The Influence of Obesity on Serum Insulin Measured by Three Methods

Atsushi ABE

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

It has been suggested that there is close relationship between obese subjects and maturity onset diabetes from William's and Ogilvie's reports.

In the present study, this relationship between obesity and diabetes mellitus examined by determining the plasma insulin responsiveness of normal weight and obese, nondiabetic and diabetic subject to oral glucose loading. These plasma insulin were measured by three methods :the value of the rat diaphragm assay=DILA, the value of the rat epididymal fat pad assay=FILA, and the value of the radio-immunoassay=IRI.

By comparison among these three assayed values, the investigation was undertaken to study about the effect of obesity on insulin activity.

In comparison with normal subjects, non-obese diabetics in fasting and after oral glucose loading, exhibited the low DILA, elevated FILA, slightly elevated IRI with delayed peak. It was considered that this pattern of assayed values by three methods resulted from diabetes mellitus and represented a diabetic changes. Obese diabetic subjects more definitely manifested these diabetic changes on the insulin responsiveness to glucose loading by three methods.

Despite the normal glucose tolerance, obese subjects had also diabetic changes on the insulin responsiveness by three methods.

This investigation had shown that the decrease in plasma NEFA following glucose administration was slower and smaller in obese and obese diabetic subjects than in normal subjects.

From these findings, it supposed that the high plasma NEFA levels following glucose loading gave the diabetic pattern on the insulin responsiveness by three methods.

Then for the purpose of observing what effects were made by the high plasma NEFA on the insulin activity by three methods, the rabbits fed high fat diet for fifty to seventy days. It noted that the high fat diet fed rabbit became obesity and had fasting high plasma NEFA concentration and disturbing the decrease of plasma NEFA following glucose loading.

The plasma of rabbit which had high NEFA concentration showed the same diabetic pattern of insulin activity by three assay methods as that of the obese human subjects.

To study the effect of NEFA on the biological insulin activity to muscle and adipose tissue in vitro, the elevated plasma NEFA were obtained from the obese rabbits following intravenous heparin injection after seventy days fed high fat diet. This elevated plasma

NEFA exhibited the pattern of insulin activity that DILA was low, FILA was elevated and IRI was unchangeable.

From these findings, it became evident that the high NEFA concentration produced the diabetic insulin responsiveness (i.e. low DILA, elevated FILA and IRI) on plasma of the obese subjects.

Generally speaking, obesity had a normal glucose tolerance, however

1) obesity showed diabetic changes on the insulin responsiveness by three insulin assay methods,

2) obesity exhibited abnormal fat metabolism with fasting high NEFA levels and disturbing of decrease in plasma NEFA following glucose administration.

3) obesity had a insulin resistance to muscle glucose metabolism (DILA ↓)

4) obesity demanded the increased insulin secretion from pancreatic β -cells (IRI ↑).

From these points obesity might become the diabetic stress and might caused one who had a family history of diabetes mellitus and fragile pancreatic β -cell, diabetes mellitus.

(pp. 1037~1055)

三測定法による血中インスリンに及ぼす肥満の影響

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 敦

（昭和43年3月10日受付）

肥満と糖尿病の関係を追求しこれより糖尿病発症の一因をさぐろうとした。インスリン三法上、肥満者は DILA 低く、FILA, IRI 高く糖尿病的傾向を示し、この点成人型糖尿病のそれと一致した。この両者で空腹時 NEFA 値高く、糖負荷後も下降が障害されていることを確認し、糖尿病的傾向の一因を NEFA に求め、ヘパリンで高 NEFA にした家兎血清でこれを追認した。肥満者は糖代謝は正常であるが脂質代謝異常とインスリン抵抗性を示し、そのため過剰の IRI を際要求することとなる。即ち肥満は糖尿病的ストレスとなる。

緒 言

肥満と糖尿病、この両者に密接な関係のあることは従来より多くの報告がある。Williams¹⁾ は糖尿病と診断された者の40%は肥満しており非糖尿病者の肥満が10%であるのに比較して有意に高頻度であると述べている。更に成人型糖尿病の80%は肥満者であつたという。又 Joslin²⁾ も20才以上の糖尿病患者の3094人中男63%女67%が肥満であり糖尿病患者中の肥満の頻度の高い事を強調している。Ogilvie³⁾ は肥満が耐糖能に及ぼす影響について、肥満の程度より肥満の持続期間と耐糖能障害の間に密接な関係のあることを報告している。

これ等諸事実より肥満と糖尿病の間に何等かの関連のあることを類推させる。しからば肥満は糖尿病の発病促進因子なのか、又糖尿病なるが故に肥満するのか諸家の議論百出する所であり著者の最も興味を感じる所である。Medley⁴⁾ は副腎及質ホルモンを用いた経静脈の糖負荷を肥満者に行い、肥満の程度、持続期間、年令に無関係に、正常者と同じ反応をする肥満者と、もう一つ異常な反応を示す肥満者を見出し、この異常反応群に糖尿病的遺伝負荷や巨大児出産の既往歴を多く有することより、肥満は糖尿病の原因でなく肥満はすでに糖尿病の素質をもつ人の発症促進因子であろうといっている。Vallance-Owen⁵⁾ は Synalbumin Antagonist の検索のもと、肥満している糖尿病患者は糖尿病であるが故に肥るとのべ、Beaser⁶⁾ は simple obesity では長期にわたる追求にも糖尿病の発生頻度は増加しなかつたと報告している。

著者は肥満と糖尿病の関連性について血中インスリンの面より観察する事が重要であると考えた。肥満者における血中インスリンは高いとの報告が多い。Karam⁷⁾ らがインスリンの免疫学的測定法により、肥満者に高インスリン血症のあることを報告し、これは糖尿病より肥満に関係があるのであろうと推論した。これに対し Yalow⁸⁾ らは、肥満者でブドウ糖へのインスリン反応は正常者より大きいが肥満があろうとなかろうと軽症成人型糖尿病では正常者よりもつと大きなインスリン反応を示し、高インスリン血症は肥満よりは糖尿病本来のものであると結論している。帰する所、糖尿病発症と肥満との関係は、現在なお定説をみないのである。そこで本研究では肥満と糖尿病の関係を血中インスリン三測定法即ち、ラット横隔膜法、ラット副辜脂法、免疫学的測定法を用いて同時に同一検体を同条件にて測定し、問題を解明しようと試みたのである。

ラット横隔膜法は、横隔膜の glucose uptake を指標とし1939年 Gemmill⁹⁾ によりはじめられ、以来 Vallance-Owen¹⁰⁾ 吉田¹¹⁾、らにより改良されたものでありこれを著者は単にインスリンの測定法としてのみならず、横隔膜に限らず脂肪以外の体の大部分をしめる筋組織代謝の影響をあらわすものと考えた。ラッ

ト副率脂法は1950年 **Renold**¹²⁾ らにより考案されたもので副率丸脂肪組織で C^{14} -l-glucose より $C^{14}O_2$ えの産生を指標としインスリン測定を行なうものであるがこれも血清インスリン様活性としてのみならず、脂肪組織の糖代謝の生物学的効果と考えた。免疫学的測定法は1960年 **Berson**¹³⁾ らにより報告されたものでインスリンの蛋白としての抗原性に注目し抗原抗体反応という特異的な反応を利用している。以上前二者は血清インスリンの生物学的活性を後者はインスリンの免疫学的活性を測定している。三法にそれぞれの利点と欠点があり、この三者を総合的に解釈する事は肥満と糖尿病の解明に役立つものと判断した。

