Effect of β-Endorphin Administration on the Endocrine Pancreas

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	http://hdl.handle.net/2297/7715

β-エンドルフィンの膵内分泌刺激作用

金沢大学医学部内科学第二講座（指導：竹田亮祐教授）
平　岩　善　雄

(昭和59年2月2日受付)

ストレス時におけるエネルギー源動員機構及び糖尿病の増悪の機序ならびにその際の膵内分泌の果す役割に関しては，十分に解明されていない．オピオイドペプタイドの1つであるβ-エンドルフィン（β-E）は，副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）とともに血中に放出され，血中β-Eの殆んどは下垂体に由来する．β-Eが膵内分泌，血糖レベルにどのような影響を与えるかを明らかにするため，著者はβ-Eと，その関連ペプチドであるα-エンドルフィン（α-E）を麻酔犬に注入した場合の膵内分泌を中心に検討した．β-E（40 μg/10分）を膵動脈（PA）内に注入すると，膵静脈（PV）血インスリン（IRI），グルカゴン（IRG）濃度は夫々前値の3.2，3.1倍の頂値へと上昇し，大腿動脈（FA）血IRI, IRG濃度，血糖値も有意に上昇した．しかしPV, FA血ソマトスタチン（SLI）濃度は有意の変動を示さなかった（n＝5）．β-E（200 μg/10分）を大腿静脈（FV）内に注入すると，PV血IRI, IRG濃度は，夫々前値の1.9，1.8倍の頂値に達したが，SLI濃度は有意の変動を示さなかった．FA血IRI, IRG濃度，血糖値は有意に上昇したが，SLI濃度は有意の変動を示さなかった（n＝5）．ナロキソン（opiate antagonist）1.2 mgとβ-E（200 μg）をFV内に同時注入すると，前述のβ-E（200 μg/10分）単独投与時にみられたIRI, IRG増加反応はほぼ完全に消失したが，血糖上昇反応はそのままみとめられた（n＝5）．β-E（2 μg/10分）をPA内に注入すると，血糖値は有意に上昇したが，PV, FA血IRI, IRG濃度は有意の変動を示さなかった（n＝5）．しかしながら，血中β-Eの生理学的濃度をわずかに越えさせる量のβ-E（10 μg/10分）をFV内に注入するとβ-Eの膵到達量としては2 μg PA内投与に比し，明らかに少量であるにもかかわらずPV, FA血IRI, IRG濃度は有意に上昇した（n＝5）．対照の生食水をPAあるいはFV内に注入しても，PV, FA血IRI, IRG, SLI濃度及び血糖は，有意の変動を示さなかった．α-E 20 μg/10分（n＝5），100 μg/10分（n＝5）を夫々PA, FV内に注入すると，血糖値，IRI, IRG濃度は有意に上昇したが，SLI濃度は有意の変動を示さなかった．以上の成績は，循環ホルモンとしてのβ-Eが，なんらかの介在機構を介して膵内分泌刺激作用を発揮すること，さらにこの作用は，β-E（β-リポトロピン61－91）中にあるα-E（β-リポトロピン61－76）に相当する生物学的活性部位を少なくとも一部介して発現することを示す．このことは，β-Eはストレスに曝された生体がfuel動員を行う際に必要な機構を担っていることを示唆する．

Key words　β-Endorphin, Insulin, Glucagon, Somatostatin, Hyperglycemia

ストレス時における生体の血糖上昇などのエネルギー源動員機構や，糖尿病状態の増悪については古くから興味がもたれているが，その機序として副腎皮質刺激ホルモン（Adrenocorticotropic hormone以下ACTHと略）－コーチゾール系，交感神経－カテコールアミン系に加え，近年膵ホルモンである．immunoreactive glucagon（以下IRGと略）の関与が注目されている．

一方，著者の教室では従来から下垂体ホルモンと膵内分泌系の相互関係に興味をもち，Nakabayashiら[1]はイヌにおいて下垂体摘出が，副腎・甲状腺ホルモン補充に拘らず，immunoreactive insulin（以下IRIと略）及び膵・膵外IRG濃度の基礎値ならびにアルギニンに対する反応性の著しい低下を招来することを既に報告した．さらにこの現象には，成長ホルモン欠損が一部関与すること[2]や，さらに別の因子も関与するこ

Effect of β-Endorphin Administration on the Endocrine Pancreas. **Yoshio Hiraiwa,** Department of Internal Medicine (II) (Director: Professor R. Takeda), School of Medicine, Kanazawa University.

とが示されている[1]．

そこで，このような膵内分泌系に影響を与える下垂体因子の追求の一環として，著者はストレス時などにACTHと共にその共通前駆体（proopiomelanocortin）[3]より血中に放出され，且つその血中濃度の大部分を下垂体に由来するβ-エンドルフィン（β-endorphin以下β-Eと略）[4,5,6]に注目した．そして，β-Eが IRI, IRG, 膵 somatostatin-like immunoreactivity（以下SLIと略）分泌に与える影響について検討した．又，ヒトβ-リポトロピン(β-lipotropin)61－91に相当するβ-Eの生物学的活性部位について，その部分構造であるα-エンドルフィン[3]（α-endorphin 以下α-Eと略）（ヒトβ-リポトロピン61－76に相当）を用い同様の検討を行った．

対象及び方法

雑種成犬を使用し，1夜12～16時間絶食後，ペントバルビタール麻酔下に開腹し，Kanazawaらの方法[7]にもとづく既報の in situ 上膵十二指腸動静脈循環システムを作製した[8]．β-E（ペプチド研究所製，大阪）としてヒトβ-リポトロピン61－91を使用した．このβ-Eを生食水に溶解後，薬理学的投与量として40 μg/10 ml, 200 μg/10 ml溶液を夫々膵動脈，大腿静脈を介して infusion pump を用い10分間で注入した．さらに，より少量のβ-E 2 μg/10 mlと，血中β-Eの生理学

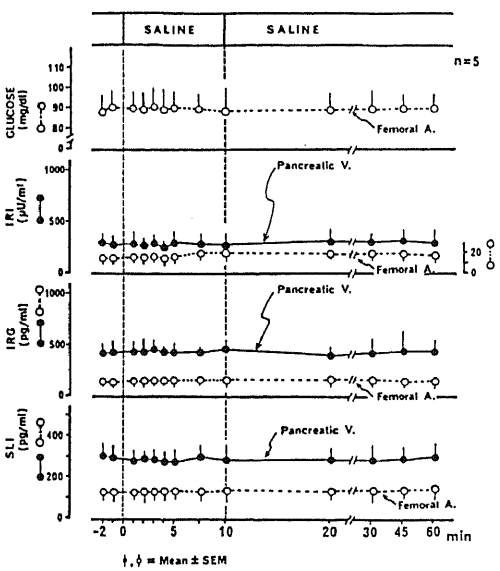


Fig. 1. Control experiment. Continuous saline infusion at a rate of 10 ml/10 min into the pancreatic artery maintained a constant level in the concentrations of glucose, immunoreactive insulin (IRI), immunoreactive glucagon (IRG), and somatostatin-like immunoreactivity (SLI) in dogs. The period of 0-10 min corresponds to the period of infusion in the following experiments of Fig. 1-7 and 9-10.

