

Neural Regulation of Glucagon Response to Insulin-induced Hypoglycemia in Anesthetized Dogs

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/2297/8016

インスリン低血糖時グルカゴン反応の神経性調節 — 麻酔犬における検討

金沢大学医学部内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

中 川 淳

(昭和63年1月29日受付)

インスリン低血糖時のグルカゴン反応が、血糖降下それ自体とは別にグルコース欠乏時の神経性情報に依存するか否かを知る目的で、ペントバルビタール麻酔犬を用い、膵自律神経支配状態の異なる4群を作製し、インスリン低血糖(0.25単位/kg、静脈内投与)を誘発した。正常対照犬では(n=5)、動脈血糖値は前値平均 94 ± 2 (平均±標準誤差)mg/dlより、インスリン投与30分後には底値 44 ± 5 へと有意に低下し、120分にて前値に復した。動脈血中グルカゴン(immunoreactive glucagon, IRG)レベルは前値平均 106 ± 8 pg/mlより45分で頂値 219 ± 20 へと有意に増加した。血中エピネフリン(epinephrine, Ep)レベルは 67 ± 13 pg/mlより45分での 284 ± 56 へと有意に増加した。隣近傍にて血管周囲神経組織を剥離・離断した膵除神経犬においては(n=5)、血糖レベルは正常対照犬と同程度の低下を示したが、その回復は有意に抑制された。IRGの前値からの増加度(Δ IRG)はインスリン投与45分後、正常対照犬で 113 ± 19 pg/mlであったが、膵除神経犬においては僅か 32 ± 7 であった。Epの増加度(Δ Ep)は正常対照犬とほぼ等しかった。両側大内臓神経を横隔膜直下で切断した内臓神経切断犬では(n=5)、血糖値は正常の経過を示したが、IRGおよびEpの反応は著しく減少した。即ち、内臓神経切断犬で45分 Δ IRG 35 ± 13 pg/ml, Δ Ep 8 ± 3 pg/ml(正常対照犬で Δ Ep 217 ± 56)であった。両側迷走神経を横隔膜直下で切断した迷走神経切断犬では(n=5)、血糖、IRG、Epともに正常の反応を示した。ソマトスタチン(somatostatin, SRIF)によるIRG分泌の抑制が、前述の4群における血糖回復過程に影響を与えるか否かを検討するため、SRIF(750 μ gまたは1500 μ g、150分間)全身持続注入開始30分後に同様のインスリン低血糖を誘発した。正常対照犬では(n=5)、SRIF注入のみにて血糖、IRGは有意に低下した。引続くインスリン投与により、血糖値は 24 ± 3 mg/dlの底値を示し、その後、SRIFによるIRGの完全な抑制下でも、ほぼ前値に復した。膵除神経犬および迷走神経切断犬では(各n=5)、このIRGレベルは予期に反し、120分にわたって約 40 pg/mlの増加を示した(正常犬では約 -10 pg/ml)。内臓神経切断犬でも(n=5)、低血糖に対するIRG反応はSRIFにより完全には抑制されず、血糖回復は有意に低下した。以上の結果は、インスリン低血糖に対する迅速なIRG反応は、少なくともin vivoにおいて、血糖降下それ自体、あるいは循環Epレベルの増加により惹起されるものではなく、交感神経節前機構を介する神経性情報により促進されることを示す。従って、低血糖時にIRG分泌が促進する際において、またそのIRG反応がSRIFにて抑制される際のいずれにおいても、健全な膵神経支配の存在が不可欠であることが示唆された。

Key words insulin-induced hypoglycemia, pancreatic innervation, glucagon, catecholamines, somatostatin

生体にとって血糖レベルを一定に保つこと、とりわけ血糖降下時に熱源を適切に動員することは、生命維持あるいは中枢神経機能維持の観点より極めて重要な

ホメオスタシス機構である。臨床的には、糖尿病患者においてインスリン治療等に伴う低血糖や急激な血糖低下が出現した際に、これを修復する防禦機構が健全

Abbreviations: Ep, epinephrine; GC, glucose counterregulation; IDDM, insulin-dependent diabetes mellitus; IRG, immunoreactive glucagon; IRI, immunoreactive insulin; NEp, norepinephrine; SRIF, somatotropin-release inhibiting factor, somatostatin; 膵除神経, 膵血管周囲除神経。

であるか否かは、特に重要な問題である。

このような低血糖あるいは正常域内での血糖降下に対する防禦機構、いわゆる glucose counterregulation (GC) においては、内分泌性 (液性) および神経性調節機構が相互に影響を与えつつ作動する。近年、これらの調節機構の相対的重要性に関して、以下のように理解されつつある¹⁻⁴⁾。即ち、主要な役割を果たすのが内分泌性調節機構であり、そのうち膵グルカゴンが最も重要である。もし何らかの理由でグルカゴン反応が障害された場合、副腎髄質からのエピネフリン (epinephrine, Ep) 放出がこれを代償するとされている。これらグルカゴン、Ep はともに肝での糖原分解および糖新生を介しグルコース放出を促進する一方、Ep はインスリン分泌抑制や末梢直接作用を介し糖利用を抑制し、ともに血糖上昇へと導く。他方、低血糖時に動員されるコルチゾール、成長ホルモンは、少なくとも血糖低下からの急速な回復には重要な役割を果たさないとされている。

このように GC における最重要因子とされるグルカゴン分泌について、従来から血糖低下それ自体、インスリンによる修飾、交感・副交感神経機構、さらに交感神経-副腎髄質を介する血中 Ep、等が単独または相互に影響を与えることが知られている。ところが臨床重要な糖尿病患者のグルカゴン分泌についてのみをみても、主要な分泌支配因子について一致した見解がない。即ち、1973 年の Gerich ら⁵⁾の報告以来、インスリン依存型糖尿病 (insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM) 患者においてインスリン低血糖時の免疫反応性膵グルカゴン (immunoreactive glucagon, IRG) の分泌不全が存在することが注目され、その機序として、膵 A 細胞の血糖に対する反応性の異常が想定されている。ところが Unger⁶⁾は、膵島内インスリン・グルカゴン相互作用の観点から、インスリン欠乏とそれに伴う高血糖がこの IRG 反応低下の主要因であると提唱している。さらにまた、糖尿病性自律神経症を伴う IDDM 患者ではインスリン低血糖時に著しい IRG 分泌不全を認めることが多いことから^{7,8)}、膵 A 細胞に対する自律神経支配、あるいは交感神経-副腎髄質系の関与にも関心が寄せられている。かくのごとく、GC における IRG 分泌が、生体内において実際どのような機序で調節されているかは、非糖尿病状態も含め、現在なお充分に明らかにされていない。

そこで本研究では、低血糖時の IRG 分泌反応における膵自律神経機構の関与を知る目的で、以下のごとく膵神経支配を解剖学的に障害し検討した。即ち、膵近傍でその神経支配を障害した膵血管周囲除神経 (膵除

神経) 犬と、さらに自律神経機構中の交感、副交感神経系のいずれが相対的に重要であるかにつき、それぞれの節前線維である大内臓神経または迷走神経を切断した犬を作製し、それぞれにインスリン低血糖を誘発した。さらに、GC における IRG の役割をより明らかにするため、ソマトスタチン (somatostatin, somatostatin-release inhibiting factor, SRIF) 持続注入下にインスリン低血糖を誘発した。その結果、1) インスリン低血糖時の IRG 反応には、少なくとも *in vivo* では、血糖低下それ自体よりむしろ、低血糖により惹起される交感神経節前線維を介する神経性情報が重要であること、2) さらに低血糖時 IRG 反応を SRIF が抑制する際にも膵自律神経機構の存在が必要であること、を見出したので報告する。

対象および方法

体重 11~29 kg の雑種成犬を用い、1 夜 12~16 時間絶食後、ペントバルビタール麻酔下に、以下のいずれかの手術を行った。a) 正常対照群: 開腹術のみを施行した。b) 膵除神経群: 開腹後、膵の脾臓部については脾動脈の起始部およびその膵流入部と膵遠位端部、膵の十二指腸部については上膵十二指腸動脈起始部および下膵十二指腸動脈膵流入部で、それぞれ随伴する静脈周囲をも含め血管周囲神経組織を剝離・離断した。この際、脾動脈起始部以外の腹腔動脈周囲神経組織に損傷を与えぬよう細心の注意を払った。さらに、膵周囲結合組織を可及的に離断した。c) 内臓神経切断群: 両側背側切開により後腹膜下に左右の大内臓神経に到達し、横隔膜直下にて両側同神経を切断した。d) 迷走神経切断群: 開腹後、腹側および背側の迷走神経幹を横隔膜直下にて切断した。なお膵除神経術、内臓神経切断術および迷走神経切断術は、実験終了後、剖検にてその完全性を確認した。手術終了後約 45 分間の平衡期間を設け、以下の実験を開始した。

インスリン低血糖はブタ精製モノコンポーネント中性インスリン (Insulin Novo Actrapid® MC, Novo 社) を用い、生理食塩水にて 1 単位/ml に稀釈後、0.25 単位/kg の大腿静脈内投与を行い誘発した。SRIF 投与は、合成サイクリック・ソマトスタチン-14 (ペプチド研究所) を用い、SRIF 750 μ g または 1500 μ g を 0.5% ウシ血清アルブミン (SIGMA 社) を含む生理食塩水 30 ml に溶解後、大腿静脈内に 0.2 ml/分の速度で 150 分間定速持続注入し行った。そして SRIF 注入開始 30 分後に、上記のインスリン投与を行った。

採血は大腿動脈より行い、血漿グルコース濃度、免疫反応性インスリン (immunoreactive insulin, IRI)、IRG 濃度測定用血液 2 ml は、採取後直ちにアプロチ

ニン (Bayer 社) 1000 単位+エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (EDTA2Na, 和光純薬工業) 1.2 mg/1 ml・血液を含む水冷却試験管に移し, 冷却遠心, 分離後, 血漿を -20°C で保存した。また, 血中カテコラミン濃度測定用として血液 5 ml を EDTA2Na 1.5 mg/1 ml・血液を含む水冷却試験管に移し, 冷却遠心にて分離して得た血漿を, 1 規定過塩素酸 (和光純薬工業) 0.5 ml/1 ml・血漿にて除蛋白の後, -20°C で保存した。

血中 IRI 濃度はイヌ・インスリン標準品 (Lot No. H7574, Dr. L. Heding より提供, Novo 社) を用いる⁹⁾, 血中 IRG 濃度は抗体 30K (Dr. R. H. Unger より提供, Texas 大学) を用いる^{10,11)}, それぞれ既報のラジオイムノアッセイで測定した。また血中 Ep およびノルエピネフリン (norepinephrine, NEp) 濃度は, 高速液体クロマトグラフ・カテコラミン分析システム (島津製作所) を用いる trihydroxyindole 法により, 血漿グルコース濃度はグルコースオキシダーゼ法により測定した。

