

Neurogenic Insulin Secretion Caused by an Intraportal Glucose Appearance and its Physiological Significance

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/2297/8476

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

金沢大学医学部内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

伊 藤 利 之

生体にとって食物摂取時に適切なタイミングで適切な量のインスリン分泌が行われることは代謝学上重要である。この点、食後に門脈内に出現するグルコースをモニターする機構として、行動学的および電気生理学的実験により肝・門脈域のグルコース・センサーの存在が知られている。本機構は肝迷走神経を介して中枢神経系へ求心性情報を送り、この情報はさらに遠心性に迷走神経を介して脾に到達することが、電気生理学的に観察されている。しかしながら、このような神経性化学モニター機構が、生体においてインスリン分泌を含め、どのような生理学的役割を果たすについては、今日なお明らかでない。そこで、著者は全身血糖値を変化させない微量のグルコースを門脈内に注入した際の、神経性膵内分泌応答とその糖恒常性に果たす役割につき検討した。雑種成熟イヌを用い、ペントバルビタール麻酔下に、既報の生体内局所 (in situ) 脾動静脈循環システムを作製した。第1の実験として、D-グルコース (3mg/kg・体重) を等張溶液として門脈内に4分間注入した。採血はグルコース注入前-12, -10, -8, -6, -4, -2, 0, と注入開始後1, 2, 3, 4, 5, 7.5, 10分に行った。正常のイヌにおける注入では (n=6), 動脈血血糖値は注入前平均 $95 \pm 2 \text{mg/dl}$ (mean \pm SE) より、注入中および後に有意に変動しなかった (その際、門脈血血糖値は前値より $12 \sim 18 \text{mg/dl}$ 増加した)。にもかかわらず、脾静脈血漿中のインスリン (immunoreactive insulin, IRI) 濃度は前値平均 $219 \pm 20 \mu\text{U/ml}$ より、グルコース注入開始2分後に平均前値の1.5倍の 325 ± 44 にまで急峻に上昇し ($p < 0.05$), 3分には 284 ± 17 と高値を持続した後 ($p < 0.01$) 5分には前値に復した。この際、大腿動脈血中IRI濃度は有意に変動しなかった。このような門脈内グルコース出現に同期した、血糖値に依存しない神経性インスリン分泌の求心性経路を明らかにするため、自律神経の肝臓枝を肝門部周囲で剝離切断した肝除神経イヌを作製した (n=5)。この群のイヌに同様のグルコース門脈内注入を行うと、脾静脈血IRI濃度はグルコース注入中の2, 3分でわずかに約 $20 \mu\text{U/ml}$ の増加を示したのみであった。さらに、求心性および遠心性経路遮断に相当する横隔膜直下での迷走神経の腹・背側枝切断イヌでは (n=5), このグルコース注入により脾静脈血IRI濃度は全く変動しなかった。第2の実験として、門脈内グルコース出現に伴う神経性インスリン分泌の生理学的役割を検討するため、D-グルコース 500mg を等張溶液として正常のイヌの門脈内に30分間持続的に注入した (n=7)。その結果、この量のグルコース注入では動脈血血糖値は注入開始10分にわずかに 2mg/dl 上昇したのみで、以後はグルコース持続注入にもかかわらず減少傾向を示した。その際、脾静脈血IRIは5分に頂値をもつ明らかな早期分泌と、20分以降の後期分泌の2峰性を示した。一方、同量のグルコースを大腿静脈内に30分間持続注入すると (n=5), 動脈血血糖値は徐々に上昇し続け30分には前値より $14 \pm 5 \text{mg}$ 増加し、脾静脈血IRIはこれに伴い徐々に上昇した。以上の事実は、糖摂取の腸相のごく初期に相当する門脈内グルコース出現時に、迅速な神経性インスリン分泌がおこること、そしてこの早期インスリン分泌はその後に門脈内に入ってくるグルコースの代謝に大きな影響を与えることを示す。従って、このような肝・門脈域グルコース・センサーと迷走神経機構を介する肝-脾島連関は、摂食時の糖代謝制御に重要な役割を果たしていると考えられる。

Key words insulin, hepatportal glucose sensor, vagal nerve, early insulin secretion, glucose homeostasis

グルコースは生体にとって重要なエネルギー源のひとつであり、消化管から吸収されるとまず肝に到達し、その後各種の組織にて利用される。一方、インスリンは膵島B細胞より放出され、肝を経てインスリン感受性組織 (筋、脂肪組織など) に到達し、作用を発揮する。そして肝、筋などにおけるグルコース代謝には必須のホルモンである。そこで食物 (特に糖質) 摂取時に生体にとって適切な量のインスリンが適切なタイミングで放出されることが重要となるが、このような調節機構の解明は今日

なお十分に行われていない。

周知のごとく、膵からのインスリン分泌は、グルコースやアミノ酸などの栄養素により直接刺激されるが、一方で副交感神経系、交感神経系の強い支配下にある^{1)~3)}。事実、組織学的にも膵島部領域には豊富な副交感・交感神経線維 (cholinergic, catecholaminergic, peptidergic) がみられ、これらの神経終末が血管周囲のみならず、BおよびA細胞などに非常に近接して分布していることが知られている^{1)~3)}。さらにこれら遠心性神経

平成5年8月12日受付, 平成5年10月8日受理

Abbreviations: DMN, dorsal motor nucleus of vagus; IRI, immunoreactive insulin; IRG, immunoreactive glucagon; LHA, lateral hypothalamic area; NTS, nucleus tractus solitarius; PBN, parabrachial nucleus; tGLP-1, truncated from glucagon-like peptide-1; VMH, ventromedial hypothalamic nucleus

系が膵ホルモン分泌に与える影響については、中枢神経および末梢神経の解剖学的修飾、電気刺激、さらに伝達物質に対する薬理的修飾などの検討が行われてきた。それらの成績をインスリン分泌についてみると、迷走神経の電気刺激ではインスリン分泌が惹起され^{4)~6)} 内蔵神経の電気刺激ではインスリン分泌は抑制されることが知られている⁷⁾。さらに栄養素との協調についても、迷走神経を切断すると経口糖負荷時のインスリン反応が減弱する⁸⁾ ことが報告されている。

さて、肝・門脈領域には、門脈血中のグルコースを感知する機構(グルコレセプター (glucoreceptor))の存在することが1963年 Russek¹⁰⁾の行動学的実験によって示唆された。その後彼らはさらに、グルコースの門脈内または腹腔内投与によってもたらされた門脈-動脈間のグルコース濃度差と満腹状態の期間が相関する¹¹⁾ こと、またグルコースの門脈内投与が、空腹状態のイヌの食物摂取を抑制する¹²⁾ と報告している。これらの行動学的成績には異論も多く、必ずしも意見の一致をみてきたわけではないが近年 Tordoff ら¹³⁾の周知な実験により、この機構の存在は強い支持を受けるに至っている。一方、この概念は1969年 Nijijima¹⁴⁾により電気生理学的に証明された。即ち、彼はモット灌流肝を用いてグルコースを門脈内注入すると迷走神経肝臓枝の求心性放電頻度が減少すること¹⁴⁾を、さらに彼らは生体内における実験においても同様の現象を見出した¹⁵⁾¹⁶⁾。また、このグルコレセプターの性質が(Oomura らにより中枢神経系で提唱されたグルコース認識機構の性質¹⁷⁾の中の)グルコース受容性(receptive)でなくグルコース感受性(sensitive)であると報告した¹⁵⁾¹⁶⁾。従って、この肝・門脈領域のグルコース・センサー(glucose sensor)は、門脈内に入ってくるグルコースを感受し、求心性迷走神経を介して、中枢神経へ情報を送ると考えられる。Nijijima は¹⁸⁾さらに一連の電気生理学的実験を通じて、この求心性情報が中枢神経系を介し遠心性情報となり迷走神経肝臓枝(および内臓神経副腎枝)の電気活動を変化させることを報告している。

そこで、本研究では生理的状況下での門脈内グルコース出現に伴い純粋な神経反射的インスリン分泌が惹起されるか否かにつき検討した。何故ならば、従来の生体内における実験¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁸⁾では門脈内へのグルコース投与に際し、いずれも全身動脈血糖値を変化させる投与量を用いられてきており、この血糖値の上昇は直接インスリン分泌を刺激するのみならず、中枢神経で認識され¹⁹⁾膵への遠心性情報を変化させる²⁰⁾からである。その結果、著者はこの肝・門脈領域のグルコース・センサーからの求心性神経情報が、生理的状況下で、血糖値に依存しない神経反射的インスリン分泌を惹起することを見出した。そこで、このような肝-膵間に存在する神経内分泌連関とも称すべき事実と、その生理学的意義について合わせ報告する。

対象および方法

1. 実験方法

1. 実験動物と実験前・中の処置

体重13~20kgの雑種の成熟イヌを用い、一夜12~16時間絶食後、ベントバルビタール麻酔下に開腹し、Kanazawa らの方法²¹⁾をわずかに変更した既報の方法で臍動静脈循環システムを作製した²²⁾。門脈内グルコース注入用カテーテルは回盲部よりやや口側の腸間膜静脈小分枝より約5cm挿入し、注入グルコース溶液が十分に血液と混和した後に肝門部門脈内に到達す

るように配慮した。また、大腿静脈内グルコース注入は同静脈に挿入したカテーテルを介し行った。実験中は閉腹して、自動ヒーティング・パッドを用いイヌ直腸温を $38 \pm 0.1^\circ\text{C}$ に保った。呼吸はイヌ用レスピレーター MODEL613 型(Harvard, Millis, U.S.A.)にて維持した。

2. 採血方法

ホルモン測定用血液として、前述の臍循環システムにおける臍静脈側カテーテルより臍静脈血を、また大腿動脈に挿入したカテーテルより動脈血を、それぞれ採取した。なお、すべての実験において臍静脈血採取と同時に時間採集(time-collection)法により臍血流量を測定した²¹⁾²²⁾。

3. グルコース溶液の作製

注入用グルコース溶液の作製においては、D-グルコース(Sigma, St.Louis, U.S.A.)をまず蒸留水にて5%溶液とし、グルコース投与量に応じその必要量を取り、ついで生水にて希釈し、以下の実験ではすべて等張液になるようにした。これらの溶液の注入は定速注入ポンプを用い実施した。

4. 実験系の設定

実験目的に応じ、以下の神経系修飾イヌを解剖学的に作製した。即ち(1)正常イヌ；前述の臍動静脈循環システム用の血管系手術のみを行った神経系無処置イヌ、(2)迷走神経腹・背側両枝切断イヌ(両枝迷切イヌ)；横隔膜直下で迷走神経の腹側枝および背側枝の両方を切断したイヌ。迷走神経の肝および膵への分布を全て遮断した状態と考えられる。ちなみにイヌにおいては肝臓に分布する迷走神経枝は、横隔膜下では迷走神経の腹側枝、背側枝の両方に由来すること、さらに肝自律神経の腹側神経叢は肝動脈周囲を介し、背側神経叢は門脈周囲を介し分布することが知られている^{23)~26)}。(3)迷走神経腹側枝切断イヌ(腹側枝迷切イヌ)；横隔膜直下で迷走神経の腹側枝のみを切断したイヌ。肝・門脈系からの求心性神経路の一部を遮断した状態と想定される。(4)肝徐神経イヌ；肝門部の神経組織を固有肝動脈、門脈および総胆管周囲で剝離・切断したイヌ。肝門部より肝へ分布している自律神経線維のすべてを遮断した状態と考えられる。なお、この除神経操作に際しては、上臍十二指腸動脈の周囲に分布する神経組織を温存するよう細心の注意を払った。

5. グルコース注入法ならびに採血時間

実験は以下の方法で行った。I. D-グルコース(3mg/kg, 4分間)注入実験；1. 門脈内注入実験；上記4群の神経修飾イヌを用い、神経手術後に約50~60分の平衡期間をおいた後に門脈内注入用カテーテルを介しD-グルコース3mg/kgを含む溶液20mlを、毎分5mlの速度で4分間注入した。なお予備実験を通じ、このD-グルコース投与量および投与方法は動脈血血糖値を変化させないことを確認し採用した。この実験系での採血はグルコース注入前には-12, -10, -8, -6, -4, -2, 0分と2分間隔で12分間7回、注入開始後は1分間隔で1, 2, 3, 4, 5分の5回、その後は7.5分, 10分に臍静脈および大腿動脈より行った(0~4分間グルコース注入)。2. 大腿静脈内注入実験；I. 1.と同量のD-グルコースを同じく大腿静脈内に注入し、同様の採血を行った。II. D-グルコース(500mg, 30分間)注入実験；1. 門脈内注入実験；正常イヌを用い、門脈内にD-グルコース500mgを60mlの溶液として毎分2mlの速度(16.67mg/分)で30分間注入した。なお、この際の最初の4分間のグルコース投与量は $3.8 \pm 0.2\text{mg/kg}$ (平均値

±SE) (2.48~4.44mg/kg) であった。この実験系における採血は-10, -8, -6, -4, -2, 0, 1, 3, 5, 7.5, 10, 20, 30分に行った(0~30分間グルコース注入)。2. 大腿静脈内注入実験: 前述Ⅱ. の1. と同量のD-グルコースを同様に大腿静脈内に注入し採血を行った。

