The Effect of Blood Sugar Variation on the Urinary Excretion of Catecholamines

By

Ikuo MASUTANI

The 2nd Department of Internal Medicine, Osaka University Medical School

(Director : Professor T. Kitani)

It has been well established that catecholamine excretion in urine increases after insulin administration ; and the reduction of blood sugar below the normal range is considered to be the stimulant of catecholamine secretion. However, the hypoglycemic syndrome is occasionally encountered under insulin treatment of diabetics even when the blood sugar remains within normal range, and it is reasonably assumed that there is an increased discharge of catecholamine under such a condition. In this report, the relation between blood sugar variation and the excretion of catecholamine was analysed in normal subjects and patients with various severities of diabetes mellitus. The mechanism of increase of catecholamine excretion was also investigated. The results were as follows :

1) The folds of increment in catecholamine excretion after the intravenous administration of insulin of 0.1 unit/kg to normal or diabetic subjects is significantly well correlated with the value represented as the following equation ;

$$\frac{(\text{blood sugar before administration}) - (\text{minimum blood sugar value})}{(\text{blood sugar before administration}) \times (\text{minutes from adm. to minimum})}$$

2) The transient increase of urinary catecholamine metabolites such as Metanephrine or Vanillylmandelic acid is observed in the early period of the treatment of diabetics with insulin or anti-diabetic sulfonylurea.

3) The data was obtained in animal experiments, suggesting that the adaptation of the central nervous system to hypoglycemic state is the cause of the increased excretion of catecholamine observed in diabetics when the blood sugar remains within normal range after insulin administration.

Inhibitory Effects on the Thyroid in Young Rats of Excessive Fecal Thyroxine Excretion

**Tetsumaru SASAKI, Hironori NAKAJIMA, Tadao Makino, Hiroo Niimi,
Masaaki KURAMOCHI, Junzo KAMIMAKI, Yasuhiko FUKUMOTO,
Yoshiyuki SHIOKAWA, Mitsunori MURATA, Masumitsu NAKADA,
Susumu MATSUMOTO and Fuku Watanabe**

Department of Pediatrics, School of Medicine, Chiba University

1) Fecal excretion of thyroxine increased greatly when young rats were fed powdered cellulose, barium sulfate or clay, added to the basal diet and then injected with I^{131} -thyroxine.

2) A significant decrease in the thyroidal uptake of I^{131} occurred in 4 days. After 2 months on these diets, marked decreases in the weights of the thyroid glands and in I^{131} uptake, as well as

血糖変動時の尿中 Catecholamine の消長に関する研究

大阪大学医学部第二内科学教室（主任 木谷威男教授）

榎 谷 郁 男

（昭和37年7月2日受付）

目 次

第1章 緒 論	第2項 実験成績
第2章 尿中 Catecholamine 及びその代謝 産物の測定法	第3節 2-Deoxyglucose 静注実験
第1節 Catecholamine の測定法	第1項 実験方法
第2節 Metanephrine, Normetanephrine の測定法	第2項 実験成績
第3節 Vanillyl mandelic acid の測定 法	第4節 2-Deoxyglucose 頸動脈注射実験
第3章 臨床実験	第1項 実験方法
第1節 実験対象	第2項 実験成績
第2節 実験方法	第5節 両側副腎神経切断家兎に対する 2-Deoxyglucose 静注実験
第3節 実験成績	第1項 実験方法
第4章 動物実験	第2項 実験成績
第1節 研究対象及び資料採集方法	第6節 Insulin 静注時血糖降下を防止し た場合の Adrenalin 排泄
第2節 Alloxan 糖尿家兎の血糖変動と Adrenalin 排泄	第1項 実験方法
第1項 実験方法	第2項 実験成績
	第5章 総括並びに考按
	第6章 結 論

第1章 緒 論

低血糖症状と副腎髄質分泌との関係については早期より検討が進められており、1924年 Cannon 等¹⁾は猫で Insulin 静注後、副腎摘除処置をほどこせる場合にその心搏の変化を来さないことより、Insulin による心搏促進は心臓に対す Insulin の直接作用ではなく、Insulin による血糖降下の結果、神経刺激を介する副腎髄質分泌によることを明らかにし、Houssay, Molinelli & Lewis (1924)²⁾および Abe (1924)³⁾らも低血糖が副腎髄質の分泌刺激となることを報じている。又 Insulin 投与時の血中或は尿中 Catecholamine (CA と略記す) の消長についても Burn 等⁴⁾, Elmadjian 等⁵⁾, Euler & Luft⁶⁾, Pitkänen 等⁷⁾の報告がみられ、Insulin 低血糖はむしろ副腎髄質ホルモンの分泌機構の研究に好都合な実験条件を提供するものとして広く利用されている。しかしながらこうした場合 Insulin の投与量が一般に大量であり、また研究対象はすべて正常人、正常動物に限られていて、血糖が正常値以下に迄低下することが CA の分泌刺激となると考えられてきた。即ち問題が全て「Insulin 低血糖と CA 分泌」という面に限定されており、糖尿病患者を含めた広い範囲の血糖値の変動と CA 分泌との関係を追求した報告は今日まで余り見当たらない。しかし臨床糖尿病患者を Insulin その他の血糖降下剤により治療を行なっている際に、血糖の降下が正常範囲以下には至らなかつた場合にも、時に低血糖時の症状の発現することが経験され、こういった際にも CA 分泌の亢進があると推

