

# Glucose Intolerance in Liver Cirrhosis – A Comparison with Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus –

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8279">http://hdl.handle.net/2297/8279</a>

## 肝硬変のインスリン抵抗性について

## —インスリン非依存型糖尿病との比較検討—

金沢大学医学部内科学第一講座 (主任: 小林健一教授)

宮 本 市 郎

(平成3年4月26日受付)

肝硬変 (liver cirrhosis, LC) におけるインスリン抵抗性の成因を明らかにするため、代償性肝硬変患者を対象にグルコースクランプ法 (euglycemic clamp technique) を施行し、末梢組織のインスリン感受性や反応性を検討するとともに、赤血球インスリン受容体結合率の測定を行った。さらに、インスリン抵抗性を示す代表的疾患であるインスリン非依存型糖尿病 (non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM) においても同様の検討を行い、LC と NIDDM のインスリン抵抗性の成因の違いにつき比較検討した。LC 患者及び NIDDM 患者では、グルコースクランプ法におけるブドウ糖の代謝消失率 (metabolic clearance rate, MCR) を用いたインスリン用量反応曲線は、正常群に比較して右下方へ有意に偏移しており、インスリンに対する感受性、反応性両者の低下がみられた。LC 群では、インスリン反応性の指標である高濃度血中インスリン下での MCR (MCR-800) と空間時血中インスリン濃度との間には、有意な負の相関関係 ( $r = -0.57, p < 0.01$ ) が、さらに MCR-800 と 75g-経口ブドウ糖負荷試験時の血糖値の総和である  $\Sigma$  blood glucose (BG) との間にも有意な負の相関関係 ( $r = -0.43, p < 0.05$ ) が認められた。しかし NIDDM 群では、MCR-800 と空腹時血中インスリン濃度や  $\Sigma$  BG との間に相関関係は認められなかった。LC 患者及び NIDDM 患者では、赤血球に対する  $^{125}$ I-インスリン特異結合率は、正常群に比較して有意の低下を示したが、Scatchard 解析においてこの結合率の低下は LC 群ではインスリン受容体数の低下によるものであり、NIDDM 群では受容体未結合時の結合親和性 ( $\overline{K_e}$ ) の低下によるものと推測された。以上より、LC ではインスリン受容体及び受容体以後のレベルにおけるインスリン抵抗性が存在することが示唆された。特に受容体以後のインスリン抵抗性は基礎レベルにおける高インスリン血症に基づく可能性が示され、又それが耐糖能異常の発現に大きく関与している可能性が考えられた。NIDDM でもインスリン受容体及び受容体以後のレベルにおけるインスリン抵抗性が存在したが、インスリン抵抗性の成因は LC と NIDDM では異なっている可能性が示唆された。

**Key words** insulin resistance, liver cirrhosis, euglycemic clamp, insulin receptor, non-insulin dependent diabetes mellitus

1906年 Naunyn<sup>1)</sup>は、肝疾患、特に肝硬変と耐糖能異常の關係に注目し、“肝性糖尿病”なる概念を提唱した。以後、肝硬変に高頻度に認められる耐糖能異常の成因に関し多くの検討がなされたが、今なお一定した見解がない。しかし、肝硬変では高インスリン血症を伴う頻度も高いとされており、高インスリン血症にも

かかわらず耐糖能異常を伴うことから、インスリン抵抗性の存在が示唆されている<sup>2)</sup>。従来、末梢組織におけるインスリン感受性を調べる方法として、インスリン静注法、グルコース-インスリン-エピネフリン-プロプラノロール静注法<sup>3)</sup>、グルコース-インスリン-ソマトスタチン静注法<sup>4)</sup>などが用いられてきたが、

Abbreviations: BG, blood glucose; BSA, bovine serum albumin; C, control; Cort, cortisol; CPR, C-peptide immunoreactivity; DM, diabetes mellitus; FFA, free fatty acid; GH, growth hormone; IRG, immunoreactive glucagon; IRI, immunoreactive insulin;  $\overline{K_e}$ , empty sites

現在ではグルコースクランプ法 (euglycemic clamp technique) が最も優れた方法と考えられている<sup>6)</sup>。今回著者は、肝硬変におけるインスリン抵抗性の成因を検索するため、三段階のインスリン注入速度でグルコースクランプ法を施行し、生体内での末梢組織のインスリン感受性や反応性を検討するとともに、赤血球インスリン受容体結合率の測定を行った。又、インスリン抵抗性がその成因に大きく関与している代表的疾患として知られているインスリン非依存型糖尿病<sup>9)</sup> (non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM) においても同様に、グルコースクランプ法と赤血球インスリン受容体結合率の測定を行い、肝硬変と NIDDM のインスリン抵抗性の成因の違いにつき比較検討した。

### 対象および方法

#### I. 対象 (表 1)

##### 1. グルコースクランプ法の対象者

グルコースクランプ法は肝硬変患者 (liver cirrhosis, LC) 群28名 (年齢 $54.8 \pm 2.0$ 歳, 肥満度 $103.5 \pm 3.0\%$ ), 糖尿病患者 (diabetes mellitus, DM) 群22名 (年齢 $54.8 \pm 2.5$ 歳, 肥満度 $109.5 \pm 4.0\%$ ), 健常対照者 (control, C) 群13名 (年齢 $50.4 \pm 4.7$ 歳, 肥満度 $97.1 \pm 4.0\%$ ) で行った。年齢は三群間で有意差を認めず、肥満度は DM 群で C 群より有意に高値であった ( $p < 0.05$ ) が、LC 群と C 群, LC 群と DM 群の間には有意差を認めなかった。

##### 2. 赤血球インスリン受容体の測定者

赤血球インスリン受容体の測定は上記対象者のうち

LC 群16名 (年齢 $55.4 \pm 2.0$ 歳, 肥満度 $103.6 \pm 2.2\%$ ), DM 群7名 (年齢 $56.3 \pm 3.5$ 歳, 肥満度 $112.5 \pm 4.1\%$ ), C 群9名 (年齢 $46.7 \pm 6.0$ 歳, 肥満度 $103.2 \pm 2.7\%$ ) で行った。年齢, 肥満度ともに三群間に有意差はなかった。

肝硬変の診断は腹腔鏡, 肝生検によって行い, 顕性の黄疸, 腹水などを認める患者は除外し, 代償期の患者のみを対象とした。

糖尿病の診断は日本糖尿病学会の糖尿病の診断に関する委員会の勧告<sup>7)</sup>に従って行い, 二次性糖尿病, インスリン依存型糖尿病を除外した, 非肥満 NIDDM 患者のみを対象とした。

#### II. 方法

##### 1. 経口糖負荷試験

糖尿病患者2名を除く対象者全例に, 75g 経口ブドウ糖負荷試験 (oral glucose tolerance test, OGTT) を施行し, 血糖 (blood glucose, BG) 反応および血清インスリン (immunoreactive insulin, IRI) 反応を検討した。75g-OGTT 時の BG の総和を  $\Sigma$  BG とし, IRI の総和を  $\Sigma$  IRI とした。

##### 2. グルコースクランプ法 (図 1)

一晚絶食後, 翌朝人工膵臓 (Biostator<sup>®</sup>, glucose controlled insulin infusion system, GCIIIS, Miles 社, Elkhart, U. S. A.) を対象者に接続し, モノコンポーネントブタインスリン (Insulin Novo Actrapid MC<sup>®</sup>, Novo 社, Copenhagen, Denmark) を, Rizza らの方法<sup>10)</sup>に準じて, 注入速度 $0.5 \text{ mU/kg/min}$ ,  $3.0 \text{ mU/kg/min}$ ,  $10.0 \text{ mU/kg/min}$  でそれぞれ90分間ずつ段階的に増加させ, 持続静注した。一方, Biostator のブドウ

Table 1. Clinical characteristics of the subjects

Group	Age (year)	Sex	O.I. (%)	FBG (mg/100ml)	IRI ( $\mu$ U/ml)	GPT (IU/l)	T.Bil. (mg/100ml)	ICG (%)	PT (sec)	HbA <sub>1c</sub> (%)	DM therapy
LC (n=28)	$54.8 \pm 2.0$	M=22 F=6	$103.5 \pm 3.0$	$99.2 \pm 6.3$	$15.7 \pm 1.7^*$	$72 \pm 11^*$	$1.11 \pm 0.11^*$	$27.9 \pm 2.4$	$13.6 \pm 0.23$	$4.8 \pm 0.2$	—
DM (n=22)	$54.8 \pm 2.5$	M=15 F=7	$109.5 \pm 4.0^*$	$135.0 \pm 12.0^*$	$12.0 \pm 1.6^*$	$15 \pm 2$	$0.55 \pm 0.04$	—	—	$7.3 \pm 0.3$	Diet only=16 O.H.A.=2 Insulin=4
C (n=13)	$50.4 \pm 4.7$	M=9 F=4	$97.1 \pm 4.0$	$87.9 \pm 2.1$	$7.5 \pm 0.7$	$15 \pm 2$	$0.48 \pm 0.04$	—	—	—	—

LC, liver cirrhosis; DM, diabetes mellitus; C, control; n, number of subjects; M, man; F, female; O.I., obesity index; FBG, fasting blood glucose; IRI, immunoreactive insulin; GPT, glutamic-pyruvic transaminase; T.Bil., total bilirubin; ICG, indocyanine green; PT, prothrombin time; O.H.A., oral hypoglycemic agent; —, not done.

