

Pancreatic Polypeptide Secretion from the Isolated Perfused Pancreas of Obese Rats

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/2297/8348

肥満ラットにおける膵ポリペプチド分泌動態

金沢大学医学部内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

小 川 滋 彦

(平成3年8月12日受付)

若年性肥満のモデルである Zucker 肥満ラットと、視床下部性肥満のモデルである monosodium L-glutamate (MSG) 肥満ラットの2つの肥満動物を用いて、膵ポリペプチド (pancreatic polypeptide, PP) の分泌動態について検討し、肥満における PP の意義を明らかにせんと試みた。本研究では、ラット PP (rat PP, rPP) とアミノ酸配列の違いが少ないヒト PP (18-36) を免疫抗原として作製した抗血清 R0212 を用いた特異ラジオイムノアッセイ (radioimmunoassay, RIA) 系を確立し、ウイスター系ラットにおける rPP の加齢による変化を検討したのち、単離膵灌流系 (腹側膵) を用いて検討した。Zucker 肥満ラットにおいて、末梢血中 rPP 濃度、rPP 膵組織含有量いずれも肥満群で低値を示し、carbamylcholine (Cch) 10^{-6} M 刺激時の灌流液中の rPP 濃度も同様、肥満群で低値低反応を示した。一方、MSG 肥満ラットにおいては、末梢血中および膵組織中の rPP は対照群と有意差を認めなかったが、灌流液中の rPP 濃度は MSG 群で基礎値、Cch 刺激時の総放出量いずれにおいても高値を示した。以上の結果より、Zucker および MSG 肥満ラットの両者における肥満の成因の差が、異なった PP 分泌動態をもたらしたものと推察された。

Key words pancreatic polypeptide, isolated rat pancreas perfusion, obesity

膵ポリペプチド (pancreatic polypeptide, PP) は、36アミノ酸残基のポリペプチドであり、膵 PP 細胞で産生される内分泌ホルモンである¹⁻⁴。従来より、PP 投与による肥満の是正、肥満者における血中 PP 値の低値など、肥満と PP との関係を示唆する報告がなされている⁵⁻⁹。ヒト肥満者においては、末梢血中 PP の基礎値および試験食摂取後の反応、いずれにおいても低値低反応であることが報告されている^{5,6}。また、ある種の肥満動物に PP を注射することにより体重減少や食欲の低下など肥満の是正が認められると報告されており^{7,8}、PP が肥満において何らかの役割を果たしていることが推測される。しかし、その機序に関しては明らかにされていない。そこで、今回著者は、PP の測定が困難なため、このような検討がなされていない汎用実験動物であるラットにおける PP (rat PP, rPP) の特異ラジオイムノアッセイ (radioimmunoass-

ay, RIA) 系を確立し、摘出膵灌流系を用いて、若年性肥満のモデルである Zucker 肥満ラットおよび視床下部性肥満のモデルである monosodium L-glutamate (MSG) 肥満ラットの両者において PP 放出動態を検討した。また、ヒトにおいて加齢とともに PP の末梢血中濃度が増加することが知られているが^{9,10}、ウイスター系ラットを用いて rPP の加齢による変化についても検討した。

材料および方法

I. ペプチド

合成ヒト PP (human PP, hPP) およびその関連ペプチド、ブタ neuropeptide Y (NPY), peptide YY (PYY), 合成 rPP は、静岡薬科大学生物薬品化学教室において、液相法または固相法により化学合成し、使用前にその純度を証明したものである。合成 hPP (18

Abbreviations: BSA, bovine serum albumin; Cch, carbamylcholine; hPP, human pancreatic polypeptide; MSG, monosodium L-glutamate; NPY, neuropeptide Y; PP, pancreatic polypeptide; PYY, peptide YY; rPP, rat pancreatic polypeptide; RIA, radioimmunoassay

位-36位, 18-36), hPP (23-36), hPP (28-36) は, この hPP の合成過程で得られる C 末端ペプチドである。

II. RIA

1. 抗 hPP (18-36) 血清 R0212 の作成

免疫抗原として, 種差によるアミノ酸残基の置換の少ない hPP C 末端フラグメントに相当する合成 hPP (18-36) を選んだ。その合成 hPP (18-36) (3mg) を 50% ポリビニルピロリドン (1.5ml) に吸着させた後, 3 匹の家兎 (体重 2~2.5kg) に注射免疫し, 2 回目の免疫より 1 匹当たりその半量 (0.5mg) を注射し追加免疫した結果, 高力価の血清 R0212 を得た。

2. rPP 特異 RIA 系の確立

上記抗 hPP (18-36) 血清 R0212 を最終希釈濃度 175,000 倍にて用い, 合成 rPP を標準抗原, ^{125}I -合成 rPP を標識抗原とする特異 RIA 系により測定した。なお標識抗原は, クロラミン T 法によりヨード化し, Sephadex G10 カラムにて精製した。標準希釈溶液として 0.5% ウシ血清アルブミン (bovine serum albumin, BSA) (Sigma Chemical Co., St. Louis, U. S. A.), 25mM エチレンジアミン四酢酸 (和光純薬, 大阪), 0.14 M 食塩を含む, 0.01 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) を用い, この溶液 0.4 ml に標準抗原溶液 (0.1 ml) あるいは未知検体溶液 (0.1 ml) を添加した後, 希釈抗血清溶液 (0.1 ml) を加えて, 4°C, 48 時間反応させた。結合型と遊離型の分離は, 5% ポリエチレングリコールを用いる二抗体法により行った¹⁰⁾。なお, 本系の最小検出限界は 10~20pg/tube であった (図 1)。

また, インスリンの測定は, インスリンキット (ダ

イナボット社, 東京) による RIA 法により行った。グルカゴン, およびソマトスタチンは, それぞれ大塚アッセイ研究所 (徳島) より提供された ^{125}I -グルカゴンと抗グルカゴン特異血清, および ^{125}I -ソマトスタチンと抗ソマトスタチン特異血清を用いた RIA 法にて測定した。

III. 組織の抽出

ウイスター系雄性ラット (体重 200~250g) を用い 24 時間絶食後, 無麻酔下で断頭し, ただちに臓器を摘出した。組織は秤量後, 組織 1g あたり 5ml の酸エタノール (エタノール 750ml, 濃塩酸 15ml, 蒸留水 250ml) を加えホモジナイズした。ホモジネートは 4°C にて一晩放置後, 遠心して上清を分離し, 残渣にさらに組織 1g あたり 4ml の酸エタノールを加え 1 時間のインキュベーションの後, 遠心して得られた上清を先の上清と合わせた。これに水酸化アンモニウムを滴下し pH 7.5 に調整した後, さらに遠心し, 分離した上清を凍結乾燥し, これを 0.01 M リン酸緩衝液に溶かして RIA 用検体とした。膵に関しては, 腹側膵と背側膵に分けて検討した。すなわち, ラット膵は大きく, 胆管区域, 十二指腸区域, 胃脾区域に分けられているが, フェノールフタレインを腹腔動脈から灌流すると胃脾区域が主に染まりこれを背側膵とし, 上腸間膜動脈から灌流すると胆管区域と十二指腸区域が染まることよりこれを腹側膵として⁹⁾, それぞれの rPP, インスリン, ソマトスタチンおよびグルカゴンの組織含有量を測定した。

IV. ゲル濾過法

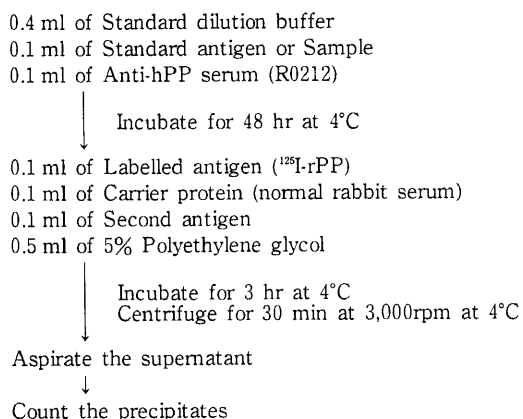


Fig. 1. Flow sheet of RIA specific to rPP. Standard dilution buffer: 0.01 M Phosphate buffer containing 0.025 M EDTA, 0.14 M NaCl and 0.5% BSA.

rPP の組織内分子型をみるために、ラット膵組織抽出物を用いてゲル濾過を行い検討した。上述の組織抽出検体を 3M 酢酸に溶解後、不溶物を遠心分離し、上清を Sephadex G50 superfine (Pharmacia Fine Chemical, Uppsala, Sweden) (1.0 × 90.0cm) カラムにかけてゲル濾過を行った。溶出液として 3M 酢酸を用い、溶出液を各 1.2 ml 画分として採取後、凍結乾燥し RIA 検体とした。

V. 単離膵灌流実験

膵灌流実験は、Grodsky ら¹⁹⁾の方法に準じて摘出膵灌流標本を作製し、背側膵灌流および腹側膵灌流により行った。灌流液として、Krebs-Ringer 重炭酸緩衝液 (Ca 濃度 2.5 mM) に 4% デキストラン 70 (Pharmacia Fine Chemical), 0.2% BSA, 5mM グルコース (和光純薬) を加え、95% O₂・5% CO₂ で飽和し pH7.4, 37°C に調整したものを使用した。背側膵灌流は腹腔動脈のカニューレーションより 2ml/分、腹側膵灌流は上腸間膜動脈のカニューレーションより 1ml/分の流速で灌流した。門脈のカニューレーションより得られた灌流液は、フラクションコレクターを用いて 2分毎にアプロチニン (500KIU/ml) を添加した試験管に受け直ちに氷冷した。薬物刺激は副交感神経系刺激薬である carbamylcholine (Cch) (Sigma Chemical Co.) を用い、基礎分泌安定後、側管よりインフュージョンポンプ

