The Influence of Pregnancy on the Serum Insulin measured by Three Methods

Nobuyuki ABE

The 1st Department of Internal Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine,
Kyoto, Japan (Director : Professor Hideo Yoshida M.D.)

1) There are several methods which have been used for the assay of blood insulin. Blood insulin is most usually measured by the rat diaphragm technique, the rat epididymal fat pad method and the radioimmunoassay. There are considerable discrepancies and different significances in values obtained from bioassays and immunoassay. Blood glucose and insulin concentration following 50g oral glucose loading in normal, mild untreated diabetic subjects, normal pregnancy, glucosuric pregnancy and diabetic pregnancy were measured for same sample by three assay methods for insulin,—the isolated diaphragm assay by observing the increase in uptake of glucose, the isolated rat epididymal fat pad assay using the oxidation of radioactive glucose to carbondioxide and the radioimmunoassay. Insulin assayed by three methods are referred to as DILA, FILA and IRI respectively. And blood glucose, NEFA and insulin by three methods were determined in old post menopausal women following 50 g glucose loading before and after administration of estriol 0.3 mg daily for four weeks.

2) In normal subjects, DILA, FILA and IRI rose in response to blood glucose, reached their peak levels in 60 minutes and returned to fasting levels within 120 minutes. Curves of insulin values after glucose loading were similar in three methods and a significant correlation was found between the blood glucose and insulin values. Among insulin levels by three methods, FILA constantly showed the highest level, DILA was a little lower and IRI was the lowest.

3) In diabetic subjects, fasting and after glucose loading, DILA was lower and FILA was higher than those of normal. Fasting IRI was found to be somewhat higher than that of normal. The IRI response to glucose showed a normal degree of insulin rise except the elevated level at 90 minutes. As compared to normal subjects, the rise of insulin values by three methods showed their peak being delayed to 90 minutes and did not fall basal line to 120 minutes. This delayed peak and delayed return to fasting levels are characteristic changes in diabetic insulin pattern. These findings indicate that there are inhibitor to insulin effect in muscle and activator or stimulator in adipose tissue, and initial low responsiveness of insulin secretion to glucose in β -cell in diabetes.

4) Fasting blood glucose level in normal pregnancy which was within normal range was lower than in normal subjects. The blood glucose level of normal pregnancy returned more slowly to the initial fasting level and was still elevated after 120 to 180 minutes. The blood insulin level fasting and after glucose loading, DILA showed less and FILA and IRI

did higher response than normal and diabetic subjects. The insulin response by three methods after glucose loading exhibited their peak in 60 minutes and returned to the fasting levels by 120 minutes, but IRI level at 90 minutes was higher than that of normal subjects. The lower DILA, the higher FILA and the elevated IRI at 90 minutes are similar changes of blood insulin in normal pregnancy and diabetics, because many hormones and other substances which are secreted or produced during pregnancy inhibit glucose metabolism in muscle and stimulate or activate it in adipose tissue like in diabetes.

5) The glycosuric pregnancy demonstrated the lowest blood glucose level and a delayed glucose tolerance curve which were like those of normal pregnant subjects. As compared to normal pregnancy, the higher DILA and lower FILA and IRI were observed in glycosuric pregnancy. These insulin patterns in glycosuric pregnancy tend to approach those in normal subjects. From this finding it would be the reason of glycosuria during pregnancy that glycosuric pregnancy could not have changes of some hormones and other substances which are seen in non glycosuric normal pregnancy.

6) Fasting blood glucose level and glucose tolerance test were observed in five diabetic pregnant subjects before and during pregnancy. The diabetes was improved in four cases of them and one had increased fasting glucose level with increase of duration of pregnancy. In four cases who were performed glucose tolerance test during pregnancy and after delivery, all had more impaired glucose tolerance after delivery than during pregnancy. The insulin values of DILA and IRI in diabetic pregnancy showed lower rise and delayed peak. This finding resembles the pattern of severe diabetes. FILA showed still higher but delayed response. This seems to be the result of the pregnant and diabetic patterns put together.

7) The mean blood glucose tolerance before and after estriol treatment was within normal limits and did not significantly differ. The group before the treatment showed higher fasting NEFA level and a delayed fall, and the nadir occurred in 120 minutes after glucose—as has been described in diabetic subjects, because these subjects were post menopausal women. In the estriol treated group, fasting NEFA was lower and the maximum depression occurred faster at 60 minutes as compared to the group before the treatment. Abnormal NEFA curve before the treatment was improved to normal pattern by estriol. The group before the treatment showed lower DILA and higher FILA which were similar to diabetic pattern like NEFA before the treatment. After the estriol treatment, DILA was somewhat higher and FILA slightly lower fasting and after glucose loading. These findings are the same as NEFA change. IRI level which was normal before the treatment, showed excessive response to glucose at 30 minutes but was not elevated at 90 minutes. The augmented rise of IRI after estriol was similar to that of normal pregnancy except low level at 90 minutes. Estriol was antidiabetic due to increase DILA and decrease FILA and stimulate insulin secretion. And estriol results in hyperinsulin levels of normal pregnancy but does not cause the changes of ILA during pregnancy. (pp. 937~951)

三測定法による血中インスリンに及ぼす妊娠の影響

京都府立医科大学第一内科学教室 (指導: 吉田秀雄教授)

阿 部 信 行

(昭和43年3月8日受付)

横隔膜法, 副睪丸脂肪組織法と免疫学的測定法の三法により妊娠時血清インスリンを測定し正常者, 軽症糖尿病患者と比較し又 **Estrogen** 投与によるインスリンの変化と比較した. 正常妊婦のインスリンは糖尿病的变化を示し尿糖陽性妊婦では正常妊婦の変化より正常に近づく傾向にあった. 糖尿病妊婦では重症糖尿病の変化に類似した. **Estrogen** は妊娠時の血中インスリン変化に関与しないものと思われる.

I 緒 言

糖尿病とはインスリンの絶対的又は相対的不足により惹起される代謝異常疾患であり, その発症は糖尿病素因を有する人に, 後天的に種々の環境因子が負荷される事により顕性となる事はよく知られる所である. 環境因子としては(1)肥満, (2)妊娠, (3)感染症, (4)甲状腺機能亢進症, (5)副腎皮質ホルモンの投与及びカッシング氏症候群, (6)末端肥大症及び巨人症等の成長ホルモン分泌過剰, (7)副腎髄質腫瘍, (8)サイアザイド剤の投与, (9)経口避妊薬の投与等がある.

特に妊娠時には糖代謝異常を来し易く, 糖尿病婦人が妊娠するとインスリン必要量が増加する事がある¹⁾. 又糖尿病家族歴を有する人, 巨大児分娩, 原因不明の流産, 子宮内胎児死亡, 奇形分娩の既応者, 妊娠中に糖尿を認めた事のある者等は妊娠時ブドウ糖負荷試験にて異常を示す事が多く, これらの人は妊娠分娩を繰返すうちに真の糖尿病になり易い²⁾. 更に独身者より既婚婦人に, そして分娩回数の多い婦人に糖尿病の頻度が大である事等が報告されている³⁾. 又妊娠時には外因性及び内因性インスリンに対する感受性の低下のある事が知られている⁴⁾⁵⁾⁶⁾. これらより妊娠は **diabetogenic** であると言い得る.