\*, DM vs C ( $P < 0.05$ ); b, DM vs C ( $P < 0.001$ ); c, LC vs DM ( $P < 0.001$ ); d, LC vs DM ( $P < 0.05$ ); e, LC vs C ( $P < 0.001$ ). Values are mean  $\pm$  SEM.

affinity;  $\bar{K}_f$ , filled sites affinity; LC, liver cirrhosis; MC, monocomponent; MCR, metabolic clearance rate; NIDDM, non-insulin dependent diabetes mellitus; OGTT, oral glucose tolerance test; RIA, radioimmunoassay

糖センサーにより血糖値を持続的に監視し、Biostatorのグルコースクランプ用アルゴリズム<sup>10)</sup>を用いて20%ブドウ糖を注入することにより、血糖値をLC群およびC群では、空腹時血糖値にクランプした。DM群については、前日よりBiostatorを接続し、Biostatorのフィードバックコントロール用アルゴリズムを用いて、翌朝までに血糖値を90mg/100ml前後に調節し、この値にクランプした。なお、Biostatorを用いてフィードバックコントロールを行った際に要したインスリンの影響を除くため、Biostatorからのインスリン注入を、30分間以上中断した後、クランプを開始した。中間型インスリンを使用している患者は前日より中止した。

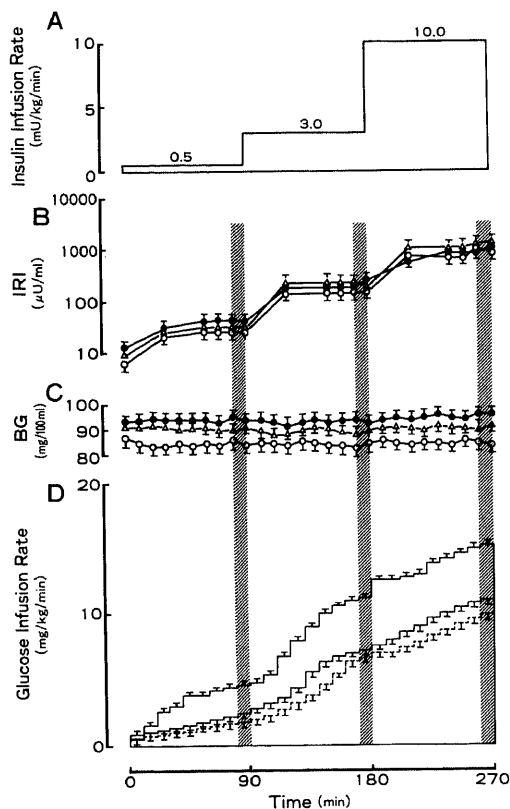


Fig. 1. Insulin infusion rates (A), insulin concentrations (B), blood glucose levels (C) and Glucose infusion rates necessary to maintain euglycemia (D), during the euglycemic clamp study. ●—● and □—□, liver cirrhosis (n=28); △—△ and ▨—▨, diabetes mellitus (n=22); ○—○ and □—□, control (n=13). Values are mean±SEM. Shaded area indicates steady state intervals at each insulin infusion rate. IRI, immunoreactive insulin; BG, blood glucose.

BGはインスリン注入開始前及び開始後は10分毎に、IRIは0, 30, 60, 70, 80, 90, 120, 150, 160, 170, 180, 210, 240, 250, 260, 270分に、血清C-ペプチド (C-peptide immunoreactivity, CPR), 成長ホルモン (growth hormone, GH), コルチゾール (cortisol, Cort), 遊離脂肪酸 (free fatty acid, FFA), および血漿グルカゴン (immunoreactive glucagon, IRG) は0, 90, 180, 270分に採血し測定した。血糖はグルコースオキシダーゼ法, IRIは栄研イムノケミカル研究所 (東京) 製キット, CPRは塩野義製薬社 (大阪) 製キット, GHはダイナボット社 (東京) 製キット, Cortは栄研イムノケミカル研究所製キット, IRGは第一ラジオアイソトープ研究所 (東京) 製のキットをそれぞれ用いたRIA法, FFAは和光純薬工業社 (大阪) 製のキットを用いた酵素法により測定した。なお、インスリン治療中の患者では、IRIはポリエチレングリコール抽出法による血中遊離インスリンを測定した<sup>11)</sup>。

各インスリン注入速度で注入開始後、60分頃より、IRIはほぼプラトーに達するため、各インスリン注入速度における注入開始後、80分から90分の間を“定常状態”とし、以下の解析に用いた。なお、定常状態における1分毎のBGの平均値及び80分と90分のIRIの平均値をそれぞれBG<sub>s-s</sub>およびIRI<sub>s-s</sub>とした。

### 3. グルコースクランプ法の結果の解析

#### 1) ブドウ糖の代謝消失率 (metabolic clearance rate, MCR)

血糖値をクランプするのに必要なブドウ糖注入速度は、生体全組織におけるブドウ糖利用率 (glucose utilization rate, M) に等しく、末梢組織におけるインスリン感受性の指標と考えられている<sup>12)</sup>。Mは、各インスリン注入速度の定常状態において、10分間のブドウ糖注入速度の1分毎の値を平均して求めた。更にクランプした血糖値 (BG<sub>s-s</sub>) の差による影響を除去するため、MをBG<sub>s-s</sub>で除することによりMCRを算出した<sup>12)</sup>。

#### 2) インスリン用量反応曲線の作成

各インスリン注入速度における、MCRとIRI<sub>s-s</sub>からインスリン用量反応曲線を作成した。しかし、すべての症例で同一のIRI<sub>s-s</sub>を得るのは実際上困難なので、個々の症例の曲線からIRI濃度が50μU/ml, 400μU/ml, 800μU/mlの時のMCRを読み取り、それぞれMCR-50, MCR-400, MCR-800として平均し、インスリン用量反応曲線を新たに作成した。MCR-50はヒトの生理的血中インスリン濃度におけるインスリン効果の指標であり、MCR-800はヒトの最大インスリン効果の指標である (ヒトの最大インスリン効果を与え

る血中インスリン濃度は400~700  $\mu$  U/ml 以上或は200~700  $\mu$  U/ml の間にあると考えられている<sup>8)13)</sup>.

3) インスリンクリアランス (insulin clearance, Cins)

Cins = インスリン注入速度 / [IRI<sub>90-90</sub> - (IRI<sub>0</sub> × C-PR<sub>90-90</sub>/CPR<sub>0</sub>)] の式を用いてインスリン注入速度0.5 mU/kg/min の時のインスリンクリアランスを算出した<sup>14)</sup>.

#### 4. 赤血球インスリン受容体の測定

Gambhir らの原法<sup>15)</sup>を修正した方法により赤血球インスリン結合を測定した. 早朝空腹時へパリン採血し, Hypaque (33.9%)・Ficoll (9%) 溶液 (1:2.4vol% で混和) にて分離した赤血球を, 0.1%牛血清アルブミン (bovine serum albumin, BSA) を含む緩衝液 G (hepes 50mM, tris 50mM, MgCl<sub>2</sub> 10mM, ethylenediamine tetra-acetic acid 2mM, dextrose 10mM, CaCl<sub>2</sub> 10mM, NaCl 50mM, KCl 5mM, pH 8.0) にて 4 × 10<sup>9</sup>/mm<sup>3</sup> になるよう調節した.

<sup>125</sup>I-インスリンの赤血球への結合実験は以下の如く行った. 400  $\mu$  l の赤血球浮遊液 (1.6 × 10<sup>9</sup> cell/tube) に種々の濃度の非標識インスリン溶液50  $\mu$  l (最終濃度0.1~100ng/ml) と <sup>125</sup>I-インスリン溶液50  $\mu$  l (最終濃度0.1ng/ml) を混じ, 15° C にて3.5時間インキュベーションした. インキュベーション終了後, 反応溶液200  $\mu$  l をとり, あらかじめ緩衝液G 200  $\mu$  l と di-n-butyl phthalate 200  $\mu$  l を入れて氷冷しておいた微小遠心管に重層し Beckman Microfuge B (Beckman instruments 社, Palo Alto, U. S. A.) にて2.5分間遠心した. 下層, 中間層, 上層に, それぞれ赤血球層, di-n-butyl phthalate, 緩衝液Gが分離されるので, 上清を吸引除去後, 中間層の位置で, 微小遠心管を切断し, 赤血球層の放射活性をウエル型シンチレーションカウンター (Aloka 社, 東京) にて測定した. インスリン結合率は, 赤血球浮遊液 200  $\mu$  l 中に含まれる <sup>125</sup>I-インスリンの全放射活性に対する赤血球に結合した <sup>125</sup>I-インスリンの放射活性の比で求めた. また, 高濃度の非標識インスリン (最終濃度 10<sup>5</sup> ng/ml) 存在下で同様の結合実験を行い, その際の <sup>125</sup>I-インスリンの赤血球への結合を非特異的結合とした. インスリン結合率より非特異的結合率を差し引いたものをインスリン特異結合率とした. <sup>125</sup>I-インスリン結合曲線の Scatchard 解析<sup>16)</sup>より, 受容体数及び結合親和性を示す  $\overline{K_e}$  (empty sites affinity) と  $\overline{K_f}$  (filled sites affinity) を算出した.  $\overline{K_e}$ ,  $\overline{K_f}$  は DeMeys の方法<sup>17)</sup>により算出した. 非標識インスリンはモノコンポーネントプタインスリン (Novo社, Copenhagen, Denmark), <sup>125</sup>I-インスリ

ンは, ダイナボット社 (東京) 製のインスリン125 (比活性220  $\mu$  Ci/ $\mu$  g) を使用した. di-n-butyl phthalate は半井化学薬品社 (京都) 製, BSA, Hypaque, Ficoll は Sigma 社 (St. Louis, U. S. A.) 製, 他の化学試薬類は和光純薬工業社 (大阪) 製のものを使用した.

