

Pancreatic Hormone Responses to 2-deoxyglucose in the in situ Perfused Canine Pancreas: Involvement of the Local Neural System

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/2297/8505

イヌ生体内局所膵灌流実験における 2-デオキシグルコースによる膵内分泌応答

—局所神経系の関与—

金沢大学医学部内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

高 桑 健

近年、血糖拮抗性調節 (glucose counterregulation, GCR) における膵ホルモンの重要性が示されてきている。2-デオキシグルコース (2-deoxyglucose, 2-DG) の全身投与は、他組織と同様に、中枢神経系および内分泌膵においてもグルコース欠乏をひきおこす。本実験では、2-DG の膵動脈内局所投与が、インスリン (immunoreactive insulin, IRI), グルカゴン (immunoreactive glucagon, IRG) および膵静脈血流量 (血流量) におよぼす効果を、ペントバルビタール麻酔下に、正常イヌ、(横隔膜下) 迷走神経切断イヌ、内臓神経切断イヌ、および膵除神経イヌにおいて検討した。結果として、1) 正常イヌに 2-DG 10mg/kg を10分間にわたり膵動脈内に注入した時、全身血 (大腿動脈血) の 2-DG 濃度は 6mg/dl と低値であり、この投与量では、2-DG の膵局所における効果だけをみていることが示唆された。膵静脈血 IRI 濃度は、前値平均 $141 \pm 28 \mu\text{U/ml}$ (平均値±標準誤差) より、注入開始後 2分には 119 ± 31 と一旦前値より低下後、5分と10分に頂値をもつ増加を示し、15分には前値に復した。膵静脈血 IRG 濃度は、前値平均 $533 \pm 122 \text{pg/ml}$ から、注入開始 1分後には、 887 ± 163 へと急峻に上昇し、その後 2-DG 注入中にもかかわらず 5分には前値に復した。血流量および動脈血血糖値 (血糖値) は、注入中はわずかに増加をみたが有意ではなかった。2-DG 100mg/kg (大量) を同様に注入すると、IRI, IRG は、同様でしかも少量注入時に比し有意に大きく反応し、血流量は注入中は有意に増加した。血糖値は少量注入時に比し大きく増加した。2) 両側迷走神経切断イヌに、少量 2-DG を同様に注入すると、IRI, IRG, 血流量は正常イヌと同様同程度の増加反応を示した。しかし血糖値は 2-DG 注入中から 30分にかけて有意に低下した。大量 2-DG 注入により IRI, IRG, 血流量は正常イヌと同様で、しかも少量注入時に比し大きく増加した。3) 両側内臓神経切断イヌに少量 2-DG を注入すると、IRI は正常イヌと同程度に反応し、IRG は増加傾向を示したが有意でなく、正常イヌおよび迷走神経切断イヌに比し有意の低反応であった。血流量の増加は、正常イヌおよび迷走神経切断イヌに比し増大傾向を示した。血糖値は、注入終了後有意に低下した。大量 2-DG 注入時には、IRI の増加は遷延し、その増加は少量注入時に比し大きかった。IRG は増加傾向を示したが有意でなく、正常イヌおよび迷走神経切断イヌに比し有意の低反応であった。血流増加量は正常イヌおよび迷走神経切断イヌに比し高値傾向を示した。血糖値は注入終了後も増加しなかった。4) 膵除神経イヌでは、2-DG 10mg/kg 注入時、血流量、血糖値、IRI および IRG の変動は、内臓神経切断イヌとはほぼ同様、同程度だった。以上の成績は 2-DG の膵局所投与は、外来性膵支配神経に依存しない IRI のユニークな増加反応を惹起したこと、および交感神経節前線維に依存する IRG 反応を促進することを示す。このことは、GCR におけるグルカゴンおよびインスリンの変動には膵支配神経が重要な役割を果たすことを示唆する。

Key words 2-deoxyglucose, insulin, glucagon, blood flow, pancreatic innervation

生体にとって血糖レベルを一定に保つことは、生命維持あるいは中枢神経機構維持の観点より極めて重要である。糖尿病患者において、薬物治療に伴う低血糖および急激な血糖降下が出現した際に、また正常人において正常血糖域内での血糖降下をみる際にも、内分泌性 (液性) および神経性調節機構からなる、いわゆる血糖拮抗性調節 (glucose counterregulation, GCR)¹⁾ と称される防御機構が作動する。近年、とりわけ内分泌性調節機構が重要視され、その中のグルカゴン分泌 (とグルカゴンのない場合はカテコラミン分泌) が重要視されている。また、正常血糖域内の血糖降下の際にはインスリン分泌抑制²⁾ も重要性を

持つことが知られている。

この防御機構の解明のためには、どうしても血中および細胞内のグルコース欠乏状態を作りだすことが必要で、従来以下のような手段が用いられてきた。インスリン投与は、それによって惹起される血糖値の変動がそのままグルコース欠乏程度の指標となる利点がある³⁾。しかし一方で、外因性インスリン投与による血中インスリン濃度上昇自体が膵からのグルカゴン⁴⁾ およびインスリン⁵⁾ 分泌に抑制的な効果をもたらすとともに、インスリンが中枢神経系に働き自律神経系を賦活させる可能性がある⁶⁾ ことなどを考慮にいれなくてはならない。フロリジンは

平成 5 年 11 月 22 日 受付, 平成 5 年 12 月 22 日 受理

Abbreviations: BF, pancreatic venous blood flow rate; 2-DG, 2-deoxyglucose; GCR, glucose counterregulation; GRP, gastrin releasing polypeptide; IRG, immunoreactive glucagon; IRI, immunoreactive insulin; NAd, noradrenalin; NPY, neuropeptide Y; PS, plasma sugar; VIP, vasoactive intestinal polypeptide

腎での糖再吸収を抑制することにより血糖降下を誘発できるが、急性の低血糖は作りだせない⁷⁾。

そこでグルコース類似体である 2-デオキシグルコース (2-deoxyglucose, 2-DG) が従来 GCR の研究において頻用されてきた。なぜなら、2-DG はグルコースの磷酸化段階においてグルコースと競合する⁸⁾ 結果、細胞内グルコース欠乏状態を引き起こすからである。このため 2-DG 投与により中枢神経系および自律神経系はグルコース欠乏状態 (neuroglucopenia) となり種々の応答を示すが、とりわけ交感神経系を中心とした自律神経賦活効果が出現し、さらにその結果として膵島ホルモン分泌も影響を受ける⁹⁾。一方で、2-DG は同時に膵島細胞に直接作用し、膵島ホルモン分泌に影響を及ぼすと考えられる。従って 2-DG を用いた場合には、その神経を介する効果と膵島細胞への直接効果をいかに分離し、GCR の機序をどのようにより明らかにするかはこの方面の研究上重要である。

以下、実験システムごとに、2-DG の膵内分泌に対する作用機序の観点からみる。

遊離膵島周辺灌流および遊離膵灌流実験は、膵灌流液中の 2-DG の膵島細胞への直接効果と膵局所神経を介する効果を見るものである。これらのシステムを用いた 2-DG 使用成績には種差その他により報告間の不一致がみられる。ラット^{10)~14)}、ウサギ¹⁵⁾ の遊離膵島周辺灌流では、2-DG はグルコースによるインスリン (immunoreactive insulin, IRI) 分泌を抑制するか、または影響を与えないと報告されている。しかも、ラット¹⁰⁾¹³⁾、ウサギ¹⁵⁾ では、グルコースが高濃度になるとこの抑制もみられなくなる。一方、2-DG はグルカゴン (immunoreactive glucagon, IRG) 分泌に影響を与えない¹⁴⁾ と報告されている。ラット遊離膵灌流実験において、2-DG はグルコース存在下では IRI 分泌を抑制する¹⁶⁾ か、または影響をあたえず¹⁷⁾、また 2-DG 自体は IRI 分泌を引き起こさない¹⁷⁾。一方、2-DG は IRG 分泌を刺激する¹⁸⁾ と報告されている。イヌ遊離膵灌流実験においては Wasada ら¹⁹⁾ は、2-DG の IRI 分泌促進効果はみとめられなかったと結論している (成績の詳細は不明)。一方、硬骨魚類であるナマズ (catfish) の内分泌細胞はブロックマン体を形成するが、この遊離膵灌流実験では²⁰⁾、2-DG 投与による IRI 分泌の亢進と IRG 分泌の不変が報告されている。

生体内局所膵灌流システムを用いると、膵動脈内 2-DG 投与は、2-DG の膵島細胞への直接効果と膵局所神経機構を介する効果を見ることになる。Kilo ら¹⁰⁾ は、イヌにおいて膵動脈内に 45~1000mg/kg の 2-DG を注入したがインスリン分泌は刺激されなかったと報告している。しかし当時は、インスリン測定法として脂肪織を用いる生物活性を用いており²¹⁾、精度の高いインスリン分泌評価ができなかったため、そのまま現在の成績と比較することには困難がある。

2-DG の脳室内投与は、その中枢自律神経系の興奮を介する効果を見ることになる²²⁾。本法では、膵および肝の自律神経系の活動亢進、副腎髄質からのカテコラミン分泌促進がみられる。その結果血糖値は上昇するが、この機序としては肝交感神経系の興奮による肝からの糖放出の増加²³⁾²⁴⁾、膵交感神経系活動増加による IRG 分泌促進²⁵⁾ および IRI 分泌の抑制傾向、さらに放出された血中カテコラミンを介する肝からの糖放出と膵内分泌に対する効果、が関与するものと考えられる。なお、この際の IRI 分泌は、血糖値上昇による効果が前面にて、むしろ若干亢進する²⁵⁾。

2-DG を末梢静脈より全身投与した場合は、その膵島細胞への直接効果と、中枢および膵局所の自律神経系の興奮を介する効果を見ることになる。従来の報告では、主に IRG 分泌亢進に加え、血糖上昇に伴うと考えられる緩徐な IRI 分泌が示されている²⁶⁾。