(Harnard Apparatus, Model 975) にて 0.1ml/分の流量で注入した。まずウイスター系雄性ラット (生後 12 週齢, 体重 200~250g) (飲水を制限せず一晩絶食したのちペントバルビタール 50mg/kg 腹腔内投与にて麻酔) を用いて、Cch 10⁻⁶M 刺激にて背側膵灌流と腹側膵灌流における rPP 分泌能を比較検討した後、腹側膵灌流系において、薬物刺激を Cch 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶M と濃度を変えて、Cch の用量依存性について検討した。

VI. 実験動物

1. 加齢による rPP およびインスリンの変化

生後 1, 2, 3, 6, 12 ヶ月のウイスター系雄性ラットを用い、24 時間絶食後、無麻酔下で断頭し、脱血後、ただちに膵を摘出した。前述のように末梢血中 rPP とインスリン濃度、および膵組織中の rPP とインスリン含有量を同時に測定した。

2. 肥満ラットにおける検討

1) Zucker 肥満ラットにおける検討

Zucker 肥満雄性ラット、生後 9-10 週齢、体重 410-440g を用い、同週齢、体重 330-360g の Zucker 非肥満雄性ラットを対照群とした。前述の腹側膵灌流系を用いて Cch 10⁻⁶M 刺激にて検討した。また、末梢血中 rPP とインスリン濃度、および膵組織中の rPP とインスリン含有量を同時に測定した。

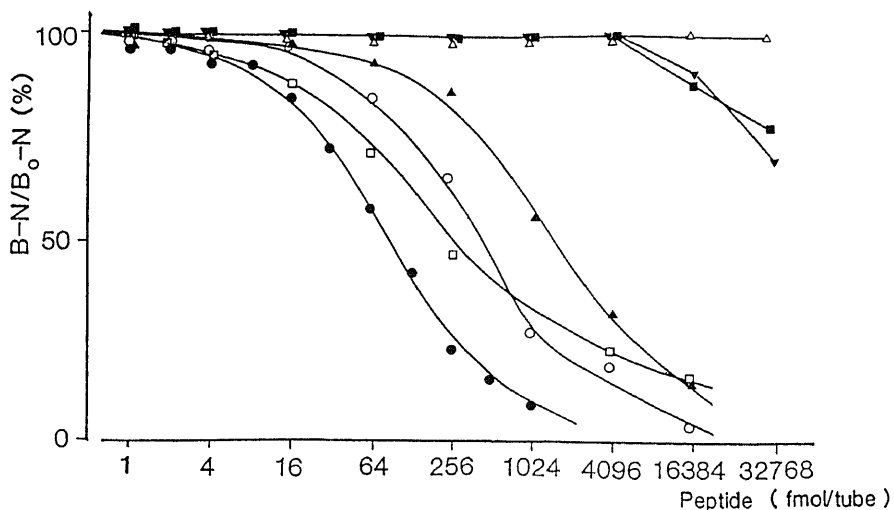


Fig. 2. Displacement curves of various synthetic hPP fragments in the hPP RIA with antiserum R0212. Assay conditions are those described in Fig. 1. (●-●), hPP (1-36); (○-○), hPP (18-36); (▲-▲), hPP (23-36); (□-□), hPP (28-36). B, precipitated radioactivity in presence of unlabeled rPP; B₀, precipitated radioactivity in absence of unlabeled rPP; N, non-specific binding. RIA showed no cross-reactivity with human and rat insulin (△-△) and only less than 0.2% cross-reactivity with NPY (■-■) and PYY (▼-▼).

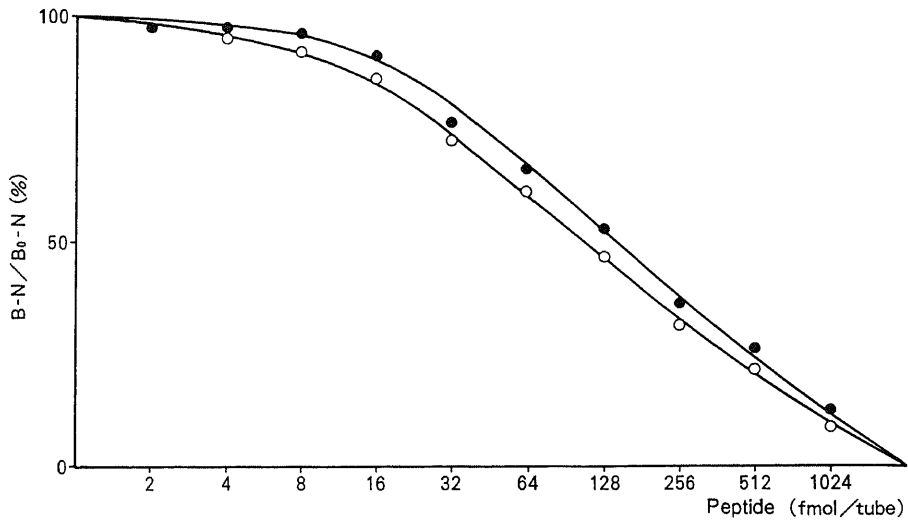


Fig. 3. Immunological identification of rPP with hPP. (●-●), rPP; (○-○), hPP. Antiserum: R0212. Tracer: ^{125}I -rPP.

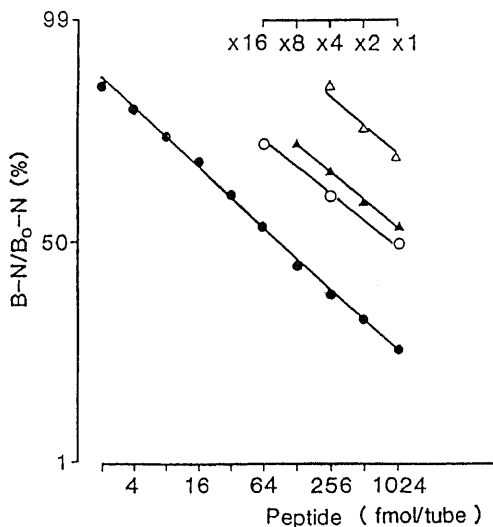


Fig. 4. Dilution curves of various rat tissue extracts. Pancreas (○-○), duodenum (▲-▲) and adenostomach (△-△) and dose-response curve of standard synthetic rPP (●-●) in rPP RIA with antiserum R0212. Dilution is indicated at the top.

2) MSG 肥満ラットにおける検討

MSG 肥満ラットは、ウイスター系新生ラットに、生後第1日より5日間連続してMSG(和光純薬)を滅菌精製水にて溶解し、2mg/g体重の割合で、背部に皮下注射して作製した。3週目に離乳後、自由摂食にて飼育し、灌流実験には12週飼育したものをを用いた。対

照群として、同時期に生食を投与したものをを用いた。同様に末梢血中 rPP とインスリン濃度、および膵組織中の rPP とインスリン含有量を同時に測定した。

VII. 統計学的検定法

成績はすべて平均値±標準誤差で示した。2群間の平均値の差の検定は t-検定法により、 $p < 0.05$ を有意とした。

成 績

I. 抗 hPP (18-36) 血清と RIA 系の確立

合成 hPP (18-36) を抗原として用い、家兎に免疫した結果、高力価の抗 hPP (18-36) 血清 R0212 が得られた。本抗血清 R0212 の主要抗原認識部位を、合成 hPP のフラグメントおよび各種合成 hPP 関連ポリペプチドの交差反応性に基づき検討したところ、hPP (1-36), hPP (18-36), hPP (23-36), hPP (28-36) の用量反応曲線は、いずれも hPP (1-36) のそれに一致し、同等の交差反応性を示した。したがって、抗血清 R0212 の主要抗原認識部位は、C末端28番目から36番目のアミノ酸配列以内に存在することが明らかとなった。また、hPP のC端構造と類似のC端構造を持つNPY, PYYの交差反応性は0.2%以下であった。インスリンとの交差反応性も認められなかった(図2)。

本RIA系により、hPPとrPPの交差反応性を比較検討した。rPPの用量反応曲線は、hPPのそれに一致し、免疫化学的に差異のないことが明らかとなった(図3)。

ここに本抗血清 R0212 を用い、合成 rPP を標準抗

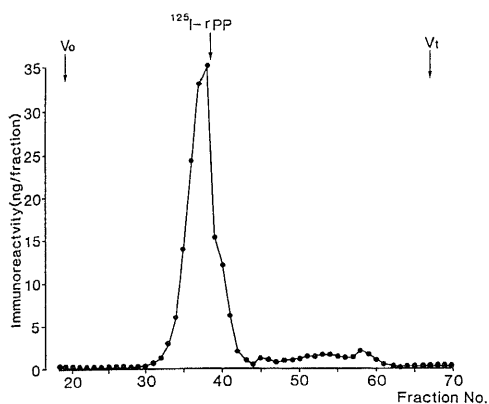


Fig. 5. Elution profile of rPP-like immunoreactivity in rat pancreas. Antiserum, R0212; column, Sephadex G-50 fine; elution buffer, 3M AcOH.