### III. 統計学的処理

結果はすべて平均値 ± 標準誤差で示し, 有意差検定には Student の t 検定及び対応のある t 検定を用い, p < 0.05を有意とした.

## 成 績

### I. 経口糖負荷試験 (図2)

BG は負荷前の値及び負荷後の反応ともに, DM 群, LC 群, C群の順で高値を示した. IRI の負荷前値は LC 群で DM 群 (p < 0.05) や C群 (p < 0.001) より, 又 DM 群で C群 (p < 0.05) より有意に高値を示したが, 負荷後の反応は DM 群で C群に比し頂値の遅れを認め, LC 群では頂値の遅れと共に著明な高反応を認めた.  $\Sigma$  BG は, LC 群 967.2 ± 45.3 mg/100ml, DM 群 1540.2 ± 75.6 mg/100ml, C 群 624.1 ± 26.5 mg/100ml で, DM 群は LC 群 (p < 0.01), C 群 (p < 0.001) より有意に高値を示し, LC 群は C群より有意に高値を示した (p < 0.001). 又,  $\Sigma$  IRI は, LC 群 751.3 ± 58.2  $\mu$  U/ml, DM 群 221.0 ± 25.6  $\mu$  U/ml, C 群 208.1 ± 33.7  $\mu$  U/ml で, LC 群は DM 群 (p < 0.001), C 群 (p < 0.001) より有意に高値であったが, DM 群と C 群の間には有意差を認めなかった.

### II. グルコースクランプ法

#### 1. BG<sub>s-s</sub> 及び IRI<sub>s-s</sub> (表2)

BG<sub>s-s</sub> は, LC 群 92.9 ± 2.1 mg/100ml, DM 群 89.7 ± 0.3 mg/100ml, C 群 85.0 ± 1.3 mg/100ml で, LC 群 (p < 0.01), DM 群 (p < 0.01) は C群より有意に高値を示したが, LC 群と DM 群の間には有意差は認めなかった. インスリン注入速度0.5, 3.0, 10.0 mU/kg/min における IRI<sub>s-s</sub> はそれぞれ LC 群 38.8 ± 4.4, 268.9 ± 23.9, 1160.4 ± 64.1  $\mu$  U/ml, DM 群 36.2 ± 5.5, 198.4 ± 16.1, 1330.8 ± 96.3  $\mu$  U/ml, C 群 30.5 ± 3.9, 171.7 ± 17.6, 1144.2 ± 82.6  $\mu$  U/ml で, インスリン注入速度3.0 mU/kg/min における IRI<sub>s-s</sub> は LC 群で DM 群 (p < 0.02), C 群 (p < 0.01) より有意に高値を示したが, DM と C群の間には有意差を認めなかった. 他のインスリン注入速度における IRI<sub>s-s</sub> は, 三群間で有意差を認めなかった.

#### 2. インスリン用量反応曲線 (図3, 4)

MCR-50, MCR-400, MCR-800 はそれぞれ LC 群 2.79 ± 0.27, 8.26 ± 0.46, 10.43 ± 0.47 ml/kg/min,

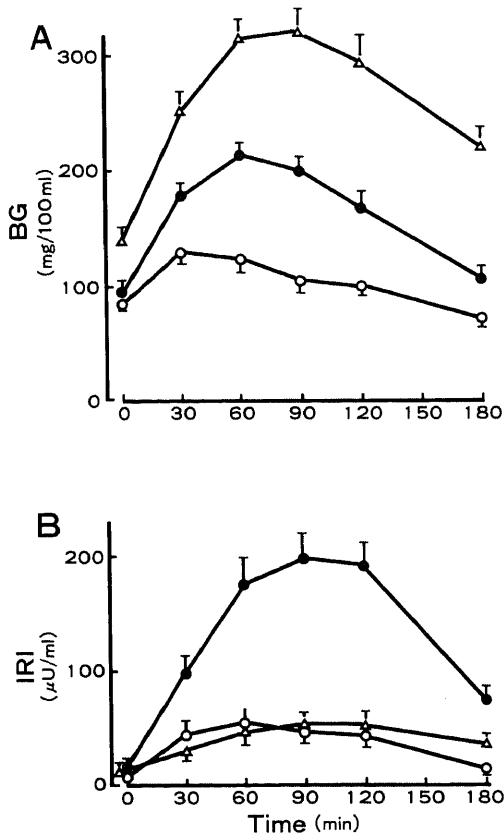


Fig. 2. Blood glucose (A) and IRI (B) responses to 75g-oral glucose tolerance test. ●—●, liver cirrhosis (n=28); △—△, diabetes mellitus (n=20); ○—○, control (n=13). Value are mean±SEM. BG, blood glucose; IRI, immunoreactive insulin.

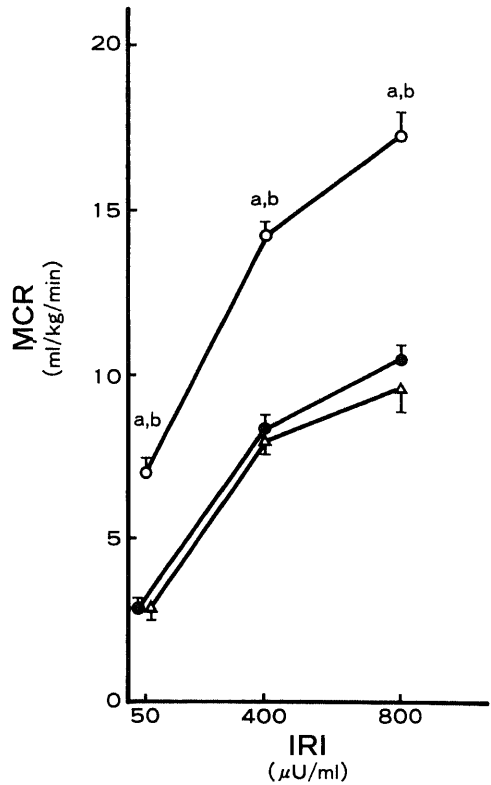


Fig. 3. Mean insulin dose-response curves plotted by MCR. ●—●, liver cirrhosis (LC) (n=28); △—△, diabetes mellitus (DM) (n=22); ○—○, control (C) (n=13). a, LC v C (p<0.001); b, DM v C (p<0.001). Values are mean±SEM. MCR, metabolic clearance rate.

Table 2. BG<sub>ss</sub> and IRI<sub>ss</sub> during euglycemic clamp

Group	BG <sub>ss</sub> (mg/100ml)	IRI <sub>ss</sub> (μU/ml)		
		Insulin infusion rate (mU/kg/min)		
		0.5	3.0	10.0
LC (n=28)	92.9±2.1 <sup>a</sup>	38.8±4.4	268.9±23.9 <sup>a,c</sup>	1160.4±64.1
DM (n=22)	89.7±0.3 <sup>b</sup>	36.2±5.5	198.4±16.1	1330.8±96.3
C (n=13)	85.0±1.3	30.5±3.9	171.7±17.6	1144.2±82.6

LC, liver cirrhosis; DM, diabetes mellitus; C, control; n, number of subjects; BG<sub>ss</sub>, steady state blood glucose; IRI<sub>ss</sub>, steady state immunoreactive insulin. a, LC vs C (P<0.01); b, DM vs C (P<0.01); c, LC vs DM (P<0.02). Values are mean±SEM.

DM 群  $2.82 \pm 0.38$ ,  $8.05 \pm 0.67$ ,  $9.59 \pm 0.73$  ml/kg/min, C 群  $6.95 \pm 0.43$ ,  $14.24 \pm 0.36$ ,  $17.28 \pm 0.95$  ml/kg/min であり, MCR-50, MCR-400, MCR-800 の全てにおいて LC 群 ( $p < 0.001$ ) および DM 群 ( $p < 0.001$ ) は C 群より有意に低値を示した. LC 群と DM 群の間には, 有意差を認めなかった. (図 3)

用量反応曲線の右方移動の程度を明らかに示すために最大インスリン反応である MCR-800 を 100% とし, MCR-800 に対する, MCR-50, MCR-400 の割合を検討した. 図 4 から明らかなように LC 群と DM 群の用量反応曲線は C 群に比べて右方に偏移しており, MCR-800 の 50% の MCR を与える血中 IRI 濃度は LC 群  $205.8 \pm 11.1 \mu\text{U/ml}$ , DM 群  $174.4 \pm 16.5 \mu\text{U/ml}$ , C 群  $129.0 \pm 13.7 \mu\text{U/ml}$  であり, LC 群 ( $p < 0.001$ ), DM 群 ( $p < 0.05$ ) いずれも C 群より有意に高値を示したが, LC 群と DM 群との間に有意差は見られなかった.