三測定法にて肥満と成人型糖尿病のインスリン測定を行なつた所この両者に密接な関係を認めるに至つた。**Randle**¹⁴⁾ らが “glucose fatty acid cycle” を発表して以来、糖尿病の脂質代謝異常が注目されて来た。そこで今研究では肥満と糖尿病に共通なる変化、即ち血中遊離脂酸の動向に着目しこれの検索を実験動物を用いておこなつた。家兎に高脂肪食を与え、比較的短期間に肥満にし、その肥満家兎血清のインスリン三測定値に及ぼす影響を比較検討し、肥満人血清においてみられた糖尿病との間の密接な関係の解明の一助とした。

説明の都合上以下二編に分けてその各々に対象、実験方法、測定法、成績をのべ小括を加え、最後にまとめて考按、総括、結語を述べた。

第1編 臨床的研究

第I章 対 象

A) 正常対象群

吉田内科入院患者及び研究者より、正常対象として糖尿病的遺伝負荷のない人22例を選んだ。これらの人はブドウ糖負荷試験にて、Table 1. の正常範囲であつた。Table 1. には対象を年齢、性別、体重、50gブドウ糖経口単回負荷試験(以後 GTT と略す)により4群に分類示した。

なお肥満度の算定は Broca index の変法：

$$\frac{\text{実測体重 kg}}{(\text{身長cm}-100)} \times 100(\%) \text{ を用いた。}$$

Table 1. Classification of patients on basis of weight and carbohydrate tolerance

Group		Cases	Age	Sex M. F.	Percent of ideal weight	Blood sugar response to GTT		
						Fasting mg/dl	one hr. mg/dl	Two hr. mg/dl
A	Normal	22	15—62	10.12.	90~110	<130	<170	<130
B	Non obese diabetic	12	20—68	7. 5.	80~110	85—305	>180	>140
C	Obese diabetic	11	31—65	2. 9.	130~185	90—304	>180	>140
D	Obese Nondiabetic	13	17—57	2.11.	130~195	<130	<170	<130

B) 非肥満糖尿病群

Table 1. の如く糖尿病と診断されたもので、内10例は overt diabetes, 2例は chemical diabetes であつた。年齢、性別、体重は Table 1. を参照。

C) 肥満糖尿病群

糖尿病群ではいずれも未治療の吉田内科外来及び入院患者で Table 1 の如く糖尿病と診断されたものである。31才より65才迄のいわゆる成人型糖尿病といわれるもので内4例は、chemical diabetes で7例は overt diabetes であつた。

D) 肥満非糖尿病群

以後肥満者と略す。糖尿病の遺伝的素因のない人を当内科入院患者より選んだ。ブドウ糖負荷試験で全例正常反応であった。

第II章 実験方法

各対象群を一晩絶食後、50 g ブドウ糖経口負荷試験を行ない、負荷前、負荷後30分、60分、90分、120分、180分前膊静脈より採血し、血清を分離後、血糖、インスリン及び NEFA を同時に測定した。生物学的測定法では、後記の理由で検体本数に制限があり、横隔膜法では3点、副率脂法では5点を測定した。

第III章 測定方法

A) ラット横隔膜法

Vallance-Owen¹⁰⁾, Cunningham¹⁵⁾ らの原法を参考に吉田¹¹⁾, 奥村¹⁶⁾ の方法に準じて多少の変法を加えた。体重120 g 前後の Wister 系の雌性ラットを2週間以上室温 20°C ± 5°C の恒温室においてオリエンタル固型飼料で飼育した。一連の実験で4匹のラットを15時間絶食後、断頭屠殺し速やかに横隔膜を摘出しこれを5°C以下に冷却した Gey & Gey¹⁷⁾ Buffer に浸した。buffer 中にてこれを4片に截断し、Fig. 1 の如くにど

Fig. 1. Method of distribution of quataradiaphragm

の検体も、2つの flask の平均により算出せられ、その2ケの flask 中の4片は4匹のラット横隔膜の各部分より採られておりこの操作によってラットの個体差をいちじるしく減じる事が出来た。各対象に GTTを行なった際その3点を、2重に測定する意味で1回の実験の8ケの flask の内、Fig. 1 の如く6ケを検体にあて残りの2ケを実験日の basal uptake に用いた。夏期と冬期とでは横隔膜の基礎的糖利用率に差異のある¹⁸⁾ことを著者も認めたが、ラットを恒温室にて2週間以上飼育することによりその差を小さくする事が出来、さらに実験当日の basal uptake を毎回測定することにより生物学的活性に特有な季節的変動をほぼ無視出来たものとする。予めブドウ糖200mg/dlにした Gey & Gey の incubation medium 2.0ml を入れた1ケの flask 中に Fig. 1 の如く2片の quataradiaphragm を入れ 95%O₂-5%CO₂ 混合ガスを用いて充てんした。密栓後37.5°Cで90分間90回転/分で incubation しその前後の medium 中の糖濃度を Hagedorn-Jensen 法¹⁹⁾により測定した。medium 中の横隔膜片は incubation 後 torsionbalance にて秤量した。横隔膜のブドウ糖摂取量は、incubation medium 中の糖濃度の減少及び横隔膜の湿潤重量より奥村の式¹⁶⁾を以て算出した。

$$\text{Glucose uptake} = \frac{\text{incubation 前糖濃度} - \text{incubation 後糖濃度}}{\text{湿重量}} \times 20$$

incubation medium にブドウ糖加 Gey & Gey buffer のみを使用した場合の糖摂取量をその横隔膜の basal uptake とした。被検液を加えてブドウ糖濃度 200mg/dl になるような Gey & Gey buffer を用意し被検液 (インスリン作用濃度曲線の場合は結晶インスリン) をそれぞれに添加した場合この被検液の

glucose uptake より同日の basal uptake を差引いた値をもつて被検液の extraglucose (Δ -uptake) 殊にその被検液にインスリン溶液を用いた場合に insulin effect とした. insulin 濃度の $10^{-2}\mu\sim 10^{-5}\mu\text{U/ml}$ の範囲において insulin effect をたて軸に, insulin 濃度を片対数にて横軸にとることによりほぼ直線関係を有しその回帰直線は $Y=0.732X-0.170$ で表わされた. ILA 測定に際して血清を5倍稀釈で行ない生物学的測定法に重要な被検液の pH の調整に留意した. 本法により測定された血清 ILA を以後 DILA と略す.

B) ラット副睪丸脂肪組織法

Renold²¹⁾ らおよび Pfeiffer ら²²⁾, 富川²⁶⁾の変法を用いた. 即ち前法と全く同じ条件の雄性ラット3匹より副睪丸脂肪組織を摘出し, 各組織の末梢部を3分し, 総湿重量 $80\sim 120\text{mg}$ の3ヶの組織片を incubation medium と C^{14} -l-glucose ($0.2\mu\text{C}$) の入った incubation flask に入れ, $95\%\text{O}_2$ - $5\%\text{CO}_2$ 混合ガスにてガス交換し, 37.5°C 90回転/分で3時間 incubate する. その後 medium に $10\text{N-H}_2\text{SO}_4$, center well に 1.8N-NaOH を各々 0.2ml 注入して, 更に1時間 incubate し, 発生した $^{14}\text{CO}_2$ を NaOH に吸着した. これを BaCl_2 と NH_4Cl にて $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ として沈澱させ, 乾燥して gas flow counter でその total count を測定し, self absorption を補正して counts/min./mg tissue weight を算出した. この値より insulin 濃度 $10^{-2}\sim 10^{-6}\mu\text{U/ml}$ で得られた回帰直線 ($Y_0=0.1037X+2,5066$ 両対数グラフ) を利用して ILA を $\mu\text{U/ml}$ として求めた.

incubation medium には glucose 300mg/dl gelatin 200mg/dl になる様に加えた pH 7.4 の Krebs-Ringer bicarbonate buffer を用いた. 血清測定に際しては, incubation medium にて5倍に稀釈して測定した. 本法にて測定された血清 ILA を FILA と略す.