成績は平均値 \pm 標準誤差 (SEM) で表わし, 推計学的処理は, 成績 I.~III.においては paired または unpaired two sample t-test により, 成績 IV., V. においては一元配置分散分析の後, Tukey の多量比較法により行った。

成 績

I. 正常犬におけるインスリン低血糖時の大腿動脈

血糖値, IRG およびカテコラミン濃度の変動

正常犬にインスリン低血糖を誘発すると ($n=5$: 図 1), 大腿動脈血糖値は前値平均 94 ± 2 mg/dl より, 15 分以後有意に低下し, 30 分には 44 ± 5 の底値を示した。以後血糖は次第に回復し, 120 分には 96 ± 4 mg/dl と前値に復した。動脈血中 IRG 濃度は前値平均 106 ± 8 pg/ml より 15 分には既に 140 ± 14 へと有意に増加し, 45 分には 219 ± 20 の頂値に達し, その後 120 分にも 158 ± 15 と前値より有意の高値を示した。血中 Ep 濃度は前値平均 67 ± 13 pg/ml より 30 分には頂値 290 ± 89 へと上昇し, 45 分 284 ± 56 , 60 分 236 ± 57 と有意の高値を示した。血中 NEp 濃度も前値平均 171 ± 24 pg/ml より, 45 分 228 ± 17 , 60 分 274 ± 24 と同様に有意の高値を示した。

II. 膝除神経犬, 内臓神経切断犬および迷走神経切断犬におけるインスリン低血糖時の大腿動脈血

血糖値, IRG およびカテコラミン濃度の変動

1. 膝除神経犬におけるインスリン低血糖時の変動
膝除神経犬に同様のインスリン低血糖を誘発した ($n=5$: 図 2)。動脈血糖値は前値平均 100 ± 5 mg/dl より, 15 分以後有意に低下し, 30 分には 55 ± 7 の底

値を示した。その後血糖は次第に上昇し, 120 分にて 80 ± 11 まで回復した。血中 IRG 濃度は前値平均 98 ± 17 pg/ml より, 15 分にて 115 ± 18 と有意の増加を示し, 以後 120 分 146 ± 22 まで緩やかな上昇を続けた。血中 Ep 濃度は前値平均 122 ± 30 pg/ml より, 30 分 460 ± 147 , 45 分 528 ± 129 , 60 分 454 ± 98 と有意の高値を示した。血中 NEp 濃度は前値平均 235 ± 9 pg/ml より, 120 分 310 ± 41 へと有意ではないが, 増加傾向を示した。

これらの変動をインスリン投与前平均値からの増加度 Δ で示し, 正常対照群と比較した。 Δ 血糖はインスリン投与後 90 分ならびに 120 分で, 膝除神経術群において有意の低値を示した。 Δ IRG は, 正常対照群での迅速かつ十分な増加反応 (45 分にて 113 ± 19 pg/ml) に比し, 膝除神経犬でその増加は鈍く, 30 分から 60 分にかけて有意の低値を示した (45 分, 32 ± 7)。 Δ Ep は膝除神経犬で高値傾向を示したが, Δ NEp を含め, 両

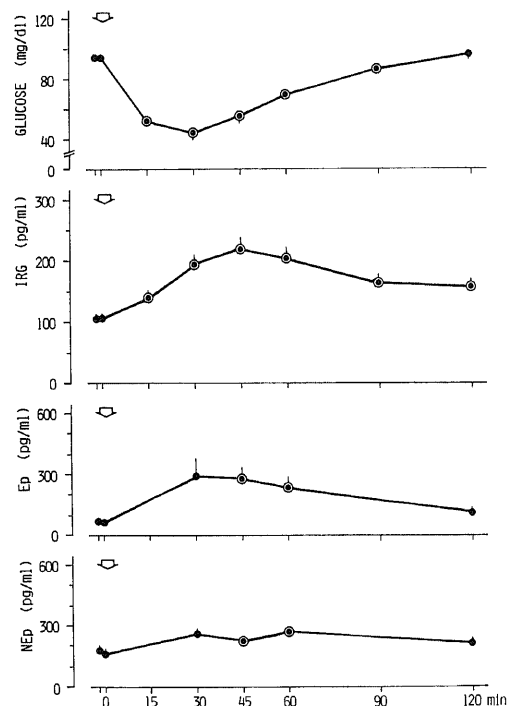


Fig. 1. Responses of arterial plasma glucose, glucagon (IRG), epinephrine (Ep) and norepinephrine (NEp) to insulin-induced hypoglycemia in normal dogs ($n=5$). Regular insulin (0.25 U/kg) was administered intravenously at 0 min shown as the arrows. Each point with vertical bar represents the mean \pm SEM. Circled points indicate significant differences from the mean basal values ($p < 0.05$ or less).

群間で有意差を認めなかった。

2. 内臓神経切断犬におけるインスリン低血糖時の変動

内臓神経切断犬に同様のインスリン投与を行うと (n=5:図3), 血糖値は前値平均 95±3 mg/dl より 15 分以後有意に低下し, 30 分に底値 42±7 を示し, 120 分で 86±5 まで回復した. 血中 IRG 濃度は前値平均 96±15 pg/ml より, 45 分 131±24, 120 分 131±19 と僅かの増加を示したにすぎず, いずれも前値に比し有意ではなかった. また血中 Ep 濃度は前値平均 18±5 pg/ml と正常対照群に比し低値を示し (p<0.05), インスリン投与後も前値からの有意の増加は認められなかった. 血中 NEp 濃度は前値平均 100±38 pg/ml より 30 分, 45 分で有意の増加を, さらにその後 120 分まで上昇傾向を示した.

これらの測定項目につきインスリン投与前平均値からの増加度 Δ を求め, 正常対照群と比較した. Δ 血糖は 45 分以後の血糖回復過程で正常犬に比し低値傾向であったが, 有意差を認めたのは 60 分においてのみであった. ΔIRG は前述の脾除神経犬同様, その増加は明らかに鈍く, やはり 30 分から 60 分にかけて有意の低値を示した (45 分にて 35±13 pg/ml). 一方 ΔEp は

無反応で, 45 分, 60 分で正常対照群に比し有意の低値であった. ΔNEp にも 60 分で有意の低値を認めた.

3. 迷走神経切断犬におけるインスリン低血糖時の変動

迷走神経切断犬においては (n=5:図4), 血糖値はインスリン投与前値平均 107±8 mg/dl より 15 分以後有意に低下し, 30 分に底値 55±3 を示し, 120 分で 95±6 まで回復した. 血中 IRG 濃度は前値平均 157±21 pg/ml より, 15 分で 215±23 と有意の上昇を示し, 45 分には 263±29, 以後 120 分まで 260 以上の高値が持続した. 血中 Ep 濃度は前値平均 53±8 pg/ml より 30 分には上昇, 45 分 198±35, 60 分 164±43 と有意の高値を示した. 血中 NEp 濃度も前値平均 133±11 pg/ml より, 30 分以後約 220~240 の有意の高値を維持した.

これら測定項目の増加度 Δ につき正常対照群と比較すると, Δ 血糖, ΔIRG, ΔEp, ΔNEp のいずれにおいても両群間で有意差を認めなかった.

III. SRIF 持続注入下でのインスリン低血糖時の大腿動脈血血糖値, IRG およびカテコラミン濃度の変動

1. 正常犬における SRIF 持続注入 (750 μg/150

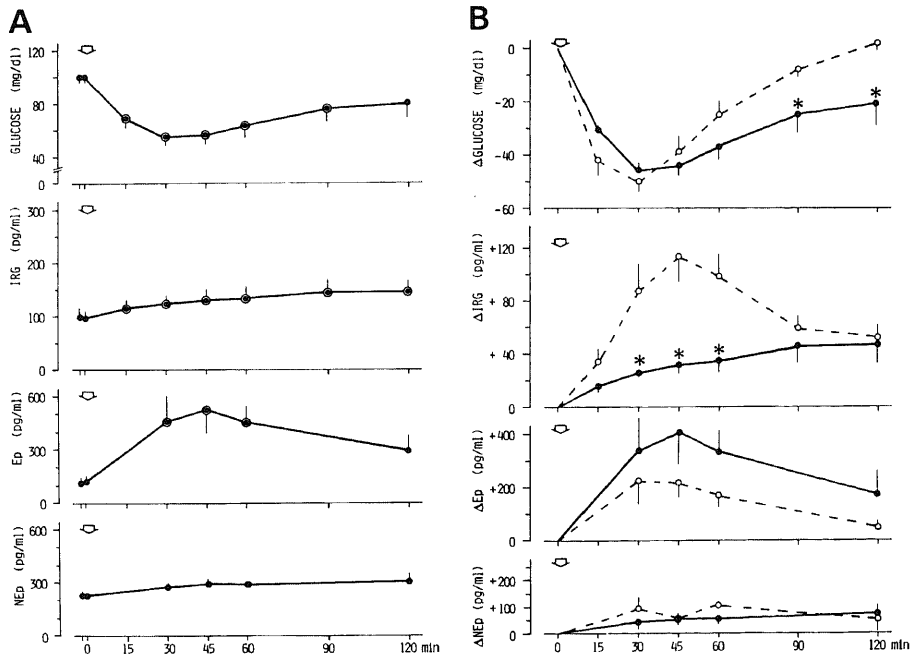


Fig. 2. A: Responses of arterial plasma glucose, IRG, Ep and NEp to insulin-induced hypoglycemia in pancreatic denervated dogs (●—●, n=5). B: Comparison of incremental changes of the parameters with those in normal dogs (○---○, n=5). Asterisks represent significant differences from the values in normal dogs (p<0.05 or less). As to other symbols, refer to Fig. 1.

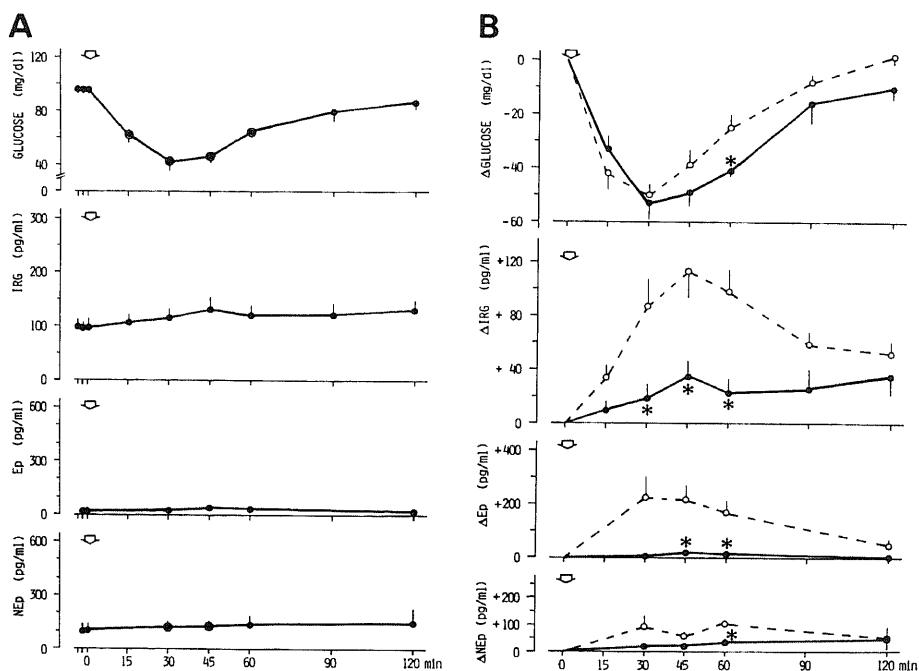


Fig. 3. A: Responses of arterial plasma glucose, IRG, Ep and NEp to insulin-induced hypoglycemia in splanchnicotomized dogs (●—●, n=5). B: Comparison of incremental changes of the parameters with those in normal dogs (○---○, n=5). As to symbols, refer to Fig. 1 and Fig. 2.

