インスリンの血管拡張作用に関する研究－摘出血管標本による検討－

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: 八木, 伸治 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8002

インスリンの血管拡張作用に関する研究
－摘出血管標本による検討－

金沢大学医学部内科学第一講座（主任：服部　信教授）
八　木　伸　治

(昭和62年12月24日受付)

インスリンの動脈および静脈に対する拡張作用とその機序を明らかにするために，家兎摘出大腿動・静脈を用いて，ノルエピネフリン（norepinephrine, NE）とアンジオテンシンII（angiotensin II, AII）の血管収縮に及ぼす種々の濃度のインスリン（120 μU/ml, 1.2 mU/ml, 12 mU/ml, 120 mU/ml）の影響，およびNE, セロトニン（serotonin, 5HT），高 K^+ による血管収縮の用量－反応曲線に及ぼすインスリンの影響を検討した．大腿動・静脈のらせん条片を作製し，36°C，pH 7.4 の修正 Krebs 液を満たした組織灌流浴槽内に懸垂した．浴槽内は，95%O_2-5%CO_2の混合ガスで通気し，等張性収縮を記録した．インスリンは，NE（動脈 10^{-8} M, 静脈 10^{-7} M）による血管収縮を動脈および静脈のいずれの血管においても 1.2 mU/ml 以上で，AII（動脈 3×10^{-10} M, 静脈 3×10^{-9} M）による血管収縮を動脈では 1.2 mU/ml 以上で，静脈では 12 mU/ml 以上の濃度で有意に抑制し，その抑制効果は用量依存性であった．インスリン（100 mU/ml）は，NE（10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M），5HT（10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M），高 K^+（15 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM）の用量－反応曲線に対し，低濃度部位を有意に抑制したが，高濃度部位ではインスリン前後で不変であった．以上より，インスリンは，NE および AII の血管収縮を動脈および静脈のいずれにおいても抑制し，その血管収縮抑制様式は，非特異的抑制であった．このインスリンの血管拡張作用は，糖尿病患者でみられるインスリンによる血圧低下の一因となっていると思われた．

Key words insulin, vasodilator action, vasoconstrictive agents, isolated rabbit femoral vessels, nonspecific inhibition

インスリンによる低血糖時の心血管反応については古くより知られ，その機序に関する多くの検討が行われている[1)2)]．一方，1968 年，Miles ら[3)]は，圧受容体反射が異常である患者ではインスリンにより血圧が低下し，特に起立時の血圧低下が著しく，この反応は血糖のレベルとは一致しないことを報告し，インスリンが低血糖のない状態でも心血管系に影響を及ぼす可能性を示し，注目された．その後，Page ら[4)]は自律神経障害のある糖尿病患者では，インスリンにより血圧が低下し，この血圧の低下は血糖の低下よりも早期にみられることを報告し，インスリンが低血糖のない状態でも心血管作用を有することを示した．

インスリンによる血圧低下の機序は，いまだ明らかではないが，循環血漿量の減少による説と血管拡張による説が想定されている．Gundersen ら[5)]はノイロパチーのない糖尿病患者では，インスリンによりアルブミンの血管内プールの減少と循環血漿量の過度の減少が起こることを報告し，循環血漿量の減少に対する代償機序の欠如が，インスリンによる血圧低下の原因であろうとした．しかし，その後の報告では，自律神経障害を伴った糖尿病患者では，インスリンによる循環血漿量の減少がみられないこと[6)]，ラジオアイソトープ法で評価したインスリン静注後の循環血漿量の減少は混合不良によるものであること[7)]が指摘され，循環血漿量の減少はインスリンによる血圧低下の主因ではないとされた．

最近 Takata ら[8)]は，自律神経障害を伴った糖尿病患者では，インスリンにより血圧が低下すると同時に，

Abbreviations: AII, angiotensin II; 5HT, serotonin; MC, maximal contraction; NE, norepinephrine; TC, tonic contraction.

前腕血管抵抗の低下，大腿静脈容量と大腿静脈伸展性の増加がみられることを報告した．いずれの患者も，血糖が 100 mg/dl 以下に低下することはなく，低血糖症状もみられなかった．これらの成績から，インスリンは動脈のみならず静脈に対しても血管拡張作用を有し，自律神経障害を伴った糖尿病患者のインスリンによる血圧低下に，動脈および静脈の血管拡張が一つの要因となっている可能性を示した．しかし，インスリンの血管作用に関する研究は少なく，わずかに冠動脈[9]，骨格筋血管床[10]でインスリンが血管拡張作用を有するとの報告がみられるのみであり，静脈系に対する作用，血管作用の機序に関する検討はみられない．

そこで今回，インスリンの動脈あるいは静脈に対する拡張作用と，血管拡張作用を有するとした時その機序はいかなるものかを明らかにするために，家兎摘出大腿動・静脈を用いて，ノルエピネフリン（norepinephrine, NE）とアンジオテンシンII（angiotensin II, AII）の血管収縮に及ぼす種々の濃度のインスリンの影響，および NE, セロトニン（serotonin, 5HT），高 K^+ による血管収縮の用量－反応曲線に及ぼすインスリンの影響を検討した．

対象および方法

I．対　象

体重 2.5～3.5 kg の雄家兎 114 羽を対象とした．項部叩打，瀉血後に大腿動・静脈を摘出し，同標本を 36°C，pH 7.4 の修正 Krebs 液（NaCl 122.0, KCl 4.7, $CaCl_2$ 2.5, $MgSO_4$ 1.2, KH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 15.5, ブドウ糖 11.5 mM）を満たしたビーカー（100 ml）内に入れ，95%O_2- 5 %CO_2 の混合ガスで通気した．標本摘出後 1 時間以内に解剖用顕微鏡 227418（オリンパス）を用い周囲の結合組織を十分剝離し，らせん条片（幅約 1 mm, 長さ約 10 mm）を作製，同じく修正 Krebs 液を満たした組織灌流浴槽（20 ml）内に懸垂した．浴槽内は 95%O_2- 5 %CO_2 の混合ガスで通気し，36±0.2°C, pH 7.4 に維持した．各らせん条片に一定の初期張力をかけ，アイソトニックトランスジューサー TD112S（日本光電）を用い等張性収縮をオシログラフ Linearecorder Type WR3001（渡辺機器）上に記録した（図 1）．

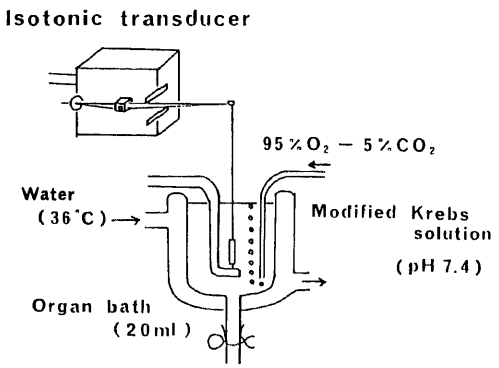

Fig. 1. Schema of measurement of isotonic contraction. Helical strips were bathed in 20 ml of modified Krebs solution (pH 7.4) gassed with 95% O_2 and 5%CO_2 at 36°C and isotonic contraction was measured.