糖尿病の本態を解明する為血中インスリンを測定する事は必要欠くべからざる方法であるが, 血中インスリン測定法にも種々の方法があり, ラット横隔膜を利用する方法⁷⁾⁸⁾, ラット副睪丸脂肪組織を利用する方法⁹⁾¹⁰⁾, そして免疫学的測定法¹¹⁾¹²⁾¹³⁾の三つが現在最も広く行なわれている. しかし各測定法にも幾つかの問題が存在し, 免疫学的測定法により測られるインスリン (**IRI**) はインスリンに対して特異的であるが, 免疫学的に活性なインスリンがすべて生物学的活性を有するか, 又 **IRI** が他の測定法による値に比べ低い事より血中のすべてのインスリンを測定し得ているか疑わしい. インスリン様活性 (**ILA**) として示される横隔膜及び脂肪組織を利用する生物学的測定法は, 代謝の多様性からインスリン以外の物質の影響を受け, 特異性の面で欠ける所がある. しかし生体内, 特に筋肉及び脂肪組織に於けるインスリン様の生物学的活性をみる事は糖代謝を始め諸代謝の障害を観察する上に是非必要な事である.

現在まで種々の疾患について血中インスリンを横隔膜法, 脂肪組織法及び免疫学的測定法により測定した報告は数あるが, 三法により同一検体を測定した報告は少ない¹⁴⁾. 又妊娠時の血中インスリンを脂肪組織法, 免疫学的測定法により測定した報告¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾²⁴⁾はあるが, 横隔膜法による妊娠時血中インスリン測定の報告はなく, 勿論三法同時測定による報告もない. 著者は糖尿病発症因子の一つである妊娠が血中インスリンに及ぼす影響を観察する為, 正常者, 未治療糖尿病患者, 正常妊婦, 尿糖陽性妊婦, 糖尿病妊婦に 50g ブドウ糖経口負荷試験を行ない, **glucose uptake** を指標としたラット剔出横隔膜法⁷⁾⁸⁾, **Glucose 1-¹⁴C** から **¹⁴CO₂** 産生を指標としたラット剔出副睪丸脂肪組織法⁹⁾¹⁰⁾及び **Dextran-coated Charcoal** を利用した

免疫学的測定法¹²⁾¹³⁾の三法を用いて血中インスリンを測定し、更にその変化の本態を探る為妊娠時に増加する Estrogen の影響を検討せんとし、老年婦人に Estriol を投与し、その前後の血中インスリン及び NEFA の変化を観察した。

II 実験対象及び実験方法

(1) 対 象

(i) 正常者；内分泌疾患，肥満，肝疾患及び糖尿病家族歴のない，ブドウ糖負荷試験正常の年令15～60才の男10例，女10例，計20例。

(ii) 糖尿病患者；空腹時血糖140mg/dl以下の軽症未治療糖尿病患者で年令19～65才の男10例，女12例，計22例。

(iii) 正常妊婦；産科的異常なく，以前に巨大児分娩，異常分娩，尿糖陽性の既応なく，糖尿病家族歴を認めず，又尿糖，尿蛋白陰性の妊娠5ヵ月迄の者5例，妊娠6～10ヵ月の者5例，計10例。

(iv) 尿糖陽性妊婦；産科的異常なく，糖尿病家族歴なく，妊娠中一度でも尿糖陽性となつた妊婦で妊娠5ヵ月迄の者6例，妊娠6～10ヵ月の者7例，計13例。

(v) 糖尿病妊婦；妊娠前糖尿病として治療を受けていた者及び妊娠中真性糖尿病となつた妊婦8例。そのうち1例はインスリン治療を受けていた。

(vi) 老年婦人；閉経期以後の当内科高血圧クリニック通院中の60才以上の婦人8例。

(2) 実験方法

(i) 正常者，糖尿病患者，尿糖陽性妊婦，正常妊婦及び糖尿病妊婦に50gブドウ糖経口負荷試験(GTT)を行ない，血糖及び血中インスリンをラット剔出横隔膜法，ラット剔出副睾丸脂肪組織法，及び免疫学的測定法の三法にて測定した。

(ii) 老年婦人には Estriol 1日0.3mgを4週間経口投与し，投与前後に GTT を行ない血糖，NEFA，血中インスリンを測定した。

(3) 測定方法

(i) 血糖；Hagedorn-Jensen 氏法²⁵⁾

(ii) ラット剔出横隔膜法

Vallance-Owen⁷⁾及び奥村⁸⁾の方法に従い次の如く行なつた。恒温室にてオリエンタル固型飼料により一週間以上飼育したウィスター系雄性ラット4匹を24時間絶食後，断頭屠殺し，速みやかに横隔膜を摘出する。これを冷却した Gey & Gey buffer に浮遊して4分割し，その2片を予めブドウ糖200mg/dlの濃度を含む2.0mlの Gey & Gey buffer を入れた incubation flask に入れ，95%O₂，5%CO₂の混合ガスにて一分間ガス交換を行ない，37℃で90分間 incubate する。Incubation 前後の medium 中のブドウ糖濃度を Hagedorn-Jensen 氏法にて測定し，その差を横隔膜湿重量で補正し奥村⁸⁾と同様に glucose uptake を算出した。Incubation medium 中にブドウ糖添加 Gey & Gey buffer のみを使用した場合の glucose uptake を basal uptake とし，インスリン効果は被検液添加の際の glucose uptake より basal uptake を差し引いて求めた。標準曲線はインスリン濃度 10⁻²～10⁻⁵U/ml の間でインスリン効果とインスリン濃度の片対数との間で直線関係を示し，その回帰直線は $Y=0.732X-0.170$ で示された。尚血清の測定は5倍稀釈で測定し，この方法によるインスリンを DILA (Diaphragm Insulin Like Activity) と称す。

(ii) ラット剔出副睾丸脂肪組織法

Martin & Renold⁹⁾及び富川¹⁰⁾の方法に従つた。前法と同様に飼育した雄性ラット3匹を致死後，副睾丸脂肪組織を摘出し，Krebs-Ringer bicarbonate buffer に浮遊せしめ，組織末梢部を3分割し合計18個の組織片より3個を合わせ，その湿重量を120～180mgとして incubation flask に入れ，95%O₂，5%CO₂の混合ガスにて2分間ガス交換し，37℃3時間 incubate した。Incubation medium には Krebs-Ringer bicarbonate buffer 1.9ml と D-Glucose 1-14C 0.1ml (0.2μCi)，計2mlを入れその中にブドウ糖300mg/dl，Gelatin