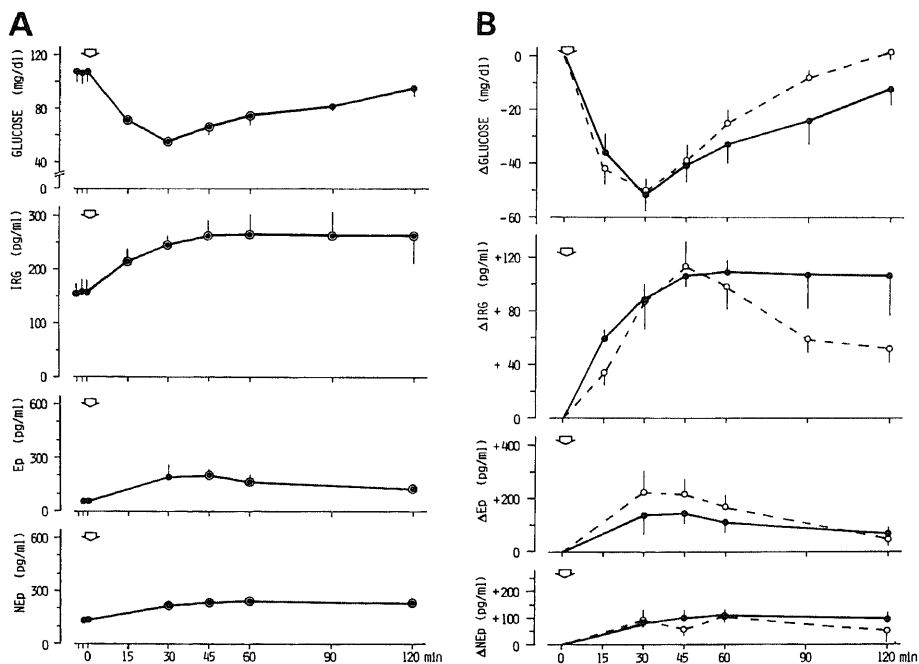


Fig. 4. A: Responses of arterial plasma glucose, IRG, Ep and NEp to insulin-induced hypoglycemia in vagotomized dogs (●—●, n=5). B: Comparison of those incremental changes of the parameters with those in normal dogs (○---○, n=5). As to symbols, refer to Fig. 1.

分) 下でのインスリン低血糖時の変動

正常犬に SRIF 750 μg を 150 分間にわたり持続注入し、その注入開始 30 分後に前述のインスリン投与を行った ($n=5$: 図 5)。血糖値は SRIF 注入前 88 ± 3 mg/dl よりインスリン投与直前値平均 76 ± 3 へと低下した。さらにインスリン投与後 30 分には底値 24 ± 3 mg/dl に達し、以後次第に上昇したが、120 分にも 68 ± 6 と有意ではないがインスリン投与直前値より低値傾向を示した。血中 IRG 濃度は SRIF 注入前値 134 ± 7 pg/ml より、インスリン投与直前には 62 ± 9 に低下、引き続き低血糖にても全く反応せず緩やかに低下、60 分および 90 分には共に 53 ± 9 を示し、インスリン投与直前値に比し有意の低値であった。血中 Ep 濃度はインスリン投与直前値平均 115 ± 20 pg/ml より、投与後 30~60 分にかけて $340 \sim 570$ の有意の上昇を示した。血中 NEp 濃度はインスリン投与直前値平均 159 ± 25 pg/ml より、45 分で頂値 282 ± 36 へと有意

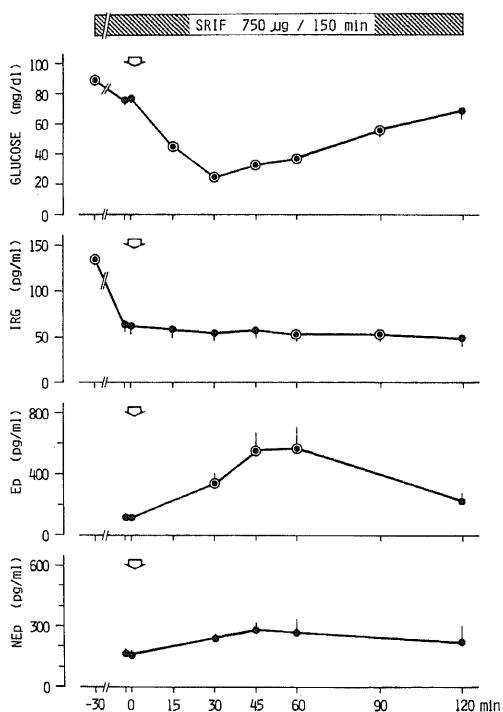


Fig. 5. Responses of arterial plasma glucose, IRG, Ep and NEp to insulin-induced hypoglycemia in normal dogs infused somatostatin (SRIF) ($n=5$). SRIF (750 μg for 150 min) was infused intravenously from -30 min to 120 min at the constant rate. Insulin was administered at 0 min shown as the arrows. Circled points indicate significant differences from the mean values just before the insulin administration ($p < 0.05$ or less).

ではないが増加傾向を示した。

2. 脾除神経犬における SRIF 持続注入 (750 μg または 1500 $\mu\text{g}/150$ 分) 下でのインスリン低血糖時の変動

脾除神経犬に正常犬同様、SRIF 750 μg を 150 分間にわたり持続注入しインスリン低血糖を誘発した ($n=5$: 図 6)。血糖値は SRIF 注入前値 92 ± 3 mg/dl よりインスリン投与直前値平均 73 ± 6 へと低下した。引続くインスリン投与 30 分後には底値 36 ± 5 mg/dl に達し、以後 120 分にも 62 ± 8 とインスリン投与直前値に比べ低値傾向であった。血中 IRG 濃度は SRIF 注入前値 105 ± 6 pg/ml よりインスリン投与直前平均 80 ± 7 へと有意に低下した。その後、IRG 濃度は低血糖とともに増加し、45 分 112 ± 14 、60 分 110 ± 12 、90 分 100 ± 11 とインスリン投与直前値より有意の増加を示した。血中 Ep 濃度はインスリン投与直前値平均 238 ± 37 pg/ml より、30 分から 60 分まで 640 以上の有意の上昇を示した。血中 NEp 濃度は投与直前値平均 300 ± 19 pg/ml より、有意ではないが増加傾向を示した。

これらの変動をインスリン投与直前平均値からの増加度 Δ として求め、SRIF 持続注入下での正常犬群のそれらと比較した。 Δ 血糖はインスリン投与後 30 分にて、正常犬のそれに比し有意の高値を示したが、その後の低血糖からの回復過程では有意差を認めなかった。一方、低血糖時の血中 IRG 反応は正常犬では SRIF により完全に抑制され続けたのに対し、脾除神経犬では明らかな増加反応を認めた。即ち、 Δ IRG は 30 分以後約 $+30$ pg/ml を示し、これは正常犬の Δ IRG が 30 分以後 $-8 \sim -13$ pg/ml であるのに比し、明らかに有意の高値を示した。しかもこの IRG 増加反応は 120 分まで持続した。 Δ Ep および Δ NEp は、正常犬群に比して有意差を認めなかった。

このように脾除神経犬において、SRIF 注入下のインスリン低血糖時の IRG 反応に正常犬とはきわだった差を認めたため、脾除神経犬に SRIF を前述の SRIF 量の 2 倍量 1500 μg の持続注入下にインスリン低血糖を誘発した ($n=5$)。その結果を、インスリン投与直前平均値からの増加度 Δ で表わし、正常犬のそれらと比較した (図 7)。前述の SRIF 750 μg 注入時同様、2 倍量の SRIF 注入下においても Δ IRG は 30 分以後 $+31 \sim +43$ pg/ml を示した。即ち脾除神経犬での IRG 反応はいずれの量の SRIF でも、正常犬のような完全抑制を受けることなく、明らかな上昇を示した。

3. 内臓神経切断犬における SRIF 持続注入 (750 $\mu\text{g}/150$ 分) 下でのインスリン低血糖時の変動

内臓神経切断犬に SRIF 750 $\mu\text{g}/150$ 分間持続注入

下で同様のインスリン投与を行った ($n=5$: 図 8), 血糖値は SRIF 注入前 100 ± 6 mg/dl よりインスリン投与直前値平均 82 ± 7 に低下した。そしてインスリン投与 30 分後には 30 ± 4 へと低下, その後 60 分に底値 25 ± 4 に至り, 120 分にも 51 ± 6 とインスリン投与直前値には復さず, いずれの時点においてもインスリン投与直前値より有意に低値であった。IRG 濃度は, SRIF 注入前 110 ± 15 pg/ml よりインスリン投与直前には 62 ± 8 に低下, 引続くインスリン投与後 45 分には 74 ± 16 を示し, 以後有意ではないが僅かに増加傾向を示した。Ep 濃度はインスリン投与直前値平均 30 ± 12 pg/ml より, 30 分以後僅かながら有意に増加し, 頂値は 45 分での 96 ± 12 であった。NEp 濃度は投与直前値平均 115 ± 33 pg/ml より, 増加傾向を示し, 45 分でのみ 170 ± 39 と有意の高値となった。

これらの測定項目につきインスリン投与直前平均値からの増加度 Δ を求め, 正常犬での成績と比較した。 Δ 血糖は内臓神経切断犬で明らかに小さく, 正常犬に比し 60 分以後有意の低値を示した。 Δ IRG は, 正常犬での完全抑制に比し, 90 分にて $+12 \pm 7$ pg/ml と有意の高値を示した。インスリン投与直前 Ep 濃度は正常犬のそれに比して有意の低値で ($p < 0.01$), インスリ