II．NE, AII の動脈および静脈収縮に及ぼす種々の濃度のインスリンの影響

動脈に 0.5 g，静脈に 0.3 g の初期張力をかけ，NE（動脈 10^{-8} M，静脈 10^{-7} M）および AII（動脈 3×10^{-10} M, 静脈 3×10^{-9} M）を 15 分間作用させ，60 分間隔で繰り返し収縮実験を行い一定の収縮反応が得られるようになった後，インスリンの影響を検討した．NE, AII の濃度は用量－反応曲線を作成し，動・静脈の収縮が同程度であり，かつ評価し得る出来るだけ低濃度のものを用いた（後述）．

血管収縮の指標として，NE では maximal contraction（MC）と 15 分後の tonic contraction（TC）を求めた．一方 AII では，TC は動脈にはみられたが静脈では明らかではないために，MC のみを求め比較した．対照液またはインスリンの効果は，コントロール時収縮に対する%変化率で示した．なおインスリンの濃度は，120 μU/ml, 1.2, 12, 120 mU/ml（それぞれ n＝7）を用い，インスリンの血管収縮抑制効果の評価は，対照液（n＝7）との比較により行った．

III．NE, 5HT, 高 K^+ の用量－反応曲線に及ぼすインスリンの影響

家兎大腿動脈のらせん条片を用い，NE では 0.7 g, 5HT と高 K^+ では 0.5 g の初期張力をかけ，NE（10^{-7} M），5HT（10^{-7} M），高 K^+（20 mM）を 15 分間作用させ，60 分間隔で繰り返し収縮実験を 2 回行い，一定の収縮反応が得られるようになった後，それぞれの用量－反応曲線を作成した．すなわち NE と 5HT はそれぞれ 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5} M, 高 K^+ は 15, 20, 30, 40 mM の 4 種の濃度を用い，各濃度とも 15 分間作用させた後洗浄し，60 分間隔で用量－反応曲線を作成した．次いでインスリン 100 mU/ml の存在下で再び同様の順序で用量－反応曲線を作成した（それぞれ n＝8）．なお血管収縮の指標として MC を用い，インスリンの血管収縮抑制効果は，用量－反応曲線の比較により行った．

使用した薬剤は，豚モノコンポーネントインスリン結晶（Novo），1-ノルエピネフリン（Wako），アンジオ

テンシンII (Hypertensin, Civa-Geigy), セロトニン(Sigma)である．各薬剤は，組織灌流浴槽内に直接加え，その濃度は最終濃度で示した．なお今回の検討では，インスリンの効果が洗浄後も完全に消失しない可能性を考慮して[11)12)]，インスリンは一つの濃度しか各標本に作用させなかった．

IV．統計学的検討

結果は，平均±標準誤差で示し，平均値の差の検討は一元配置分散分析後，Scheffé の多重比較を行い，また対応ある検体については Student の paired t-test を用いて有意差検定を行った．$p<0.05$ を有意とした．

成　　績

I．NE と AII の動脈および静脈収縮に及ぼす種々の濃度のインスリンの影響

まず NE および AII の動脈および静脈に対する濃度について検討した．NE と AII の用量－反応曲線を作成し，この曲線から動・静脈の収縮が同程度であり，かつ評価し得る出来るだけ低濃度のものを用いることとした．即ち NE の場合動脈では 10^{-8} M，静脈では 10^{-7} M（図2），AII については動脈では 3×10^{-10} M，静脈では 3×10^{-9} M を用いた（図3）．コントロールとしての収縮反応は，NE あるいは AII を 60 分間隔で

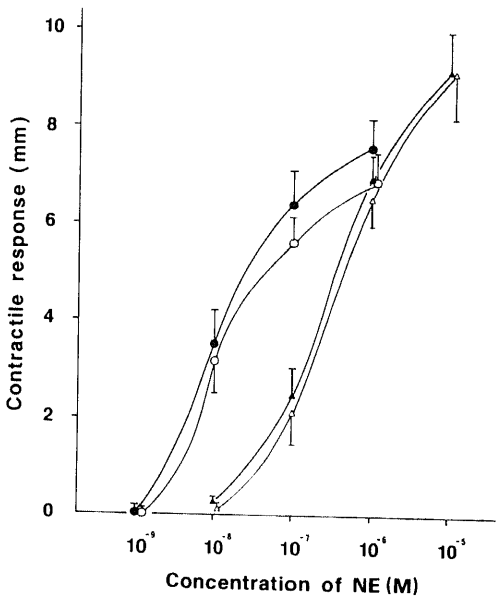

Fig. 2. Dose-response curves of the effects of NE on the vasoconstriction in the isolated femoral artery and vein. Each point on the curves represents the mean of 6 experiments; vertical bars indicate±SEM. ●, MC of artery; ○, TC of artery; ▲,MC of vein; △,TC of vein.

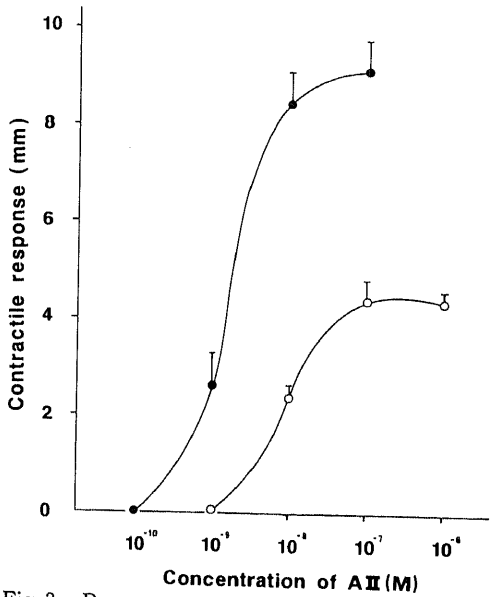

Fig. 3. Dose-response curves of the effects of AII on the vasoconstriction in the isolated femoral artery and vein. Each point on the curves represents the mean of 6 experiments; vertical bars indicate±SEM. ●, MC of artery; ○, MC of vein.

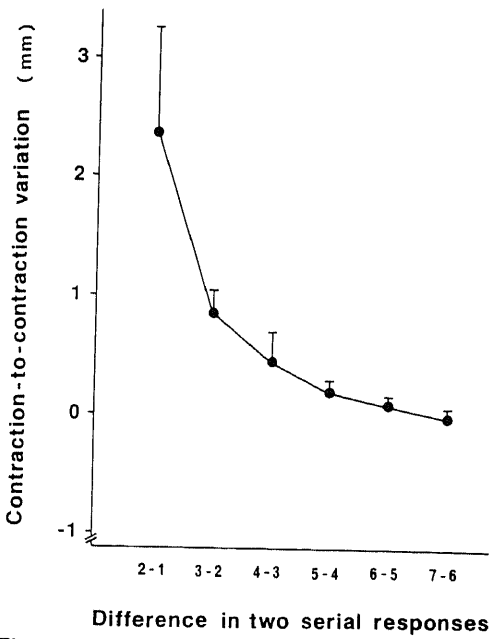

Fig. 4. Time course of vasoconstrictive responses to NE (10^{-8} M) in the isolated femoral artery. As the 6 th and 7 th responses were nearly equal, the 6 th response was taken as control in this study. Each point on the curves represents the mean of 7 experiments; vertical bars indicate± SD.