Ⅱ. 血漿グルコース, インスリン, グルカゴン濃度測定法

血漿グルコース濃度はグルコース脱水素酵素法を用いるオートアナライザー(コパス・ミラー, 日本ロシュ, 東京)で3重測定した。血漿中のインスリン(immunoreactive insulin, IRI)濃度測定はイヌ・インスリン標準品(Dr.L.Heding 提供, Lot No.H7574, NOVO, Bagsvaerd, Denmark)を用いる方法²²⁾²⁷⁾, 血漿中のグルカゴン(immunoreactive glucagon, IRG)濃度測定は抗体 30K (Dr.R.H.Unger 提供, Texas 大学, U.S.A)を用いる方法による²⁰⁾²⁸⁾, それぞれ既報のラジオイムノアッセイにより2重測定した。

Ⅲ. 統計学的検討

成績はすべて平均値±標準誤差で表し, 推計学的処理は対応のあるt検定(paired t test)または2標本のt検定(two sample t test)を用い, また3群間以上の比較においてはANOVA後, Scheffe検定を行い, いずれも $p < 0.05$ 以下を有意とした。さらに, インスリンの基礎分泌には律動性が存在することが知られており, イヌ灌流腺による実験, またサルおよびヒトの生体内腺における実験において, 約10~12分の周期が報告されている³⁰⁾³¹⁾。そこで, 実験系Ⅰについては膵静脈血中IRI濃度の周期性変動を考慮にいれ, 個々のイヌのグルコース注入前-12~0分の7時点値の平均前値±2SDを求め, グルコース注入中および後に平均前値+2SD上限をこえた場合を前値の周期性変動からの異常上昇と判断した。

成 績

Ⅰ. D-グルコース(3mg/kg, 4分間)注入時の動脈血糖値および膵内分泌の変動

1. 門脈内注入による検討(図1, 2)

1) 正常イヌにおける検討(図1A)

正常のイヌ(n=6)に, D-グルコース3mg/kgを4分間にわたり門脈内は注入すると, 大腿動脈血漿グルコース濃度(血糖値)はグルコース注入前値平均 95 ± 2 mg/dlより, 注入開始後1分で 95 ± 2 , 2分で 95 ± 2 , 3分で 95 ± 2 , 4分で 95 ± 2 と注入中はまったく変動せず, 注入終了後は5分で 94 ± 2 , 7.5分と10分でそれぞれ 93 ± 2 , 93 ± 2 と低下傾向を示したが有意でなかった。つまり, この量のグルコース門脈内注入は, 全身血糖値に影響を与えなかった。ちなみにこの量のグルコース門脈内注入中の肝門部門脈本幹における血糖値は, 12~18mg/dlの上昇を示し, 注入中止後は直ちに前値に復した。また血糖値の門脈-動脈較差は注入前値平均の -11 ± 3 mg/dlより, 注入中は $+4 \sim +8$ を示した(別イヌ群における成績, n=3)。

膵静脈血IRI濃度は注入前値平均 $219 \pm 20 \mu\text{U/ml}$ より, グルコース注入開始後1分には 233 ± 19 と上昇傾向を示し, 2分には 325 ± 44 へと急峻に上昇し, 前値の約1.5倍のピーク値を示した。また, 3分でも $284 \pm 17 \mu\text{U/ml}$ と高値を示し, これら2, 3分での増加は前値に比し有意であった(それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$)。その後は5分で $245 \pm 25 \mu\text{U/ml}$ へと迅速に低下し, 7.5分には 212 ± 11 と前値に復した。さらに個々のイヌで検討すると前述の平均前値+2SD上限をこえる値は, グルコース注入開始後1分では1/6頭, 2分では6/6頭, 3分で5/6頭, 4分で3/6頭, 5分で1/6頭にみられ, すべてのイヌで2, 3分のいずれかまたは両時点にピークがみられた。ところが, 膵静脈血IRI濃度のこのような上昇にもかかわらず, 動脈血IRI濃度はグルコース注入前値平均 $14 \pm 1 \mu\text{U/ml}$ より1分で 14 ± 1 , 2分で 14 ± 1 , 3分で 13 ± 1 , 4分で 14 ± 1 と注入中は全く変動せず, 注入後は5, 7.5分で 12 ± 1 へとわずかに低下傾向を示したが有意の変化でなかった。

膵静脈血IRG濃度は, 前値平均 $366 \pm 35 \text{pg/ml}$ よりグルコー

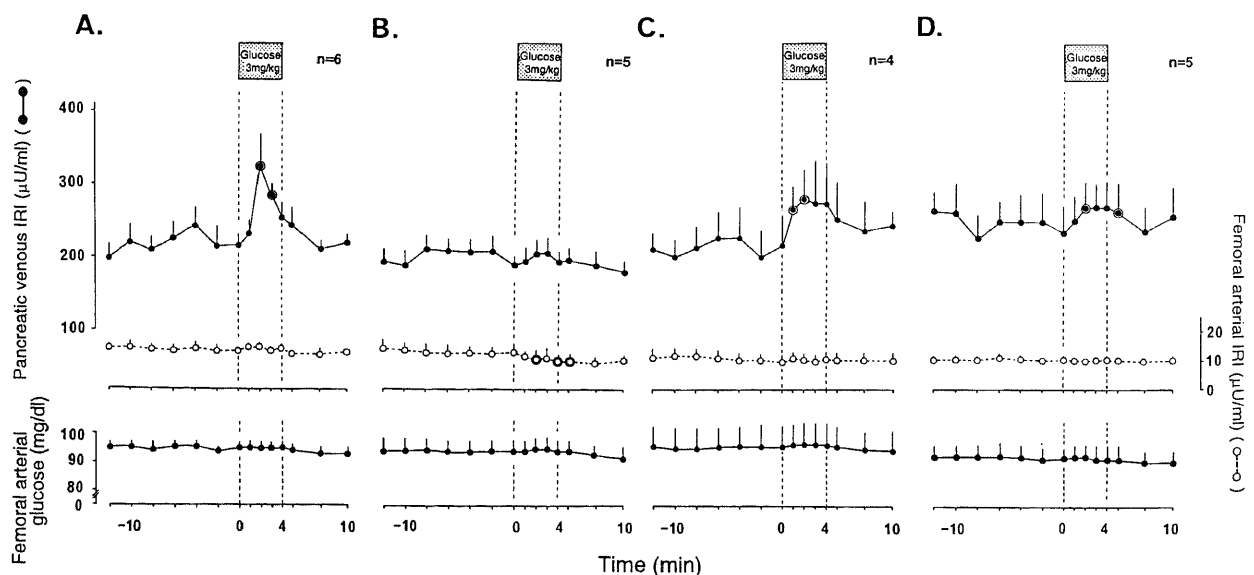


Fig. 1. Effect of glucose infusion (3 mg/kg for 4 min) into the portal vein upon the levels of glucose and insulin. Glucose was administered into the portal vein of normal (A), totally vagotomized (B), ventrally vagotomized (C), and hepatically denervated (D) dogs. Pancreatic venous IRI (upper figure —●—), femoral arterial IRI (upper figure -○-), and femoral arterial glucose (lower figure —●—). ●, ○; Mean±SE. ⊙, ⊙; significant vs. the mean basal value ($p < 0.05$ or less).

ス注入開始後1分には 416 ± 51 , 2分には 460 ± 51 へと増加傾向を示したが、これらは前値に比し有意ではなかった。しかし、グルコース注入の終了した7.5, 10分ではそれぞれ 427 ± 43 , 418 ± 39 pg/mlへと前値に比し有意に上昇した(それぞれ $p < 0.05$)。さらに個々のイヌで検討すると前述の平均前値+2SDをこえる値は、グルコース注入開始後1分では2/6頭, 2分では3/6頭, 3分で2/6頭, 4分で1/6頭, 5分で2/6頭にみられ, 5分以内に平均前値+2SD上限をこえなかったイヌも2/6頭みられた。大腿動脈血 IRG 濃度は前値平均 167 ± 26 pg/mlよりグルコース注入開始後1分は 170 ± 31 , 2分には 191 ± 28 と同様に増加傾向を示したが有意ではなかった。

膵静脈血流量はグルコース注入前値平均 13.7 ± 2.5 ml/minより注入中, 後も有意の変動を示さなかった。なお, 図には示さないが, 別群の正常のイヌ($n=5$)に同量の生食水を同様に門脈内へ注入した際には, 前述の各パラメーターはいずれも有意の変動を示さなかった。

以上の事実, 肝・門脈領域にグルコースが到達すると, 血糖値に依存しないインスリン分泌がグルコース出現に同期して(反射的に)惹起されることを示す。

2) 迷走神経両枝切断イヌにおける検討(図1B)

両枝迷切イヌ($n=5$)に, 同様のグルコース門脈内注入を行うと, 大腿動脈血血糖値はグルコース注入前値平均 94 ± 4 mg/dlより注入中はやはり変動せず, 注入後には7.5分で 92 ± 4 , 10分で 91 ± 4 へとわずかに低下傾向を示したが有意ではなかつ

た。

膵静脈血 IRI 濃度は, 前値平均 200 ± 16 μ U/mlより, このグルコース注入開始後1分では 193 ± 19 , 2分では 204 ± 20 , 3分では 205 ± 21 , 4分では 193 ± 15 と上昇せず, 注入終了後も有意の変動を示さなかった。さらに, この膵静脈血 IRI レベルを個々のイヌにおいて検討しても, 全例でいずれの時点でも平均前値+2SD 上限を超える上昇はみられなかった。大腿動脈血 IRI 濃度は, 前値平均 12 ± 3 μ U/mlより, グルコース注入開始後2, 4, 5分でそれぞれ 10 ± 3 , 9 ± 2 , 10 ± 3 と, わずかながら, しかし有意に低下した(いずれも $p < 0.05$)。そして10分にては 10 ± 1 μ U/mlと前値平均より低値傾向を示した。

膵静脈血 IRG 濃度は, 前値平均 346 ± 62 pg/mlより, グルコース注入開始後1分には 400 ± 66 と有意に上昇した($p < 0.05$)。その後2分では 469 ± 135 と高値を維持し3分で 381 ± 54 , 4分で 360 ± 74 といったん低下した後, 7.5分で 487 ± 106 , 10分で 476 ± 85 へと有意に上昇した(それぞれ $p < 0.05$)。さらに個々のイヌで検討すると前述の平均前値+2SD 上限をこえる値は, グルコース注入開始後1分では1/5頭, 2分では2/5頭, 3分で0/5頭, 4分で1/5頭, 5分で2/5頭にみられ, 5分以内に平均前値+2SD 上限をこえなかったイヌも2/6頭みられた。大腿動脈血 IRG 濃度は前値平均 138 ± 13 pg/mlよりグルコース注入開始後1分には 142 ± 13 , 2分には 138 ± 20 と注入中, 後も有意の変動を示さなかった。

膵静脈血流量はグルコース注入前値平均 15.7 ± 1.9 ml/minよ

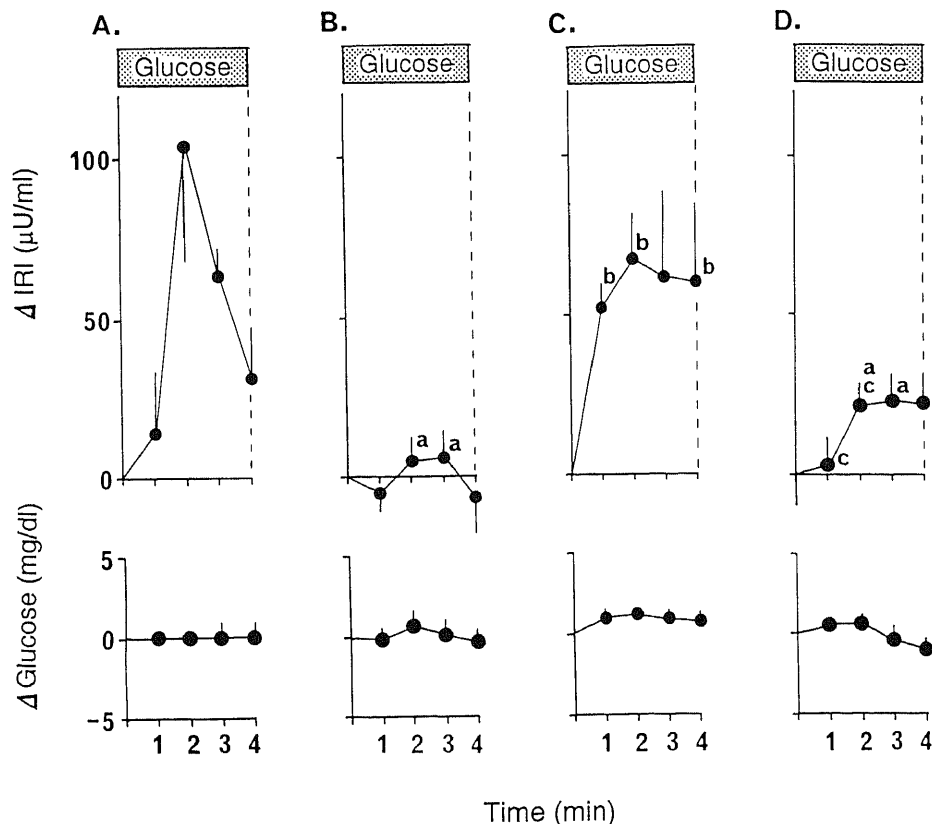


Fig. 2. Incremental changes in the concentrations of arterial glucose and pancreatic venous insulin during glucose infusion (3 mg/kg for 4 min). Incremental change was calculated by subtracting value at each time point from the mean basal value. Normal (A) ($n=6$), totally vagotomized (B) ($n=5$), ventrally vagotomized (C) ($n=4$), and hepatic denervated (D) ($n=5$) dogs. ●; Mean \pm SE. a; significant vs. values in normal dogs, b; significant vs. values in totally vagotomized dogs, c; significant vs. values in ventrally vagotomized dogs.