定される。

一方 Adrenalin (A と略記す) の測定は, Loew⁸⁾, Paget⁹⁾ がアルカリ溶液中にて A が強い螢光を発する事実を報告して以来, これを利用せる CA の微量螢光定量法に対する研究が進められ 3・5・6-Trihydroxy-indole (Adrenolutin と Noradrenolutin) を生成して, 紫外線で強い黄緑螢光を発生させる Trihydroxy-indole 法 (Lund 法¹⁰⁾, Euler & Floding 法¹¹⁾), Adrenochrome に酸化させた後, その Catechol 核へ Ethylenediamine を縮合させ, 生成せられたる螢光物質を測定する Ethylenediamine 法 (Weil-Mrlharbe & Bone 法¹²⁾) が提唱され, 更に最近その優れた改良法も報告されている¹³⁾ 14)。又近年 CA の生理的意義が注目されると共にその生合成, 代謝様式も深く研究され circulating CA の代謝主要経路が, 先ず catechol-o-methyl transferase により 3 位の OH 基が methylate せられて Metanephrine (MA と略記す), Normetanephrine (NM と略記す) となり, その後 Monoamine oxidase の作用を受けて 3-methoxy, 4-hydroxy mandelic acid (VMA と略記す) となるものであることが Axelrod¹⁵⁾ らにより解明され, こうした中間及び終末代謝産物に対する測定法及び其の改良法の数々が発表されている¹⁶⁾~²¹⁾。

そこでかかる測定法を応用し, 糖尿病患者を含めた広い範囲の血糖値の変動と尿中 CA 及びその代謝産物の消長との関係を分析し, 更に血糖降下時の副腎髄質分泌亢進の機序についても検討を行なった。

第 2 章 尿中 CA 及びその代謝産物の測定法

第 1 節 CA の測定法

CA の測定には, 初期には主として生物学的方法が用いられていたが, 螢光を応用せる微量定量法の検討が進み, 今日ではほとんどこの螢光法が使用されている。この微量螢光定量法にも, Trihydroxyindole 法 (THI 法と略記す) と Ethylenediamine 法 (ED 法と略記す) との二種があり, 特異性という点では前者がすぐれ, 鋭敏度では後者が勝っている。佐野等¹³⁾はアルミナ吸着後, 弱酸による溶出液をさらに Amberlite G-50 カラムに流して, その Filtrate および塩酸による Eluate に THI 法と ED 法とを併用し, この際 THI 法においては酸化剤使用により pH3.5 では Noradrenalin (NA と略記す) はほとんど酸化されることなく A のみが酸化されて Adrenolutin となるが, pH6.0 では A, NA 共に酸化を受けて夫々の Lutin となり螢光を発するので, これを応用して A, NA の分離定量を行ない, 且つ 3-Hydroxytyramine = Dopamine (DA と略記す), その他の酸性および中性 Catechol 体を分画定量した。そこで著者はかかる定量法に準じて尿中 CA を測定した。

〔試薬および操作〕

採尿は褐色瓶を使用し, あらかじめ少量の濃硫酸および EDTA を投入してこれに集めた。この尿 100ml に酸処理をほどこせるアルミナ 2.5g と 2% BTB アルコール溶液数滴を加え magnetic stirrer により攪拌しながら 20% NaOH を滴下し, 青色になると更に 5% NaOH を加え, Test Paper CR (東洋濾紙) にて pH8.5 に調整する。更に 5 分間 stirring を続けその後静置して上清を傾瀉する。これに NaOH にて pH8.5 に調整した水を注ぎ洗いながらグラスフィルター (No. 3) 上に移す。0.2N 醋酸 9 ml をこれに注ぎアルミナに吸着された Catechol 体を 10ml の目盛付小試験管内に溶出する。

そこでこのアルミナの醋酸溶出液に重炭酸ソーダを加えて pH6.5 に調整し, 水を追加して 10ml とせる後 Amberlite CG-50 カラム¹³⁾ (0.7×10cm) に通ずる。続いて 0.2M 磷酸ナトリウム緩衝液 (pH6.5) 10ml で洗う。この両 Filtrate を合して DOPA 並びにその他の酸性及び中性 Catechol 体測定に使用する。次に N-HCl 15ml を流し, 別に Eluate として A, NA および DA の測定に使用する。

定量:

1) THI 法

第 1 表の如く上記の Filtrate から Blank, Sample, Sample+DOPA の内部標準液を作成し, フェリシエン化カリにより酸化後アスコルビン酸を加え, これにて発生せる螢光を Photovolt 社製品 Model 540, 一次フィルター B-Hg 1, 二次フィルター B-520 を使用して測定, 又 Eluate から第 1 表の如く Blank,

第1表 THI 法の操作 (数字ml)

Filtrate				Eluate							
	Blank	Sample	Sample 及び DOPA	Blank	Sample		Sample 及び A		Sample 及び NA		
					pH3.5	pH6.0	pH3.5	pH6.0	pH3.5	pH6.0	
Sample	2.0	2.0	2.0	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
水	0.4	0.2	—	0.4	0.2	0.2	—	—	—	—	
1 M 醋酸緩衝液	pH3.5	—	—	—	1.0	—	1.0	—	1.0	—	
	pH6.0	—	—	—	1.0	—	1.0	—	1.0	—	
DOPA, A, または NA (1 γ/ml)	—	—	0.2	—	—	—	0.2	0.2	0.2	0.2	
0.5% ZnSO ₄	—	0.1	0.1	—	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
0.25% フェリシアン化カリ	—	0.1	0.1	—	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
5 min.											
アルカリ性アスコルビン酸溶液*	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
各試験管の吸光度の読み	x	y	z	a	b	c	d	e	f	g	

* 測定時 2%アスコルビン酸溶液を作り, 20%NaOH にて10倍にする

Sample, Sample+A (又は NA) の内部規準液を作成, 更に後 2 者は各々 2 群に分ち醋酸緩液にて pH 3.5及び pH6.0に調整し, Filtrate の時と同様に螢光を発生せしめこれを測定する.

なお以上の操作中 Blank はフェリシアン化カリの酸化を除く全操作を加えたものである.