繰り返し15分間作用させて得られた収縮反応の変動性を検討して決定した．NE（動脈10^{-8} M）の場合では図4のように前後の収縮反応の差を検討すると，2.37±0.89（平均±標準偏差）（2回目－1回目），0.86±0.17（3回目－2回目），0.46±0.23（4回目－3回目），0.2±0.08（5回目－4回目），0.09±0.07（6回目－5回目），－0.02±0.08 mm（7回目－6回目）であり，6回目と7回目の収縮反応の差が最小であった．したがってNE 10^{-8} Mの動脈収縮に及ぼすインスリンの影響を検討する場合には，6回目の反応をコントロールとした．同様な予備実験の成績から，NEの静脈は6回目の反応を，AIIは動脈4回目，静脈8回目の反応をコントロールとし，次に対照液またはインスリンで30分間前処置し，その存在下で再度NEとAIIの収縮を記録した．対照液としてはインスリン投与量と同じ量の修正Krebs液を用いた．

NEの収縮反応に対するインスリン（120 mU/ml）の効果を図5に実記録で示した．動脈，静脈のいずれの反応もインスリンによりMCおよびTCとも抑制された．図6には，NEの収縮反応に対するインスリンの用量－反応曲線を示した．動脈（図6A）では，MCは，対照液で－1.6±2.3，これに対してインスリン120 μU/mlでは－5.1±2.1（NS），1.2 mU/mlで－9.3±2.0（$p<0.05$），12 mU/mlで－16.5±1.8（$p<0.01$），120 mU/mlで－18.9±1.8%（$p<0.01$）であり，TCはそれぞれ－5.6±2.3，－6.4±2.6（NS），－12.2±2.1（$p<0.05$），－27.0±1.7（$p<0.01$），－30.2±1.8%（$p<0.01$）であった．すなわちMC，TCのいずれもインスリン1.2 mU/ml以上ではNEによる血管の収縮が有意に抑制された．静脈（図6B）では，MCは対照液で－0.6±2.7，一方インスリン120 μU/mlでは－5.0±2.2（NS），1.2 mU/mlで－19.1±5.1（$p<0.05$），12 mU/mlで－34.3±8.0（$p<0.01$），120

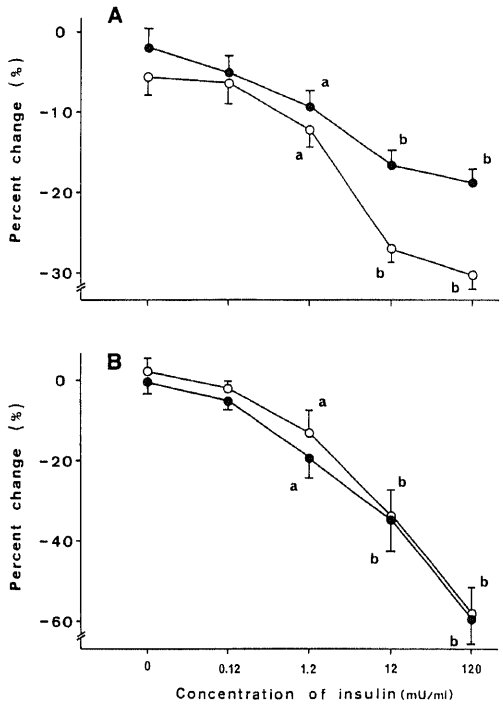

Fig. 6. Dose-response curves of the effects of insulin on the vasoconstrictive response to NE in the isolated femoral artery (A) and vein (B). Contractions of NE were 10^{-8} M in artery and 10^{-7} M in vein. Each point on the curves represents the mean of 7 experiments; vertical bars indicate±SEM. ●, MC; ○, TC. a, $p<0.05$; b, $p<0.01$.

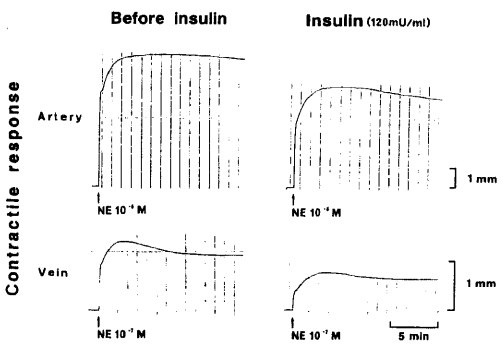

Fig. 5. Experimental records of the effects of insulin on the vasoconstrictive response to NE in the isolated femoral artery (upper trace) and vein (lower trace). Traces in left side are contraction before the addition of insulin. Traces in right side are contraction in the presence of insulin (120 mU/ml).

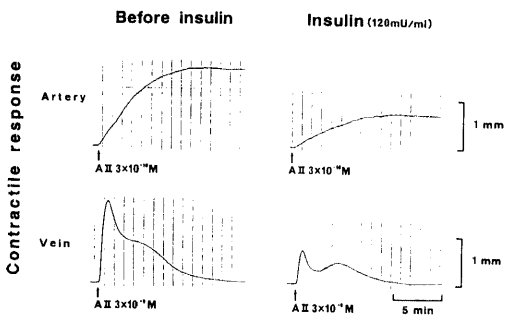

Fig. 7. Experimental records of the effects of insulin on the vasoconstrictive responses to AII in the isolated femoral artey (upper trace) and vein (lower trace). Traces in left side are contraction before the addition of insulin. Traces in right side are contraction in the presence of insulin (120mU/ml).

mU/ml で−59.0±6.3% (p<0.01)であり，TC の変化についてみると，各インスリンの濃度下では，それぞれ 2.5±3.0, −1.8±1.3 (NS), −12.6±5.2 (p<0.05), −33.1±6.2 (p<0.01), −58.0±6.7% (p<0.01) であった．以上より，静脈の MC, TC のいずれともインスリン 1.2 mU/ml 以上の濃度では，有意に NE による血管収縮の抑制がみられた．

図 7 には，AII の収縮反応に対するインスリン (120 mU/ml) の効果を実記録で示した．動脈，静脈のいずれの反応もインスリンにより MC が抑制された．図 8 に AII の収縮反応に対するインスリンの用量−反応曲線を示した．動脈では，対照液で 3.1±6.0，インスリン 120 μU/ml で−5.3±6.3 (NS)，1.2 mU/ml で−22.1±7.2 (p<0.05)，12 mU/ml で−32.2±7.8 (p<0.01)，120 mU/ml で−43.8±4.6% (p<0.01) であり，静脈では，それぞれ 12.4±8.5，2.8±9.1 (NS), −9.5±6.0 (NS), −14.1±7.6 (p<0.05), −26.7±9.3% (p<0.01)であり，動脈は 1.2 mU/ml 以上で，静脈は 12 mU/ml 以上で有意な抑制がみられた (図 8)．

II．NE, 5HT, 高 K^+ による血管収縮の用量−反応曲線に及ぼすインスリンの影響

NE の収縮反応に及ぼすインスリン (100 mU/ml) の影響を図 9 に実記録で示した．10^{-8} M と 10^{-7} M の反応がインスリンにより抑制された．図 10 に，NE の用量−反応曲線に及ぼすインスリンの効果をまとめた．コントロール時の NE による血管収縮は 10^{-8} M では 4.1±0.5，10^{-7} M では 8.3±0.4，10^{-6} M では 8.6±0.5, 10^{-5} M では 8.7±0.6 mm であるのに対し，

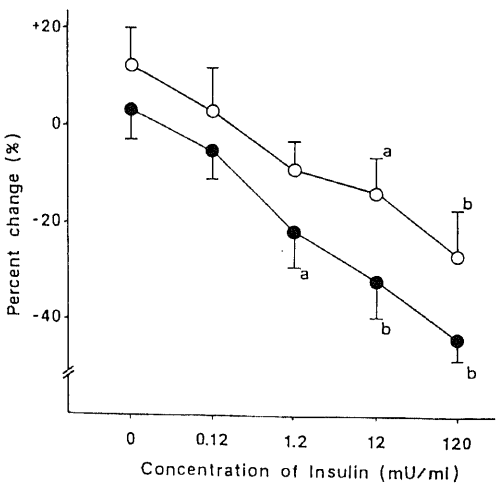

Fig. 8. Dose-response curves of the effects of insulin on the vasoconstrictive response to AII in the isolated femoral artery (●) and vein (○). Contractions of AII were 3×10^{-10} M in artery and 3×10^{-9} M in vein. Each point on the curves represents the mean of 7 experiments; vertical bars indicate±SEM. a, p<0.05; b, p<0.01.