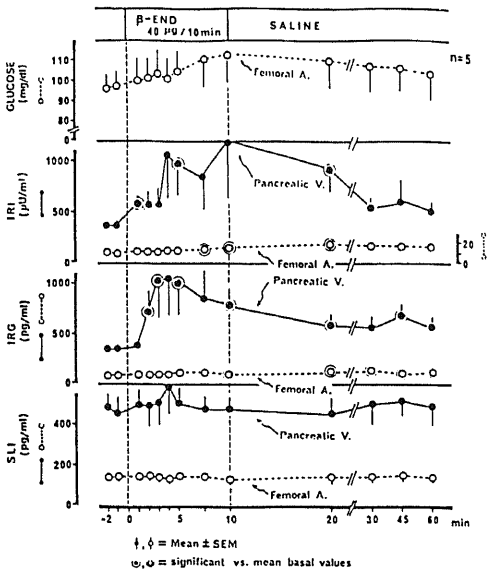


Fig. 2. Effect of β-endorphin infusion at a dose of 40 μg/10 min into the pancreatic artery on concentrations of glucose, IRI, IRG, and SLI in dogs.

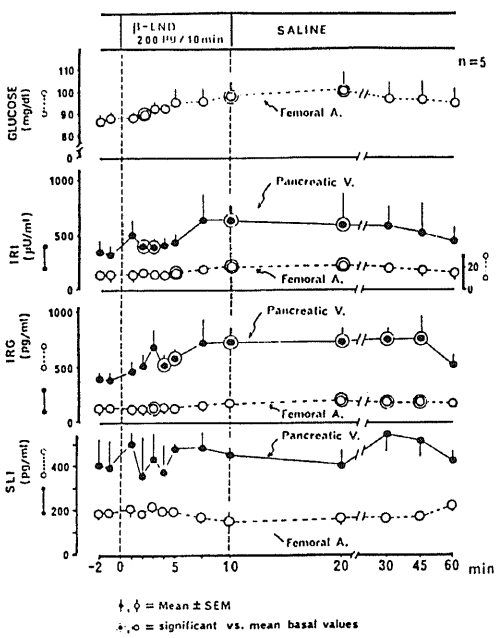


Fig. 3. Effect of β-endorphin infusion at a dose of 200 μg/10 min into the femoral vein on concentrations of glucose, IRI, IRG, and SLI in dogs.

的濃度をわずかに越えさせる量としての 10 μg/10 ml 溶液を夫々膵動脈，大腿静脈内へ注入した．

α-E（ペプチド研究所製，大阪）としてヒト β-リポトロピン 61−76 を使用した．この α-E を 20 μg/10 ml, 100 μg/10 ml 溶液として夫々膵動脈，大腿静脈を介して同様に注入した．

opiate receptor blocker であるナロキソン (naloxone, Endo Laboratories Inc.製，New York) は，生食水に溶解後，1.2 mg/15 ml 溶液とし β-E 投与前 5 分前より 15 分間にわたり大腿静脈を介し注入した．採血は上膵十二指腸静脈（Pancreatic vein 以下 PV と略）及び大腿動脈（Femoral artery 以下 FA と略）より実施した．上膵十二指腸静脈血流量の測定は，PV にての採血と同時に time-collection 法にて実施した．

血中ホルモン測定は，全て既報のラジオイムノアッセイによった．即ち，血中 IRI 測定はイヌ・インスリン標準品（Lot. No. H7574, Dr. L. Heding の好意による提供，Novo 社，Copenhagen）を用いた[9]Dextran-coated charcoal 法によった．IRG 測定には抗体 30 K (Dr. A. Arimura の好意による提供，Tulen 大学，U. S. A.) を使用した[1)10)]．SLI 測定には Harris 変法にもとづく抗体 R101 (Dr. R. H. Unger の好意による提供，Texas 大学，U. S. A.) を用いた[11)12)]．血漿グルコース測定は，グルコースオキシダーゼ法によった．

成績は，mean±SE で表わし，推計学処理は paired 及び unpaired Student' t test によった．

成　　績

Ⅰ．生食水（10 ml/10 分）注入時の血糖及び膵ホルモン分泌の変動

図 1 に示す如く，対照実験として生食水を膵動脈内に 1 ml/1 分の速度で 10 分間にわたり注入した．FA の血糖値は前値平均 89± 8 mg/dl より生食注入中及び注入後も有意の変動を示さなかった．PV, FA 血における IRI 濃度は夫々289±20，21±1.4 μU/ml であり，IRG 濃度は夫々428±11，132±26 pg/ml，SLI 濃度は夫々303±60，128±28 pg/ml であった．これらホルモンの PV と FA 血における濃度及び両者の間に存在する濃度較差は，生食水注入前，中，後のいずれの時点においても，有意の変動を示さなかった．なお膵血流量は生食水注入前，中，後において有意の変動を示さなかった．又，生食水を同様に大腿静脈内に注入した際も（n＝5），血糖値，これらホルモン濃度は有意の変動を示さなかった．

Ⅱ．β-エンドルフィン注入時の血糖及び膵ホルモン分泌の変動

(1) β-E 膵動脈内投与（40 μg/10 分）時の変動

図 2 に示す如く，β-E 40 μg を膵動脈を介し 10 分間にわたり膵局所に注入すると，FA 血糖値は前値平均 96± 7 mg/dl より β-E 投与開始後次第に上昇し，10 分には平均頂値 112±14 mg/dl へと有意に上昇し，β-E 注入中止後次第に減少したが，60 分にても 103±14 mg/dl と前値を上廻る高値を示した．

IRI 濃度は，PV 血にて前値平均 373±28 μU/ml よ

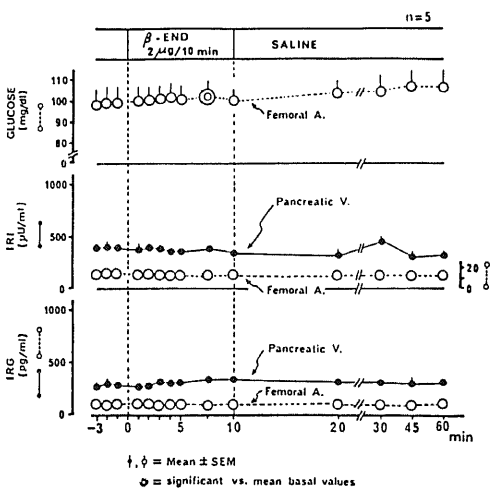


Fig. 4. Effect of β-endorphin infusion at a dose of 2 μg/10 min into the pancreatic artery on concentrations of glucose, IRI, and IRG in dogs.

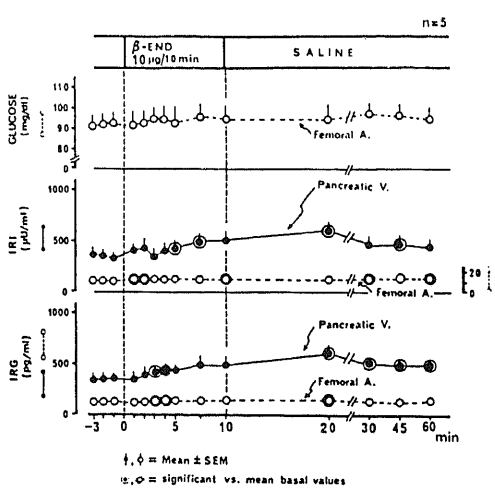


Fig. 5. Effect of β-endorphin infusion at a dose of 10 μg/10 min into the femoral vein on concentrations of glucose, IRI, and IRG in dogs.