り、注入中、後も有意の変動を示さなかった。

従って、肝・門脈領域にグルコースが到達した際にみられる反射性インスリン分泌出現には、明らかに迷走神経機構が関与すると考えられる。

3) 腹側枝迷切イヌにおける検討 (図1 C)

腹側枝迷切イヌ (n=4) に、同様にグルコース門脈内注入を行うと、大腿動脈血糖値は前値平均 $95 \pm 7 \text{ mg/dl}$ より注入中、後にやはり有意の変動を示さなかった。

腓静脈血中 IRI 濃度は、前値平均 $213 \pm 33 \mu\text{U/ml}$ より、グルコース注入開始後1分には 266 ± 32 、2分には平均頂値 280 ± 41 へと有意に上昇し (それぞれ $p < 0.01$, $p < 0.05$)、その後3分には 275 ± 58 、4分には 274 ± 56 と高値を持続し、注入終了後は次第に低下したが前値には復さなかった。なお2分での平均頂値は、正常イヌに比し低値傾向を示したが有意ではなかった (図1 C, 2)。さらに、この上昇を個々のイヌについて検討すると、グルコース注入開始後1分、2分あるいは3分のいずれかの時点で、IRI レベルは全例で平均前値 + 2SD 上限を超えていた (1分 2/4頭, 2分 3/4頭, 3分 2/4頭)。大腿動脈血 IRI 濃度は、前値平均 $10 \pm 3 \mu\text{U/ml}$ よりグルコース注入中、後も有意の変動を示さなかった。

腓静脈血流量は前値平均 $12.9 \pm 1.3 \text{ ml/min}$ から、このグルコース注入中、後も有意に変動しなかった。

以上の成績は、迷走神経腹側枝の切断状態においても、この反射性インスリン分泌が惹起されることを示す。

4) 肝除神経イヌにおける検討 (図1 D)

肝除神経イヌ (n=5) に、同様のグルコース門脈内注入を行っても、大腿動脈血糖値は前値平均 $92 \pm 4 \text{ mg/dl}$ より注入中、後にやはり有意の変動を示さなかった。

腓静脈血 IRI 濃度は前値平均 $246 \pm 34 \mu\text{U/ml}$ より、グルコース注入開始後1分には 249 ± 36 と変動しなかったが、2分では 268 ± 35 へと、わずかながらしかし有意に、上昇した ($p < 0.05$)。そして、3および4分にも、それぞれ 269 ± 32 、 $268 \pm 36 \mu\text{U/ml}$ と、有意ではないが高値傾向を持続し、7.5分以降前値に復した。なお、これらの増加反応は、正常のイヌと比べると明らかに有意に小さく (図1 D, 2)、また個々のイヌについても平均前値 + 2SD 上限をこえる値は、3分での1/5頭にみられたのみであった。大腿動脈血 IRI 濃度は、前値平均 $10 \pm 1 \mu\text{U/ml}$ から、このグルコース注入により有意の変動を示さなかった。

腓静脈血流量も、前値平均 $21.2 \pm 4.8 \text{ ml/min}$ から、このグルコース注入により有意の変動を示さなかった。

従って、この事実は肝門部における自律神経枝の存在が、門脈内グルコース出現に伴う反射性インスリン分泌の成立に強く関与することを示唆する。

5) 門脈内 D-グルコース注入時の血糖値および IRI 濃度変動の正常イヌ、両枝迷切イヌ、腹側枝迷切イヌ、肝除神経イヌにおける比較 (図2, 3)

以上の4群における、門脈内グルコース注入中4分間の血糖値および腓静脈血 IRI 濃度の注入前値平均からの変化量 Δ を比較した (図2)。 Δ 血糖値は、いずれの群でもほぼ等しく4群間で有意差をみなかった。腓静脈血 Δ IRI 濃度は、正常イヌでは Δ 血糖値が不変にもかかわらず、門脈内グルコース注入後2、3分で 105 ± 28 、 $64 \pm 8 \mu\text{U/ml}$ と著明に増加していた。両枝迷切イヌの腓静脈血 Δ IRI は、注入後も2分で 4 ± 7 、3分で

$5 \pm 9 \mu\text{U/ml}$ とほとんど増加せず、正常イヌに比し2、3分で有意に小さかった (それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.001$)。腹側枝迷切イヌの腓静脈血 Δ IRI は注入後1分で 53 ± 7 、2分で 67 ± 15 、3分で 62 ± 26 、4分で $61 \pm 24 \mu\text{U/ml}$ を示した。この増加反応は正常イヌに比し低値傾向を示したが、いずれの時点でも有意ではなく、両枝迷切イヌと比較すると注入後1、2、4分でも有意に大きかった (それぞれ $p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.05$)。肝除神経イヌの腓静脈血 Δ IRI は、注入後2分で 22 ± 7 、3分で 22 ± 9 、4分で $22 \pm 9 \mu\text{U/ml}$ と軽度増加を示したのみで、この増加量は正常イヌに比し注入後2、3分で有意に小さかった (それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$)。しかも両枝迷切イヌと比べるとわずかに高値を示すにすぎず、腹側枝迷切イヌと比較しても注入後1、2分において明らかに小さかった (それぞれ $p < 0.01$, $p < 0.05$)。即ち、肝除神経イヌではインスリン分泌反応はわずかに残存するものの著しく減少しており、むしろ両枝迷切イヌに近いパターンを示した。

次に、グルコース注入中4分間の血糖値および腓静脈血 IRI 濃度の変化量 Δ の合計、すなわち $\Sigma \Delta$ を求め、4群間で比較した (図3)。 $\Sigma \Delta$ 血糖値は正常イヌ、両枝迷切イヌ、腹側枝迷切イヌ、肝除神経イヌで、それぞれ 1 ± 2 、 0 ± 3 、 4 ± 1 、 $0 \pm 2 \text{ mg/dl} \cdot 4 \text{ min}$ を示し、これら4群間で有意差をみなかった。にもかかわらず腓静脈血 $\Sigma \Delta$ IRI 濃度は、正常イヌでは $217 \pm 33 \mu\text{U/ml} \cdot 4 \text{ min}$ と大きいのに比し、両枝迷切イヌでは 26 ± 7 と著しく小さかった ($p < 0.001$)。腹側枝迷切イヌでの腓静脈血 $\Sigma \Delta$ IRI は $241 \pm 57 \mu\text{U/ml} \cdot 4 \text{ min}$ と大きく、正常イヌと有意差を示さず、両枝迷切イヌに比しても有意に大きかった

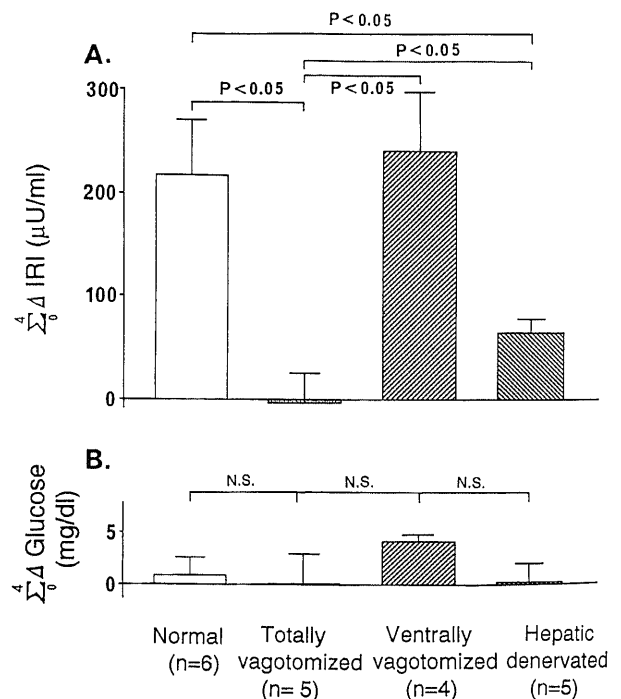


Fig. 3. Cumulative changes in concentrations of pancreatic venous insulin (A) and arterial glucose (B) during four minutes after the start of glucose infusion. Glucose was administered into the portal vein (3 mg/kg for 4 min) of normal, totally vagotomized, ventrally vagotomized, and hepatic denervated dogs.

□, ▨, ▩, ▪; Mean \pm SE.

($p < 0.001$). 肝除神経イヌの臍静脈血 $\Sigma \Delta$ IRI は $69 \pm 15 \mu\text{U}/\text{ml} \cdot 4\text{min}$ を示したのみで、正常イヌの約 $1/3$ に有意に減少していた ($p < 0.01$).

以上の成績は、全身血糖値に影響を与えない量のグルコースが門脈内に出現した際の IRI 分泌成立には、迷走神経機構(主として腹側枝以外の)の存在を必要とし、しかも門脈内グルコース出現の情報入力に肝門部自律神経機構が重要な役割を果たすことを示唆する。

2. 大腿静脈内注入における検討 (図 4 B)

1) 正常イヌにおける検討

正常イヌ ($n=5$) に、D-グルコース $3\text{mg}/\text{kg}$ を4分間にわたり大腿静脈より全身に投与すると、大腿動脈血血糖値は注入前値平均 $97 \pm 4\text{mg}/\text{dl}$ より注入開始後1分で 99 ± 5 、2分で 98 ± 4 、3分で 100 ± 4 へと上昇傾向を示し、さらに注入後にも5分で 98 ± 4 、7.5分で $99 \pm 4\text{mg}/\text{dl}$ と有意の高値にとどまった (5分 $p < 0.01$, 7.5分 $p < 0.05$).

臍静脈血 IRI 濃度は、注入前値平均 $241 \pm 20 \mu\text{U}/\text{ml}$ より、グルコース注入開始後1分には 257 ± 29 と上昇傾向を示し、2、3分にはそれぞれ 289 ± 34 , 281 ± 25 へと有意の増加を示した (2分 $p < 0.05$, 3分 $p < 0.01$). さらに4分でも 277 ± 46 と高値を維持し、グルコース注入終了後は次第に減少した。さらに個々のイヌで検討するとグルコース注入中 IRI の平均前値+2SD 上限をこえる値は、血糖値が前値平均より $3\text{mg}/\text{dl}$ 以上上昇した3

頭のみみられ、その頻度はグルコース注入開始後1分では $1/5$ 頭、2分では $3/5$ 頭、3、4、5分で $2/5$ 頭であった。大腿動脈血 IRI 濃度は、前値平均 $11 \pm 1 \mu\text{U}/\text{ml}$ から、グルコース注入開始後4分には 11 ± 2 を示したが、いずれの時点でも有意でなかった。

なおこのグルコース全身投与群における臍静脈血流は注入前値平均 $16.0 \pm 4.5\text{ml}/\text{min}$ より有意の変動を示さなかった。

2) 門脈注入時の成績との比較

前項の成績を、前述のグルコース門脈内投与時のそれらと、注入前値平均からの変化量 Δ として比較した (図 5). 経大腿静脈全身投与群の Δ 血糖値は1分、2分、3分でそれぞれ 2 ± 1 , 1 ± 1 , $2 \pm 1\text{mg}/\text{dl}$ と増加傾向を示し、続く5分、7.5分、10分ではそれぞれ 1 ± 0 , 2 ± 0 , $0 \pm 0\text{mg}/\text{dl}$ を示し、門脈内投与群のそれらに比し有意に大きかった (5分、7.5分、10分ともすべて $p < 0.05$). 全身投与群の臍静脈血 Δ IRI 濃度は、2、3分においてそれぞれ 48 ± 14 , $41 \pm 6 \mu\text{U}/\text{ml}$ であるのに比し、門脈内投与群ではそれぞれ 105 ± 28 , 64 ± 8 と明らかに大きい増加反応を示した (3分 $p < 0.05$).

