

膵全切除犬に対するグルカゴン投与の 血糖値に及ぼす影響について (第1編)

京都大学医学部外科学教室第1講座 (指導: 本庄一夫教授)

西 村 一 郎

〔原稿受付: 昭和51年6月21日〕

Effect of Glucagon Administration on Blood Glucose Level in Totally Depancreatized Dogs

ICHIRO NISHIMURA

The 1st Surgical Department, Kyoto University Medical School

(Director : Prof. Dr. Ichio Honjo)

Two pancreatic hormones, insulin and glucagon have been well known to play a important role in glucose metabolism. Although insulin has been investigated for the most part, effect of glucagon on the blood glucose level in totally depancreatized animals has not been investigated sufficiently.

Our research has been done to study the effect of glucagon on blood glucose level in totally depancreatized animals.

Mongrel dogs which survived over 2 weeks after the operation, were injected subcutaneously a dose of $40\mu\text{g}/\text{kg}$ glucagon. Blood samples were taken for the purpose of measuring blood glucose, serum insulin and glucagon levels.

The results are as follows ;

- 1) The increasing rate of blood glucose at 90 minutes after glucagon administration ($40\mu\text{g}/\text{kg}$ subcutaneously) are classified into three groups according to the fasting blood glucose levels.
 1. (Fasting blood glucose level under 100 mg/dl)
Increasing rate at 90 minutes 5.13 ± 0.48 times ($M \pm S.E.M.$)
 2. (Fasting blood glucose level during 100~400 mg/dl)
Increasing rate at 90 minutes 1.62 ± 0.40 times ($M \pm S.E.M.$)
 3. (Fasting blood glucose level over 400 mg/dl)
Increasing rate at 90 minutes 0.90 ± 0.07 times ($M \pm S.E.M.$)
- 2) A close relationship between the increasing rate of blood glucose level after the injection of glucagon and glucose assimilation index after the insulin administration

Key words : Increasing rate of blood glucose, Assimilation index.

Present address : The 1st Surgical Department, Kyoto University Medical School, Sakyo-Ku, Kyoto, Japan. 〒 606

was demonstrated.

The higher the level of glucose assimilation index was, the higher the increasing rate of blood glucose level was observed.

1. 緒 言

膵由来の主なホルモンとして、インスリンとグルカゴンがある。インスリンについては、その生理作用、構造及び合成等¹⁾²⁾種々の研究がなされ、臨床面に於ても糖尿病治療³⁾に用いられている。膵全切除後、続発する糖尿病⁴⁾に対してもインスリン療法が行われてきている反面、膵全切除後の病態生理に及ぼすグルカゴンの作用については、いまだ不明な点が多い。最初、グルカゴンは、インスリンに不純物として含まれる血糖上昇作用を有する物質として Murlin⁵⁾⁶⁾ らによって命名されたもので、以来、それが膵由来の血糖上昇作用を有するポリペプチドであることが Bromer⁷⁾ らによって明らかにされ、1948年に至り、Sutherland らにより、腸管グルカゴンが発見され、その後の研究が続けられている。膵グルカゴンの主な生理作用は、肝解糖⁸⁾及び糖新生による血糖上昇作用で、他に脂肪分解作用⁹⁾や、インスリン分泌促進作用¹⁰⁾¹¹⁾等、多様な作用が知られているが、本論文は、膵全切除犬に膵グルカゴンを投与し、その及ぼす影響を、実験的に検討しながら、膵グルカゴンの血糖上昇作用について解析を加えたものである。

2. 実験方法

1) 膵全切除犬の作成

体重8~15kgの雑種成犬を用いて24時間絶食後、体重1kg当りネンブタール25mg静注麻酔下で膵全切除を行った。犬における膵全切除術は、膵十二指腸動静脈の膵分岐および膵管を結紮切離することにより容易にできた。術後は、ミルク、パン及びドッグ・フードで飼育し、経口摂取が可能になり次第、通常術後2~3日目より、毎朝、ノボ社のレンテインスリン0.5~1.0単位/kgを皮下に投与した。