さて、膵島周囲に豊富に存在する自律神経網は²⁷⁾、膵島周囲血管のみならず、その一部は島内毛細血管壁にも神経終末を送り、一部は島細胞に直接到達し²⁸⁾、それぞれ遠心性に血流および膵島ホルモン分泌に影響を与えることが知られている。交感神経系は視床下部腹内側核の支配を受け、その節前線維は大内臓神経をなし、腹腔神経節で節後神経となり膵に到達する。一方、副交感神経系は視床下部外側野の支配を受け、その節前線維は迷走神経をなし、膵内神経節で節後神経となり膵島に至る。交感神経節後線維の代表的神経伝達物質はノルアドレナリン (noradrenalin, NAd) であり、膵ホルモン分泌には、 α_2 受容体を介し IRI 分泌には抑制的に (とくにサブタイプ α_{2A} を介する)、IRG 分泌には促進的に作用する一方で、 β_2 受容体を介し IRI および IRG 分泌を促進させる²⁹⁾。また、膵血流量は、NAd の α_1 受容体を介する作用で減少し、 β_2 受容体を介する作用では増加する。迷走神経節後線維の代表的神経伝達物質はアセチルコリンであり、ムスカリン受容体を介し IRI 分泌には促進的に、IRG 分泌には促進的に作用する (あるいは作用しない) と言われ、膵血流量をも増加させる^{30)~32)}。また、これらの神経内には、上記の古典的神経伝達物質のほか、さまざまな神経ペプチド、アミン、プリン体が存在し、神経伝達物質あるいは神経調節物質として作用することが知られている。それらのうち、膵内交感神経系ペプチドとして、神経ペプチド Y (neuropeptide Y, NPY) およびガラニン (galanin) が挙げられる。NPY はグルコースによる IRI 分泌を抑制する³³⁾。一方、ガラニンは、イヌ膵動脈内投与により IRI 分泌を抑制し IRG 分泌を促進させることが知られている³⁴⁾。副交感神経系ペプチドとして挙げられる血管作動性腸管ポリペプチド (vasoactive intestinal polypeptide, VIP)³⁵⁾ およびガストリン遊離ポリペプチド (gastrin releasing polypeptide, GRP)³⁶⁾ は、膵内神経節および膵島に存在し、迷走神経の電気刺激により放出される。VIP³⁷⁾ および GRP³⁸⁾ は、共に、IRI および IRG の分泌を促進し、さらに VIP は膵血流量を増加させる³⁹⁾。

ところで、2-DG 全身投与時に、上述の血糖上昇に並行または後発するインスリン分泌とは異なる、比較的早期の IRI 分泌亢進成績が報告されている^{18)40)~42)}。2-DG に IRI 分泌促進効果はないとする従来の報告とあわせると、この早期 IRI 反応が、大量 2-DG 投与により膵に到達する 2-DG の膵局所への作用によるか、中枢神経系を介する神経性作用によるかは興味ある点である。そこで著者は、GCR の機序を追及する一環として、中枢神経系を含めた全身効果が発現しないと考えられる少量の 2-DG を膵動脈内に局所的に投与することにより、2-DG の膵局所への作用、すなわち膵島細胞への直接作用と膵内神経機構を介する作用を分離評価しようとした。さらに、惹起された反応に対する外来性自律神経機構の関与を検討するため、正常イヌ、迷走神経切断イヌ、内臓神経切断イヌおよび膵除神経イヌを用いた検討を行ない、また、その用量依存性をみるため、(全身効果も発現させると考えられる) 大量の 2-DG を膵動脈内に局所的に投与した。その結果、膵外来性神経機構とは独立する膵内在性神経機構による特徴ある早期膵 IRI、IRG 分泌を見出

したので報告する。

対象および方法

I. 実験動物と実験前の処置

体重 15~20kg の雑種成熟イヌを用い、12~16時間絶食後、ペントバルビタール (30mg/kg) 静脈内麻酔下に開腹し、上脘十二指腸動脈の十二指腸枝に 2-DG 注入用の、同静脈に膵静脈血採血用のカテーテルを挿入した。また、膵静脈血流量測定用に超音波血流量计 T-201 (Transonic System, New York, U.S.A.) のプローベを留置し、その後閉鎖した。さらに、動脈血採血用カテーテルを大腿動脈に挿入した。加えて、以下のいずれかの手術を行なった。A. 正常対照群: 上記手術のみを施行した。B. 迷走神経切断群: 腹側および背側の迷走神経幹を横隔膜直下にて切断した。C. 内臓神経切断群: 両側背部切開到達法により両側大内臓神経を切断した。D. 膵除神経群: 膵臓部膵については膵動脈の起始部およびその膵流入部と膵遠位端部、十二指腸部膵については、上脘十二指腸動脈起始部および下脘十二指腸動脈流入部で、それぞれ随伴する静脈周囲をも含め血管周囲神経組織を剥離し切断した。この際、膵動脈起始部以外の腹腔動脈周囲神経組織に損傷を与えぬよう細心の注意を払った。さらに、膵周囲結合組織を可及的に離断した。以上の各神経切断の完全性は、実験終了後剖検にて確認した。

II. 実験実施

2-DG (grade III, Sigma, St. Louis, U.S.A.) の 10mg/kg または 100mg/kg を生理的食塩水 10ml に溶解し、膵動脈注入用カテーテルから、1ml/min の速度で10分間で定速注入した。なお、2-DG 注入前後には生理的食塩水を 1ml/min の速度で注入した。また対照として 2-DG 溶液と同量の生理食塩水を終始注入した。採血は膵静脈血用カテーテルおよび大腿動脈カテーテルより、2-DG 注入前、-5, 0分, 注入開始後 1, 2, 3, 5, 7.5, 10, 15, 20, 30, 45, 60分 (0~10分 2-DG 注入) に 2.5ml ずつ採取し、同時に膵血流量を測定した。採取した血液は直ちに血液 1ml あたりにアプロチニン (Bayer, Leverkusen, Germany) 1000 単位とエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (Ethylenediaminetetraacetic acid, disodium salt, EDTA-2Na, 和光, 大阪) 1.2mg を含む氷冷試験管に移した後、冷却遠心を行ない血漿を分離した。この血漿はホルモン測定まで -20°C で保存した。

III. 測定法

血中 IRI 濃度は、イヌ・インスリン標準品 (Lot No. H7574, L. Heding 博士より提供, Novo, Copenhagen, Denmark) を用いる⁴³⁾、血中 IRG 濃度は抗体 30K (R. H. Unger 博士より提供, Texas 大学, U. S. A.) を用いる⁴⁴⁾⁴⁵⁾、それぞれ既報のラジオイムノアッセイ法で測定した。血漿グルコース濃度はグルコースオキシダーゼ法により測定したが、本法では、交差反応性のため 2-DG の 17% がグルコースとして測定された。血漿 2-DG 濃度は Akabayashi ら⁴⁶⁾の変法による酵素法により測定した。本法はグルコースの 4% を 2-DG として認識するのみで優れた特異性を示した。血中 NAD 濃度は、高速液体クロマトグラフ・カテコラミン分析システム (島津, 京都) により分離し、電気的検出器クーロケム 5100A 型 (二光バイオサイエンス, 東京) にて検出した。

IV. 統計学的処理

成績は平均値±標準誤差 (mean±SEM) で表わし、推計学的

検討は Fisher の多重比較検定を用いて危険率 5% 以下を有意と判定した。

成 績

I. 正常イヌにおける 2-DG 膵動脈内注入による膵静脈血流量、動脈血糖値、血中 IRI, IRG 濃度の変動

1. 2-DG 10mg/kg 注入時の変動 (図 1)

2-DG 10mg/kg を 10分間にわたり膵動脈内に注入すると (n=4)、膵動脈血流量 (血流量) は前値平均 33±5ml/min より、注入中のみ約 5% 増加し、実験後半の 30, 45分には前値に比し有意の低下を示した。動脈血糖値 (血糖値) は前値平均 86±2mg/dl で、注入中はわずかに増加を示しただけで、注入終了後の 30分には有意の頂値を示した。膵静脈血 IRI 濃度は前値平均 141±28μU/ml より、注入開始後 2分には 119±31 と一旦前値の 84% に低下した。その後、3分より急峻に上昇し、5分には 291±20 と前値の 206% に達し、7.5分には 256±50 と一旦わずかに下降したが、10分には再度 557±196 と 395% の頂値を示す 2 峰性分泌を見た。2-DG 注入終了後は、15分で 127±31 とは

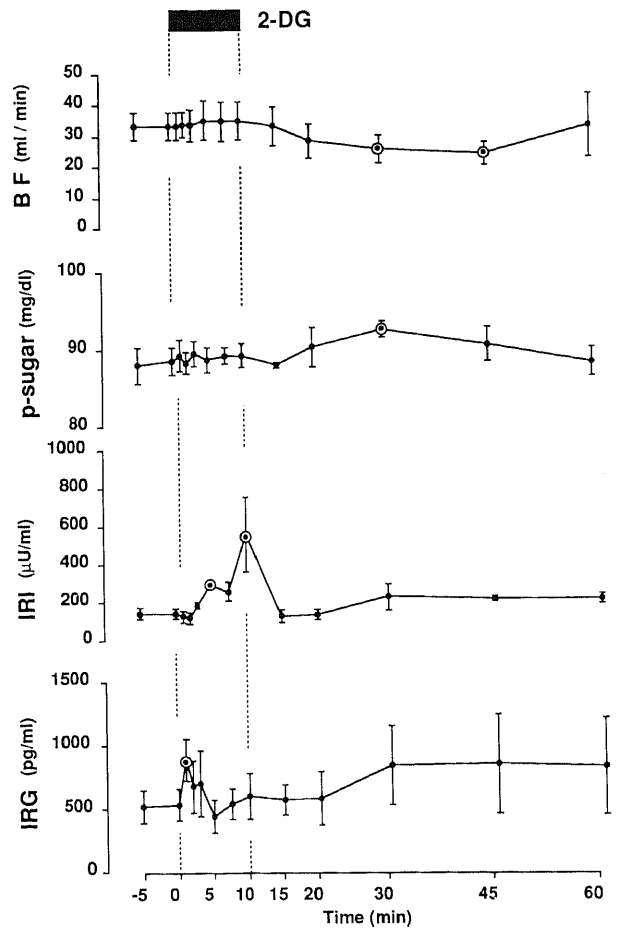


Fig. 1. Effect of 2-deoxyglucose infusion into the pancreatic artery in normal dogs. 2-deoxyglucose (2-DG) (10 mg/kg body weight) was injected into the pancreatic artery throughout 10 min, and its effect was examined on the levels of pancreatic blood flow rate (BF), arterial plasma sugar (PS), pancreatic venous plasma insulin (IRI), and glucagon (IRG) (n=4). Each point with vertical bar represents the mean ± SEM. Encircled points indicate significant differences from the mean basal values (p<0.05). ■ indicates the 2-DG infusion.