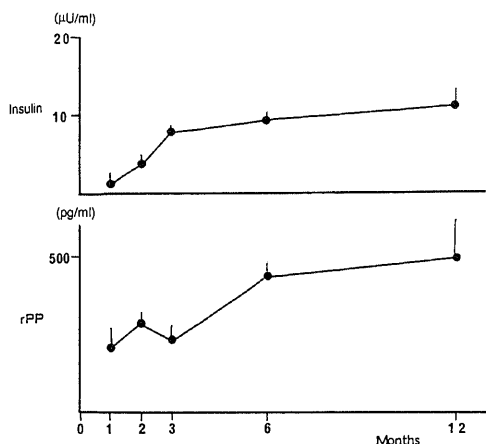


Fig. 6. Aging change in the plasma concentration of insulin and rPP in Wistar rat.

原, ^{125}I -合成 rPP を標識抗原とする特異 RIA 系を確立した。

II. ラット組織内 rPP 様免疫活性と存在様式

本研究の rPP 特異 RIA 系を用い, ラット膵, 十二指腸, 胃の組織抽出物中の rPP 様免疫活性について検討した. 図 4 に示すように, それら組織の抽出物の希釈曲線はいずれも rPP 標準曲線と平行し, ラット組織中の rPP の測定が可能であることを証明すると

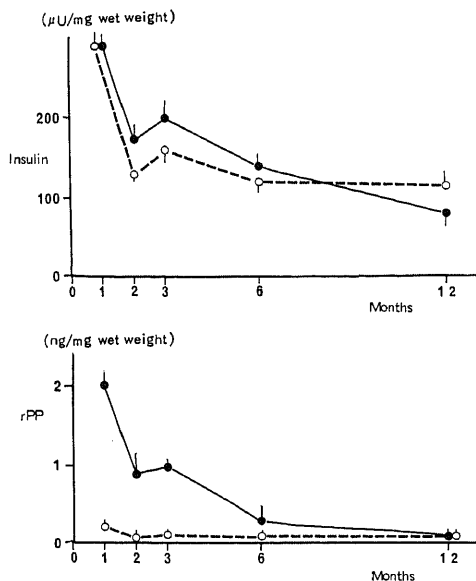


Fig. 7. Aging change in the concentration of insulin and rPP in Wistar rat pancreas. (●—●), ventral lobe; (○··○), dorsal lobe.

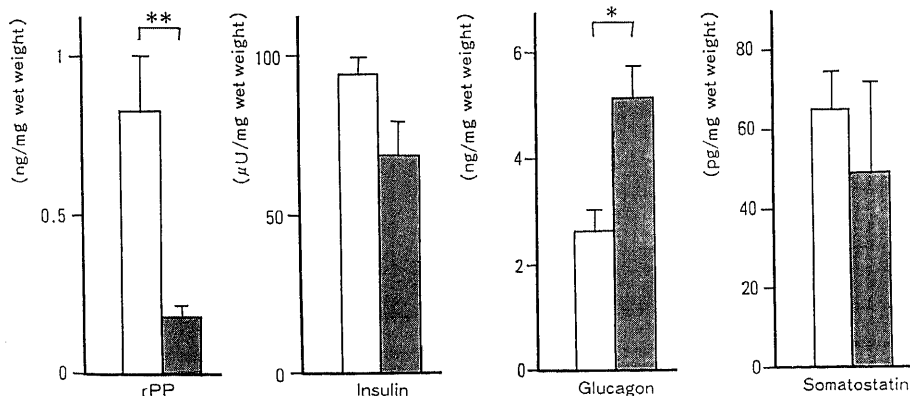


Fig. 8. The level of rPP, insulin, glucagon and somatostatin-like immunoreactivity in the pancreas of Wistar rats. Clear bars, the ventral lobe; shaded bars, the dorsal lobe. Value are expressed in mean \pm SEM of 5 rats. *P < 0.05, **P < 0.001 vs control value

ともに、rPP 様免疫活性が膵のみならず、十二指腸、胃にも存在することを確認した。

ついで、ラット膵における免疫活性成分の存在様式についても検討した。ラット膵抽出物のゲル濾過を行った結果、 ^{125}I -rPP と同一の位置に溶出する単一の高い免疫活性ピークを認めた (図 5)。

III. 加齢による rPP およびインスリンの変化

ウイスター系ラットにおいて、末梢血中および膵組織中の rPP とインスリンの加齢による変化を検討し

た。末梢血中のインスリンは 1, 2, 3 ヶ月齢と増加し、その後ほぼ一定となったが、rPP は他の哺乳動物と同様⁹⁾¹⁰⁾¹⁷⁾、加齢とともに増加する傾向を認めた (図 6)。膵組織中のインスリン含有量は、2 ヶ月齢までに急激な低下を認めたあとは有意の変化を認めなかった。膵組織中の rPP 含有量は、加齢とともに減少していく傾向を認めた (図 7)。

IV. 単離ラット膵灌流

灌流に先立ち、ウイスター系ラットを用いて、rPP,

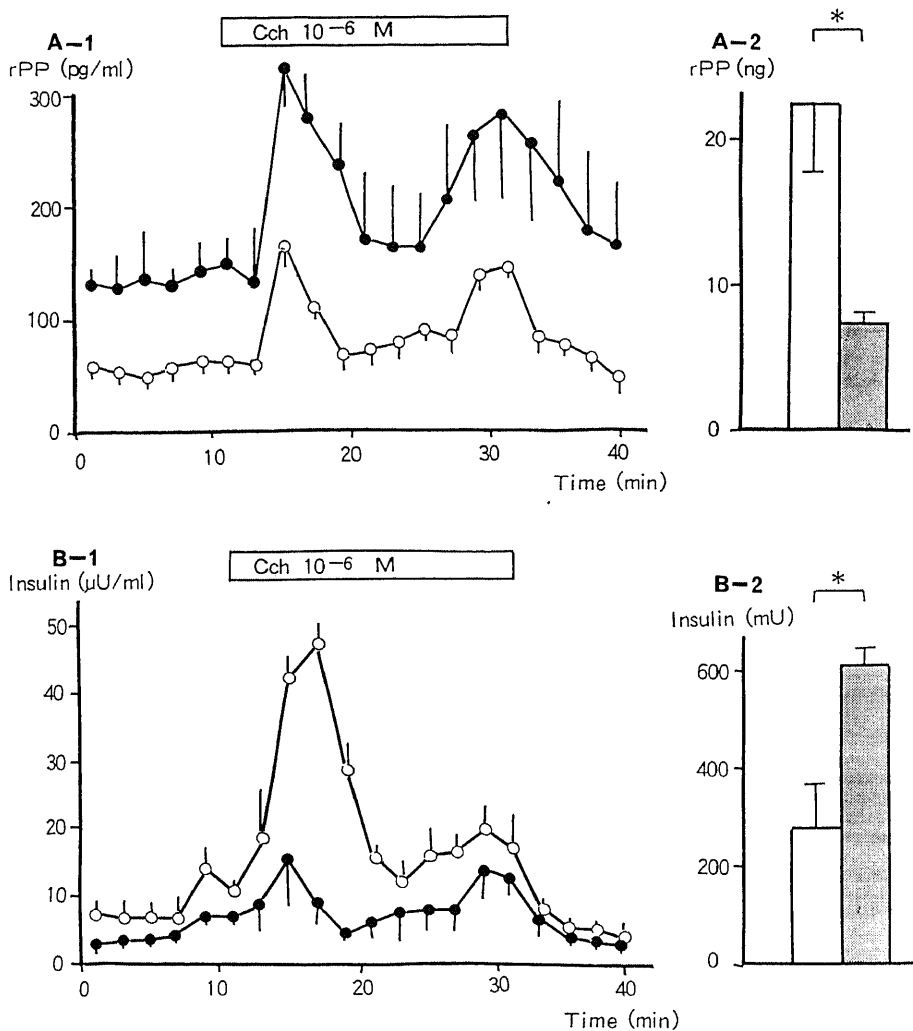


Fig. 9. Effect of 10^{-6}M Cch on the release of rPP and insulin from isolated perfused ventral and dorsal rat pancreas. A-1, effect on the release of rPP; A-2, total dose of rPP release; B-1, effect on the release of insulin; B-2, total dose of insulin release. Cch was infused from 10 to 30 min. (●-●), and clear bars, ventral part; (○-○), and shaded bars, dorsal part. Value are expressed in mean \pm SEM of 5 rats. * $P < 0.05$ vs control value

インスリン、ソマトスタチンおよびグルカゴンの腹側膵と背側膵における組織含有量の比較検討をした。rPP は、背側膵 $0.16 \pm 0.01 \text{ ng/mg}$ 湿重量に対し、腹側膵 $0.81 \pm 0.17 \text{ ng/mg}$ 湿重量と有意に高値で、従来の見解に一致する結果であったが、インスリンは背側膵と腹側膵で有意差を認めなかった。また、グルカゴンは、背側膵 $5.12 \pm 0.59 \text{ ng/mg}$ 湿重量に対し、腹側膵 $2.54 \pm 0.27 \text{ ng/mg}$ 湿重量と有意に低値であったが、ソマトスタチンは背側膵と腹側膵で有意差を認めなかった(図8)。