ン投与後にも 30 分から 60 分までの Δ Ep は正常犬のそれに比し有意の低値であった。一方, Δ NEp は両群間で有意差を認めなかった。

4. 迷走神経切断犬における SRIF 持続注入 ($750 \mu\text{g}/150$ 分) 下でのインスリン低血糖時の変動

迷走神経切断犬での SRIF 持続注入下インスリン低血糖では ($n=5$: 図 9), 血糖値は SRIF 注入前 104 ± 4 mg/dl よりインスリン投与直前値平均 88 ± 2 に低下, インスリン投与後 30 分には底値 33 ± 1 を示し, 120 分にも 65 ± 5 と投与前値には復さなかった。IRG 濃度は, SRIF 注入前 137 ± 11 pg/ml よりインスリン投与直前値平均 66 ± 10 に低下, その後の低血糖に伴い, インスリン投与後 30 分 90 ± 14 , 45 分 86 ± 13 と投与前値に比し有意の増加を示した。Ep 濃度はインスリン投与直前値平均 76 ± 9 pg/ml より, 30 分以後有意の増加を示した。NEp 濃度は投与直前値平均 115 ± 27 pg/ml より, 45 分に頂値 354 ± 145 へと増加傾向を示した。

これらの項目のインスリン投与直前平均値からの増加度 Δ を求め正常犬のそれらと比較すると, Δ 血糖は低値傾向を示すも正常犬のそれとの間に有意差を示さなかった。一方, Δ IRG は 30 分以降 $+20$ pg/ml 以上を

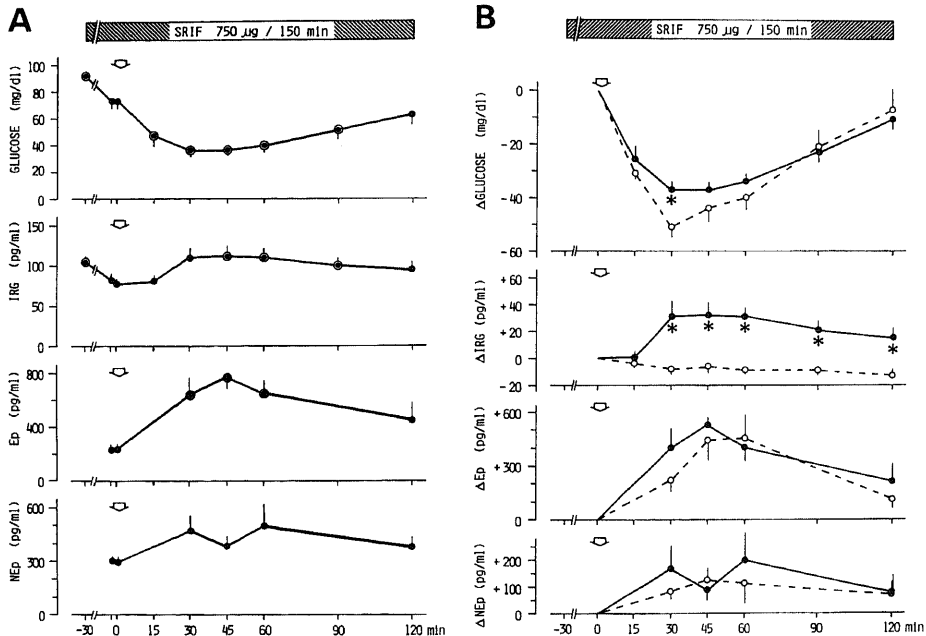


Fig. 6. A: Responses of arterial plasma glucose, IRG, Ep and NEp to insulin-induced hypoglycemia in pancreatic denervated dogs infused SRIF ($750 \mu\text{g}$ for 150 min) (\bullet — \bullet , $n=5$). B: Comparison of incremental changes of the parameters with those in normal dogs infused the SRIF (\circ --- \circ , $n=5$). Asterisks represent significant differences from the values in normal dogs infused SRIF ($p < 0.05$ or less). As to other symbols, refer to Fig. 5.

示し、正常犬のそれに比して(90分を除いて)有意の高値であった。 ΔEp および ΔNEp は、正常犬との間に有意差を示さなかった。

IV. インスリン低血糖時ないし SRIF 持続注入下インスリン低血糖時の正常犬, 膵除神経犬, 内臓神経切断犬および迷走神経切断犬における血糖回復度, IRG およびカテコラミン反応度の比較

1. インスリン低血糖時における各群間の比較

インスリン低血糖からの血糖回復度の指標として, インスリン投与後30分の血糖値(正常犬での底値)からそれ以後の血糖値の増加量 Δ の総和を求め, $\Sigma\Delta$ 血糖(30-120分)として設定した。また, インスリン低血糖時の IRG およびカテコラミン反応度の指標としてインスリン投与前値からの IRG, Ep および NEp 濃度の増加量 Δ の総和, 即ち $\Sigma\Delta IRG$, $\Sigma\Delta Ep$, $\Sigma\Delta NEp$ を算出, 設定した。これらの項目につき前述の4群間で比較・検討を行った(図10.A)。

その結果, $\Sigma\Delta$ 血糖(30-120分)は膵除神経犬で低値の傾向を示したが, 推計学的には4群間で有意差を

認めなかった。 $\Sigma\Delta IRG$ は膵除神経群, 内臓神経切断群でそれぞれ正常対照群, 迷走神経切断群に比して有意の低値を示した。このことは膵除神経犬と内臓神経切断犬における IRG 反応の明らかな低下を示す。なお, これら2群間では有意差を認めず, また正常対照群と迷走神経切断群の間でも有意差を認めなかった。一方, $\Sigma\Delta Ep$ は内臓神経切断群において他のいずれの3群に対しても有意の低値を示し, 内臓神経切断犬での Ep 反応の低下が示された。図には示さなかったが, $\Sigma\Delta NEp$ は各群間で有意差を示さなかった。

2. SRIF 持続注入(750 μg /150分)下インスリン低血糖時における各群間の比較

SRIF 持続注入下のインスリン低血糖時の前述の指標についても, 同様に4群間での比較を行った(図10.B)。 $\Sigma\Delta$ 血糖(30-120分)は内臓神経切断群で正常対照群に比して有意の低値であった。 $\Sigma\Delta IRG$ は膵除神経群および迷走神経切断群で, 正常対照群に比し有意に高値であり, これら2群でインスリン低血糖時 IRG 反応が SRIF により完全に抑制されないことが示された。内臓神経切断群では, 正常対照群に比し高値傾向を示したが有意ではなかった。一方, $\Sigma\Delta Ep$ は内臓神経切断群で低値であり, この群での Ep 反応の低下が示された。 $\Sigma\Delta NEp$ は各群間で有意差を示さなかった。

V. インスリン投与に伴う大腿動脈血中 IRI 濃度の推移

図11にインスリン単独投与ならびに SRIF 持続注入下インスリン投与時の大腿動脈血中 IRI 濃度の推移を, それぞれ正常対照群の成績を代表として示した。各採血時点での血中 IRI 濃度に関して, 正常対照群, 膵除神経群, 内臓神経切断群, 迷走神経切断群の間で一元配置分散分析による検討を行った。その結果, 各群間でインスリン投与後の各採血時点での IRI 濃度には有意差を認めなかった。また SRIF 持続注入下インスリン投与時には血中 IRI 濃度は, -30分(内臓神経切断群 IRI $13.2 \pm 1.2 \mu U/ml$ vs 迷走神経切断群 25.1 ± 1.1 , $p < 0.01$), 0分(膵除神経群 7.9 ± 1.3 vs 内臓神経切断群 3.2 ± 1.1 , $p < 0.05$), 120分(膵除神経群 8.3 ± 1.0 vs 迷走神経切断群 4.2 ± 1.2 , $p < 0.05$)で推計学的有意差を示した。しかし, 少なくとも各群間で IRG 反応に明らかな差を認めた15~90分の間では, 血中 IRI 濃度に各群間で有意差を認めなかった。

考 察

著者は今回の一連の実験において, ペントバルビタール麻酔犬を用い, 0.25単位/kgの速効性インスリン静脈内投与が30分に底値を示す充分な急性低血糖

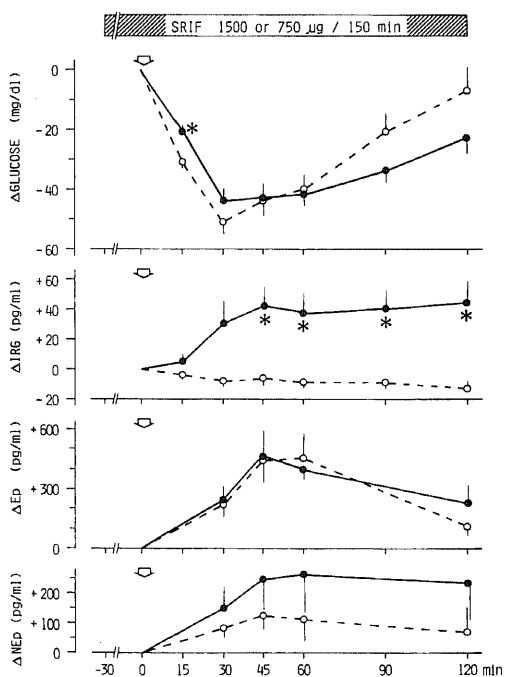


Fig. 7. Comparison of incremental changes of arterial plasma glucose, IRG, Ep and NEp to insulin-induced hypoglycemia in pancreatic denervated dogs infused SRIF (1500 μg for 150 min) (●—●, n=5) with those in normal dogs infused SRIF (750 μg for 150 min) (○---○, n=5). As to symbols, refer to Fig. 5. and Fig. 6.

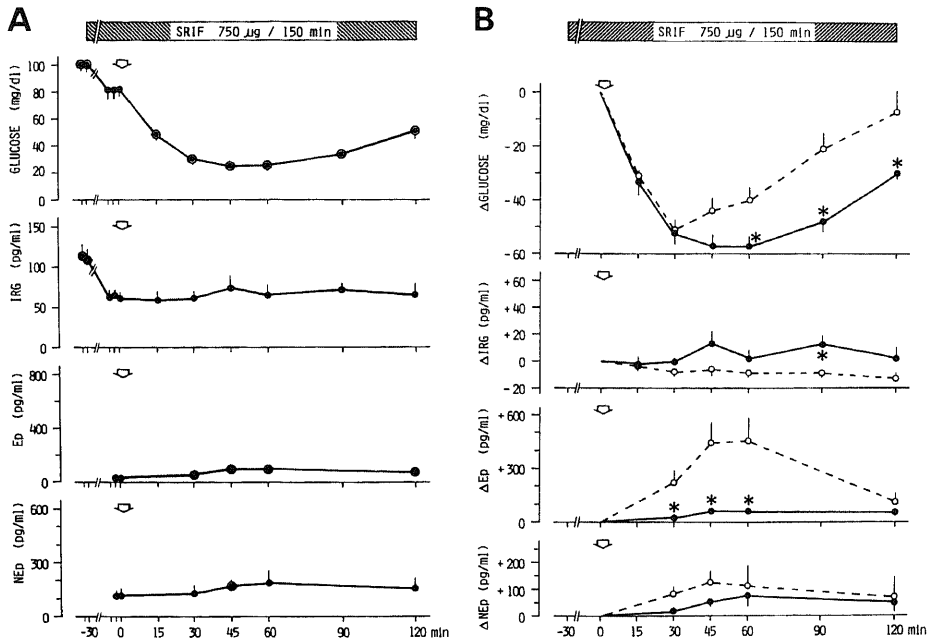


Fig. 8. A: Responses of arterial plasma glucose, IRG, Ep and NEp to insulin-induced hypoglycemia in splanchnicotomized dogs infused SRIF (750 µg for 150 min) (●—●, n=5). B: Comparison of incremental changes of the parameters with those in normal dogs infused the SRIF (○---○, n=5). As to other symbols, refer to Fig. 5. and Fig. 6.

