408, 1971.
- 8) Gambhir, K.K., Archer, J.A. and Carter, L.: Insulin radioreceptor assay for human erythrocytes. *Clin. Chem.*, 23: 1590-1595, 1977.
- 9) Gratacos, J.A., Neufeld, N., Kumar, D., Artal, R., Paul, R.H. and Mestan, J.: Monocyte insulin binding studies in normal and diabetic pregnancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 141: 611-616, 1981.
- 10) Harrison, L.C., Billington, T., Clark, S., Nicholas, R., East, I. and Martin, F.I.R.: Decreased binding of insulin by receptors on placental membranes from diabetic mothers. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 44: 206-209, 1977.
- 11) Kahn, C.R., Flier, J.S., Bar, R.S., Archer, J.A., Gorden, P., Martin, M.M. and Roth, J.: The syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans. *N. Engl. J. Med.*, 294: 739-745, 1976.
- 12) Kobayashi, M., Olefsky, J.M., Elders, J., Mako, M.E., Given, B.D., Schedwie, H.K., Fiser, R.H., Hintz, R.L., Horner, J.A. and Rubenstein, A.H.: Insulin resistance due to a defect distal to the insulin receptor: Demonstration in a patient with leprechaunism. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 75: 3469-3473, 1978.
- 13) Kobayashi, M., Ohgaku, S., Iwasaki, M., Harano, Y., Maegawa, H. and Shigeta, Y.: Evaluation of the method of insulin binding studies in human erythrocytes. *Endocrinol. Japon.*, 27: 337-342, 1980.
- 14) 小林 正, 岩崎 誠, 前川 聡, 繁田幸男: ラット赤血球と脂肪細胞のインスリンレセプターの相関, *糖尿病*, 23: 743-750, 1980.
- 15) 小林 正: 糖尿病における赤血球インスリン・レセプターの解析, 343-367, 小坂樹徳編, *糖尿病学 1982*, 診断と治療社, 1982.
- 16) Kosmakos, F.C., Nagulesparan, M. and Bennett, P.H.: Insulin binding to erythrocytes: A negative correlation with red cell age. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51: 46-50, 1980.
- 17) Metzger, B.E. and Freinkel, N.: Effects of diabetes mellitus on endocrinologic and metabolic adaptations of gestation, 23-33. Ed. by I. Merkats and P.A.J. Adam, *The diabetic pregnancy: A perinatal perspective*, Grune and Stratton, Inc., New York, 1979.
- 18) Moore, P., Kolterman, O., Weyant, J. and Olefsky, J.M.: Insulin binding in human pregnancy: Comparisons to the postpartum, luteal, and follicular states. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 52: 937-941, 1981.
- 19) 村田和平: 妊娠時の糖代謝に関する内分泌学的検討——とくに Insulin および C-peptide について, *日内分泌会誌*, 55: 927-943, 1979.
- 20) 大角誠治: 糖尿病患者における赤血球インスリン結合に関する研究(I)——正常健康人における加齢の影響, 耐糖能低下による変化, Type II 糖尿病患者におけるインスリン結合とインスリン抵抗性の相関, *糖尿病*, 25: 803-811, 1982.
- 21) 大角誠治: 糖尿病患者における赤血球インスリン結合に関する研究(II)—Type II 糖尿病患者のインスリン結合に及ぼす治療の影響: インスリン受容体減少における代謝性因子の役割の検討, *糖尿病*, 25: 813-821, 1982.
- 22) Olefsky, J.M. and Reaven, G.M.: Insulin binding in diabetes: Relationship with plasma insulin levels and insulin sensitivity. *Diabetes*, 26: 680-688, 1977.
- 23) Pagano, G., Cassader, M., Massobrio, M., Bozzo, C., Trossarelli, G.F., Menato, G. and Lenti, G.: Insulin binding to human adipocytes

- during late pregnancy in healthy, obese and diabetic state. *Horm. Metab. Res.*, 12: 177-181, 1980.
- 24) Puavilai, G., Drobny, E.C., Domont, L.A. and Baumann, G.: Insulin receptors and insulin resistance in human pregnancy: Evidence for a postreceptor defect in insulin action. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54: 247, 1982.
- 25) Scatchard, G.: The attractions of protein for small molecule and ions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 51: 660-672, 1949.
- 26) Sugiyama, Y., Kozuka, Y. and Tamura, H.: The studies of pregnant women with diabetes mellitus or gestational diabetes. *Acta Obst. et Gynaec. Jap.*, 21: 127-134, 1974.
- 27) 杉山陽一, 小塚良允, 田村博昭, 赤澤好温: 糖尿病および糖代謝異常妊婦に関する内分泌学的検討, *糖尿病*, 18: 1-10, 1975.
- 28) Tsibris, J.C.M., Raynor, L.O., Buhi, W.C., Buggie, J. and Spellacy, W.N.: Insulin receptors in circulating erythrocytes and monocytes from women on oral contraceptives or pregnant women near term. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51: 711-717, 1980.
- 29) WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus. Second Report. Technical Report Series 646, WHO, Geneva, 1980. (受付日: 57. 7. 9)