200mg/dl を含む様に調整した。Incubation 後 center well に 1.8N NaOH 0.2ml を, medium 中に 10N H_2SO_4 0.2ml を注入し, 更に 1 時間 incubation 後発生せる $^{14}\text{CO}_2$ を NaOH に吸着させ, これを BaCl_2 , NH_2Cl の混合溶液を予め入れた遠沈管に移し, $\text{Ba}^{14}\text{CO}_2$ として Gas flow counter でカウントを測定し, count/min./mg tissue weight を算出した。標準曲線は $10^{-2}\sim 10^{-6}\text{U/ml}$ の範囲でインスリン濃度と $^{14}\text{CO}_2$ の CPM/mg の両対数の間に直線関係が成り立ち, その回帰直線は $Y=0.1037X+2.5066$ であつた。血清測定は 5 倍稀釈で行ない, この方法によるインスリンを FILA (Fat Pad Insulin Like Activity) と称す。

(iv) 免疫学的測定法

Herbert ら¹²⁾の Dextran-coated charcoal 法の吉田ら¹³⁾の変法に従い, この方法によるインスリンを IRI (Immuno-Reactive Insulin) と称す。

(v) NEFA; Dole の方法²⁶⁾に従つた。

III 実験成績

1) 正常者について (Fig. 1)

Fig. 1. Mean blood glucose and insulin levels during GTT in normal subjects

(i) 血糖

空腹時, 糖負荷後30, 60, 90, 120及び180分で夫々 82 ± 11 , 138 ± 16 , 125 ± 12 , 109 ± 8 , 90 ± 9 , 76 ± 12 mg/dlを示し30分で最高, 180分では前値以下となつた。

(ii) 血中インスリン

DILA は空腹時, 60, 120分で夫々 330 ± 38 , 637 ± 114 , $377\pm 99\mu\text{U/ml}$ で血糖によく反応し, 60分では前値の約2倍に上昇し, 120分では前値に復した。

FILA は空腹時, GTT 後30, 60, 90, 120分で夫々 386 ± 108 , 574 ± 164 , 821 ± 168 , 497 ± 130 , $391\pm 79\mu\text{U/ml}$ とななり, 60分で前値の約2倍と peak をなし120分で前値に復した。

IRI は空腹時より GTT 後120分まで 19 ± 6 , 68 ± 15.3 , 78 ± 13.2 , 52 ± 8 , $26\pm 3.6\mu\text{U/ml}$ を示し60分で前値の約4倍に増加した。

DILA, FILA, IRI の値を比較すると, FILA が最も高く, 次いで DILA はやや低く, IRI は非常に低い値を示すが三法によるインスリン反応はほぼ平行した。

(2) 糖尿病患者について (Fig. 2)

(i) 血糖

空腹時より 180分迄, 129 ± 30 , 213 ± 43 , 246 ± 40 , 249 ± 47 , 219 ± 51 , 171 ± 39 mg/dlを示し, 90分迄上昇し, 180分でも前値に復さなかつた。

Fig. 2. Mean blood glucose and insulin levels during GTT in diabetic subjects

(ii) 血中インスリン

DILA は空腹時, 60, 120分で 265 ± 74 , 373 ± 96 , $335 \pm 76 \mu\text{U/ml}$ となり, 空腹時既に正常者に比較して低く, GTT 後の反応も低く前値の約1.5倍にしか到らず, 又120分値は前値に戻らず遅延型の減少反応を示した。

FILA は空腹時より120分まで 522 ± 89 , 795 ± 159 , 1194 ± 202 , 1402 ± 166 , $960 \pm 117 \mu\text{U/ml}$ であり空腹時既に正常者より高く, 最高値は90分にて前値の約3倍を示し, 過剰遅延型の反応を呈し120分でも DILA 同様前値に戻らなかった。

IRI は120分まで夫々 28.8 ± 6.7 , 53 ± 9.6 , 72 ± 17.8 , 79 ± 14.8 , $63 \pm 12 \mu\text{U/ml}$ で空腹時は正常者より僅かに高いが最高値には差が認められなかった。しかし peak の遅延は前二者の ILA と同じく, 又120分でも尚高く前値に戻らなかった。

(3) 正常妊婦について

(i) 血糖 (Fig. 3)

空腹時より180分まで夫々 79 ± 2.6 , 118 ± 16 , 120 ± 16 , 108 ± 11 , 101 ± 10 , $82 \pm 14.4 \text{mg/dl}$ となり空腹時血糖は正常者より低いのが逆に120分, 180分の値は正常者より高く, GTT 後の血糖下降の遅れが認められた。

(ii) DILA (Fig. 4)

前, 60, 120分値の平均は 150 ± 54 , 353 ± 105 , $205 \pm 104 \mu\text{U/ml}$ で空腹時 DILA は正常者は勿論, 糖尿病患者より更に低く, 又60分の最高値も低くなっている。Peak は前値の約2倍に増加しているが120分に於いても前値に戻らず, 糖尿病患者の DILA 反応とよく類似する。

(iii) FILA (Fig. 5)

空腹時より120分迄 695 ± 223 , 1160 ± 280 , 1610 ± 249 , 1120 ± 238 , $1040 \pm 183 \mu\text{U/ml}$ で空腹時及び GTT 後の FILA は正常者, 糖尿病患者より更に高く, DILA 同様糖尿病の FILA 曲線に類似する, そして糖尿病患者以上に正常者とかけ離れた値を示した。しかし糖尿病の場合と異なり peak は60分に於いて認められた。

(iv) IRI (Fig. 6)

空腹時より120分迄の値は 37.6 ± 31.4 , 70 ± 22.4 , 105 ± 25 , 97 ± 22 , $54 \pm 17.2 \mu\text{U/ml}$ となり, 空腹時及び GTT 後の値は高く, 90, 120分では糖尿病同様高値を示したが peak は60分であつた。

(4) 尿糖陽性妊婦について

Fig. 3. Blood glucose levels during GTT in normal pregnant subjects

Fig. 4. DILA levels during GTT in normal pregnant subjects

Fig. 5. FILA levels during GTT in normal pregnant subjects

Fig. 6. IRI levels during GTT in normal pregnant subjects

(i) 血糖 (Fig. 7)

空腹時より180分まで 70 ± 10 , 109 ± 24 , 107 ± 11 , 99 ± 11 , 81 ± 15 mg/dl となり, 空腹時, GTT 後共に正常者は勿論, 正常妊婦よりも更に低く, 又正常妊婦同様血糖下降は遅延し180分でも前値に復さな

かつた。

(ii) DILA (Fig. 8)

Fig. 7. Blood glucose levels during GTT in glycosuric pregnant subjects

Fig. 8. DILA levels during GTT in glycosuric pregnant subjects

Fig. 9. FILA levels during GTT in glycosuric pregnant subjects

Fig. 10. IRI levels during GTT in glycosuric pregnant subjects

前, 60, 120分値は 170 ± 60 , 379 ± 97 , $149 \pm 90 \mu\text{U/ml}$ と空腹時は正常者より僅かに高いが糖尿病患者の値には達せず, 60分値は正常妊婦より高く糖尿病妊婦と同じ位の値を示し, 120分で前値に戻った. 尿糖陽性者の DILA は正常妊婦の DILA よりも正常者の反応に近づく傾向にあった.