従って、全身投与群の Δ 血糖値は門脈内投与群のそれより大きいにもかかわらず、インスリン分泌量は門脈内投与群の方が有意に大きいことが示された。このことは肝・門脈領域のグルコース・センサーによる神経性インスリン分泌機構の存在をさらに強く示唆する。

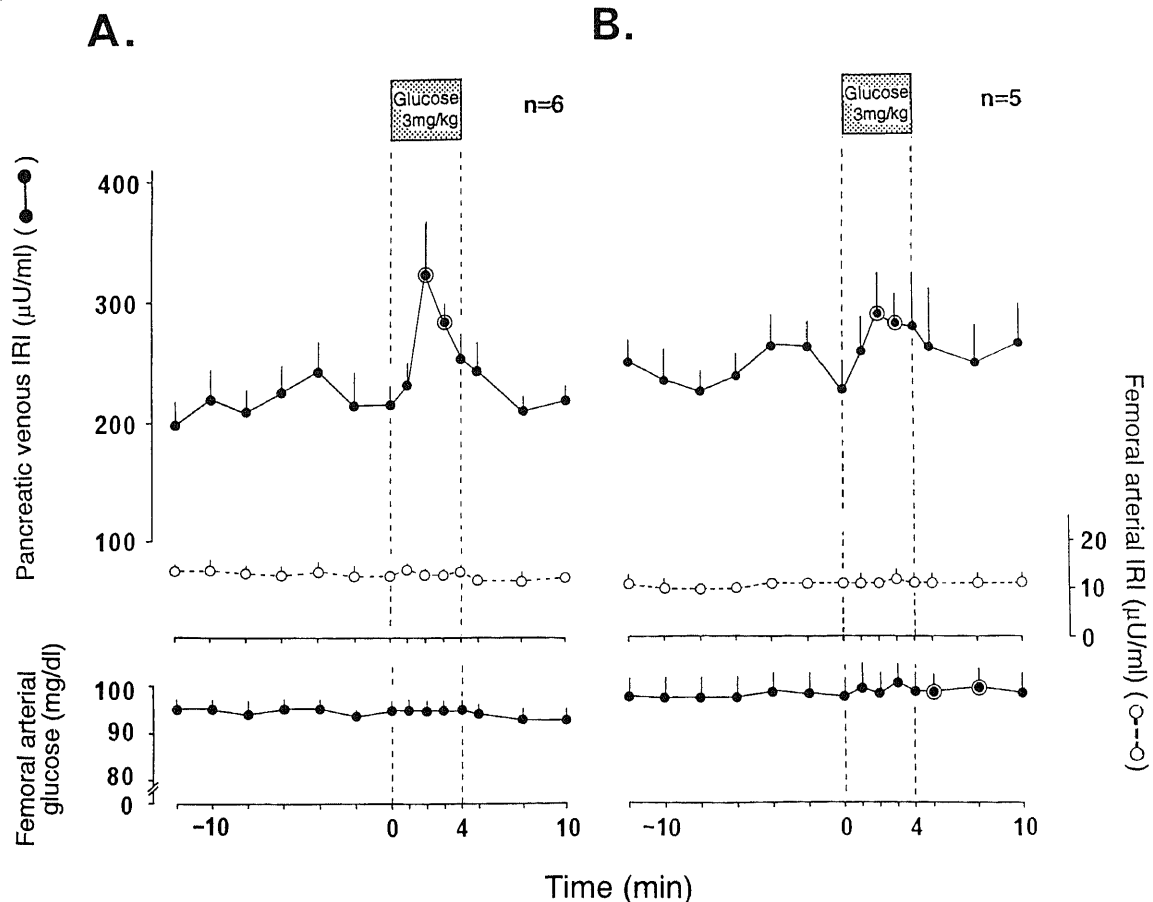


Fig. 4. Effect of glucose infusion ($3\text{mg}/\text{kg}$ for 4 min) upon the levels of arterial glucose and pancreatic venous insulin. Glucose was administered into the portal vein (A) and the femoral vein (B) of normal dogs. Pancreatic venous IRI (upper figure $\bullet\text{---}\bullet$), femoral arterial IRI (upper figure $\text{---}\circ\text{---}$), and femoral arterial glucose (lower figure $\bullet\text{---}\bullet$). \bullet , \circ : Mean \pm SE. \odot : significant vs. the mean basal value ($p < 0.05$ or less).

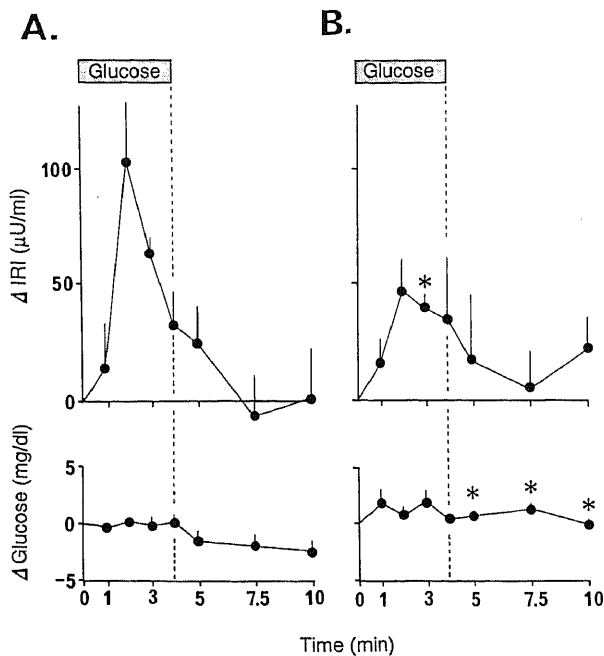


Fig. 5. Incremental changes in concentrations of arterial glucose and pancreatic venous insulin during glucose infusion (3 mg/kg for 4 min). Incremental change was calculated by subtracting value at each time point from the mean basal value. Glucose was administered into the portal vein (A) (n=6) and the femoral vein (B) (n=5) of normal dogs. ●; Mean±SE. *; p<0.05 vs. values in dogs with the intraportal glucose infusion.

II. 持続的 D-グルコース注入 (500mg, 30分間) 時の血糖値および膵内分泌の変動

1. 門脈内注入における検討 (図 6 A, 7 A)

正常イヌ (n=7) に、グルコース 500mg を30分間にわたり門脈内に持続注入すると、大腿動脈血血糖値は注入前値平均 85 ± 3 mg/dl より注入開始後5分には 87 ± 3 (2 ± 1) [以下()内は平均前値からの増加量 Δ] へとわずかに上昇し、10分まで 87 ± 3 (2 ± 1) を維持し、グルコース持続注入下にもかかわらず20分にはむしろ 85 ± 2 (0 ± 2) へ、30分には 83 ± 2 (-2 ± 2) へと低下傾向を示した。

膵静脈血 IRI 濃度は注入前値平均 288 ± 33 μ U/ml よりグルコース注入開始後3分には 314 ± 48 (86 ± 19) へ、5分には 351 ± 45 (123 ± 24) と前値の1.5倍の頂値へといずれも有意に増加した (共に $p < 0.01$)。さらにグルコース持続注入下に IRI 濃度は、10分には 271 ± 38 (44 ± 19) μ U/ml へと一旦下降した後、20分で 306 ± 46 (78 ± 35)、30分で 375 ± 59 (147 ± 46) へと再上昇し、いずれも前値に比し有意の高値であった (すべて $p < 0.05$)。さらに個々のイヌで検討すると平均前値+2SD 上限をこえる値は、グルコース注入開始後早期の3分では6/7頭、5分では6/7頭、7.5分で4/7頭、10分で4/7頭にみられ、すべてのイヌで3あるいは5分のいずれかの時点で鋭いピークがみられた。ところが、大腿動脈血 IRI 濃度は、膵静脈における IRI 濃度増加にもかかわらず、前値平均 11 ± 1 μ U/ml からグルコース注入中有意的な変動を示さなかった。

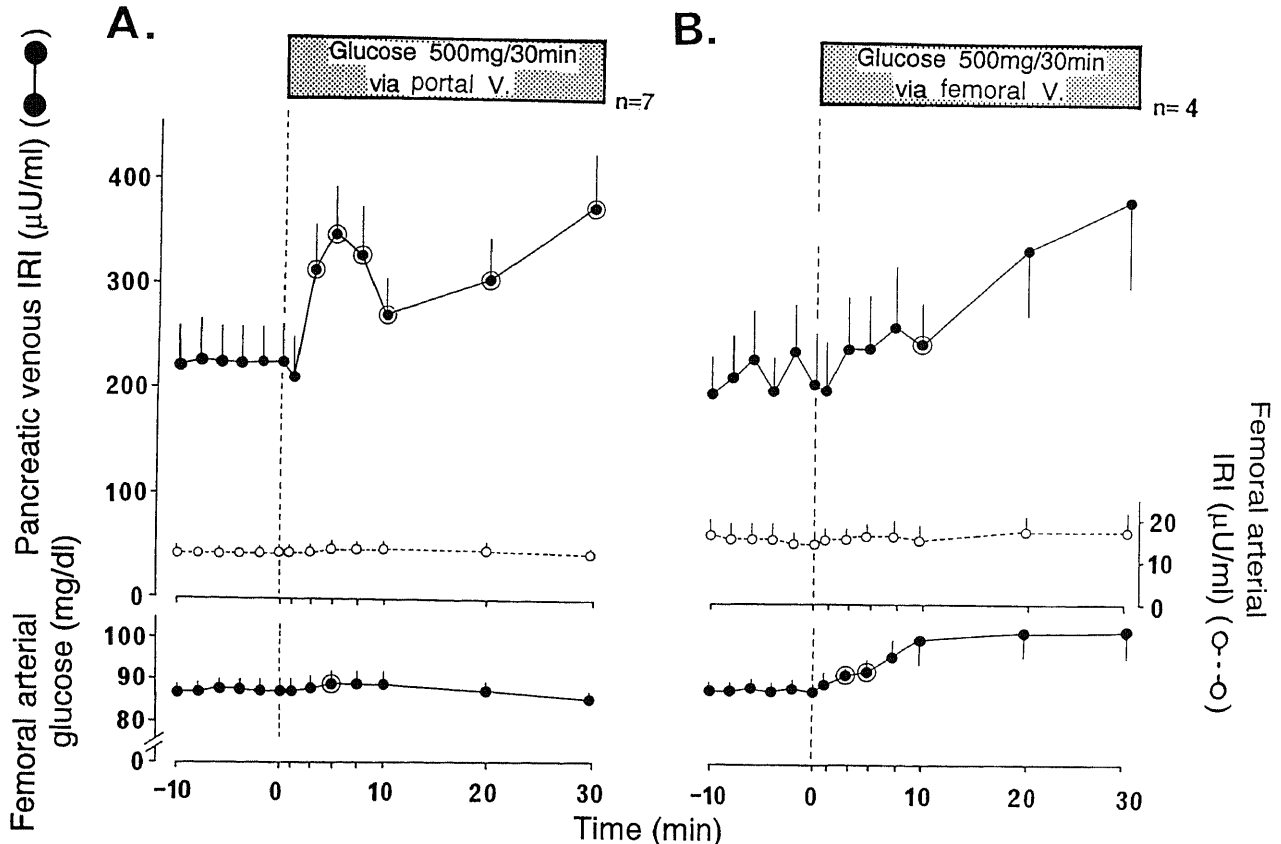


Fig. 6. Effect of sustained glucose infusion (500 mg for 30 min) upon the levels of arterial glucose and pancreatic venous insulin. Glucose was administered into the portal vein (A) and the femoral vein (B) of normal dogs. Pancreatic venous IRI (upper figure —●—), femoral arterial IRI (upper figure —○—), and femoral arterial glucose (lower figure —●—). ● ○; Mean±SE. ◎; significant vs. the mean basal values ($p < 0.05$ or less).

脾静脈血流量はグルコース注入中有意的変動を示さなかった。

結局、この量のグルコースの門脈内持続注入により、インスリン分泌は5分に頂値を示す10分までの早期反応と、その後の血糖値低下傾向下での後期反応とを示した。

2. 大腿静脈内注入における検討 (図 6 B, 7 B)

正常イヌ (n=4) に、500mg のグルコースを30分にわたり大腿静脈より全身に持続注入すると、大腿動脈血血糖値は注入前値平均 88 ± 2 mg/dl より注入開始後1分で 90 ± 3 (2 ± 2) と上昇し始め、3分で 92 ± 2 (3 ± 0)、5分で 93 ± 3 (4 ± 1) へと有意の上昇を示した (それぞれ $p < 0.01$, $p < 0.05$)。大腿動脈血血糖値はその後10分で 101 ± 7 (13 ± 6)、20分で 103 ± 7 (15 ± 6)、30分で 102 ± 7 (14 ± 5) へとさらに上昇した。

脾静脈血 IRI 濃度は注入前値平均 215 ± 45 μ U/ml よりグルコース注入開始3分で 242 ± 57 (27 ± 24)、5分で 243 ± 58 (29 ± 18)、7.5分で 264 ± 67 (50 ± 22) へと増加し、10分で 246 ± 48 (31 ± 6) と有意の上昇を示した ($p < 0.05$)。その後は、20分で 338 ± 74 (123 ± 46)、30分で 383 ± 94 (169 ± 88) μ U/ml へとさらに上昇した。個々のイヌで検討すると、平均前値+2SD 上限をこ

える IRI 値はグルコース注入開始後10分以内では1頭にしかみられなかった。大腿動脈血 IRI 濃度は、前値平均 15 ± 4 μ U/ml からこのグルコース持続注入中後期の20分で 17 ± 5 、30分で 17 ± 6 と増加傾向を示したが有意の変動でなかった。

脾静脈血流量はグルコース注入中有意的変動を示さなかった。

3. 門脈内、大腿静脈内注入時の血糖値および IRI 濃度変動の比較 (図 7, 8)