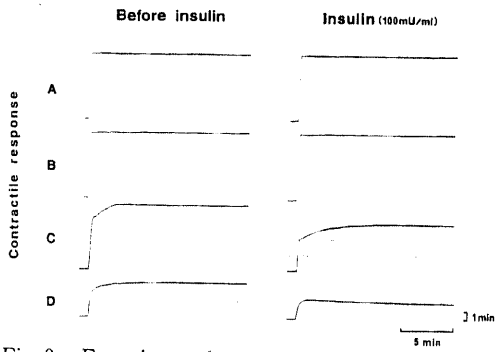

Fig. 9. Experimental records of the effects of insulin on the vasoconstrictive responses to NE in the isolated femoral artery. Contractions of NE; A, 10^{-5} M; B, 10^{-6} M; C, 10^{-7} M; D, 10^{-8} M. Left sides are contraction before the addition of insulin. Right sides are contraction in the presence of insulin (100 mU/ml).

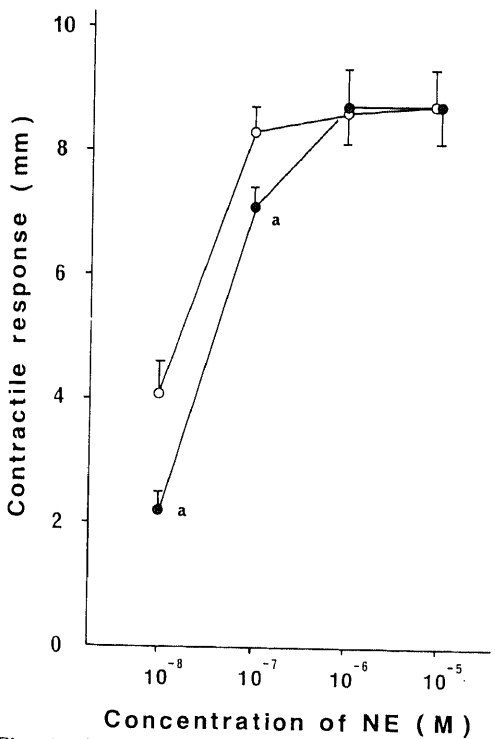

Fig. 10. Effects of insulin on the dose-response curves of NE in femoral arteries. Each point represents the mean of 8 experiments; vertical bars indicate ±SEM. ○, control; ●, insulin. a, p<0.01.

インスリン 100 mU/ml の存在下では，それぞれ 2.2±0.3 ($p<0.01$)，7.1±0.3 ($p<0.01$)，8.7±0.6 (NS)，8.7±0.6 mm (NS)であり，インスリンにより 10^{-8} M と 10^{-7} M の反応が有意に抑制された．

5HT の収縮反応に及ぼすインスリンの影響を図 11 に実記録で示した．10^{-8} M の反応がインスリンにより抑制された．コントロール時の 5HT による血管収縮は 10^{-8} M では 0.7±0.2，10^{-7} M では 4.0±0.6，10^{-6} M では 6.9±0.4，10^{-5} M では 7.8±0.3 mm であるのに対し，インスリン後はそれぞれ 0.2±0.1 ($p<0.01$)，4.0±0.6 (NS)，7.0±0.4 (NS)，7.9±0.4 mm (NS)であり，インスリンにより 10^{-8} M の反応が有意に抑制された（図 12）．

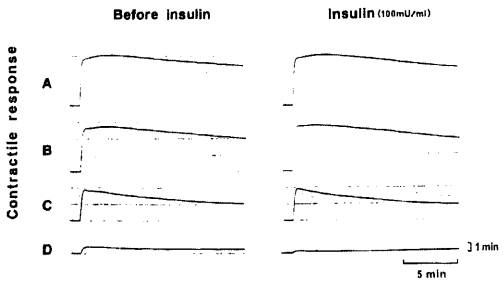

Fig. 11. Experimental records of the effect of insulin on the vasoconstrictive responses to 5HT in the isolated femoral artery. Contractions of 5HT ; A, 10^{-5} M ; B, 10^{-6} M ; C, 10^{-7} M ; D, 10^{-8} M. Left sides are contraction before the addition of insulin. Right sides are contraction in the presence of insulin (100 mU/ml).

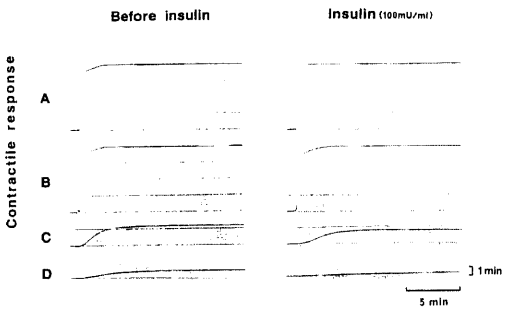

Fig. 13. Experimental records of the effect of insulin on the vasoconstrictive responses to K^+ in the isolated femoral artery. Concentrations of K^+ ; A, 40 mM ; B, 30 mM ; C, 20 mM; D, 15 mM. Left sides are contraction before the addition of insulin. Right sides are contraction in the presence of insulin (100 mU/ml).

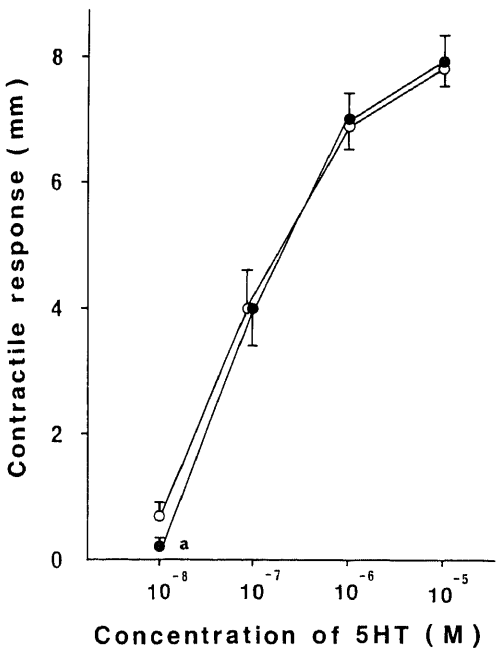

Fig. 12. Effects of insulin on the dose-response curves of 5HT in femoral arteries. Each point represents the mean of 8 experiments ; vertical bars indicate±SEM. ○, control ; ●, insulin. a, $p<0.01$.

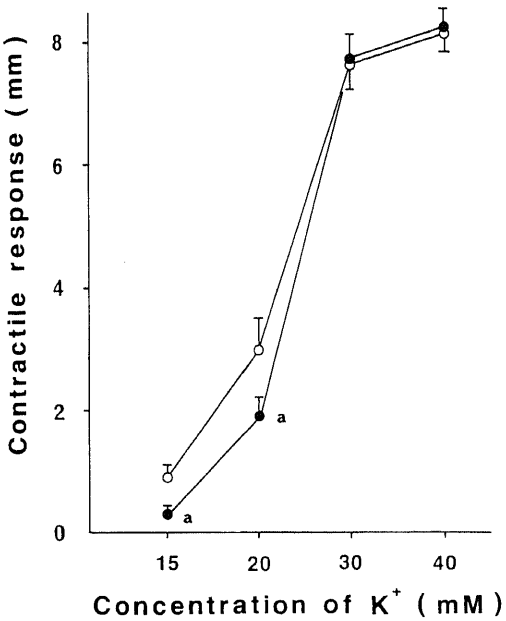

Fig. 14. Effects of insulin on the dose-response curves of K^+ in femoral arteries. Each point represents the mean of 8 experiments ; vertical bars indicate±SEM. ○, control ; ●, insulin. a, $p<0.01$.