(iii) FILA (Fig. 9)

空腹時より120分迄の値は 577 ± 195 , 835 ± 250 , 987 ± 216 , 797 ± 230 , $635 \pm 212 \mu\text{U/ml}$ であった. 空腹時, GTT 後共に正常者の値より高いが正常妊婦に比べると低く, 又最高値は60分で遅延は認められず, 120分

で殆んど前値に戻った。FILA も DILA 同様、尿糖陽性妊婦では正常妊婦の反応より正常者の反応に近づく傾向を示した。

(iv) IRI (Fig. 10)

前値より120分迄 30 ± 14.5 , 83 ± 23.3 , 85.4 ± 25.3 , 49.7 ± 12.4 , $35 \pm 13.8 \mu\text{U/ml}$ であった。前値及び GTT 後の最高値共に正常妊婦より低く、又糖尿病患者、正常妊婦に於いて90, 120分値が高かったのに比べて低く、120分では前値に戻り、IRI 反応も又正常者の反応に類似した。

(5) 糖尿病妊婦について

(i) 血糖 (Table 1)

Table 1 Blood glucose levels during GTT in diabetic subjects before and during pregnancy and Post partum

Name	Age	Before Preg. Month of Preg. Post partum	F	30'	60'	90'	120'	180'
T. A.	25	3	82	102	168	179	297	137
H. N.	24	3	74	175	191	172	125	108
K. M.	29	6	116	203	167	161	152	142
M. M.	30	Before 10	98 77	174 119	171 165	182 137	141 102	82 78
S. F.	37	Before	217	343	380	339	276	220
		3	70	139	165	143	103	56
		Post partum	98	183	243	—	230	128
K. S.	30	Before	122	143	212	245	218	—
		4	93	158	184	150	149	82
		10	63	107	98	88	97	94
		Post partum	65	138	170	184	147	92
A. S.	23	5	96	119	172	191	176	156
		6	166	209	191	197	180	166
		10	97	159	185	—	198	—
		Post partum	143	162	200	246	206	170
*H. F.	23	8	155	200	221	296	243	215
		Post partum	258	304	338	325	282	

*H.F. has been treated by insulin.

(mg/dl)

妊娠前又は妊娠中に GTT を行ない得た4例のうち、M.M., S.F. 及び K.S. の3例は空腹時血糖が妊娠により下降すると共に GTT の改善が認められた。又 H.F. は Fig. 11 に示す如く妊娠経過中一時インスリン必要量の減少を認めた。以上4例では妊娠により糖尿病の軽快が認められたが、症例 A.S. は妊娠と共に糖尿病が発病し経過と共に Fig. 11 の如く悪化の傾向を示した。妊娠中及び分娩後1週間以内に GTT を行ない得た S.F., K.S., A.S., H.S. の4例は全例で分娩後 GTT の悪化が認められた。

(ii) 血中インスリン (Table 2)

GTT が妊娠時正常化した S.F. 及び K.S. (10M) では DILA の空腹時及び GTT 後60分値は正常の値を示したが120分値は前値に戻らなかった。又悪化傾向を示した A.S. では GTT 後60分で逆に減少し10ヶ月目の120分値は異常高値を示した。DILA は一般に空腹時及び GTT 後共に低く、120分値は前値に戻り難い。

Fig. 11. Blood glucose during pregnancy in diabetic subjects

Table 2 Blood insulin levels during GTT in diabetic pregnant subjects

Name	Age	Month of Preg.	DILA			FILA					IRI				
			F	60'	120'	F	30'	60'	90'	120'	F	30'	60'	90'	120'
T. A.	25	3	75	150	10	820	900	1500	1850	680	13	5	22	46	20
H. N.	24	3	25	650	100	310	460	540	850	560	13	26	52	56	26
K. M.	29	6	180	155	250	520	650	775	2300	260	3	3	20	7	8
M. M.	30	10	52	145	100	920	960	820	1450	1650	22	40	40	44	42
S. F.	37	3	300	600	400	255	310	420	620	310	13	24	26	48	20
K. S.	30	4	150	400	214	560	690	1800	3100	1150	12	34	62	64	33
		10	290	545	415	370	420	840	680	355	18	45	72	80	54
A. S.	23	5	68	10	10	1120	460	2300	950	1000	8	10	11	0	7
		10	85	10	1200	2500	3480	615	1450	160	12	—	40	14	22
Mean			134	296	300	819	918	1067	1472	681	13	23	38	40	26

(μU/ml)

FILA に於いても S.F., K.S. (10M) 及び最も軽い GTT 異常を示した H.N. では空腹時及び GTT 後共に正常範囲の値を示したが, H.N., S.F. では peak の遅延が認められた. 悪化した A.S. では空腹時異常に高く, GTT 後逆に減少傾向を示した. 一般に FILA は糖尿病患者や正常妊婦と同様に空腹時, GTT 後高く peak の遅延が認められた.

IRI も S.F., H.N., K.S. (10M) では GTT 後に於いて充分 IRI 反応が認められるが DILA, FILA 同様 peak の遅延が認められた. しかし全般に GTT 後過少遅延型の反応を示した.

(6) 老年婦人に Estriol を投与した場合

(i) 血糖 (Fig. 12)

Estriol 投与前後の GTT は共に正常であり, 投与前後に於いて血糖の有意の変化は認められなかった.

(ii) NEFA (Fig. 12)

Fig. 12. Mean blood glucose and NEFA levels during GTT in post menopausal women before and after estriol treatment

Fig. 13. Mean blood insulin levels during GTT in post menopausal women before and after estriol treatment

Estriol 投与前空腹値は $915 \mu\text{Eq/L}$ と高値を示し, GTT 後の減少は遅延し120分で最低値 $333 \pm 42 \mu\text{Eq/L}$ であつた. Estriol 投与後空腹時は $577 \pm 150 \mu\text{Eq/L}$ と減少し, GTT 後の最低値は低下して $265 \mu\text{Eq/L}$ となり, その時間も60分と早くなつた.

(iii) 血中インスリン (Fig. 13)

Estriol 投与前空腹時 DILA は $253 \pm 180 \mu\text{U/ml}$ と低く, GTT 後の DILA 反応も低く $518 \pm 220 \mu\text{U/ml}$ で軽度ながら糖尿病に類似した曲線を示したが Estriol 投与後空腹値 $310 \pm 100 \mu\text{U/ml}$, GTT 後60分で $618 \pm 180 \mu\text{U/ml}$ と有意な変化でないが上昇し, 正常者の曲線へ近づく傾向にあつた.

FILA は投与前空腹時 $653 \pm 100 \mu\text{U/ml}$, GTT 後90分で最高値 $1110 \pm 200 \mu\text{U/ml}$ と正常者に比べて高く,

peak の遅延を認め糖尿病的であつたが, Estriol 投与後, 前値は $560 \pm 110 \mu\text{U/ml}$, GTT 後 peak は60分で $810 \pm 130 \mu\text{U/ml}$ と共に低下し, これも又 NEFA, DILA 同様正常に近づく傾向にあつた. DILA, FILA は Estriol 投与により妊娠時とは逆の変化を示した.