り β-E 投与開始後 1 分には既に 572±71 μU/ml へと有意に上昇し，4 分には 1078±424 μU/ml へとさらに上昇し以後一度下降し，10 分には前値の約 3.2 倍に及ぶ平均頂値 1209±572 μU/ml に達し，以後 30 分まで有意の高値を持続し，60 分にても 512±82 μU/ml と前値を上廻る高値を示した．一方 FA 血中 IRI 濃度は，前値平均 9.7±1.2 μU/ml より次第に上昇し 20 分には 17.4±3.1 μU/ml に達し，以後低下傾向を示したが，60 分にても 15.2±3.3 μU/ml と前値より高値を示した．

IRG 濃度は，PV 血にて前値平均 338±35 pg/ml より β-E 投与開始後 2 分には既に 713±208 pg/ml へと有意に上昇し，4 分には 1048±371 pg/ml と前値の 3.1 倍に及ぶ頂値に達し β-E 注入中止後も高値を持続し，60 分にても 568±91 pg/ml と前値より有意の高値を示した．一方 FA 血中 IRG 濃度は，前値平均 81± 6 pg/ml より次第に上昇し，30 分にて 122±15 pg/ml と前値の 1.5 倍の頂値に達した後，下降傾向を示したが 60 分にても 106±11 pg/ml と前値より有意の高値にとどまった．

SLI 濃度は，PV, FA 血にて夫々前値平均 465±79, 141±18 pg/ml を示したが，β-E 注入中，注入後のいずれの時点においても有意の変動を示さなかった．なお膵血流量は，β-E 投与前，中，後において終始有意の変動を示さなかった．

(2) β-E 大腿静脈内投与（200 μg/10 分）時の変動

図 3 に示す如く，β-E 200 μg を大腿静脈を介し 10 分間にわたり全身投与すると，血糖は前値平均 88± 3 mg/dl より 2 分にて上昇し始め，20 分には有意の平均頂値 101± 8 mg/dl に達し以後減少したが 60 分にても 95± 7 mg/dl と前値に復さなかった．

血中 IRI 濃度は，PV 血にて前値平均 344±78 μU/ml より 1 分にて既に上昇し，7.5 分には 656±217 μU/ml の平均頂値に達し以後 20 分まで有意の高値を持続し，60 分にても 459±109 μU/ml と前値より高値を示した．一方 FA 血中 IRI 濃度も前値平均 12.8± 2.5 μU/ml より次第に上昇し，20 分には 21.5±3.7 μU/ml と有意の頂値に達し以後 60 分にても 15.5± 2.4 μU/ml と高値を持続した．

IRG 濃度は，PV 血にて前値平均 402±46 pg/ml より急速に上昇し，10 分には平均頂値 740±119 pg/ml に達し，以後 45 分まで有意の高値を持続し，60 分にても前値を上回った．一方 FA 血中 IRG 濃度も前値平均 121±21 pg/ml より次第に上昇し，20 分には 206±75 pg/ml と有意の頂値に達し，以後 45 分まで有意の高値を持続した．

SLI 濃度は，PV, FA 血いずれにおいても β-E の投与前，中，後で有意の変動を示さなかった．なお膵血流量は，実験中終始有意の変動を示さなかった．

(3) β-E 膵動脈内投与（2 μg/10 分）時の変動

前述の(1)に用いた薬理学的投与量の β-E に比べ，その 20 分の 1 量のより少量の β-E 2 μg を 10 分間にわたり膵動脈を介し膵局所に投与した．その結果，FA 血における血糖は，前値平均 99± 8 mg/dl より 7.5 分には有意に上昇し，45 分には平均頂値 107± 8 mg/dl を示した．IRI 及び IRG 濃度は，PV, FA 血にてこの投

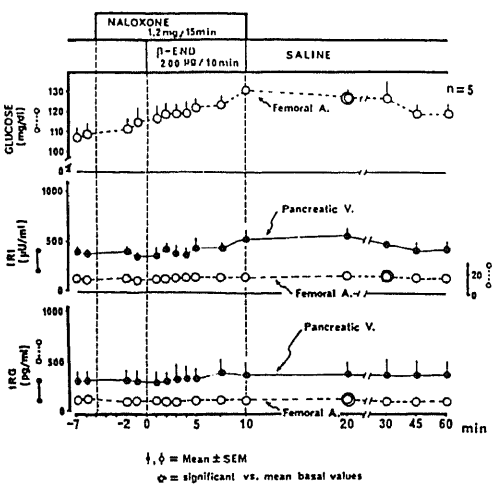


Fig. 6. Effect of β-endorphin infusion at a dose of 200 μg/10 min which is started 5 min after beginning of naloxone infusion at a dose of 1.2 mg/15 min into the femoral vein on concentrations of glucose, IRI, and IRG in dogs.

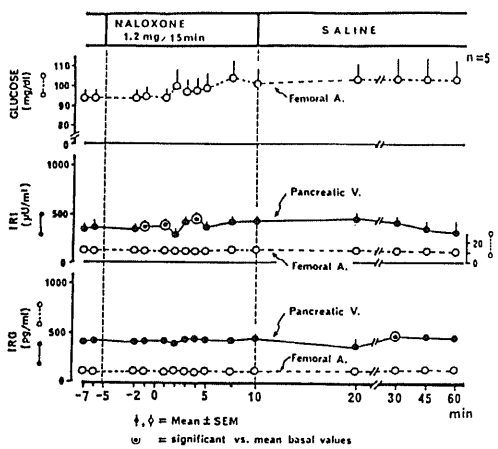


Fig. 7. Effect of naloxone infusion at a dose of 1.2 mg/15 min into the femoral vein on concentrations of glucose, IRI, and IRG in dogs.

与量の β-E の投与前，中，後いずれの時点にても有意の変動を示さらかった（図 4）．

(4) β-E 大腿静脈内投与（10 μg/10 分）時の変動

前述(3)の β-E の 2 μg 膵動脈内局所投与より β-E の膵到達量としてはより少量の，生理学的量に近いと考えられる β-E 10 μg を 10 分間にわたり大腿静脈を介し全身投与した（図 5）．血糖は，前値平均 92± 5 mg/dl より 30 分にて 97± 5 mg/dl へとわずかに上昇傾向を示したが有意ではなかった．

血中 IRI 濃度は，PV にて前値平均 349±35 μU/ml より β-E 投与開始後徐々に上昇し，5 分には，412±66 μU/ml と有意の増加を示し 20 分には平均頂値 584± 92 μU/ml に達し，以後次第に低下したが，60 分にても 439±71 μU/ml と前値より高値を示した．一方 FA 血中 IRI 濃度も，前値平均 10.7±0.7 μU/ml より次第に上昇し 45 分には平均頂値 12.8±0.5 μU/ml に達した．