2) グルカゴンの投与と検査事項

術後2週間以上生存した膵全切除犬に前日朝食後、ノボ・レンテインスリン投与後、24時間絶食した。検査当日、ネンブタール麻酔下に体重1kg当り40 μ gのノボ社のグルカゴンを皮下投与し、投与前および投与後経時的に末梢静脈より採血、(5分、10分、

20分、30分、40分、50分、60分、90分、120分)、血糖、インスリンおよびグルカゴンを測定した。

3) 血糖、インスリンおよびグルカゴンの測定方法
血糖の測定は0-トリイディン法にて行い、インスリンの測定はミドリ十字社によるチャコール・デキストラン法にて測定し、又、グルカゴンの測定はヘキスト社によるI¹²⁵グルカゴンをを用い、30K抗体を用いたチャコール・デキストラン法にて測定した。又、グルカゴン値が高値を予測される検体は、Phosphate Bufferで稀釈し、測定操作中、適切な量の犬血清を加えて、検体中の血清濃度を補正して測定を行った。

3. 実験結果

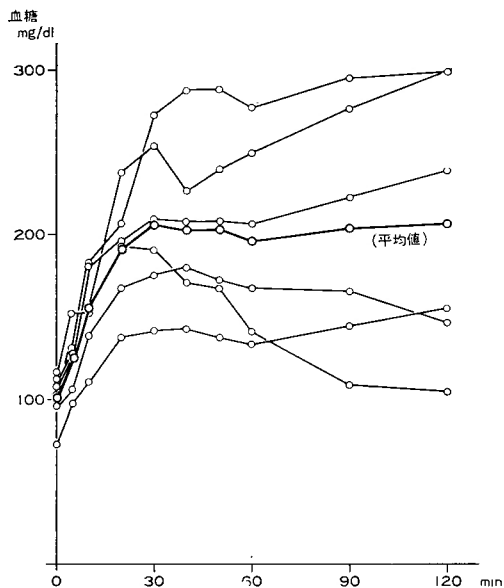
1) 早朝空腹時血糖値

正常犬の空腹時血糖は102.9 $\pm$ 13.0mg/dl (M $\pm$ S.E.M.)で、ほぼ一定である。一方、膵全切除犬の空腹時血糖は、小西¹²⁾らが報告した如く、個体差が大きく、又、同一犬においても、食餌摂取量および投与インスリン量等により、日々の変動が大きかったが一般に、高血糖に推移し、平均値261.8 $\pm$ 137.8mg/dl (M $\pm$ S.E.M.)であった。