以上の2群におけるグルコース注入中30分間の血糖値および脾静脈血 IRI 濃度の注入前値平均からの変化量 Δ を比較した (図 7)。 Δ 血糖値は門脈内注入群に比し、大腿静脈注入群で著しく大きな増加量を示し、グルコース注入開始後10、20、30分で有意であった (それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.01$)。

脾静脈血 Δ IRI 濃度は、門脈内注入群でグルコース注入開始後5分の早期に明らかにピークがみられ、大腿静脈注入群に比し5分で有意の高値であった ($p < 0.05$)。

これら両群において、早期インスリン分泌を検討するため0~5分間の動脈血糖値および脾静脈血 IRI 濃度の変化量 Δ の合計つまり $\Sigma \Delta$ を求めた (図 8)。門脈内注入群の動脈血 $\Sigma \Delta$ 血

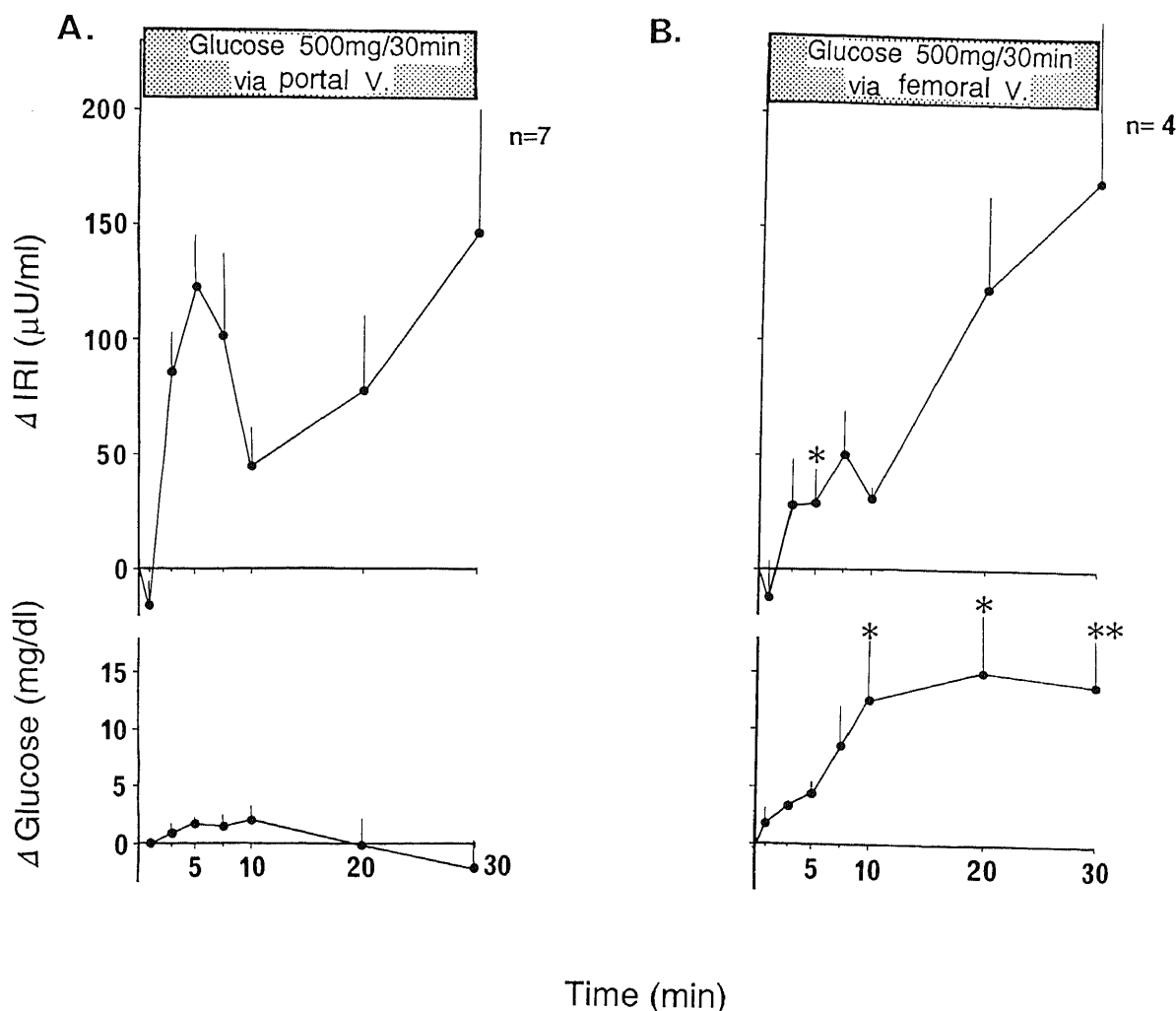


Fig. 7. Incremental changes in the concentrations of arterial glucose and pancreatic venous insulin during sustained glucose infusion (500 mg for 30 min). Incremental change was calculated by subtracting value at each time point from the mean basal value. Glucose was administered into the portal vein (A) (n=7) and the femoral vein (B) (n=4) of normal dogs. \bullet ; Mean \pm SE. *, **, $p < 0.05$, $p < 0.01$ vs. values in dogs with the intraportal glucose infusion, respectively.

糖値は $2 \pm 1 \text{ mg/dl} \cdot 5 \text{ min}$ とわずかの増加を示したにすぎないが、大腿静脈注入群では 10 ± 3 と門脈内注入群に比し有意の大きな増加を示した ($p < 0.05$)。にもかかわらず、臍静脈血 $\Sigma \Delta \text{IRI}$ は、門脈内注入群では $194 \pm 33 \mu\text{U/ml} \cdot 5 \text{ min}$ と大腿静脈注入群での 44 ± 56 に比し、著しく大きな増加を示した ($p < 0.05$)。

以上の事実は、この比較的少量のグルコースが持続して門脈内に出現すると、同量グルコースの末梢静脈内出現に比べ、ほとんど血糖値に依存しない早期の強い IRI 分泌を惹起することを示す。しかも門脈内へのグルコースの持続的出現は、その後(後期20~30分)のインスリン分泌を血糖値と独立して刺激することを示し興味深い。さらにこの早期インスリン分泌は後

期の血糖値レベルに大きい影響を与えていることから、早期神経性インスリン分泌は引き続き出現する糖の代謝に重要であることを強く示唆する。

考 察

今回の成績により次の事が示された。(1) 微量のグルコースが矩形波様パルスとして門脈内に出現すると、動脈血糖値の変動を介することなく、このグルコースに同期する迅速な臍からのインスリン分泌が惹起される。(2) この“神経反射性”ともいべきインスリン放出には迷走神経機構が強く関与する。(3) 少量のグルコースが持続的に門脈内に出現した際に二相性インスリン分泌が惹起され、その際の殊に(1)にみられるような早期インスリン分泌は、引き続き門脈内に出現するグルコースの代謝に強い影響を与える。

さて、栄養素の経口摂取に伴う迅速な代謝応答については以前から注目されてきた。とりわけグルコースの経口摂取時にみられる臍内分泌応答について、そのインスリン反応は(経口投与時と同程度の血糖変化をもたらすような)経静脈グルコース投与時のそれに比べはるかに大きいことが知られている^{32,33}。この現象には経口摂取時に生じる(1)味覚系、(2)胃・腸管の知覚系、(3)肝臓(門脈)知覚系、を介する神経性および(消化管ホルモンなど)様々の液性因子による臍内分泌(反射)応答が関与するとされている。例えば(1)につき、食物刺激が視覚、嗅覚、口腔領域における味覚を介して生ずるとインスリン分泌が血糖変動に先行して1分以内に充進することがイヌ³⁴、ラット³⁵で知られており、いわゆる頭相(cephalic phase)分泌と称せられている。その電気生理学的背景として、Nijima³⁶はグルコース、ショ糖による舌味覚刺激が迷走神経脾臓枝の遠心性活動を増加することを見出した。さらに(2)については、消化管には種々の化学レセプター、浸透圧レセプター、温度レセプター、機械的レセプターの存在することが知られている³⁷。摂食に伴う消化管内の環境変化をとらえ臍内分泌応答を引き起こす点について、Meiらは消化管におけるグルコースを感受する受容体(グルコレセプター, glucoreceptor)の存在³⁸と、その電気生理学的証拠を示した³⁹。彼らはネコとラットの十二指腸内グルコース注入が(血糖上昇の未だみられない注入20秒後に)インスリン分泌を引き起こし、迷走神経切断によりこの分泌は消失することを見出した。一方、化学レセプターや機械的レセプターが神経性情報以外に液性情報(種々の消化管ホルモン分泌)を引き起こし、インスリン分泌を促進することが知られており、とりわけ胃由来抑制ポリペプチド(gastric inhibitory polypeptide, GIP⁴⁰)や、グルカゴン様免疫ペプチド-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)のN端6個のアミノ酸を欠いた切断型(truncated form)である tGLP-1(7-36)amide⁴¹が近年、代表的ホルモンとして挙げられている。このような胃・腸管と臍内分泌の機能的連関は古くから注目され“インクレチン(incretin(s))”⁴²あるいは“腸管・脾島軸(entero-insular axis)”⁴³として概念化されていた^{44,45}。そして今日、これらは後述する肝・門脈知覚系を介する臍内分泌応答を含めて、腸相(intestinal phase)臍ホルモン分泌と称され、その機序がしだいに解き明かされつつある。(3)については肝・門脈領域には、摂食、飲水および代謝調節に関与する種々の知覚機構が存在することが報告されている。その主なものは前述のグルコース・レセプター、浸透圧レセプターやイオン・レセプター(Na^+ な

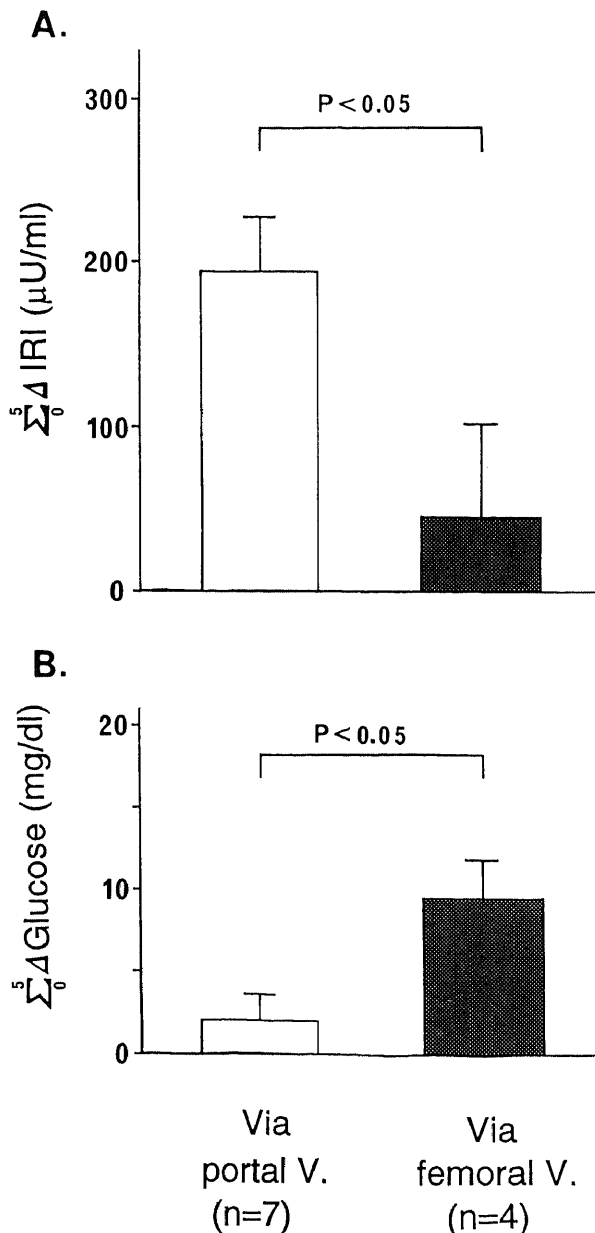


Fig. 8. Cumulative changes in the concentrations of pancreatic venous insulin (A) and arterial glucose (B) during five minutes after the start of glucose infusion. Glucose was administered into the portal vein (500 mg for 30 min) and the femoral vein of normal dogs. \square , \blacksquare ; Mean \pm SE.

ど), 門脈内圧レセプター, 温度レセプターなどであり, 生理学的, 電気生理学的あるいは行動学的成績に基づいている²³⁾. これらの受容線維は主に迷走神経肝臓枝 (また一部は内臓神経) を介する求心性情報となり, 内部環境の恒常性維持に関与している. 従って今回の著者の成績は, この腸相における栄養素 (グルコース) の門脈内出現の極く初期にみられる膵内分泌応答の様式とその生理学的意義を検討したことになる.