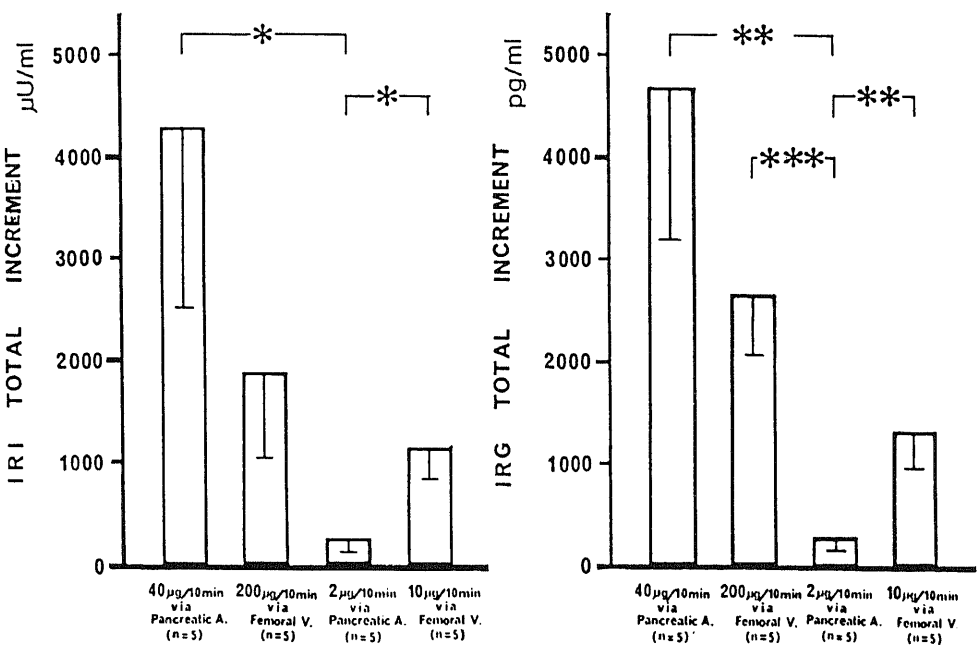
血中 IRG 濃度は，PV にて前値平均 341±30 pg/ml より β-E 投与開始 3 分にて 410±51 pg/ml へと有意に上昇し，以後も次第に増加し，20 分には有意の頂値 602±85 pg/ml に達し，その後下降したが 60 分にても 482±40 pg/ml と有意の高値を示した．一方 FA 血中 IRG 濃度も前値平均 113± 8 pg/ml より 20 分にて有意の頂値 133±14 pg/ml へと上昇した．

Ⅲ．β-エンドルフィン注入時の血糖及び膵ホルモンの変動に与えるナロキソンの影響

前述の β-E 投与の血糖及び膵ホルモン分泌に与える効果が，opiate receptor を介して発現するか否かを検討する目的で，opiate receptor blocker であるナロキソンを用いて検討した．

図 6 に示す如く，ナロキソン 1.2 mg を 15 分間にわたり大腿静脈内に注入しその注入開始 5 分後より前述の如く β-E 200 μg を 10 分間にわたり並行投与した．その結果，FA における血糖はナロキソン投与前値平均 108± 4 mg/dl よりナロキソン投与中やや上昇し，β-E 投与開始後も上昇をつづけ 10 分には 130± 7 mg/dl に達し，以後下降したが 60 分にても 117± 4 mg/dl と前値より高値を示した．

IRI 濃度は，PV 血にて前値平均 398±26 μU/ml よりナロキソン単独投与中は不変で，β-E 並行投与後有意ではないが，わずかに上昇傾向を示し 20 分には平均頂値 573±60 μU/ml に達し，以後減少した．一方 FA 血中 IRI 濃度は，前値平均 12.5±1.7 μU/ml より β-E 投与開始後わずかに上昇し，30 分には有意の頂値



*=p<0.05，**=p<0.025，***=p<0.005

Fig. 8. Total increments of IRI and IRG concentrations in the pancreatic venous plasma in response to various modes of β-endorphin infusion in dogs.

17.7±2.3 μU/ml にいたり以後減少した.

IRG 濃度は, ナロキソンと β-E 投与により PV 血にて上昇傾向を示したが有意でなく, FA 血にても上昇傾向を示したが 20 分でのみ有意の上昇であった.

以上, この量のナロキソン投与は, β-E 200 μg/10 分注入による IRI, IRG 反応をほぼ完全に阻止した.

一方図 7 に示す如くナロキソン 1.2 mg のみを 15 分間にわたり大腿静脈内に注入すると, 血糖は前値平均 93± 4 mg/dl より 7.5 分にて平均頂値 103±10 mg/dl へと上昇傾向を示したが有意ではなかった.

IRI 濃度は, PV 血にてナロキソン投与中軽度ながら有意の上昇を示したが, FA 血中 IRI 濃度は, 有意の変動を示さなかった.

IRG 濃度は, PV 血にてナロキソン投与中, 後にかけてわずかに上昇傾向を示したが 30 分のみにて有意であった. FA 血にてもナロキソン投与後有意の変動を示さなかった.

Ⅳ. β-エンドルフィンの投与量, 投与経路別膵ホルモン分泌反応の差の検討

図 8 に示す如く, 前述の成績II(1)(2)(3)(4)における β-E の投与量, 投与経路別に IRI, IRG 反応性を検討した. 即ち, β-E の膵到達量の多い順に 40 μg (膵動脈内), 200 μg (大腿静脈内), 2 μg (膵動脈内), 10 μg (大腿静脈内) 投与の 4 群について, 膵ホルモン反応性を β-E 投与により惹起された PV 血中 IRI, IRG 濃度の前値からの増加量の総和即ち Total Increment (Σ△IRI, Σ△IRG) を算出した. その結果, β-E による IRI, IRG いずれも, 膵局所投与群間では, β-E 投与量の間に用量反応を示した. しかし, 興味あることに β-E の膵到達量別による用量反応性はみとめられず, β-E 2 μg 膵局所投与時の IRI, IRG 反応は, 逆に β-E の膵到達量がより少ない生理学的量に近い 10 μg を全身投与した場合のそれより有意に小さかった.

Ⅴ. α-エンドルフィン注入時の血糖及び膵ホルモン分泌の変動

(1) α-E 膵動脈内投与 (20 μg/10 分) 時の変動

図 9 に示す如く, β-E 40 μg とほぼ等モルの α-E 20 μg を膵動脈を介し 10 分間にわたり膵局所に注入すると, 血糖は前値平均 99± 5 mg/dl より徐々に上昇し, 45 分には有意でないが平均頂値 113± 2 mg/dl を示した.

IRI 濃度は, PV 血にて前値平均 369±62 μU/ml より 1 分にて既に有意に上昇し, 一度下降後再上昇し, 30 分にて平均頂値 740±221 μU/ml に達し, 60 分にても 522±150 μU/ml と前値より高値を示した. 一方, FA 血中 IRI 濃度も前値平均 14.2±1.6 μU/ml より次第に上昇し, 60 分まで有意の高値を持続した.