2) グルカゴン投与後の変動

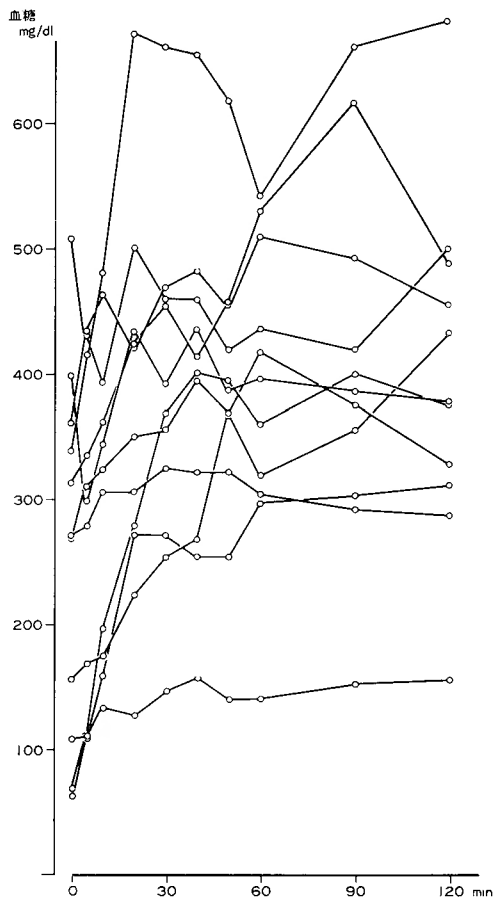
□血糖値

正常犬におけるグルカゴン40 μ g/kg皮下投与後の血糖値は第1図に示す如く、30~40分にピークを示し、以後120分まで、ほぼ同値を持続した。膵全切除犬におけるグルカゴン40 μ g/kg皮下投与後の血糖値は第2図に示す如くで、急上昇を示すものや、投与前と同じように比較的高値を保ち変動が少ないものなど、いろいろな血糖上昇の型式を示した。そこで、投与前の血糖値を、100mg/dl未満、100~400mg/dl、400mg/dl以上の3群に分け、そのグルカゴン投与後の血糖値の変動を見ると、前値血糖100mg/dl未満の群では、投与後20分までに急激な上昇がみられ、120分に至るまで徐々に血糖が上昇した。100~400mg/dlの群では、全体として、投与後120分までは、なだらかな増加を示したが、前値血糖が比較的低いものは増加が著しく、前値血糖が高いも



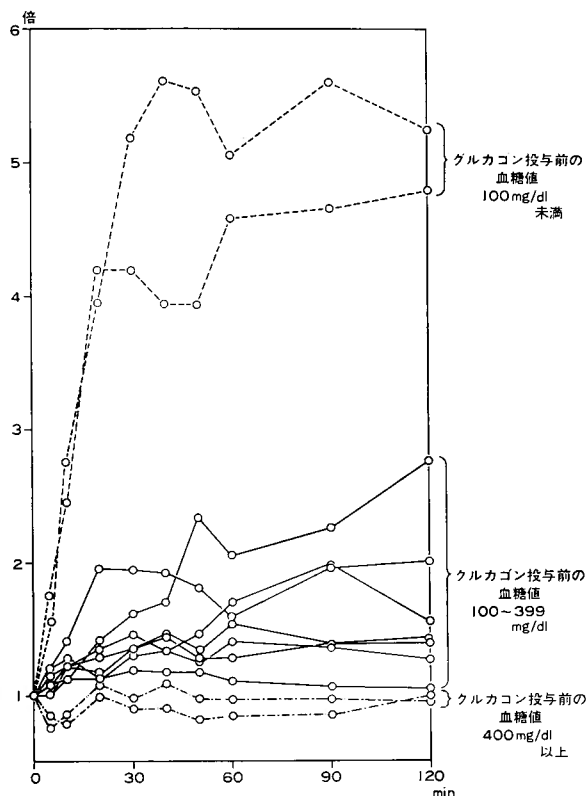
第1図 グルカゴン (0.04mg/kg, s.c) 投与後の血糖値の変動 (正常犬)

のは、その増加は緩慢で、120分値で減少の傾向を示すものもあった。400mg/dl以上の群では、グルカゴン投与後、血糖の増加するものもあるけれども、減少を示すものもあり、全体としては、増加は認められなかった。そこで、前値血糖値に対する血糖上昇率(倍)を上述の3群について算出すると、第3図および第4図の如く、前値100mg/dl未満の膵全切除犬の群では、90分で 5.13 ± 0.48 倍 ($M \pm S.E.M.$)、100~400mg/dlでは、90分で 1.62 ± 0.40 倍 ($M \pm S.E.M.$)、400mg/dl以上では、90分で 0.90 ± 0.07 倍 ($M \pm S.E.M.$) という結果になった。すなわち、膵全切除犬に対するグルカゴン投与においては、前値が低血糖を示した実験例において、血糖上昇率が高く、高血糖を示した実験例において血糖値の上昇を示さなかった。そこで、グルカゴン投与後の血糖値の上昇型式と投与時の血糖値との関連を、さらに追求するため、膵全切除犬にレギュラーインスリン0.25単位/kgを末梢静脈より、one shotにて投与し、小西¹²⁾らにより低血糖が引き起されると確かめられている時期、すなわちインスリン投与後、90分後に、さらにグルカゴン40 μ g/kg皮下投与し、経時的に血糖値を測定した。(第5図。IおよびII) 第5図Aにおいては、インスリン投与後60分で血糖値は46.8mg/dlの低値を示し、90分に血糖値の回復



第2図 グルカゴン (0.04mg/kg, s.c) 投与後の血糖値の変動 (膵全切除犬)