そこで、薬物刺激として $\text{Cch } 10^{-6} \text{ M}$ を用い、腹側膵灌流と背側膵灌流における rPP、およびインスリンの

放出能を比較検討した。図9Aの如く、rPP は背側膵灌流に対して腹側膵灌流で高値高反応で、総放出量においても、背側膵灌流 $8.67 \pm 0.12 \text{ ng}$ に対し、腹側膵灌流 $20.59 \pm 4.67 \text{ ng}$ と有意に高値を示した。インスリンは、図9Bの如く、背側膵灌流に対して腹側膵灌流で低値低反応で、総放出量においても、背側膵灌流 $614.2 \pm 41.5 \text{ mU}$ に対し、腹側膵灌流 $278.2 \pm 91.9 \text{ mU}$ と有意に低値を示した。以上の如く、背側膵に対し腹側膵において rPP の放出能が高いことが明らかとなったため、以後の膵灌流実験は腹側膵灌流を用いて行った。

次に、腹側膵灌流における Cch の用量依存性につ

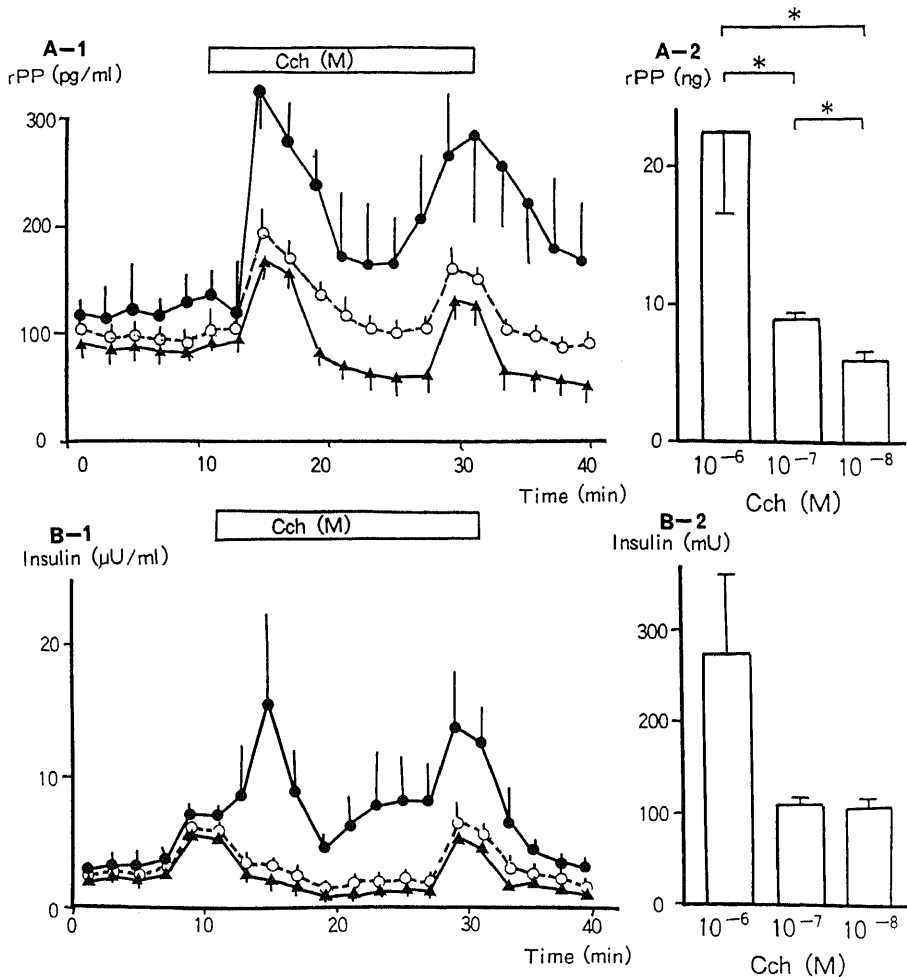


Fig.10. Effect of Cch concentration on the release of rPP and insulin from isolated perfused ventral rat pancreas. A-1, effect on the release of rPP; A-2, total dose of rPP release; B-1, effect on the release of insulin; B-2, total dose of insulin release. Cch was infused from 10 to 30 min. The concentration of Cch; (●—●), 10^{-6} M ; (○—○), 10^{-7} M ; (▲—▲), 10^{-8} M . Value are expressed in mean \pm SEM of 5 rats. * $P < 0.05$ vs control value

いて検討した。図10Aの如くrPP総放出量にはCch 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} M それぞれに対し, 5.8 ± 0.6 , 8.5 ± 0.4 , 22.3 ± 5.7 ng と用量反応性に増加が認められた。インスリンにおいても図10Bの如く同様の傾向が認められた。

V. 肥満ラットにおける検討

1. Zucker 肥満ラットにおける rPP 分泌動態

1) 末梢血中における検討

末梢血中 rPP は, 非肥満群 267.9 ± 20.1 pg/ml に対し, 肥満群 85.5 ± 12.6 pg/ml と有意に低値を示した。一方, インスリンは, 非肥満群 17.5 ± 2.9 μ U/ml に対し, 肥満群 58.0 ± 15.2 μ U/ml と有意に高値を示した。ソマトスタチンは, 非肥満群 50.0 ± 2.5 pg/ml に対し,

肥満群 99.5 ± 13.8 pg/ml と有意に高値を示した。グルカゴンは, 非肥満群と肥満群で有意差を認めなかった(図11)。

2) 膵組織含有量における検討

膵組織含有量については, rPP は非肥満群 0.64 ± 0.08 ng/mg 湿重量に対し, 肥満群 0.45 ± 0.01 ng/mg 湿重量と有意に低値を示したが, インスリンは非肥満群 103.1 ± 18.7 μ U/mg 湿重量に対し, 肥満群 181.0 ± 23.3 μ U/mg 湿重量と有意に高値であった。ソマトスタチンは, 非肥満群 33.2 ± 4.5 pg/mg 湿重量に対し, 肥満群 66.6 ± 13.7 pg/mg 湿重量と有意に高値であったが, グルカゴンは, 非肥満群と肥満群で有意差を認めなかった(図12)。

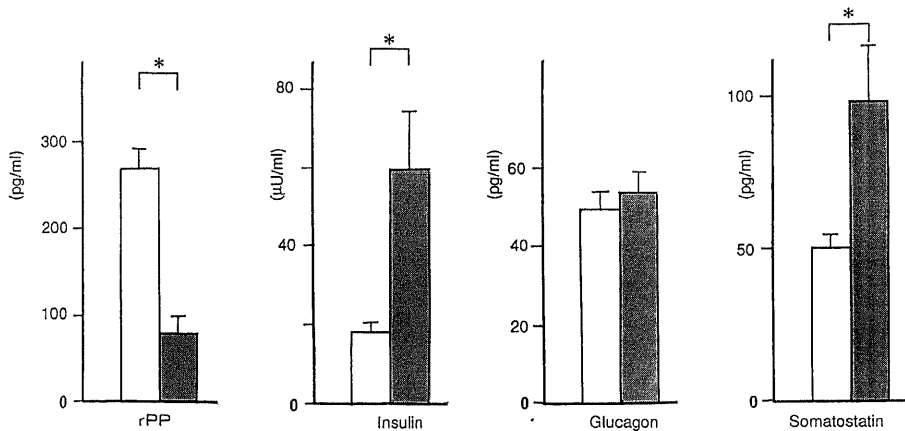


Fig.11. Plasma level of rPP, insulin, glucagon and somatostatin-like immunoreactivities in Zucker lean and obese rats. Clear bars, lean rats; shaded bars, obese rats. Value are expressed in mean \pm SEM of 5 rats. *P < 0.05 vs control value

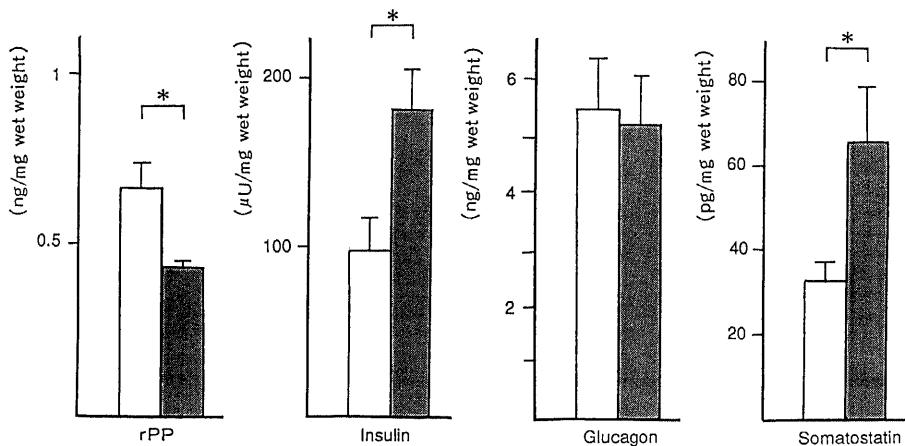


Fig.12. The level of rPP, insulin, glucagon and somatostatin-like immunoreactivities in the pancreas of Zucker lean and obese rats. Clear bars, lean rats; shaded bars, obese rats. Value are expressed in mean \pm SEM of 5 rats. *P < 0.05 vs control value