IRG 濃度は, PV 血にて前値平均 388±79 pg/ml よ

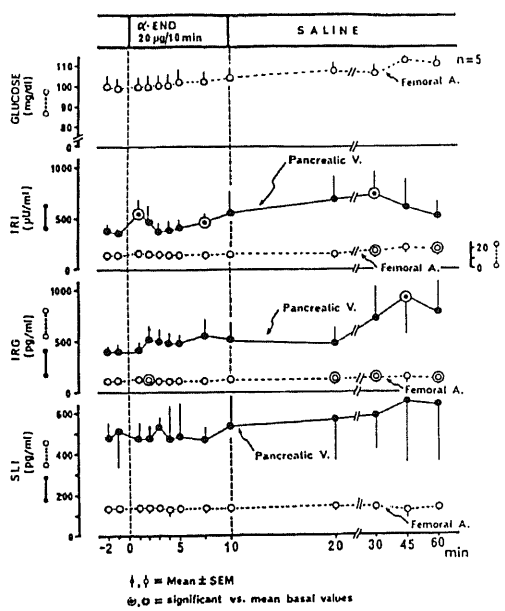


Fig. 9. Effect of α-endorphin infusion at a dose of 20 μg/10 min into the pancreatic artery on concentrations of glucose, IRI, IRG. and SLI in dogs.

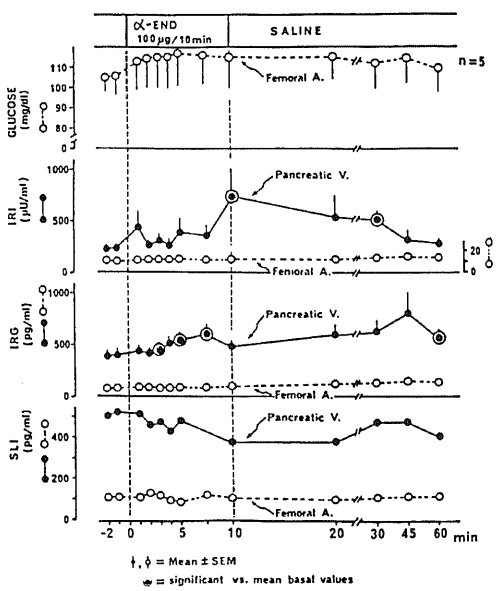


Fig. 10. Effect of α-endorphin infusion at a dose of 100 μg/10 min into the femoral vein on concentrations of glucose, IRI, IRG, and SLI in dogs.

り2分にて上昇を開始し，投与中止後も高値を持続し，45分にて平均頂値922±370 pg/mlに達した．一方FA血中IRG濃度も前値平均116±21 pg/mlより2分にて有意に上昇し，45分には154±51 pg/mlと頂値に達し60分まで有意の高値を持続した．

SLI濃度は，PV，FA血いずれにおいてもこのα-Eの投与前，中，後で有意の変動を示さなかった．なお膵血流量は，終始有意の変動を示さなかった．

(2) α-E大腿静脈内投与（100 μg/10分）時の変動

図10に示す如く，β-E 200 μgとほぼ等モルのα-E 100 μgを大腿静脈を介し10分間にわたり全身投与すると，血糖は前値平均106± 8 mg/dlよりα-E投与開始後次第に上昇し，5分にて平均頂値117±16 mg/dlに達し以後60分にても109±12 mg/dlと前値より高い値を持続した．

IRI濃度は，PV血にて前値232±24 μU/mlより1分にて一度上昇し，10分には735±295 μU/mlと有意の頂値に達し，60分にても273±54 μU/mlと前値より高い値を示した．一方，FA血中IRI濃度も前値平均12.3±3.4 μU/mlより次第に上昇し，45分にて平均頂値15.0±3.0 μU/mlに達し60分にても高値を持続した．

IRG濃度は，PV血にて前値平均383±47 pg/mlを示し3分より有意に上昇し，45分にて平均頂値796±238 pg/mlに達し，その後60分にても567±84 pg/mlと有意の高値を持続した．一方，FA血中IRG濃度も前値平均88±10 pg/mlより次第に上昇し，60分まで有意ではないが前値より高値を持続した．

SLI濃度は，PV，FA血いずれにおいてもα-Eの投与前，中，後で有意の変動を示さなかった．なお膵血流量は，終始有意の変動を示さなかった．

考　　察

本実験の成績を要約すると(1)薬理学的投与量のβ-Eは，血糖上昇作用を有し，SLI濃度を変えることなくIRI，IRG分泌を惹起する．さらにこれらβ-E投与量とほぼ等モルのα-Eも，血糖上昇作用，IRI，IRG分泌作用を有する，(2)薬理学的量のβ-EによるIRI，IRG分泌効果は，ナロキソン投与にてほぼ完全に阻止される，(3)より少量の生理学的量に近いβ-E（10 μg/10分）を大腿静脈を介し全身投与すると，有意のIRI，IRG分泌を惹起するが，それより膵到達量の明らかに多いβ-E（2 μg/10分）を膵動脈を介し局所投与しても有意のIRI，IRG分泌を惹起しない，となる．(3)の現象は，β-E 10 μgを全身投与すると，膵局所にはたかだか0.2～0.3 μgしか到達しないと算定される[13]ので興味深い現象である．

さて，β-Eは下垂体に圧倒的に多く存在し[14]，さらに下垂体にはβ-EとACTHの共通前駆体であるpro-opiomelanocortinが存在すること[3]，又β-Eがストレス時にACTHと共に血中に放出されること[4,5,6]，が知られている．一方でopiate receptorが脳や腸管[15]に存在することから近年数多くの内因性オピオイド（opioid）ペプタイドが脳[16]や下垂体[14)17,18]から分離及び同定された．そして，モルヒネやopiatesが脳，腸管，膵などに生物活性を示すことはよく知られている[19]．序文で述べた如く，これらの事実とNakabayashiらの成績[1]を合せ考え，当初著者はβ-Eが下垂体より血中に放出され循環ホルモンとして膵内分泌にopiate receptorを介し直接作用を及ぼす可能性を想定し実験を開始した．事実，近年，モルヒネとオピオイドペプタイドがin vitroで膵ホルモン分泌に直接的影響を与え，その効果はopiatesの特異的拮抗物質であるナロキソンで阻止される成績が知られている[20,21,22]とくに，Ippら[20]はイヌ膵灌流システムを用いモルヒネ及びβ-Eが5.5 mM glucose存在下でIRI，IRG分泌を促し，glucose 0 mMでは，IRIは不変でIRGの一層の高反応を惹起すること，そしていずれの場合も同時にIRI，IRG変動に先行してSLI分泌は約50%抑制されることより，膵島内SLI変動を介してIRI，IRG分泌が促進される可能性を報告した．又，ラット胎児膵島細胞培養を用いた系[21]では，モルヒネはIRI，IRG分泌を促進し，メチオニン一，ロイシンーエンケファリン（met-，leu-enkephalin）が高濃度glucose（16.5 mM）存在下でむしろIRI，IRG分泌を抑制することや，ラット単離膵島perifusion系[22]ではglucose（8 mM）存在下でエンケファリンアナローグであるDAMME及びメチオニンーエンケファリンが，低濃度（1×10^{-10}～1×10^{-8}mol/L）においてIRI分泌促進的，高濃度（1×10^{-5}mol/L）でIRI分泌抑制的に働くことが報告されている．これらのそれぞれ異なる成績と著者のそれを比較することは実験条件がそれぞれ異なるため困難である．しかし少なくとも著者のin vivoで用いたβ-E膵局所投与量40 μgは，Ippら[20]のin vitroシステムで用いた8.64 nmol（5.4×10^{-8}M/L 8分注入）とほぼ等量にもかかわらず，この量のβ-EはSLI分泌の有意の変動を惹起することなくIRI，IRG分泌を促進した．いずれにせよ，これらの成績は薬理学的量のモルヒネ及びオピオイドペプタイドが膵島細胞におけるopiate receptorを介して直接作用を発揮する可能性を想定させる．