2) ED 法

Filtrate および Eluate 夫々 5 mlに Ethylenediamine dihydrochloride 0.25ml, Ethylenediamine hydrate 0.5ml を加え, 一昼夜室温に放置し, 翌日食塩2g を投じ, Isobutanol 3.5ml で抽出し, 一次フィルター B-Hg 2, 3, 二次フィルター B-540を使用し測定する. この場合他に水及び A, NA, DA の各規準液についても同様の操作を行なう.

計算:

上記測定によつて得られた値は, 次式により計算する. (符号は第1表参照)

THI 法より

$$\text{DOPA } (\gamma/\text{dl}) = \frac{y - x}{z - y} \times 2$$

$$\text{A } (\gamma/\text{dl}) = \frac{b - a}{d - b} \times 2.13$$

$$\text{NA } (\gamma/\text{dl}) = \frac{(c - a) \times 2.13 - (e - c) \times A}{g - c}$$

ED 法より

$$\text{DA } (\gamma/\text{dl}) = \frac{(\text{Eluate の Sample}) - \left(A \times \frac{\text{A の Standard}}{16} + \text{NA} \times \frac{\text{NA の Standard}}{16} \right)}{\text{DA の Standard}} \times 16$$

$$\text{その他の酸性及び中性 Catechol 体 } (\gamma/\text{dl}) = \frac{\text{Filtrate の Sample}}{\text{A の Standard}} \times 10.7$$

(ED 法の場合各々の値は Blank を引いたもの)

第2節 MA, NM の測定法

MA, NM の測定は Pisano¹⁶⁾の発表せる方法によつた。即ち MA, NM は大部分 Conjugated form として尿中に排泄されるので²²⁾、先ずこれを水解してから Amberlite CG-50に吸着させ、次いでその Eluate に NaIO_4 を反応させ Vanillin を生成せしめ、これを比色定量する。

〔試薬および操作〕

先ず尿を Toluene 存在下に集め、必要であれば濾過する。定量にはこの10ml を使用する。6N-HCl を加え Test Paper CR (東洋濾紙) にて pH0.9に調整し、栓付試験管に入れ20分間沸騰水中に入れ結合型 MA, NM を水解せしめる。そして冷却した後 1N-NaOH にて Test Paper MR (東洋濾紙) を使用して pH6.0~6.5に調整してこれに水を加えて20ml とする。一方 Glass wool で栓をせるカラムに Amberlite CG-50 (pH 6.0-6.5)¹⁹⁾を $1 \times 5 \text{ cm}$ つめ、これに水15ml を流して緩衝液を洗う。この Resin カラムに前記の水解尿を通し、ついで15~20ml の水を流す。最後に 4N- NH_4OH 10ml にてカラムに吸着された MA, NM を溶出する。

この Eluate に 4N- NH_4OH を加えて 10ml となしてこれを 4 ml ずつ 2 本の試験管に分け、一方には水 0.1ml を入れ Blank とし、他の一方には Periodate 溶液 (2% NaIO_4) 0.1ml を加える。標準液 (1ml の 4N- NH_4OH 中に Vanillin 1 γ を含む) についても同様にする。但しこの際 MA, NM は分離されないもので以後は MA, NM を含めて MA 値として表わした。

計算：

$$\text{MA } (\gamma/\text{ml}) = \frac{(\text{Sample のよみ}) - (\text{Blank のよみ})}{(\text{標準液のよみ}) - (\text{Blank のよみ})} \times 1.29$$

第3節 VMA の測定法

VMA の測定法は Paper-Chromatography 法¹⁹⁾、高圧濾紙電気泳動法²⁰⁾および Sandler 法²¹⁾がある。著者は Sandler 法に従つた。

尿を Dowex 1×2 に通し、VMA を吸着せしめ、醋酸緩衝液で溶出した後醋酸エチルで抽出、低圧蒸溜乾固し、稀硫酸を加えアルミナを触媒として Autoclave 中で反応せしめ VMA を Vanillin に転換する。この Vanillin を Indol により発色せしめその吸光度より VMA を計算する。

〔試薬および操作〕

尿1.0ml を Dowex 1×2 カラム ($0.5 \times 10 \text{ cm}$)²¹⁾に流し、更に蒸溜水30ml を流してカラムを洗う。次に 1M 醋酸アンモニウム緩衝液 (pH4.8) 15ml を通じ、その溶出液を分液漏斗にとる。これに50% H_2SO_4 を 2ml 加え酸性とした後 8g の NaCl を加え、15ml の 醋酸エチルにて 2 回振盪抽出する。この抽出液を40°C にて低温減圧下に蒸発乾固せしめ、これに 5% H_2SO_4 2.5ml を加え溶解せしめる。これに0.2g の活性アルミナを加え Autoclave 中にて15lb/inch²、60分間反応せしめる。其後これを遠沈してその上清1.5ml をとり正磷酸2.4ml, Indol 試薬 (Indol 50mg を 10ml Ethanol に溶解) 0.1ml を加え、5分以内に 945 μ の吸光度を測定する。

この際 Blank として 5% H_2SO_4 1.5ml および Vanillin 標準液 (5% H_2SO_4 1ml 中2.5 γ の Vanillin を含む) 1.5ml にも夫々正磷酸, Indol 試薬を同様に加えて測定する。

計算：

$$\text{VMA } (\mu\text{g}/\text{ml}) = \frac{(\text{Sample のよみ}) - (\text{Blank のよみ})}{(\text{標準液のよみ}) - (\text{Blank のよみ})} \times 8.15$$

第3章 臨床実験

第1節 実験対象

当内科に通院或いは入院し、routine の臨床検査を完了した上、糖尿病又は正常と診断された20例を対象とした。但し糖尿病の場合、顕著なる循環障碍、腎障碍、肝障碍を有するものは含んでいない。