IRI は Estriol 投与前正常であり, 投与後空腹時は $9.0 \pm 4.0 \mu\text{U/ml}$ より $13.0 \pm 3.0 \mu\text{U/ml}$ と, 又 peak は30分で $79.0 \pm 24.0 \mu\text{U/ml}$ より $120 \pm 30 \mu\text{U/ml}$ と増加した. しかし peak の遅延は認められなかつた. 妊娠時の IRI の変化と比較し過剰反応と云う点で一致を見た.

IV 総括並びに考按

正常者の血中インスリンに関する報告は数多いが測定法によつて数値に差がある事は勿論, 同種の測定法であつても測定条件の相異により可成りの異なつた値が報告され, 特に ILA に関しては著しい²⁷⁾. 正常者の空腹時の値は DILA に於いては著者と同様稀釈血清を使用した奥村⁸⁾, 辻²⁸⁾らの, FILA は Martin⁹⁾ ら及び Daweke²⁹⁾ らの, そして IRI は Berson¹¹⁾, Herbert¹²⁾ らの成績とよく一致している. GTT 後は DILA, FILA, IRI 共に血糖によく反応して増加し, 三者はほぼ平行して60分で最高を示し, 120分では前値に戻つた. DILA, FILA 及び IRI の三者の値を比較すると, FILA が常に最高を示し, 次いで DILA が高く, IRI は非常に低い値を示し, 又 GTT 後の反応が空腹時に比較し, FILA と DILA は約2倍であるが IRI では4倍であつた. この事より横隔膜の筋肉組織及び副睪丸脂肪組織に対しインスリン様作用を阻害又は促進するものに差異があると共に生物学的活性を示すものと免疫学的活性を示すものが同一物でない事が考えられる. ラット横隔膜に対し Anoxia³⁰⁾, Phenformin, Salicylate²⁷⁾, Pepsin³¹⁾ 又は Chymotrypsin³²⁾ らの蛋白分解酵素, Cyclic 3',5'-AMP³³⁾, Estrogen³⁴⁾, 等はインスリン様作用を示し, 脂肪組織に於いては GH, ACTH, Adrenalin³³⁾³⁵⁾, Glucagon³⁶⁾, Synalbumin³⁷⁾, NEFA³⁸⁾, HPL³⁹⁾ 等はブドウ糖の CO_2 への酸化を促進してインスリン様の作用を示す. 又 DILA, FILA は共に稀釈³⁰⁾⁴⁰⁾及び透析⁴¹⁾によりインスリン効果の増大する事より夫々に対する阻害物質の存在が考えられる. FILA を促進する GH³³⁾, Adrenalin³³⁾, NEFA³⁸⁾⁴²⁾, 及び, Synalbumin⁴³⁾, その他に Glucocorticoid⁴⁴⁾, Boundinsulin⁴⁵⁾ 等は DILA を抑制し, 又 Phenformin⁴⁶⁾ は DILA を促進する反面 FILA を抑制し, 更に Power⁴⁷⁾ は FILA の Antagonist の存在する事を報告している. 吉田⁴⁰⁾ は Sephadex G-75 により分離した血清蛋白分画及び TCA-ethanol extracts の中に結晶インスリンに対し FILA activator, DILA inhibitor の存在する事を, Power⁴⁸⁾ は γ -Globulin に FILA activator の存在する事を報告している. これらより DILA, FILA のインスリンに対する特異性は全く疑わしくなつた. 吉田⁴⁹⁾ らは人に I^{131} でラベルしたインスリンと結晶インスリンを静注して Fraction dose を求め, DILA, FILA は静注された結晶インスリン以上のものを測定している事を報告している. Antoniadis⁵⁰⁾ は血中でインスリンは Free と Bound の型で存在し, Free は DILA として働くが Bound は DILA に対して抑制的⁴⁵⁾に作用し, FILA としては Free も Bound も両型がインスリンとして働き得ると述べている. 又 Froesch⁵¹⁾, Samaan⁵²⁾ は FILA にはインスリン抗体で抑制される部分即ち typical 又は suppressible ILA と抑制されない部分即ち atypical 又は nonsuppressible ILA (NSILA) が存在し, suppressible ILA は結晶インスリンと全く類似するもので IRI と同じものであるが NSILA は免疫学的にも物理化学的にもインスリンと異なり分子量の大きなもので⁵³⁾ GTT により増減しない事を報告している. 以上より DILA, FILA は筋肉及び脂肪組織に対しインスリン様作用を示す物質の集約であろうと考えられ, GTT 後, DILA 及び FILA が IRI に比し増加率の低い事は GTT により変化しないインスリン以外のものを合わせ測定している為である. IRI はインスリンに対し特異的であるが免疫学的活性部分がその儘生物学的活性を示すか疑問がある. 吉田⁴⁰⁾ は結晶インスリンを加熱する事により FILA, DILA は減少するにも拘らず IRI に変化なく生物学的活性と免疫学的活性に差がある事を報告している. 又 Pruitt³²⁾ らは Chymotrypsin がインスリン抗体と交叉反応を示しインスリン以外のものでも IRI として測定され得る事を示している.

糖尿病患者では空腹時 DILA は低下, FILA 及び IRI は高値を示し, GTT 後 DILA 反応は正常者よ

り低く, **FILA** 反応は高くなり, **IRI** は正常者の最高値と差はなかつた. **DILA** に関しては奥村⁸⁾の, **FILA** では **Steinke**⁶⁴⁾, **Power**⁵⁵⁾ らも同様の結果を報告している. 又三法共 **peak** の遅延及び120分での前値への戻りの悪い事が認められた. これらより糖尿病時には筋肉組織に於いてインスリン作用を抑制し, 逆に脂肪組織でインスリン作用を増加させるもの, 例えば **GH**³³⁾³⁵⁾, **NEFA**³⁸⁾⁴²⁾, **Synalbumin**³⁷⁾⁴³⁾, **Boundinsulin**⁴⁵⁾⁵⁰⁾ 等の影響が強い事が示唆される. 吉田⁴⁰⁾は糖尿病患者では血清蛋白分画及び **TCA-ethanol extracts** 中に結晶インスリンに対し **DILA inhibitor**, **FILA activator** が増加している事を, **Power**⁵⁶⁾ は β and faster moving γ -globulin 中にみられる **FILA** は糖尿病患者では正常者の約2倍存在する事を, 又 **Antoniades**⁵⁰⁾ は糖尿病時には **Bound insulin** より **Free insulin** への転換が充分行なわれない事を述べている. 三者に共通してみられるインスリンの遅延反応について **Seltzer**⁵⁷⁾ は糖尿病患者の β 細胞は血糖上昇に対し反応性の低下がある事を, **Buchanan**⁵⁸⁾ らはブドウ糖に対するインスリン分泌閾値の上昇があるか又は膵臓にインスリン分泌又は合成異常があるのではないかと述べている. ブドウ糖負荷に対し血中インスリン反応が遅延する事は糖尿病に特徴的な事と思う.