3. MCR と空腹時血中インスリン濃度,  $\Sigma$  IRI の関係 (図 5)

LC 群においては, 空腹時血中 IRI 濃度とインスリンの最大効果の指標である MCR-800 ( $r = -0.57$ ,  $p <$

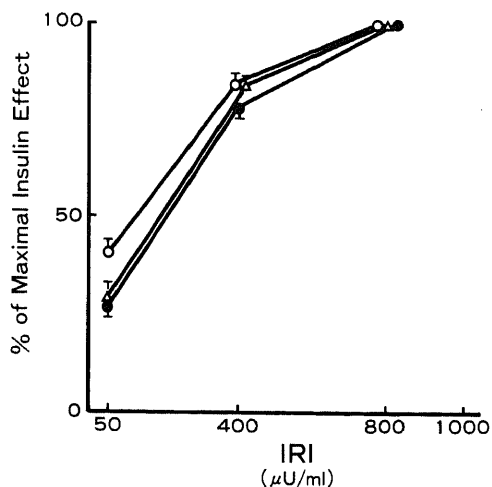


Fig. 4. Mean insulin dose-response curves plotted as percentage of maximal insulin effect. ●-●, liver cirrhosis ( $n=28$ );  $\triangle$ - $\triangle$ , diabetes mellitus ( $n=22$ ); ○-○, control ( $n=13$ ). Values are mean  $\pm$  SEM.

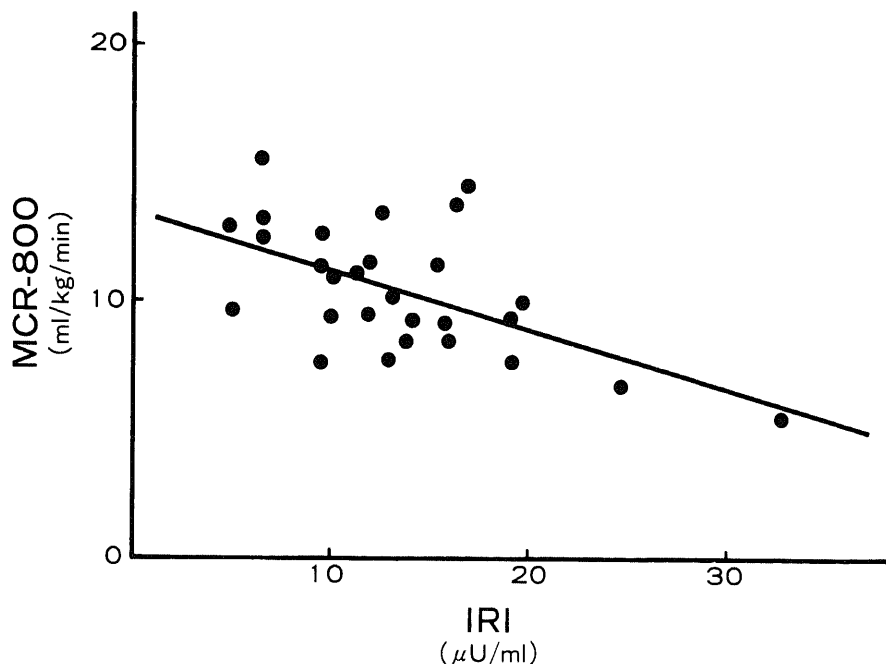


Fig. 5. Correlations between MCR-800 and fasting IRI in patients with cirrhosis. Correlation coefficient ( $r$ ) is  $-0.57$  ( $n=28$ ,  $p < 0.01$ ). The line of best fit ( $Y = 13.5 - 0.23X$ ) is shown. MCR, metabolic clearance rate; IRI, immunoreactive insulin.

0.01) との間に、負の相関関係が認められたが、DM 群、C 群においては、両者の間には、何れも相関関係を認めなかった。

一方、75g-OGTT 時の  $\Sigma$ IRI と MCR-800 の間には全ての群で相関関係を認めなかった (図省略)。

#### 4. MCR と空腹時BG, $\Sigma$ BG の関係 (図6)

LC 群においては、75g-OGTT 時の  $\Sigma$  BG と MCR-800 ( $r = -0.43$ ,  $p < 0.05$ ) との間に、負の相関関係を認めた。DM 群、C 群においては、両者の間には、何れも相関関係を認めなかった。

一方、空腹時 BG と MCR-800 の間には全ての群で相関関係を認めなかった (図省略)。

#### 5. MCR と肝機能の関係

肝予備能低下は耐糖能悪化をきたす一因として報告されているため<sup>10)</sup>、肝硬変における肝機能の評価の指標として、プロトロンビン時間、ヘパプラスチンテスト、インドサイアニングリーン試験における15分後血中停滞率、血清総ビリルビンを用いて、MCR との相関につき検討したが、相関関係を認めるものはなかった。

#### 6. クランプ中の CPR, GH, Cort, IRG, FFA (図7)

1) CPR: 前値は LC 群, DM 群, C 群それぞれ  $1.89 \pm 0.24 \text{ ng/ml}$ ,  $1.56 \pm 0.23 \text{ ng/ml}$ ,  $1.02 \pm 0.16 \text{ ng/}$

ml で LC 群は C 群より有意に高値を示し ( $p < 0.05$ ) LC における内因性インスリン分泌亢進をうかがわせる結果であった。クランプ中の CPR の抑制率を、前値に対する前値と270分値の差の割合で表すと、LC 群  $12.0 \pm 14.5\%$ , DM  $25.1 \pm 8.8\%$ , C 群  $27.8 \pm 12.7\%$  で三群間に有意差を認めなかった。

2) GH: 前値は LC 群, DM 群, C 群それぞれ  $4.05 \pm 0.83 \text{ ng/ml}$ ,  $2.45 \pm 0.60 \text{ ng/ml}$ ,  $2.91 \pm 0.75 \text{ ng/ml}$  で三群間に有意差は認められなかった。クランプ開始90分後に LC 群では  $9.34 \pm 1.33 \text{ ng/ml}$  と前値に比し有意に ( $p < 0.001$ ), 又 DM 群 ( $p < 0.001$ ), C 群 ( $p < 0.001$ ) の90分値よりも有意に上昇を示した。DM 群, C 群はクランプ中有意の変動を示さなかった。

3) Cort: 前値は LC 群, DM 群, C 群それぞれ  $13.0 \pm 1.0 \mu\text{g}/100\text{ml}$ ,  $16.8 \pm 1.5 \mu\text{g}/100\text{ml}$ ,  $18.3 \pm 1.7 \mu\text{g}/100\text{ml}$  で, LC 群は DM 群 ( $p < 0.05$ ), C 群 ( $p < 0.001$ ) より有意に低値を示した。クランプ開始90分後と180分後には、三群間に有意差は認めなかったが270分後には再び LC 群は DM 群 ( $p < 0.05$ ), C 群 ( $p < 0.001$ ) より有意に低値を示した。

4) IRG: 前値は LC 群, DM 群, C 群それぞれ  $135.4 \pm 20.2 \text{ pg/ml}$ ,  $64.0 \pm 8.8 \text{ pg/ml}$ ,  $78.4 \pm 19.8 \text{ pg/ml}$  で, LC 群は DM 群より有意に高値を示した ( $p < 0.01$ )。クランプ開始後 LC 群, C 群では前値に比し低

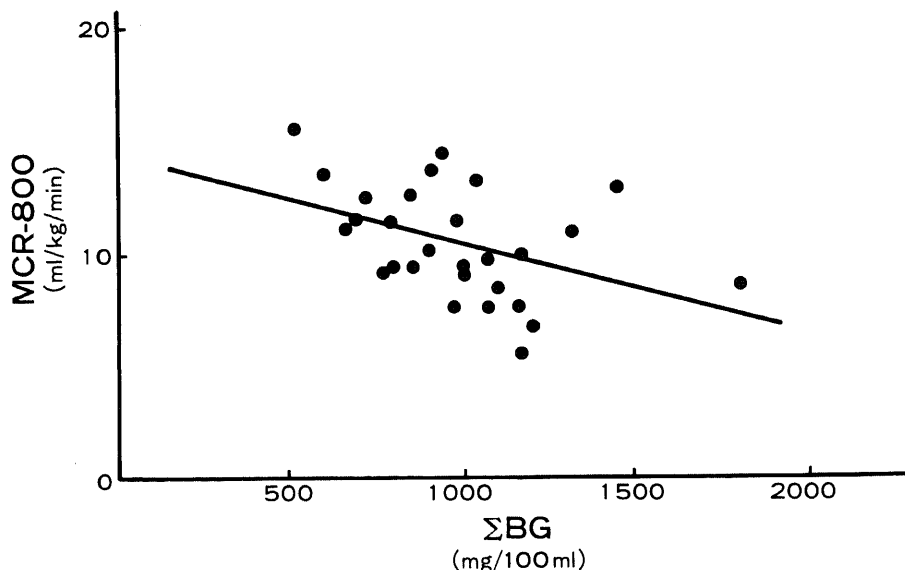


Fig. 6. Correlations between MCR-800 and  $\Sigma$  BG in patients with cirrhosis. Correlation coefficient ( $r$ ) is  $-0.43$  ( $n=28$ ,  $p < 0.05$ ). The line of best fit ( $Y = -4.0 \times 10^{-3} X + 14.4$ ) is shown. MCR, metabolic clearance rate; BG, blood glucose.