第2節 実験方法

上記の正常人および糖尿病患者を早朝より絶食にせしめ、臥床または非臥床にして安静状態にし、午前7時に放尿後午前9時に採尿、前2時間尿とし、同時に Regular Insulin 体重 kg 当り0.1単位静注する。そして其後は2時間ずつ2回採尿し、この3資料について尿 Catechol 体を分画定量し、前値を1.0としてその変動を検討した。この際 Insulin の代りに生理的食塩水を静注した対照例では、尿 Catechol 体に大きな変動のないことを予め確めた。

血糖値は Insulin 静注前、および静注後20分、30分、60分、90分、120分に測定した。血糖測定法は Somogyi-Nelson 法によつた。

第3節 実験成績

尿中A排泄は、第2表に示す如く一般に著しい増量を示し、正常人ではしばしば前値の5～6倍に達し著

第2表 Insulin 0.1I.U./kg 静注時の血糖及び尿中 CA 排泄*
(正常人及び糖尿病患者)

No.	血 糖 値 mg/dl		A	AN	DA	DOPA	そ の 他 の 酸 性 中 性 catechol 体
	前	** (分) 後					
1	140.0	(30) 57.5	2.59	1.29	1.25	0.92	0.89
2	153.0	(30) 93.8	1.43	1.02	1.04	0.68	0.96
3	159.6	(30) 96.9	2.24	0.82	1.01	0.46	0.89
4	126.1	(30) 85.4	2.82	1.66	1.54	0.86	0.98
5	178.9	(30) 155.2	0.96	0.77	0.95	1.02	0.79
6	126.1	(30) 82.7	2.08	1.23	1.31	1.30	0.94
7	253.0	(90) 232.0	1.22	0.81	1.50	1.49	1.04
8	163.0	(30) 98.5	1.98	1.07	1.25	0.73	1.07
9	90.1	(30) 46.9	5.22	2.82	2.60	1.36	1.63
10	96.2	(30) 54.1	6.25	2.11		1.67	3.71
11	287.0	(30) 278.0	1.15	1.56	1.36	1.56	1.69
12	164.0	(10) 106.0	3.37	1.69			
13	122.0	(30) 63.0	2.81	1.90			
14	92.1	(30) 45.2	2.54	1.41			
15	125.0	(30) 83.0	1.91	0.83			
16	200.3	(20) 134.1	2.13	1.39			
17	157.0	(30) 57.0	4.54	1.16			
18	172.0	(30) 75.0	1.16	0.98			
19	176.0	(30) 156.0	1.06	1.32			
20	93.0	(20) 39.0	3.15				

* CA は Insulin 静注後の2時間尿と静注前2時間尿との比

** 最低値に達した時間(分)

明な例では臨床症状として心悸亢進、冷汗等を認めた。糖尿病患者に於ても正常人に比し一般にやや軽度ではあるが、Aの増量は明らかに認められた。そして血糖の降下が必ずしも「低血糖」の範囲までおよばなくともA増量を認め、この現象は糖尿病患者においてむしろ一般的であつた(第1図)。Aの増量は概ね注射後最初の2時間内におこるが、時に糖尿病患者においてやや遅れて発現することがあつた。

しかし一方血糖降下の起らなかつた例では見るべきA排泄増加はなかつた(第2図)。ここでAの変化について、血糖変動に関する諸量との関係を検討した所

- ① 血糖降下速度 $\left(\frac{\text{最低値迄の降下絶対値}}{\text{最低値に達する時間(分)}} \right)$ と A 排泄増加——相関係数=0.28

第1図 “位血糖”を経ず Adrenalin の増量した例

秋○ヤ○ ♀40才 松○与○ ♂30才

第2図 Insulin 感性の極めて悪い例

木○須○ ♀49才 馬○晴○ ♂56才

② 血糖降下率 $\left(\frac{\text{最低値迄の降下絶対値}}{\text{前 値}} \right)$ と A 排泄増加——相関係数=0.47

③ 単位時間に於ける血糖降下率 $\left(\frac{\text{最低値迄の降下絶対値}}{(\text{前値}) \times (\text{最低値に達する時間(分)})} \right)$ と A 排泄増加——相関係数=0.72
となり、③の場合、すなわち「単位時間に於ける血糖降下率」に最も相関して A 増量があり (第3図)、この相関は推計学的に1%以下の危険率で有意であつた。

その他の CA としての NA および DA は、A に比べ軽度ではあるが増加の傾向がみられた (第2表)。

これに反して DOPA およびその他の酸性或いは中性 Catechol 体はほとんど有意の変動を示さなかつた (第2表)。

次に同様な実験条件において CA 代謝産物である MA, VMA を測定すると、Insulin による血糖降下と共にこれらもやはり尿中に排泄増加を認めるが、この両者の増加の割合は A のそれには及ばなかつた。(第4図)。従つて短時間内の急激な血糖降下に対する副腎髄質の反応は A 測定によつて最も鋭敏に把握されるが、長期の糖尿病コントロールの際の CA の消長は、資料の安定性からも主として MA, VMA の測定が適當と考えられる。

第4節 糖尿病患者治療時の尿中 MA, VMA 排泄

糖尿病患者に於て、毎日一定量の Insulin により治療を行なつた場合に、その尿中 MA 及び VMA 排泄を経日的に測定を続けると、第5図に示す如く、治療を開始した初期に一過性にこれらの排泄増加が認められ、その後は更に同様の Insulin 量の投与を続行しても増量は示さないという現象を認めた。こうした現象は血糖降下剤として Sulfonylurea 剤 (BZ55) を使用せる場合にも認めた (第6図)。

第3図 単位時間における血糖降下率と尿中 Adrenalin 排泄

単位時間における血糖降下率
(血糖降下速度/前値)

第4図 血糖降下と尿中 A, MA, VMA 排泄の代表例 (糖尿病例)

