

糖尿病患者におけるグルカゴン負荷時の血漿Cyclic AMP動態

| | |
|-------|--|
| 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: 宮腰, 久嗣 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/2297/8810 |

糖尿病患者におけるグルカゴン負荷時の 血漿 Cyclic AMP 動態

金沢大学第1内科 (主任: 服部 信教授)

宮 腰 久 嗣

(昭和54年12月18日受付)

糖尿病患者では、インスリンの作用不足とともに相対的あるいは絶対的高グルカゴン血症が認められる¹⁾ことはよく知られている。ところで、このような膵内分泌ホルモン異常がみられる糖尿病患者に、糖原分解、糖新生をひき起こすホルモンの一つであるグルカゴンを外因性に投与した場合、糖代謝の主要臓器である肝がいかなる反応を示すかは、糖尿病状態での肝の糖代謝調節機構を考えるうえで興味深い問題である。

一方、adenosine 3',5'-monophosphate (以下 cyclic AMP) は、種々のホルモンの各標的器官で second messenger の1つとして作用する^{2,3)}ことが知られているが、グルカゴンの作用もまた cyclic AMP を介して行なわれる⁴⁾。その際、adenylate cyclase system の活性化により細胞内に増加した cyclic AMP は、細胞外 cyclic AMP 濃度に反映される⁵⁾ことから、グルカゴンに対する肝の反応性を、血漿 cyclic AMP 動態から検討することが可能と思われる。そこで著者は、糖尿病患者に比較的少量のグルカゴン負荷を施行し、糖尿病状態下の肝におけるグルカゴンに対する反応性を、主としてグルカゴンの second messenger である cyclic AMP の血漿レベルにおける動態より検討を行ない、若干の興味ある成績を得たので報告する。

対象と方法

Table 1に示すごとく、金沢大学第1内科に入院または外来通院中の成人発症成人型糖尿病患者10例(以下D群)と、健常者9例(以下C群)を対象とした。D群は、未治療もしくは食事療法のみ施行中のものにより、経口血糖降下剤、インスリン療法中のものは除外し

た。また、明らかな肝、腎、膵疾患ならびに他の内分泌疾患を合併しているものは除外した。C群は、糖尿病家族歴なく、50gGTT血糖曲線正常型を示すものに限った。

全例に、早朝空腹時、肘静脈に静脈カテーテルを留置し、少なくとも30分間の安静臥床を守らせた後、生食水20mlに溶解したグルカゴン100 μ gを同部位より2分間で静注した。採血は、負荷前10分と負荷直前、負荷後2分、5分、10分、15分、30分、45分、60分の計9回行ない、負荷前値としては負荷前10分と負荷直前の値の平均値を用いた。それぞれの検体につき、血糖(以下BS)、血漿インスリン(以下IRI)、血漿cyclic AMPを測定し、また負荷前には血漿グルカゴン(以下IRG)も測定した。なお、血漿cyclic AMPの測定にはあらかじめEDTA-2Naを入れた試験管に採血し、十分に混合後ただちに氷冷し血漿を分離した。その後10%トリクロル酢酸を加え、3000rpm、15分間遠沈し、その上清を水飽和エーテル5mlで3回洗浄し、エーテル層を除去した後、測定時まで-20 $^{\circ}$ Cで保存した。測定は、三井東圧化学株式会社製キットを用いRIA法⁶⁾で行なった。またIRGはUngerの方法⁷⁾により、抗体30Kを用いRIA法で、IRIはダイナボットRI研究所製キットを用い2抗体法⁸⁾で、BSはglucose oxidase法⁹⁾で測定した。推計学的処理はstudent's t test, F検定を用いp値0.05以下を有意とした。

結 果

1) BS: 負荷前値は、D群123.2 \pm 9.1mg/dl(平均値 \pm 標準誤差、以下同様)、C群90.1 \pm 3.9mg/dlとD群で有意に(p<0.01)高値を示した。一方、グルカゴン負荷に対しては、Fig. 1aに示すごとく負荷後各

Effect of Glucagon on Plasma Cyclic AMP Levels in Adult-onset Diabetics. Hisatsugu Miyakoshi, The First Department of Internal Medicine (Director: Prof. N. Hattori), School of Medicine, Kanazawa University.

時間とも D 群で有意に高値を認めた。また, Fig. 1b に示すごとく負荷前値を 100 とし, 負荷後各時間における前値に対する上昇率 (以下%BS) をみると, 負荷後 5 分では D 群 112.6 ± 2.4 , C 群 120.2 ± 2.2 (p

< 0.05) と D 群で有意に低く, 負荷後 45 分では D 群 124.4 ± 2.3 , C 群 112.1 ± 3.8 ($p < 0.02$), 負荷後 60 分では D 群 116.9 ± 1.7 , C 群 101.1 ± 3.0 ($p < 0.001$) といずれも D 群で有意に高かった。また%