腸相において代謝に関与する化学受容体の一つである肝・門脈域グルコース・センサーが, 生理学的状況下で純粋な門脈内血糖変動のみに対応して, どのような質的, 量的, 時間的膵内分泌応答を引き起こすかは興味あるテーマである. この点を検討したところ, 3mg/kg 体重の D-グルコース門脈内 4 分間注入は, 全身血糖値 (動脈血) を変化させることなく門脈本幹血糖値を 12~18mg/dl 増加させ, 注入開始 2~3 分以内に正常のイヌ全例で膵からのインスリン放出を惹起した. しかもこの放出はグルコース注入の中止とともに直ちに消退した. ところで, 本実験ではグルコース注入前に 2 分毎に 12 分間の採血を行っているので, 従来報告されている 10~12 分毎の膵ホルモンの律動性 (pulsatile) 分泌³⁰⁾³¹⁾ と, この門脈内グルコース出現に伴うインスリン分泌とは区別できたものと考えられる. なぜならば, 前述の注入前 12 分間 7 時点のホルモン濃度の平均前値 + 2SD 上限をこえる値がグルコース注入開始 2~3 分に同期してしかも全例で出現することは, 確率論的にも偶然の結果ではあり得ないからである. 一方, このようなインスリン応答は, 横隔膜直下の両枝迷走神経切断イヌでは全く消失したことより, この応答は迷走神経を介する神経反射的インスリン分泌であることを支持する. さて, 生体内の実験においては時に麻酔法により神経内分泌応答が減弱することが報告されている. 今回著者が用いたペントバルビタール静脈内麻酔により, 低血糖や 2-デオキングルコース刺激に対する交感神経系応答とグルカゴン反応や, 膵ポリペプチド (pancreatic polypeptide) の神経性応答が低下することが指摘されている⁴⁶⁾. しかしながら上述のごとく今回の成績は明らかに門脈内グルコース出現に伴う神経反射的膵内分泌応答を示しており, この応答は, たとえ本麻酔法により一部減弱していたとしても, 十分に発現していたと考えられる. この観点は, 同じグルコース (3mg/kg・4 分間) の経静脈全身注入時のインスリン反応が (この時の動脈血糖値の有意の上昇にもかかわらず), 門脈内注入時のそれにくらべ, 明らかに小さいという事実からも支持される.

このような迷走神経反射的インスリン分泌の成立機序に興味もたれる. 前述のごとく, 肝・門脈領域のグルコース・センサーについて, Nijijima¹⁴⁾ はモルモット摘出肝の灌流実験を行い, 迷走神経肝臓枝より門脈内グルコースに反応する求心性電気活動を記録した. その際の求心性電気活動は, 門脈内グルコース濃度を 100 から 300mg/dl まで増加させると, 2~3 分後には減少しはじめた. この成績は, 今回のグルコース門脈内注入時 (3mg/kg・4 分) のインスリン反応 (注入開始 2~3 分で全例で増加) と時相的に強く符合する. さらに Nijijima¹⁵⁾ はモルモットを用い, 生体内局所 (in situ) にて門脈血糖値と迷走神経肝臓枝の求心性電気活動の関係を検討し, 血糖値上昇により電気活動は低下, 血糖値低下により電気活動は増加することを見出し, このセンサーがグルコース感受性 (sensitive) 特性をもつことを明らかにした. この検討では門脈血糖値は数 10~数 100mg/dl の変動をみている (従って中枢神経系のグルコレセ

プターも同時に作動している). しかし, 今回の著者の見出した事実は, わずか 12~18mg/dl の門脈血糖値の上昇が神経性インスリン分泌を惹起することを示しており, この肝・門脈域グルコース・センサー機構がいかにか鋭敏であるかがうかがい知れる.

門脈内微量グルコース到達に伴う情報が, 求心路としてどの神経線維を介しているかにつき言及したい. 前述の両枝迷切イヌでは神経反射経路の求心路および遠心路の両者が遮断されたことによりインスリン反応は消失した. 一方, 求心路遮断の目的で作製した肝除神経イヌにおいては, 門脈内グルコース到達とともにわずかながら, しかし有意のインスリン反応をみたが, その程度は正常イヌの 1/3~1/5 にも著減していた. この事実は, 肝門部自律神経 (副交感および交感神経) を介する求心性情報が, 反射性インスリン分泌において重要である事を示している. ところで, 肝除神経イヌでインスリン反応が完全に消失しなかった理由として, 今回用いた肉眼的手術手技上, 肝門部自律神経線維のわずかな残存による可能性は否定できなかった. そこで, 著者はなんらかの肝迷走神経の選択的求心路遮断を試みて, 腹側枝迷切イヌをもうけたところ, そのインスリン反応は正常のイヌのそれにはほぼ匹敵した. その理由として次の 2 点が考えられる. (1) 前述のごとく迷走神経腹側枝の肝分布は主に肝動脈周囲の腹側神経叢と考えられている^{23)~28)} ので, 門脈周囲 (背側神経叢) からの神経線維の多くが切断されずに残った可能性が高い. すなわち, イヌでは肝・門脈域のグルコース・センサーからの求心路は, 主に迷走神経の背側枝を介している. (2) 内臓神経 (交感神経叢) の求心性線維⁴⁷⁾⁴⁸⁾ がこのインスリン分泌の一部関与している. その一方で興味ある事実は, 腹側枝迷切イヌの門脈内グルコースに対するインスリン反応はグルコース注入開始後 1~2 分で既上昇し始め (正常イヌ 2~3 分), 注入中止後も反応の持続傾向を示したことである. この点, ラットにおいて迷走神経腹側幹肝臓枝 (主に肝・胃に分布し, ほとんど求心性線維により占められる⁴⁹⁾) を切断すると基礎状態におけるインスリン放出が亢進することから, 腹側幹肝臓枝を介するインスリン分泌抑制支配が存在することが知られている⁵⁰⁾. したがって今回の腹側枝迷切イヌにおける成績は, この基調となる抑制状態からの解放による, 門脈内グルコース刺激時のインスリン反応と理解された.

肝・門脈域グルコース・センサーからの情報の中枢神経系を介する遠心路への伝達については以下のように考えられる. 前述のごとく主に迷走神経肝臓枝の求心性線維はまず (左側) 頸部迷走神経幹から (左側) 弧束核 (nucleus tractus solitarius, NTS) へ投射され⁵¹⁾, さらに (一部傍腕核 (parabrachial nucleus, PBN) を介し) 視床下部外側野 (lateral hypothalamic area, LHA)⁵²⁾ ニューロンに投射される. しかも肝からの投射をうける NTS⁵¹⁾ や LHA⁵²⁾ のニューロンのあるものはグルコース感受性ニューロンである. 一方, LHA と視床下部腹内側核 (ventromedial nucleus, VMH) は間脳レベルで相互に関係をもちながら自律神経系の統御を行い, 遠心路として迷走神経系では主として背側迷走神経運動核 (dorsal motor nucleus, DMN) や疑核を, 交感神経系では NTS, 脊髄中間質外側細胞核を介して, 効果器 (本研究では膵内分泌) の機能を修飾する⁵³⁾⁵⁴⁾. 事実, DMN の電気刺激により強いインスリン分泌がおこる⁵⁴⁾. したがって, 今回の門脈内グルコース (3mg/kg, 4 分間) 注入に伴うインスリン分泌亢進は, 肝・門脈域グルコース・センサー

迷走神経肝臓枝を介する求心路(一部は内臓神経?)—中枢神経系—迷走神経遠心路—膵島をたどる一連の神経反射機構によるものであることが想定される。この点興味深いのは、正常のイヌと両枝迷切イヌにおける門脈内グルコース注入中のグルカゴン分泌反応である。即ち、膵からのグルカゴン放出が、正常のイヌにおいてはグルコース注入開始後1分から一過性上昇を示し、両枝迷切イヌ(この群のイヌではインスリンは消失した)でも1分から一過性に有意に上昇した事実である。従って少なくともこの早期グルカゴン分泌も神経反射であり、しかも関与する遠心路は迷走神経より^{55,56)}むしろ交感神経系であると想定された⁵⁷⁾。この点、内臓神経を介する求心性線維もNTSからLHAに投射されること⁵⁸⁾、またLHAは内臓神経に賦活または抑制的に、VMHは賦活的に作用することが知られている¹⁹⁾。このようなグルカゴン反応の出現は、門脈内グルコース投与に伴う前述のインスリン応答が神経反射性であることを一層支持するものと考えられる。しかしながら、膵血流量が両群においてこの門脈内グルコース注入中に変化しなかったことは、少なくともグルカゴン反応への関与が想定される膵交感神経系賦活は血流変動を惹起するほど強くなかったか、あるいは膵島選択性を強く示す性格を有していたとも想定される(事実、交感神経応答には選択性があることが知られている⁵⁹⁾)。ところで、血中カテコールアミンの影響を除くため副腎摘出ラットを用いても、肝・門脈領域グルコース・センサーを起点とするインスリン反応をみとめること^{59,60,61)}や、このセンサーがD-グルコースのβアノマーに主に反応すること⁶⁰⁾が知られている(膵B細胞がαアノマーを認識する)。

今回の短時間グルコース注入(3mg/kg・4分間)時の膵静脈血と動脈血のインスリン濃度は、肝でのインスリン代謝の観点から興味深い変動を示した。すなわち、(1)正常イヌ、腹側枝迷切イヌでグルコース門脈内注入中、明らかな膵インスリン放出をみてもかかわらず、大腿動脈血インスリン濃度は全く上昇しなかった、(2)両枝迷切イヌではグルコース門脈内注入により膵インスリン放出は変動しないにもかかわらず、動脈血インスリン濃度は注入中、後にわずかながらしかし有意に低下した、(3)同量グルコースを末梢静脈内に注入すると、動脈血血糖値は有意に上昇するが、それでも膵静脈血インスリン反応は門脈内注入時(血糖値不変)に比べ小さく、しかし大腿動脈血インスリンは注入中わずかながら上昇傾向をみたことである。さて、肝でのインスリン取り込みの調節については、近年、動物実験において直接的に門脈・肝動脈血流量測定と門脈・肝静脈血採取が可能となると共に、生体内の実験においては門脈血流量、麻酔の有無、門脈血インスリン濃度の変化、門脈血血糖値、消化管因子(ホルモン)、神経因子などが関与することが知られてきた⁶²⁾が今日なお不明な点が多い。少なくともイヌでは、肝でのインスリン取り込み率は基礎時には約45%で、経口糖負荷時には亢進する⁶³⁾ものの、麻酔による門脈血流量減少⁶³⁾や門脈内へのインスリン^{64,65)}やグルコース注入⁶²⁾によっては比較的影響をうけない。このような事実から考え、インスリン取り込み率における神経因子の関与も想定はされてきた。しかしながら、今日まで肝でのインスリン代謝に迷走神経をはじめとする神経性調節が存在するとの成績はみあたらず、わずかに、アトロピンが(基礎状態ではなく)経口糖負荷後の肝インスリン取り込み増加を抑制する報告⁶⁶⁾があるに過ぎない。従って上述(1)の現象については、微量の門脈内グルコース出現に伴う

神経反射的な遠心性迷走神経情報が肝に到達し、インスリン取り込みを促進している可能性があり、(3)の現象も同様の機序によるものとも思われる(後述するグルコース門脈または大腿静脈内持続注入(500mg・30分間)成績の考察を参照)。さらに(2)の以外な成績については、迷走神経機能(求心性遠心性両方とも)のない肝においては、むしろそれ以外の(例えば交感神経系などの)因子が門脈内グルコース出現と共に作動し肝インスリン代謝を変動させたとも考えられるので、肝インスリン代謝の神経系調節について今後の検討が必要である。

今回の短時間門脈内グルコース出現(4分間)に伴う迅速なインスリン分泌の生理学的意義をより明らかにする目的で、経口糖摂取時にみられるような持続的グルコース門脈内出現に似せて、少量グルコース門脈内持続注入(500mg/kg・30分間)を行った。その結果、この量のグルコースでは動脈血糖値には注入開始後10分までに平均約2mg/dlのわずかな上昇のみみられたが、この間に膵静脈血インスリンは5分に頂値(前値から平均123μU/ml増加)をもつ明らかなピークを示した。その後(持続するグルコース注入下で)血糖値は次第に下降したにもかかわらず、インスリンは再度上昇し30分に頂値をもつ後期分泌を示した。この興味深い現象は、同量のグルコースの末梢静脈内注入時の成績ときわめて対比的であった(図6, 7)。即ち末梢静脈よりグルコースを注入すると10分までの血糖値上昇は約13mg/dlと大きいにもかかわらず膵静脈血インスリンの増加(頂値)は約50μU/mlと明らかに小さく(合計で門脈内注入時の約37%)、さらに10分以後はこの上昇した血糖値の持続下によりやく門脈内投与時の後期分泌に匹敵するインスリン・レベルをみた。この持続的門脈内グルコース注入に伴う早期(0~10分)インスリン分泌は、前述の短期注入時の神経反射的分泌と同様の機序によるものと考えられた。さらに後期インスリン分泌(10~30分)もこれまた門脈内グルコースに誘発された動脈血糖値に依存しない膵内分泌応答と想定される。また、動脈血インスリン濃度が門脈内注入時には全く変化せず、末梢静脈内注入時には膵からの総インスリン放出が小さいにもかかわらず上昇傾向を示した点は、前述の短期グルコース注入(3mg/kg・4分間)時の成績と同じく、肝でのインスリン取り込みの差を反映したのと考えられた。