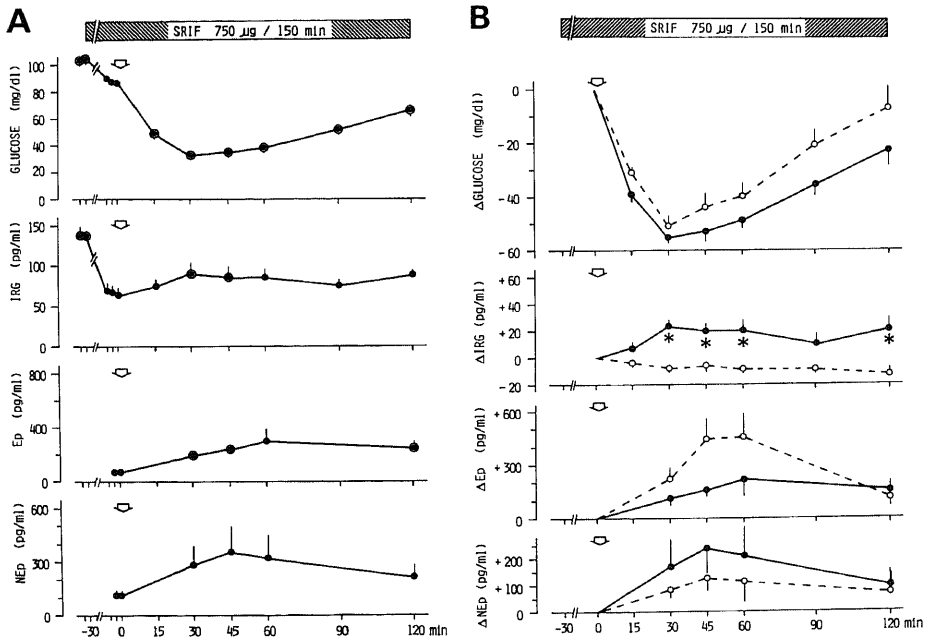


Fig. 9. A: Responses of arterial plasma glucose, IRG, Ep and NEp to insulin-induced hypoglycemia in vagotomized dogs infused SRIF (750 µg for 150 min) (●—●, n=5). B: Comparison of incremental changes of the parameters with those in normal dogs infused the SRIF (○---○, n=5). As to other symbols, refer to Fig. 5. and Fig. 6.

を惹起することを示した。さらに、この低血糖は正常対照犬において、迅速かつ十分な動脈血中 IRG および Ep 濃度の増加を誘発し、その後の動脈血血糖値は 120 分で前値に復することを観察した。一般に動物実験では、とりわけ神経系の関与を検討する際、麻酔法の選択が問題となる。バルビタール麻酔に関しては、広く種々の実験に使用されてはいるが、交感神経節前線維の発火頻度を低下させること¹²⁾、2-デオキシ-D-グル

コースによるカテコラミン反応を減少させること¹³⁾、さらに膝への迷走神経系情報を減弱させること¹⁴⁾が指摘されている。従って、本麻酔使用下に低血糖を惹起した際の交感、副交感神経系の活動状態は、無麻酔犬のそれに比して減弱している可能性は否定できない。しかし今回、正常犬で IRG およびカテコラミンの有意な増加反応を認め、さらにそれが一連の神経切断実験にて明らかな変化を示した事実は、少なくとも本麻酔

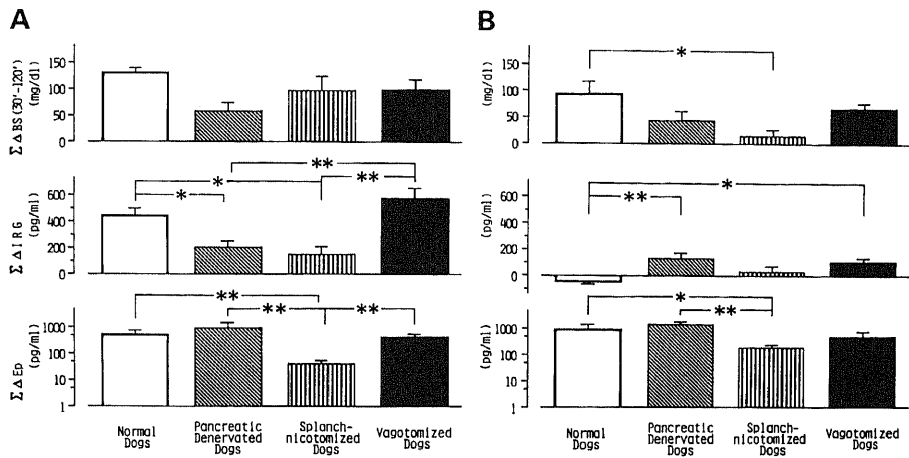


Fig. 10. A: Total incremental changes of arterial plasma glucose (from 30 to 120 min), IRG and Ep (from 0 to 120 min) concentrations in the insulin-induced hypoglycemia alone, and B: those under the infusion of SRIF (750 μ g for 150 min), in normal, pancreatic denervated, splanchnicotomized and vagotomized dogs. Each value represents the mean \pm SEM. *, p < 0.05; **, p < 0.01.

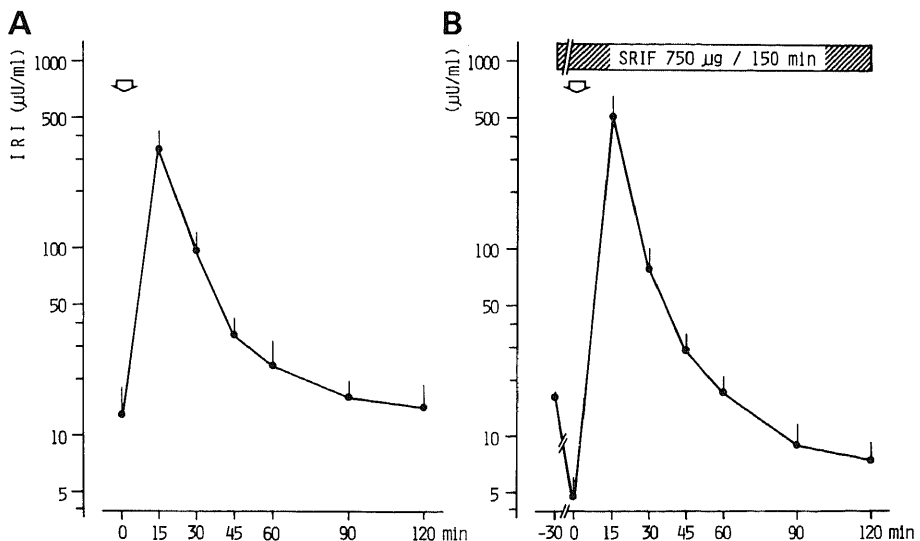


Fig. 11. A: Changes of arterial plasma insulin (IRI) concentration with the administration of insulin (0.25 U/kg) in normal dogs (n=5), and B: in normal dogs infused SRIF (750 μ g for 150 min) (n=5). Insulin administration shown as arrows. Each value represents the mean \pm SEM.

使用下においてもなお、低血糖時 IRG およびカテコラミン反応に対する自律神経系の関与を評価し得ることを意味する。

さらに、著者がインスリン低血糖時の膵グルカゴン分泌の指標として用いた全身動脈血中 IRG 濃度の変動には、膵および膵外 IRG 分泌が共に反映される可能性がある。しかしながらこの点について、膵外 IRG (特にイヌにおいては主に胃底部 A 細胞からの) 分泌は *in vivo* においてインスリン低血糖に反応しないこと¹⁵⁾や、膵摘出犬¹⁶⁾または摘出イヌ胃灌流実験¹⁷⁾において非常に少量のインスリンにより容易に抑制されることが知られている。また膵外 IRG 分泌は、迷走神経電気刺激¹⁸⁾や胃局所の交感神経末端からの NEp 放出刺激¹⁹⁾に反応しないことより、自律神経支配を殆ど受けないとされている。従って、本成績における比較的大量のインスリンを用いて誘発した低血糖の際の全身動脈血中 IRG 反応は膵 IRG 由来と考えられる。

次にインスリン低血糖時の IRG 反応につき、膵神経支配との関係を検討したところ、交感神経節後線維ならびに迷走神経節前線維を切断したことによる膵除神経犬では、正常対照犬と同等の低血糖が成立したにもかかわらず、その際の血中 IRG 反応は正常対照犬に比し明らかに小さく、かつ低血糖からの回復は遷延した。しかもこの IRG 反応は、同程度の低血糖を示した迷走神経切断犬 (迷走神経節前線維切断) では正常対照犬との間に有意差を示さず、内臓神経切断犬 (交感神経節前線維切断) において膵除神経犬と同様の低下を来した。これらの事実は、血糖低下シグナルに対する IRG 反応の観点から、従来の成績と著しく趣を異にする。なぜなら周知のごとく、膵を灌流するグルコース濃度の低下それ自体が *in vitro* においてもなお IRG 分泌を促進することが、単離膵島実験²⁰⁾や摘出膵灌流実験²¹⁾において知られているからである。従って今回の著者の *in vivo* におけるそれぞれ異なる膵神経支配犬で、血糖低下の程度がほぼ等しいにもかかわらず IRG 反応が著しく異なる成績を、膵 A 細胞に到達するグルコース濃度 (A 細胞のグルコース認識能) の観点より説明することは困難である。

膵島における 1 つのホルモンが相互に他の膵ホルモン分泌に与える“paracrine”作用の観点より前述の成績をみると以下のように考えられる。インスリンとグルカゴンの相互作用に関して、Samols ら²²⁾はイヌ膵灌流実験により、インスリンが IRG 分泌を抑制する insulin-glucagon negative feedback system の存在を見出した。近年に至りこの事実は、膵島内微小循環の検討 (ラット膵)²³⁾により、膵島内で動脈血は B 細胞層を通過した後 A 細胞層に到達することが明らか