Table 1. Clinical characteristics on subjects

| Group D | | | | | | | Group C | | | | | | |
|---------|-----|-----|-------------|-------------|------|----|---------|-------|-----|-----|-------------|-------------|------|
| Group | Sex | Age | Height (cm) | Weight (kg) | Rt | Np | Nr | Group | Sex | Age | Height (cm) | Weight (kg) | |
| T. | F. | M | 42 | 167 | 62 | Ia | + + | H. | H. | M | 37 | 163 | 65 |
| T. | S. | M | 41 | 169 | 61 | - | - + | H. | M. | M | 27 | 175 | 63 |
| S. | M. | M | 49 | 165 | 89 | Ia | - + | K. | S. | F | 45 | 162 | 57 |
| T. | I. | F | 53 | 158 | 68 | - | - + | T. | Y. | M | 54 | 161 | 59 |
| N. | K. | F | 54 | 157 | 66 | II | - + | T. | O. | M | 52 | 155 | 47 |
| S. | S. | M | 39 | 158 | 55 | - | - - | H. | H. | F | 28 | 160 | 50 |
| M. | S. | M | 45 | 168 | 57 | - | - + | I. | Y. | M | 42 | 176 | 77 |
| K. | S. | M | 60 | 164 | 64 | - | - - | M. | I. | M | 24 | 165 | 62 |
| M. | T. | F | 61 | 145 | 45 | II | - - | K. | F. | M | 25 | 173 | 67 |
| E. | S. | M | 64 | 166 | 68 | - | - + | | | | | | |
| Mean | | | 50.8 | 161.7 | 63.5 | | | Mean | | | 37.1 | 165.6 | 60.8 |

M: male F:female
 Rt: retinopathy (Scott classification)
 Np: nephropathy
 Nr: neuropathy



Fig. 1a Effect of glucagon on BS

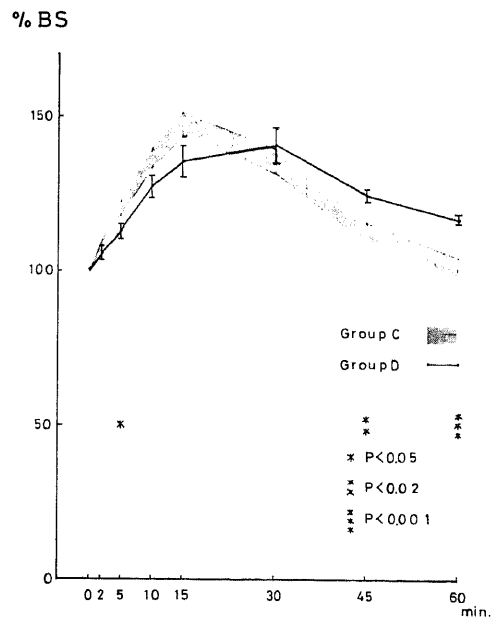


Fig. 1b Effect of glucagon on %BS

BSの頂値に達する時間も、D群では負荷後30分、C群では負荷後15分であり、D群で血糖の上昇が遅れ、かついったん上昇した血糖値の回復の遅れが認められた。一方、%BSの頂値はD群 140.6 ± 5.7 、C群 147.3 ± 3.9 で両群間に有意差は認められなかった。

2) IRI: 負荷前値は、D群 $11.2 \pm 2.3 \mu\text{U/ml}$ 、C群 $10.7 \pm 1.8 \mu\text{U/ml}$ で両群間に有意差は認められなかった。グルカゴン負荷に対してはFig. 2aに示すごとく、負荷後2分でD群 $30.6 \pm 7.9 \mu\text{U/ml}$ 、C群 $55.1 \pm 6.7 \mu\text{U/ml}$ ($p < 0.05$)と有意にD群で反応が低下しており、負荷後30分までは同様の傾向がみられた。一方、負荷前値を100とし、負荷後各時間における前値に対する上昇率(以下%IRI)をみると、Fig. 2bに示すごとく負荷後2分でD群 315.8 ± 68.4 、C群 743.3 ± 185.2 ($p < 0.05$)、5分でD群 253.7 ± 44.4 、C群 511.7 ± 109.8 ($p < 0.05$)、10分でD群 164.3 ± 31.3 、C群 296.4 ± 51.5 ($p < 0.05$)、15分でD群 135.5 ± 20.6 、C群 282.2 ± 46.0 ($p < 0.01$)といずれもD群で有意に反応が低下していた。

3) 血漿cyclic AMP: 負荷前値は、D群 $37.8 \pm 5.8 \text{pmol/ml}$ 、C群 $38.1 \pm 4.2 \text{pmol/ml}$ で両群間に有意差は認められなかった。グルカゴン負荷に対してはFig. 3aに示すごとく、負荷後2分でD群 $157.0 \pm 24.5 \text{pmol/ml}$ 、C群 $338.2 \pm 46.7 \text{pmol/ml}$ ($p < 0.01$)、5分でD群 $421.2 \pm 112.6 \text{pmol/ml}$ 、C群 $1015.1 \pm 194.4 \text{pmol/ml}$ ($p < 0.02$)とD群で有意に反応が低下し、その後も同様の傾向がみられた。一方、負荷前値を100とし、負荷後各時間における前値に対する上昇率(以下% cyclic AMP)をみると、Fig. 3bに示すごとく負荷後2分でD群 494.9 ± 73.3 、C