第5図 糖尿病患者治療時の尿中 CA 代謝産物の排泄状況

阪 ○ 栄 ○ ♂ 56才

① Metanephrine 排泄

② Vanillyl mandelic acid 排泄

東 ○ 光 ○ 54才♀

磯 ○ ○ 58才♂

第4章 動物実験

第1節 研究対象及び資料採集方法

一般に体重2.5~3.0kg位の成熟雄性家兎を使用した。これらは購入以来、しばらくは一定の固形食を与え、環境的にも一定の状況に保つ様つとめた。

実験当日は絶食せしめ、実験開始の約4時間程前より兎固定台に固定し、採尿用の持続カテーテルを挿入してその体位にて放置し、実験前2時間にわたつて採集された尿を対照尿とした。

採血或は静注は耳静脈ないし股静脈を使用した。

第2節 Alloxan 糖尿家兎の血糖変動とA排泄

まず高血糖状態が持続せる場合、これよりの血糖変動がA分泌にどのような刺激となるかを検討し、生体の代謝が高血糖に適応するものかどうかを検討するため Alloxan 糖尿家兎を使用して次の実験を行なつた。

第1項 実験方法

発症以来約1週間を経過して安定状態に達した Alloxan 糖尿家兎に、6時間にわたり Regular Insulin 6単位を点滴注入し、同時に Glucose の注入を行なつて尚同じレベルの高血糖を保持せしめるべく血糖を調整した。そして次いで Glucose を中止して更に8単位の Insulin を追加して、正常範囲迄の血糖降下を起さしめた。それ以後は再び40% Glucose を静注して血糖を上昇させた。そして採尿は2時間ずつ行ない、それぞれについて尿中Aを定量した。この間血糖は適時測定を行ない常に所望せる血糖値に調整した(第7図)。

第6図 Sulfonyleurea 剤 (BZ55) 経口投与の際の血糖降下と尿中 Adrenalin 排泄

第2項 実験成績

この場合Aは無処置高血糖時と Insulin 投与高血糖時とで顕著な変化は示さなかつたが、Glucose 投与を中止して正常範囲までの血糖降下が生じた期間に、前値に対して2.7倍に及ぶA排泄増量を認めた(第7図)。

第3節 2-Deoxyglucose 静注実験

次に組織に於ては Insulin と同じく糖利用低下を来す 2-Deoxyglucose (2-DG と略記す) を投与し、この場合の内因性 hyperadrenalemia のを起す機序を分析せんとした。

第1項 実験方法

組織内低血糖を起す 2-DG を30mg/kg の割に蒸留水にとかしこれを静注し、その場合の前2時間尿に対するAの尿中排泄を測定した。

第7図 Alloxan 糖尿家兎の血糖変動と尿中 Adrenalin 排泄 (代表例)

第2項 実験成績

2-DG を静注すると血糖は漸次上昇し、一般に120分後では 250~300mg/dl の値に達する。そして尿中A排泄は前値に対して第8図の如く3倍近くの増量を認める。この場合2-DG 投与量を種々変更して、それぞれの場合の尿中A排泄増加を測定し静注2-DG 量と排泄A増加との log dose response curve を画くと、第9図の如くなる。つまり静注の場合 10mg/kg の量を境としてA排泄増加は2-DG と共に著明となつてくる。

第4節 2-Deoxyglucose 頸動脈注射実験

かかるA分泌促進が主として中枢の糖利用低下を刺激とするものならば、頸動脈注射により、より強い反応が予想される。これを確認するため、上記静脈注射にて顕著なA分泌反応は来さない最大量の2-DG を頸動脈に投与する実験を行なった。

第1項 実験方法

正常家兎を固定台に固定し、前頸部を切開して右或いは左の総頸動脈を露出せしめ(この場合近くに存在する迷走神経に接触せぬ様注意する)、これに細い注射針にて2-DG 10mg/kg (蒸溜水 1 ml に溶解)を動脈注射する。

第8図 家兎に対する2-DG 静注時の尿中 Adrenalin 排泄 (代表例)

第9図 2-DG 投与量と尿中 Adrenalin 排泄 (静注の場合)

第2項 実験成績

2-DG 頸動脈注射を行なうと、静脈注射では殆んどA排泄増加を認めない10mg/kgの量に於ても、第10図の如く顕著なA排泄増加を示した。対照実験として2-DG溶液の代りに生理食塩水を頸動脈注射した際、尿中A排泄には著明な変動はみられなかった。

第10図 2-DG (10mg/kg) を頸動脈及び静脈に投与した際の
尿中 Adrenalin 排泄 (家兎)
静脈注射 頸動脈注射

第5節 両側副腎神経切断家兎に対する2-DG 静注実験

2-DGによるA分泌が副腎自体の代謝に対する2-DGの直接作用であるかどうかを知るため副腎神経切断を行なつて検討した。

第1項 実験方法 (副腎神経切断)

絶食せる家兎にラボナル麻酔をほどし、先ず右側を上にして側臥位として固定する。剃毛消毒後、背筋の外側で肋骨弓直下より軀幹と平行に約5cm切開し、血管を結紮しながら内部に進み、後腹膜にある腎に達すると、腎に接して径1cm位の副腎を容易に認めることが出来る。そこで副腎内部に入る動静脈に注意しつつ副腎周囲より進入せる神経線維を切断し、手術創を縫合して第一次手術を終える。次に4~5日後同様な方法で左副腎神経をも切断する。かくして両側副腎神経を切断してから5~7日間、注意観察し、健康を回復せしことを確かめて実験に供した。

一方対照としては、同様に背部切開を行ない深部臓器迄手触せし家兎を使用した。

第2項 実験成績

両側副腎神経切断家兎に2-DG30mg/kgを静注すると、血糖上昇は20~30mg/dl程度に止り2時間後には既にほとんど正常化し、対照家兎とは著明な相異を示した。そしてこの時両側副腎神経切断家兎では、A排泄増加は全く認められなかった (第11図)。