ば前値に復した。動脈血 IRI 濃度は、前値平均 $15 \pm 3 \mu\text{U/ml}$ より、有意に変動しなかった。腓静脈血 IRG 濃度は、前値平均 $533 \pm 122 \text{pg/ml}$ から、注入開始 1 分後には、 887 ± 163 と前値の 166% へと急峻に上昇し、その後 2-DG 注入中にもかかわらず 5 分には前値に復した。以後、有意ではないが漸増傾向を示した。動脈血 IRG 濃度は前値平均 $114 \pm 17 \text{pg/ml}$ で、3 分で 130 ± 34 とやや増加した。

2. 2-DG 100mg/kg 注入時の変動 (図 2)

2-DG 100mg/kg を 10 分間にわたり腓動脈内に注入すると ($n=4$)、血流量は前値平均 $27 \pm 2 \text{ml/min}$ で、3~10 分にかけて (5 分で頂値 36 ± 4 と前値の 132% をとる) 有意な増加を示した後、漸減した。血糖値は前値平均 $91 \pm 3 \text{mg/dl}$ より、グルコースオキシダーゼ法における 2-DG の交差反応性のため (7.5 分に最高 102 ± 2 と 11) 注入中は増加した。腓静脈血 IRI 濃度は前値平均 $135 \pm 42 \mu\text{U/ml}$ より、注入開始後 1 分では 68 ± 25 と一旦前値の 50% に低下した後、3~10 分にかけて 5 分で 591 ± 84 と前値の 437%、10 分で 436 ± 87 と前値の 323% の頂値をとるやはり 2 峰性の有意な増加をみた。この反応は、10mg/kg 注入時と同様で、しかもその前値からの増加量は 10mg/kg に比し有意に大きかった。動脈血 IRI 濃度は、前値平均 $14 \pm 7 \mu\text{U/ml}$ より、

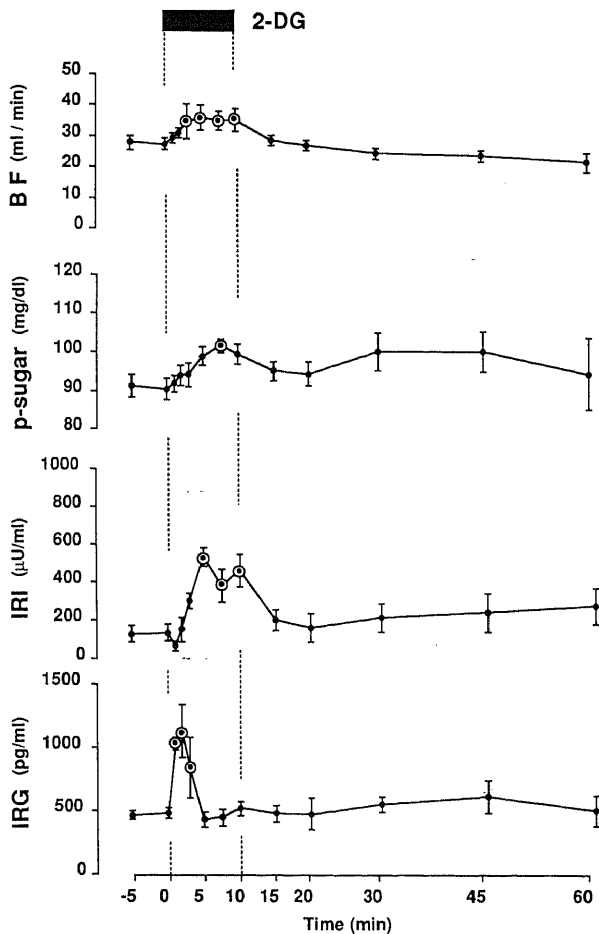


Fig. 2. Effect of 2-deoxyglucose infusion into the pancreatic artery in normal dogs. 2-DG (100 mg/kg body weight) was injected into the pancreatic artery throughout 10 min, and its effect was examined on the levels of BF, PS, IRI, and IRG ($n=4$). For other symbols, refer to the legends of Fig. 1.

注入後半には、7.5 分で頂値 29 ± 7 と有意な増加を示した。腓静脈血 IRG 濃度は、前値平均 $477 \pm 39 \text{pg/ml}$ から、1~3 分にかけて、2 分に 1128 ± 209 と前値の 236% へと急峻に上昇し、その後 2-DG 注入中にもかかわらず 5 分には前値に復した。この反応は、10mg/kg 注入時と同様で、しかもその前値からの増加量は 10mg/kg に比し有意に大きかった。動脈血 IRG 濃度は前値平均 $92 \pm 29 \text{pg/ml}$ で、注入中は 5 分に頂値 113 ± 36 をみなが有意な増加ではなかった。

II. 両側迷走神経切断イヌにおける 2-DG 腓動脈内注入による腓静脈血流量、動脈血血糖値、血中 IRI, IRG 濃度の変動

1. 2-DG 10mg/kg 注入時の変動 (図 3)

2-DG 10mg/kg 注入時 ($n=4$)、血流量は前値平均 $25 \pm 5 \text{ml/min}$ より、注入中のみ約 12% 増加し、実験後半の 60 分には前値に比し有意の低下を示した。血糖値は前値平均 $93 \pm 2 \text{mg/dl}$ より低下傾向を示し、7.5~30 分には (15 分で低値 87 ± 2 をとる) 有意な低下をみた後、上昇した。腓静脈血 IRI 濃度は前値平均 $159 \pm 52 \mu\text{U/ml}$ より、2-DG 注入直後より増加傾向を示し、5 分で 413 ± 71 と前値の 260%、10 分で 723 ± 231 と前値の 455% の頂値をとるやはり 2 峰性の有意な増加反応を示した。動脈血 IRI

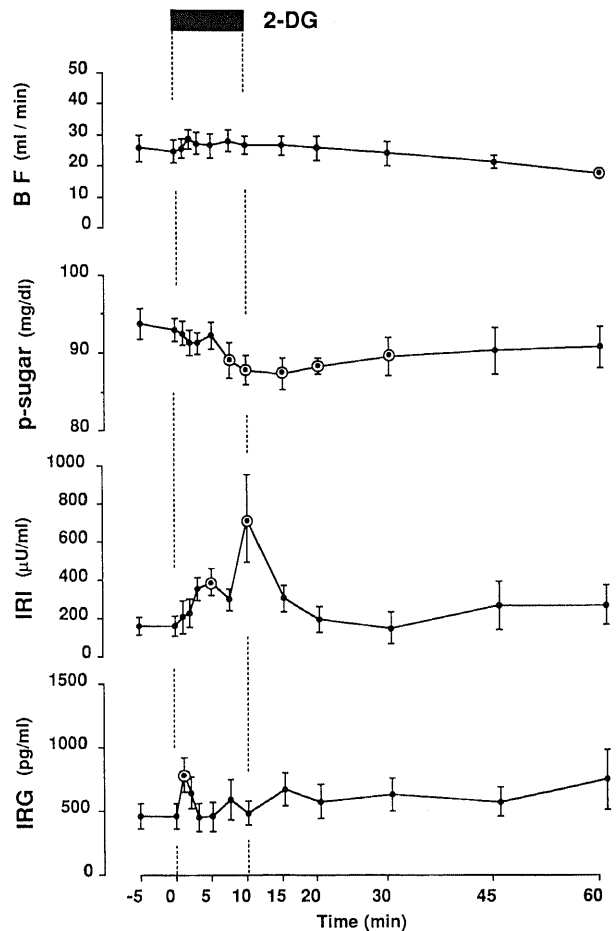


Fig. 3. Effect of 2-deoxyglucose infusion into the pancreatic artery in vagotomized dogs. 2-DG (10 mg/kg body weight) was injected into the pancreatic artery throughout 10 min, and its effect was examined on the levels of BF, PS, IRI, and IRG ($n=4$). For other symbols, refer to the legends of Fig. 1.