になるに従い、改めて強調された。即ち、ラット膵灌流において動脈側に抗インスリン抗体を注入すると IRG 分泌が著しく亢進する²⁴⁾こと、さらにイヌ膵灌流において動脈側より順行性にグルコースを注入すると、IRG 分泌は抑制され、静脈側より逆行性にグルコースを注入すると IRG 分泌はむしろ増強される²⁵⁾ことが見出された。しかも膵島内 A 細胞周囲のインスリン濃度は著しく高いと考えられており、Samols ら²²⁾は 0.8 mU/kg/分のインスリンをイヌ膵動脈内に直接注入しているが、その際の膵動脈内 IRI 濃度は、今回著者がインスリン bolus 全身投与した際の動脈血 IRI 濃度にほぼ匹敵すると想定される。以上の観点から、まず外因性インスリン自体による IRG 分泌への影響に関してみると、今回の著者の成績では正常対照犬、膵除神経犬、内臓神経切断犬、迷走神経切断犬のいずれにおいてもインスリン投与後の動脈血 IRI 濃度に有意差を認めなかった。従って、IRG 反応の相違を膵 A 細胞に到達する外因性インスリン量の差で説明することは困難である。次に、外因性インスリンによる内因性インスリン分泌抑制²⁶⁾に差があるとするかどうか。もし膵神経支配状態の相違が、内因性インスリン分泌抑制に違いをもたらすものならば、IRG 分泌も当然影響を受けることになる。この点に関し、最近 Stagner ら²⁷⁾は極めて興味深い事実を示している。即ち、*in vitro* のイヌ膵灌流において高濃度のインスリン局所注入は内因性インスリンおよび IRG 分泌に影響を与えないが、血管系を全身循環より独立させ神経支配のみを残した *in situ* 膵では、より少量のインスリン全身投与により (全身血糖を一定にクランプした状態で) 明らかに内因性インスリン分泌を抑制し IRG 分泌を促進すること、さらにまた、*in situ* 膵を用いた際に両側交感神経幹切断を行うと外因性インスリンによる内因性インスリン分泌抑制は解除され、IRG 分泌促進も消失すること、である。この知見は、膵交感神経機構が障害されると内因性インスリン分泌抑制が少なくなり、その結果 IRG 分泌が小さくなる可能性を示唆し、今回の著者の膵除神経犬および内臓神経切断犬におけるインスリン低血糖時 IRG 分泌反応が低下する事実を一部説明するものとも考えられる。しかし一方で膵島内“paracrine”作用に関しては、少なくともインスリン低血糖時の IRG 反応に関する限り、低血糖に先行する内因性インスリン分泌状態は低血糖時 IRG 分泌に影響を及ぼさないとする報告²⁸⁾がある。いずれにせよ、著者の成績は低血糖刺激による IRG 分泌機序が *in vitro* と *in vivo* では明らかに異なる可能性を示唆する。

さて、内臓神経^{29)~33)}および迷走神経³⁴⁾遠位端の電気

刺激がいずれも IRG 分泌を促進することが知られており、インスリン低血糖により惹起された中枢神経系における glucopenia が、交感および副交感神経遠心性線維を介して低血糖時 IRG 分泌反応に影響を及ぼすことが想定される。こうした観点から著者の成績をみると、第 1 に迷走神経遠心性支配に関し、著者の迷走神経切断犬におけるインスリン低血糖時 IRG 反応は、正常犬のそれと有意差なく、むしろ後半には過剰反応傾向を示した。この事実、インスリン低血糖時、少なくとも麻酔犬においては、IRG 反応が迷走神経の強い支配を受けないことを示唆する。ところが Bloom ら³⁵⁾³⁶⁾は迷走神経幹切断術を受けた患者やアトロピン投与正常人ではインスリン低血糖時 IRG 反応が小さくなることを報告している。さらに彼ら³⁷⁾は仔牛を用いインスリン低血糖時 IRG 反応は、アトロピン投与のみでは遅延し、内臓神経切断では正常であること、そしてアトロピン投与と内臓神経切断を組み合わせると著減することを報告している。このように Bloom らは迷走神経と内臓神経の両者の存在がインスリン低血糖時の正常な IRG 反応に必要であるとしている。しかし Enshinck らのグループ³⁸⁾は迷走神経幹切断術後の患者およびアトロピン投与正常人でのこの IRG 反応は対照正常人とかわらないと述べ、むしろ著者の成績に合致する事実を述べている。第 2 に交感神経遠心性支配について、前述の Enshinck らのグループは、副腎全摘患者³⁹⁾、頸部脊髄切断患者⁴⁰⁾においてもインスリン低血糖時 IRG 反応は正常人と変わらない、またフェントラミン、プロプラノロール投与もこの IRG 反応に影響を与えない⁴¹⁾と述べ、インスリン低血糖時 IRG 反応には自律神経系の関与が少ないことを主張している。しかし今回、著者の成績はこれとは異なり、明らかに、インスリン低血糖時 IRG 反応が交感神経機構に依存していることを示唆している。なお、カテコラミンは(主に β_2 受容体機構を介して) IRG 分泌を促進することが知られているが^{42)~45)}、今回、脾除神経犬において血中 Ep レベルが正常犬より高値傾向を示したにもかかわらず、脾除神経犬の IRG 分泌が小さい事実を見出した。このことは、低血糖による交感神経系賦活の結果として放出される血中 Ep が、この IRG 反応には関与していないことを示していると考えられる。このように脾 A 細胞に対する自律神経支配の観点から、今回の成績と従来の知見を含め、インスリン低血糖時の IRG 反応を完全に説明することは困難であり、これには動物種差、麻酔の有無と麻酔法などの幾つかの因子が複雑に関与するものと考えられる。さらに、内臓神経電気刺激による IRG 分泌増加は α および β 受容体遮断剤で完全に阻止できないこと³²⁾、インスリン低血

糖時 IRG 反応がアトロピンのみでは阻止できない事実³⁷⁾は、IRG 分泌が non-adrenergic, non-cholinergic (多分 peptidergic) 調節を受ける可能性を示唆し、今後の検討が必要である。従って今回の著者の成績は、少なくとも、イヌにおける in vivo でのインスリン低血糖時のタイミングの良い充分な IRG 反応が、従来の薬理学的伝達物質による遠心性神経支配の観点とは別に、解剖学的神経経路の観点より、交感神経機構(主に節前線維)の存在に強く依存することを示唆するものである。

さて SRIF は in vivo^{46)~48)}および in vitro⁴⁹⁾で IRG 基礎分泌のみならず、低血糖を含めほとんど全ての刺激に対する IRG 分泌を抑制することが知られている。事実、今回の正常対照犬での成績にみるごとく、インスリン低血糖時の IRG 反応は SRIF により完全に抑制された。しかもこの SRIF 投与量については、一般にイヌにおいては SRIF の 50~350 ng/kg/分投与が IRI, IRG 分泌抑制の充分量とされているので⁵⁰⁾、今回用いた SRIF 量 (250~450 ng/kg/分) は IRG 分泌抑制には妥当な量と思われる。従って、前述量の SRIF が脾除神経犬および迷走神経切断犬でのインスリン低血糖時 IRG 反応を抑制し得ず、むしろ IRG の奇異的ともいえる上昇が出現した現象は興味深い知見である。この現象の機序に関しても、以下、IRG 分泌に与える前述の要因の関与につき述べてみたい。1) SRIF 注入下の低血糖レベルは、正常犬に比し脾除神経犬あるいは迷走神経切断犬でほぼ等しく、従って血糖値自体の関与は否定的である。2) さらに脾動脈を介して A 細胞に到達する外因性インスリン量については、SRIF 注入下の動脈血中 IRI 濃度が各群でほぼ等しいことから、その関与も否定的である。また低血糖と外因性インスリン投与によりもたらされる内因性 IRI 分泌抑制程度に迷走神経切断犬と正常犬との間に差があるか否かは不明であるが、前述のごとく(内臓神経切断犬と同様に)脾除神経犬では外因性インスリンによる内因性 IRI 分泌抑制が正常犬に比して小さい可能性があるとする、SRIF 注入下で脾除神経犬と迷走神経切断犬がともに明らかな IRG 反応を示した事実を、内因性インスリンレベルの違いにより説明することは困難である。また一方で、内因性インスリン分泌の欠乏する IDDM 患者においても SRIF は IRG 分泌を抑制し得ることが知られており⁵¹⁾、これらのイヌにおける内因性インスリンレベルが SRIF による IRG 分泌抑制に影響を与えた可能性は少ないと考えられる。3) 脾 A 細胞に到達する循環ホルモンとしてのカテコラミン量に関して、SRIF 注入下の正常犬、脾除神経犬、迷走神経切断犬の間で大動脈血 Ep, NEp

濃度に推計学的に有意差を認めなかった。一方、単離腓において glucopenia 時、腓内神経末端から NEp が放出され (イヌ)⁵²⁾、その際の IRG 分泌には α 受容体機構が関与する (ラット)⁵³⁾ ことが知られている。従って腓除神経犬では、低血糖時に中枢側で離断された神経末端から大量の NEp が放出され SRIF の IRG 分泌抑制に拮抗した可能性を完全に否定することはできない。しかしながら、SRIF は Ep 等による IRG 分泌を抑制し得る⁴⁴⁾⁵⁴⁾ ことから、このようなカテコラミンの関与については慎重に考える必要がある。4) SRIF 投与経路の観点から、Smith ら⁵⁰⁾ は SRIF の腓局所注入時と比較して、その腓到達量では腓内分泌抑制効果を示し得ないと考えられる量の SRIF 全身投与が、明らかな IRI, IRG 抑制効果を示す事実より、in vivo における SRIF の腓内分泌抑制機序には神経性反射を含め何らかの介在機構が存在する可能性を述べている。この点に関し教室の Nakabayashi らは、以下のごとく興味ある事実を示した。即ち、門脈内⁵⁵⁾あるいは腓動脈内⁵⁶⁾SRIF 注入時に迷走神経肝臓枝または迷走神経膵臓枝の求心性電気活動が増加することを報告している。従って、SRIF による迷走神経求心路を介する神経情報が、中枢または末梢神経系を介し反射性に腓内分泌に影響を与える可能性が想定される。さらにまた Nakabayashi ら⁵⁷⁾⁵⁸⁾並びに瀬田⁵⁹⁾は、SRIF が門脈領域の血流量・リンパ流量を減少させること、迷走神経切断によりこの効果が消失することをも見出している。このような観点から考えると、SRIF が腓血流量の減少効果を介して腓からの IRG 放出量の低下に一部関与するが、腓副交感神経系の障害によりこの腓血流低下効果が発現しなくなり、その結果として SRIF による直接的 IRG 分泌抑制のみしか招来されず、SRIF による IRG 分泌抑制度が小さくなる可能性も否定はできない。いずれにせよ SRIF によるインスリン低血糖時 IRG 分泌抑制には、in vivo での迷走神経系の関与が想定され興味深い。5) 次に内臓神経切断犬においても、SRIF 持続注入下の低血糖時 IRG 反応は、正常犬での完全抑制とは異なり、推計学的有意差の境界域で、僅かの増加傾向を示した。ところが、内臓神経電気刺激³²⁾または頸動脈洞圧受容体に対する減圧時⁶⁰⁾の IRG 分泌は、SRIF により抑制されない例外であることが知られている。従って、インスリン低血糖時 IRG 反応を SRIF が抑制する際にも、複雑な腓自律神経系の相互関係が想定され、今後さらに検討する必要がある。