群 950.9 ± 146.5 ($p < 0.02$)、5分でD群 1144.3 ± 115.9 、C群 2630.2 ± 309.9 ($p < 0.001$)、10分でD群 1465.5 ± 208.0 、C群 2545.9 ± 292.9 ($p < 0.01$)、30分でD群 465.7 ± 50.7 、C群 720.4 ± 97.7 ($p < 0.05$)、45分でD群 271.0 ± 26.2 、C群 418.9 ± 57.0 ($p < 0.05$)といずれもD群で有意に反応が低下していた。また、D群では負荷後10分に% cyclic AMPが頂値に達するのに対し、C群では負荷後5分で頂値に達し、D群でcyclic AMPの反応が遅れる傾向がみられた。

次に、BS上昇に対する血漿cyclic AMP上昇の割合をみるため、BS、血漿cyclic AMPの負荷後各時間の値から負荷前値を差し引いた値をそれぞれ ΔBS 、 ΔcAMP とし、それらの各時間の総和を $\Sigma\Delta\text{BS}$ 、 $\Sigma\Delta\text{cAMP}$ とすると、 $\Sigma\Delta\text{cAMP}$ と $\Sigma\Delta\text{BS}$ の比は、Fig. 4に示すごとくD群 8.03 ± 1.63 、C群 26.17 ± 6.71 ($p < 0.02$)とD群で有意な低下を認めた。

4) IRG: 全対象例19例のうち14例(D群7例、C群7例)のみ測定したが、負荷前値はFig. 5に示すごとく、D群 $142.3 \pm 24.9 \text{pg/ml}$ 、C群 $121.4 \pm 22.3 \text{pg/ml}$ であり、D群で高値を示す傾向にあったが有意差はみられなかった。

5) 負荷前状態における血漿cyclic AMPとBS、IRI、IRGの関連について: 全測定例につき検討したが、負荷前状態においては、血漿cyclic AMPと他の各パラメーターの間には何ら相関関係を見出すことができなかった。

6) % cyclic AMPの頂値(以下peak % cyclic AMP)と空腹時BSの関連について: 全対象例につき検討したが、両者の間には何ら相関関係を見出せな

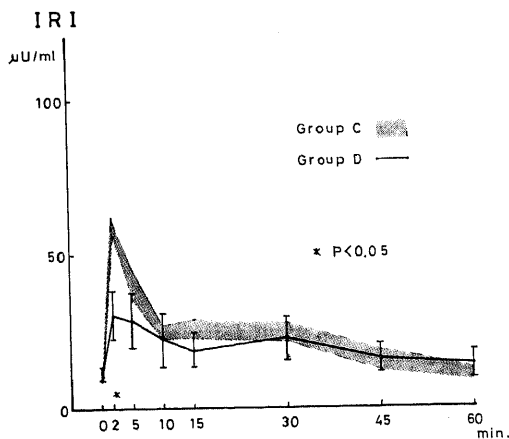


Fig. 2a Effect of glucagon on IRI

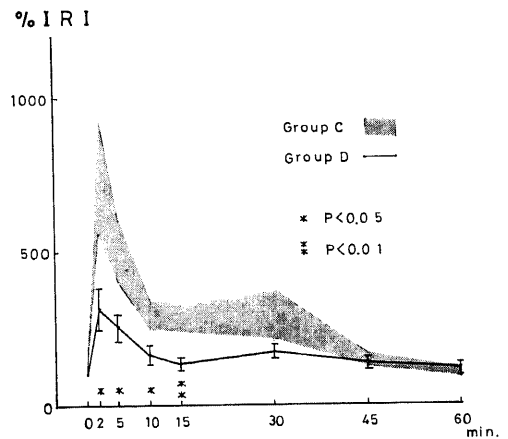


Fig. 2b Effect of glucagon on % IRI

かった。

7) peak % cyclic AMP と IRI の関連について: 全対象例につき検討したが, peak % cyclic

AMP と負荷前 IRI 値との間には何ら相関関係を見出せなかった. 一方, peak % cyclic AMP と IRI の頂値との間には Fig. 6a に示すごとく有意な正の相関関