C) 免疫学的測定法

Herbert²³⁾ らの Dextran-Coated Charcol 法の吉田²⁴⁾らの変法によつた. Human standard insulin 又は, 2~10倍稀釈の unknown sample 1.0ml , 2万倍稀釈の Anti insulin guinea pig serum 0.5ml , $10\mu\text{U}$ の I^{131} -insulin 0.5ml を 4°C にて4日間 incubation する. その後 5% Charcoal と 0.5% Dextran を混和して作成した Dextran coated charcoal を 3ml 添加し 3000rpm 15分間遠沈し上清と沈澱に分離しそれぞれを count する. この際 AIS と結合した bound insulin は上清に, AIS と結合しない free insulin は charcoal に吸着されて沈澱する. % Free を算出し片対数グラフにて $0.5\sim 100\mu\text{U}$ の間に直線を成す標準曲線が得られた. 未知血清の % Free より毎回作成した標準曲線を利用して未知血清の insulin 濃度を求めた. 本法により測定された血清インスリンを IRI と略す.

D) 血糖測定法

血糖測定は Hagedorn-Jensen 法¹⁹⁾を用いた.

E) 血中遊離脂肪酸測定法

遊離脂肪酸 (以後 NEFA と略す) は Dole 法²⁵⁾によつた.

第IV章 実験成績

A) 三測定法による各群の空腹時インスリン値

1) DILA

Table 1 により分類した, 正常者, 非肥満糖尿病患者, 肥満糖尿病患者, 肥満者の4群の空腹時における DILA を Fig. 2 に示した. 正常者は $210\sim 410\mu\text{U/ml}$ で平均 $320\pm 61\mu\text{U/ml}$ であつた. 非肥満糖尿病患者は $30\sim 250\mu\text{U/ml}$ で平均 $107\pm 60\mu\text{U/ml}$ であり肥満糖尿病患者では $15\sim 220\mu\text{U/ml}$ で平均 $142\pm 66\mu\text{U/ml}$ であつた. 肥満者では, $30\sim 300\mu\text{U/ml}$ で平均 $113\pm 45\mu\text{U/ml}$ であつた. DILA は肥満, 非肥満をとわず糖尿病患者で空腹時低値を示した. 未だ血糖に変化をみざる肥満においても, これと同じく低値を示した.

2) FILA

Table 1 に従い分類した4群の FILA 空腹時値を Fig. 3 に示した. 正常者は $200\sim 650\mu\text{U/ml}$ にわたり平均 $390\pm 135\mu\text{U/ml}$ であり非肥満糖尿病患者では $300\sim 890\mu\text{U/ml}$ で平均 $529\pm 179\mu\text{U/ml}$ であつた. 肥満

Fig. 2. Fasting insulin concentration of DILA.

Fig. 3. Fasting insulin concentration of FILA

糖尿病では $605 \sim 950 \mu\text{U/ml}$ で平均 $766 \pm 101 \mu\text{U/ml}$, 肥満者では $570 \sim 995 \mu\text{U/ml}$ で平均 $740 \pm 118 \mu\text{U/ml}$ であった。空腹時 FILA は、非肥満でも糖尿病では正常者より高くこれに肥満をとまうとさらに高くなる。即ち糖尿病患者で FILA は高くなる。肥満者でも糖尿病と同じく正常者より有意に高い。

3) IRI

4群の空腹時 IRI を Fig. 4 に示した。正常者は $10 \sim 40 \mu\text{U/ml}$ で平均 $18 \pm 5 \mu\text{U/ml}$ であった。糖尿病の非肥満は $15 \sim 46 \mu\text{U/ml}$ で平均 $25 \pm 8 \mu\text{U/ml}$ で、肥満は $38 \sim 70 \mu\text{U/ml}$ で平均 $52 \pm 11 \mu\text{U/ml}$ であった。肥満非糖尿病患者は $30 \sim 84 \mu\text{U/ml}$ で平均 $55 \pm 7 \mu\text{U/ml}$ である。空腹時 IRI は非肥満糖尿病で正常者より若干高く、肥満糖尿病になると有意に高値を示した。即ち空腹時 IRI は糖尿病で正常者より若干高く、肥満では有意に高値を示した。

以上1) 2) 3) をまとめると非肥満糖尿病で正常者に比較して DILA 低く, FILA 高く, IRI が若干高い傾向を示し, 肥満糖尿病になればこの傾向はさらに強くなった。非糖尿病でも肥満にはこの傾向がみられる。

B) 三測定法による糖負荷時の血糖及びインスリン変動

1) 正常対象群

Fig. 4. Fasting insulin concentration of IRI

正常者の糖負荷後の血糖曲線を Fig. 5 に示した。前, 30分, 60分, 90分, 120分, 180分の血糖値は各々 83 ± 10 , 132 ± 21 , 131 ± 13 , 109 ± 8 , 90 ± 11 , $75 \pm 14 \text{ mg/dl}$ であった。正常者の糖負荷後の DILA, FILA, IRI の変動を Fig. 6 に示した。DILA は前, 60分, 120分で各々 320 ± 61 , 503 ± 130 , $380 \pm 106 \mu\text{U/ml}$ であった。前, 30分, 60分, 90分, 120分の FILA は各々 390 ± 135 , 448 ± 150 , 672 ± 170 , 457 ± 130 , $365 \pm 79 \mu\text{U/ml}$ であり IRI は 18 ± 5 , 61 ± 15 , 70 ± 13 , 61 ± 8 , $47 \pm 8 \mu\text{U/ml}$ であった。血糖曲線は30分で頂値に達し, 三測定法による ILA, IRI は60分で頂値になった。Fig. 6 の三つの曲線はその単位こそ違うが, ほぼ同じ型を示し, 糖負荷後の血清インスリンの変動をそれぞれの面で把握しているものと判断した。

Fig. 5. Blood sugar during GTT in normal subjects.

Fig. 6. Serum insulin response during GTT in normal subjects.

2) 非肥満糖尿病群

Fig. 7 に非肥満糖尿病者の糖負荷後の血糖曲線を描いた。血糖値は各々 205 ± 30 , 290 ± 52 , 329 ± 45 , 317 ± 54 , 314 ± 57 , $270 \pm 52 \text{ mg/dl}$ であった。点線の正常者に比べ空腹時高く負荷後も高値を維持した。糖負荷後の DILA, FILA, IRI の変動を Fig. 8 に示した。DILA は各々 107 ± 60 , 271 ± 120 , $168 \pm 63 \mu\text{U/ml}$ であった。FILA は各々 522 ± 179 , 704 ± 147 , 818 ± 131 , 765 ± 174 , $704 \pm 126 \mu\text{U/ml}$ で IRI は 25 ± 8 , 52 ± 17 , 70 ± 16 , 85 ± 10 , $80 \pm 7 \mu\text{U/ml}$ であった。点線の正常者に比較して DILA は低く FILA は高かった。IRI は前値やや高く頂値が90分に遅延しさらに高値を持続していた。即ちこれが肥満の影響をうけない三法測定

Fig. 7. Blood sugar during GTT in non obese, diabetic subjects.