最後に、インスリン低血糖からの血糖回復に関して若干の考察を述べる。前述のごとく低血糖からの血糖回復は、インスリン低血糖時における腓除神経犬での

血中 IRG 低反応、または内臓神経切断犬での血中 IRG, Ep の低値低反応の状況下においても、正常犬のそれとほぼ等しかった。さらに、SRIF 持続注入下のインスリン低血糖では、IRG および Ep の両者が低値低反応を示した内臓神経切断犬においてのみ、血糖回復の遅延および低下を認めた。これらの成績は GC における IRG, Ep の重要性を強調する従来の考えとやや異なるものである。この点に関し著者は、低 IRG 血症および低 Ep 血症下においても、肝からのグルコース放出の自己調節⁶¹⁾、あるいは肝における交感神経支配 (迷走神経中に存在する交感神経線維を含む)⁶²⁾が肝からのグルコース放出に関与した可能性を想定しているが、詳細は今後検討予定である。

以上の成績は、GC における自律神経機構と腓内分泌の相互関係に関して、低血糖時 IRG 分泌の神経性調節の重要性を、in vivo 実験によって示した点で興味深い。

結 論

インスリン低血糖時の IRG 分泌反応と、SRIF による抑制効果に関し、腓自律神経機構の関与を検討した。即ち、正常犬、腓除神経犬、内臓神経切断犬および迷走神経切断犬を用い、それぞれインスリン低血糖、ならびに SRIF 持続注入下のインスリン低血糖を誘発し、以下の成績を得た。

1. 正常犬ではインスリン 0.25 単位/kg 投与により、30 分に底値を有する低血糖が誘発された。これに引き続き血中 IRG 濃度は、45 分に頂値を有する迅速かつ十分な増加反応を示し、低血糖から完全に回復し、また血中 Ep, NEp も有意な増加反応を示した。

2. 腓除神経犬および内臓神経切断犬で、インスリン低血糖時の IRG 反応は有意に減少し、特に正常犬で認められた早期反応の障害が明らかであった。一方、血中 Ep は内臓神経切断犬で低値・低反応を示したが、腓除神経犬ではむしろ高反応傾向であった。従ってこれらのイヌにおける IRG 反応の低下は、循環ホルモンとしての Ep レベルを介するものではなく、腓自律神経機構そのものの障害によることが示唆された。IRG, Ep 反応がともに迷走神経切断犬と正常犬との間で差を示さなかった事実と併せ、低血糖時の IRG 分泌反応に、交感神経節前機構の介在が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

3. SRIF 750 μ g/150 分間の持続注入下にインスリン低血糖を誘発すると、正常犬では低血糖時 IRG 反応は完全に抑制された。しかしながら前述量およびその 2 倍量の SRIF 注入下においても、腓除神経犬でのインスリン低血糖による IRG 増加反応は抑制されな

かった。同様の現象は迷走神経切断犬においても認められ、SRIFがインスリン低血糖時のIRG反応を抑制する際、迷走神経機構を介する神経性調節が関与する可能性が想定された。

以上の成績は、GCにおけるIRG分泌反応が、生体内においては、血糖それ自体より膵自律神経系の強力な調節支配下にあることを示すと同時に、膵ホルモン相互作用の発現に関しても自律神経性調節が関与する可能性を示唆するものである。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました恩師竹田亮祐教授に深謝いたします。また、終始直接御指導いただきました中林肇講師ならびに白倉教臣金沢大学医療短期大学部教授に深く感謝し、併せて本研究の遂行に際して多大なる御協力を頂きました金沢大学医学部第2内科第2研究室Bグループの先生方、特に伊藤利之、高桑健、皆川冬樹の各先生に感謝いたします。

なお、本論文の要旨は、第6回膵ホルモン研究会（1985年東京）、第15回グルカゴン研究会（1986年仙台）、第29回日本糖尿病学会（1986年宇都）、第7回膵ホルモン研究会（1986年東京）、第16回グルカゴン研究会（1987年東京）、第30回日本糖尿病学会（1987年京都）、第60回日本内分泌学会総会（1987年京都）にて発表した。

文 献

- 1) Cryer, P. E.: Glucose Counterregulation in Man. *Diabetes*, **30**, 261-264 (1981).
- 2) Cryer, P. E. & Gerich, J. E.: Glucose counterregulation, hypoglycemia, and intensive insulin therapy in diabetes mellitus. *New Eng. J. Med.*, **313**, 232-241 (1985).
- 3) Gerich, J., Davis, J., Lorenzi, M., Rizza, R., Bohannon, N., Karam, J., Lewis, S., Kaplan, R., Schultz, T. & Cryer, P.: Hormonal mechanisms of recovery from insulin-induced hypoglycemia in man. *Am. J. Physiol.*, **236**, E380-E385 (1979).
- 4) Rizza, R. A., Cryer, P. E. & Gerich, J. E.: Role of glucagon, catecholamines, and growth hormone in human glucose counterregulation. Effects of somatostatin and combined α - and β -adrenergic blockade on plasma glucose recovery and glucose flux rates after insulin-induced hypoglycemia. *J. Clin. Invest.*, **64**, 62-71 (1979).
- 5) Gerich, J. E., Langlois, M., Noacco, C., Karam, J. H. & Forsham, P. H.: Lack of glucagon response to hypoglycemia in diabetes: evidence for an intrinsic pancreatic alpha cell defect. *Science*, **182**, 171-173 (1973).
- 6) Unger, R. H.: Insulin-glucagon relationships in the defense against hypoglycemia. *Diabetes*, **32**, 575-583 (1983).
- 7) Maher, T. D., Tanenberg, R. J., Greenberg, B. Z., Hoffman, J. E., Doe, R. P. & Goetz, F. C.: Lack of glucagon response to hypoglycemia in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes*, **26**, 196-200 (1977).
- 8) Hilsted, J., Madsbad, S., Krarup, T., Sestoft, L., Christensen, N. J., Tronier, B. & Galbo, H.: Hormonal, metabolic, and cardiovascular responses to hypoglycemia in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes*, **30**, 626-633 (1981).
- 9) Herbert, V., Lau, K.-S., Gottlieb, C. W. & Bleicher, S. J.: Coated charcoal immunoassay of insulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **25**, 1375-1384 (1965).
- 10) Faloona, G. R. & Unger, R. H.: Glucagon. In Jaffe, B. M. & Behman, H. R. (eds), *Methods of hormone radioimmunoassay*, p317-330, Academic Press, New York, 1974.
- 11) 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).
- 12) Skovsted, P., Price, M. L. & Price, H. L.: The effects of short-acting barbiturates on arterial pressure, preganglionic sympathetic activity and barostatic reflexes. *Anesthesiology*, **33**, 10-18 (1970).
- 13) Taborsky, G. J. Jr., Halter, J. B., Baum, D., Best, J. D. & Porte, D. Jr.: Pentobarbital anesthesia suppresses basal and 2-deoxy-D-glucose-stimulated plasma catecholamines. *Am. J. Physiol.*, **247**, R905-R910 (1984).
- 14) Taborsky, G. J. Jr., Paquette, T. L., Pfeifer, M. A. & Gingerich, R. L.: Pentobarbital suppresses basal and reflexive pancreatic polypeptide release in dogs. *Am. J. Physiol.*, **249**, E577-E583 (1985).
- 15) Muñoz-Barragan, L., Blazquez, E., Patton, G. S., Dobbs, R. E. & Unger, R. H.: Gastric A-cell function in normal dogs. *Am. J. Physiol.*, **231**, 1057-1068 (1976).
- 16) Blazquez, E., Muñoz-Barragan, L., Patton, G. S., Orci, L., Dobbs, R. E. & Unger, R. H.: Gastric A-cell function in insulin-deprived depancreatized dogs. *Endocrinology*, **99**, 1182-1188

(1976).

- 17) **Lefebvre, P. J. & Luyckx, A. S.** : Glucose and insulin in the regulation of glucagon release from the isolated perfused dog stomach. *Endocrinology*, **103**, 1579-1582 (1978).
- 18) **Lefebvre, P. J., Luyckx, A. S. & Brassinne, A. H.** : Vagal stimulation and its role in eliciting gastrin but not glucagon release from the isolated perfused dog stomach. *Gut*, **19**, 185-188 (1978).
- 19) **Lefebvre, P. J., Luyckx, A. S., Moerman, E. & Bogaert, M.** : Scorpion venom-induced release of noradrenalin does not modify glucagon-output from the isolated perfused dog stomach. *Horm. Metab. Res.*, **10**, 80-81 (1978).
- 20) **Vance, J. E., Buchanan, K. D., Challoner, D. R. & Williams, R. H.** : Effect of glucose concentration on insulin and glucagon release from isolated islets of Langerhans of the rat. *Diabetes*, **17**, 187-193 (1968).
- 21) **Iversen, J.** : Secretion of glucagon from the isolated, perfused canine pancreas. *J. Clin. Invest.*, **50**, 2123-2136 (1971).
- 22) **Samols, E., Tyler, J. M. & Marks, V.** : Glucagon-insulin interrelationships. *In* Lefebvre, P. J. & Unger, R. H. (eds.), *Glucagon, molecular physiology, clinical and therapeutic implications*, p151-174, Pergamon Press Inc., New York, 1972.
- 23) **Bonner-Weir, S. & Orci, L.** : New perspectives on the microvasculature of the islets of Langerhans in the rat. *Diabetes*, **31**, 883-889 (1982).
- 24) **Maruyama, H., Hisatomi, A., Orci, L., Grodsky, G. M. & Unger, R. H.** : Insulin within islets is a physiologic glucagon release inhibitor. *J. Clin. Invest.*, **74**, 2296-2299 (1984).
- 25) **Stagner, J. I. & Samols, E.** : Retrograde perfusion as a model for testing the relative effects of glucose versus insulin on the A cell. *J. Clin. Invest.*, **77**, 1034-1037 (1986).
- 26) **Liljenquist, J. E., Horwitz, D. L., Jennings, A. S., Chianasson, J.-L., Keller, U. & Rubenstein, A. H.** : Inhibition of insulin secretion by exogenous insulin in normal man as demonstrated by C-peptide assay. *Diabetes*, **27**, 563-570 (1978).
- 27) **Stagner, J., Samols, E., Polonsky, K. & Pugh, W.** : Lack of direct inhibition of insulin secretion by exogenous insulin in the canine pancreas. *J. Clin. Invest.*, **78**, 1193-1198 (1986).