濃度は、前値平均 $26 \pm 8 \mu\text{U/ml}$ より、ほとんど変動しなかった。膵静脈血 IRG 濃度は、前値平均 $460 \pm 100 \text{pg/ml}$ から、注入開始 1 分後には、 789 ± 135 と前値の 172% へと急峻に上昇し、その後 2-DG 注入中にもかかわらず 5 分には前値に復した。以後漸増傾向を示し、60 分には 749 ± 235 とその増加は有意となった。動脈血 IRG 濃度は前値平均 $113 \pm 21 \text{pg/ml}$ で、注入中には 3 分で 140 ± 38 の増加傾向をみた。

2. 2-DG 100mg/kg 注入時の変動 (図 4)

2-DG 100mg/kg 注入時 ($n=4$)、血流量は前値平均 $29 \pm 6 \text{ml/min}$ で、3~10 分にかけて、7.5 分で 36 ± 6 と前値の 124% の頂値をとる有意な増加を示し、その後漸減した。血糖値は前値平均 $90 \pm 7 \text{mg/dl}$ より、注入中は 7.5 分に最高 106 ± 4 と約 16% 増加し、以後漸減した。膵静脈血 IRI 濃度は前値平均 $160 \pm 31 \mu\text{U/ml}$ より、注入開始後 1 分では 117 ± 34 と一旦前値の 73% に低下した後、3~10 分にかけて、5 分で 456 ± 89 と前値の 390%、10 分で 438 ± 78 と前値の 374% の頂値をとるやはり 2 峰性の有意な増加反応を示した。動脈血 IRI 濃度は、前値平均 $26 \pm 6 \mu\text{U/ml}$ で、7.5 分に 51 ± 7 と有意な増加を示した。膵静脈血 IRG 濃度は、前値平均 $528 \pm 118 \text{pg/ml}$ から、1~3 分にかけて、2 分に 1366 ± 438 と前値の 259% へと急峻に上昇し、その後 2-DG 注入中

にもかかわらず 5 分にはほぼ前値に復した。動脈血 IRG 濃度は前値平均 $142 \pm 50 \text{pg/ml}$ より、3 分で頂値 181 ± 70 の有意な増加を示した。

Ⅲ. 両側内臓神経切断イヌにおける 2-DG 膵静脈内注入による膵静脈血流量、動脈血血糖値、血中 IRI, IRG 濃度の変動

1. 2-DG 10mg/kg 注入時の変動 (図 5)

2-DG 10mg/kg 注入時 ($n=4$)、血流量は前値平均 $30 \pm 2 \text{ml/min}$ より、7.5 分で頂値 38 ± 6 と前値の 127% の有意な増加を示し以後漸減した。血糖値は前値平均 $91 \pm 4 \text{mg/dl}$ より漸減傾向を示し、20 分以後有意に低下した。膵静脈血 IRI 濃度は前値平均 $140 \pm 46 \mu\text{U/ml}$ より、注入開始後 2 分には 125 ± 41 と一旦前値の 89% に低下した。その後、3 分より急峻に上昇し、5 分 351 ± 57 (前値の 281%)、7.5 分 353 ± 110 (同 282%)、10 分 409 ± 102 (同 327%) と有意に増加し、注入終了後はほぼ前値に復した。動脈血 IRI 濃度は、前値平均 $20 \pm 5 \mu\text{U/ml}$ から一旦やや減少後上昇し、7.5~15 分に (7.5 分で頂値 26 ± 11 をとる) 有意な増加を示した。膵静脈血 IRG 濃度は、前値平均 $512 \pm 70 \text{pg/ml}$ から注入開始後増加し、2 分には頂値 691 ± 185 と前値の 134% をとったが有意ではなかった。動脈血 IRG 濃度は前値平

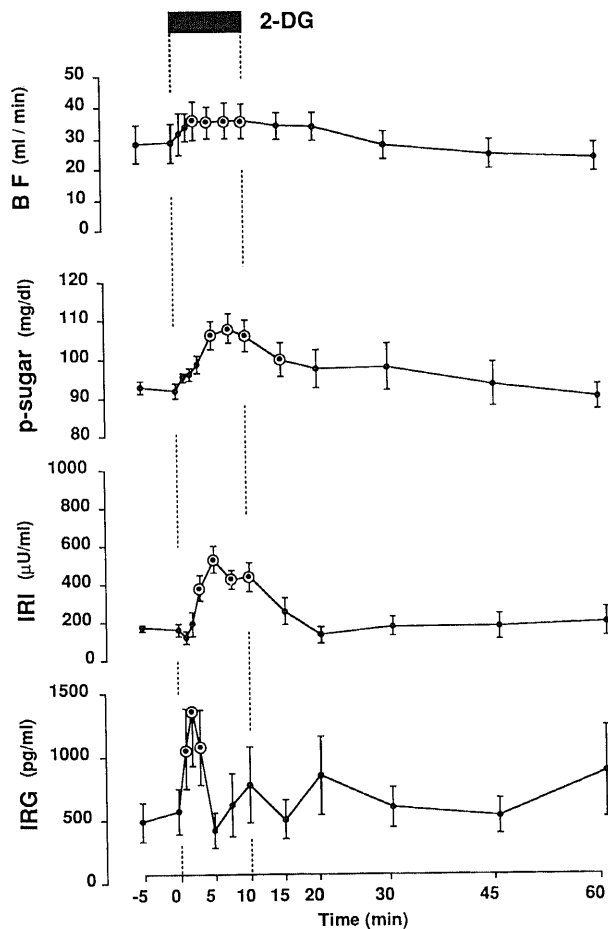


Fig. 4. Effect of 2-deoxyglucose infusion into the pancreatic artery in vagotomized dogs. 2-DG (100 mg/kg body weight) was injected into the pancreatic artery throughout 10 min, and its effect was examined on the levels of BF, PS, IRI, and IRG ($n=4$). For other symbols, refer to the legends of Fig. 1.

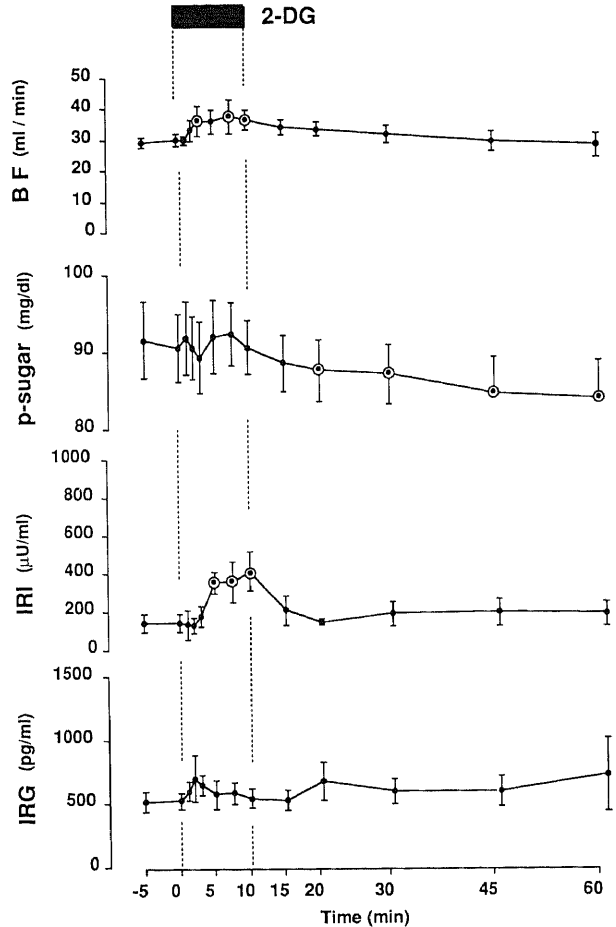


Fig. 5. Effect of 2-deoxyglucose infusion into the pancreatic artery in splanchnicotomized dogs. 2-DG (10 mg/kg body weight) was injected into the pancreatic artery throughout 10 min, and its effect was examined on the levels of BF, PS, IRI, and IRG ($n=4$). For other symbols, refer to the legends of Fig. 1.

均 $135 \pm 42 \text{ pg/ml}$ より、3分で頂値 164 ± 50 と増加傾向をみた。

2. 2-DG 100mg/kg 注入時の変動 (図6)

2-DG 100mg/kg 注入時 ($n=4$)、血流量は前値平均 $29 \pm 3 \text{ ml/min}$ で、3~10分にかけて、(10分で 50 ± 6 と前値の173%の頂値をとる) 有意に増加した後、漸減した。血糖値は前値平均 $94 \pm 2 \text{ mg/dl}$ より、7.5分に最高 103 ± 4 と約9増加した後漸減した。膵静脈血 IRI 濃度は前値平均 $234 \pm 26 \mu\text{U/ml}$ より注入開始後増加し、5分で 710 ± 177 と前値の325%、10分で 683 ± 174 と前値の292%の頂値をとるやはり2峰性の有意な増加反応を示し、さらに注入終了後の15分まで有意な増加が続いた。動脈血 IRI 濃度は、前値平均 $24 \pm 11 \mu\text{U/ml}$ より、7.5分で頂値 55 ± 27 と有意に増加した後、漸減した。膵静脈血 IRG 濃度は、前値平均 $535 \pm 155 \text{ pg/ml}$ から、1分に 790 ± 145 と前値の148%に増加したが、その増加は有意ではなかった。動脈血 IRG 濃度は、前値平均 $165 \pm 114 \text{ pg/ml}$ より、3分で 201 ± 133 の増加傾向をみた。

IV. 膵除神経イヌにおける 2-DG 膵動脈内注入による膵静脈血流量、動脈血血糖値、血中 IRI, IRG 濃度の変動

図には示さないが、2-DG 10mg/kg 注入時 ($n=4$)、血流量、

血糖値、血中 IRI および IRG 濃度は、内臓神経切断イヌとはほぼ同様、同程度に変動した。

V. 各群における生理食塩水膵動脈内注入による膵静脈血流量、動脈血血糖値、血中 IRI, IRG 濃度の変動

図には示さないが、生理食塩水だけを膵動脈内に注入した場合すべての群において (各群 $n=4$)、膵血流量、血糖値は漸減傾向を示し、血中 IRI および IRG 濃度は変化しなかった。

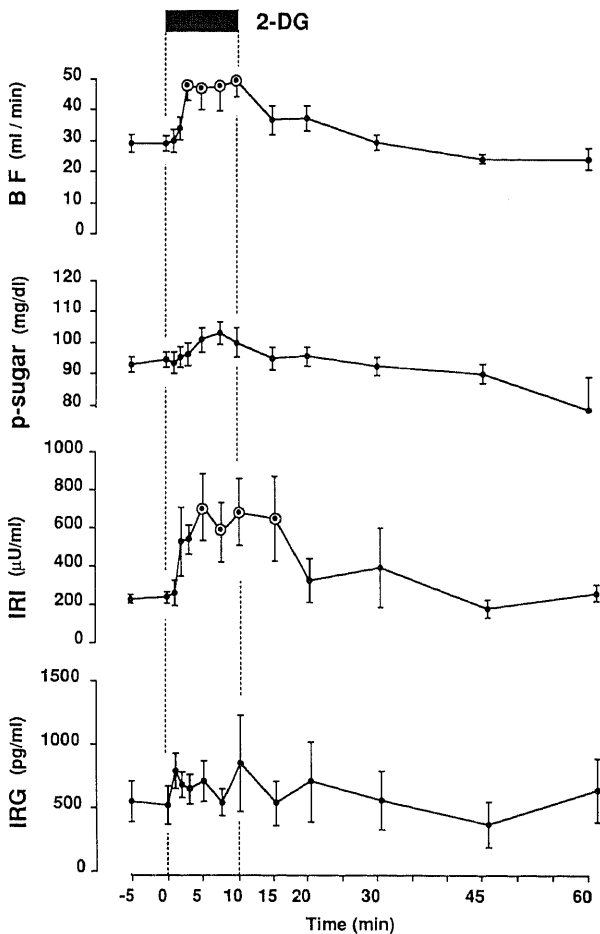


Fig. 6. Effect of 2-deoxyglucose infusion into the pancreatic artery in splanchnicotomized dogs. 2-DG (100 mg/kg body weight) was injected into the pancreatic artery throughout 10 min, and its effect was examined on the levels of BF, PS, IRI, and IRG ($n=4$). For other symbols, refer to the legends of Fig. 1.