Fig. 8. Serum insulin response during GTT in non obese, diabetic subjects.

上の糖尿病的傾向である。

3) 肥満糖尿病群

Fig. 9 は糖負荷後の血糖曲線である。血糖値は各々 181 ± 40 , 271 ± 45 , 313 ± 62 , 309 ± 36 , 260 ± 25 , 235 ± 26 mg/dl であり点線の正常者と比較して、空腹時高く以後、高値を持続した。Fig. 7 の非肥満糖尿病群の血糖曲線と比較する時、空腹時やや低値を示す以外負荷後はかわらない。即ち両糖尿病群は血糖上糖尿病重症度に差がなかった。糖負荷後の DILA, FILA, IRI の変動を Fig. 10 に示した。DILA は各々

Fig. 9. Blood sugar during GTT in obese, diabetic subjects.

Fig. 10. Serum insulin response during GTT in obese diabetic subjects.

142±66, 248±92, 161±70μU/ml であった。FILA は 766±101, 911±140, 1053±160, 1030±20, 743±150. IRI は 52±11, 95±19, 115±25, 122±28, 107±22μU/ml であった。点線の正常群に比較して DILA は低く FILA は高く IRI も空腹時すでに高く負荷後も過剰反応及び頂値遅延を呈した。Fig. 8 の非肥満糖尿病患者に比較すると先に述べた三法上の糖尿病的傾向が更に著明になっている。

4) 肥満非糖尿病群

Fig. 11 は肥満者の血糖曲線である。血糖値は各々 88±8, 140±10, 142±23, 132±20, 102±20, 87±

14mg/dlであり点線の正常群に比較して30分, 60分, 90分で僅かに高いが Table 1 の基準によれば正常な耐糖能である. GTT 中の三法測定値をFig. 12 に示した. DILA は各々 113 ± 45 , 310 ± 140 , $207 \pm 103 \mu\text{U/ml}$ で, FILA は 740 ± 118 , 2195 ± 366 , 2127 ± 436 , 1530 ± 330 , $1455 \pm 359 \mu\text{U/ml}$ で IRI は 55 ± 7 , 81 ± 31 , 153 ± 45 , 150 ± 31 , $98 \pm 30 \mu\text{U/ml}$ であった. 点線の正常群と比較すると DILA で低く FILA, IRI 高く, 未だ耐糖能正常なる肥満ですでに三測定法上糖尿病的傾向を示した (Fig. 8 と Fig. 10 を参照).

Fig. 11. Blood sugar during GTT in obese, non diabetic subjects.

Fig. 12. Serum insulin response during GTT in obese, non diabetic subjects.

C) 糖負荷時の血中 NEFA 変動

正常者, 肥満糖尿病群, 肥満群の三者に50g糖負荷を行ないその血糖及び NEFA 変動を Fig. 13 に示した. 各群5例の平均である. 正常者の血糖は 84 ± 21 , 130 ± 21 , 154 ± 14 , 132 ± 13 , 110 ± 10 , 86 ± 11 mg/dl

Fig. 13. Blood sugar and NEFA levels to GTT in normal & obese non diabetic, diabetic subjects.

肥満糖尿病では 180 ± 30 , 270 ± 43 , 294 ± 40 , 288 ± 47 , 260 ± 5 , 230 ± 50 mg/dl 肥満では 82 ± 25 , 148 ± 23 , 168 ± 20 , 146 ± 21 , 116 ± 25 , 110 ± 18 mg/dl であった. Table 1 により肥満者の血糖反応は正常である. 次に正常者の NEFA は前, 60分, 120分, 180分で各々 720 ± 210 , 270 ± 105 , 240 ± 98 , 490 ± 110 $\mu\text{Eq/L}$ で肥満糖尿病で前, 30分, 60分, 120分, 180分で 1130 ± 320 , 990 ± 219 , 730 ± 185 , 680 ± 152 , 610 ± 132 , 550 ± 140 $\mu\text{Eq/L}$, 肥満者で前, 60分, 120分, 180分で 1240 ± 230 , 630 ± 180 , 440 ± 108 , 450 ± 95 $\mu\text{Eq/L}$ であった.

正常者に比較して肥満糖尿病及び肥満者で NEFA 値は空腹時すでに高く, GTT 後も下降が障害されている点が共通している.

第V章 本編小括

以上四群に糖負荷を行ない, 血糖, DILA, FILA, IRI, NEFA の測定値を述べた. 両糖尿病群においては DILA 低く FILA 高く IRI 高く頂値遅延の糖尿病的傾向を示したが, 未だ GTT 上正常である肥満者においてもこれと類似の傾向をみた. 更に GTT 後の NEFA 変動を検索するに肥満糖尿病者及び肥満者は同様な NEFA の変動を示したので, 糖尿病と肥満の関係を NEFA の変動に求め, 次の実験を計画実行した.

第2編 実験的研究

第I章 実験材料及び実験方法

体重2.3~3.0kg 平均2.6kg の成熟雌性家兎10匹を用いた. 処置前対象として, 15時間の絶食後, kgあた

り 0.5g のブドウ糖を耳静脈より注射し, 前, 15分, 30分で他方の耳静脈より採血した. 採血後直ちに遠沈分離し測定に供した. なお DILA, FILA, IRI, NEFA は空腹時と30分値のみを測定した. GTT 後30分を測定に選んだのは富川²⁶⁾, 野田²⁷⁾, の報告より NEFA 値と ILA 値の間の差が最大になる時間を選んだためである. 又測定頻度が少ないのは一回の測定に血液約15mlを要するので頻回の採血を不能としたためである. 処置前対象として採血後オリエンタル社作成の成分 Table 2 の高脂肪食飼料を70日間与えた. 50日目及び

Table 2. Composition of diet

		Normal diet	High fat diet
1	Protein	22.8%	23.1%
2	Fat	4.8%	10.2%*
3	Carbohydrate	46.2%	43.2%
4	Vitamin, etc	26.2%	23.5%

* This high fat diet was made by adding a largest amount of tallow which do not permit rabbit to become diarrhoea.

70日目に家兎を絶食後 kg あたり 0.5g のブドウ糖静注負荷を行ない, 空腹時と30分後に採血を行ない, NEFA, DILA, FILA, IRI の測定に供した. なお70日目の高脂肪食家兎5匹に, ノボ社のヘパリン 2000U (500U/kg) を静注し, 30分後に採血 NEFA, DILA, FILA, IRI を測定した.

第II章 測定方法

第1章と同じ測定法を用いた.

第III章 実験成績

1) 体重, 血糖及び NEFA

Fig. 14 に体重の推移とその時の空腹時血糖値と NEFA 値を示した. 体重は Table 2 の高脂肪食を与えてから50日に3.7kg, 70日に4.0kg となった. 在来雑種雌性家兎では3.0kg 前後で普通飼料の場合, 体重がほぼ一定する. 高脂肪食を70日間投与して 3.7~4.0kg になったのを一応肥満と考えた. Fig. 14 の実線は空腹時の血糖の推移であるが処置前, 50日, 70日で各々 115 ± 23 , 106 ± 22 , 111 ± 15 mg/dl と著変なく, NEFA は各々 513 ± 95 , 702 ± 104 , 642 ± 81 μEq/L で50日に最も高い値を示し, 70日ではやや低値を示した. 各時期に GTT を行ないその血糖と NEFA 変動を Fig. 15 に示した. 実線は血糖値で処置前各々 115 ± 23 , 200 ± 20 , 192 ± 23 mg/dl 50日で 106 ± 22 , 192 ± 15 , 181 ± 40 mg/dl, 70日で 111 ± 15 , 185 ± 21 , 177 ± 42 mg/dl であつた. 高脂肪食により体重増加を来した家兎の空腹時血糖及び耐糖能には著変をみなかった. 一方点線は NEFA 変動で, 処置前各々 513 ± 95 , 324 ± 72 , 50日は 702

Fig. 14. Changes in body weight, fasting blood sugar and fasting NEFA concentration of high fat diet rabbits.