次に、門脈内と末梢静脈内グルコース持続注入時における動脈血血糖値の変動が著しい対比を示したことは生理学的に大変重要な側面を示していると考えられる。その機序については血中インスリン・レベルと肝におけるグルコース取り込み・放出の両面から考察する必要がある。すなわち、(1)インスリン(とグルコース)の肝への作用、(2)グルコース投与経路、(3)肝神経機構の関与である。(1)のインスリン作用については、門脈内グルコース注入により大腿動脈血インスリン・レベルの変動はみられず、従ってインスリンの末梢作用(インスリンによる末梢組織でのグルコース取り込み)は関与していない。しかし、インスリンの肝作用は末梢作用よりインスリンの低濃度域で発現すること⁶⁷⁻⁶⁹⁾が知られており、しかも本実験での成績より計算される門脈血中インスリン・レベルはこの範囲内にあるので、インスリンの肝作用により肝からの糖放出が抑制されたと考えられる。なお、古くから知られている高血糖自身が肝からの糖放出を抑制する機構(正常インスリンレベルで、いわゆる糖自律調節(autoregulation)^{70,71)}の関与については今回の実験における血糖値レベルからも考えにくい。一方で本実験では結

果的には門脈内にグルコースとインスリンが同時に出現したことになる。この点、高血糖または高インスリン血症が(いずれか片方ではなく)同時に存在すると、肝は糖取り込みを始めることも以前より知られているが^{72,73}、それら報告における血糖、インスリン・レベルは今回の成績よりはるかに高いのでこのような機序の関与も少ないものと思われる。次に、(2)のグルコースの投与経路については、近年、グルコースが門脈内に注入されると末梢静脈内注入時と比べより多く肝に取り込まれることが明らかにされた^{62,74}。これらの事実はいわゆる“腸管因子(gut factor)”の存在⁷⁵を否定する⁷⁴と共に、むしろ“門脈因子(portal factor)”の存在を示している。従って、今回の血糖値、インスリン・レベルがより低い状況化での検討においてもグルコース投与経路の差により、このような動脈血糖値の差が生じた可能性がある。事実、生理的濃度でもインスリンとグルコースの投与経路(門脈内)が肝への糖取り込みに重要であることが最近報告されている⁷⁶。さらに、(3)の肝の神経機構と肝糖代謝の関与についても(2)のグルコース投与経路の関連で興味深い報告がある。即ち門脈-動脈間のグルコース濃度較差が肝への糖取り込みのシグナルになること^{62,76-78}が判明しつつある。今回の短期グルコース注入時(3mg/kg・4分)の門脈-動脈グルコース濃度較差の変化(-11~-13から+4~+8mg/dlへ)が神経反射的インスリン分泌を惹起したことも考え合わせ、持続的注入(500mg・30分)時にはこれより大きい較差の変化が起きていると思われ、肝・門脈域グルコース・センサーを介する神経情報が遠心性に脾のみならず肝にも到達し、肝への糖取り込みを促進したことが想定できる。事実、肝・門脈域グルコース・センサーからLHAへの情報伝達⁵²と、LHAから肝への遠心性情報コリン作動性機構(迷走神経)を介し、肝グリコーゲン合成を促進²⁵したり、グルコース門脈内投与時の(肝に取り込まれた)グルコースからのグリコーゲン合成を促進することが報告されている⁷⁹。よって、今回の持続的グルコース門脈内注入に伴う血糖値変動には(1)、(2)、(3)の因子が相互に関与したと考えられるが、とりわけ(1)の関与が大きいと想定される。

以上述べた全ての知見を合わせ考えると、摂食時の腸相のはじめにみられる早期インスリン分泌は、引き続き門脈内に出現するグルコースによる血糖上昇の抑制および肝でのグルコース取り込みと利用に著しい影響を与えることになるので、その生理学的意義は大きい。さらにこのような早期インスリン分泌は吸収された糖の代謝に“導入または準備効果(priming or preparing effect)”を発揮するので、臨床的にも正常糖代謝を維持する上でのインスリン必要量の節約を招来すると考えられる⁸⁰。したがって、生体は摂食時に頭相インスリン分泌も含め中枢神経に統御された種々のレベルでの(視覚、嗅覚、口腔領域における味覚、小腸、門脈域のレセプターを介する)求心性-遠心性神経脾連関系によって、代謝を制御していると想定される。今後、迷走神経線維の75~90%、内臓神経線維の50%をも占める求心性線維²³の果たす生理的役割が注目されるが、今回の著者の成績はその中の肝-脾島間の神経内分泌連関とその生理学的意義を明らかにしたものと考えられる。

結 論

門脈内にグルコースが出現した際に、肝・門脈域グルコース・センサーを介し、インスリン分泌が神経性に惹起されるか

どうかを、全身血糖値に影響を与えない微量のグルコースを麻酔イヌの門脈内に注入し検討し、以下の成績を得た。

1. D-グルコース 3mg/kg・体重を4分間にわたり正常イヌの門脈内に注入すると、動脈血糖値は全く変動せずに、脾静脈血のインスリン濃度は注入開始後2~3分の早期に前値の1.5倍に増加し、注入終了後前値に復した。しかし大腿動脈血インスリン・レベルは有意に変動しなかった。

2. このような血糖値に依存しないインスリン分泌の神経性機構を検討したところ、迷走神経の腹・背側枝切断イヌ(横隔膜直下)においてはこのインスリン反応は消失したが、腹側枝のみの切断イヌではこの反応は残存した。肝門部周囲で神経線維を剥離・切断した肝除神経イヌでは、このインスリン反応は、わずかに認められるものの、明らかに減弱した。

次いで門脈内グルコース出現に伴う“神経性”インスリン分泌の生理学的役割を追求するため、以下の実験を行った。

1. D-グルコース 500mgを30分間にわたり門脈内に持続注入すると、10分までの動脈血糖値はわずかに増加傾向を示し(平均+2mg/dl)、以後はむしろ低下傾向を示した。にもかかわらず、脾静脈血のインスリンレベルは5分に頂値をもつ早期分泌(10分まで)と、その後増加する後期分泌の2峰性を示した。

2. 同量のD-グルコースを大腿静脈内に同様に注入すると、動脈血糖値は次第に増加した(平均14mg/dl)。しかし脾静脈血インスリンレベルは、10分まではわずかに増加したにすぎず(門脈内注入時の37%)、以後も(引き続き血糖値上昇にもかかわらず)その増加は門脈内注入時のそれと同程度にすぎなかった。

以上の成績は、微量のグルコースが門脈内に到達する際(腸相初期に相当)、全身血糖値の変動を介することなく、脾からの迅速な“神経性”インスリン放出が惹起されることを示す。この神経脾内分泌反射には、肝・門脈域グルコース・センサーを起点とする迷走神経機構が主に関与し、肝・門脈域グルコース・センサー-迷走神経肝臓枝-求心性迷走神経-中枢神経系-迷走神経遠心路(主として背側枝)-脾B細胞の経路が想定された。さらに、この神経性に分泌されるインスリンは主に肝作用を発揮し、引き続き門脈内に入る腸相のグルコース代謝に重要な生理学的役割を果たしていることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるに当たり、御指導と御校閲を頂いた恩師竹田亮祐教授に深く感謝の意を表します。また、本研究の遂行に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59回日本内分泌学会総会(1986、仙台)、第63回日本内分泌学会総会(1990、大阪)、第34回日本糖尿病学会ワークショップ(1991、山形)において発表した。

文 献

- 1) Woods, S. & Porte, D. Jr.: Neural control of the endocrine pancreas. *Physiol. Rev.*, **54**, 596-619 (1974).
- 2) Smith, P. H. & Porte, D. Jr.: Neuropharmacology of pancreatic islets. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **16**, 269 (1976).
- 3) Miller, R. E.: Pancreatic neuroendocrinology: peripheral neural mechanisms in the regulation of the islets of

- Langerhans. *Endocr. Rev.*, **2**, 471-494 (1981).
- 4) Frohman, L. A., Ezdinli, E. Z. & Javid, R.: Effect of vagotomy and vagal stimulation on insulin secretion. *Diabetes*, **16**, 443-448 (1967).
 - 5) Kaneto, A., Kosaka, K. & Nakao, K.: Effects of stimulation of the vagus nerve on insulin secretion. *Endocrinology*, **80**, 530-536 (1967).
 - 6) Daniel, P. M. & Henderson, J. R.: The effect of vagal stimulation on plasma insulin and glucose levels in the baboon. *J. Physiol. (London)*, **192**, 317-326 (1967).
 - 7) Kaneto, A., Kajinuma, H. & Kosaka, K.: Effect of splanchnic nerve stimulation on glucagon and insulin output in the dog. *Endocrinology*, **96**, 143-150 (1975).
 - 8) Bloom, S. R. & Edwards, A. V.: The release of pancreatic glucagon and inhibition of insulin in response to stimulation of the sympathetic innervation. *J. Physiol. (London)*, **253**, 157-173 (1975).
 - 9) Hakanson, R., Liedberg, G. & Lundquist, I.: Effect of vagal denervation on insulin release after oral and intravenous glucose. *Experientia (Basel)*, **27**, 460-461 (1977).
 - 10) Russek, M.: An hypothesis on the participation of hepatic glucoreceptors in the control of food intake. *Nature (London)*, **197**, 79-80 (1963).
 - 11) Rodriguez-Zendejas, A. M., Vega, C., Soto-mora, L. M. & Russek, M.: Some effects of intraperitoneal glucose and of intraportal glucose and adrenaline. *Physiol. Behav.*, **3**, 259-264 (1968).
 - 12) Russek, M.: Demonstration of the influence of an hepatic glucosensitive mechanism on food intake. *Physiol. Behav.*, **5**, 1207-1209 (1970).
 - 13) Tordoff, M. G. & Friedman, M. I.: Hepatic-portal glucose infusions decrease food intake and increase food preference. *Am. J. Physiol.*, **251**, R192-195 (1986).
 - 14) Niiijima, A.: Afferent impulse discharges from glucoreceptors in the liver of the guinea pig. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **157**, 690-700 (1969).
 - 15) Niiijima, A.: Glucose-sensitive afferent nerve fibers in the hepatic branch of the vagus nerve in the guinea pig. *J. Physiol. (London)*, **332**, 315-323 (1982).
 - 16) Niiijima, A., Fukuda, A., Taguchi, T. & Okuda, J.: Suppression of afferent activity of the hepatic vagus nerve by anomers of D-glucose. *Am. J. Physiol.*, **244**, R611-614 (1983).
 - 17) Oomura, Y.: Central mechanism of feeding. *In* M. Kotani (ed.), *Advances of Biophysics*, 1st ed., vol. 5, p65-142, Tokyo Univ. Press, Tokyo, 1973.
 - 18) Niiijima, A.: Glucose-sensitive afferent nerve fibers in the liver and regulation of blood glucose. *Brain Res. Bull.*, **5** (suppl. 4), 175-179 (1980).
 - 19) Oomura, Y.: Glucose as a regulator of neuronal activity. *In* A. J. Szabo (ed.), *Advances in Metabolic Disorders*, 1st ed., vol. 10, p31-65, Academic Press, New York, 1983.
 - 20) Niiijima, A., Kannan, H. & Yamashita, H.: Neural Control of blood glucose homeostasis; Effect of microinjection of glucose into hypothalamic nuclei on efferent activity of pancreatic branch of vagus nerve in the rat. *Brain Res. Bull.*, **20**, 811-815 (1988).
 - 21) 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).
 - 22) Nakabayashi, H., Ito, T., Igawa, T., Hiraiwa, Y., Imamura, T., Seta, T., Kawato, M., Usukura, N. & Takeda, R.: Disopyramide induces insulin secretion and plasma glucose diminution: Studies using the in situ canine pancreas. *Metabolism*, **38**, 179-183 (1989).
 - 23) Sawchenko, P. E. & Friedmann M. I.: Sensory functions of the liver - a review. *Am. J. Physiol.*, **236**, R5-R20 (1979).
 - 24) Lutt, W. W.: Afferent and efferent neural roles in liver function. *Prog. Neurobiol.*, **21**, 323-348 (1983).
 - 25) Shimazu, T.: Neuronal regulation of hepatic glucose metabolism in mammals. *Diabetes / Metabolism Rev.*, **3**, 185-206 (1987).
 - 26) Jungermann, K.: Regulation von Leberfunktionen durch autonome hepatische Nerven. *Naturwissenschaften*, **76**, 547-549 (1989).
 - 27) Herbert, V., Lau, K. S., Gottlieb, C. W. & Bleicher, S. J.: Coated charcoal immunoassay of insulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **25**, 1375-1384 (1965).
 - 28) Faloona, G. R. & Unger, R. H.: Glucagon. *In* B. M. Jaffe & H. R. Behman (eds.), *Method of Hormone Radioimmunoassay*, 1st ed., p317-330, Academic Press, New York, 1974.
 - 29) 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).
 - 30) Goodner, C. J., Walike, B. C., Koerker D. J., Ensinn, J. W., Brown, A. C., Chideckel, E. W., Palmer, J. & Kalnasy, L.: Insulin, glucagon, and glucose exhibit synchronous sustained oscillations in fasting monkeys. *Science*, **195**, 177-179 (1977).
 - 31) Weigle, D. S.: Pulsatile secretion of fuel-regulatory hormones. *Diabetes*, **36**, 764-775 (1987).
 - 32) Elric, H., Stimmler, L., Hlad, C. J. Jr. & Arai, V.: Plasma insulin response to oral and intravenous glucose administration. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **24**, 1076-1082 (1964).
 - 33) McIntyre, N., Holdsworth, C. D. & Tubner, D. S.: New interpretation of oral glucose tolerance. *Lancet*, **2**, 20-21 (1964).
 - 34) Fischer, U., Hommel, H., Fiedler, H. & Bibergeil, H.: Reflex mechanism on insulin secretion. *Endocrinol. Exp.*, **8**, 137-146 (1974).
 - 35) Strubbe, J. H. & Steffens, A. B.: Rapid insulin release after ingestion of a meal in the unanesthetized rat. *Am. J. Physiol.*, **229**, 1019-1022 (1975).
 - 36) Niiijima, A.: Control of liver function and neuroendo-