下をみたが DM 群では有意な変動は示さなかった。

5) FFA: 前値は LC 群, DM 群, C群それぞれ  $1.45 \pm 0.11 \text{ mEq/l}$ ,  $1.76 \pm 0.22 \text{ mEq/l}$ ,  $2.01 \pm 0.22 \text{ mEq/l}$  で, LC 群は C群より有意に低値を示した ( $p <$

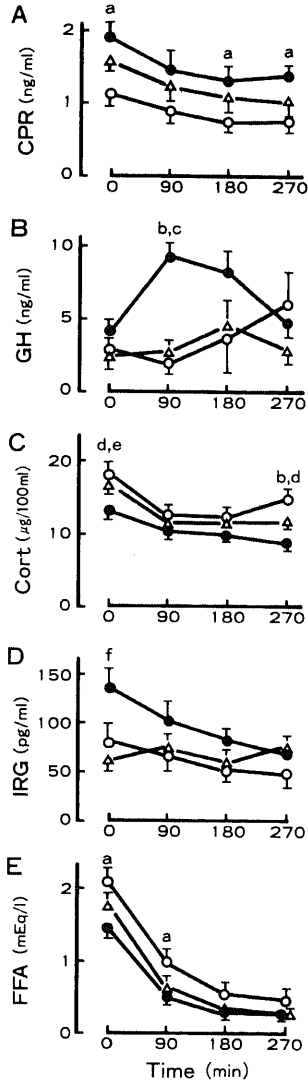


Fig. 7. Time course of changes in CPR (A), GH (B), Cort (C), IRG (D) and FFA (E) during the euglycemic clamp. ●—●, liver cirrhosis (LC) (n=28); △—△, diabetes mellitus (DM) (n=22); ○—○, control (C) (n=13). a, LC  $\nu$  C ( $p < 0.05$ ); b, LC  $\nu$  C ( $p < 0.001$ ); c, LC  $\nu$  DM ( $p < 0.001$ ); d, LC  $\nu$  DM ( $p < 0.05$ ); e, LC  $\nu$  C ( $p < 0.01$ ); f, LC  $\nu$  DM ( $p < 0.01$ ). Values are mean  $\pm$  SEM. CPR, C-peptide immunoreactivity; GH, growth hormone; Cort, cortisol; IRG, immunoreactive glucagon; FFA, free fatty acid.

0.05). クランプ開始後, 全ての群において前値に比し有意な低下を認めた。

7. MCR とクランプ前 GH, Cort, IRG, FFA の関係

LC 群, DM 群, C群全ての群について, クランプ前 GH, Cort, IRG, FFA と MCR との関係を検討したところ, DM 群においては, GH と MCR-800 ( $r = -0.48$ ,  $p < 0.05$ ) との間に負の相関関係を認めた (図 8). LC 群及び C群においては, GH と MCR の間に, 相関関係は認められなかった. Cort, IRG, FFA と MCR の間には, 全ての群において相関関係は, 認められなかった。

8. インスリンクリアランス

Elahi らの式<sup>10</sup>を用いて算出したインスリン注入速度  $0.5 \text{ mU/kg/min}$  におけるインスリンクリアランスは, LC 群  $25.0 \pm 2.4 \text{ ml/kg/min}$ , DM 群  $28.4 \pm 3.4 \text{ ml/kg/min}$ , C 群  $23.6 \pm 2.4 \text{ ml/kg/min}$  であり, 三群間に有意差を認めなかった。

III. 赤血球インスリン受容体

1. <sup>125</sup>I-インスリン特異的結合曲線 (図 9)

$0.1 \text{ ng/ml}$  の非標識インスリン存在下での赤血球インスリン特異結合率は, LC 群  $6.12 \pm 0.30\%$ , DM 群  $5.0 \pm 0.34\%$ , C群  $7.96 \pm 0.61\%$  であり, LC 群は C群より有意に低下していた ( $p < 0.01$ ). DM 群も C群より有意に低下していた ( $p < 0.001$ ) が, LC 群は DM 群より有意に高値を示した ( $p < 0.01$ ). なお, 各群とも赤血球インスリン特異結合率と空腹時血中インスリン

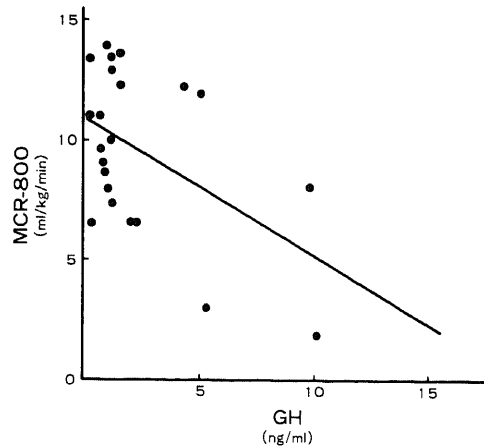


Fig. 8. Correlations between MCR-800 and fasting GH in patients with diabetes. Correlation coefficient ( $r$ ) is  $-0.48$  ( $n=22$ ,  $p < 0.05$ ). The line of best fit ( $Y = 11.0 - 0.58X$ ) is shown. MCR, metabolic clearance rate; GH, growth hormone.

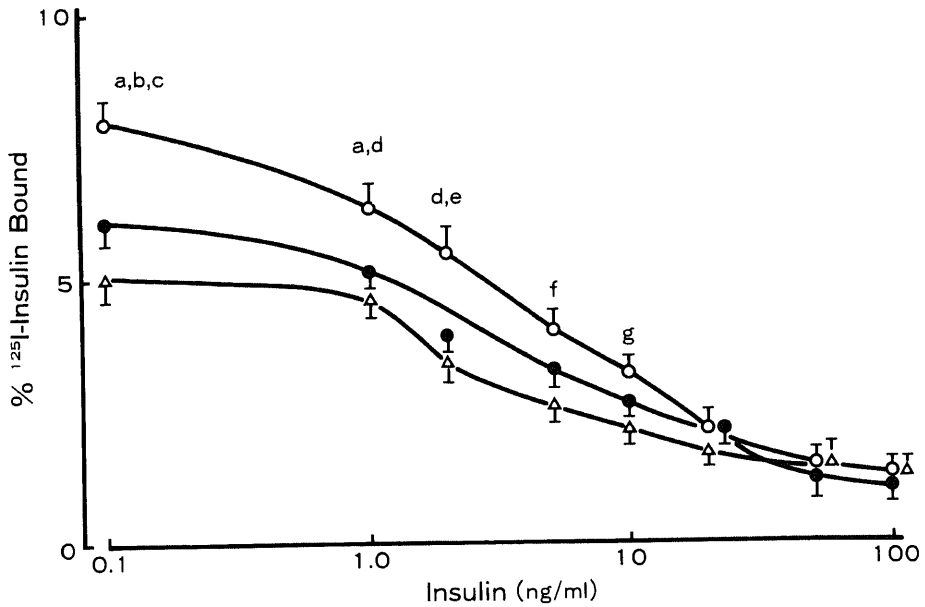


Fig. 9. Bindings of <sup>125</sup>I-Insulin to erythrocytes. ●-●, liver cirrhosis (LC) (n=16); △-△, diabetes mellitus (DM) (n=7); ○-○, control (C) (n=9). a, LC ∨ C (p<0.01); b, LC ∨ DM (p<0.01); c, DM ∨ C (p<0.001); d, DM ∨ C (p<0.01); e, LC ∨ C (p<0.02); f, DM ∨ C (p<0.05); g, DM ∨ C (p<0.02). Values are mean ± SEM.

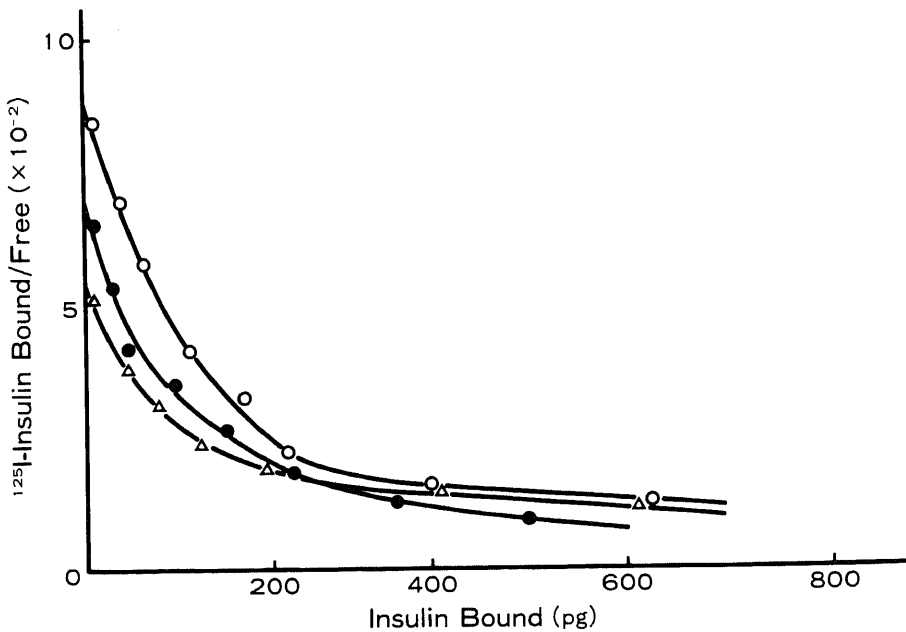


Fig. 10. Scatchard plots of the insulin binding data shown in figure 9. ●-●, liver cirrhosis (n=16); △-△, diabetes mellitus (n=7); ○-○, control (n=9).