傾向がみられるが、グルカゴン投与時の血糖値57.4mg/dlに対し、投与後、著しい血糖上昇がみられ、120分後の血糖上昇率は、5.02倍であった。又、投与時の血糖値122.0~305.0mg/dlの犬では、血糖上昇率は、 1.96 ± 0.77 倍 ($M \pm S.E.M.$)で、第3図の結果と同様の所見が得られ、又、同一膵全切除犬について、インスリンおよびグルカゴンを投与した後の血糖値の変動様式を対比すると、第5図のAはインスリン投与にて著しい低血糖を示し、グルカゴン投与にて著しい血糖上昇を示した例であるが、インスリン投与後60分以後において血糖値の回復傾向が、みられており、Norgaard & Thaysen¹³⁾の方法により計測した糖同化率(Assimilation Index)は、ほぼ正常犬に等しい値を示した。一方、Dはグ



第3図 グルカゴン (0.04mg/kg. s.c) 投与後の血糖上昇率の変動 (膵全切除犬)

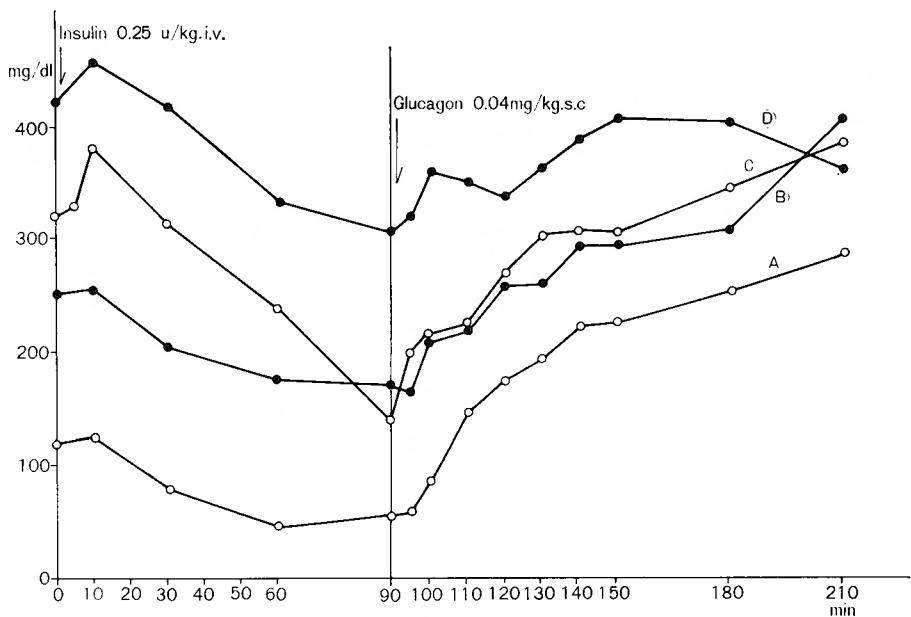
第4図 膵全切除犬に於けるグルカゴン (40 μ g/kg.s.c) 投与後の血糖上昇率 (M $\pm$ S.E. M.倍)

分	前値 100mg/dl未満	前値 100~400mg/dl	前値 400mg/dl以上
0	1.	1.	1.
5	1.64 $\pm$ 0.09	1.11 $\pm$ 0.08	0.80 $\pm$ 0.05
10	2.61 $\pm$ 0.15	1.22 $\pm$ 0.09	0.82 $\pm$ 0.04
20	4.06 $\pm$ 0.13	1.35 $\pm$ 0.27	1.04 $\pm$ 0.05
30	4.68 $\pm$ 0.49	1.45 $\pm$ 0.24	0.95 $\pm$ 0.03
40	4.77 $\pm$ 0.84	1.48 $\pm$ 0.23	1.00 $\pm$ 0.09
50	4.73 $\pm$ 0.79	1.53 $\pm$ 0.38	0.90 $\pm$ 0.07
60	4.81 $\pm$ 0.24	1.52 $\pm$ 0.28	0.93 $\pm$ 0.06
90	5.13 $\pm$ 0.48	1.62 $\pm$ 0.40	0.90 $\pm$ 0.07
120	5.01 $\pm$ 0.22	1.60 $\pm$ 0.55	0.96 $\pm$ 0.02