3) 靜灌流実験における検討

インスリン放出反応は、図13Bの如く、基礎分泌は非肥満群 $11.0 \pm 0.57 \mu\text{U/ml}$ に対し、肥満群 $52.8 \pm 19.5 \mu\text{U/ml}$ と有意に高値を示し、刺激時の放出も、肥満群で高反応で、放出総量も非肥満群 $0.47 \pm 0.10 \text{mU}$ に対し、肥満群 $1.89 \pm 0.37 \text{mU}$ と有意に高値を示した。rPP放出反応は、図13Aに示すように、インスリン放出とは逆に、基礎分泌は、非肥満群 $192.9 \pm 33.8 \text{pg/ml}$ に対し、肥満群 $92.1 \pm 13.3 \text{pg/ml}$ と有意に低値を示し、刺激時の放出も、肥満群で低反応で、放出総量も非肥満群 $6.67 \pm 1.31 \text{ng}$ に対し、肥満群 $3.71 \pm 0.58 \text{ng}$ と有意に低値を示した。

2. MSG 肥満ラットにおける rPP 分泌動態

体重は対照群 306.3 ± 4.3 (平均値 \pm 標準誤差)gに対し、MSG群は $330.0 \pm 12.5 \text{g}$ と有意差を認めなかったが、Lee 指数 ($\sqrt[3]{\text{体重}(\text{g})} \times 10^3 / \text{鼻肛門長}(\text{cm})$)¹⁴⁾では対照群 297.9 ± 2.0 に対し、MSG群は 315.6 ± 2.9 と有意に大きかった ($p < 0.005$)。

1) 末梢血中における検討

末梢血中 rPP は、対照群と MSG 群において有意差を認めなかったが、インスリンは対照群 $8.1 \pm 1.9 \mu\text{U/ml}$ に対し MSG 群 $11.7 \pm 0.5 \mu\text{U/ml}$ と有意に高値を示した。また、ソマトスタチンは、対照群 $52.4 \pm 13.1 \text{pg/ml}$ に対し MSG 群 $25.2 \pm 5.1 \mu\text{U/ml}$ と有意に低値を示し、グルカゴンは、対照群 $189.2 \pm 28.8 \text{pg/ml}$ に対し MSG 群 $129.2 \pm 10.6 \text{pg/ml}$ と有意に低値を示した (図14)。

2) 腺組織含有量における検討

rPP、インスリン、ソマトスタチンおよびグルカゴンいずれも対照群と MSG 群で有意差を認めなかった。

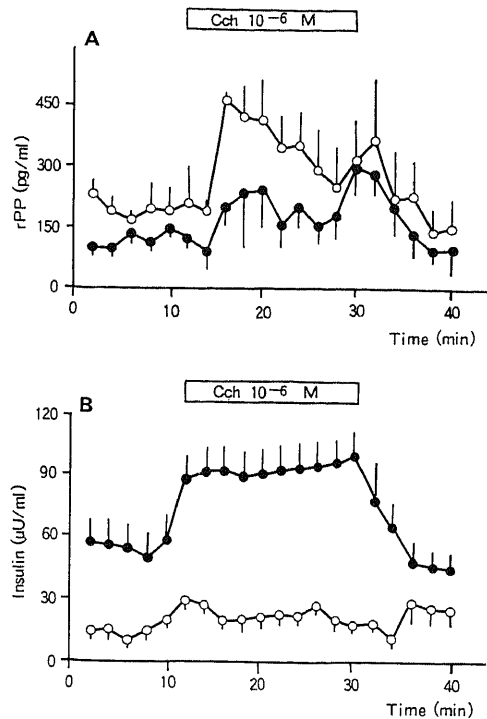


Fig.13. Effect of 10^{-6} M Cch on the release of rPP and insulin from isolated perfused ventral pancreas of Zucker lean and obese rats. A, effect on the release of rPP; B, effect on the release of insulin. Cch was infused from 10 to 30 min. (○—○), lean rats; (●—●), obese rats. Value are expressed in mean \pm SEM of 5 rats. * $P < 0.05$ vs control value

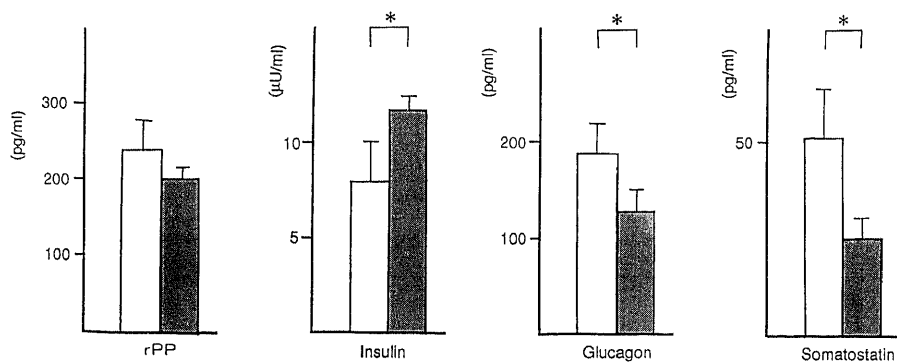


Fig.14. Plasma level of rPP, insulin, glucagon and somatostatin-like immunoreactivities in MSG and control rats. Clear bars, control rats; shaded bars, MSG rats. Value are expressed in mean \pm SEM of 5 rats. * $P < 0.05$ vs control value

3) 膵灌流実験における検討

インスリン放出反応は、図15Bの如く、基礎分泌は、対照群 $2.46 \pm 0.14 \mu\text{U/ml}$ に対し、MSG群 $4.14 \pm 0.13 \mu\text{U/ml}$ と有意に高値を示し、刺激時の放出も、MSG群で高反応で、総放出量も対照群 $148.8 \pm 32.3 \mu\text{U}$ に対しMSG群 $387.0 \pm 128.2 \mu\text{U}$ と有意に高値を示した。一方、rPP放出反応は、図15Aの如く、基礎分泌は対照群 $131.2 \pm 6.4 \text{pg/ml}$ に対し、肥満群 $293.5 \pm 5.2 \text{pg/ml}$ と有意に高値を示し、総放出量も、対照群 $8.08 \pm 0.90 \text{ng}$ に対し肥満群 $14.68 \pm 1.97 \text{ng}$ と有意に高値を示した。しかし、基礎分泌に対する反応性はほぼ同様であった。

考 察

PPは1975年 Kimmel ら²⁾によりニワトリインスリンの精製過程の副産物として36個のアミノ酸よりなる直鎖ポリペプチドとして単離同定されて以来、ウシ、ヒツジ、ブタ、ヒトなどの哺乳動物に見出さ

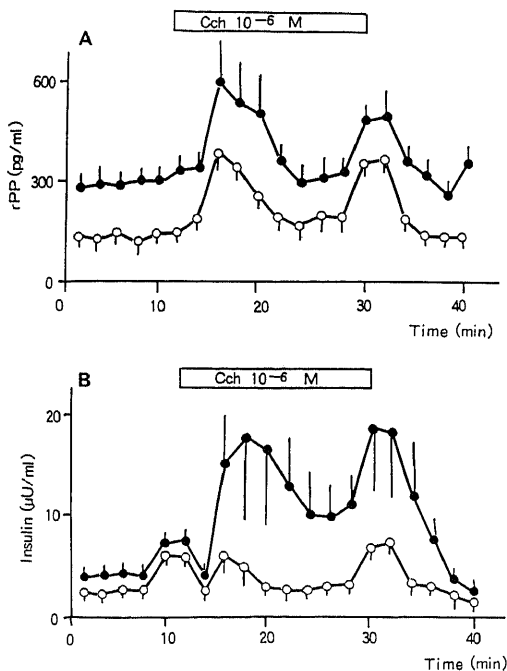


Fig.15. Effect of 10^{-6}M Cch on the release of rPP and insulin from isolated perfused ventral pancreas of MSG and control rats. A, effect on the release of rPP; B, effect on the release of insulin. Cch was infused from 10 to 30 min. (○—○), control rats; (●—●), MSG rats. Value are expressed in mean \pm SEM of 5 rats. * $P < 0.05$ vs control value

れ^{91,92)}、その生体内分布や分泌動態が明らかにされてきた。

霊長類ではPPの93%が膵に存在し⁴⁾、PPの産生細胞(PP細胞)は膵のランゲルハンス島の辺縁部と外分泌組織に存在することが知られている³⁾。その作用機序および放出機序に関しては、食事摂取により血中PP濃度の著明な上昇が認められることから、消化管機能に深く携わっていると考えられる。とりわけ膵外分泌と胆嚢収縮の調節に重要な役割を果たしていることが知られている¹⁸⁾⁻²¹⁾。PPの分泌は、副交感神経抑制薬の投与や^{22,23)}迷走神経切断によって低下する²⁴⁾⁻²⁶⁾ことより、主として迷走神経を介するとされているが、他の膵ホルモンや消化管ホルモンよりもさらに強く副交感神経系の支配下におかれていると考えられている²³⁾。臨床的には、血中PPレベルの異常を来す疾患としては、高値を呈するものとして消化性潰瘍^{27,28)}、糖尿病⁹²⁾、膵内分泌腫瘍³⁰⁾⁻³²⁾など、低値を呈するものとして慢性膵炎^{33,34)}因などが挙げられるが、血中PPの異常レベルを反映したと思われる臨床症状の発現については不明な点が多く、PPの臨床的意義はいまだ確立していない³⁵⁾。