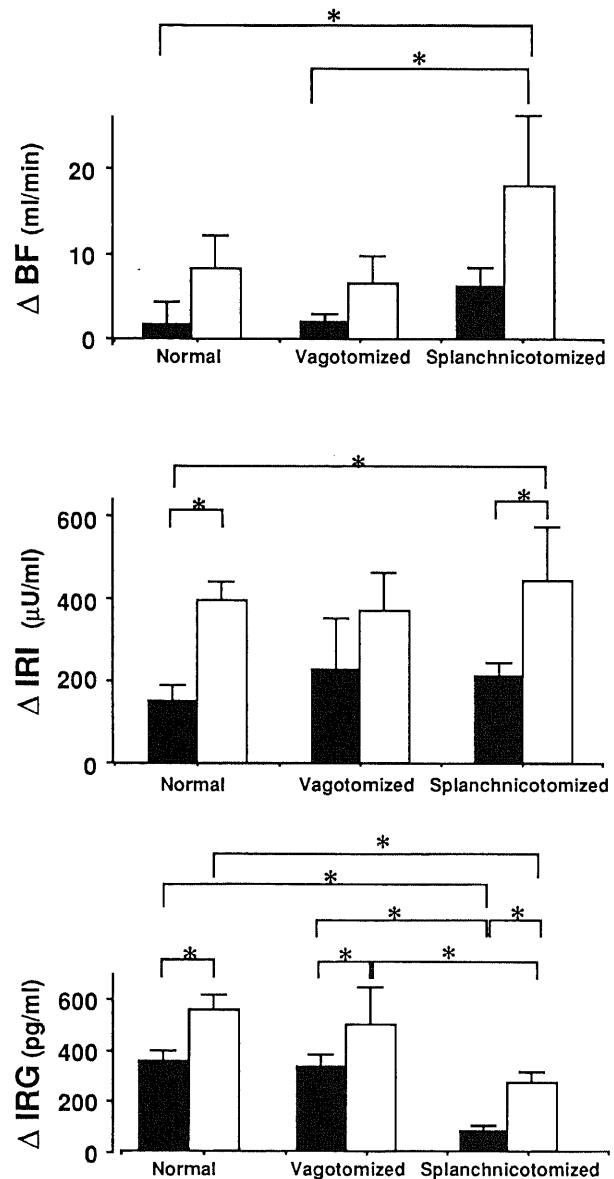


Fig. 7. Incremental changes in the levels of pancreatic blood flow rate (ΔBF), pancreatic venous plasma insulin (ΔIRI), and glucagon (ΔIRG) after intrapancreatic 2-deoxyglucose infusion. 2-DG [10 (■) or 100 (□) mg/kg body weight] was injected into the pancreatic artery throughout 10 min, and its effect was examined on ΔBF at 5 min, ΔIRI at 5 min, and ΔIRG at 1 min after the start of the infusions in normal, vagotomized, and splanchnicotomized dogs ($n=4$ in each group). Incremental change was calculated by subtracting value at each time point from the mean basal value. Each value represents the mean \pm SEM. * $p < 0.05$

VI. 各群間における 2-DG 膵動脈内注入による膵静脈血流量、膵静脈血 IRI, IRG 濃度の変動の比較

1. 各群間における 2-DG 膵動脈内注入による膵静脈血流量の変動の比較 (図 7 上段)

膵静脈血流量の 2-DG 注入後 5 分における前値平均からの増加量は、有意差はみられなかったが用量依存的に高値傾向を示した。また同用量では、内臓神経切断イヌでは正常イヌおよび迷走神経切断イヌに比し (各群 n=4)、有意差はみられなかったが高値傾向を示した。

2. 各群間における 2-DG 膵動脈内注入による膵静脈血 IRI 濃度の変動の比較 (図 7 中段)

膵静脈血 IRI 濃度の 2-DG 注入後 5 分における前値平均からの増加量は、正常イヌ (n=4) および内臓神経切断イヌ (n=4) では用量依存性に高値を示した。一方、迷走神経切断イヌ (n=4) でも用量依存性に高値傾向を示した。また、同用量では、群間に差を認めなかった。

3. 各群間における 2-DG 膵動脈内注入による膵静脈血 IRG 濃度の変動の比較 (図 7 下段)

膵静脈血 IRG 濃度の 2-DG 注入後 1 分における前値平均からの増加量は、全ての群で (n=4) 用量依存性に高値を示した。一方、同用量では、内臓神経切断イヌでは正常イヌおよび迷走神経切断イヌに比し有意に低値を示した。

Ⅶ. 2-DG mg/kg 注入時における膵静脈血および動脈血の 2-DG 濃度 (図 8)

膵静脈における 2-DG 血中濃度は、2 分で頂値 179 ± 63 mg/dl をとった後漸減し、15 分で 13 ± 2 となった。一方、動脈血 2-DG 濃度は、(既に膵静脈血 IRG 濃度が有意に増加している) 1 分では検出されず、3~10 分にかけて約 6 mg/dl で推移し、2-DG 注入終了後の 15 分では 1 mg/dl に低下した。

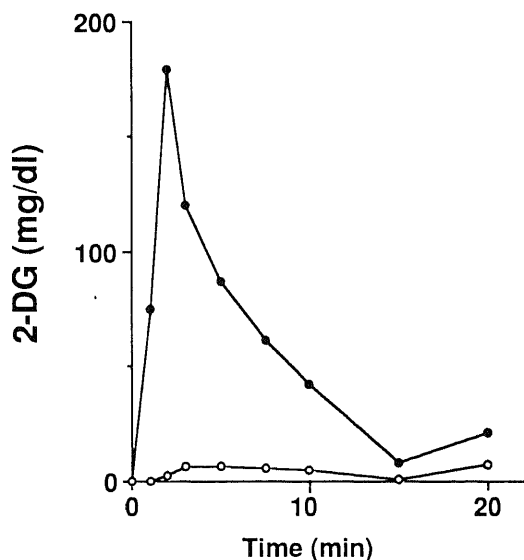


Fig. 8. Changes of plasma 2-deoxyglucose levels induced by 2-DG (10 mg/kg body weight) infusion into the pancreatic artery throughout 10 min in normal dogs (n=2). Plasma 2-DG levels in the pancreatic vein (●) and the femoral artery (○) were measured by a specific enzymatic method. Each value represents the mean value.

考 察

今回の成績を要約すると以下のごとくなる。1) 正常イヌの膵動脈内に 2-DG 10mg/kg (少量) を 10 分間にわたり注入すると、膵静脈血 IRI 濃度は注入開始後 1 分で一度低下後、5 分と 10 分に頂値をみる 2 峰性上昇を示した後、注入終了後は速やかに前値に復した。膵静脈血 IRG 濃度は、注入開始後 1 分に急峻な頂値を示し、注入中にもかかわらず 5 分には前値に復し、その後漸増傾向を示した。膵静脈血流量 (血流量) は 2-DG 注入中わずかに上昇傾向を示した。動脈血血糖値 (血糖値) は注入終了後わずかに増加した。2-DG 100mg/kg (大量) を同様に注入すると、IRI, IRG 反応は同様に認められたが、その増加は少量注入時に比し大きく、血流量は注入中有意に増加した。血糖値は、注入中は少量注入時に比べ、2-DG の交差反応分だけ大きく増加し、注入終了後はわずかに増加傾向を示した。2) 両側迷走神経切断イヌ (横隔膜直下で切断) に少量 2-DG を同様に注入すると、IRI, IRG, 血流量は正常イヌと同様同程度の増加反応を示した。しかし血糖値は 2-DG 注入中から 30 分にかけて有意に低下した。大量 2-DG 注入により IRI, IRG, 血流量は、正常イヌと同様で、少量注入時より大きく増加した。血糖値は、正常イヌと同様の理由で注入中のみ増加したが、注入終了後は増加しなかった。3) 両側内臓神経切断イヌと同様に少量 2-DG を注入すると、IRG は増加傾向を示したが有意でなく、正常イヌおよび迷走神経切断イヌに比し有意の低反応であった。血流量の増加は正常イヌおよび迷走神経切断イヌに比し高値傾向を示した。血糖値は注入終了後有意に低下した。大量 2-DG 注入時には IRI 増加の遷延をみとめた。IRG は増加傾向を示したが有意でなく、正常イヌおよび迷走神経切断イヌに比し有意の低反応であった。血流量の増加は正常イヌおよび迷走神経切断イヌに比し増大傾向を示した。以上の成績中、2-DG の膵局所投与は、IRI のユニークな増加反応を惹起したこと、および交感神経系に依存する IRG 反応を促進したことは興味深い。