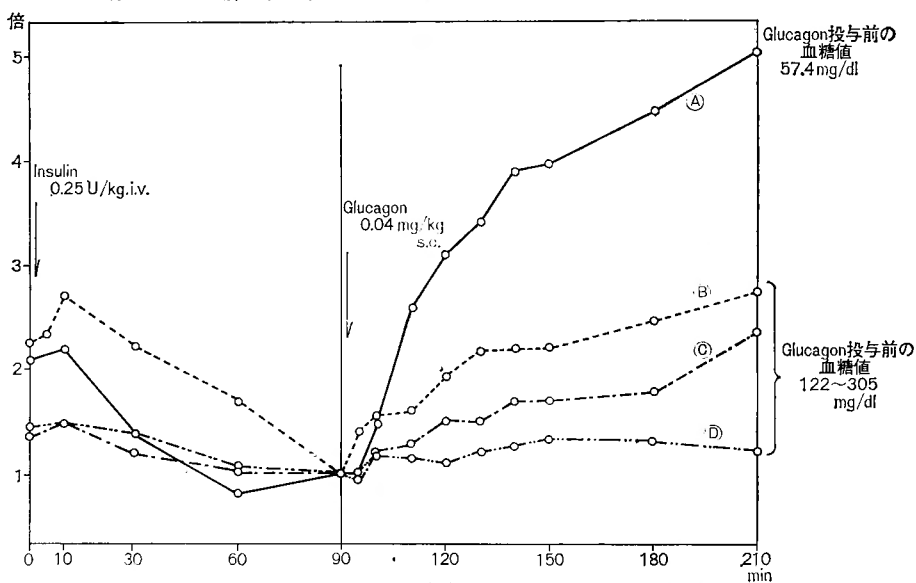
ルカゴンによる血糖上昇が比較的軽度であり、インスリン投与後の糖同化率は低値であり、且、血糖値の回復傾向を示さなかった。BはAとDとの中間に位置するか、グルカゴン投与による血糖上昇率とインスリン投与による糖同化率とを対比したのが第6図である。Aは糖同化率1.02に対し血糖上昇率5.02倍、Cのそれは0.62に対し2.73倍、Bは0.35に対し2.35倍、Dは0.30に対し1.18倍の如く、糖同化率と血糖上昇率との両者に相関があった。

② 血漿インスリン濃度

正常犬および膵全切除犬に対し40 μ g/kgのグルカゴンを経皮的に投与し経時的に末梢静脈より採血したときのインスリン濃度を示したのが第7図である。正常犬の場合は、いわゆるグルカゴンのインスリン分泌促進作用¹⁰⁾によるもので、この分泌状態は、グルカゴン投与後30分にピークを示し前値6.1 μ U/mlより30分値64.4 μ U/mlとなり120分で前値へ

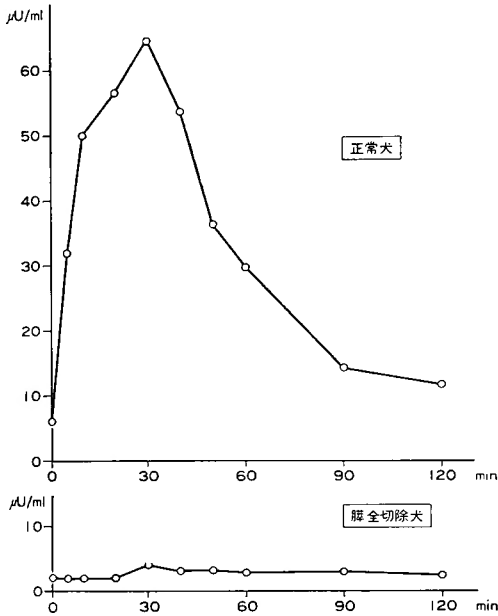


第5-I図 膵全切除後 (Insulin+Glucagon) 投与に対する血糖値の変動

第5-II図 膵全切除後 (Insulin+Glucagon) 投与
Glucagon投与前血糖値に対する血糖上昇率

の回復傾向を示していた。膵全切除犬においては、インスリンは殆んど認められないが、30分値で少しの増加を示すものがあり、残存するノボ・レンティンシリンの血中への移動が、増加という結果を導いたと考えられる。この問題について、さらに検討を加えるために、次の実験を行った。すなわち、インスリンおよびブドウ糖の生理的食塩水溶液を持続点