高 K^+ の収縮反応に及ぼすインスリンの影響を図13に実記録で示した．15 mM と 20 mM の反応がインスリンにより抑制された．図14には，高 K^+ の用量－反応曲線に及ぼすインスリンの効果をまとめた．コントロール時，15 mM では 0.9±0.2，20 mM では 3.0±0.5，30 mM では 7.6±0.4，40 mM では 8.1±0.3 mm であるのに対し，インスリン後はそれぞれ 0.3±0.1 ($p<0.01$)，1.9±0.3 ($p<0.01$)，7.7±0.4 (NS)，8.2±0.3 mm (NS) であり，インスリンにより 15 mM と 20 mM の反応が有意に抑制された．

考　　察

インスリンは，低血糖のない状態においても心血管系に種々の影響を及ぼすことは広く知られている[3)4)8)13)]．自律神経障害のない糖尿病患者では，インスリンにより起立時に過度の心拍数増加が見られるが，血圧は変化しないとされている[3)4)13)]．一方，自律神経障害を伴い循環調節に異常のある糖尿病患者では，インスリンにより血圧は低下し，特に起立性低血圧を増悪させ臨床上重要な問題となっている[3)4)8)]．

このインスリンの心血管作用の機序は明らかではないが，循環血漿量の減少による説と血管拡張による説の二つが想定されている．Gundersen ら[5)]は，神経症のない糖尿病患者ではインスリンによりアルブミンの血管内プールの減少と循環血漿量の過度の減少が起こることを報告し，循環血漿量の減少とこの減少に対する代償機序が欠如しているために，インスリンによる血圧低下があらわれるのであろうと考えた．しかし，その後 Mackay ら[6)]は，自律神経障害を伴った糖尿病患者では，インスリンによる循環血漿量の減少が見られないことを報告した．さらに，Parving ら[7)]は，インスリン静注前後でもヘマトクリットは不変であり，毛細管におけるアルブミンの漏出率も正常であることを示し，ラジオアイソトープ法で評価した循環血漿量の減少は混合不良によるものであろうと指摘した．したがって，循環血漿量の減少はインスリンによる血圧低下の要因ではないと思われる．

一方，Page ら[4)]はインスリンにより血管が拡張し，循環血液量の再分布がおき血圧が低下する仮説を提唱した．このインスリンの血管拡張説の臨床的観察は Takata ら[8)]により行なわれている．彼らは，糖尿病患者を対象に，ストレインゲージプレチスモグラフを用いて，末梢循環に及ぼすインスリンの影響を検討した．その結果，自律神経障害を伴った糖尿病患者では，インスリンにより血圧が低下すると同時に，前腕血管抵抗の低下，大腿静脈容量と大腿静脈伸展性の増加がみられたが，自律神経障害のない糖尿病患者では血圧，末梢循環諸指標は不変であった．いずれの患者も，血糖が 100 mg/dl 以下に低下することはなく，低血糖症状もみられなかった．この成績は，インスリンは動脈のみならず静脈に対しても血管拡張作用を有し，自律神経障害を伴った糖尿病患者のインスリンによる血圧低下に，動脈および静脈の血管拡張が要因となっていることを示している．しかし，インスリンの血管拡張作用に関する詳細な報告はまだ少なく今回の検討を行った．

今回の家兎大腿動脈および静脈摘出血管を用いた検討では，インスリンは NE および AII の血管収縮を動脈および静脈いずれも抑制し，その抑制効果は用量依存性であった．この成績は，摘出血管においてもインスリンは動脈および静脈のいずれの血管に対しても拡張作用を有することを示しており，自律神経障害を伴った糖尿病患者で観察された成績と一致するものである．インスリンの血管拡張作用については，動物実験においていくつかの報告がみられるが，いずれも動脈系に対してのものである．すなわち，Downing ら[9)]は子羊の冠動脈に対しインスリンが直接血管拡張作用を有することを報告し，Liang ら[10)]は，無麻酔犬を用いた実験で，骨格筋の血管は正常血糖に維持した状態でもインスリンにより拡張することを示した．さらに Alexander ら[14)]は雄ラットの尾の分離灌流標本による検討で，血糖値の変動がない状態でも，生理的濃度以上のインスリンにより NE の血管収縮反応が抑制されたと報告した．すなわちインスリン 150 μU/ml の濃度でもインスリンの血管収縮抑制効果が認められたが，生理的濃度以上の 120 mU/ml ではより明らかとなった．これらの報告は，いずれも動脈系に対する血管拡張作用を示したものであり，今回の成績も従来の報告と一致している．しかし，静脈系に及ぼすインスリンの影響に関する報告はなく，今回の成績は，インスリンが動脈系だけでなく静脈系においても血管拡張作用を有する可能性を示した最初の報告と思われる．

Miles ら[3)]は，圧受容体反射が異常な患者では，インスリンによる血圧低下時に右房圧も低下することを報告した．Yamamoto ら[15)]は以前，自律神経に障害のある糖尿病患者では，インスリンにより血圧が低下し，同時に心拍出量と全末梢血管抵抗が低下することを報告した．したがって，自律神経障害のある糖尿病患者では，インスリン静注後，容量血管の拡張による静脈還流すなわち心拍出量の減少と，抵抗血管の拡張による全末梢血管抵抗の低下により血圧は低下するものと思われる．

一方，インスリンによる血圧の低下は，自律神経障害のある糖尿病患者においてのみみられ，自律神経障

害のない患者ではみられないとされている[3)4)8)]．低血糖のない状態でも，インスリン投与により血漿NEの増加が認められること[5)10)16)]，頸動脈内への小量のインスリン注入により血漿NEが上昇すること[17)]が報告されており，インスリンは直接または間接的に交感神経刺激作用を有すると考えられている．したがって自律神経機能が維持された糖尿病患者では，インスリンによる血管拡張作用は交感神経刺激作用により相殺されるために，血圧が不変であると考えられる．しかしながら自律神経障害を伴った糖尿病患者では，交感神経刺激作用があらわれずに血管拡張のみがみられ血圧が低下するものと考えられる．著者ら[18)]の糖尿病患者での検討では，自律神経障害のない患者では，インスリン投与により血圧は不変であったが，心拍数と血漿NEは上昇した．しかし自律神経障害のある患者では，血圧は低下し，心拍数と血漿NEは不変であった．この成績は，上述の仮説を支持するものと思われる．

糖尿病患者ではAIIに対する血管反応性が亢進しているという報告がみられる[19)~21)]．Drury ら[20)]によれば，合併症のないI型糖尿病患者では，AIIに対する血管反応が亢進しており，これは細小血管症あるいは高血圧の出現よりもむしろ糖尿病のためであろうと報告した．Christlieb[21)]は，アロキサン糖尿病ラットではAIIに対する血管反応性が亢進していると報告し，さらにこのラットをインスリンで治療することにより，AIIの反応性が一部正常化することを示した．今回の検討では，家兎摘出大腿動・静脈において，インスリンによりAIIの血管収縮反応が低下した．したがってアロキサン糖尿病ラットにおいて，インスリン治療後に亢進した血管反応が減弱したことは，一部にはインスリン自体の直接効果によると思われる．健康人を対象とした最近の報告[22)]では，AIIの血管反応性は正常血糖時の高インスリン血症でも不変であるといわれている．健常人と摘出血管標本との間にみられるこうした相違については，いまだ十分な説明がなされていない．しかし，Yamamoto ら[23)]の糖尿病患者での検討では，インスリンがAIIに対する血管収縮反応を抑制することを示しており，こうしたメカニズムも糖尿病患者のインスリンによる血圧低下に関与している可能性がある．