さて、このような IRI, IRG 反応の機序について、2-DG の膵局所での作用と中枢自律神経系を介する作用を分別して考える時、2-DG 注入時の膵動脈および全身動脈血中の 2-DG 濃度が問題になる。著者は、2-DG の血中濃度を特異的酵素法により測定したが、さらに今回用いたグルコース測定法 (グルコースオキシダーゼ法) における 2-DG の交差反応性を考慮に入れると、以下のように各動脈血中の 2-DG 濃度が実測あるいは算出される。すなわち、少量 2-DG 注入時には、2-DG 濃度は膵動脈局所では血流量を考慮にいれ約 100 mg/dl と算出され、全身動脈では約 6 mg/dl (実測) であった。大量 2-DG 注入時には、膵動脈局所で約 1000 mg/dl と算出され、全身動脈で約 50~60 (実測) となった。また、100 mg/kg の 2-DG を 10 分間で末梢静脈より注入すると、動脈血中の 2-DG 濃度は約 60~80 mg/dl と測定された。また従来の研究で、GCR 時の IRG およびアドレナリン反応がみられる 2-DG の全身投与量は 50~600 mg/kg であり、多くの場合急速に静脈内投与されているため、その際の 2-DG の全身血中濃度は投与直後に頂値をとりその後急速に低下するものと考えられる。ここで、イヌに 2-DG 100 mg/kg を静脈内に急速投与 (1 分以内) した場合、5 分後の右心房における 2-DG の血中濃度は約 40 mg/dl であったことが報告されている⁴⁾。従って、今回の少量 2-DG 膵動脈内注入時の全身動脈血の 2-DG 濃度 (6 mg/dl) は、前述の 100 mg/kg 急速静脈内投

与時のそれ(40mg/dl程度)⁴⁰⁾に比し著しく低値であった。しかもこの2-DG濃度はグルコース濃度(90mg/dl前後)の約7%であり、グルコースに対する十分な拮抗的阻害効果を示さないと報告されている濃度比(10%以下)¹⁹⁾よりも更に低値であった。これらの事実は、今回の少量2-DG腓胝脈内注入時のIRI, IRG反応が、全身動脈血中2-DGによる中枢神経等の神経内グルコース欠乏を介するものではないことを示唆する。ところで、少量2-DG注入中の腓胝静脈血2-DG濃度が2分以後(注入中にもかかわらず)下降することは、腓胝組織(外分泌部)による2-DGの取り込みが起こった可能性を示唆するが、(腓胝体の1%を占める)膵島でも同様の現象が生じたかは明らかでない。

以上、今回の少量2-DG腓胝脈内注入時のIRI, IRG反応は、中枢神経等の神経内グルコース欠乏を介するものではなく、2-DGの腓胝局所作用によるものであることが示唆された。すなわち、2-DGは腓胝局所で、膵島細胞に直接あるいは腓胝局所自律神経系を介して作用し、今回のIRI, IRG反応を引き起こしたと考えられる。また、IRI, IRG反応挙動の検討には、膵島間相互作用も考慮に入れなくてはならない。以下に、これらの観点から今回のIRI, IRG反応を検討する。

2-DGが示す膵島細胞直接作用の観点から今回の成績を検討すると以下のごとく考えられる。2-DGの腓胝局所注入により、IRI, IRGが用量依存性に増加反応を示したことは、一見この直接作用を支持しているようにみえる。とりわけIRI反応はいずれの膵神経支配下でも用量依存性(または傾向)を示した。しかしながら、2-DGがB細胞に直接作用しIRI分泌を促進するという成績は、哺乳類では、従来の長いインスリン分泌研究過程で一度も報告されたことはなく、遊離膵細胞周辺灌流実験および遊離膵灌流実験のいずれにおいても否定されてきた。念のため、著者はラット遊離膵灌流実験を行なったが、2-DGのIRI分泌刺激効果は全く認められなかった(成績未掲載)。またWeirら¹⁸⁾は、ラット遊離膵灌流において、動脈側グルコース濃度を100mg/dlにし、並行して2-DG 80mg/dlを15分間注入した時、注入中は静脈側IRG放出増加が持続して認められ、しかもIRI分泌が低下し続けたと報告しているが、この成績と今回の成績はIRGおよびIRIの反応挙動が異なる。

次に、膵島細胞間の相互作用の観点から今回の成績をみると、1~3分で分泌されたIRGが、後続する3~10分でのIRI分泌を刺激した可能性も考えられるが(グルカゴンによるインスリン分泌刺激)⁴⁶⁾、しかし、2-DG少量注入時の全身動脈血IRG濃度の増加はわずかで、この可能性は否定的である。一方、一度上昇したIRG分泌が、2-DGの注入中であるにもかかわらず速やかに減少した機序として、後から増加したIRI分泌が、IRG分泌を抑制したと説明できるかもしれない(膵島内因性インスリンによるグルカゴン分泌抑制)⁴⁾。いずれにせよ2-DG腓胝局所注入により最初にIRG分泌が刺激され、続いてIRI分泌が亢進する現象を、膵島細胞間の相互作用の観点だけから説明することには無理がある。

腓胝局所の神経機構の観点から今回のIRI, IRG分泌成績を検討すると興味深い事実がいくつか見い出せる。第1に、2-DG腓胝局所投与によるIRG分泌が内臓神経切断により著減した事実は、このIRG分泌が交感神経支配下にあり、しかもその節前機構に大きく依存することを示す。膵局所低血糖時の膵局所交感神経系作動に関しては、イヌ膵灌流においてグルコースを含

む灌流液をグルコースを含まない灌流液に置換すると、膵から灌流液中へのNAd放出がみられると報告されている⁴⁶⁾。著者は、生体内膵局所実験である今回の検討で、膵静脈において、少量2-DG注入中には最高47pg/mlの、大量2-DG注入中には最高198のNAd濃度の上昇を認めた(成績未掲載)。この時の膵静脈血中の2-DG濃度は、前者で約100mg/dl、後者で約500~600であった。しかし、Havelら⁵⁰⁾は、膵静脈において1580mg/dl程度と算出される高濃度の2-DGを膵動脈内に投与したところ、膵静脈血NAd濃度の増加は50pg/ml程度にすぎないと述べている。いずれにせよ本実験において、2-DGの膵動脈内投与が膵内交感神経節後線維末梢からのNAdの放出を引き起こし、そのNAdが α アドレナリン受容体(α_2 サブタイプ)と β アドレナリン受容体(β_2 サブタイプ)を介しIRG分泌を惹起したと考えられる。本実験における早期のIRG分泌が、1~3分の一過性にみられた理由は不明であるが、前述の膵島細胞間相互作用(インスリンによるグルカゴン分泌抑制)の結果である可能性は残る。さらに本実験系では、2-DGが節後神経細胞に到達せず節後線維末梢にのみ作用した結果、NAdの放出が短時間しかおこらず、そのためIRG分泌刺激が一過性となった可能性がある。第2に、2-DG腓胝局所投与によるIRI分泌が、迷走神経切断によって影響を受けなかったことは興味深い。膵迷走神経の節後神経節は膵内にあることより、本実験系では2-DGがこの膵局所神経節に作用しこの特徴あるIRI分泌を惹起した可能性がある。さらにIRI分泌が1分で一過性に抑制され、IRG分泌が1分で刺激されたことは、2-DGにより興奮した交感神経系の α_2 受容体を介する効果が、この時相では前景にでたものとも解釈できる。ここで、IRI分泌が3~10分上昇する際には膵迷走神経の興奮が関与したと考えられるが、大量の2-DG注入により、2-DGの中枢神経に対する作用による効果がみられる状況下で(全身血の2-DG濃度は約60mg/dl)、正常イヌと迷走神経切断イヌとの間に差がなかったことより、このIRI分泌には迷走神経節前機構は大きな役割を果たしていないと想定される。一方で、内臓神経切断イヌに大量2-DGと投与した時みられたIRI分泌亢進の遷延の機序としては、内臓神経切断によるNAdの α_2 受容体を介するIRI分泌抑制効果の解除が最も考えられる。一方、2-DGによるIRI分泌刺激が β_2 受容体を介する効果であるとする、このIRIの反応挙動は説明がつかない。このことも、今回のIRI分泌における膵迷走神経の関与を支持する。事実、Karlssonら⁴⁶⁾は、マウスに2-DG全身投与した際のIRI分泌はコリン作動性機構により惹起されると述べている。今回の2-DG生体内膵局所投与実験の成績を2-DGを用いた諸家の遊離膵灌流実験の知見と比較すると、IRI分泌はもとよりIRG分泌についても相違点が目立つが、それらの解釈は容易でない。このような相違がでた理由として、遊離膵灌流実験では、交感神経節後線維の末梢のみしか膵に存在しないこと、長時間の体外循環により膵内神経機構が機能的障害に陥っている可能性があることなど、神経機構が生体と異なっているためと想定できる。しかし、遊離膵灌流実験と同じ神経機構を有する除神経膵犬での検討でも、遊離膵灌流実験と異なるIRI分泌反応をみたので、その解釈は今後の検討に待たねばならない。

2-DG腓胝局所投与により膵血流量が増加し、しかもその増加量は用量依存的に高値傾向を示したことは興味深い。膵迷走神経の膵血流量に関する効果については、迷走神経電気刺激によ

り膵血流量が増加すること³⁰、アセチルコリンが膵血流量増加作用を示すこと³¹、膵迷走神経には血流量増加作用を有するVIP含有線維があること³²、などの事実が知られているので、膵迷走神経の賦活が本実験での血流量増加に関与した可能性は高い。一方、交感神経系賦活の観点からは、膵を含む腹部内臓の血流量は α_1 受容体刺激により減少、 β_2 受容体刺激により増加することが知られている。本実験において、内臓神経切断イヌでは正常イヌおよび迷走神経切断イヌに比し2-DG投与による血流量増加の高値傾向を示したが、この機序としては、内臓神経切断により α_1 受容体を介する血流量抑制効果が解除したためと考えられる。また、グルコース³³およびキシリトール³⁴投与においても膵血流量が増加することが知られており、2-DGによる膵血流量増加作用の機序としてその膵血管平滑筋に対する直接効果も否定できず、今後の検討にまたねばならない。

2-DG膵局所投与による血糖値の変動もまた興味深い。迷走神経切断イヌで、少量2-DGを注入中の7.5分以降に血糖値は有意に低下し、その後30分まで有意な低下が持続したが、この機序は次のように考えることができる。すなわち、膵静脈血2-DG濃度および門脈血流量と膵血流量を考慮にいれ計算すると、門脈血2-DG濃度は約10mg/dlとなる。この濃度の2-DGが肝門脈域に存在するグルコース受容体³⁵に作用し、グルコース受容体から中枢に求心性情報が送られ、反射的に肝交感神経系を賦活して肝からの糖放出を促す可能性がある。迷走神経切断イヌではこの求心路が遮断されることにより、この血糖の低下に関与した可能性がある。事実、教室の伊藤³⁶は、肝門脈グルコースセンサーがわずか12~18mg/dlの門脈血グルコース濃度の変化を感知すると報告しており、上記の機序も十分に想定させる。