滴投与し (インスリン $8.3\text{mU}/10\text{kg.B.W}/\text{min}$. およびブドウ糖 $4\text{mg}/10\text{kg.B.W}/\text{min}$) 投与開始2時間目にグルカゴン $40\mu\text{g}/\text{kg}$ を皮下投与した結果は、第8図の如くであった。グルカゴン投与前までは、インスリン濃度は、ほぼ一定であるが、第8図Aではグルカゴン投与後60分で、 $29.0\mu\text{U}/\text{ml}$ のピークを示し、その後グルカゴンに惹起された高血糖状態



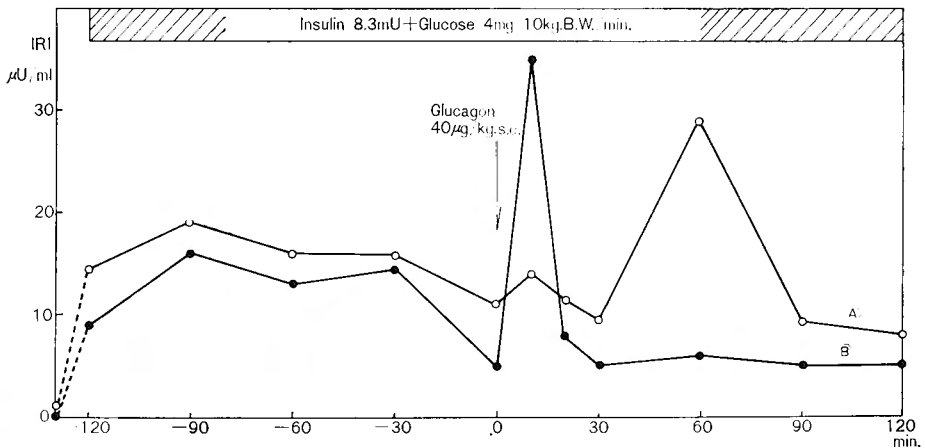
第7図 グルカゴン (0.04mg/kg, s.c.) 投与後の血中インスリンの変動

第6図 脾全切除犬に於ける糖同化率および血糖上昇率

	前値血糖 (mg/dl)	糖同化率	血糖上昇率 (倍)	術後日数 (日)
A	120.2	1.02	5.02	14
B	252.2	0.35	2.35	42
C	319.8	0.62	2.73	50
D	420.3	0.30	1.18	64

が進むにつれ、グルカゴン投与前のレベルよりインスリンは低い値を示す。又、第8図⑧においても、グルカゴン投与後10分にインスリン濃度35.0 μ U/mlを示し、その後グルカゴン投与前の約3分の1程度の値に低下した。すなわち、インスリンの組織内取り込みが、グルカゴン投与により再び放出される現象を確認した。

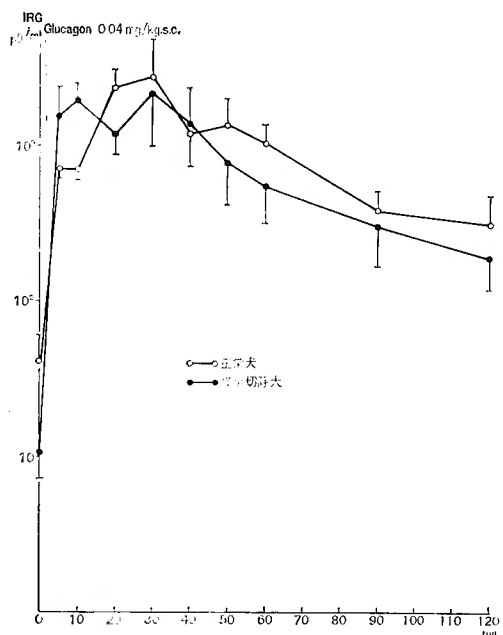
③ 30K抗体に反応する血漿グルカゴン濃度
正常犬および脾全切除犬にグルカゴン 40 μ g/kg 皮下投与後、経時的に末梢静脈より採血し30K抗体に反応するグルカゴンを測定し、片対数方眼紙にプロ