妊娠時空腹時血糖は正常者より低いが, 妊娠中と正常婦人又は分娩後を比較し **Silverstone**⁵⁹⁾ **Spellacy**¹⁷⁾¹⁸⁾ 及び **Bleicher**²⁴⁾ らも同様の成績を発表している. これは妊娠時ブドウ糖が胎盤を通過して胎児に利用される事によりブドウ糖の分布領域が増加する為であろう⁵⁹⁾. **Bleicher**²⁴⁾ らは空腹時血糖が低く血中 **NEFA** が高い事より妊娠は **accelerated starvation** の状態であると言う. 妊娠時 **GTT** を行なうと120, 180分の血糖値は正常者より逆に高く血糖下降が遅れる事を認めたが, 同様の多くの報告がある²⁾. これは妊娠時の胃圧迫拳上, 運動性の低下等の為ブドウ糖の吸収が遅れて遅延型の **GTT** 曲線を成すものと考え. しかしながら **Abramovich**⁶⁰⁾ は妊娠時には静注法より経口法による **GTT** の方が信頼性が高い事を報告している.

正常妊娠時の血中インスリンは空腹時で, **DILA** は低く, **FILA**, **IRI** は高値を示し, **GTT** 後の反応は **DILA** は低く, **FILA**, **IRI** は高く又 **IRI** は90分にて高値を示した. これらは糖尿病に類似したインスリンの変化であつた. しかしながら糖尿病患者に於いて **peak** が90分であつたにも拘らず正常妊婦では60分に於いて認められる事より糖尿病と全く同じ状態にあるとは云いきれない. 妊娠時血中インスリンが高い事は諸家の報告¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²³⁾²⁴⁾にみられる様一致した成績であり, 特に **IRI** が高い¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²³⁾²⁴⁾ 事より血中インスリン自体の増加がある. これは妊娠時インスリン感受性の低下が認められる事⁴⁾⁵⁾⁶⁾より末梢組織に対するインスリン作用阻害物質の存在が考えられ, これに打ち勝つ為母体膵臓からインスリン過剰分泌が起る事に起因すると考えられる. 妊娠時インスリン作用を阻害し, 直接又は間接にインスリン分泌を起す多くの物質が増加する事が報告されている. 例えば **GH** と免疫学的及び生物学的に類似した作用を有す **Human Placental Lactogen (HPL)** は妊娠8週頃より増加し, 妊娠末期には正常非妊婦の **HGH** の1000倍以上に達し分娩後4時間で消失する⁶¹⁾. 妊娠時 **HGH** はインスリン低血糖に対し殆んど反応性増加を起さず⁶²⁾, 妊娠時 **GH** の役割は **HPL** により代償されているのであろう. その他 **Corticoid**⁶³⁾, **Estrogen**⁶⁴⁾⁶⁵⁾, **Glucagon**²¹⁾らのホルモン又 **NEFA**²⁰⁾²⁴⁾, **Synalbumin**⁶⁶⁾ 等が妊娠時増加する. これらのうち **GH**³³⁾, **Corticoid**⁴⁴⁾, **Glucagon**⁶⁷⁾, **NEFA**³⁸⁾⁴²⁾, **Synalbumin**⁴³⁾ は横隔膜の **glucose uptake** を抑制するが, **GH**³³⁾³⁵⁾ **HPL**³⁹⁾, **Glucagon**³⁶⁾, **NEFA**³⁸⁾, **Synalbumin**³⁷⁾ は脂肪組織のブドウ糖の酸化を促進する事が認められている. 更に **GH**⁶⁸⁾, **HPL**⁶⁹⁾, **Glucagon**⁷⁰⁾, **Corticoid**⁷¹⁾ は血糖上昇作用の他にインスリン分泌を促す. 又 **Freinkel**⁷²⁾ は **Glucagon**, **ACTH** は胎盤のインスリン分解酵素の働きを阻止する事を報告している. これらより妊娠時には筋肉組織の糖代謝を抑制して **DILA** の低下をそして脂肪組織のブドウ糖の酸化を促進して **FILA** の上昇を招来すると共に糖代謝障害の結果間接的に又は直接的に膵臓に働いてインスリン分泌を増加させて **IRI** の上昇を来す事は充分納得の行く事である. 以上より妊娠時には血中インスリンよりみると糖尿病的な変化が認められ, 糖尿病の素因のある人には膵臓に過負荷がかかり, 妊娠を繰り返すうちに糖尿病を発症する.

尿糖陽性妊婦の血糖は正常者及び正常妊婦よりも更に低く, これは尿糖排泄の結果によるものであろう.

又 GTT が正常である事よりこの尿糖は腎性糖尿の一つであろう。妊娠時の糖尿について、Welsch⁷³⁾ は妊娠時には腎の GFR の増加があり、尿糖陽性妊婦では尿細管でのブドウ糖の再吸収が減少しこの結果腎の糖排泄閾値の低下を起す為であろうと述べている。その機序として Kass⁷⁴⁾ らは ACTH が又 Nelson⁷⁵⁾ は妊娠時増加する Estrogen により Cortisol の作用が増強される事が、森下⁷⁶⁾ は妊娠時の Estrogen, Progesterone 及び Gonadotrophin らのホルモン平衡不全により腎の Hexokinase の低下を生ずる事が原因であると云う。血中インスリンは正常妊婦にみられる糖尿病的变化が少なく、正常者のインスリン反応に近づく傾向にあつた。これは尿糖陽性妊婦では正常妊婦に起るべきホルモンの変化が充分起り得ず、その為に血中インスリンも正常妊娠時にみられる変化が起らず、その結果尿糖を排泄する事により血糖をさげて妊婦を保護するものとする。

糖尿病患者が妊娠すると悪化、不変、軽快と種々の経過を示す事が報告されているが、Table 1 及び Fig. 11 にみる如く軽快した 4 例、悪化した 1 例を認めた。又分娩後は全例で GTT の悪化を認めたがこれは分娩と云う大きな負荷及び胎盤の排出等によりホルモン分泌の急激な変化が原因するのであろう。血中インスリンは一般に DILA は正常妊婦、糖尿病妊婦より更に低く、IRI も遅延減少型の反応を示し、FILA は正常妊婦には及ばぬが尚高い傾向にあつた。進藤¹⁴⁾ は重症型の糖尿病では DILA, FILA 及び IRI のすべてが減少すると述べているが、糖尿病妊婦の血中インスリンは重症型の変化を示し、FILA が尚高いのは妊娠時の高い FILA 反応と重症型の低い FILA 反応が重なり合つたものと解釈出来る。しかし妊娠時 GTT が正常化した S.F., K.S. (10M) では DILA, FILA, IRI 共に正常者と同じ反応であつた。