次に著者は，より生理的状態を再現すべく，ネルソン症候群患者の血中β-E濃度にほぼ匹敵する血中濃度が得られるβ-Eの生理学的量に近い投与量（10 μg/

10分，全身投与）を用いた実験を行った．しかしその結果，2 μg/10分膵局所投与のIRI, IRG分泌と比較した如く，β-Eが循環ホルモンとして膵島直接刺激効果を発揮する可能性を明らかに支持しない成績が得られた．この前述の薬理学的投与量を用いた成績と異なる，予想外の結果の説明は必ずしも容易でない．現在，著者らは循環ホルモンとしてのβ-Eが示す膵島刺激効果には直接作用以外の介在機構が存在する可能性を想定し，検討中である．そして，β-E全身投与によるIRI分泌促進には，迷走神経機構[23]が，IRG分泌促進には一部（交感神経）副腎系機構[24]が，少なくとも一部関与する成績が得られている（未発表成績）．事実，オピオイドペプタイドが血液脳関門を通過し中枢神経系に移行しうること[25]，静脈内投与されたβ-Eが鎮痛効果を発揮するより少量でプロラクチン分泌刺激などの内分泌効果を示すこと[26]，オピオイドアナローグ静脈内投与による成長ホルモン分泌促進にはcholinergic systemが関与すること[27]，が知られている．又，β-E静脈内投与が脳室内髄液中のβ-E濃度を増加すること[28]，脳室内投与されたβ-Eが血中カテコールアミンを増加させること[29]，が報告されている．従って想定される介在機構は，詳細部位は不明ながらも中枢神経系である可能性が強いものと考える．このことは著者の成績において，β-E投与の際の増加したIRI, IRGレベルが60分にても前値に復さず，効果が持続したことを説明するものと思われる．さらに後述するようにモル比でβ-Eの300倍にも及ぶ多量のナロキソン投与がβ-EによるIRI, IRG分泌効果を抑制しえても，血糖上昇を阻止できなかった著者の成績は，β-Eによる血糖，IRI, IRG反応がモル比で10～25倍のナロキソン投与でいずれも阻止できないとの最近の報告[30]とも合せ考え，μタイプ以外のopiate receptor（大量のナロキソンにてはじめて阻止される）を介する機序で説明するよりも，中枢神経内でのそれぞれ異なる部位や性質をもつopiate receptor[26]によるものと解釈するのが容易であると思われる．しかしながら，β-Eの膵内分泌を刺激する際に想定される介在機構が，前述の薬理学的量のβ-Eによる成績を全て説明すると断言するには慎重でなければならない．なぜならば，endorphin-like[31,32,36]及びenkephalin-like[33,34,35] immunoreactivityが膵に存在し，しかも膵島及び膵内の神経線維や，神経節[34]のみならず，ヒト膵D細胞[36]やラットA細胞[32]に，β-endorphin-like materialが証明される事実があるからである．従って著者の薬理学的量のβ-E膵局所投与の成績が，局所で高濃度に存在するlocal hormoneとしてのβ-Eの役割を示唆している可能性が残る．

静脈内に投与したモルヒネが示す血糖上昇作用[37]は古くから知られており，これには中枢神経を介するsympathetic discharge[38]が関与し，脳室内β-E投与による血糖上昇にも同様の機序が想定されている[39]．又，モルヒネによる血糖上昇作用には，少なくともインスリン欠乏状態ではグルカゴンが大きく関与する[40]ことや，モルヒネ及びβ-E[30,41]が夫々イヌ及びヒトのin vivo系でIRI, IRG, 血糖を上昇させ，その際IRG上昇が血糖上昇に先行することが報告されている．しかしながら，前述の如く著者の成績でβ-E投与によるIRI, IRG分泌とは異なり，血糖上昇効果は大量のナロキソンでも阻止されず，又生体内に結局のところ最少量として投与されたことになるβ-E 2 μg（膵局所）投与時の血糖上昇が有意のIRG, IRI増加を伴っていなかったことより，むしろβ-Eは膵内分泌以外のシステムを介して血糖上昇効果を発揮することを示唆する．事実，著者は種々の量のβ-E注入時の血糖上昇とIRG反応との間には何ら相関を見出し得なかった．

さらに，著者の成績においてα-E（β-リポトロピン61－76）が，β-E（β-リポトロピン61－91）と同様にIRI, IRG分泌促進のみならず血糖上昇作用を示した．このことは，β-Eが，少なくとも一部β-リポトロピン61－76に相当する部分構造中に，血糖，膵内分泌への生物学的活性部位を有している可能性を示唆している．

最後に，近年インスリン非依存性糖尿病患者における，膵島組織のβ-E免疫活性の欠除[31]や，chlorpropramide alcohol flushing現象での内因性オピオイドの関与[42]とナロキソン投与に対するインスリン分泌の種々の反応性の変化[43,44]も報告されている．従って著者の成績は，オピオイドペプタイドが，局所ホルモンとしてのみならず循環ホルモンとしても，膵ホルモンや神経系の協調のもとにglucose homeostasisにはたす特異な役割とその機序の一端を明らかにしたものと考えられる．

結　　論

下垂体からACTHと共に血中に放出される循環ホルモンとしてのβ-Eが血糖や膵内分泌に対していかなる影響を与えるかを明らかにする目的で，種々の量のヒトβ-Eをイヌ膵局所又は全身に投与し，血糖及び膵静脈・大腿動脈血中IRI, IRG, SLI濃度の変動と同時に膵血流量も検討し，以下の結論を得た．

1）薬理学的量であるβ-E 40 μg, 200 μgを夫々膵動脈，大腿静脈内に10分間にわたり注入すると，いずれの投与量・経路においても膵静脈血及び大腿動脈血IRI, IRG濃度は急速に有意に上昇し，大腿動脈血糖値も有意に増加した．又IRI及びIRG変動は，血糖のそ

れに先行した．しかし，SLI 濃度，膵静脈血流量は有意の変動を示さなかった．

ナロキソン 1.2 mg 投与下に β-E 200 μg を大腿静脈内に注入すると，血糖は有意に上昇したが，前述のこの量の β-E 単独投与時にみられた IRI, IRG 分泌反応は，ほぼ完全に消失した．