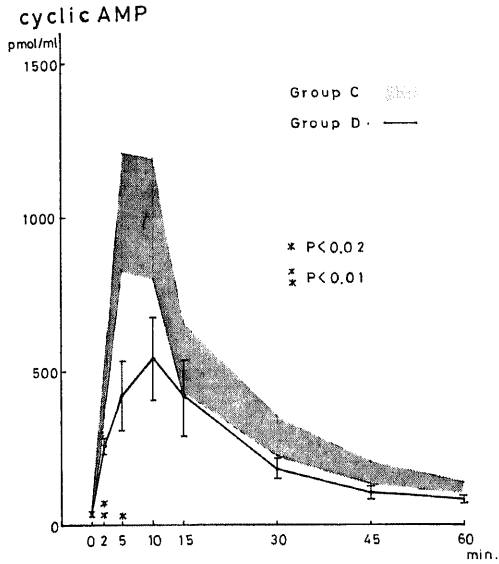


Fig. 3a Effect of glucagon on cyclic AMP

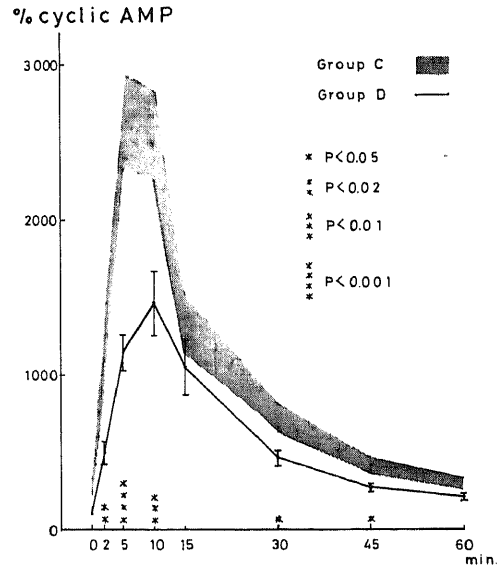


Fig. 3b Effect of glucagon on %cyclic AMP

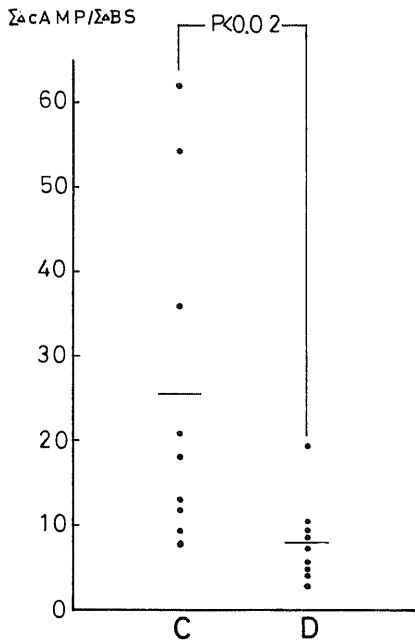


Fig. 4 $\Sigma \Delta cAMP / \Sigma \Delta BS$ ratio in C and D groups

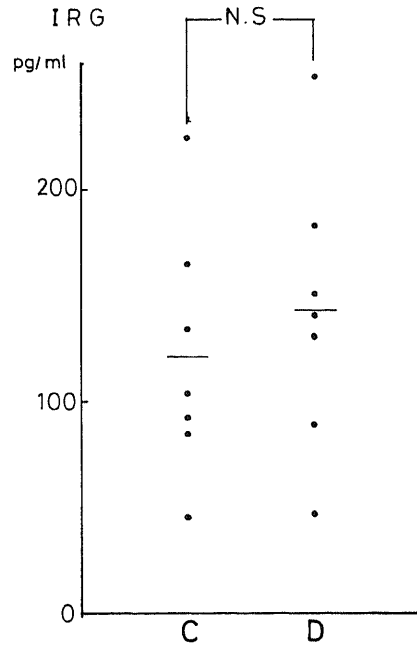


Fig. 5 Basal IRI levels in C and D groups

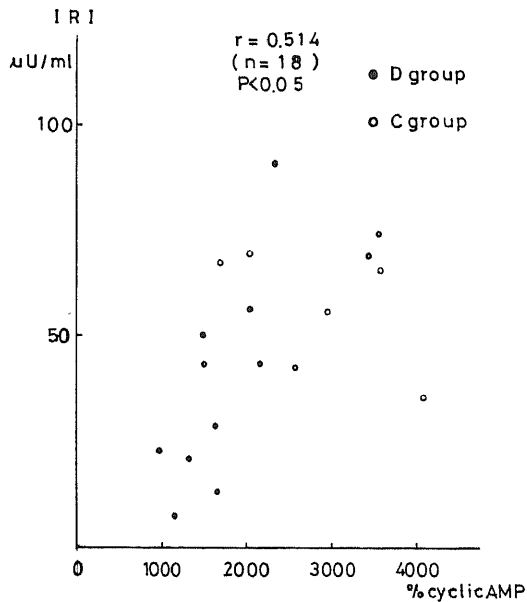


Fig. 6a Correlation between peak % cyclic AMP and peak IRI

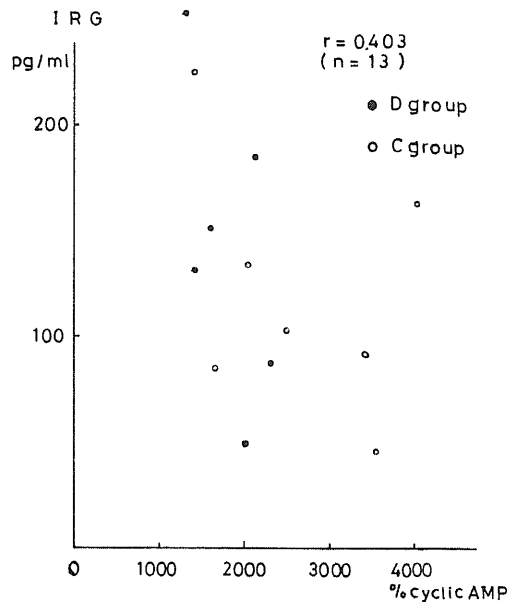


Fig. 6b Correlation between peak % cyclic AMP and basal IRG

係が得られた。

8) peak % cyclic AMP と IRG の関連について：測定可能であった 13 例につき検討したところ、Fig. 6b に示すごとく両者間には負の相関関係を示す傾向がみられたが有意差は認められなかった。