最後に今回の成績は、GCRにおいて重要な役割を果たす膵内分泌機構が、膵局所自律神経系の強い影響を受けることを明らかに示している。とりわけ2-DGが早期IRI分泌を惹起するという事実は、従来の大量2-DG全身投与を用いたGCR機構の研究における諸家の成績の解釈に注意を喚起することになる。そして、糖尿病などにおける自律神経系(とりわけ交感神経系)障害は、血糖降下に対するIRG分泌不全により低血糖の遷延および重症化をもたらすことになる。著者の成績は、これら血糖調節機構におけるこのような自律神経系の関与を、2-DGという手段を用いて明らかにしたものと考えたい。

結 論

血糖拮抗性調節(glucose counterregulation)における膵局所自律神経系の果たす役割をみるため、中枢の自律神経系を興奮させないと考えられる少量の2-DGを、麻酔イヌの膵動脈内に局所的に投与することにより検討を行った。さらに、惹起された反応に対する外来性自律神経機構の関与を検討するため、正常イヌ、迷走神経切断イヌ、内臓神経切断イヌおよび膵除神経イヌを用いた検討を行ない、また、その用量依存性をみるため、大量2-DG投与による検討を行い以下の成績を得た。

1. 正常イヌの膵動脈内に2-DG 10mg/kg(少量)を10分間にわたって注入にすることにより、膵静脈血IRI濃度は注入開始直後1分で低下し、その後5分と10分に頂値をみる2峰性の上昇を示し、注入終了後はすみやかに前値に復した。同静脈血IRG濃度は、注入開始直後1分に急峻な頂値を示し、5分には前値に復した。膵静脈血流量(血流量)および動脈血血糖値(血

糖値)は、2-DG注入中わずかに上昇をみたが有意ではなかった。注入中の全身血中2-DG濃度は血糖値に比し著しく低値であることより、これらの反応は2-DGが膵局所にて作用した結果と考えられた。2-DG 100mg/kg(大量)投与では、血流量、IRI、IRG反応は上記と同様に応答したが、その程度は少量投与に比し大きかった。

2. 両側迷走神経切断イヌ(横隔膜直下)では、血流量、IRI、IRGは正常イヌと同様同程度の増加反応をみた。この事実は、迷走神経節前線維が2-DGの膵局所作用に影響しないことを示す。また、少量投与では血糖値の注入中から30分にかけての有意な低下をみた。

3. 両側内臓神経切断イヌに少量2-DGを注入すると、正常イヌに比し、血流量の増加傾向(迷走神経切断イヌに比しても)および血糖値の注入終了後の低下傾向を示し、また大量2-DG注入時には膵静脈血IRI濃度の増加の遷延をみとめた。また膵静脈血IRG濃度は増加傾向を示したが有意でなく、正常イヌ、迷走神経切断イヌに比し有意の低反応をみた。すなわち、これらの反応には、交感神経系の関与がみとめられた。この事実は、2-DGが膵局所交感神経を介して(少なくとも一部は)作用したことを示す。膵除神経イヌにおいては、内臓神経切断イヌとはほぼ同様な成績を得た。

以上、IRIのユニークな増加反応、交感神経系に依存する一過性のIRG増加反応、および膵血流量の増加をみた。これらの2-DG膵局所投与による成績は、膵ホルモン分泌および膵血流量に対する膵局所自律神経系の強力な支配を示唆する。また、2-DGが早期IRI分泌を惹起するという事実は、従来の大量2-DG全身投与を用いたGCR機構の研究における諸家の成績の解釈に注意を喚起することになる。そして、臨床的には、糖尿病などにおける自律神経系(とりわけ交感神経系)の障害が血糖調節を困難にすることを示唆する。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました恩師竹田亮祐教授に深謝いたします。また、終始直接御指導頂いた金沢大学保健管理センター中林 肇教授ならびに本研究に御協力頂いた金沢大学第二内科第二研究室のメンバー各位に深く感謝致します。なお本論文の要旨の一部は、第66回日本内分泌学会総会(1993, 金沢)および第22回グルカゴン研究会(1993, 東京)において発表した。

文 献

- 1) Cryer, P. E.: Glucose counterregulation in man. *Diabetes*, 30, 261-264 (1981).
- 2) Horwitz, D. L., Rubenstein, A. H., Reynolds, G. D., Molnar, G. D. & Yanaihara, N.: Prolonged suppression of insulin release by insulin-induced hypoglycemia: Demonstration by C-peptide assay. *Hormon. Metab. Res.*, 7, 449-452 (1975).
- 3) Gale, E. A. M., Bennet, T., Macdonald, I. A., Holst, J. J. & Matthews, J. A.: The physiological effects of insulin of insulin-induced hypoglycemia in man: responses at differing levels of blood glucose. *Clin. Sci.*, 65, 263-271 (1983).
- 4) Samols, E. & Harrison, J.: Intraislet negative insulin-glucagon feedback. *Metabolism*, 25, 1443-1447 (1976).
- 5) Liljenquist, J. E., Horwitz, D. L., Jennings, A. S.,

- Chiasson, J.-L., Keller, U. & Rubenstein A. H.: Inhibition of insulin secretion by exogenous insulin in normal man as demonstrated by C-peptide assay. *Diabetes*, **27**, 563-570 (1978).
- 6) Woods, S. C. & Porte, D. Jr.: Effect of intracisternal insulin on plasma glucose and insulin in the dog. *Diabetes*, **24**, 905-909 (1975).
- 7) Gauthier, C. & Hetenyi, G. Jr.: Origin of glucose released in the regulatory response against hypoglycemia. *Metabolism*, **31**, 147-153 (1982).
- 8) Wick, A. N., Drury, D. R., Nakada, H. I. & Wolfe, J. B.: Localization of the primary metabolic block produced by 2-deoxyglucose. *J. Biol. Chem.*, **224**, 963-969 (1957).
- 9) Havel, P. J. & Taborsky, G. J. Jr.: The contribution of the autonomic nervous system to changes of glucagon and insulin secretion during hypoglycemic stress. *Endocr. Rev.*, **10**, 332-350 (1989).
- 10) Kilo, C., Devrim, S., Bailey, R. & Recant, L.: Studies in vivo and in vitro of glucose-stimulated insulin release. *Diabetes*, **16**, 377-385 (1967).
- 11) Zawalich, W. S., Dye, E. S., Rognstad, R. & Matschinsky, F. M.: On the biochemical nature of triose- and hexose-stimulated insulin secretion. *Endocrinology*, **103**, 2027-2034 (1978).
- 12) Larson, B. A., Williams, T. L., Schowers, M. O. & VanderLaan, W. P.: Effect of 2-deoxyglucose on [³²P] phosphate and insulin release from perfused rat pancreatic islets. *Diabetologia*, **17**, 117-120 (1979).
- 13) Aleyassine, H.: Energy requirements for insulin release from rat pancreas in vitro. *Endocrinology*, **87**, 84-89 (1970).
- 14) Vance, J. E., Buchanan, K. D., Chltoner, D. R. & Williams, R. H.: Effect of glucose concentration on insulin and glucagon release from isolated islets of Langerhans of the rat. *Diabetes*, **17**, 187-193 (1968).
- 15) Coore, H. G. & Randle, P. J.: Regulation of insulin secretion studied with pieces of rabbit pancreas incubated in vitro. *J. Biochem.*, **93**, 66-78 (1964).
- 16) Malaisse, W., Malaisse-Lagae, F. & Wright, P. H.: A new method for the measurement *in vitro* of pancreatic insulin secretion. *Endocrinology*, **80**, 99-108 (1967).
- 17) Grodsky, G. M., Batts, A. A., Bennett, L. L., Vcella, C., McWilliams, N. B. & Smith, D. F.: Effect of carbohydrates on secretion of insulin from isolated rat pancreas. *Am. J. Physiol.*, **205**, 638-644 (1963).
- 18) Weir, G. C., Knowlton, S. D. & Martin, D. B.: Glucagon secretion from the perfused rat pancreas. Studies with glucose and catecholamines. *J. Clin. Invest.*, **54**, 1403-1412 (1974).
- 19) Wasada, T., Dobbs, R. E., Harris, V. & Unger, R. H.: Effect of 2-deoxy-D-glucose on plasma somatostatin levels in conscious dogs. *Endocrinology*, **108**, 1222-1227 (1981).
- 20) Ronner, P.: 2-deoxyglucose stimulates the release of insulin and somatostatin from the perfused catfish pancreas. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **81**, 276-283 (1991).
- 21) Martin, D. B., Renold, A. E. & Dagenais, Y. M.: An assay for insulin-like activity using rat adipose tissue. *Lancet*, **12**, 76-77 (1958).
- 22) Smyth, G. A., Grunstein, H. S., Bradshaw, J. E., Nicholson, M. V. & Compton, P. J.: Relationships between brain noradrenergic activity and blood glucose. *Nature*, **308**, 65-66 (1984).
- 23) Matsunaga, H., Iguchi, A., Yatomi, A., Uemura, K., Gotoh, M., Mano, T. & Sakamoto, N.: The relative importance of nervous system and hormones to the 2-deoxyglucose-induced hyperglycemia in fed rat. *Endocrinology*, **124**, 1259-1264 (1989).
- 24) Pascoe, W. S., Smythe, G. A. & Storlien, L. H.: 2-Deoxy-D-glucose-induced hyperglycemia: role for direct sympathetic nervous system activation of liver glucose output. *Brain Research*, **505**, 23-28 (1989).
- 25) Bloom, S. R., Edwards, A. V. & Vaughan, N. J. A.: The role of the sympathetic innervation in the control of plasma glucagon concentration in the calf. *J. Physiol.*, **233**, 457-466 (1973).
- 26) Kerr, D. S., Hansen, I. L. & Levy, M. M.: Metabolic and hormonal responses of children and adolescents to fasting and 2-deoxyglucose. *Metabolism*, **32**, 951-959, (1983).
- 27) Honjin, R.: The innervation of the pancreas of the mouse, with special reference to the structure of the peripheral extension of the vegetative nervous system. *J. Comp. Neurol.*, **104**, 331-372 (1956).
- 28) Fujita, T. & Kobayashi, S.: Proposal of neurosecretory system in the pancreas. An electron microscope study in dog. *Arch. Histol. Japan*, **42**, 277-295 (1979).
- 29) Miller, R. E.: Pancreatic neuroendocrinology: Peripheral neural mechanism in the regulation of the islets of Langerhans. *Endocr. Rev.*, **2**, 471-494 (1981).
- 30) Kaneto, A., Miki, E. & Kosaka, K.: Effects of vagal stimulation on glucagon and insulin secretion. *Endocrinology*, **95**, 1005-1010 (1974).
- 31) Kaneto, A. & Kosaka, K.: Stimulation of glucagon and insulin secretion by acetylcholine infused intrapancreatically. *Endocrinology*, **95**, 676-681 (1974).
- 32) Bloom, S. R. & Edwards, A. V.: Pancreatic endocrine response to stimulation of the peripheral ends of the vagus nerves in conscious calves. *J. Physiol.*, **315**, 31-41 (1981).
- 33) Ahrén, B., Taborsky, G. J. Jr. & Porte, D. Jr.: Neuropeptidergic versus cholinergic and adrenergic regulation of islet hormone secretion. *Diabetologia*, **29**, 827-836 (1986).
- 34) Dunning, B. E., Ahrén, B., Veith, R. C., Bottcher, G., Sundler, F. & Taborsky G. J. Jr.: Galanin: a novel pancreatic neuropeptide. *Am. J. Physiol.*, **251**, E127-E133 (1986).
- 35) Holst, J. J., Fahrenkrug, J., Knuhtsen, S., Jensen, S. L., Poulsen, S. S. & Nielsen, O. V.: Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in the pig pancreas: Role of VIPergic