一方、肥満とPPが深く関わりを有していることを示唆するいくつかの報告がなされている。ヒトにおいては、Lassmann ら⁶⁾や Marco ら⁹⁾の報告にみられるように、非肥満者に対して肥満者において、試験食負荷後のPPの反応が低値低反応であることが一般に知られている。また運動療法を行った肥満者において糖負荷試験時のhPPの反応が改善したとの報告もある³⁶⁾。実験動物においてはob/ob mouseやNZO mouseにPPを注射することにより体重減少や食欲の低下⁷⁾、高血糖ならびに高インスリン血症の是正がなされると報告されており⁸⁾、PPの低下に肥満の直接的原因を求めようとする推察もなされている^{5,8)}。

しかし、これらの知見の多くは専らラット以外の哺乳動物を用いて得られたものである。これら哺乳動物のPPのアミノ酸配列は、1ないし2個のアミノ酸が異なるだけで、非常に類似しており^{91,92)}、特異抗血清が作製され、免疫組織化学的な検査やRIAにより、その研究が進められてきた。rPPに関しては、1984年ようやくKimmel ら¹⁰⁾が単離同定を行い、hPPとは8個のアミノ酸が異なることが明らかにされた。すなわち、哺乳動物PPに対するPP抗体では、ラットとC端構造が異なるため交叉反応が認められず、汎用実験動物であるラットにおいては、rPPの測定は困難であった¹⁰⁾。

今回著者は、rPPとアミノ酸配列の違いが少ないヒ

ト PP (18-36) を免疫抗原として作製した R0212 を用いた特異 RIA 系により、ヒト PP のみならず rPP の測定が可能であることを明らかにした。そして、この rPP 特異 RIA 系を用いて、まず、ウイスター系ラットを用いて、rPP の加齢による変化について検討し、その後、肥満ラットを用いて、肥満と PP との関連を検討した。

ヒトにおいては PP が末梢血中において加齢とともに直線的に増加していくことが知られており⁹¹⁾、10年で約 30pg/ml ずつ増加するといわれている⁹²⁾。本研究ではラットにおいても同様の傾向を認めた。しかし、その機序は明らかでなく、胃の加齢による萎縮と関連づける考えや⁹³⁾、加齢による腎からの PP 排泄の遅延などに原因を求める試みがなされているが⁹⁴⁾、いずれも否定的である。また、加齢に伴って PP 細胞の増生が生じるためとする考えもあるが⁹⁵⁾、本研究では、膵組織中の rPP 含有量は、加齢とともに減少していく傾向にあり、Rahier ら³⁹⁾の見解と同様、否定的といえよう。

次に、同じくウイスター系ラットを用いて、背側膵と腹側膵における膵組織含有量の差を検討した。PP 細胞は、背側膵原基由来の膵体尾部に比して、腹側膵原基由来の膵頭部、鉤状突起部に多く分布していることが知られているが⁴⁹⁾³⁹⁾⁴⁰⁾、本研究においても背側膵に対して腹側膵において高い rPP 膵組織含有量を示した。そこで、腹側膵からの灌流標本を作製し、背側膵灌流と rPP 分泌能を比較検討したところ、前者において有意に高い rPP 放出反応を認め、これは Miyazaki ら⁴¹⁾と一致する結果となった。

そして、Zucker 肥満ラットと MSG 肥満ラットの 2 つの肥満動物における PP 分泌動態を腹側膵灌流系を用いて比較検討した。

Zucker 肥満ラットは、1961年 Zucker ら⁴²⁾により報告された、肥満、過食、高インスリン血症、高脂血症を特徴とする遺伝性肥満ラットである。末梢組織におけるインスリン抵抗性を認めるにもかかわらず、高血糖は認められず⁴³⁾⁴⁴⁾、ヒトの肥満とよく類似するとされており⁴⁵⁾、若年性肥満のモデルとして知られている。膵灌流実験においては、Schade ら⁴⁶⁾はぶどう糖、ロイシン刺激によりインスリン分泌動態を検討し、Zucker 肥満ラットでは非肥満ラットに比べて分泌亢進の増大が認められたと報告しており、本研究においても、Zucker 肥満ラットでは非肥満ラットに対してインスリンは高値高反応であり同様の結果となった。York ら⁴⁷⁾は、膵ラ氏島の組織学的検討を行い、肥満ラットでは非肥満ラットに比して、ラ氏島の数の増加

と肥大を認めると報告し、Shino ら⁴⁸⁾も電顕的検索により同様の報告をしている。本研究においても、肥満ラットでは非肥満ラットに対してインスリンの膵組織含有量が有意に高値を呈し、同様の結果となった。これら報告はいずれも、膵ラ氏島の肥大、ラ氏島内の B 細胞の増加によるインスリンの産生増加によりインスリンの過剰反応を説明しようとするものである。しかし、PP に関する報告はいまだない。本研究では、Zucker 肥満ラットにおいては非肥満ラットに比して PP 放出反応は低値低反応となったが、これはヒト肥満者における試験食負荷後の PP の低反応と類似の結果となった。Larsson ら⁴⁸⁾は Zucker 肥満ラットにおいて PP 細胞数が減少していたと報告しているが、本研究においても、Zucker 肥満ラットにおいて PP の膵含有量は低値であった。

PP が飽食因子 (satiety factor) であるというように、PP の低下が肥満の直接的原因であるとする可能性も否定しえないが⁹⁶⁾、インスリンも PP もともに食餌負荷に対して同様の高反応を示すにも関わらず、B 細胞と PP 細胞の分泌能に逆相関があることは従来より推察されており⁹⁷⁾、B 細胞の増加に伴うインスリンの過剰分泌により、PP 細胞の減少と PP の分泌低下を来した可能性も挙げられる。またソマトスタチンは PP の放出を抑制するとされているが⁴⁹⁾⁵⁰⁾、本研究では Voyles ら⁵¹⁾の結果同様、Zucker 肥満ラットでは非肥満ラットに対してソマトスタチンの膵組織含有量が高い結果となり、ソマトスタチンが局所ホルモンとして PP の放出低下を招いた可能性も考えられる。

視床下部性肥満のモデルのひとつである MSG 肥満動物は、乳児期の動物に MSG を投与することにより、視床下部弓状核および腹内側核が破壊され⁵²⁾、成熟後、肥満が生じ、高インスリン血症、脂肪肝などをきたすことが知られている⁵³⁾⁵⁴⁾。とくに迷走神経切断により肥満の進展が阻止され、インスリンが低値低反応となることより⁵⁵⁾、迷走神経緊張状態により惹起された高インスリン血症が肥満の直接の成因と考えられている⁵³⁾⁵⁵⁾⁵⁶⁾。迷走神経が PP 分泌に強く関与していることを考えると²³⁾⁵⁷⁾、迷走神経緊張状態にあるとされる MSG 肥満ラットの PP 放出動態は興味のあるところであるが、PP に関する報告はなされていなかった。

今回の検討では、MSG 群は対照群と比較して、末梢血中および膵組織中において、rPP は有意差を認めなかったが、膵灌流実験において、灌流液中の rPP 濃度は MSG 群で基礎値、Cch 刺激時の総放出量いずれにおいても有意に高値を示した。しかし、刺激後の反応は同程度でしかなかった。MSG 肥満ラットでは、

迷走神経緊張状態による膵 PP 細胞への刺激により、PP が高値を呈しているものと推察されるが、Cch 刺激後の反応が対照群と同程度であるのは、副交感神経系刺激薬である Cch に対して耐性が生じて、十分な反応を示さなかった可能性がある。また、先述⁵⁾のように B 細胞と PP 細胞の分泌能に逆相関があり、インスリンの過剰分泌のため、PP 分泌が不十分となった可能性もある。

以上のように、Zucker 肥満ラットにおいては、インスリン放出反応は高値高反応で、rPP 放出反応は低値低反応であり、むしろヒト肥満に近似した結果といえるが、MSG 肥満ラットにおいては、インスリンは Zucker 肥満ラット同様、高値高反応であるにもかかわらず、rPP 放出反応は Zucker 肥満ラットとは異なり高値で、Zucker 肥満ラットと MSG 肥満ラットは、同じ高インスリン血症を呈しながら、PP の放出動態は異なる結果となった。

Zucker 肥満ラットでは MSG 肥満ラットとは異なり、高インスリン血症に先行する脂質代謝の異常が報告され⁽³⁾⁽⁵⁾⁽⁵⁹⁾、さらに肥満の進展における下垂体系の関与も報告されており⁶⁰⁾、両者の肥満の成因の差が指摘されている⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁰⁾⁽⁶¹⁾。Opsahl ら⁶²⁾は Zucker 肥満ラットに迷走神経切断を行っても肥満の進展を阻止できないことを報告している。この事実によれば Zucker 肥満の成立に副交感神経の関与は否定的で、PP の分泌に最も影響を及ぼす因子が副交感神経であることを考え併せると Zucker 肥満ラットの直接の成因に PP の低下を考えることは困難で、高インスリン血症をはじめとする他の因子の影響により二次的に PP が低下していると考えられる。一方、MSG 肥満ラットでは、PP の高放出はインスリンと同様に迷走神経緊張状態により招かれたものと推定される。このように、Zucker 肥満ラットと MSG 肥満ラットでは、異なる PP 分泌動態であった。これは肥満の成因の差によるものと推察される。