第6節 Insulin 静注時 Glucose 投与によつて血糖降下を防止した場合のA排泄

Insulinが直接Aのreleaserとなるか否かを検討した。

第1項 実験方法

正常家兎に Regular Insulin 0.3 I.U./kg 静注する際、同時に40% Glucose 液10mlを注入し、更に30分後にも40%液 Glucose 液10mlを注入して血糖を全く降下せしめない状態において、Insulin注射前2時間及び注射後2時間ずつ3回採尿して尿中Aを定量した。

第2項 実験成績

この場合A排泄増加は全く認めなかった (第12図)。

第5章 総括並びに考按

Insulin の大量投与によつて低血糖に至らしめた場合、副腎髄質の分泌が亢進し低血糖症状を起すことを示した動物実験の報告は多いが、臨床観察においては糖尿病患者に Insulin を注射した後、血糖値がなお 200mg/dl 以上でありながら低血糖症状の発現をみた *sunderman* 等の報告²³⁾。血糖値が 50mg/dl 以下の低血糖を持続しながらほとんど無症状であつた著者等の症例 (von Gierke 病)²⁴⁾, *Maddock*,²⁵⁾, *Rabinowitch & Peters* の報告等²⁶⁾、血糖値と臨床症状との間の奇異な解離現象が認められており、低血糖症状と血糖値の変動との間の統一的な見解を示した記載はまだ見当らない。

著者は糖尿病患者を含めた広い範囲の空腹時血糖分布を有する実験対象群に対して 0.1 I.U./kg という生理量の Insulin を静注し、血糖変動と CA 分泌状態との関係を追求した。先づ Insulin が releaser の如き直接作用を有するものでないことは、Insulin 注射によつても血糖降下を惹起し得なかつた例では A 排泄増加はみられないという事実、又家兎で Glucose 及び Insulin の同時投与により血糖降下を阻止した場合にも A 増加を認めないという事実より、A 増量はやはり直接 Insulin の作用によるものではなく寧ろ Insulin による血糖変動に基因するものと解さなければならない。そこで血糖変動に関する諸量と A 増量との関係を分析した結果、血糖降下速度を前値で除した値、即ち「単位時間における血糖降下率」に最もよく相関して A 増量の観られることが結論された。これによつて明らかな如く、血糖の降下が必ずしも「低血糖」の範囲迄およばなくとも A 排泄増加が認められ、これは糖尿病患者においてむしろ一般的であつた。しかし同時に、血糖降下の絶対量が変わらなくともその降下速度および前値の高低により副腎髄質に対する作用も異なることから、糖尿病患者の如く血糖の前値も高く降下速度も緩徐な場合は、一般に

第11図 両側副腎神経切断家兎に対する 2-DG 投与神経切断例

対照例

第12図 Insulin 静注後血糖降下を防いだ場合の尿中 Adrenalin 排泄 (家兎)

A分泌刺激は軽度である。結局「単位時間における血糖降下率」にはA増加に関する因子として、次の3つを含んでいる。即ち空腹時血糖値、血糖降下率及び降下速度である。空腹時血糖値は各個人に特有であり、また同一個体においても一定のリズムで日内変化を示すことが知られている²⁷⁾が、ある瞬間における生体ホメオスタシスの基準として大きな意味を有することが、以上の成績からも理解されるのである。外部の因子によりこのホメオスタシスの破られる場合にA分泌亢進がみられるものであり、著者の認めた糖尿病患者に対する Insulin 治療時、尿中 CA 代謝産物が初期の高血糖状態から Insulin 治療を開始して血糖下降状態に移行する時にのみ排泄増加をみるという現象もこのように解釈される。但しこの場合副腎髄質の CA の回復速度が問題となり、大量の Insulin で髄質のAを著減せしめた後の回復はかなり遅いといわれている^{28)~30)}。しかしこの場合の Insulin の使用量としては一般に非常に大量であり、Udenfriend³⁰⁾などは体重 kg 当り1.8単位を家兎に投与している。著者の臨床例では0.2~0.3I.U./kg 位のもので極めて少量である、又 Elmadjian³¹⁾などは一定量の Insulin を連続5日間静注すると、尿中A排泄が次第に減少した例を報告しているが、これとてもAは第5日目においても明らかな分泌を示している。従つて著者の例は少量かつ皮下注射でもあるので、副腎髄質の衰微による減少というよりは、やはり分泌機序に対する刺激そのものの減少によると考える方が妥当と云える。最近 Somogyi³²⁾³³⁾は糖尿病治療の際、過量 Insulin 投与により下垂体-副腎系の血糖上昇ホルモンの放出をうながし、その為に糖尿病自体にむしろ悪影響をおよぼすということを強調し、かかることは低血糖の度合いが軽く、無症状な場合でも有害で、尿糖および血糖値に paradoxical な増悪現象を呈すると述べているが、著者の解釈からすれば、Insulin の使用に当つて初期少量、漸次増量し、しかも持続 Insulin 製剤等を使用して頻回の血糖変動を出来るだけ避け、漸進的に血糖値を正常化せしめるのが望ましいと考えられる。

次にA分泌に対する血糖降下速度の関与であるが、A増加に対して単なる血糖降下率よりも「単位時間における血糖降下率」がA分泌によく相関する更に重要な因子と推定される。血糖降下率とA増加の相関は臨床実験の場合有意とはいえない。従つて Insulin 投与後の血糖降下相においては、血糖降下速度がA増加に関する一つの因子を構成していると考えなければならない。しかし低血糖の持続相においてもやはりA分泌の亢進がみられることを、家兎における実験に於て認めたが、その程度は血糖降下相程著明ではない。