9) 負荷前 IRG 値の高低と血漿 cyclic AMP 反応について：

負荷前 IRG 値を測定した 14 例につき、IRG 100 pg/ml 未満の群 5 例 (以下 l 群)、100 pg/ml 以上 200 pg/ml 未満の群 7 例 (以下 m 群)、200 pg/ml 以上の群 2 例 (以下 n 群) の 3 群にわけ、グルカゴン負荷に対する % cyclic AMP を検討した。Fig. 7 に示すごとく、負荷後 10 分で l 群 2553.7 ± 396.9 、n 群 1235.4 ± 237.4 ($p < 0.05$)、負荷後 15 分で l 群 1724.4 ± 260.7 、n 群 729.5 ± 111.8 ($p < 0.02$) と n 群で有意に反応が低下していた。また、負荷後の他の時間においても n 群で反応が低下する傾向にあった。一方 m 群は負荷後 10 分と 15 分において、l 群と n 群の中間の値をとる傾向がみられたが、いずれの時間においても l 群、n 群との間に有意差はみられなかった。

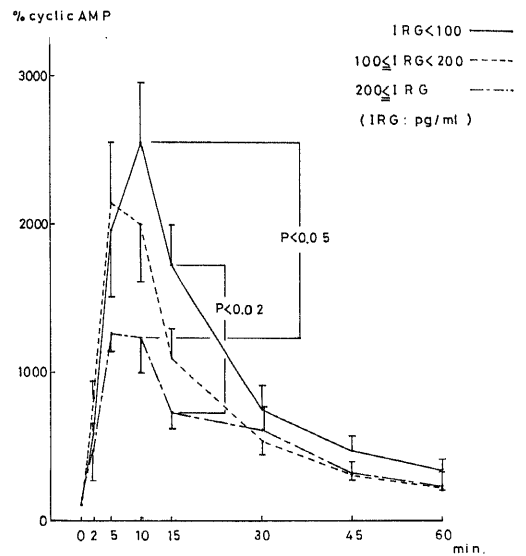


Fig. 7 Effect of glucagon on % cyclic AMP

考 察

今回の研究の結果、負荷前状態すなわち基礎状態では、糖尿病患者と健常者において血漿 cyclic AMP 値に有意差はみられないが、グルカゴン負荷に対しては、

糖尿病患者において血漿 cyclic AMP の反応が有意に低下を示すという点が明らかになった。基礎状態における糖尿病患者の血漿 cyclic AMP 値に関する報告では、糖尿病患者において健常者に比し高いとするもの¹⁰⁾、低いとするもの¹¹⁾、差はないとするもの¹²⁾など未だ一定の傾向はみられない。糖尿病患者で高いとするものは、グルカゴンが cyclic AMP 濃度を増加させるように働くのに対し、インスリンは標的器官組織中の cyclic AMP 濃度を減少させるように働く¹³⁾ことから、糖尿病でみられる低インスリン血症と高グルカゴン血症の関与を考えている。今回対象として選んだ D 群と C 群間では、基礎状態の IRI, IRG に有意差がみられなかったため血漿 cyclic AMP 値にも有意差がみられなかった可能性があるが、基礎状態における血漿 cyclic AMP と IRI, IRG の間に全く相関関係がみられなかったことは、この状態下では血漿 cyclic AMP 値が単に IRI と IRG のみによって規定されるものではない可能性を示していると思われる。一方、Goldberg ら¹⁴⁾は juvenile-onset diabetics ではコントロール群に比し血漿 cyclic AMP 値の低下がみられたが、血漿 guanosine 3',5'-monophosphate (以下 cyclic GMP) 値に差はみられなかったと報告している。彼らは、これらの cyclic nucleotides の変化を、cyclic AMP が細胞増殖抑制作用をもち、一方 cyclic GMP が細胞増殖促進作用をもつ¹⁴⁾ことから、血管平滑筋細胞の増殖促進を反映しているものと考え、糖尿病患者でみられる粥状硬化の重要な一因と考えた。しかし、彼らの報告と著者の報告では対象とした患者が違い、また著者は cyclic GMP を測定していないので、厳密な比較は困難であると思われる。以上のように、基礎状態では対象の選択により血漿 cyclic AMP 値は一定しないが、Wehmann ら¹⁵⁾の報告のごとく、各組織から漏出する cyclic AMP の総和が血漿 cyclic AMP 値に反映していると考えられるので、基礎状態での血漿 cyclic AMP 値は、実際は多くの因子の影響下にあり、それらの微妙なバランスの上に成り立っていると思われる。

一方、外因性にグルカゴンを投与した際に増加する血漿 cyclic AMP は Broadus ら¹⁶⁾が肝由来であることを報告しており、その点では諸家の意見の一致¹⁷⁾¹⁸⁾をみている。それ故、血漿 cyclic AMP の動態は肝でのグルカゴンに対する反応性をあらわしていると考えられ、糖代謝上きわめて興味深い点と思われる。今回著者はグルカゴン負荷を行なうにあたり、大量のグルカゴン負荷は副腎髄質よりカテコラミンの分泌を促し¹⁹⁾¹⁹⁾、血漿 cyclic AMP 反応に影響を与える²⁰⁾可能