Fig. 15. Blood sugar and NEFA levels during GTT at each stage.

±104, 580±48, 70日で 642±81, 305±97μEq/L となった。NEFA は処置前に比較すると50日で空腹時すでに高値を示し、糖負荷後も下降が有意に障害されている。70日も空腹時高いが負荷後はよく下降した。NEFA の糖負荷後の下降をもつて脂質代謝の一面をみているとすれば、50日時にもつともそれが障害されていた。

2) 高脂肪食肥満家兔の三法に及ぼす影響

次に各時期における DILA, FILA, IRI を Fig. 16 に示した。DILA は処置前 330±129, 680±374, 50日で176±40, 607±324, 70日で 210±64, 610±374μU/ml で50日時空腹時最も低く、NEFA の高い時期と一致した。70日時も空腹時やや低い値を示した。FILA は処置前 370±102, 730±346, 50日で720±178, 1100±222, 70日で 660±300, 1850±469μU/ml となった。処置前に比較して、50日に空腹時既に著明な高値を示し負荷後も高く NEFA の高値と一致した。IRI は処置前 10±3, 40±19μU/ml, 50日で 28±5, 51±12μU/ml, 70日で 28±7, 58±9μU/ml となった。処置前と比較するとき50日と70日時には空腹時既に高値を示し負荷後やや過剰反応を呈した。

3) ヘパリン静注による高 NEFA 値の三法に及ぼす影響

70日時の平均4.0kgの高脂肪食家兔5匹に、15時間絶食後耳静脈より、ヘパリン kgあたり500U を静注し30分後に他方耳静脈より採血した。静注前と30分後の血糖と NEFA 値, DILA, FILA, IRI を Fig. 17 に示した。血糖値は112±15から121±25mg/dlと著変なく、NEFA は 642±81から 1469±400μEq/L と著増している。DILA は 210±72 から 48±38μU/ml と減少し、FILA は660±278より 1890±642μU/ml と急増し、IRI は28±9 から 30±6μU/ml と変らなかつた。

第IV章 本 編 小 括

成熟家兔に高脂肪食を与え体重を増加せしめ血中 NEFA を in vitro で比較的生理的に上昇させ、人における肥満と比べた。50日より70日にわたる高脂肪食家兔には糖負荷による耐糖能の変化はみられなかつた。

Fig. 16. Serum insulin response during GTT in high fat diet rabbits at each stage.

一方血中 NEFA は50日時、最も高い値を示し負荷後も下降が障害されていた。70日時では前値は高かつたが、糖負荷後はよく下降した。三測定法にこの高脂肪食家兎血清の与える影響は興味深い。即ち50日で空腹時 DILA 低く FILA, IRI 高い人肥満血清と類似の傾向をみると共に、70日 4.0kg 前後の家兎で糖負荷後 FILA, IRI で過剰反応を呈しこれも同様の反応を示した。in vitro で NEFA 添加の代りに高脂肪食肥満家兎にヘパリンを注射して NEFA を高値にし、これの三法に与える影響をみた。IRI 不変にもかかわらず、DILA 低く、FILA は高い値を示し、NEFA が生物学的インスリン活性に与える影響を確認した。

全 編 考 按

肥満と糖尿病、特に成人型糖尿病との間には何等かの因果関係があり、これを追求する事が、糖尿病発症の一因をさぐる事になる。今日迄肥満の糖代謝に及ぼす影響について幾多の報告がある²⁸⁾²⁹⁾。Newburg³⁰⁾ は肥満型糖尿病患者の体重を減少させることにより耐糖能を改善したとのべ、Faludi³¹⁾ は、肥満は糖尿病発症の“predisposing factor”であるばかりでなく、早期糖尿病に惹起せられる insulin 分泌の機能的障

Fig. 17. Changes of blood sugar, NEFA concentration and insulin levels by three methods following heparin intravenous injection at 70days.

害により、肥満がもたらされるとのべている。Rabinowitz らは³²⁾、前膊の筋及び皮下脂肪組織のブドウ糖と NEFA の摂取より、肥満には、insulin resistance があり、肥満は糖尿病の先駆症状として関係があるとしている。これら諸研究は肥満と糖尿病発症との関連を類推させるが、なおその因果関係を説明するに十分でなく、近年開発されて来た、血中インスリン測定の方法より考察する必要性を認めた。

Bornstein³³⁾ らが in vivo の生物学的測定法を用い成人型糖尿病で血中インスリンが正常者に比較して低い事を、Vallance-Owen³⁴⁾ はラット横隔膜法を用いて肥満糖尿病で正常者と比べてかわらなかつたと報じ、奥村¹⁶⁾は同法をもちいて、糖尿病の ILA が正常者に比較して低値を示したと報告している。ラット副腎脂法を用いて、Samaan ら³⁵⁾は肥満者で typical ILA と atypical ILA の両者共正常者より高く、後者が血中 NEFA に関係があるとのべている。同じ副腎脂法で、Daweke³⁶⁾ らや Bottermann³⁷⁾ も空腹時及び糖負荷後肥満者で FILA の高値を確認している。免疫学的測定法でも、肥満者で空腹時及び糖負荷後の過剰インスリン反応を、多くの研究者³⁸⁾³⁹⁾⁴⁰⁾⁴¹⁾⁴³⁾が報告している。Bagdade⁴²⁾らは肥満者で経口的に糖負荷を行ない IRI を測定している。肥満者は空腹時インスリン値が高く、糖負荷後もインスリン反応が大きい。この高インスリン血症は、肥満者の脂肪組織のインスリン感受性が低下しているため、末梢組織のインスリン需要が大きいためだろうとしている。しかしいずれも一つのインスリン測定法を用いているのみである。それ故肥満において正常耐糖能を維持するのになぜ高インスリン血症が必要なのかの間に、insulin resistance 或いは insulin inhibitor なる言葉を用いているが、これ自体明らかにしていない。そこで本研究では肥満と糖尿病発症の原因をさぐるべく、インスリン三測定法、すなわちラット横隔膜法、ラット副腎脂法、及び免疫学的測定法を用いて、Table 1 による各群の ILA 及び IRI を同時に測定し、その結果を比較検討した。この三測定値の比較より肥満に insulin resistance を惹起するもの、更に肥満の糖尿病に及ぼす影響について考察した。測定結果によると正常者に比較して、非肥満糖尿病、すなわち肥満の影響をうけない糖尿病で DILA

低く, FILA 高く, IRI やや高く頂値遅延という型を示し, これを三法上糖尿病的傾向と判断した. 肥満糖尿病にはこの三法上の糖尿病的傾向が, さらに強くあらわれ, 又未だ GTT 上異常を示さない肥満者にも同様の, DILA 低く, FILA, IRI 高い傾向をみて, ここに肥満者と糖尿病者の間には IRI が単に高いというのみならず, 横隔膜法で低く副辜脂法で高いという共通点を見出したのである. 先にのべた如く, 横隔膜法は単にインスリン測定法というに止まらず, in vitro ではあるが筋組織に対するインスリンの生物学的活性の総和をうかがい知るものとしたのであり, 副辜脂法においても又同様である. されば肥満者で正常な耐糖能を維持するのに高インスリン血症を要するのは, 筋組織にはインスリン活性を阻害する物質があり (DILA-inhibitor), 脂肪組織にはその活性を阻害せず, 又逆に増強する物質 (FILA-activator) を想定せざるを得ない. FILA-activator は肥満者の脂肪組織のインスリンへの感受性の低下している⁴⁴⁾ためインスリン以外の物質がその活性を代償的に増強しているのかもしれない. この DILA-inhibitor, FILA-activator なる物質は一つであるか又それ以上であるか不明であるが, これが肥満に insulin resistance を惹起せしめるものと推論した. この物質には, Vallance-Owen の Synalbumin Antagonist⁴⁵⁾ (TCA-Ethanol Extract²⁰⁾), Antoniadis の Bound insulin⁴⁶⁾, Randle らの NEFA¹⁴⁾, Segal⁴⁷⁾ がまとめている各種ホルモンが考えられる.