2）β-E 2 μg を 10 分間にわたり膵動脈内に注入すると，血糖値は有意の上昇を示したが，膵静脈及び大腿動脈血 IRI, IRG 濃度は有意の変動を示さなかった．血中 β-E の生理学的濃度をわずかに越えさせる量と考えられる β-E 10 μg を 10 分間にわたり大腿静脈内に注入すると，血糖値は上昇傾向を示し，膵静脈及び大腿動脈血 IRI, IRG 濃度は有意に増加した．ところが β-E の膵到達量は，10 μg 大腿静脈内投与時には 2 μg 膵動脈内投与時に比べ明らかに少量と考えられる．従って血中 β-E が示す膵内分泌刺激作用の発現には，何らかの介在機構の存在することが示唆された．

3）α-E を 20 μg 膵動脈内，100 μg 大腿静脈内に 10 分間にわたり注入すると，血糖は上昇傾向を示し，膵静脈及び大腿動脈血 IRI, IRG 濃度は有意に上昇したが，SLI 濃度は終始有意の変動を示さなかった．この成績より，β-E 中にある α-E (β-リポトロピン 61－76) に相当する生物学的活性部位を介して，β-E が少くとも一部血糖や膵内分泌へ影響を与える可能性が示唆された．

以上の成績は，ストレス時などに ACTH とともに血中に放出される循環ホルモンとしての β-E が，エネルギー源動員や糖尿病増悪の機構に 1 つの特徴的な役割を果している可能性を示唆する．

謝　辞

稿を終えるに臨み，御指導と御校閲を賜わりました竹田亮祐教授に深謝し，また，終始直接御指導いただきました中林肇博士に深く感謝いたします．併せて，本研究遂行に多大の御協力を頂いた医学部第 2 内科第 2 研究室の諸先生方に深く感謝致します．

なお，本論文の要旨は，第 55 回日本内分泌学会総会（昭和 57 年東京），第 25 回日本糖尿病学会（昭和 57 年札幌），第 26 回日本糖尿病学会（昭和 58 年大阪）にて発表した．

文　献

1） **Nakabayashi, H., Dobbs, R. E. & Unger, R. H.**: The role of glucagon deficiency in the Houssay phenomenon of dogs. J. Clin. Invest., **61**, 1355-1362 (1978).

2） **吉光康平**：成長ホルモンの膵インスリン，グルカゴン，ソマトスタチン分泌に与える影響－イヌ上膵十二指腸動脈内注入法による検討－．十全医会誌，**91**, 981-991 (1982).

3） **Nakanishi, S., Inoue, A., Kita, T., Nakamura, M., Chang, A. C. Y., Cohen, S. N. & Numa, S.**: Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotropin-β-lipotropin precursor. Nature, **278**, 423-427 (1979).

4） **Guillemin, R., Vargo, T., Rossier, J., Minick, S., Ling, N., Rivier, C., Vale, W. & Bloom, F.**: β-endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland. Science, **197**, 1367-1369 (1977).

5） **Rossier, J., French, E. D., Rivier, C., Ling. N, Guillemin, R. & Bloom, F. E.**: Foot-shock induced stress increases β-endorphin levels in blood but not brain. Nature, **270**, 618-620 (1977).

6） **Vale, W., Rivier, C., Yang, L., Minick, S. & Guillemin, R.**: Effect of purified hypothalamic corticotropin-releasing factor and other substances on the secretion of adrenocorticotropin and β-endorphin-like immunoactivity in vitro. Endocrinology, **103**, 1910-1915 (1978).

7） **Kanazawa, Y., Kuzuya, T. & Ide, T.**: Insulin output via the pancreatic vein and plasma insulin response to glucose in dogs. Am. J. Physiol., **215**, 620-626 (1968).

8） **中林　肇・吉光康平・岸谷正雄・上田　操・川東正範・臼倉教臣・竹田亮祐**：Somatostatin の膵内分泌に及ぼす影響－イヌ上膵動脈内注入法による検討－．日内分泌会誌，**52**, 218-226 (1976).

9） **Herbert, V., Lau, K.-S., Gottlieb, C. W. & Bleicher, S. J.**: Coated charcoal immunoassay of insulin. J. Clin. Endocrinol. Metab., **25**, 1375-1384 (1965).

10） **Faloona, G. R. & Unger, R. H.**: Glucagon, p. 317-330. In B. M. Jaffe & H. R. Behrman(ed.), Methods of hormone radioimmunoassay, Academic Press Inc., New York, 1974.

11） **Harris, V., Conlon, J. M., Srikant, C. B., McCorkle, K., Schusdziarra, V., Ipp, E. & Unger, R. H.**: Measurements of somatostatin-like immunoreactivity in plasma. Clinica Chimica Acta, **87**, 275-283 (1978).

12） **中林　肇**：血中 Somatostatin の生理学的意義．糖尿病，**22**, 113-120 (1979).

13） **Smith, P. H., Chen, M., Woods, S. C., Ensinck, J. W. & Porte, D.**: Inhibition of insulin and glucagon secretion by somatostatin: Are there

indirect effects? Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **157**, 643-645 (1978).

14) Goldstein, A.: Opioid peptides (endorphins) in pituitary and brain. Science, **193**, 1081-1086 (1976).

15) Pert, C. B. & Snyder, S. H.: Opiate receptor: Demonstration in nervous tissue. Science, **179**, 1011-1014 (1973).

16) Hughes, J., Smith, T. W., Kosterlitz, H. W., Fothergill, L. A., Morgan, B. A. & Moriss, H. R.: Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. Nature, **258**, 577-579 (1975)

17) Cox, B. M., Goldstein, A. & Li, C. H.: Opioid activity of a peptide, β-lipotropin-(61-91), derived from β-lipotropin. Pro. Natl. Acad. Sci. USA, **73**, 1821-1823 (1976).

18) Ling, N., Burgus, R. & Guillemin, R.: Isolation, primary structure, and synthesis of α-endorphin and γ-endorphin, two peptides of hypothalamic-hypophysial origin with morphinomimetic activity. Pro. Natl. Acad. Sci. USA, **73**, 3942-3946 (1976).

19) Snyder, S. H.: Opiate receptors in the brain. N. Engl. J. Med., **296**, 266-271 (1977).

20) Ipp, E., Dobbs, R. & Unger, R. H.: Morphine and β-endorphin influence the secretion of the endocrine pancreas. Nature, **276**, 190-191 (1978).

21) Kanter, R. A., Ensinck, J. W. & Fujimoto, W. Y.: Disparate effects of enkephalin and morphine upon insulin and glucagon secretion by islet cell cultures. Diabetes, **29**, 84-86 (1980).

22) Green, I. C., Perrin, D., Pedley, K. C., Leslie, R. D. G. & Pyke, D. A.: Effect of enkephalins and morphine on insulin secretion from isolated rat islets. Diabetologia, **19**, 158-161 (1980).

23) 中林 肇: β-エンドルフィンの膵内分泌刺激機序. 糖尿病, **26**, 194 (1983).

24) 今村順記・中林 肇・平岩善雄・瀬田 孝・伊藤利之・飯川能彦・川東正範・竹田亮祐・臼倉教臣: β-endorphin の膵内分泌刺激作用－グルカゴン分泌刺激機序について－. (in press) In M. Horino (ed), Peptide hormones in pancreas, Biomedical Research Foundation, Tokyo, 1984.

25) Rapoport, S. I., Klee, W. A., Pettigrew, K. D. & Ohno, K.: Entry of opioid peptides into the central nervous system. Science, **207**, 84-86 (1980).