以上の他、Insulin による血糖降下時、A以外の CA について検討する際、先ずAおよびNAの増量の間に一定の関聯性があるか否かをみた所、一般にAの増量の軽度である例ではNAはほとんど増加せず、Aの著明な増量のある例ではNAの軽度の増加を認めた。これは Elmadjian 等³¹⁾の観察とは相反している(但し Elmadjian 等の測定法は、Bioassay である)が、Goldfien 等³⁴⁾の成績とよく一致している。このようなInsulin 投与後の成績と対照的に、Metacholine 投与後の低血圧に対しては主としてNAが反応するという³⁵⁾。Aはその pressor effect がNAの1/2であり、反対に hyperglycemic effect がNAの約4倍である事実³⁵⁾を対置するとき、Insulin 投与時のような特別な刺激に対するCAの反応を単に非特異的な Stress 反応として理解することは困難なようで、矢張り血糖調節反応の一環として解釈すべきであろう。その他の DA, DOPA および他の酸性中性 Catechol 体に関しては、その生理的役割および意義がなお具体的ではなく、明確な考察は致しがたい。従つてともかく Insulin 投与による血糖降下の場合、一次的な反応がAであることは結論し得る所である。

更に CA 分泌反応が中枢と如何なる関聯があるかを考察してみる。

Phosphoglucose isomerase の阻害剤で、生体に投与すると Glucose の利用障害を来し、組織内低血糖を起すと考えられている 2-DG³⁶⁾を家兎に静注すると、血糖上昇と尿中Aの著明な排泄増加とを認め、Insulin 低血糖と同じく糖利用の低下を来し、内因性の hyperadrenalemia を招来すると考えられる。これに対して中枢の receptor を考慮すべきか否かは、脳及び体部の交叉灌流により2-DG に対する反応を見るのが理想的であるが、副腎髄質分泌の変化を正確に把握するには相当高度の安定した生理的状态が要求される。従つて著者は強度の非生理的状态を強制される交叉灌流実験をさけ、2-DG を頸動脈に投与し、一般静脈注射より強いA排泄増加を得たのである。つまり Insulin の時にしろ 2-DG の時にしろ、中枢性の組織

内低血糖こそ副腎髄質分泌を来さしめる刺激になると考えられる。従つて著者の実験の如く両側副腎神経切断家兎に対する2-DG 投与の場合にはA排泄増加は阻止され、副腎髄質自体の代謝障害はA分泌刺激とはならないことを示している。

糖尿病の病態生理にAが特に役割を演じているという証明はないが、血糖降下に伴うA分泌増加が、中枢における糖代謝障害の反映であるとすれば、Insulin 注射後降下した血糖値がなお正常血糖範囲に止まるにかかわらず、A分泌が起るという現象を如何に説明すべきか。これには次の2つの場合について検討しなければならない。先ずInsulin が中枢神経系に直接作用を有するか否かは重要な問題であるが、従来より血糖を介する間接作用の面が強く考えられ、又 I^{131} 標識 Insulin の脳内分布が他の部分より非常に少なく⁸⁷⁾⁸⁸⁾、脳内に殆んど移行しない事より直接作用はあまり問題にされていなかった。しかしラットの脳組織切片においてはGlucose uptake をInsulin は増加せしめ⁸⁹⁾、又ラットの遊離脊髄分節でもGlucose uptake を増加せしめ⁸⁹⁾、更に又Alloxan 糖尿ラット脊髄片のGlucose uptake は低下するが、前もつてInsulin を注射すると、このGlucose uptake 低下は是正し得る⁸⁹⁾等の事実が知られておりInsulin の中枢神経系に対する直接作用を全く否定するわけにはいかない。そこで先の現象を考察する場合一応中枢もInsulin dependent であるという前提のもとに中枢ではInsulin による糖代謝の是正が末梢より遅れて発現するという推論も成立する。つまりそのためInsulin による血糖降下時、末梢では糖利用は促進しているが中枢ではまだ促進せず、かえつて血糖低下のため糖利用が障害されると云う場合が考えられるのである。もう一つの考えとしては、高血糖状態に中枢の代謝が適応した結果、正常範囲迄の血糖降下でもA分泌が起ると解釈する方法がある。著者のAlloxan 糖尿家兎に対する血糖降下実験(第7図)はこの間の現象を明らかに説明する。即ちInsulin 補給により糖尿病的代謝位相を是正し、しかも尚高血糖状態を保持せしめた場合に、次に起す血糖降下が副腎髄質刺激となり、著明なA分泌を招来したということは、糖尿病状態に於ては中枢の代謝pattern がそれに“gewöhnen”されていて、これよりの血糖降下が例えそれが正常範囲迄であつても副腎髄質分泌を招来せしめる適応刺激となることを明確に示している。そして糖尿病患者治療の際、治療初期にのみ一過性のCA代謝産物が増量するという現象も、この“Gewöhnung”の考えにより、よく理解することが出来る。

第6章 結 論

生体にInsulin を投与した際、尿中CA排泄増加がみられるが、この場合血糖が正常値以下に低下することがCAの分泌刺激となると考えられている。しかし临床上、糖尿病患者のInsulin 治療中、血糖が正常値以下に低下しない場合にも、時に低血糖症状の発現することが経験され、この際にも低血糖時同様、CA分泌の亢進があると推定される。そこで糖尿病患者を含めた広い範囲の空腹時血糖分布を有する実験対象群に対して、血糖値の変動と尿中CAの消長との関係を分析し、更に尿中CA増量の機序についても検討を行なつた結果、次の如き成績を得た。

- 1) Insulin 投与時のA分泌は、Insulin がreleaser の如き直接作用を有するのではなく、血糖変動自体がA分泌に関与する。
- 2) そして正常人および糖尿病患者に、体重kg当り0.1単位のInsulin を静注した場合、血糖降下に伴う尿中A排泄は「単位時間における血糖降下率」に高度に相関する。
- 3) 血糖降下剤による糖尿病患者治療の際、その初期にのみ一過性のMA, VMA排泄増加を認める。
- 4) 糖尿病患者にて血糖降下時、低血糖に至らずしてA排泄増加の起るのは、主として中枢が高血糖状態に適応しているためと考えられる実験成績を得た。

稿を終るに臨み、御指導を賜つた恩師故木谷教授に衷心より謝意を表し、併せて御懇切な御教示並びに御校閲を賜つた大阪大学医学部薬理学教室今泉礼治教授に深く感謝致します。

本論文の要旨は第2回日本糖尿病学会総会、第8回日本内分泌学会西日本地方会、第4回日本糖尿病学会

総会, 第35回日本内分泌学会総会において発表した.