DILA inhibitor には筋組織の糖代謝中, 細胞膜の所で block するものと, 組織内で糖代謝を酵素レベルで block するものとが考えられる. 前者には Synalbumin Antagonist⁴⁵⁾, 後者には主として NEFA¹⁴⁾ を考えたい.

次に FILA は endogenous insulin と, これのインスリン活性を増強するもの (FILA activator) と, 脂肪組織へのインスリン活性を抑制するものよりなっている. すなわち本論文では,

$$\text{FILA} = \text{endogenous insulin} + \text{FILA activator} + \text{FILA inhibitor}^{76)} \quad \text{--- (1)}$$

で FILA は(1)式の三者の総和であると考え, FILA activator には endogenous insulin の生物学的活性を増強する物質と, インスリンでなくインスリン様活性を示す non insulin ILA よりなる即ち,

$$\text{FILA activator} = \text{insulin activator}^{48)} + \text{non insulin ILA} \quad \text{--- (2)}$$

(2)式の non-insulin ILA は Saman⁴⁹⁾ のいう non suppressible insulin にあたるかもしれないが本研究では主として諸ホルモンの影響を推定している.

成長ホルモンが FILA に in vitro で影響を与えるが⁵⁰⁾, 肥満者では成長ホルモン濃度は高くない⁵¹⁾ので, これを無視出来る. 副腎皮質ホルモンは, 脂肪組織の glucose uptake を抑制⁵²⁾するのでこの場合除外出来る. グルカゴンは in vitro で脂肪組織の糖代謝を促進し⁵³⁾, FILA に影響を与えるものの一つであり, しかも Forsham らの報告⁵⁴⁾より, 肥満者におけるグルカゴンの insulogenic property の増強をみているので, FILA activator なる概念より見て注目すべきものかもしれない. しかし $\text{C}^{14}\text{-l-glucose}$ より C^{14}O_2 への産生を指標とする FILA では諸ホルモンの影響は著しく減弱されるとの報告⁵⁵⁾もある.

本研究の FILA は脂肪組織の $\text{C}^{14}\text{-l-glucose}$ より C^{14}O_2 への産生でみているので, endogenous insulin の活性をそれ以上に高かめる FILA-activator は, 多分解糖系の pentose cycle (Warburg dickens pathway) の促進⁵⁶⁾を意味し, この cycle より産生される, NADPH は脂肪酸の合成を促進するかもしれない⁷⁷⁾. 但し血中 NEFA が増加している状態では, 脂肪酸の合成は阻害⁵⁷⁾されているとの報告もあるので, 脂肪酸合成より $\alpha\text{-glycerophosphate}$ の増量までを推定して, これが中性脂肪の産生, 蓄積を促し, 肥満を惹起するものと考えてよい. FILA-activator にも Synalbumin Antagonist 及び, NEFA が考えられる.

Vallance-Owen の Synalbumin Antagonist⁵⁸⁾ は糖尿病発症と遺伝的關係をユニークに結びつけている. 吉田は Synalbumin Antagonist は DILA に inhibitor として, FILA には activator として働くこと報告しているが²⁰⁾, 糖尿病的遺伝負荷のない肥満には Synalbumin Antagonism が弱いと⁵⁹⁾⁶⁰⁾の報告がある. 故に本研究の糖尿病的素因のない肥満者における DILA-Antagonist としての意義は少ない.

Antoniades⁴⁶⁾ の bound insulin は FILA-activator としての報告をみていない.

次に Randle⁶¹⁾ の “glucose fatty acid cycle” なる概念によると, 筋や脂肪組織において糖と脂肪酸代謝

とは逆の関係にある。すなわち糖とインスリンは中性脂肪から遊離脂肪酸の放出を抑制し、脂肪酸の酸化は解糖や糖の酸化、それに対するインスリン作用を抑制する。脂肪酸の増加は *insulin insensitivity* を筋組織におこし、インスリンの糖の膜転送や、*hexokinase*, *phosphofructokinase*, *pyruvate kinase*, *pyruvate dehydrogenase* の活性を減弱させる。故に肥満者の ILA に影響を及ぼすものに NEFA の可能性が濃い。そこで肥満者で NEFA がいかなる状態であるのかを糖負荷により観察した。本研究において、肥満者及び糖尿病肥満者では、NEFA 値が正常者に比べて空腹時高く、負荷後下降が遅延し障害されていた。同様の結果を Covilain⁶⁵⁾ らと Opie⁶⁶⁾ らも空腹時 NEFA 値で報告し、Randle⁶¹⁾ は、肥満者及び糖尿病患者に糖負荷後の NEFA の反応性の低下と遅延を強調している。肥満者には高インスリン血症と高 NEFA 血症が併存し、ここにどうしても *insulin resistance* の存在を考えねばならない。そこで肥満者と肥満糖尿病患者共通の DILA-antagonist, FILA-activator として NEFA を考えた。in vivo における NEFA の高値が糖尿病的傾向或いは耐糖能低下をもたらす実験が Nestle⁶²⁾ らによつてなされている。Nestle は正常人にノルエピネフリンを注射し、血中 NEFA を増加させ、静注したブドウ糖除去率の低下より耐糖能の障害をのべ、Randle⁶³⁾ は、糖尿病と低糖質食の正常者に糖負荷をおこない、耐糖能の低下している両者に NEFA 高値をみている。又 Schachl⁶⁴⁾ は脂肪食投与後ヘパリン静注により NEFA を上昇させ、その後糖負荷を行ない糖尿病的傾向を示した。in vivo において高 NEFA 値が耐糖能を低下させる事実と、本研究における、NEFA レベルの高い肥満の示した、三法測定上の糖尿病的傾向といかに結びつくかを家兎に高脂肪食を与え、肥満にして検討した。肥満家兎は高 NEFA 値を示し、ほぼ人の肥満と三測定法上同傾向を示し、肥満の糖尿病的傾向の原因を NEFA 高値とする考えを支持した。

in vitro において NEFA が DILA を抑制する事実⁶⁷⁾⁶⁸⁾を Garland⁶⁹⁾ はラットの心臓と横隔膜を用いて、fatty acid を加え、Bowman⁷⁰⁾ はラッテ心に, palmitate, oleate, linoleat を灌流して得ている、又 FILA を促進する事は Leboeuf⁷¹⁾ らにより報告されている。本研究ではこの in vitro の実験が、incubate 液中に直接 fatty acid を加えているのをいささか非生理的であると考え、より生理的に NEFA 高値の被検液を得るために、高脂肪食投与70日時の肥満家兎にヘパリンを静注し、血糖、IRI が不変で NEFA 高値である血清を得た。吉田²⁰⁾ はヘパリンを in vitro で添加した時 FILA, IRI は影響なく DILA は高くなつたと報告している。この血清ではそれにもかかわらず、DILA 低値を、FILA 高値を得たので、確かに NEFA 高値が、DILA inhibitor, FILA activator となり、三測定法上糖尿病的傾向の原因となると結論した。