26) Foley, K. M., Kourides, I. A., Inturrisi, C. E., Kaiko, R. F., Zaroulis, C. G., Posner, J. B., Houde, R. W. & Li, C. H.: β-endorphin: Analgesic and hormone effects in humans. Pro. Natl. Acad. Sci. USA, **76**, 5377-5381 (1979).

27) Delitala, G, Grossman, A. & Besser, G. M.: Opiate peptides control growth hormone through a cholinergic mechanism in man. Clin. Endocrinol., **18**, 401-405 (1983).

28) Gerner, R. H., Sharp, B. & Catlin, D. H.: Peripherally administered β-endorphin increases cerbrospinal fluin endorphin immunoreactivity. J. Clin. Endocrinol. Metab., **55**, 358-360 (1982).

29) Van Loon, G. R. Appel, N. M. & Ho, D.: β-endorphin-induced stimulation of central sympathetic outflow: β-endorphin increases plasma concentrations of epinephrine, norepinephrine, and dopamine in rats. Endocrinology, **109**, 46-53 (1981).

30) Feldman, M., Kiser, R. S., Unger, R. H. & Li, C. H.: Beta-endorphin and the endocrine pancreas: Studies in healthy and diabetic human beings. N. Engl. J. Med., **308**, 349-353 (1983).

31) Bruni, J. F., Watkins, W. B. & Yen, S. S. C.: β-endorphin in the human pancreas. J. Clin. Endocrinol. Metab., **49**, 649-651 (1979).

32) Grube, D., Voigt, K. H. & Weber, E.: Pancreatic glucagon cells contain endorphin-like immunoreactivity. Histochemistry, **59**, 75-79 (1978).

33) Polak, J. M., Sullivan, S. M., Bloom, S. R., Facer, P. & Pearse, A. G. E.: Enkephalin-like immunoreactivity in the human gastrointestinal tract. Lancet, I, 972-974 (1977).

34) Larsson, L.-I.: Innervation of the pancreas by substance P, enkephalin, vasoactive intestinal polypeptide and gastrin/CCK immunoreactive nerves. J. Histochem. Cytochem., **27**, 1283-1284 (1979).

35) Forssmann, W. G., Helmstaedter, V. & Feurle, G.: Relationship of enkephalin and endorphin immunoreactivity with D-cells and G-cells of the stomach. Acta Hepatogastroenterol., **24**, 488 (1977).

36) Watkins, W. B., Bruni, J. F. & Yen, S. S. C.: β-endorphin and somatostatin in the pancreatic D-cell colocalization by immunocytochemistry. J. Histochem. Cytochem., **28**, 1170-1174 (1980).

37) Araki, T.: Über die Bildung von Milchsaure

und Glucose im Organismus bei Sauerstoffmangel.: Über die Wirkung von Morphium, Amylnitrit, Cocain. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., **15**, 546-561 (1819).

38) **Feldberg, W. & Shaligram, S. V.**: The hyperglycaemic effect of morphine. Br. J. Pharmac., **46**, 602-618 (1972).

39) **Van Loon, G. R. & Appel, N. M.**: β-Endorphin-induced hyperglycemia is mediated by increased central sympathetic outflow to adrenal medulla. Brain Res., **204**, 236-241 (1981).

40) **Ipp, E., Schusdziarra, V., Harris, V. & Unger, R. H.**: Morphine-induced hyperglycemia: Role of insulin and glucagon. Endocrinology, **107**, 461-463 (1980).

41) **Reid, R. L. & Yen, S. S. C.**: β-endorphin stimulates the secretion of insulin and glucagon in humans. J. Clin. Endocrinol. Metab., **52**, 592-594 (1981).

42) **Leslie, R. D. G., Pyke, D. A. & Stubbs, W. A.**: Sensitivity to enkephalin as a cause of non-insulin dependent diabetes. Lancet, I, 341-343 (1979).

43) **Giugliano, D., Ceriello, A., Pinto, P. D., Saccomanno, F., Gentile, S. & Cappiapuoti, F.**: Impaired insulin secretion in human diabetes mellitus. The effect of naloxone-induced opiate receptor blockade. Diabetes, **31**, 367-370 (1982).

44) **Mason, J. S. & Heber, D.**: Endogenous opiates modulate insulin secretion in flushing noninsulin-dependent diabetics. J. Clin. Endocrinol. Metab., **54**, 693-697 (1982).

Effect of β-Endorphin Administration on the Endocrine Pancreas Yoshio Hiraiwa, Department of Internal Medicine (II), (Director: Prof. R. Takeda), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 –J. Juzen Med. Soc., **93**, 211–222 (1984)

Key words: β-Endorphin, Insulin, Glucagon, Somatostatin, Hyperglycemia

Abstract

The mechanisms which are involved in fuel homeostasis and exacerbation of diabetic state under stress condition and the role of the endocrine pancreas in the mechanisms have not been fully defined yet. β-Endorphin (β-E), one of opioid peptides, is released almost exclusively from the pituitary gland into the circulation in conjunction with corticotropin. To evaluate whether β-E exerts effects on the endocrine pancreas and glucose level, β-E or a related peptide, α-Endorphin (α-E), was administered to anesthetized dogs. Infusion of β-E (40 μg/10min) into the pancreatic artery (PA) significantly increased concentrations of insulin (IRI) and glucagon (IRG) in the pancreatic vein (PV) to a mean peak of 3.2 and 3.1 times the pre-infusion value, respectively. It also raised signicantly those of glucose, IRI, and IRG in the femoral artery (FA). However, somatostatin (SLI) levels in the PV and FA showed co changes with the infusion (n=5). When β-E (200 μg/10min) was infused into the femoral vein (FV), concentrations of IRI and IRG, but not SLI in the PV, rose to a peak of 1.9 and 1.8 times the baseline value, respectively, and glucose, IRI, and IRG, but not SLI, in the FA also increased significantly (n=5). When an opiate antagonist, naloxone (1.2 mg), was administered concomitantly, the β-E infusion (200 μg into the FV) evoked no rises in IRI and IRG levels and did increase glucose one (n=5). Infusion of β-E (2 μg/10min) into the PA increased significantly concentration of glucose, but not ones of IRI and IRG in the PV and FA (n=5). However, infusion of β-E in a supraphysiologic dose (10 μg/10min) into the FV, in which case β-E reaches the pancreas much less than in a 2 μg infusion into the PA, significantly increased IRI and IRG levels in the PV and FA (n=5). Control saline infusion into the PA or the FV did not induce any changes in all the IRI, IRG, SLI, and glucose levels. Infusion of α-E at a rate of 20 μg into the PA (n=5) or 100 μg into the FV (n=5) for 10

min also increased significantly glucose, IRI, and IRG levels, but not SLI in the PV and FA. The present results thus indicate that β-E, as a circulating hormone, exerts stimulating effects on the endocrine pancreas in as indirect fashion, and that this action of β-E (β-lipotropin 61-91) is, at least partly, mediated by a biological active site corresponding to α-E (β-lipotropin 61-76). They suggest that β-E constitutes a necessary system in conditions when the organism requires fuel mobilization in response to stress.