性があること、さらに人にグルカゴン負荷を行なった際みられる血漿 cyclic AMP の増加反応が、グルカゴン用量依存性である²¹⁾ことより、グルカゴンとして 100 μ g を負荷量として選んだ。なお、被験者全員ともグルカゴン負荷による副作用は 1 例も認めず、グルカゴン負荷前後で血圧、脈拍に差は認めなかった。

さて、糖尿病患者にグルカゴン負荷を行ない血漿 cyclic AMP の反応をみたものでは、Liljenquist ら²²⁾の報告があるが、彼らの報告では糖尿病患者と健常者で血漿 cyclic AMP 反応に有意差はないが、今回の著者の成績とはむしろ逆に、糖尿病患者で高い傾向を示した。この結果の不一致は、彼らの対象患者がインスリン依存性糖尿病患者であるという点、さらにグルカゴン負荷方法の違いによる影響が強いと思われるが、残念なことに彼らの報告では IRI, IRG との関連が報告されてない。今回の著者の成績では、グルカゴン負荷時の血漿 cyclic AMP 反応が糖尿病患者で明らかに低下を示したが、cyclic AMP 反応性の指標として選んだ peak % cyclic AMP と負荷前 IRG 値の間には負の相関関係を示す傾向が認められ、またグルカゴン負荷に対する血漿 cyclic AMP 反応も、負荷前 IRG 値が 200pg/ml 以上の群では 100pg/ml 未満の群に比し有意に低下を示した。さらに、インスリンが cyclic AMP 濃度を低下させるとする観点から、グルカゴン負荷後の血漿 cyclic AMP 反応を規定していると考えた IRI の頂値と peak % cyclic AMP の間には有意な正の相関関係が得られた。

高グルカゴン濃度下における in vitro での cyclic AMP 反応に関しては、Plas ら²³⁾が培養胎児肝細胞を前もってグルカゴンにさらしておくこと、その後新たにグルカゴン刺激を与えても cyclic AMP 反応が低いことを示し、DeRubertis ら²⁴⁾もラット肝の灌流実験で同様の結果を報告している。また、Bhathena ら²⁵⁾はストレプトゾチン糖尿病ラット肝細胞を用い、高グルカゴン濃度下では肝細胞のグルカゴン受容体の数の減少と cyclic AMP の低反応性がみられることを報告し、Soman ら²⁶⁾は、それらが生理的な高グルカゴン濃度下でもみられることを報告した。一方、in vivo では HENDY ら²¹⁾が健常者にグルカゴン注入を行ない高グルカゴン血症を作製した後、再度グルカゴン負荷を行なっても血漿 cyclic AMP の反応が低下することを報告している。以上の点より考えると、今回の成績で負荷前 IRG 値が糖尿病患者で高い傾向にあったこと、負荷前 IRG 値と peak % cyclic AMP との間には負の相関関係を示す傾向がみられたこと、負荷前 IRG 値が高い群では低い群に比し有意に血漿 cyclic AMP 反応

が低下を示したことは、糖尿病患者の血漿 cyclic AMP 反応低下の原因の1つとして、高グルカゴン血症が肝 adenylate cyclase-cyclic AMP 系の感受性を低下させている可能性が考えられ、興味深い点と思われた。

次に、インスリンと血漿 cyclic AMP の反応に関しては、Siddle ら²⁶⁾がグルカゴンとインスリンを同時に健常者に注射したところ、グルカゴン単独注射時と比べても血漿 cyclic AMP 反応にかわりはなかったと報告しており、Israelsson ら²⁷⁾は健常者と“low insulin responders”とでは、グルカゴン負荷時の血漿 cyclic AMP 反応に差はないと報告している。さらに山下ら²⁸⁾は、糖尿病ラット肝ではグルカゴンに対する cyclic AMP 系の反応性の低下とともに、インスリンの拮抗作用にも有意の低下を認めたと報告している。しかるに今回の著者の成績で、IRI の頂値と peak % cyclic AMP との間に正の相関関係が得られた理由は不明である。全対象者につき IRI の頂値と peak % cyclic AMP の相関をみた結果によるとも考えられるが、ただ IRI の増加は少くとも糖尿病代謝状態の改善に向うと考えられるので、IRI の反応性良好なものはそれだけグルカゴンに対する cyclic AMP の反応性が保たれる、と考えることができるかもしれない。

グルカゴン負荷時の血糖と血漿 cyclic AMP の関係は、 $\Delta cAMP$ と ΔBS の比をみてもわかるように、糖尿病患者で血糖増加の割に血漿 cyclic AMP の増加が有意に低かった。一方、糖尿病患者と健常者では血糖の最高上昇率に有意差はみられなかった。ただし、グルカゴン負荷後の初期 IRI 反応は糖尿病患者で有意に低く、グルカゴン負荷後の血糖上昇を血漿 cyclic AMP の増加だけで説明するのは問題があると思われる。