NEを摘出血管標本に作用させると急速な張力発生の後にいったん弛緩し，ついで持続的に張力を発生する二相性収縮を示す[24)25)]．この初めの収縮は最大収縮（MC），後の持続的収縮は緊張性収縮（TC）と呼ばれている．この二相性収縮の発生機序に関しては，第一相のMCは主として細胞内Ca^{2+}に，また第二相のTCは主として細胞外Ca^{2+}に依存していると考えられている[26)27)]．AIIの収縮についても，細胞内Ca^{2+}と細胞外Ca^{2+}によって発生すると考えられている[26)~28)]．インスリンは，NEによる血管収縮を動・静脈とも，MC, TCのいずれも抑制した．さらにAIIによる血管収縮も動・静脈ともMCを抑制した．すなわちインスリンは異なる二種類の血管収縮物質に対して，その収縮を抑制した．

インスリンが血管平滑筋のどのような部位あるいは機構に作用して筋弛緩を引き起こすのかについては明らかではない．今回の検討では，インスリンの血管拡張作用機序を明らかにするために，収縮に直接関与するCa^{2+}の動きに注目して，NE, 5HT, 高K^+の血管収縮に及ぼすインスリンの影響を検討した．NE収縮は，大動脈では無Ca^{2+}溶液中でもわずかにしか減少しないが，この状態での収縮は一過性であるので，外因性Ca^{2+}に加えて，細胞内貯蔵Ca^{2+}の放出によって発生すると考えられている[26)27)29)30)]．また5HT収縮は，大動脈では主に細胞内Ca^{2+}放出によって発生すると考えられている[31)~33)]．高K^+による収縮は，高K^+溶液によって血管平滑筋が脱分極し，Ca^{2+}を含むすべてのイオンの透過性が増加するためである[26)27)34)~36)]．今回の成績では，インスリンはNE, 5HT, 高K^+の低濃度での収縮をいずれも有意に抑制したが，高濃度での収縮はインスリン前後で不変であった．したがってインスリンによる血管収縮抑制様式としては，受容体での拮抗，細胞内遊離Ca^{2+}の抑制，膜脱分極の抑制などいずれかに特異的なものではないと思われた．

インスリンの血管拡張作用の細胞レベルでの正確な機序についてはいまだ不明である．しかしZierlerとRogus[37)]は，インスリンが多くの組織において過分極を起こすことを明らかにした．インスリンによる過分極の原因については，たとえば長指伸筋[38)]では，K^+に対する膜の透過性に比しNa^+の透過性が減少していること，また培養したチックの心筋[39)]ではK^+の透過性が亢進していること，カエルの縫工筋[40)]や哺乳動物の心臓[41)]，ラットのヒラメ筋[42)]などではウアバインにより抑制可能な過程を刺激すること，そしてラットの脂肪細胞[43)]や培養心筋[39)]，あるいはラットの横隔膜[44)45)]などではウアバインにより抑制可能な過程への刺激によらないことなどが報告されている．最近，Moore ら[40)]は，過分極はインスリンによるNaポンプの刺激による二次的なものであり，このNa^+-K^+-ATPaseの刺激はウアバインによって完全に遮断されると報告した．この成績は，過分極が細胞内K^+濃度の増加によるものではないというZierlerの結論[46)47)]を支持するものである．

Putnam[48)]と他の研究者たち[49)~51)]の報告によれば，

膜輸送の活性化（細胞内のアルカリ化やブドウ糖輸送）までには有意の遅延時間がみられるという．しかしながらカエルの骨格筋では，インスリンは直ちに表面に結合し[52]，また哺乳動物でも骨格筋において5～10 mV の過分極がみられ[46]，これは1分以内に生ずるとされている[53]．今回の検討では，インスリンで30分前処置した後血管収縮剤を適用したが，インスリンによる過分極は十分起こっているものと考えられる．以上より，こうした過分極が血管平滑筋においても起こっていることが考えられ，この過分極により血管収縮剤に対する血管平滑筋の収縮性と反応性が変化する可能性がある．その他の機序として，細胞内遊離 Ca^{2+} 活性の変化，細胞内ヌクレオチド（cGMP や cAMP など）濃度の変化，膜輸送蛋白のリン酸化，さらには膜への新たな運搬経路の可能性なども考えられ[26][32]，さらに検討が必要と思われる．

インスリンの血管平滑筋に及ぼす作用機序については未だ不明であるが，今回の成績では，インスリンの血管収縮抑制様式は，受容体での拮抗，細胞内遊離 Ca^{2+} の抑制，膜脱分極の抑制などどれかに特異的なものとは考えにくく，非特異的な抑制ではないかと思われた．インスリンの血管拡張作用の機序をさらに明らかにするには，収縮張力，細胞膜の電気現象，イオン流束等の測定に加えて，収縮蛋白系への作用なども合わせて検討する必要があると思われる．

糖尿病患者では，高血圧の頻度が高いといわれており[54][55]，糖尿病患者の高血圧の成因の一つとして高インスリン血症が近年注目されている．高インスリン血症に伴う昇圧の機序は明らかではないが，インスリンによる1）腎での Na 再吸収の促進，2）交感神経緊張亢進，3）交感神経刺激に対する血管反応性の亢進などが想定されている[56][57]．NE, 5HT, 高 K^+ の血管収縮に及ぼすインスリンの影響を検討した今回の成績では，インスリンは非特異的な血管拡張作用を有することが示された．したがって糖尿病の高血圧の成因として，高インスリン血症による昇圧刺激に対する血管反応性の亢進の関与は少ないと思われる．血圧調節機構の複雑な相互作用に及ぼすインスリンの役割については，今後の検討が必要である．

結　　論

インスリンの動脈と静脈に対する拡張作用とその機序を明らかにするために，家兎摘出大腿動・静脈標本を用いて，NE と AII の血管収縮に及ぼす種々の濃度のインスリン（120 μU/ml, 1.2 mU/ml, 12 mU/ml, 120 mU/ml）の影響，および NE, 5HT,高 K^+ による血管収縮の用量－反応曲線に及ぼすインスリンの影響を検討し，以下の結論を得た．

1．インスリンは，NE（動脈 10^{-8} M, 静脈 10^{-7} M）による血管収縮を動脈および静脈のいずれの血管においても 1.2 mU/ml 以上で，AII（動脈 3×10^{-10} M, 静脈 3×10^{-9} M）による血管収縮を動脈では 1.2 mU/ml 以上で，静脈では 12 mU/ml 以上の濃度で有意に抑制し，その抑制効果は用量依存性であった．

2．インスリン（100 mU/ml）は NE（10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M），5HT（10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M），高 K^+（15 mM, 20 mM, 30 mM, 40 mM）の用量－反応曲線において，NE では 10^{-8} M と 10^{-7} M, 5HT では 10^{-8} M, 高 K^+ では 15 mM と 20 mM を有意に抑制した．すなわち用量－反応曲線の低濃度部位を有意に抑制したが，高濃度部位ではインスリン前後で不変であった．

以上より，インスリンは NE および AII の血管収縮を動脈と静脈のいずれにおいても抑制し，この作用が糖尿病患者でみられたインスリンによる血圧低下の要因となっている可能性が示された．さらにインスリンによる血管収縮抑制様式は，非特異的抑制と思われた．

謝　　辞

稿を終えるに臨み，御指導，御校閲を賜った恩師金沢大学第一内科服部信教授に深甚の謝意を表します．また終始，御指導，御教示を戴いた金沢大学第一内科池田孝之講師，高田重男博士および金沢大学第一内科循環器班の諸先生方に心から感謝いたします．また血管収縮測定に御協力いただいた中島宏通博士に感謝いたします．なお本論文の要旨は第48回日本循環器学会総会および第30回日本糖尿病学会総会において発表した．

文　　献

1） **Allwood, M. J., Hensel, H. & Papenberg, J.**: Muscle and skin blood flow in the human forearm during insulin hypoglycaemia. J. Physiol., **147**, 269-273 (1959).