文 献

- 1) CANNON, W.B., M.A. McIVER. and S.W. BLISS : *Am. J. Physiol.*, 69 : 46-66, (1924).
- 2) HOUSSAY, B.A., E.A. MOLINELLI and J.T. LEWIS : *Rev. Asod. med. argent.*, 37 : 486, (1924).
- 3) ABE, Y. : *Arch. exper. Path. u. pharmacol.*, 103 : 73-83, (1924).
- 4) BURN, J.H., D.E. HUTCHEN and R. H. O. PARKER : *Brit. J. Pharmacol.*, 5 (4) : 417-423, (1950).
- 5) ELMA-DIAN, F., E.T. LAMSON H. FREEMAN R. NERI and L. VARJABEDIAN : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 16 (11) 876-886, (1956).
- 6) EULER, U.S.v. and R. LUFT : *Metabolism*, 1 (6) : 528-532, (1952).
- 7) PITKÄNEN, E. : *Acta physiol. Scand.*, 38 : Suppl. 129, (1956).
- 8) LOEW, O. : *Biochem. Zschr.*, 85 : 295, (1918).
- 9) PAGET, M. : *Bull. Sc. pharm.*, 37 : 537-538, (1930).
- 10) LUND, A. : *Acta pharmacol. et Toxicol.*, 5 : 231-247, (1949).
- 11) EULER, U.S.v. and I. FIODING : *Acta Physiol. Scand.*, 33, Suppl., 118 : 45-56, (1955).
- 12) WEIL-MAIHERBE, H. and A.D. BONE : *Biochem. J.*, 51 : 311-318, (1952).
- 13) 佐野馨, 蒲生達三, 橋本裕一 : 日内分泌誌, 35 (1) : 86-93, (1959).
- 14) 中島一彦, 大阪大学医学雑誌, 12 (3) 57-63, (1960).
- 15) AXELROD, J. : *Pharmacol. Rev.*, 11 : 416, (1959).
- 16) PISANO, J.J. : *Clin. Chim. Acta.* 5 : 406-414, (1960).
- 17) BERTLER, A. : *Clin. Chim. Acta*, 4 : 456, (1959).
- 18) 柿本泰男 : personal communication.
- 19) ARMSTRONG, M.D., et al. : *Biochim. biophys. acta*, 25 : 422, (1957).
- 20) STUDNITZ, W.V. and A. HANSON : *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 11 : 101, (1959).
- 21) SANDLER, M. and C.R.J. RUTHVEN : *Lancet*, II : 114, (1959).
- 22) KIRSHNER, N., McC. GOODALL and L. ROSEN : *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 127 (1) : 1, (1959).
- 23) SUNDERMAN, F.W., J.H. AUSTIN and P. WILLIAMS : *J. Clin. Invest.* 11 (6) : 1261-1272, (1932).
- 24) 垂井清一郎, 奥野巍一, 進士義剛, 榎谷 郭男, 中川史子 : 日内会誌, 48 (9) : 1513-1514, (1959).
- 25) MADDOCK, S.T. : *J. A. M.A.*, 91 (9) : 616-621, (1928).
- 26) RABINOWITCH and PETERS : *Am. J. Med. Sci.*, 178 : 29, (1929), cited by Joslin.
- 27) 平田幸正 : 綜合臨床, 8 (1) : 28-36, (1959).
- 28) BURN, J.H., D.E. HUTCHEN and R.H.O. PARKER : *Brit. J. Pharmacol.*, 5 : 417-423, (1950).
- 29) HÖKFELT, B. : *Acta Physiol. Scand.*, 25 : Suppl. 92, (1951).
- 30) UDENFRIEND, S., J.R. COOPER, C.T. CLARK and J.E. BAER : *Science*, 117 : 663-665, (1953).
- 31) ELMADJIAN, F., J.M. HOPE and E.T. LAMSON : *Rec. Prog. Horm. Res.*, 14 : 513-553, (1958).
- 32) SOMOGYI, M. : *Am. J. Med.*, 26 : 169-191, (1959).
- 33) SOMOGYI, M. : *Am. J. Med.*, 26 : 192-198, (1959).
- 34) GOLDFIEN, A., M.S. ZILELI, R.H. DESPOINTES and J.E. BETHUNE : *Endocrinol.*, 62 (6) : 749-758, (1958).
- 35) RONZONI, E. and S. REICHLIN : *Am. J. Physiol.* 160 (3) : 490-498, (1950).
- 36) ARNE, N.W., R.D. DOUGLAS, I.N. HENRY and J.B. : *J. Biol. Chem.*, 224 (2) : 963-970, (1957).
- 37) ELGEE, N.J. R.H. WILLIAMS and N.D. LEE : *J. Clin. Invest.*, 33 : 1252, 1954.
- 38) HAUGAARD, N., M. VAUGHAN, E.S. HAUGAARD and W.C. STADIE : *J. Biol. Chem.*, 208 : 549, (1954).
- 39) RAFAELSEN, O.J : *Metabolism*, 10 (2) : 99, (1961).