結 論

1. hPP (18-36) を免疫抗原として作製した抗血清 R0212 を用い、rPP 特異 RIA 系を確立した。
2. ウィスター系ラットにおいて rPP は加齢とともに増加する傾向を認めた。
3. ウィスター系ラットにおいて、rPP 膵組織含有量は、腹側膵で高値を示し、Cch 刺激時の灌流液中の rPP 濃度は、用量反応性に増加し、腹側膵において高値高反応を呈した。
4. Zucker 肥満ラットにおいて、末梢血中 rPP 濃

度、rPP 膵組織含有量いずれも肥満群で低値を示し、Cch 刺激時の灌流液中の rPP 濃度も同様、肥満群で低値低反応を示した。

5. MSG 肥満ラットにおいて、末梢血中および膵組織中の rPP は対照群と MSG 群で有意差を認めなかったが、灌流液中の rPP 濃度は MSG 群で基礎値、Cch 刺激時の総放出量いずれにおいても高値を示した。

以上の結果より、Zucker 肥満ラットと MSG 肥満ラットでは、異なる PP 分泌動態をもつことが示された。この事実は肥満の成因の違いによるものと推察される。

謝 辞

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜った竹田亮祐教授に深甚の謝意を表します。また、本研究の遂行にあたり、御援助頂いた静岡薬科大学生薬品化学教室、矢内原昇教授に深謝いたします。また御協力頂きました上野敏男先生、竹田康男先生、増永高晴先生はじめ第二内科第五研究室の諸先生方に心から感謝いたします。

文 献

- 1) Kimmel, J. R., Pollock, H. G. & Hazelwood, R. L.: Isolation and characterization of chicken insulin. *Endocrinology*, **83**, 1323-1330 (1968).
- 2) Kimmel, J. R., Hayden, L. J. & Pollock, H. G.: Isolation and characterization of a new pancreatic polypeptide hormone. *J. Biol. Chem.*, **250**, 9396-9376 (1975).
- 3) Larsson, L. I., Sundler, F. & Hakanson, R.: Pancreatic polypeptide-A Postulated new hormone: Identification of its cellular storage site by light and electron microscopic immunocytochemistry. *Diabetologia*, **12**, 211-226 (1976).
- 4) Adrian, T. E., Bloom, S. R., Bryant, M. G., Polak, J. M., Heitz, P. H. & Barnes, A. J.: Distribution and release of human pancreatic polypeptide. *Gut*, **17**, 940-944 (1976).
- 5) Marco, J., Zulueta, A., Correas, I. & Villanueva, M. L.: Reduced pancreatic polypeptide secretion in obese subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **50**, 744-747 (1980).
- 6) Lassmann, V., Vague, P., Vialettes, B. & Simon, M. C.: Low plasma levels of pancreatic polypeptide in obesity. *Diabetes*, **29**, 428-430 (1980).
- 7) Malaisse-Lagae, F., Carpentier, J. L., Malaisse, W. J. & Orci, L.: Pancreatic polypepti-

- de: A possible role in the regulation of food intake in the mouse. Hypothesis. *Experientia*, **33** 915-917 (1977).
- 8) **Gates, R. J. & Lazarus, N. R.**: The ability of pancreatic polypeptide (APP and BPP) to return to normal the hyperglycaemia, hyperinsulinaemia and weight gain of New Zealand obese mice. *Hormone Res.*, **8**, 189-202 (1977).
- 9) **Floyd, J. C., Fajans, S. S., Pek, S. & Chance, R. E.**: A newly recognized pancreatic polypeptide; Plasma levels in health and disease. *Recent Prog. Horm. Res.*, **33**, 519-570 (1977).
- 10) **Berger, D., Crowther, R. C., Floyd, J. C., Pek, S. & Fajans, S. S.**: Effect of age on fasting plasma levels of pancreatic hormones in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **47**, 1183-1189 (1978).
- 11) **Chance, R. E., Moon, N. E. & Johnson, M. G.**: Human pancreatic polypeptide (HPP) and bovine pancreatic polypeptide (BPP). *In* B. M. Jaffe & H. R. Behrman (eds.), *Methods of Hormone Radioimmunoassay*, 2nd ed. p657-672, Academic Press, New York, 1979.
- 12) 野沢真澄: 豚摘出ならびに移植. 内分泌実験講座 (鎮目和夫, 井村裕夫, 矢内原昇編), Vol. 2 内分泌動物実験法 (井村裕夫, 加藤 讓編), 第1版, 205-207 頁, 講談社, 東京, 1982.
- 13) **Grodsky, G. M., Batts, A. A., Bennett, L. L., Vcella, C., McWilliams, N. B. & Smith, A. D.**: Effects of carbohydrates on secretion of insulin from isolated rat pancreas. *Am. J. Physiol.*, **205**, 638-644 (1963).
- 14) **Lee, M. O.**: Determination of surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Am. J. Physiol.*, **89**, 24-33 (1929).
- 15) **Lin, T. M. & Chance, R. E.**: Spectrum gastrointestinal actions of a new bovine pancreatic polypeptide (BPP). *Gastroenterology*, **62**, 852 (1972).
- 16) **Kimmel, J. R., Pollock, H. G., Chance, R. E., Johnson, M. G., Reeve, J. R., Jr., Taylor, I. L., Miller, C. & Shively, J. E.**: Pancreatic polypeptide from rat pancreas. *Endocrinology*, **114**, 1725-1731 (1984).
- 17) 井上幸子, 丸茂恒二, 田坂仁正, 平田幸正: 空腹時血漿 Pancreatic polypeptide (PP) の加令による上昇の成因に関する研究—イヌにおける血漿 PP の動態—。糖尿病, **30**, (Suppl. 1), 293 (1987).
- 18) **Lin, T.-M., Evans, D. C., Chance, R. E. & Spray, G. F.**: Bovine pancreatic peptide: action on gastric and pancreatic secretion in dogs. *Am. J. Physiol.*, **232**, E311-E315 (1977).
- 19) **Greenberg, G. R., McCloy, R. F., Adrian, T. E., Chadwick, V. S., Baron, J. H. & Bloom, S. R.**: Inhibition of pancreas and gallbladder by pancreatic polypeptide. *Lancet*, **2**, 1280-1282 (1978).
- 20) **Adrian, T. E., Besterman, H. S., Mallinson, C. N., Greenberg, G. R. & Bloom, S. R.**: Inhibition of secretin stimulated pancreatic secretion by pancreatic polypeptide. *Gut*, **20**, 37-40 (1978).
- 21) **Taylor, I. L., Solomon, T. E., Walsh, J. H. & Grossman, M. I.**: Pancreatic polypeptide. metabolism and effect on pancreatic secretion in dogs. *Gastroenterology*, **76**, 524-528 (1979).
- 22) **Linnestad, P. & Schruppf, E.**: Effect of cholinergic and adrenergic blockade on human pancreatic polypeptide secretion in healthy subjects. *Scand. J. Gastroenterol.*, **17**, 801-809 (1982).
- 23) **Schwartz, T. W.**: Pancreatic polypeptide: A hormone under vagal control. *Gastroenterology*, **85**, 1411-1425 (1983).
- 24) **Debas, H. T., Taylor, I. L., Seal, A. M. & Passaro, E. P.**: Evidence for vagus-dependent pancreatic polypeptide-releasing factor in the antrum: Studies with the autotransplanted dog pancreas. *Surgery*, **92**, 309-314 (1982).
- 25) **Taylor, I. L., Siger, M. & Kauffman, G. L.**: Time-dependent effect of vagotomy on pancreatic polypeptide release. *Dig. Dis. Sci.*, **27**, 491-494 (1982).
- 26) 鈴木祥郎, 佐々木巖, 今村幹雄, 内藤広郎, 船山裕士, 斉藤貞徳, 加藤三博, 神山泰彦, 戸田守彦, 高橋道長, 松田好郎, 佐藤寿雄, 小泉文明: PP の脳相分泌および腸相分泌に及ぼす迷切術の影響について. *Peptide Hormone in Pancreas 6* (赤坂安夫編), 第1版, 293-300 頁, Biomedical Research Foundation, 東京, 1986.
- 27) **Schwartz, T. W., Rehfeld, J. F., Stadil, F., Larson, L. I., Chance, R. E. & Moon, N.**: Pancreatic-polypeptide response to food in duodenal-ulcer patients before and after vagotomy. *Lacet*, **1**, 1102-1105 (1976).
- 28) **Gustavsson, S., Adami, H.-O., Bjorklund,**