2） **Middleton, W. G. & French, E. B.**: Studies of the peripheral vasodilator response to acute insulin-induced hypoglycaemia in man. Clin. Sci., **47**, 461-470 (1974).

3） **Miles, D. W. & Hayter, C. J.**: The effect of intravenous insulin on the circulatory responses to tilting in normal and diabetic subjects with special reference to baroceptor reflex block and atypical hypoglycaemic reactions. Clin. Sci., **34**, 419-430 (1968).

4） **Page, M. McB. & Watkins, P. J.**: Provocation of postural hypotension by insulin in diabetic

autonomic neuropathy. Diabetes, **25**, 90-95 (1976).

5) **Gundersen, H. J. G. & Christensen, N. J.**: Intravenous insulin causing loss of intravascular water and albumin and increased adrenergic nervous activity in diabetics. Diabetes, **26**, 551-557 (1977).

6) **Mackay, J. D., Hayakawa, H. & Watkins, P. J.**: Cardiovascular effects of insulin: plasma volume changes in diabetics. Diabetologia, **15**, 453-457 (1978).

7) **Parving, H.-H., Noer, I., Deckert, T. & Lassen, N. A.**: Intravenous insulin has no effect on transcapillary escape rate of albumin and on plasma volume in short-term juvenile diabetics. Diabetes, **28**, 282-286 (1979).

8) **Takata, S., Yamamoto, M., Yagi, S., Noto, Y., Ikeda, T. & Hattori, N.**: Peripheral circulatory effects of insulin in diabetes. Angiology, **36**, 110-115 (1985).

9) **Downing, S. E., Lee, J. C. & Matisoff, D. N.**: Coronary blood flow in the diabetic lamb with metabolic acidosis. Am. J. Physiol., **238**, H263-H268 (1980).

10) **Liang, C.-S., Doherty, J. U., Faillace, R., Maekawa, K., Arnold, S., Gavras, H. & Hood, W. B. Jr.**: Insulin infusion in conscious dogs. Effects on systemic and coronary hemodynamics, regional blood flows, and plasma catecholamines. J. Clin. Invest., **69**, 1321-1336 (1982).

11) **Schlessinger, J., Shechter, Y., Willingham, M. C. & Pastan, I.**: Direct visualization of binding, aggregation, and internalization of insulin and epidermal growth factor on living fibroblastic cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **75**, 2659-2663 (1978).

12) **Kaiser, N., Vlodavsky, I., Tur-Sinai, A., Fuks, Z. & Cerasi, E.**: Binding, internalization, and degradation of insulin in vascular endothelial cells. Diabetes, **31**, 1077- 1083 (1982).

13) **Page, M. McB., Smith, R. B. W. & Watkins, P. J.**: Cardiovascular effects of insulin. Br. Med. J., **1**, 430-432 (1976).

14) **Alexander, W. D. & Oake, R. J.**: The effect of insulin on vascular reactivity to norepinephrine. Diabetes, **26**, 611-614 (1977).

15) **Yamamoto, M., Takata, S., Yagi, S., Asanoi, E., Nakamura, Y., Noto, Y., Kawai, K., Hayakawa, H., Ikeda, T. & Hattori, N.**: Hemodynamic effect of insulin (Abstract). *In* Alberti, K. G. M. M., Ogada, T., Aluoch, J. A. & Mngola, E. N. (eds.), 11 th Congress of the International Diabetes Federation, p101, Amsterdam, Excerpta Medica, 1982.

16) **Rowe, J. W., Young, J. B., Minaker, K. L., Stevens, A. L., Pallotta, J. & Landsberg, L.**: Effect of insulin and glucose infusions on sympathetic nervous system activity in normal man. Diabetes, **30**, 219-225 (1981).

17) **Pereda, S. A., Eckstein, J. W. & Abboud, F. M.**: Cardiovascular responses to insulin in the absence of hypoglycemia. Am. J, Physiol., **202**, 249-252 (1962).

18) **Yagi, S., Takata, S., Yamamoto, M., Iwase, N., Maeno, K., Igarashi, A., Noto, Y., Ikeda, T. & Hattori, N.**: Effects of insulin on systemic and peripheral circulation, and plasma noradrenaline. Jap. Circ. J., **49**, 894 (1985).

19) **Christlieb, A. R., Janka, H.-U., Kraus, B., Gleason, R. E., Icasas-Cabral, E. A., Aiello, L. M., Cabral, B. V. & Solano, A.**: Vascular reactivity to angiotensin II and to norepinephrine in diabetic subjects. Diabetes, **25**, 268-274 (1976).

20) **Drury, P. L., Smith, G. M. & Ferriss, J. B.**: Increased vasopressor responsiveness to angiotensin II in Type 1 (insulin-dependent) diabetic patients without complications. Diabetologia, **27**, 174-179 (1984).

21) **Christlieb, A. R.**: Renin, angiotensin, and norepinephrine in alloxan diabetes. Diabetes, **23**, 962-970 (1974).

22) **Vierhapper, H., Waldhäusl, W. & Nowotny, P.**: The effect of insulin on the rise in blood pressure and plasma aldosterone after angiotensin II in normal man. Clin. Sci., **64**, 383-386 (1983).

23) **Yamamoto, M., Takata, S., Yagi, S., Iwase, N., Kiyokawa, H., Noto, Y., Ikada, T. & Hattori, N.**: Effects of insulin on pressor responsiveness and baroreflex function in diabetes mellitus. Jpn. Circ. J., **50**, 943-948 (1986).

24) **Bohr, D. F.**: Vascular smooth muscle: dual effect of calcium. Science, **139**, 597-599 (1963).

25) **Brodie, D. C., Bohr, D. F. & Smit, J.**: Dual contractile response of the aorta strip. Am. J. Physiol., **197**, 241-246 (1959).

26) **Bolton, T. B.**: Mechanisms of action of

transmitters and other substances on smooth muscle. Physiol. Rev., **59**, 606-718 (1979).

27) **Van Breemen, C., Aaronson, P., Loutzenhiser, R. & Meisheri, K.**: Ca^{2+} movements in smooth muscle. Chest, **78**, 157-165 (1980).

28) **Regoli, D., Park, W. K. & Rioux, F.**: Pharmacology of angiotensin. Pharmacol. Rev., **26**, 69-123 (1974).

29) **Van Breemen, C., Farinas, B. R., Gerba, P. & McNaughton, E. D.**: Excitation-contraction coupling in rabbit aorta. Studied by the Ianthanum method for measuring cellular calcium influx. Circ. Res., **30**, 44-54 (1972).

30) **Deth, R. & Van Breemen, C.**: Relative contributions of Ca^{2+} influx and cellular Ca^{2+} release during drug induced activatin of the rabbit aorta. Pflüegers Arch., **348**, 13-22 (1974).