- crine regulation of blood glucose levels. *In* C. M. Brooks, K. Koizumi & A. Sato (eds.), *Integrative Functions of the Autonomic Nervous System*, 1st ed., p68-83, University of Tokyo Press/Elsevier, Tokyo/Amsterdam, 1979.
- 37) Mei, N.: Intestinal chemosensitivity. *Physiol. Rev.*, **65**, 211-237 (1985).
- 38) Mei, N.: Vagal glucoreceptors in small intestine of cat. *J. Physiol. (London)*, **282**, 485-506 (1978).
- 39) Mei, N., Arlhac, A. & Boyer, A.: Nervous regulation of insulin release by the intestinal vagal glucoreceptors. *J. Auton. Nerv. Syst.*, **4**, 351-363 (1981).
- 40) Dupre, J., Ross, S. A., Watson, D. & Brown, J. C.: Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **37**, 826-828 (1973).
- 41) Mojsov, S., Weir, G. C. & Habener, J. F.: Insulinotropin: Glucagon-like peptide 1 (7-37) co-encoded in the glucagon gene is a potent stimulator of insulin release in the perfused rat pancreas. *J. Clin. Invest.*, **79**, 616-619 (1987).
- 42) Zunz, E. & La Barre, J.: Contributions a l'etude des variations physiologiques de la secretion interne du pancreas: relations entre les secretions externe et interne du pancreas. *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, **31**, 20-44 (1929).
- 43) Unger, R. H. & Eisentraut, A. M.: Entero-insular axis. *Arch. Intern. Med.*, **123**, 261-266 (1969).
- 44) Creutzfeldt, W.: The incretin concept today. *Diabetologia*, **16**, 75-85, (1979).
- 45) Creutzfeldt, W. & Ebert, R.: New development in the incretin concept. *Diabetologia*, **28**, 565-573 (1985).
- 46) Hevel, P. J., Flatness, D. E., Halter, J. B., Best, J. D., Veith, R. C. & Taborsky, Jr. G. J.: Halothane anesthesia does not suppress sympathetic activation produced by neuroglucopenia. *Am. J. Physiol.*, **252**, E667-672 (1987).
- 47) Schmitt, M.: Influence of hepatic portal receptors on hypothalamic feeding and satiety centers. *Am. J. Physiol.*, **225**, 1089-1095 (1973).
- 48) Nijima, A.: Electrophysiological study on nervous pathway from splanchnic nerve to vagus nerve in rat. *Am. J. Physiol.*, **244**, R888-R890 (1983).
- 49) Carobi, C. & Magni, R.: The afferent innervation of the liver: A horseradish peroxidase study in the rat. *Neurosci. Lett.*, **23**, 269-274 (1981).
- 50) Lee, K. C. & Miller, R. E.: The hepatic vagus nerve and the neural regulation of insulin secretion. *Endocrinology*, **117**, 307-314 (1985).
- 51) Adachi, A., Shimizu, N., Oomura, Y. & Kobashi, M.: Convergence of hepatportal glucose-sensitive afferent signals to glucose-sensitive units within the nucleus of the solitary tract. *Neurosci. Lett.*, **46**, 215-218 (1984).
- 52) Shimizu, N., Oomura, Y., Novin, D., Grijalva, C. V. & Cooper, P. H.: Functional correlations between lateral hypothalamic glucose-sensitive neurons and hepatic portal glucose-sensitive units in rat. *Brain Res.*, **265**, 49-54 (1983).
- 53) Novin, D., Rogers, R. C. & Hermann, G.: Visceral afferent and efferent connections in the brain. *Diabetologia*, **20**, 331-336 (1981).
- 54) Ionescu, E., Rohner-Jeanrenaud, F., Berthoud, H. R. & Jeanrenaud, B.: Increases in plasma insulin levels in response to electrical stimulation of the dorsal motor nucleus of the vagus nerve. *Endocrinology*, **112**, 904-910 (1983).
- 55) Kaneto, A.: Effect of vagal stimulation on insulin and glucagon secretions. *Endocrinology*, **95**, 1005-1010 (1974).
- 56) Bloom, S. R., Edwards, A. V. & Vaughan, N. J. A.: The role of the autonomic innervation in the control of glucagon release during hypoglycaemia in the calf. *J. Physiol. (London)*, **236**, 611-623 (1974).
- 57) 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. (London)*, **233**, 457-466 (1973).
- 58) Schmitt, M.: Influences of hepatic portal receptors on hypothalamic feeding and satiety centers. *Am. J. Physiol.*, **225**, 1089-1095 (1973).
- 59) Havel, P. J., Veith, R. C., Dunning, B. E. & Taborsky, Jr. G. J.: Pancreatic noradrenergic nerves are activated by neuroglucopenia but not by hypotension or hypoxia in the dog. *J. Clin. Invest.*, **82**, 1538-1545 (1988).
- 60) Sakaguchi, T. & Hayashi, Y.: Reflex secretion of insulin evoked by hepatic portal injection of D-glucose anomers in the rat. *Biomed. Res.*, **2**, 222-224 (1981).
- 61) Yamazaki, M. & Sakaguchi, T.: Pancreatic vagal functional distribution in the secretion evoked by portal infusion of D-glucose. *Brain Res.*, **484**, 357-360 (1989).
- 62) Ishida, T., Chap, Z., Chou, J., Lewis, R., Hartley, C., Entman, M. & Field, J. B.: Differential effects of oral, peripheral intravenous and intraportal glucose on hepatic glucose uptake and insulin and glucagon extraction in conscious dogs. *J. Clin. Invest.*, **72**, 590-601 (1983).
- 63) Ishida, T., Lewis, R. M., Hartley, C. J., Entman, M. & Field, J. B.: Comparison of hepatic extraction of insulin and glucagon in conscious and anesthetized dogs. *Endocrinology*, **112**, 1098-1109 (1983).
- 64) Harding, P., Bloom, G. & Field, J. B.: Effect of infusion of insulin into portal vein on hepatic extraction of insulin in anesthetized dogs. *Am. J. Physiol.*, **228**, 1580-1588 (1975).
- 65) Ishida, T., Chap, Z., Chou, J., Lewis, R. M., Hartley, C. J., Entman, M. & Field, J. B.: Hepatic extraction of exogenous insulin in depancreatized conscious dogs. *Am. J. Physiol.*, **246**, E369-E379 (1984).
- 66) Chap, Z., Ishida, T., Chou, J., Lewis, R., Hartley, C., Entman, M. & Field, J. B.: Effects of atropine and gastric inhibitory polypeptide on hepatic glucose uptake and insulin extraction in conscious dogs. *J. Clin. Invest.*, **76**, 1174-1181 (1985).
- 67) 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).

- 68) Rizza, R. A., Mandarino, L. J. & Gerich, J. E.: Dose-response characteristics for effects of insulin on production and utilization of glucose in man. *Am. J. Physiol.*, **240**, E630-E639 (1981).
- 69) DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Hendler, R., Felig, P. & Wahren, J.: Regulation of splanchnic and peripheral glucose uptake by insulin and hyperglycemia in man. *Diabetes*, **32**, 35-45 (1983).
- 70) Soskin, S.: The liver and carbohydrate metabolism. *Endocrinology*, **25**, 297-308 (1940).
- 71) Sacca, L., Hendler, R. & Sherwin, R. S.: Hyperglycemia inhibits glucose production in man independent of changes in glucoregulatory hormones. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **47** 1160-1163 (1978).
- 72) Madison, L. L.: Role of insulin in the hepatic handling of glucose. *Arch. Intern. Med.*, **123**, 284-292 (1969).
- 73) Cherrington, A. D., Williams, P. E., Abou-Mourad, N., Lacy, W. W., Steiner, K. E. & Liljenquist, J. E.: Insulin as a mediator of hepatic glucose uptake in the conscious dog. *Am. J. Physiol.*, **242**, E97-E101 (1982).
- 74) Bergman, R. N., Beir, J. R. & Hourigan, M.: Intraportal glucose infusion matched to oral glucose absorption. Lack of evidence for "gut factor" involvement in hepatic glucose storage. *Diabetes*, **31**, 27-35 (1982).
- 75) DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Hendler, R., Wahren, J. & Felig, P.: Influence of hyperinsulinemia, hyperglycemia, and the route of glucose administration on splanchnic glucose exchange. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, **74**, 5173-5177 (1978).
- 76) Gardemann, A., Strulik, H. & Jungermann, K.: A portal arterial glucose gradient as a signal for an insulin-dependent net glucose uptake in perfused rat liver. *FEBS Lett.*, **202**, 255-259 (1986).
- 77) Myers, S. R., McGuinness, O.P., Neal, D. W. & Cherrington, A. D.: Intraportal glucose delivery alters the relationship between net hepatic glucose uptake and the insulin concentration. *J. Clin. Invest.*, **87**, 930-939 (1991).
- 78) Pagliassotti, M. J., Myers, S. R., Moore, M. C., Neal, D. W. & Cherrington, A. D.: Magnitude of negative arterial-portal glucose gradient alters net hepatic glucose balance in conscious dogs. *Diabetes*, **40**, 1659-1668 (1991).
- 79) Shulman, G. I. & Rossetti, L.: Influence of the route of glucose administration on hepatic glycogen repletion. *Am. J. Physiol.*, **257**, E681-E685 (1989).
- 80) Kraegen, E. W., Chisholm, D. J. & McNamara, M. E.: Timing of insulin delivery with meals. *Horm. Metab. Res.*, **13**, 365-367 (1981).

"Neurogenic" Insulin Secretion Caused by an Intraportal Glucose Appearance and its Physiological Significance
Toshiyuki Itoh, Department of Internal Medicine (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., **102**, 680—695 (1993)

Key words insulin, hepatportal glucose sensor, vagal nerve, early insulin secretion, glucose homeostasis

Abstract

To address the existence of a physiological neuroendocrine reflex between the hepatportal glucose sensor and insulin secretion, a small amount of D-glucose was infused into the portal vein (3mg/kg · body weight, for 4 min) of anesthetized dogs. Blood samples from the superior pancreaticoduodenal vein (PV) and the femoral artery (FA) were taken at -12, -10, -8, -6, -4, -2, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 7.5, and 10 min after the start of glucose infusion. In normal dogs (n=6), the arterial plasma glucose levels did not change at all during and after the infusion, which raised the level by 12~18 mg/dl in the portal vein. Nevertheless, immunoreactive insulin (IRI) levels in the PV, but not in the FA, increased significantly from a mean preinfusion value of $219 \pm 20 \mu\text{U/ml}$ (mean \pm SE) to 325 ± 44 and 284 ± 17 at 2 and 3 min after the start of infusion, respectively, returning to the preinfusion level immediately after the end of infusion. The raised IRI levels of each dog exceeded the mean +2SD range of the preinfusion values in all dogs. In dogs with the hepatic denervation representing blockade of the afferent pathway of the neuroendocrine reflex (n=5), IRI levels in the PV increased only by $20 \mu\text{U/ml}$ at 2 and 3 min. In dogs which received the subdiaphragmatic bilateral vagotomy fitting for the afferent and efferent blockade of the reflex (n=5), IRI levels in the PV and the FA and plasma glucose levels did not change at all after the glucose infusion. To determine physiological roles of the neurogenic insulin secretion, a more sustained infusion of a small dose of glucose (500 mg for 30 min: namely ca. $3.8 \pm 0.2 \text{ mg/kg} \cdot \text{body weight}$ during the initial four minutes) was performed. During the infusion into the portal vein (n=7), plasma glucose levels rose marginally within 10 min and tended to decrease thereafter. IRI levels in the PV clearly showed an early peak at 5 min and a late peak at 30 min, without exhibiting arterial IRI changes. In contrast, after the glucose infusion via the femoral vein (n=5), the early phase of PV IRI secretion diminished to one third, in face of an apparent plasma glucose increase by ca. 14 mg/dl, and the late phase of the secretion corresponded to that in the intraportal infusion.

The results indicate that a prompt, neurally-mediated, IRI secretion occurs responding to an intraportal glucose appearance, as seen at the very beginning of the intestinal phase after glucose ingestion. The promptly secreted insulin attenuates glycemic excursion through its hepatic action in the following glucose appearance. These results suggest that a neurohumoral "hepato-insular linkage" plays an important role in glucose homeostasis, by exerting its preparing or priming effects on glucose ingestion.