妊娠時血中及び尿中 Estrogen 特に Estriol は妊娠月数が進むにつれて増加する⁶⁴⁾⁶⁵⁾。又 Estrogen と Progesterone の合剤である経口避妊薬投与により GTT 異常を来し易く、血中 IRI⁷⁷⁾, NEFA⁷⁸⁾, GHG⁷⁹⁾ の増加する事が報告されている。Rodriguez⁸⁰⁾ は豚垂全剔動物に Estrogen を投与する事により始めは糖尿病を増加させる事を報告しているが、Progesterone が糖代謝に無影響である⁸¹⁾ 事より妊娠時の血中インスリンの変化に Estrogen の関与する事が考えられる。著者の成績では老年婦人に Estriol 投与の結果血糖に変化を認めぬが、空腹時及び GTT 後、DILA は増加、FILA は減少の傾向を示し糖尿病患者及び正常妊婦に於ける変化と逆の変化を認めた。NEFA は老年婦人を対象とした為か Estriol 投与前、空腹時値は高く、GTT 後の低下の遅延があり糖尿病に類似した曲線を示したが Estriol により正常化を示した。しかし IRI は妊娠時同様過剰反応を示した。Rodriguez⁸⁰⁾ は剔垂全剔動物で雄の方がそして雌でも卵巢摘出後の方が糖尿病発症頻度が増加し、Estrogen を投与するとまず糖尿病の悪化に続いてその後糖尿病の治癒傾向を認め、その際脾臓のラ氏島の肥大を示す二相性の変化を、そして Estrogen に抗糖尿病性作用のある事を報告している。磯矢³⁴⁾ は Estrogen が in vitro で横隔膜の glucose uptake を増加させる事を、野田⁸²⁾ は Estrogen 投与により NEFA の減少を、卵巢剔出により NEFA の増加する事を報告している。Estrogen は脾臓に作用してインスリン分泌を促すと共に血中 NEFA を減少させ、筋肉の糖代謝を増加させ、脂肪組織のブドウ糖酸化を抑制する事により抗糖尿病作用を有する。又一般に糖尿病妊婦の血中 Estrogen 値は正常妊婦に比べ低いと云われる⁸⁴⁾ が、妊娠時 Estrogen 分泌が充分であれば糖尿病妊婦に於いて糖尿病の軽快が起り得るものと推測する。又糖尿病妊婦で分娩直後悪化を示したのは分娩と共に Estrogen 分泌減少を来す事が一因をなしているであろう。

V 結 語

(1) ラット剔出横隔膜法、ラット剔出副睪丸脂肪組織法及び免疫学的測定法の三法により、正常者、未治療糖尿病患者、正常妊婦、尿糖陽性妊婦、糖尿病妊婦の血糖及び血中インスリンを測定した。更に閉経期後の婦人に Estriol を投与しその前後で血糖、NEFA、及び三法による血中インスリンを測定し妊娠時に於ける変化の本態について若干の検討を加えた。

(2) 三法による血中インスリンは FILA で最も高く次いで DILA で高く、IRI は非常に低く、GTT 後血糖によく反応し正常者では 60 分で最高となり 120 分で前値に戻つた。

(3) 糖尿病患者では DILA は低く, FILA は高く, 筋肉組織に於いてインスリン作用を抑制する inhibitor そして脂肪組織でそれを増強する activator が増加している. 又 DILA, FILA, IRI 共に peak の遅延を認め 120 分で前値に戻らなかつた.

(4) 正常妊婦では, 正常者に比べ空腹時血糖は低く, GTT 後は逆に血糖下降が遅延した. 血中インスリンは正常者, 糖尿病患者に比べ, DILA は更に低く, FILA, IRI は過剰反応を示し糖尿病時の変化に類似した.

(5) 尿糖陽性妊婦では血糖は正常者より更に低く GTT 後血糖下降の遅延があつた. 血中インスリンは DILA, FILA, IRI 共に正常妊婦の変化から正常者の変化に近づく傾向にあつた.

(6) 糖尿病妊婦では妊娠時軽快する者が多く, 分娩後は全例で悪化した. DILA, IRI は低く, Peak は遅延型を示し重症型糖尿病の変化に類似した. FILA は妊娠時の変化及び重症型糖尿病の変化が重なり合つた変化を示し, 尚高く peak は遅延型を示した. GTT が正常化した際にはインスリン反応も正常化した.

(7) 老年婦人に Estriol を投与すると血糖に変化なく, NEFA, DILA, FILA は妊娠時及び糖尿病時の変化と逆の変化を示し, 妊娠時血中インスリンが糖尿病的となる事に対し Estrogen は関与しないものと思う.

稿を終るに臨み, 始終御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師吉田秀雄教授に深甚なる謝意を捧げると共に, 種々御教示頂いた奥村賢太郎講師に心から深謝の意を表します. 尚本研究に御協力頂いた進藤岱三, 阿部敦, 足立典夫学士に感謝します.

参 考 文 献

- 1) LONG, W.N., W.L. HARTMANN, P.H. FUTCHER & N.J. EASTMAN: *Obst. & Gynec.*, 3: 160, (1954)
- 2) KYLE, G.C.: *Ann. Intern. Med.*, 59: Suppl. 3: 1, (1963)
- 3) JACKSON, W.P.U.: *Diabetes*, 9: 373, (1960)
- 4) BURT, R.L.: *Obst. & Gynec.*, 7: 658, (1956)
- 5) BURT, R.L.: *Obst. & Gynec.*, 12: 447, (1958)
- 6) SPELLACY, W.N., F.C. GOETZ, B.Z. GREENBERG & K.L. SCHOFFLER: *J. Clin. Endocr.*, 25: 1251, (1965)
- 7) VALLANCE-OWEN, J. & B. HURLOCK: *Lancet*, 1: 68, (1954)
- 8) 奥村賢太郎: 日内分泌誌, 35: 1564, (1960)
- 9) MARTIN, D.B., A.E. RENOLD & Y.M. DAGENAIS: *Lancet*, 2: 76, (1958)
- 10) 富川哲夫: 日内分泌誌, 42: 814, (1966)
- 11) YALOW, R.S. & S.A. BERSON: *J. Clin. Invest.*, 39: 1157, (1960)
- 12) HERBERT, V., K.S. LAU, C.W. GOTTLIEB & S.J. BLEICHER: *J. Clin. Endocr.*, 25: 1375, (1965)
- 13) 吉田秀雄他: 日内分泌誌, 44: 181, (1968)
- 14) 進藤岱三: 日内分泌誌, 44: 掲載予定, (1968)
- 15) WELSH, G.W.: *Diabetes*, 9: 466, (1960)
- 16) LEAKE, N.H. & R.L. BURT: *Diabetes*, 11: 419, (1962)
- 17) SPELLACY, W.N. & F.C. GOETZ: *New. Engl. J. Med.*, 268: 988, (1963)
- 18) SPELLACY, W.N., F.C. GOETZ, B.Z. GREENBERG & J. ELLS: *Am. J. Obst. & Gynec.*, 92: 11, (1965)
- 19) SPELLACY, W.N., F.C. GOETZ: *Obst. & Gynec.*, 25: 862, (1965)
- 20) PICARD, C., H.A. OOMS, E. BALASSE & V. CONARD: *Diabetologia* 4: 16, (1968)
- 21) LOPEZ-QUIJADA, C., J. GOMEZ-ACEBO & J.L.R.-CANDELA: *Diabetologia* 3: 435, (1967)
- 22) DITTMAR, F., H. MEHNERT, G. SCHÄFFER, H. FÖRSTER & G. KRAKAU: *Klin. Wschr.*, 44: 221, (1966)
- 23) IRIS M. TRAYNER, T.A. WELBORN, A.H. RUBENSTEIN & T.R. FRASER: *J. Endocr.*, 37: 443, (1967)
- 24) BLEICHER, S.J., J.B. O'SULLIVAN & N. FREINKEL: *New. Engl. J. Med.*, 271: 866, (1964)
- 25) HAGEDORN, H.G., HARSTRÖM & JENSEN NORMAN: *Hospitalstidende*, 78: 1193, (1935)
- 26) DOLE, V.P.: *J. Clin. Invest.*, 35: 150, (1956)
- 27) BATCHELOR, B.R.: *Diabetes*, 16: 418, (1967)
- 28) 辻