第8図 (Insulin+Glucose) 投与中の脾全切除犬に対するGlucagon (40 μ g/kg.s.c) 投与後のIRIの変動

ットしたのが、第9図Aである。正常犬では前値40.2 $\pm$ 20.4pg/ml (M $\pm$ S.E.M.) より20~30分においてピークを示し、120分では、305.0 $\pm$ 166.2pg/ml (M $\pm$ S.E.M.) 程度に下降した。又、脾全切除犬では(第9図B)、前値10.5 $\pm$ 5.1pg/ml (M $\pm$ S.E.M.) より20~30分で2130.0 $\pm$ 1400.6pg/ml (M $\pm$ S.E.M.) のピークを示し、120分では、最高濃度の10分の1

程度 (187.6 $\pm$ 96.3pg/ml (M $\pm$ S.E.M.)) に下降した。いずれの場合もピークが20~30分にあり、両者とも個体差が大きく、今回の実験結果においては、有意の差を認め得なかった。すなわち、グルカゴン40 μ g/kg 皮下投与後の30K抗体に反応する血漿グルカゴン濃度の変動は、正常犬と脾全切除犬との間に有意差を認め得なかった。



第9図 Glucagon (0.04mg/kg, s.c.) 投与後の
Glucagon 濃度の変動

4. 考 案

膵全切除後の病態生理について種々の研究がなされている。インスリンについては、比較的多くの研究がなされており、臨床にも広く施用されるに至っているが、グルカゴンにおいては、いまだ未知な部分が多い。

膵全切除では、インスリンと共に膵性グルカゴンが欠落するが、術後の糖質代謝障害として、血糖値が大きな振幅で不安定に動揺し、インスリン投与による低血糖からの、血糖回復傾向が遷延または欠除し、しばしば低血糖ショックに陥ることが特徴的である。このような膵全切除後の糖質代謝障害において、膵グルカゴンの欠落が、どのような形で参加しているかを知ることが、本論文の目的である。膵全切除犬で、その血糖値が、ほぼ正常値に近いが、あるいはインスリン投与によって血糖値が正常値以下となった場合にグルカゴンを投与すると投与後30~40分において、急激な血糖値の上昇がみられ、その上昇率は正常犬の場合の数倍である。正常犬においては、グルカゴン投与によって、インスリンの分泌が促進される¹⁰⁾¹¹⁾ことが知られており、わ

れわれの実験においても、グルカゴン投与後20~30分において、インスリンの著明な増加が確認されており、このインスリンが低血糖の方向へ作動することは当然であるが、比較的低血糖状態にある膵全切除犬における低血糖よりの血糖値回復傾向の低下の一因に膵グルカゴンの欠落が参加していることは容易に考えられるところである。八尾¹⁴⁾は、膵全切除犬における肝グリコーゲンの検索から、膵全切除犬における低血糖ショック発症に、肝グリコーゲン量は直接に因果関係がなく、膵全切除犬における血糖動員機能の低下によるものであると述べ、本庄¹⁵⁾らは、膵全切除犬における血糖動員機能低下を、下垂体副腎皮質機能の低下によるものであることを、実験的に証明しているが、膵全切除によって直接的に招来される膵グルカゴンの欠落も、やはり、この病態の原因の1つとして考えなければならないと思われる。膵全切除後の高血糖状態の形成には、インスリンの欠如および膵外グルカゴンが関与しているが、低血糖による膵外グルカゴン分泌促進は、明確には認められていない。前述の如く、低血糖ショック状態において膵グルカゴンの投与が重要であることを示唆し、将来的なグルカゴンの使用に対して希望を抱く次第である。一方、同一大について、インスリンおよびグルカゴンを投与した実験では、インスリン投与後の糖同化率の値が高く、正常に近い膵全切除犬において、グルカゴン投与後の血糖上昇率が低く、反対に、インスリン投与後の糖同化率が低い膵全切除犬において、グルカゴン投与後の血糖上昇率が低いという結果が得られている。(第9図)すなわち、インスリンに対する反応性の低下を来した個体においては、同様に、グルカゴンに対する反応性の低下を示しているという結論を得た。高血糖状態において、グルカゴンを投与しても血糖上昇が認められないのは、第3図で示した如くで、膵グルカゴンのメディアとして、糖の介在を考慮にいれる必要もあるが、糖同化率と血糖上昇率との相関は、target organ としての肝の機能低下と密接な関係を想定させうるものである。