濃度あるいは、75g-OGTT 時の  $\Sigma$  IRI との間には、一定の関係は得られなかった。また、赤血球インスリン特異結合率とグルコースクランプ法で得られた MCR との間にも、一定の関係は認められなかった。

## 2. Scatchard 解析 (図10)

$^{125}$ I-インスリン特異的結合曲線を Scatchard 解析すると、受容体数は LC 群  $59.2 \pm 8.5$  個/cell, DM 群  $82.3 \pm 13.0$  個/cell, C 群  $93.6 \pm 12.4$  個/cell であり、LC 群は C 群より有意に低値であった ( $p < 0.05$ )。

LC 群と DM 群の間及び DM 群と C 群の間には、有意差は認められなかった。受容体未結合時 (empty sites) の結合親和性 ( $\overline{K_e}$ ) は LC 群  $3.52 \times 10^8 \pm 0.71 \times 10^8 M^{-1}$ , DM 群  $1.49 \times 10^8 \pm 0.19 \times 10^8 M^{-1}$ , C 群  $2.15 \times 10^8 \pm 0.21 \times 10^8 M^{-1}$  であり、DM 群は LC 群 ( $p < 0.02$ ), C 群 ( $p < 0.05$ ) よりも有意に低値を示した。LC 群と C 群の間には、有意差は認められなかった。受容体結合飽和時 (filled sites) の結合親和性 ( $\overline{K_f}$ ) は LC 群  $1.08 \times 10^8 \pm 0.31 \times 10^8 M^{-1}$ , DM 群  $0.55 \times 10^8 \pm 0.11 \times 10^8 M^{-1}$ , C 群  $0.45 \times 10^8 \pm 0.06 \times 10^8 M^{-1}$  であり、三群間に有意差は認められなかった。

## 考 察

肝硬変に高率に耐糖能異常を伴うことは古くからよく知られ<sup>2</sup>, その成因として、高成長ホルモン血症<sup>19,20</sup>, 高グルカゴン血症<sup>21,22</sup>, 肝内外シャント<sup>23,24</sup>, 解糖系酵素活性の低下<sup>25</sup>などが推定されてきたが、未だ一定した見解は得られていない。しかし、糖負荷時の血中インスリン分泌が、しばしば過剰分泌を示すことから、インスリン抵抗性の存在が推測され、耐糖能異常の発現と密接な関連を持つと考えられてきた。

今回の成績でも 75g-OGTT 時の  $\Sigma$  BG,  $\Sigma$  IRI とともに、LC 群で C 群より有意に高値であり、高インスリン血症にもかかわらず、血糖値の低下を示さないことからインスリン抵抗性の存在が示唆された。そこで、生理的血中インスリン濃度から薬理的濃度に至るまで三段階のインスリン注入速度によるグルコースクランプ法を用いて、末梢組織のインスリン感受性や反応性を検討したところ、LC 群では MCR のインスリン用量反応曲線は、C 群に比較して右下方へ有意に偏移していることが明らかとなり、インスリンに対する反応性、感受性両者の低下が認められた。このことは受容体及び受容体以後でのインスリン作用の障害が存在することを示しており、まずインスリン作用の第一段階である受容体との結合を調べるため、試験管内で赤血球インスリン受容体結合率の測定を行った。赤血球の  $^{125}$ I-インスリン特異結合率は LC 群で C 群に比較し

て有意の低下を示し、Scatchard 解析において受容体数の低下を認めたことより、LC 群で用量反応曲線が右方移動している機序として、受容体数の低下によるインスリンと受容体の結合障害 (binding defect) が一部関与している可能性が示唆された。しかし、LC 群で用量反応曲線が下方にも偏移している機序は、今回みられた程度の受容体数低下のみでは説明できず、インスリンと受容体との結合後の過程の障害 (post binding defect) も合併しているものと考えられた。

肝硬変におけるインスリン抵抗性の存在については、Iversen<sup>26</sup>, Taylor<sup>27</sup> や Cavallo-Perin ら<sup>28</sup> がグルコースクランプ法を用いて検討した結果、肝硬変においては受容体結合障害と受容体結合後障害の合併が推測されると報告しており、今回の成績と一致するものであった。受容体結合障害に関しては、単球、赤血球、脂肪細胞を用いた検討により、肝硬変におけるインスリン受容体数の減少は、すでに幾つか報告されているが、大部分は肝硬変でみられる高インスリン血症に基づく受容体の下降調節 (down-regulation) による可能性を示している<sup>27,29-32</sup>。しかし今回の成績では受容体数の減少と空腹時 IRI 値や OGTT 時の  $\Sigma$  IRI 値との間に有意な相関関係はみられず、又 Blei ら<sup>31</sup> も下降調節以外の機序による受容体調節の可能性を示唆していることから、肝硬変では膜構成成分の変化や膜脆弱性の増強など高インスリン血症以外の因子も受容体数の低下に関与している可能性も考えられよう<sup>23,33</sup>。受容体結合後障害に関して、試験管内では Cavallo-Perin ら<sup>28</sup> が肝硬変患者の遊離脂肪細胞における最大糖輸送能の低下を報告しているが、生体内では Petrides ら<sup>30</sup> がグルコースクランプ法と間接カロリメトリーを用い、肝硬変患者では末梢組織、主として筋肉におけるブドウ糖酸化は正常であるが非酸化的糖利用は減少していると報告している。実際インスリンが受容体に結合した後、どのレベルでインスリン作用が障害されているのか細胞レベルで詳細に検討した報告は少なく、今後の検討が必要であろう。

次に、肝硬変においてインスリン抵抗性が起きる機序として、肝硬変では血中成長ホルモン<sup>19,20</sup>, グルカゴン<sup>21,22</sup>, 遊離脂肪酸<sup>34</sup>の上昇を認め、これらの血中インスリン拮抗物質がインスリン抵抗性の原因となっているという報告が以前から認められる。しかし、今回の成績では、クランプ前値において、GH, IRG は正常群と有意差を認めず、FFA はむしろ正常群より有意に低値を示したことから、さらにこれらインスリン拮抗ホルモンや FFA と MCR-800 との間に有意な相関関係が認められなかったことより、これらインスリン拮抗物

質が、インスリン抵抗性の主因になっている可能性は、少ないと思われた。一方、グルコースクランプ中に LC 群では、GH の有意の上昇を認めたが、これは Shankar らの報告<sup>37)</sup>と一致し、Shankar らはこの GH の上昇が肝硬変のインスリン抵抗性の一因であると述べている。GH 上昇の機序に関しては、インスリン刺激に対するソマトスタチン分泌障害あるいは肝臓におけるソマトメジン C 生成障害に基づく成長ホルモン分泌の負のフィードバック機構等が考えられるとしている。しかし、今回の成績では上昇した GH とグルコースクランプにおける MCR の間に、一定の関係は認められず、GH がインスリン抵抗性の一因とは考え難かった。

さて、今回の成績ではインスリン最大効果の指標である MCR-800 と空腹時血中インスリン濃度との間に有意な負の相関関係を認めたことより、高インスリン血症が受容体結合後のレベルにおけるインスリン抵抗性の成因に深く関わっている可能性が考えられた。さらに、MCR-800 と 75g-OGTT 時の  $\Sigma$  BG との間にそれぞれ負の相関関係を認めたことより、肝硬変においては、インスリン抵抗性が耐糖能異常の直接の原因となっている可能性も考えられた。以上の成績はこれまでの報告のように単に肝硬変におけるインスリン抵抗性の存在を述べるにとどまらず、肝硬変の高インスリン血症とインスリン抵抗性の関係およびインスリン抵抗性と耐糖能異常の関係を明らかにした点で極めて興味深い。なお、高インスリン血症状態でインスリン抵抗性がみられることに関しては、生体内において Rizza ら<sup>38)</sup>が健常者を対象に 40 時間の高インスリン血症状態を作成後、グルコースクランプ法と単球及び脂肪細胞のインスリン受容体結合率の測定を行い、高インスリン血症は受容体結合後のレベルにおけるインスリン抵抗性を惹起せしめると報告している。試験管内においても Stevens ら<sup>39)</sup>が肥満患者の腹壁脂肪細胞を高濃度インスリン下で培養すると、抗脂肪分解作用が低下したことを報告しており、今回の結果と矛盾するものではない。

本論文のもう一つ大きな特徴は、LC におけるグルコースクランプの成績をインスリン抵抗性をきたす代表的疾患として知られる NIDDM<sup>®</sup>のそれと比較し、両者のインスリン抵抗性の成因の違いを検討したことにある。今回の成績では、DM 群においても LC 群と同様、MCR-800 のインスリン用量反応曲線が右下方へ偏移していたことより、インスリンに対する反応性、感受性両者の低下が示唆された。しかし、DM 群では LC 群とは異なり、MCR-800 と空腹時血中インスリ