次に、グルカゴン負荷後の時間的経過をみると、糖尿病患者は健常者に比し血漿 cyclic AMP 反応、血糖反応ともに遅れる傾向がみられた。この反応の遅れは、糖尿病患者の肝において、グルカゴンに対する感受性が低下している可能性を示していると考えられ、糖尿病状態下の肝でのグルカゴンに対する自己調節機構を考えるうえで、きわめて興味深い点と思われた。

結 論

糖尿病患者にグルカゴン負荷を行ない、主として血漿 cyclic AMP 動態より検討を行なったが、以下の5つの点が明らかになった。

1. 基礎状態では、糖尿病患者と健常者の間で血漿 cyclic AMP 値に有意差は認められなかった。

2. 糖尿病患者では健常者に比し、グルカゴン負荷に対する血漿 cyclic AMP 反応が明らかに低下を示した。

3. 負荷前 IRG 値は糖尿病患者で高い傾向にあり、また負荷前 IRG 値が 200pg/ml 以上の群では 100pg/ml 未満の群に比し、グルカゴン負荷に対する血漿 cyclic AMP 反応は低下を示した。

4. peak % cyclic AMP とグルカゴン負荷後の IRI の頂値の間には、有意な正の相関関係が得られた。

5. 以上より、糖尿病患者における血漿 cyclic AMP 反応低下の原因として、高グルカゴン血症、ならびにグルカゴン負荷に対するインスリン反応低下が、肝 adenylate cyclase-cyclic AMP 系の感受性を低下させている可能性が考えられた。

稿を終るにあたり、終始御懇切なる御指導と御校閲の労を賜った恩師服部信教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究に御協力を賜った金沢大学第1内科第1研究室の諸先生に感謝の意を表します。

なお、本論文の要旨は、第22回日本糖尿病学会総会(1979)において発表した。

文 献

- 1) Unger, R. H., Aguilar-Parada, E., Muller, W. A., Eisentraut, A. M. : Studies of pancreatic alpha cell function in normal and diabetic subjects. *J. Clin. Invest.* **49** : 837-848 (1970)
- 2) Sutherland, E. W., Robinson, G. W. : The role of cyclic 3',5'-AMP in response to catecholamines and other hormones. *Pharmacol. Rev.* **18** : 145-161 (1966)
- 3) Sutherland, E. W., Robinson, G. A., Butcher, R. W. : Some aspects of the biological role of adenosine 3',5'-monophosphate (cyclic AMP). *Circulation.* **37** : 279-306 (1968)
- 4) Exton, J. H., Robinson, G. A., Sutherland, E. W., Park, C. R. : Studies on the role of adenosine 3',5'-monophosphate in the hepatic actions of glucagon and catecholamines. *J. Biol. Chem.* **246** : 6166-6177 (1971)
- 5) Broadus, A. E., Hardman, J. G., Kaminsky, N. L., Ball, J. H., Sutherland, E. W., Liddle, G. W. : Extracellular cyclic nucleotides. *Ann. NY. Acad. Sci.* **185** : 50-66 (1971)
- 6) Steiner, A. L., Parker, C. W., Kipnis, D. M. :