以上の考察より肥満者が正常なる耐糖能を維持するため何故高インスリン血症をもつて代償せねばならないかは、恐らく肥満者に、*insulin resistance* がありその一因を高 NEFA 値がなつていてと考えた。高 NEFA 値は筋組織のインスリン活性を低下せしめ、その代償として過剰に分泌されたインスリンとその活性をさらに高める因子が脂肪組織に lipogenesis に働き、更に肥満に導くのであろう。そして NEFA は *insulin resistance* を介して、過剰のインスリン分泌を膵β細胞に要求し⁷²⁾、この状態が持続する時、糖尿病的遺伝素因をもつ脆弱な膵に対しては、代償不能、糖尿病状態を発症せしめるものと思われる。すなわち三法によるインスリン上糖尿病的である本研究の肥満者は、糖代謝 (GTT) は正常でありながら、脂質代謝異常 (NEFA↑) をともない、*insulin resistance* (DILA↓) をもち、更に肥満を持続させ (FILA↑)、過剰のインスリン分泌 (IRI↑) を要求するという点で、糖尿病的ストレスとなり、糖尿病素因をもつものには、糖尿病発症の誘因となり得ると結論した。

一方糖尿病の一症状として肥満がおこるとする³¹⁾人もいるが、肥満者で体重を減少することにより耐糖能を回復したとする Berkowitz⁷³⁾ や Newburg³⁾ の報告や、又 Salan⁴⁴⁾ の肥満者の脂肪組織を用いた実験で、低下したインスリン感受性が体重減少によりその感受性を回復したとの報告もあり、肥満が糖尿病によりおこるとする説も否定しないが、肥満は糖尿病的ストレスとなり可逆的なもので、糖尿病発症の誘因となると考えたい。

肥満糖尿病はこの様な糖尿病的ストレスに対し膵インスリン分泌の要求に代償しきれなくなり、IRI 高値ながら糖尿病状態を発症したもので、三法によるインスリン上非肥満糖尿病より肥満者に近い型を示した。

少くとも肥満型糖尿病においては、NEFA 高値をともなつた、脂質代謝異常が糖代謝異常に先行していたと考えたい。

非肥満糖尿病は、IRI がもつともインスリンに特異的な測定法としても、糖負荷後のインスリン反応は、少くとも本研究で Table 1 により分類された症例では、正常者に比較して低下していない、頂値が遅延しているだけである。すなわち血清 1 ml 中のインスリンの絶対量は正常者と比較して減少していない。それなのに耐糖能が著しく低下しているのは何故か、それはインスリンの生物学的活性に影響を与える物質があるからで、これの検索には三測定法を用いる必要性を再確認した。

しからば糖尿病的ストレスの因をなす NEFA 高値はいかにしておきるかが問題であろう。糖尿病発症に際し糖代謝異常に先行して、脂質代謝異常が現われるとすれば、脂肪組織より NEFA を放出する因子、或いは NEFA を含め Acyl Co A⁷⁴ 等の脂質中間代謝物質の増量が何故惹起されるかが今後の課題であろう。

Recani⁷⁵ らが糖尿病患者の血清中にシロネズミの脂肪組織から NEFA 放出を促進する物質が多い事を報告しているが興味深い。

総 括

1) 肥満と成人型糖尿病との間には、統計学的にも、臨床的にも何等かの関連を類推させる。横隔膜、副睪脂、免疫学的三測定法を用いて同一検体を同時に測定することにより肥満と糖尿病の関係をみた。

2) 三測定法よりみると糖負荷後正常者に比較して非肥満糖尿病は DILA 低く、FILA 高く、IRI 若干高く頂値遅延なる糖尿病的傾向を示した。肥満糖尿病及び肥満でこの傾向がさらに強く示された。

3) 後二者で糖負荷後 NEFA の高値と下降の障害をみた。高脂肪食を投与した家兎に肥満をもたせたが、この血清は NEFA 値高く三法上人肥満と同様の傾向をみた。

4) インスリンの生物学的活性に及ぼす、NEFA の影響をみるため肥満家兎にヘパリンを静注し、高 NEFA 血清を得た。この血清は DILA 低く、FILA 高い先の糖尿病的傾向を示し、NEFA 高値が肥満に三測定法上糖尿病的傾向を与えたものと結論した。

5) これ等の結果より、三測定法上糖尿病的傾向を示した肥満は、糖代謝 (GTT) は正常でありながら、脂質代謝異常 (NEFA ↑) をともない、インスリン抵抗性 (DILA ↓) をもち、更に肥満を持続させ (FILA ↑)、過剰インスリン分泌 (IRI ↑) を要求して、糖尿病的ストレスとなる。従つて糖尿病的素因をもつものには、糖尿病発症の誘因となるであろう。

結 語

肥満者は横隔膜法で低値を、副睪脂法、免疫学的測定法で高値を示し三測定法上糖尿病的である。この一因は高 NEFA 値による。即ち肥満は糖尿病的ストレスとなり、糖尿病的素因のあるものには糖尿病発症の誘因となる。

擧筆するにあたり、終始御懇篤なる御指導、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、種々御教示頂いた奥村賢太郎講師に深謝の意を表します。尚、本研究に御協力頂いた進藤岱三、阿部信行両学士並びに足立典夫、笹屋昌文両学士に感謝致します。

文 献

- 1) WILLIAMS, R.H. : Textbook of Endocrinology, 3rd Ed. W.B. Saunders. Co., Philadelphia 609, (1962).
- 2) JOSLIN, E.P., DUBLIN, L.I., MARKS, H.H. : Amer. J. Med. sc. 192 : 9, (1936).
- 3) OGILVIE, R.F. : Quart. J. Med. 4 : 345, (1935).
- 4) MEDLEY, D.R.K. : Quart. J. Med., 34 : 111, (1965).
- 5) VALLANCE-OWEN, J. LILLEY, M.D. : Lancet, 1 : 806, (1961).
- 6) BEASER, S.B. : J.A.M.A., 199 : 990, (1967).
- 7) KARAM, J.H., GRODSKY, G.M. and