- O., Enander, L.-K., Lundqvist, G., Loof, L. & Nordahl, A.: Fasting blood levels of gastrin, somatostatin, and pancreatic polypeptide in peptic ulcer disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, **17**, 81-85 (1982).
- 29) Floyd, J. C. & Fajans, S. S.: A newly recognized human pancreatic islet polypeptide: concentrations in healthy subjects and in patients with diabetes mellitus. *Diabetes*, **25** (Suppl. 1), 330 (1976).
- 30) Polak, J. M., Bloom, S. R., Adrian, T. E., Heitz, P., Bryant, M. G. & Pearse, A. G. E.: Pancreatic polypeptide in insulinomas, gastrinomas, vipomas, and glucagonomas. *Lancet*, **1**, 328-331 (1976).
- 31) Schwartz, T. W.: Pancreatic-polypeptide (PP) and endocrine tumours of the pancreas. *Scand. J. Gastroenterol.*, **14** (Suppl. 53), 93-100 (1979).
- 32) Friesen, S. R., Kimmel, J. R. & Tomita, T.: Pancreatic polypeptide as screening marker for pancreatic polypeptide apudoma in multiple endocrinopathies. *Am. J. Surg.*, **139**, 61-72 (1980).
- 33) Owyang, C., Scarpello, J. H. & Vinik, A. I.: Correlation between pancreatic enzyme secretion and plasma concentration of human pancreatic polypeptide in health and in chronic pancreatitis. *Gastroenterology*, **83**, 55-62 (1982).
- 34) Stern, I., Robert-Thomson, I. C. & Hansky, J.: Correlation between pancreatic polypeptide response to secretin and ERCP findings in chronic pancreatitis. *Gut*, **23**, 235-238 (1982).
- 35) 石森 章, 小泉文明: PP および関連消化管ホルモン, 消化管ホルモン (VII) (消化管ホルモン研究会編), 第1版, 702-711 頁, 医学図書出版, 東京, 1987.
- 36) Krotkiewski, M., Bjorntorp, P., Holm, G., Marks, V., Morgan, L., Smith, U. & Feurle, G. E.: Effects of physical training on insulin, connecting peptide (C-peptide), gastric inhibitory polypeptide (GIP) and pancreatic polypeptide (PP) levels in obese subjects. *Int. J. Obesity*, **8**, 193-199 (1984).
- 37) Floyd, J. C.: Human pancreatic polypeptide. *In* K. D. Buchanan (ed.), *Clinics in Endocrinology and Metabolism*, 1st ed. Vol. 8. No.2, p379-399, W. B. Saunders, London, 1979.
- 38) Rahier, J., Wallon, J., Loozen, S., Lefevre, A., Gepts, W. & Haot, J.: The pancreatic polypeptide cells in the human pancreas: The effects of age and diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **56**, 441-444 (1983).
- 39) Gersell, D. J., Gingerich, R. L. & Greider, M. H.: Regional distribution and concentration of pancreatic polypeptide in the human and canine pancreas. *Diabetes*, **28**, 11-15 (1979).
- 40) Baetens, D., Malaisse-Lagae, F., Perrelet, A. & Orci, L.: Endocrine pancreas: Three-dimensional reconstruction shows two types of islets of Langerhans. *Science*, **206**, 1323-1325 (1979).
- 41) Miyazaki, K. & Funakoshi, A.: Pancreatic polypeptide secretion from the isolated perfused ventral and dorsal areas of the rat pancreas. *Gastroenterology*, **94**, 745-749 (1988).
- 42) Zucker, T. F. & Zucker, L. M.: Heredity obesity in the rat associated with high serum fat and cholesterol. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **110**, 165-171 (1962).
- 43) Zucker, L. M. & Autoniades, H. N.: Insulin and obesity in the Zucker genetically obese rat "Fatty". *Endocrinology*, **90**, 1320-1330 (1972).
- 44) York, D. A., Steinke, J. & Bray, G. A.: Hyperinsulinemia and insulin resistance in genetically obese rat. *Metabolism*, **21**, 277-284 (1972).
- 45) 大野恒夫: Zucker 肥満ラットの膵内分泌に関する研究. *名市大医誌*, **34**, 221-241 (1983).
- 46) Schade, D. S. & Eaton, R. P.: Insulin secretion by perfused islets from the obese Zucker rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **149**, 311-314 (1975).
- 47) Shino, A., Matsuo, T., Iwatsuka, H. & Suzuoki, Z.: Structural changes of pancreatic islets in genetically obese rats. *Diabetologia*, **9**, 413-421 (1973).
- 48) Larsson, LI., Boder, G. B. & Shaw, W. N.: Change in the islets of Langerhans in the obese Zucker rat. *Lab. Invest.*, **36**, 593-598 (1977).
- 49) Marco, J., Hedro, J. A. & Villanueva, M. L.: Inhibitory effect of somatostatin on human pancreatic polypeptide secretion. *Life Sci.*, **21**, 789-792 (1977).
- 50) Wilson, R. M., Boden, G. & Owen, O. E.: Pancreatic polypeptide responses to a meal and to intraduodenal amino acids and sodium oleate. *Endocrinology*, **102**, 859-863 (1978).

- 51) Voyles, N. R., Bhatena, S. J., Kennedy, B., Wilkins, S. D., Michaelis, IV, O. E., Zalenski, C. M., Timmers, K. I. & Recant, L.: Tissue somatostatin levels in three models of genetic obesity in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **185**, 49-54 (1987).
- 52) Tanaka, K., Shimada, M., Nakao, K. & Kusunoki, T.: Hypothalamic lesion induced by injection of monosodium glutamate in suckling period and subsequent development of obesity. *Exp. Neurol.*, **62**, 191-199 (1978).
- 53) 広瀬良和: 視床下部性肥満ラットの脳内分泌機能と自律神経系の役割に関する研究. 神戸大学医学部紀要, **44**, 279-289 (1983).
- 54) Utsumi, M., Hirose, Y., Ishihara, K., Makimura, H. & Baba, S.: Hyperinsulinemia and hypersomatostatinemia in hypothalamic obese rats induced by monosodium glutamate. *Biomed. Res. (Suppl. 1)*, 154-158 (1980).
- 55) 馬場茂明, 広瀬良和, 石原一秀, 内海正文: 視床下部性肥満ラットの脳内分泌特性. 最新医学, **38**, 245-252 (1983).
- 56) 広瀬良和, 石原一秀, 寺師克洋, 鹿住敏, 内海正文, 森田聡一郎, 馬場茂明: Monosodium glutamate (MSG) 投与による視床下部性肥満の脳-消化管ホルモンの動態. 日内分泌会誌, **59**, 196-207 (1983).
- 57) Schwartz, T. W., Holst, J. J., Fahrenkrug, J., Lindkaer Jensen, S., Nielsen, O. V., Rehfeld, J. F., Schaffalitzky de Muckadell, O. B. & Stadil, F.: Vagal, cholinergic regulation of pancreatic polypeptide secretion. *J. Clin. Invest.*, **61**, 781-789 (1978).
- 58) Bell, G. E. & Stern, J. S.: Evaluation of body composition of young obese and lean Zucker rats. *Growth*, **41**, 63-80 (1977).
- 59) Stern, J. S. & Johnson, P. R.: Spontaneous activity and adipose cellularity in genetically obese Zucker (fa/fa) rats. *Metabolism*, **26**, 371-380 (1977).
- 60) Powley, T. L. & Morton, S. A.: Hypophysectomy and regulation of body weight in the genetically obese Zucker rat. *Am. J. Physiol.*, **230**, 982-987 (1976).
- 61) Seino, S., Seino, Y., Takemura, J., Tsuda, K., Kuzuya, H., Ishikawa, K., Shimazu, T. & Imura, H.: Somatostatin, insulin, and glucagon secretion from isorated perfused pancreas of obese rats. *Am. J. Physiol.*, **241** (Endocrinol. Metab., **4**), E146-E150 (1981).
- 62) Opsahl, C. A. & Powley, T. L.: Failure of vagotomy to reverse obesity in the genetically obese Zucker rat. *Am. J. Physiol.*, **226**, 34-38 (1974).

Pancreatic Polypeptide Secretion from the Isolated Perfused Pancreas of Obese Rats

Shigehiko Ogawa, Department of Internal Medicine (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920—J. Juzen Med Soc., **100**, 831—846 (1991)

Key words pancreatic polypeptide, isolated rat pancreas perfusion, obesity

Abstract

The release of pancreatic polypeptide (PP) of genetic and hypothalamic obese rats was investigated using an isolated perfused pancreas. In the present study, a rat PP (rPP)-specific radioimmunoassay was developed using anti-PP serum RO212, which was raised in a rabbit by immunizing synthetic human PP (18-36), the amino acid sequence of which was similar to that of rPP. In the case of Zucker obese rats, an animal model of genetic obesity, the level of rPP in the peripheral blood and in the pancreatic tissue was significantly lower in the obese group than in the lean group. In addition, the level of rPP in the perfusate was lower during stimulation by 10^{-6} M carbamylcholine (Cch) and the response was smaller in the obese group. In the case of monosodium glutamate (MSG)-treated rats, an animal model of hypothalamic obesity, there was no significant difference in the level of rPP

in the peripheral blood and in the pancreatic tissue between the obese and the control group, while the total release of rPP into the perfusate was higher in the obese group than in the control group, both with and without Cch stimulation. These results suggest that the different origins of obesity in Zucker obese rats and MSG-treated rats may produce different rPP secretory dynamics.