- Radioimmunoassay for cyclic nucleotides. I. Preparation of antibodies and iodinated cyclic nucleotides. *J. Biol. Chem.* **247** : 1106-1113 (1972)
- 7) **Faloon, G. R., Unger, R. H.** : Glucagon. In *Methods of Hormone Radioimmunoassay*. Jaffe, B. M. and Behman, H. R. Academic Press, Eds. New York, pp. 317-330 (1974)
- 8) **Morgan, C. R., Lazarow, A.** : Immunoassay of insulin : Two antibody system. Plasma insulin levels of normal, subdiabetic and diabetic rats. *Diabetes.* **12** : 115-126 (1963)
- 9) **Saiser, A., Gerstenfeld, S.** : The photometric microdetermination of blood glucose with glucose oxidase. *J. Lab. Clin. Med.* **51** : 448-460 (1958)
- 10) **Lin, T.** : Plasma cyclic AMP in diabetes mellitus. *Clin. Res.* **23** : 592A (1975)
- 11) **Goldberg, M. L., Bohannon, N. V., Brooks, R. M., Tsalikian, E., Lorenzi, M., Forsham, P. H.** : Plasma cyclic nucleotide levels in juvenile-onset diabetes. *Diabetes.* **26** : 936-943 (1977)
- 12) **Liljenquist, J. E., Bomboy, J. D., Lewis, S. B., Sinclair-Smith, B. C., Felts, P. W., Lacy, W. W., Crofford, O. B., Liddle, G. W.** : Effect of glucagon on net splanchnic cyclic AMP production in normal and diabetic men. *J. Clin. Invest.* **53** : 198-204 (1974)
- 13) **Exton, J. H., Harper, S. C., Tucker, A. L., Ho, R. J.** : Effects of insulin on gluconeogenesis and cyclic AMP levels in perfused livers from diabetic rats. *Biochim. Biophys. Acta.* **329** : 23-40 (1973)
- 14) **Diamanstein, T., Olmer, A.** : The antagonistic action of cyclic AMP and cyclic GMP on proliferation of B and T lymphocytes. *Immunology.* **28** : 113-119 (1975)
- 15) **Wehmann, R. E., Blonde, L., Steiner, A. L.** : Sources of cyclic nucleotides in plasma. *J. Clin. Invest.* **53** : 173-179 (1974)
- 16) **Broadus, A. E., Kaminsky, N. I., Northcutt, R. C., Hardman, J. C., Sutherland, E. W., Liddle, G. W.** : Effect of glucagon on adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3':5'-monophosphate in human plasma and urine. *J. Clin. Invest.* **49** : 2237-2245 (1970)
- 17) **Jermus, G., Hardy, K. J., Eisman, J. A.** : The cyclic AMP response to glucagon. Comparison of tissue and plasma cyclic AMP levels in the rabbit. *Diabetes.* **26** : 81-88 (1977)
- 18) **Scian, L. F., Westermann, C. D., Verdesca, A. S., Hilton, J. G.** : Adrenocortical and medullary effects of glucagon. *Amer. J. Physiol.* **199** : 867-870 (1960)
- 19) **Lawrence, A. M.** : Glucagon provocative test for pheochromocytoma. *Ann. Int. Med.* **66** : 1091-1096 (1967)
- 20) **Ball, J. H., Kaminsky, N. I., Hardman, J. G., Broadus, A. E., Sutherland, E. W., Liddle, G. W.** : Effects of catecholamines and adrenergic-blocking agents on plasma and urinary cyclic nucleotides in man. *J. Clin. Invest.* **51** : 2124-2129 (1972)
- 21) **Hendy, G. N., Tomlinson, S., O'riordan, J. L. H.** : Impaired responsiveness to the effect of glucagon on plasma adenosine 3' : 5'-cyclic monophosphate in normal man. *Eur. J. Clin. Invest.* **7** : 155-160 (1977)
- 22) **Plas, C., Nunez, J.** : Glycogenolytic response to glucagon of cultured fetal hepatocytes. *J. Biol. Chem.* **250** : 5304-5311 (1975)
- 23) **DeRubertis, F. R., Craven, P.** : Reduced sensitivity of the hepatic adenylate cyclase-cyclic AMP system to glucagon during sustained hormonal stimulation. *J. Clin. Invest.* **57** : 435-443 (1976)
- 24) **Bhathena, S. J., Voyles, N. R., Smith, S., Recant, L.** : Decreased glucagon receptors in diabetic rat hepatocytes. *J. Clin. Invest.* **61** : 1488-1497 (1978)
- 25) **Soman, V., Felig, P.** : Regulation of the glucagon receptor by physiological hyperglucagonemia. *Nature.* **272** : 829-832 (1978)
- 26) **Siddle, K., Davies, C. J., Shetty, K. J., Elkeles, R. S.** : The effect of insulin on adenosine 3' : 5'-monophosphate and guanosine 3':5'-monophosphate concentrations in human plasma. *Clin. Sci. Mol. Med.* **50** : 487-491 (1976)
- 27) **Israelsson, B., Fex, G., Malmquist, J., Nordeu, G.** : Glucagon effects on plasma cyclic AMP and other reactants in normals and low insulin

responders. Acta. Med. Scand. 204 : 85-87
(1978)

28) 山下龜次郎, 山下園, 戸塚康男, 岡博, 安田浩子,

尾形悦郎 : ストレプトゾトシン糖尿病ラット肝
cyclic AMP系のホルモンに対する低反応性. 糖尿病
22 : 308 (1979)

Effect of Glucagon on Plasma Cyclic AMP Levels in Adult-onset Diabetics—Hisatsugu Miyakoshi, The First Department of Internal Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920, Japan. *J. J. Med. Soc.*, 89, 24–33 (1980).

Abstract To elucidate the effect of glucagon on plasma cyclic AMP levels in adult-onset diabetics, the response of cyclic AMP to exogenous glucagon and the interrelationships between cyclic AMP response and immunoreactive glucagon (IRG) or immunoreactive insulin (IRI) were investigated in ten adult-onset diabetic patients and nine normal controls.

In basal conditions, plasma cyclic AMP and IRI levels were not significantly different in diabetics and controls. Basal IRG level of diabetics was slightly higher, but not significantly different from that of the controls.

In diabetics, the response of cyclic AMP to the intravenous injection of glucagon (100 μ g) for two minutes was significantly lower in 2 and 5 minutes and in addition to this, the per cent rise to basal cyclic AMP levels after glucagon stimulation was significantly lower in 2, 5, 10, 30 and 45 minutes than in the controls. When all subjects were classified into three groups according to basal IRG levels (IRG < 100—1 group, 100 \leq IRG < 200—m group, 200 \leq IRG—n group), the response of cyclic AMP to exogenous glucagon was lower in 10 and 15 minutes in n group than in 1 group. Moreover, there was a positive correlation between peak per cent rise to basal cyclic AMP levels after glucagon stimulation (as a marker of cyclic AMP responsiveness to exogenous glucagon) and peak IRI levels.

It is concluded that in diabetics the response of cyclic AMP to exogenous glucagon is lower than in the controls. And these data suggest that the hyperglucagonemia and the low response of IRI to exogenous glucagon may reduce the sensitivity of the hepatic adenylate cyclase — cyclic AMP system and contribute to the lower cyclic AMP response of diabetics.