- FORSHAM, P.H. : *Diabetes*, 12 : 197, (1963). 8) YALOW, R., GLICK, S.N., ROTH, J. and
BERSON, S.A. : *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 131 : 357, (1965). 9) GEMMILL, C.L. : *Johns Hopk.
Hosp. Bull.*, 66 : 232, (1939). 10) VALLANCE-OWEN, J. : *Lancet*, 1 : 68, (1954). 11)
吉田秀雄 : *糖尿病*, 2 : 11, (1959). 12) RENOLD, A.E., A. MARBLE and D.W. FAWCETT
: *Endocrinology*, 46 : 55, (1950). 13) BERTSON, S.A. and YALOW, R.S. : *J. clin. Invest.*,
39 : 1157, (1960). 14) RANDLE, P.J., HALE, C.N., GARLAND, P.B. and NEWSHOLME,
E.A. : *Lancet*, 1 : 785, (1963). 15) CUNNINGHAM, N.F. : *J. Endocrin.* 25 : 35, (1962).
16) 奥村賢太郎 : *日本内分泌学会雑誌*, 35 : 1564, (1960). 17) GEY, G.O. & GEY, M.K. :
Amer. J. Cancer, 27 : 45, (1936). 18) 馬場茂明, 他 : *日本内分泌学会雑誌*, 35 : 50, (1959).
19) HAGEDORN, H.C., and JENSEN, B.N. : *Biochem. Z.* 135 : 46, (1923). 20) 吉田秀雄 :
日本内分泌学会雑誌, 44 : (1968), 印刷中. 21) RENOLD, A.E., MARTIN, D.B. and
DAGENAIS, Y.M. : *J. clin. Invest.*, 39 : 1487, (1960). 22) DITSCHUNEIT, H., CHANG-
SUAHN, PFEIFFER, M. and PFEIFFER, E.F. : *Klin. Wschr.*, 37 : 1234, (1959). 23)
HERBERT, V., K. LAU, C.W. GOTTLIEF, S.J. BLEICHER : *J. clin. End.*, 25 : 1375, (1965).
24) 吉田秀雄, 他 : *日本内分泌学会雑誌*, 44 : 181, (1968). 25) DOLE, V.P. : *J. clin. Invest.*,
35 : 150, (1956). 26) 富川哲夫 : *日本内分泌学会雑誌*, 42 : 29, (1966). 27) 野田信顕 :
日本内分泌学会雑誌, 42 : 29, (1966). 28) MORSE, W.I., SIDOROV, J.J., SOELDNER, J.S.
and DICKSON, R.C. : *Metabolism* 9 : 666, (1960). 29) SCHLECHTER, P. & ANNA
MARIA VILLA. : *Amer. J. clin. Nutri.* 10 : 433, (1962). 30) NEWBURG, L.H., and CONN,
J.W. : *J.A.M.A.* 112 : 7, (1939). 31) FALUDI, G., BENDERSKY, G., and GERBER, P. : *Di-
abetes, Supple.* 17 : 323, (1968). 32) RABINOWITZ, D. and ZIERLER, K.L. : *J. Clin. Invest.*
41 : 2173, (1962). 33) BORNSTEIN, J. and LAWRENCE, R.D. : *Brit. Med. J.* 2 : 1541, (1951).
34) VALLANCE-OWEN, J. : *Lancet*, 2 : 583, (1955). 35) SAMAN, N., FRASER, R. and
DEMPSTER, W.J. : *Brit. Med. J.* 1 : 1153, (1965). 36) DAWEKE, H., H. VAN
LANDEGHEM, W. WINKELMANN, I. BACH : *Klin. Wschr.*, 4 : 190, (1965). 37)
BOTTERMANN, P., SCHWARZ, K. and KOPETZ, K. : *Deut. Med. Wschr.*, 90 : 917, (1965).
38) MELANI, F., J. LAWECKI, E.F. PFEIFFER : *Diabetologia*, 3 : 422, (1967). 39)
BUCHANAN, K.D. and McKIDDIE, M.T. : *Diabetes*, 16 : 466, (1967). 40) SELTZER,
H.S., E.W. ALLEN, A.L. HERRON, JR., : *J. clin. Invest.* 46 : 323, (1967). 41) PERLEY,
M.J., D.M. KIPNIS : *J. clin. Invest.*, 46 : 1954, (1967). 42) BAGDADE, J.D., E.L. BIERMAN,
D. PORTE : *J. clin. Invest.*, 46 : 1549, (1967). 43) KREISBERG, R.A., BOSHELL, B.R.,
DIPLACIDO, J., RODDAM, R.F. : *New. Engl. J. Med.*, 276 : 314, (1967). 44) SALANS,
L.B., J.L. KNITTLE, J. HIRSCH : *J. clin. Invest.* 46 : 1112, (1967). 45) VALLANCE-
OWEN, J. : *Diabetes*. 13 : 241, (1964). 46) ANTONIADES. H.N. and GERSHOFF, S.N. :
Diabetes 15 : 655, (1966). 47) SEGAL, B.M. : *Metabolism*, 13 : 753, (1964). 48)
POWER, L., C. DUCAS and J.W. CONN : *Diabetes* 14 : 10, (1965). 49) SAMAN, N.A.,
DEMPSTER, W.J., FRASER, R., PLEASE, N.W., STILLMAN, D. : *J. Endocrin.*, 24 : 263, (1962).
50) GOODMAN, H.M. : *Endocrin.*, 76 : 216, (1965). 51) BECK, P., DAVID, M. KIPNIS :
J. Lab. & clin. Med. 64 : 654, (1964). 52) WEINGES, K.F. and G. LOFFLER : *Klin. Wschr.*,
42 : 502, (1964). 53) HAGEN, J.H. : *J. Biol. Chem.* 236 : 1023, (1961). 54)
BENEDETTI, A., R.G. SIMPSON, G.M. GRODSKY, P.H. FORSHAM : *Diabetes*, 16 : 666, (1967).
55) SHEPS, M.C., NICKERSON, R.J., DAGENAIS, Y.M., STEINKE, J., MARTIN, D.B. and
RENOLD, A.E. : *J. clin. Invest.*, 39 : 1449, (1960). 56) PAWN, G.L.S. : *Proc. Poy. Soc. Med.*,

- 59 : 1275, (1966). 57) MASORO, E.J. : J. Lipid Res., 3 : 149, (1962). 58) VALLANCE-OWEN, J. : Diabetes, 13 : 241, (1964). 59) VALLANCE-OWEN, J. : On the Nature and Treatment of Diabetes, (1965), 393, Netherland by Mouton & Co., The Hague. 60) 奥村賢太郎 : 糖尿病学の進歩, 68, 診断と治療社, (1968). 印刷中 61) RANDLE, P.J., P.B. GARLAND, E.A. NEWSHOLME, C.N. HALES : Ann. N.Y. Acad. Sci., 131 : 324, (1965). 62) NESTEL, P.J., CARROLL, K.F., SILVERSTEIN, M.S. : Lancet, 2 : 115, (1964). 63) HALES, C.N., P.J. RANDLE : Lancet, 1 : 790, (1963). 64) SCHALCH, D.S., KIPNIS, D.M. : J. clin. Invest., 44 : 2010, (1965). 65) CORVILAIN, J., LOEB, H. : Lancet, 1 : 534, (1961). 66) OPIE, L.H., and WALFISH, P.G. : New. England J. Med. 268 : 757, (1963). 67) SHIPP, J.C., OPIE, L.H., CHALLONER, DAVID : Nature, Lodd, 189 : 1018, (1961). 68) BÜHRING, H. : Biochem. J., 89 : 32p, (1963). 69) GARLAND, P.B., E.A. NEWSHOLME, P.J. RANDLE : Nature, 195 : 381, (1962). 70) BOWMAN, R.H. : Biochem. J. 84 : 14p, (1962). 71) LEBOEUF, B., CAHILL, G.F. JR. : J. biol. chem., 236 : 41, (1961). 72) KENNEDY, G.C., R.A. PARKER : Lancet, 2 : 981, (1963). 73) BERKOWITZ, D. : J.A.M.A., 187 : 399, (1964). 74) TUBBS, P.K., P.B. GARLAND : Biochem. J., 93 : 550, (1964). 75) REGANT, L.L., ALP, H., KOCH, M.J. EGEMAN : Lancet, 2 : 614, (1963). 76) POWER, L., S. JOHN : Diabetes, 16 : 483, (1967). 77) SIPERSTEIN, M. & FAGGAN, V.M. : J. clin. Invest., 37 : 1196, (1958).