- 28) **Bolli, G., De Feo, P., Perriello, G., De Cosmo, S., Compagnucci, P., Santeusano, F., Brunetti, P. & Unger, R. H.** : Mechanisms of glucagon secretion during insulin-induced hypoglycemia in man. Role of the beta cell and arterial hyperinsulinemia. *J. Clin. Invest.*, **73**, 917-922 (1984).
- 29) **Bloom, S. R., Edwards, A. V. & Vaughan, N. J. A.** : The role of the sympathetic innervation in the control of plasma glucagon concentration in the calf. *J. Physiol.*, **233**, 457-466 (1973).
- 30) **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.*, **253**, 157-173 (1975).
- 31) **Kaneto, A., Kajinuma, H. & Kosaka, K.** : Effect of splanchnic nerve stimulation on glucagon and insulin output in the dog. *Endocrinology*, **96**, 143-150 (1975).
- 32) **Bloom, S. R. & Edwards, A. V.** : Certain pharmacological characteristics of the release of pancreatic glucagon in response to stimulation of the splanchnic nerves. *J. Physiol.*, **280**, 25-35 (1978).
- 33) **Bloom, S. R. & Edwards, A. V.** : Pancreatic endocrine responses to stimulation of the peripheral ends of the splanchnic nerves in the conscious adrenalectomized calf. *J. Physiol.*, **308**, 39-48 (1980).
- 34) **Kaneto, A., Miki, E. & Kosaka, K.** : Effects of vagal stimulation on glucagon and insulin secretion. *Endocrinology*, **95**, 1005-1010 (1974).
- 35) **Russell, R. C. G., Thomson, J. P. S. & Bloom, S. R.** : The effect of truncal and selective vagotomy on the release of pancreatic glucagon, insulin and enteroglucagon. *Br. J. Surg.*, **61**, 821-824 (1974).
- 36) **Bloom, S. R., Vaughan, N. J. A. & Russell, R. C. G.** : Vagal control of glucagon release in man. *Lancet*, **II**, 546-549 (1974).
- 37) **Bloom, S. R., Edwards, A. V. & Vaughan, N. J. A.** : The role of the autonomic innervation in the control of glucagon release during hypoglycemia in the calf. *J. Physiol.* **236**, 611-623 (1974).
- 38) **Palmer, J. P., Werner, P. L., Hollander, P. & Ensink, J. W.** : Evaluation of the control of glucagon secretion by the parasympathetic nervous system in man. *Metabolism*, **28**, 549-552 (1979).
- 39) **Ensinck, J. W., Walter, R. M., Palmer, J. P., Brodows, R. G. & Campbell, R. G.** : Glucagon

- responses to hypoglycemia in adrenalectomized man. *Metabolism*, **25**, 227-232 (1976).
- 40) Palmer, J. P., Henry, D. P., Benson, J. W., Johnson, D. G. & Ensink, J. W.: Glucagon response to hypoglycemia in sympathectomized man. *J. Clin. Invest.* **57**, 522-525 (1976).
- 41) Walter, R. M., Dudl, R. J., Palmer, J. P. & Ensink, J. W.: The effect of adrenergic blockade on the glucagon responses to starvation and hypoglycemia in man. *J. Clin. Invest.*, **54**, 1214-1220 (1974).
- 42) Gerich, J. E., Karam, J. H. & Forsham, P. H.: Stimulation of glucagon secretion by epinephrine in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **37**, 479-481 (1973).
- 43) Iversen, J.: Adrenergic receptors and the secretion of glucagon and insulin from the isolated, perfused canine pancreas. *J. Clin. Invest.*, **52**, 2102-2116 (1973).
- 44) Gerich, J. E., Lorenzi, M., Tsalikian, E. & Karam, J. H.: Studies on the mechanism of epinephrine-induced hyperglycemia in man. *Diabetes*, **25**, 65-71 (1976).
- 45) Samols, E. & Weir, G. C.: Adrenergic modulation of pancreatic A, B, and D cells. α -Adrenergic suppression and β -adrenergic stimulation of somatostatin secretion, α -adrenergic stimulation of glucagon secretion in the perfused dog pancreas. *J. Clin. Invest.*, **63**, 230-238 (1979).
- 46) Koerker, D. J., Ruch, W., Chideckel, E., Palmer, J., Goodner, C. J., Ensink, J. & Gale, C. C.: Somatostatin: Hypothalamic inhibitor of the endocrine pancreas. *Science*, **184**, 482-484 (1974).
- 47) Mortimer, C. H., Tunbridge, W. M. G., Carr, D., Yeomans, L., Lind, T., Coy, D. H., Bloom, S. R., Kastin, A., Mallinson, C. N., Besser, G. M., Schally, A. V. & Hall, R.: Effects of growth-hormone release-inhibiting hormone on circulating glucagon, insulin, and growth hormone in normal, diabetic, acromegalic, and hypopituitary patients. *Lancet*, **I**, 697-701 (1974).
- 48) Chideckel, E. W., Palmer, J., Koerker, D. J., Ensink, J., Davidson, M. B. & Goodner, C. J.: Somatostatin blockade of acute and chronic stimuli of the endocrine pancreas and the consequences of this blockade on glucose homeostasis. *J. Clin. Invest.*, **55**, 754-762 (1975).
- 49) Gerich, J. E., Lovinger, R. & Grodsky, G. M.: Inhibition by somatostatin of glucagon and insulin release from the perfused rat pancreas in response to arginine, isoproterenol and theophylline: evidence for a preferential effect on glucagon secretion. *Endocrinology*, **96**, 749-754 (1975).
- 50) Smith, P. H., Chen, M., Woods, S. C., Ensink, J. W. & Porte, D. Jr.: Inhibition of insulin and glucagon secretion by somatostatin: are there indirect effects? *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **157**, 643-647 (1978).
- 51) Gerich, J. E., Lorenzi, M., Schneider, V., Karam, J. H., Rivier, J., Guillemin, R. & Forsham, P. H.: Effects of somatostatin on plasma glucose and glucagon levels in human diabetes mellitus. Pathophysiologic and therapeutic implications. *N. Eng. J. Med.*, **291**, 544-547 (1974).
- 52) Christensen, N. J. & Iversen, J.: Release of large amounts of noradrenaline from the isolated perfused canine pancreas during glucose deprivation. *Diabetologia*, **9**, 396-399 (1973).
- 53) Hisatomi, A., Maruyama, H., Orci, L., Vasko, M. & Unger, R. H.: Adrenergically mediated intrapancreatic control of the glucagon response to glucopenia in the isolated rat pancreas. *J. Clin. Invest.*, **75**, 420-426 (1985).
- 54) Weir, G. C., Knowlton, S. D. & Martin, D. B.: Somatostatin inhibition of epinephrine-induced glucagon secretion. *Endocrinology*, **95**, 1744-1746 (1974).
- 55) Nakabayashi, H., Nijima, A., Kurata, Y., Usukura, N. & Takeda, R.: Somatostatin-sensitive neural system in the liver. *Neurosci. Lett.*, **67**, 78-81 (1986).
- 56) Nakabayashi, H., Nijima, A., Kurata, Y., Jiang, Z.-Y., Usukura, N. & Takeda, R.: Pancreatic vagal nerve is receptive to somatostatin in rats. *Am. J. Physiol.*, **253**, R200-R203 (1987).
- 57) 中林 肇, 吉光康平, 岸谷正雄, 上田 操, 川東正範, 白倉教臣, 竹田亮祐: Somatostatinの膵内分泌に及ぼす影響—イヌ上臍動脈内注入法による検討—. *日内分泌会誌*, **52**, 218-226 (1976).
- 58) Nakabayashi, H., Sagara, H., Usukura, N., Yoshimitsu, K., Imamura, T., Seta, T., Yanase, E., Kawato, M., Hiraiwa, Y., Sakato, S. & Takeda, R.: Effect of somatostatin on the flow

rate and triglyceride levels of thoracic duct lymph in normal and vagotomized dogs. *Diabetes*, **30**, 440-445 (1981).

59) 瀬田 孝: ソマトスタチンの腹部内臓循環動態への影響—隣循環作動性の機序—. *十全医会誌*, **96**, 725-738 (1987).

60) Järhult, J., Ahrén, B., Ericsson, M. & Holst, J.: Failure of somatostatin to eliminate the glucagon release induced by baroreceptor unloading in the cat. *Acta Physiol. Scand.*, **103**, 478-480

(1978).

61) Bolli, G., De Feo, P., Perriello, G., De Cosmo, S., Ventura, M., Campbell, P., Brunetti, P. & Gerich, J. E.: Role of hepatic autoregulation in defense against hypoglycemia in humans. *J. Clin. Invest.*, **75**, 1623-1631 (1985).

62) Lutt, W. W.: Hepatic nerves: a review of their functions and effects. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **58**, 105-123 (1980).

Neural Regulation of Glucagon Response to Insulin-induced Hypoglycemia in Anesthetized Dogs Atsushi Nakagawa, Department of Internal Medicine (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., **97**, 218—235 (1988)

Key words: insulin-induced hypoglycemia, pancreatic innervation, glucagon, catecholamines, somatostatin

Abstract

To evaluate if glucagon response to insulin-induced hypoglycemia is dependent on glucopenic neural signals in addition to the effect of glucose decrease itself, insulin-induced (0.25 U/kg, i.v.) hypoglycemia was conducted in four differently innervated groups of dogs anesthetized with pentobarbital. In five normal dogs, arterial plasma glucose concentration decreased significantly from a mean basal average of 94 ± 2 mg/dl (mean \pm SEM) to a nadir of 44 ± 5 at 30 min after the insulin administration, returning to the basal level at 120 min. Arterial plasma glucagon (IRG) level rose significantly from 106 ± 8 pg/ml to a peak of 219 ± 20 at 45 min. Plasma epinephrine (Ep) level increased significantly from 67 ± 13 pg/ml to 284 ± 56 at 45 min. In five pancreatic denervated dogs obtained by severing the perivascular neural tissue from vascular portae of the pancreas, glucose level decreased as in normal dogs, but the recovery was significantly slow. Incremental IRG (Δ IRG) was only 32 ± 7 pg/ml at 45 min (113 ± 19 in normals) and incremental Ep (Δ Ep) was almost normal. In five dogs whose bilateral splanchnic nerves were sectioned at the subdiaphragmatic level, glucose level profiled normally. However, IRG and Ep responses were markedly diminished, Δ IRG 35 ± 13 pg/ml and Δ Ep 8 ± 3 pg/ml (217 ± 56 in normals). In five dogs whose bilateral vagal nerves were cut at the subdiaphragmatic level, response curves of glucose, IRG and Ep were normal. To determine if suppression of the IRG secretions by somatostatin (SRIF) affects the glucose counterregulations mentioned above, insulin-induced hypoglycemia was conducted at 30 min after the starting of systemic SRIF infusion (750 μ g or 1500 μ g for 150 min). In five normal dogs, glucose and IRG levels decreased significantly during the infusion of SRIF alone. A sufficient hypoglycemia (nadir, 24 ± 3 mg/dl) and recovery occurred even under complete suppression of IRG by the SRIF. In five pancreatic denervated and five vagotomized dogs, the IRG level, unexpectedly, increased by ~ 40 pg/ml (~ -10 in normals) for 120 min. In five splanchnicotomized dogs, IRG response to hypoglycemia was also nearly suppressed by the SRIF and glucose recovery was significantly retarded. These results indicate that prompt IRG response to insulin-induced hypoglycemia is, at least in vivo, not triggered by blood glucose decrease per se, or increase of circulating Ep level, but is facilitated

largely by neural signals through the sympathetic preganglionic innervation. It is thus suggested that an intact pancreatic innervation is essential for secreting IRG to hypoglycemia and suppressing it by SRIF.