ン濃度、あるいは 75g-OGTT 時の  $\Sigma$  BG との間には相関関係は認められず、むしろクランプ前血中成長ホルモンとの間に有意な負の相関関係を認めた。さらに、赤血球インスリン特異結合率は LC 群と同様 DM 群でも有意に低下していたが、LC 群と異なり DM 群ではインスリン受容体数には低下を認めず、結合率の低下は親和性 ( $\overline{Ke}$ ) の低下によるものと推測された。この点に関し、Bratusch-Marrain ら<sup>40)</sup>は成長ホルモンがインスリン抵抗性に及ぼす影響につき検討し、成長ホルモンはインスリン受容体への結合親和性を低下させることによって受容体結合率を低下させ、かつ受容体結合後障害を引き起こすと報告している。以上より、少なくとも今回対象とした DM 群においては、血中成長ホルモンがインスリン抵抗性の原因の一つになっている可能性は示唆されたが、LC 群のように高インスリン血症がインスリン抵抗性の原因になっているとは考えにくいと思われた。ただ従来から、NIDDM のインスリン抵抗性の原因としては、受容体結合障害及び/あるいは受容体結合後障害が想定されている<sup>41)~43)</sup>がその機序は必ずしも明らかではない。Kolterman ら<sup>44)</sup>は NIDDM において、耐糖能異常が軽度の場合には、受容体結合障害のみであるが、血糖が上昇するにつれて受容体結合後障害も出現するようになり、さらに血糖が上昇すると受容体結合後障害が優勢に認められるようになることから、高血糖そのものが細胞内異常を引き起こしインスリン抵抗性をきたすと述べているが、Tan ら<sup>45)</sup>は低インスリン血症がインスリン抵抗性の原因となっている可能性があるとして述べている。今回の成績では、空腹時 GH と MCR-800 との間に負の相関関係を認めたことから、DM 群においては、GH が受容体結合後のレベルにおけるインスリン抵抗性の原因の一つになっている可能性が考えられたが、この点に関しては更に症例を重ねて検討する必要がある。

グルコースクランプ法によりインスリン感受性を検索する場合、前提条件として外因性インスリンにより肝からの糖放出が抑制されていることが必要である<sup>46)</sup>が、Proietto ら<sup>47)</sup>は、LC 患者に外因性インスリンを注入し、IRI<sub>s-s</sub>を 50  $\mu$  U/ml 程度に維持した状態では、肝からの糖放出は正常者と同様に抑制されたと報告している (60  $\mu$  U/ml で基礎値の 87% の抑制)。今回用いたインスリン注入速度では、3.0 mU/kg/min と 10.0 mU/kg/min の時には、IRI<sub>s-s</sub>は 50  $\mu$  U/ml をはるかに越えており、肝からの糖放出は充分抑制されていると考えられた。しかし、インスリン注入速度が 0.5 mU/kg/min の時には、肝糖放出は充分抑制されていない

可能性が考えられ、MCR-50 は過小評価されている可能性があると思われた。また、Kolterman ら<sup>41)</sup> は NIDDM 患者に外因性インスリンを注入したところ、IRI<sub>s</sub> が 400  $\mu$  U/ml では肝糖放出は基礎値の 75%、1000  $\mu$  U/ml 付近では正常者と同様ほぼ 100% の抑制を認めたと報告している。従って DM 群においても、MCR-50 に関しては多少、過小評価している可能性があると思われた。

## 結 論

肝硬変におけるインスリン抵抗性の成因を検索するため、グルコースクランプ法と赤血球インスリン受容体結合率の測定を行い、各種ホルモン値や耐糖能の指標との関連を検討した。さらに、インスリン非依存型糖尿病においても同様の検討を行い、肝硬変とインスリン非依存型糖尿病のインスリン抵抗性の成因の違いにつき比較検討し、以下の結論を得た。

1. LC 群において MCR のインスリン用量反応曲線は正常群に比較して、右下方へ有意に偏移していた。

2. LC 群では、MCR-800 と空腹時血中インスリン濃度の間に負の相関関係を認めた。

3. LC 群では、MCR-800 と 75g-OGTT 時の  $\Sigma$  BG の間にも負の相関関係を認めた。

4. LC 群では、赤血球のインスリン特異結合率は有意の低下を示し、Scatchard 解析において受容体数の低下を認めた。

5. DM 群においても LC 群と同様、インスリン用量反応曲線は右下方へ偏移していた。

6. DM 群では、MCR-800 と空腹時血中インスリン濃度の間に相関関係は認められず、75g-OGTT 時の  $\Sigma$  BG の間にも相関関係は認められなかった。

7. DM 群では、クランプ前 GH と MCR-800 との間に負の相関関係を認めた。

8. DM 群では、赤血球インスリン特異結合率は有意に低下していたが、インスリン受容体数には低下を認めず、親和性 ( $\overline{K_e}$ ) の低下を認めた。

9. 以上より、肝硬変におけるインスリン抵抗性は受容体結合障害と受容体結合後障害より成るが、特に受容体結合後のレベルにおけるインスリン抵抗性は高インスリン血症に基づき、それが耐糖能異常の主因となっている可能性が考えられた。一方、糖尿病においても受容体結合障害と受容体結合後障害の両方から成るインスリン抵抗性を認めたが、受容体結合後のレベルにおけるインスリン抵抗性は基礎値のインスリンレベルと関係がみられず、むしろ GH との関係が示唆さ

れた。また、受容体結合障害に関しても肝硬変ではインスリン受容体数の低下が認められたが、糖尿病では親和性 ( $\overline{K_e}$ ) の低下によるものと思われた。従って、肝硬変と糖尿病ではインスリン抵抗性の存在は同様に認められるが、抵抗性の発現機序は両者の間で異なっているものと考えられる。

## 謝 辞

稿を終るにあたり、終始、御指導と御校閲を賜りました恩師小林健一教授に、深く感謝致します。また、直接の御助言と多大なる御指導をいただきました宮腰久嗣講師並びに能登 裕元講師 (現、国立金沢病院) に対し厚く御礼申し上げます。最後に金沢大学第一内科教室員各位に重ねて御礼申し上げます。

なお、本論文の要旨は第28回、第29回、第30回日本糖尿病学会総会、第25回日本肝臓病学会総会において発表した。

## 文 献

- 1) Naunyn, B.: Glykosurie und Diabetes durch experimentelle Insulte und Krankheiten der Leber. Der Diabetes Mellitus. In H. Nothnagel (ed.), *Spezielle Pathologie und Therapie*, Band VII, 1st ed., p56-66, Alfred Holder, Wien, 1906.
- 2) Megyesi, C., Samols, E. & Marks, V.: Glucose tolerance and diabetes in chronic liver disease. *Lancet*, II, 1051-1055 (1967).
- 3) Shen, S. W., Reaven, G. M. & Farquhar, J. W.: Comparison of impedance to insulin-mediated glucose uptake in normal subjects and in subjects with latent diabetes. *J. Clin. Invest.*, 49, 2151-2160 (1970).
- 4) Harano, Y., Ohgaku, S., Hidaka, H., Haneda, K., Kikkawa, R., Shigeta, Y. & Abe, H.: Glucose, insulin and somatostatin infusion for the determination of insulin sensitivity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 45, 1124-1127 (1977).
- 5) DeFronzo, R. A., Tobin, J. D. & Andres, R.: Glucose clamp technique; a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol.*, 237, 214-223 (1979).
- 6) Olefsky, J. M., Ciaraldi, T. P. & Kolterman, O. G.: Mechanism of insulin resistance in non-insulin-dependent (type II) diabetes. *Am. J. Med.*, 79 (suppl 3B), 12-22 (1985).
- 7) 小坂樹徳, 赤沼安夫, 後藤由夫, 羽倉稜子, 平田幸正, 川手亮三, 葛谷 健, 三村悟郎, 中山秀雄, 坂本信夫, 繁田幸男: 糖尿病の診断に関する委員会報