31) **Ratz, P. H. & Flaim, S. F.**: Mechanism of 5-HT contraction in isolated bovine ventricular coronary arteries. Evidence for transient receptor-operated calcium influx channels. Circ. Res., **54**, 135-143 (1984).

32) **Somlyo, A. P. & Somlyo, A. V.**: Vascular smooth muscle. II. Pharmacology of normal and hypertensive vessels. Pharmacol. Rev., **22**, 249-353 (1970).

33) **Vanhoutte, P. M., Cohen, R. A. & Van Nueten, J. M.**: Serotonin and arterial vessels. J. Cardiovasc. Pharmacol., **6**, S421-S428 (1984).

34) **Chujyo, N. & Holland, W. C.**: Potassium-induced contracture and calcium exchange in the guinea pig's taenia coli. Am. J. Physiol., **205**, 94-100 (1963).

35) **Urakawa,N. & Holland, W. C.**: Ca^{45} uptake and tissue calcium in K-induced phasic and tonic contraction in taenia coli. Am. J. Physiol., **207**, 873-876 (1964).

36) **Itoh, T., Kuriyawa, H. & Suzuki, H.**: Excitation-contraction coupling in smooth muscle cells of the guinea-pig mesenteric artery. J. Physiol., **321**, 513-535 (1981).

37) **Zierler, K. & Rogus, E. M.**: Effects of peptide hormones and adrenergic agents on membrane potentials of target cells. Federation Proc., **40**, 121-124 (1981).

38) **Zierler, K. L.**: Insulin, ions, and membrane potentials. *In* Greep, R. O. & Astwood, E. B. (eds.), Handbook of Physiology, vol 1, Endocrinology, Am. Physiol. Soc., Washington, DC, p347-368, 1972.

39) **Lantz, R. C., Elsas, L. J. & Dehaan, R. L.**: Ouabain-resistant hyperpolarization induced by insulin in aggregates of embryonic heart cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **77**, 3062-3066 (1980).

40) **Moore, R. D. & Rabovsky, J. L.**: Mechanism of insulin action on resting membrane potential of frog skeletal muscle. Am. J. Physiol., **236**, C249-C254 (1979).

41) **Lamanna, V. & Ferrier, G. R.**: Electrophysiological effects of insulin on the mammalian heart (Abstract). Federation Proc., **38**, 986 (1979).

42) **Flatman, J. A. & Clausen, T.**: Combined effects of adrenaline and insulin on active electrogenic Na^+-K^+ transport in rat soleus muscle. Nature, **281**, 580-581 (1979).

43) **Cheng, K., Groarke, J. & Sonenberg, M.**: Effect of insulin, catecholamines and irons on adipocyte membrane potential (Abstract). Federation Proc., **38**, 410 (1979).

44) **Bolte, H.-D. & Lüderitz, B.**: Einfluβ von Insulin auf das Membranpotential bei alimentärem Kaliummangel. Pflüegers Arch., **301**, 254-258 (1968).

45) **Otsuka, M. & Ohtsuki, I.**: Mechanism of muscular paralysis by insulin with particular reference to familial periodic paralysis. Nature, **207**, 300-301 (1965).

46) **Zierler, K. L.**: Increase in resting membrane potential of skeletal muscle produced by insulin. Science, **126**, 1067-1068 (1957).

47) **Zierler, K. L.**: Effect of insulin on membrane potential and potassium content of rat muscle. Am. J. Physiol., **197**, 515-523 (1959).

48) **Putnam, R. W.**: Effect of insulin on intracellular pH in frog skeletal muscle fibers. Am. J. Physiol., **248**, C330-C336 (1985).

49) **Narahara, H. T. & Özand, P.**: Studies of tissue permeability. IX. The effect of insulin on the penetration of 3-methylglucose-H^3 in frog muscle. J. Biol. Chem., **238**, 40-49 (1963).

50) **Narahara, H. T., Özand, P. & Cori, C. F.**: Studies of tissue permeability. VII. The effect of insulin on glucose penetration and phosphorylation in frog muscle. J. Biol. Chem., **235**, 3370-3378 (1960).

51) **Özand, P. & Narahara, H. T.**: Regulation of glycolysis in muscle. III. Influence of insulin,

epinephrine, and contraction on phosphofructokinase activity in frog skeletal muscle. J. Biol. Chem., **239**, 3146-3152 (1964).

52) Wohltmann, H. J. & Narahara, H. T.: Binding of insulin-^{131}I by isolated frog sartorius muscles.Relationship to changes in permeability to sugar caused by insulin. J. Biol. Chem., **241**, 4931-4939 (1966).

53) Zierler, K. & Rogus, E.: Rapid hyperpolarization of rat skeletal muscle induced by insulin. Biochim. Biophys. Acta, **640**, 687-692 (1981).

54) Pell, S. & D'Alonzo, C. A.: Some aspects of hypertension in diabetes mellitus. JAMA, **202**, 104-110 (1967).

55) Jarrett, R. J., Keen, H., McCartney, M., Fuller, J. H., Hamilton, P. J. S., Reid, D. D. & Rose, G.: Glucose tolerance and blood pressure in two population samples; their relation to diabetes mellitus and hypertension. Int. J. Epidemiol., **7**, 15-24 (1978).

56) Vierhapper, H.: Effect of exogenous insulin on blood pressure regulation in healthy and diabetic subjects. Hypertension, 7 (Suppl. II), II-49-II-53 (1985).

57) Christlieb, A. R., Krolewski, A. S., Warram, J. H. & Soeldner, J. S.: Is insulin the link between hypertension and obesity?. Hypertension, 7 (Suppl. II), II-54-II-57 (1985).

Vasodilator Action of Insulin— Studied with Blood Vessels Isolated from Rabbits—

Shinji Yagi, Department of Internal Medicine (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc. **97**, 1—12 (1988)

Key words: insulin, vasodilator action, vasoconstrictive agents, isolated rabbit femoral vessels, nonspecific inhibition

Abstract

The purpose of this study was to determine whether or not insulin has vasodilator actions on artery and vein, and to elucidate the mechanisms of its action. The effects of insulin at various concentrations (120 μU/ml, 1.2 mU/ml, 12 mU/ml, 120 mU/ml) on the vasoconstrictive responses to norepinephrine (NE) and angiotensin II (AII) in the femoral artery and vein isolated from rabbits, and the effects of insulin (100 mU/ml) on the dose-response curves of NE, serotonin (5HT) and high K^+ in the femoral artery, were examined. Helical strips were suspended in an organ bath filled with modified Krebs solution (pH 7.4) gassed with 95% O_2 and 5% CO_2 at 36°C and isotonic contraction was measured. Insulin significantly inhibited NE-induced vasoconstriction in both the femoral artery and vein at a concentration of 1.2 mU/ml or higher, with dose-dependency. Insulin significantly inhibited AII-induced vasoconstriction in the femoral artery at a concentration of 1.2 mU/ml or higher, and in the femoral vein at 12 mU/ml or higer, with dose-dependency. Insulin (100 mU/ml) significantly inhibited the dose-response curves at low concentration sites in all of NE (10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M and 10^{-5} M), 5HT (10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M and 10^{-5} M) and high K^+ (15 mM, 20 mM, 30 mM and 40 mM). At the high concentration sites, however, insulin did not cause any changes. The results of this study revealed that insulin had an inhibitory effect on NE and AII-induced vasoconstriction in both the arteries and veins, which may contribute to its hypotensive effect observed in diabetic patients treated with insulin. These results also showed that the mode of vasodilator action of insulin might be nonspecific inhibition.