- 昇三ら：日内分泌誌，34：31，(1958). 29) DAWEKE, H. & BACHI, I. : Metabolism, 12 : 319, (1963) 30) RANDLE, P.J. : Biochem. J., 70 : 490, (1958) 31) RIESER, P. : Acta Endocr., 54 : 375, (1967) 32) PRUITT, K.M., B.R. BOSHELL & R.A. KRISBERG : Diabetes. 16 : 449, (1967) 33) WILLIAMS, R.H. & J.W. ENSINCK : Diabetes, 15 : 623, (1966) 34) 磯矢良：日内分泌誌，38：481，(1961) 35) JEANRENAUD, B. : Metabolism, 10 : 538, (1961) 36) ABE, M. : On the Nature and Treatment of Diabetes, (1965), 283, Excerpta Medica Foundation 37) ALP, H. & L. REGANT : Metabolism, 13 : 609, (1964) 38) KIPNIS, D.M. : On the Nature and Treatment of Diabetes, (1965), 258, Excerpta Medica Foundation 39) FRIESEN, H. : Endocrinology, 76 : 369, (1965) 40) 吉田秀雄：日内分泌誌，43：574，(1967) 41) GJEDDE, F. : Acta Endocr., 57 : 478, (1968) 42) RANDLE, P.J. : On the Nature and Treatment of Diabetes, (1965), 361, Excerpta Medica Foundation 43) VALLANCE-OWEN, J. : On the Nature and Treatment of Diabetes, (1965), 340, Excerpta Medica Foundation 44) MANCHESTER, K.L., P.J. RANDLE & F.G. YOUNG : J. Endocrinol, 18 : 38, (1959) 45) ANTONIADES, H.N. & S.N. GERSHOFF : Diabetes, 15 : 655, (1966) 46) PEREIRA, J.N., N.O. JANGAARD & E.R. PINSON : Diabetes, 16 : 869, (1967) 47) POWER, L. & J. SHUMAN : Diabetes, 16 : 483, (1967) 48) POWER, L., C. LUCAS & J.W. CONN : Diabetes, 14 : 10, (1965) 49) 吉田秀雄他：日内分泌誌，42：1372，(1967). 50) ANTONIADES, H.N. : On the Nature and Treatment of Diabetes (1965), 194, Excerpta Medica Foundation 51) FROESH, E.R., H. BÜRGI, E.B. RAMSIER, P. BALLY & A. LABHART : J. Clin. Invest., 42 : 1816, (1963) 52) SAMAAN, N., R. FRASER & W.J. DAMPSTER : Diabetes, 12 : 339, (1963) 53) BÜRGI, H.W., W.A. MÜLLER, R.E. HUMBLE, A. LAMHART & E.R. FROESH : Biochem. Biophys. Acta, 121 : 349, (1966) 54) STEINKE, J., J.S. SOELDNER, R.A. CAMERINI-DAVOLOS & A.E. RENOLD : Diabetes, 15 : 502, (1963) 55) POWER, L., B. REYES-LEAL & J.W. CONN : Metabolism, 13 : 1297, (1964) 56) POWER, L., B. REYES-LEAL & J.W. CONN : Diabetes, 14 : 71, (1965) 57) SELTZER, H.S. : J. Clin. Invest., 46 : 323, (1967) 58) BUCHANAN, K.D. & McKIDDIE, M.T. : Diabetes, 16 : 466, (1967) 59) SILVERSTONE, F.A., E. SOLOMONS & J. RUBRICIUS : J. Clin. Invest. 40 : 2180, (1961) 60) ABRAMOVICH, D.R. : J. Obst. & Gynec. 73 : 105, (1966) 61) BECK, P., M.L. PARKER & W.H. DAUGHADAY : J. Clin. Endocr., 25 : 1457, (1965) 62) MINTZ, D.H., R. STOCK, J.L. FINSTER & A.L. TAYLOR : Metabolism, 17 : 54, (1968) 63) GEMZLL, C.A. : J. Clin. Endocr., 13 : 898, (1953) 64) ROY, E.J. & M.G. KERR : J. Obst. & Gynec., 71 : 106, (1964) 65) 木本範子：日産婦誌，14：44，(1962). 66) ALP, H. & REGANT, L. : J. Clin. Invest., 44 : 870, (1965) 67) CANDELA, J.L.R. & CANDELA, R.R. : In Ciba Foundation Colloquia on Endocrinology 9 : 194, (1956) 68) LUFT, R. & E. CERASI : Diabetologia, 4 : 1, (1968) 69) SAMAAN, N., S.C.C. YEN, D. GONZALEZ & O.H. PEARSON : J. Clin. Endocr., 28 : 485, (1968) 70) SAMOLS, E., G. MANI & V. MARKS : Diabetes, 15 : 855, (1966) 71) BASSETT, J.M. & A.L.C. WALLANCE : Diabetes, 16 : 566, (1967) 72) FREINKEL, N. : On the Nature and Treatment of Diabetes, (1965), 679, Excerpta Medica Foundation 73) WELSH, G.W. & E.H.H. SIMS : Diabetes, 9 : 363, (1960) 74) KASS, E.H., S.H. INGBAR & M.W. JOHNSTON : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 73 : 169, (1950) 75) NELSON, D.H., H. JANNEY, G. MESTMAN, V. GIESHEN & J. WILSON : J. Clin. Endocr., 23 : 261, (1963) 76) 森下和彦：産婦の進歩，13：245，(1961). 77) SPELLACY, W.N. & K.L. CARLSON : Am. J. Obst. & Gynec., 95 : 474, (1966)

- 78) WYNN, V. : Lancet 2 : 715, (1966) 79) SPELLACY, W.N., K.L. CARLSON & L.L. SCHADE : J. Amer. Med. Assoc., 202 : 115, (1967) 80) RODORIGUEZ, R.R. : On the Nature and Treatment of Diabetes, (1965), 290, Excerpta Medica Foundation. 81) WILLIAMS, R.H. : Textbook of Endocrinology, 3rd ed. (1963) 588, Saunders Co. 82) 野田信顕 : 日内分泌誌, 42 : 29, 1966.