- 告. 糖尿病, 25, 859-866 (1982).
- 8) **Rizza, R. A., Lawrence, J. M. & John, E. G.**: Dose-response characteristics for effects of insulin on production and utilization of glucose in man. *Am. J. Physiol.*, **240**, 630-639 (1981).
- 9) **Rizza, R. A., Mandarino, L. J. & Gerich, J. E.**: Mechanisms of insulin resistance in man. Assessment using the insulin dose-response curve in conjunction with insulin receptor binding. *Am. J. Med.*, **70**, 169-176 (1981).
- 10) **Clemens, A. H., Hough, D. L. & D'Orazio, P. A.**: Development of the Biostat<sup>®</sup> glucose clamping algorithm. *Clin. Chem.*, **28**, 1899-1904 (1982).
- 11) 中川昌一, 中山秀隆, 佐々木嵩, 芳野宏一, 千君英, 篠崎堅次郎, 青木 伸, 真下啓明: インスリン治療患者の血中遊離インスリン定量法 PEG 抽出法. 糖尿病, 15, 403-408 (1972).
- 12) **Doberne, L., Greenfield, M. S., Rosenthal, M., Widstrom, A. & Reaven, G.**: Effect of variations in basal plasma glucose concentration on glucose utilization (M) and metabolic clearance rates (MCR) during insulin clamp studies in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes*, **31**, 396-400 (1982).
- 13) **Kolterman, O. G., Insel, J., Saekow, M. & Olefsky, J. M.**: Mechanisms of insulin resistance in human obesity. Evidence for receptor and postreceptor defects. *J. Clin. Invest.*, **65**, 1272-1284 (1980).
- 14) **Elahi, D., Nagulesparan, M., Hershcopf, R. J., Muller, D. C., Tobin, J. D., Blix, P. M., Rubenstein, A. H., Unger, R. H. & Andres, R.**: Feedback inhibition of insulin secretion by insulin: relation to the hyperinsulinemia of obesity. *N. Engl. J. Med.*, **306**, 1196-1202 (1982).
- 15) **Gambhir, K. K., Archer, J. A. & Bradley, C. J.**: Characteristics of human erythrocyte insulin receptors. *Diabetes*, **27**, 701-708 (1978).
- 16) **Scatchard, G.**: The attractions of proteins for small molecules and ions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **51**, 660-672 (1949).
- 17) **DeMeyts, P. & Roth, J.**: Cooperativity in ligand binding: A new graphic analysis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **66**, 1118-1126 (1975).
- 18) 小坂淳夫, 山吹隆寛: 肝疾患時にみられる糖代謝異常. 糖尿病, 11, 275-282 (1968).
- 19) **Samaan, N. A., Stone, D. B. & Eckhardt, R. D.**: Serum glucose, insulin and growth hormone in chronic hepatic cirrhosis. *Arch. Intern. Med.*, **124**, 149-152 (1969).
- 20) **Riley, W. J. & McCann, V. J.**: Impaired glucose tolerance and growth hormone in chronic liver disease. *Gut*, **22**, 301-305 (1981).
- 21) **Marco, J., Diego, J., Villanueva, M. L., Díaz-Fierros, M., Valverde, I. & Segovia, J. M.**: Elevated plasma glucagon levels in cirrhosis of the liver. *N. Engl. J. Med.*, **289**, 1107-1111 (1973).
- 22) **Sherwin, R. S., Joshi, P., Hendler, R., Felig, P. & Conn, H. O.**: Hyperglucagonemia in Laennec's cirrhosis. *N. Engl. J. Med.*, **290**, 239-242 (1974).
- 23) **Holdsworth, C. D., Nye, L. & King, E.**: The effect of portocaval anastomosis on oral carbohydrate tolerance and on plasma insulin levels. *Gut*, **13**, 58-63 (1972).
- 24) **Lickley, H. L. A., Chisholm, D. J., Rabinovitch, A., Wexler, M. & Dutre, J.**: Effects of portocaval anastomosis on glucose tolerance in the dog: evidence of an interaction between the gut and the liver in oral glucose disposal. *Metabolism*, **24**, 1157-1168 (1975).
- 25) 武田和久, 田中 昭: 肝疾患の耐糖能と肝 glucokinase および hexokinase 活性の関連性について. 肝臓, 15, 115-117 (1974).
- 26) **Iversen, J., Vilstrup, H. & Tygstrup, N.**: Kinetics of glucose metabolism in relation to insulin concentrations in patients with alcoholic cirrhosis and in healthy persons. *Gastroenterology*, **87**, 1138-1143 (1984).
- 27) **Taylor, R., Heine, R. J., Collins, J., James, O. F. W. & Alberti, K. G. M. M.**: Insulin action in cirrhosis. *Hepatology*, **5**, 64-71 (1985).
- 28) **Cavallo-Perin, P., Cassader, M., Bozzo, C., Bruno, A., Nuccio, P., Dall'Omo, A. M., Marucci, M., & Pagano, G.**: Mechanism of insulin resistance in human liver cirrhosis. Evidence of a combined receptor and postreceptor defect. *J. Clin. Invest.*, **75**, 1659-1665 (1985).
- 29) **Greco, A. V., Bertoli, A., Ghirlanda, G., Manna, R., Altomonte, L. & Rebutzi, A. G.**: Insulin resistance in liver cirrhosis: Decreased insulin binding to circulating monocytes. *Horm. Metab.*

- Res., 12, 577-581 (1980).
- 30) Greco, A. V., Bertoli, A., Caputo, S., Altomonte, L., Manna, R. & Ghirlanda, G.: Decreased insulin binding to red blood cells in liver cirrhosis. *Acta Diabetol. Lat.*, 20, 251-256 (1983).
- 31) Blei, A. T., Robbins, D. C., Drobný, E., Baumann, G. & Rubenstein, A. H.: Insulin resistance and insulin receptors in hepatic cirrhosis. *Gastroenterology*, 83, 1191-1199 (1982).
- 32) Teng, C. S., Ho, P. W. M. & Yeung, R. T. T.: Downregulation of insulin receptors in postnecrotic cirrhosis of liver. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 55, 524-530 (1982).
- 33) Ginsberg, B. H., Brown, T. J., Simon, I. & Spector, A. A.: Effect of the membrane lipid environment on the properties of insulin receptors. *Diabetes*, 30, 773-780 (1981).
- 34) Cooper, R. A.: Anemia with spur cells: a red cell defect acquired in serum and modified in the circulation. *J. Clin. Invest.*, 48, 1820-1831 (1969).
- 35) Petrides, A. S., Riely, C. A., Groop, L. C. & DeFronzo, R. A.: The glucose-fatty acid cycle does not explain the insulin resistance of cirrhosis. *Gastroenterology*, 92, 1763 (1987).
- 36) Riggio, O., Merli, M., Cantafora, A., Di Biase, A., Lalloni, L., Leonetti, F., Miazzo, P., Rinaldi, V., RossiFanelli, F., Tamburrano, G. & Capocaccia, L.: Total and individual free fatty acid concentrations in liver cirrhosis. *Metabolism*, 33, 646-651 (1984).
- 37) Shankar, T. P., Fredi, J. L., Himmelstein, S., Solomon, S. S. & Duckworth, W. C.: Elevated growth hormone levels and insulin resistance in patients with cirrhosis of the liver. *Am. J. Med. Sci.*, 291, 248-254 (1986).
- 38) Rizza, R. A., Mandarino, L. J., Genest, J., Baker, B. A. & Gerich, J. E.: Production of insulin resistance by hyperinsulinaemia in man. *Diabetologia*, 28, 70-75 (1985).
- 39) Stevens, J., Atkinson, R. & Pohl, S.: Insulin-induced insulin resistance of lipolysis in human adipocytes in organ culture. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51, 921-924 (1980).
- 40) Bratusch-Marrain, P. R., Smith, D. & DeFronzo, R. A.: The effect of growth hormone on glucose metabolism and insulin secretion in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 55, 973-982 (1982).
- 41) Kolterman, O. G., Gray, R. S., Griffin, J., Burstein, P., Insel, J., Scarlett, J. A. & Olefsky, J. M.: Receptor and postreceptor defects contribute to the insulin resistance in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.*, 68, 957-969 (1981).
- 42) Olefsky, J. M. & Kolterman, O. G.: Mechanisms of insulin resistance in obesity and noninsulin-dependent (type II) diabetes. *Am. J. Med.*, 70, 151-167 (1981).
- 43) Rizza, R. A., Mandarino, L. J. & Gerich, J. E.: Mechanism and significance of insulin resistance in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes*, 30, 990-995 (1981).
- 44) Olefsky, J. M. & Reaven, G. M.: Insulin binding in diabetes. Relationships with plasma insulin levels and insulin sensitivity. *Diabetes*, 26, 680-688 (1977).
- 45) Truglia, J. A., Livingston, J. N. & Lockwood, D. H.: Insulin resistance: Receptor and post-binding defects in human obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am. J. Med.*, 979 (suppl 2B), 13-22 (1985).
- 46) Tan, M. H. & Bonen, A.: Insulin receptors: Their roles in the pathogenesis and management of type II diabetes mellitus. *Ann. Acad. Med. Singapore*, 14, 360-363 (1985).
- 47) Proietto, J., Alford, F. P. & Dudley, F. J.: The mechanism of the carbohydrate intolerance of cirrhosis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51, 1030-1036 (1980).

**Glucose Intolerance in Liver Cirrhosis—A Comparison with Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus—** Ichirou Miyamoto, Department of Internal Medicine (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. J. J. Med Soc., **100**, 544—558 (1991)

**Key words** insulin resistance, liver cirrhosis, euglycemic clamp, insulin receptor, non-insulin dependent diabetes mellitus

#### Abstract

To elucidate the pathogenesis of insulin resistance in liver cirrhosis (LC), both peripheral tissue sensitivity and responsiveness to insulin by means of the euglycemic clamp technique and erythrocyte insulin receptor binding, were estimated in patients with compensated LC. The same investigations were performed in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM), in which insulin resistance is a prominent feature, to test whether the differences in the mechanisms of insulin resistance between LC and NIDDM may be present. The insulin dose-response curves of the glucose metabolic clearance rate (MCR) in the euglycemic clamp study were shifted to the right and downward both in patients with LC and NIDDM, indicating a decreased sensitivity and responsiveness to insulin in both diseases. In the LC group, MCR at the maximally effective insulin level (MCR-800), an index of insulin responsiveness, was correlated with their fasting insulin level ( $r = -0.57$ ,  $p < 0.01$ ) and  $\Sigma$  BG, i. e., the sum of blood glucose values in 75 g-oral glucose tolerance test ( $r = -0.43$ ,  $p < 0.05$ ), but no correlations were found between them in the DM group. Although specific  $^{125}\text{I}$ -insulin binding rates to erythrocytes were significantly lower in patients with LC and NIDDM, Scatchard analysis revealed a significant decrease in the number of insulin receptors in the LC group, but empty-site affinity in the NIDDM group. These findings suggest that insulin resistance in LC consists of a combination of binding and postbinding defects. The latter defect may be caused by basal hyperinsulinemia and contribute to the development of glucose intolerance. Although binding and postbinding abnormalities are also found in NIDDM, the mechanisms of insulin resistance may be different between LC and NIDDM.