- nerves in control of fluid and bicarbonate secretion. *Regul. Pept.*, **8**, 245-259 (1984).
- 36) Knuhtsen, S., Holst, J. J., Jensen, S. L., Knigge, U. & Nielsen, O. V.: Gastrin-releasing peptide: Effect on exocrine secretion and release from isolated perfused porcine pancreas. *Am. J. Physiol.*, **248**, G281-G286 (1985).
- 37) Szecówka, J., Lins, P. E. & Takemoto, K. & Ffendić, S.: Effect of porcine intestinal heptapeptide and intestinal polypeptide on insulin and glucagon secretion in rats. *Endocrinology*, **112**, 1469-1473 (1983).
- 38) McDonald, T. J., Ghatei, M. A., Bloom, S. R., Adrian, T. E., Mochizuki, T., Yanaihara, C. & Yanaihara, N.: Dose-response comparisons of canine plasma gastroenteropancreatic hormone responses to bombesin and the porcine gastrin-releasing peptide (GRP). *Regul. Pept.*, **5**, 125-137 (1983).
- 39) Inoue, K., Kawano, T., Shima, K., Kim, T., Suzuki, T., Tobe, T., Takeyama, M. & Yajima, H.: Effect of synthetic chicken vasoactive intestinal peptide on pancreatic blood flow and on exocrine and endocrine secretions of the pancreas in dogs. *Dig. Dis. Sci.*, **28**, 724-732 (1983).
- 40) Müller, W. A., Faloona, G. R. & Unger, R. H.: The effect of experimental insulin deficiency on glucagon secretion. *J. Clin. Invest.*, **50**, 1992-1999 (1971).
- 41) Raghu, P. K., Taborsky, G. J. Jr., Paquette, T. L., Halter, J. B. & Palmer, J. P.: Evidence for noncholinergic ganglionic neural stimulation of B cell secretion. *Am. J. Physiol.*, **247**, E265-E270 (1984).
- 42) Karlsson, S. Bood, M. & Åhrén, B.: The mechanism of 2-deoxy-glucose-induced insulin secretion in the mouse. *J. Auton. Pharmac.*, **7**, 135-144 (1987).
- 43) Herbert, V., Lau, K. S., Gottlieb, C. W. & Bleicher, S. J.: Coated charcoal immunoassay of insulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **25**, 1375-1384 (1965).
- 44) Faloona, G. R. & Unger, R. H.: Glucagon. *In* B. M. Jaffe & H. R. Behman (eds.), *Methods of Hormone Radioimmunoassay*, 1st ed., p317-330, Academic Press, New York, 1974.
- 45) 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).
- 46) Akabayashi, A., Saito, T. & Kato, T.: An enzymatic microassay method for deoxyglucose and deoxyglucose 6-phosphate. *Biomed. Res.*, **10**, 173-177 (1989).
- 47) Taborsky, G. J. Jr., Paquette, T. L., Pfeifer, M. A. & Gingerich, R. L.: Pentobarbital suppresses basal and reflexive pancreatic polypeptide release in dogs. *Am. J. Physiol.*, **249**, E577-E583 (1985).
- 48) Samols, E., Marri, G. & Masks, V.: Promotion of insulin secretion by glucagon. *Lancet*, **2**, 415-416 (1965).
- 49) Christensen, N. J. & Iversen, J.: Release of large amounts of noradrenalin from the isolated perfused canine pancreas during glucose deprivation. *Diabetologia*, **9**, 396-399 (1973).
- 50) Havel, P. J., Veith, R. C., Dunning, B. E. & Taborsky, G. J. Jr.: Pancreatic noradrenergic nerves are activated by neuroglucopenia but not by hypotension or hypoxia in the dog. *J. Clin. Invest.*, **82**, 1538-1545 (1988).
- 51) 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).
- 52) Jansson, L. & Hellerström, C.: Stimulation by glucose of the blood flow to the pancreatic islets of the rat. *Diabetologia*, **25**, 45-50 (1983).
- 53) Kuzuya, T. & Kanazawa, Y.: Studies on the mechanism of xylitol-induced insulin secretion in dogs. Effect of its infusion into the pancreatic artery, and the inhibition by epinephrine and diazoxide of xylitol-induced hyperinsulinaemia. *Diabetologia*, **5**, 248-257 (1969).
- 54) Niijima, A.: Glucose-sensitive afferent nerve fibers in the hepatic branch of the vagus nerve in guinea pig. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **157**, 690-700 (1969).
- 55) 伊藤利之: 門脈内グルコース出現時の神経性インスリン分泌とその生理学的意義. *十全医会誌*, **102**, 680-695 (1993).

Pancreatic Hormone Responses to 2-deoxyglucose in the in situ Perfused Canine Pancreas: Involvement of the Local Neural System Takeshi Takakuwa, Department of Internal Medicine (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med Soc., **102**, 1021—1032 (1993)

Key words 2-deoxyglucose, insulin, glucagon, blood flow, pancreatic innervation

Abstract

An important role of pancreatic hormones has been indicated in the glucose counterregulation (GCR). Systemic application of 2-deoxyglucose (2-DG) causes glucopenia in the central nervous system and the endocrine pancreas as well as other organs. In this study, the effect of 2-DG infused locally into the pancreatic artery on insulin (IRI), glucagon (IRG) secretions, and pancreatic venous blood flow rate (BF) was evaluated in normal, subdiaphragmatic vagotomized, splanchnicotomized, and pancreatic denervated dogs anesthetized with pentobarbital. The results were as follows; (1) In normal dogs, intrapancreatic infusion of 10 mg/kg·BW for 10 min (small dose) increased plasma 2-DG concentration by as low as 6 mg/dl in the systemic circulation, suggesting the effect of the drug is localized to the pancreas in this dose usage. Plasma IRI concentrations in the pancreatic vein decreased transiently from a mean basal level of $141 \pm 28 \mu\text{U/ml}$ (mean \pm SEM) to 119 ± 31 at 2 min after the start of the infusion, and thereafter increased significantly, exhibiting peaks at 5 and 10 min, and returning to the basal level at 15 min. Plasma IRG levels in the vein increased promptly and significantly from a mean basal of $553 \pm 122 \text{ pg/ml}$ to a peak of 887 ± 163 at 1 min and returned to the basal level at 5 min during the ongoing 2-DG infusion. BF and systemic arterial plasma sugar (PS) levels increased slightly but insignificantly during the infusion. Intrapancreatic infusion of 100 mg/kg·BW of 2-DG for 10 min (large dose) induced similar responses of IRI and IRG to those during the small dose infusion, but the responses were greater. BF increased largely and significantly during the infusion. (2) In bilaterally vagotomized dogs, the small dose infusion induced similar responses of IRI, IRG, and BF to those seen in normal dogs, but PS levels decreased significantly from 7.5 to 30 min. The large dose infusion evoked greater IRI, IRG, and BF responses than the small dose infusion did, and the responses corresponded to those observed in normal dogs. (3) In bilaterally splanchnicotomized dogs, the small dose infusion induced similar responses of IRI, and a small and insignificant increase of IRG, compared with those observed in normal and vagotomized dogs. BF increased insignificantly compared to normal and vagotomized dogs, and PS levels decreased significantly after the infusion. The large dose infusion elicited a prolonged increase of IRI. IRG levels also tended to rise, and became slightly larger than those elicited by the small dose infusion, but significantly smaller than those observed in normal and vagotomized dogs subjected to the large dose infusion. BF levels showed a greater but insignificant increase than those in normal and vagotomized dogs, and PS levels did not increase after the infusion. (4) In pancreatic denervated dogs, changes of IRI, IRG BF, and PS in both infusions corresponded to those in splanchnicotomized dogs. These results indicated that the intrapancreatic 2-DG infusions evoked unique IRI responses unrelated to the extrinsic pancreatic innervation, and IRG responses related to the presynaptic sympathetic innervation, suggesting an important role of the pancreatic intrinsic innervation in the regulation of glucagon and insulin secretion in GCR.