5. 総 括

膵全切除犬にグルカゴン 40μg/kg を皮下投与して、次の結果を得た。

- 1) 膵全切除後経験する低血糖状態は、膵グルカゴンの欠如もその要因の1つである。グルカゴン

投与後の血糖上昇率は投与前の血糖値の高低に左右され、低血糖の状態にある程、著しい血糖上昇率を示した。

- 2) 高血糖状態 (400mg/dl 以上) に、グルカゴンを投与しても血糖上昇を認め得なかった。
- 3) 脾全切除犬のうち、インスリン投与による糖同化率の大きいものほど、グルカゴン投与後の血糖上昇率が大きかった。すなわち、インスリンに対する反応性と、グルカゴンに対する反応性との間に相関を認めた。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導、御校閲の労を賜った恩師本庄一夫教授に深甚なる謝意を表するとともに、本研究にあたり、直接御指導を賜った中瀬明助教授 (現島根医科大学教授) に深謝致します。

文 献

- 1) Katsoyannis, D. G. et al. : J. Amer. Chem. Soc., 88 : 5630, 1966.
- 2) Niu, C.I. et al. Sci. Sinica, 15 : 231, 1965.
- 3) Colwell, A. R. : Clinical use of insulin, Diabetes Mellitus : Theory and Practice (ed. by Ellenbug, M. H. Rifkin). McGraw-Hill book Company, p624, 1970.
- 4) Von Mering, J. & Minkowski, O. : Zbl. Klin. Med., 10 : 393, 1889.
- 5) Murlin, J.R., Clough, H.D., C.B.F. & Stokes, A. M. : Aqueous extracts of pancreas. I. Influence on the carbohydrate metabolism of depancreatized animals. J. Biol. Chem., 56 : 253-296, 1923.
- 6) Kimball, C. P., and Murlin, J. R. : Aqueous extracts of pancreas. III. Some precipitation reactions of insulin. J. Biol. Chem., 58 : 337-346, 1923.
- 7) Bromer, W. W. Sinn, L. G., Staub, A., Behrens, O. K., Diller, E. R. & Bird, H. L. : The amino acid sequence of glucagon. I. Amino acid composition and terminal amino acid analysis. J. Am. Chem. Soc., 79 : 2794-2798, 1957.
- 8) Ezdinli, E. Z. & Sokal, J. E. : Comparison of glucagon and Epinephrine Effects in the Dog. Endocrinology, 78 : 47-54, 1966.
- 9) Hagen, J.H. : Effect of glucagon on the Metabolism of Adipose Tissue. J. Biol. Chem., 236 : 1023-1027, 1961.
- 10) Samols, E., Marri, G. & Marks, V. : Promotion of insulin secretion by glucagon. Lancet, 11 : 415-416, 1965.
- 11) Crockford, P. M., Porte, D. Jr., Wood, F.C. Jr & Williams, R. H. : Effect of glucagon on Serum insulin, plasma glucose and free fatty acids in man. Metabolism, 15 (2) : 114-122, 1966.
- 12) K. Konishi. et al. : Studies on Sugar Metabolism in totally Depancreatized dogs with Special Reference to Insulin Metabolism. Arch. Jap. Chir., 44 (6) : 465-473, 1975.
- 13) Norgaard, A. & Thaysen, Th.H. : Clinical investigation into the effect of intravenous injection of insulin. Acta. Med. Scand., 72 : 492, 1929.
- 14) E. Yao. : Studies on Relations between insulin sensitivity and Liver glycogen in totally Depancreatized dogs. Arch. Jap. Chir., 28 (8) : 2997-3007, 1959.
- 15) 本庄一夫 : 脾臓全切除について. 日本医師会雑誌, 55 (1) : 昭 41. 9. 22 (The Journal of the Japan Medical Association 55-(1)-9-22, 1966)