Somatostatin の膵内分泌に及ぼす影響

— イヌ上膵動脈内注入法による検討 —

金沢大学医学部第2内科

中林 肇, 吉光 康平, 岸谷 正雄, 上田 操
川東 正範, 臼倉 教臣, 竹田 亮祐

Effect of Somatostatin on Pancreatic Endocrine

-Experiment by Somatostatin Infusion into
the Pancreaticoduodenal Artery in Dogs-

**Hajime NAKABAYASHI, Kohei YOSHIMITSU, Masao KISHITANI, Misao UEDA,
Masanori KAWATO, Noriomi USUKURA and Ryoyu TAKEDA**

School of Medicine, Kanazawa University 13-1 Takara-machi, Kanazawa, Ishikawa, Japan

Abstract

The direct inhibitory action of somatostatin (cyclized SRIF) on the pancreatic endocrine function was investigated by a technique using pancreaticoduodenal arterio-venous system in vivo.

Somatostatin was infused for 20 minutes at a speed of $2.5 \mu\text{g}/\text{minute}$ into the superior pancreaticoduodenal artery with an infusion pump. Plasma levels of glucose, insulin (IRI) and glucagon (IRG) in the pancreaticoduodenal vein and femoral artery were measured before and every 5 minutes throughout the experiment for 30 minutes. The results were compared with those obtained from the control experiment which was carried out in the same time schedule under infusion of physiologic saline solution instead of somatostatin. Next, the effect of somatostatin on the glucose-induced insulin release from the pancreas was also evaluated.

The following findings were obtained. (1) Somatostatin infused at a speed of $2.5 \mu\text{g}/\text{minute}$ into the superior pancreaticoduodenal artery caused a statistically significant inhibition of plasma levels of IRI and IRG and also pancreatic output of these hormones. With the cessation of somatostatin infusion an abrupt rise of the hormones were seen. This "rebound" phenomenon was more pronounced in insulin secretion than in glucagon. No significant changes in the plasma glucose levels in either the pancreaticoduodenal vein or the femoral artery throughout the experiment were found. (2) During infusion of somatostatin at a speed of $1.25 \mu\text{g}/\text{minute}$, insulin response to glucose injected into the pancreaticoduodenal artery in a small dose, as well as having no effect on the plasma glucose level in systemic circulation, was also significantly

inhibited.

From these findings obtained by direct experiment using the pancreaticoduodenal arterio-venous system, it was confirmed that somatostatin exhibits a direct inhibitory action on pancreas endocrine in a very low concentration in vivo, and it was suggested that this action might be partly due to a reduction in pancreatic circulation.

はじめに

Somatostatin が膵内分泌に対し、抑制効果を発揮することは、本物質を経静脈的に全身投与した際の血中インスリンやグルカゴン測定の結果^{1) 2) 5) 9) 12) 14)}、膵灌流³⁾、さらには単離ラ氏島細胞を用いた in vitro 実験成績^{4) 7) 13)} によって明らかにされている。

われわれはイヌの上膵十二指腸動脈内に直接 somatostatin を注入し、その際のインスリン、グルカゴンの基礎分泌に与える影響、また Somatostatin 注入下に少量のグルコースを負荷した場合の膵内分泌への影響を上膵十二指腸静脈血、股動脈血中 IRI、IRG 値の変動を指標として検討した結果、somatostatin の膵内分泌抑制効果には一部膵血流量減少が関与する可能性を示唆する成績をえたので報告する。

実験対象および実験方法

体重 17.5~24.0 kg の成犬を使用し、12~16時間絶食後、ペントバルビタール麻酔下に開腹し、Kanazawa ら⁶⁾ の方法に準じ上膵十二指腸静脈内にカニューレを挿入し、その他端を門脈に還流し、用時採血、血流量測定を行った。一方、上膵十二指腸動脈では gastroepiploic branch を介しカテーテルを挿入、これより薬物を自動持続注入器を用い投与した。somatostatin は cyclized SRIF (Bachem INC) を生理的食塩水に溶解し使用した。血糖測定は glucose oxidase 法、血中 IRI は Morgan and Lazarow¹¹⁾ 変法による 2 抗体法 radioimmunoassay 法により測定し、インスリン標準品にはイヌ・インスリン結晶、Lot No. H 6264 (Novo 社, Dr. Heding 提供) を用いた。血中グルカゴン測定は Greenwood ら⁸⁾ による chloramin T 法で標識グルカゴンを作製し、グルカゴン標準品にはウシ・グルカゴン Lot. No. 258-030-138-4 (Lilly 社, Dr. Roof 提供)、また抗グルカゴン抗体として AJ-15 (gut glucagon-like immunoreactivity と交叉反応を示す。金東博士提供) を用い、B/F 分離には dextran coated charcoal 法を採用し行った。

なお、膵静脈血 IRI、IRG 放出量は (IRI 濃度×血流量) $\mu\text{U}/\text{min}$ 、(IRG 濃度×血流量) pg/min で表わした。また、実験成績の統計学的処理は F 検定による。

実験成績

1. インスリン、グルカゴン基礎分泌に与える somatostatin の効果について

1) インスリン分泌: Fig. 1 は 5 頭の犬につき somatostatin $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}/\text{min}$ を直接上膵十二指腸動脈に 20 分にわたり注入した際の膵静脈血中 IRI の変動を示す。左中央に示す如く、注入開始 5 分にて IRI 濃度は前値 $205 \pm 48 \mu\text{U}/\text{ml}$ (平均±標準誤差) から急激に減少し $21 \pm 4 \mu\text{U}/\text{ml}$ になり、以後も注入中は低値を持続した (5, 10, 15, 20 分いずれも有意減少, $P < 0.001$) が、注入終了後 5 分で急上昇し、10 分後では前値をこえる値を示した。インスリン放出量 (output) で表わした場合も全く同様の傾向であった ($P < 0.001$)。

なお、血流量は somatostatin 注入開始 5 分で減少傾向を、10 分後には有意の減少、20 分後には前値の約 65% となり、注入終了後もその値を持続した。

一方、股動脈血中 IRI 濃度は Fig. 1 右に示す如く、前値平均 $18 \pm 3 \mu\text{U}/\text{ml}$ より注入開始 5 分にて有意に低下し ($P < 0.05$)、以後 10, 15, 20 分と低下状態を持続し (有意減少 $P < 0.01 \sim 0.001$) $5.0 \mu\text{U}/\text{ml}$ 前後となったが、30 分後ではほぼ前値に復した。

Fig. 1. The effect of somatostatin infused at a speed of $2.5 \mu\text{g}/\text{minute}$ into the superior pancreaticoduodenal artery on the plasma levels of glucose and insulin (IRI) in the pancreaticoduodenal vein and femoral artery of dogs. Insulin output was illustrated in the left bottom corner. Each point represents the mean value of results from 5 experiments.

膵静脈血および股動脈血中血糖濃度は注入中わずかに低下傾向を示したが有意の変動ではなかった。

Fig. 2 は以上の somatostatin によるインスリン分泌抑制制度を-3,0分における IRI 平均値に対する百分率で示した結果で, 注入開始 5 分にて 11.8% となり, 15 分では 6.3% と最低に達し, 注入中同程度の抑制 ($P < 0.001$) が持続したが, 注入中止 10 分で急上昇し前値平均の 204% に達した。放出量を前値平均に対する % で表わした場合も全く同様の傾向が示された。股動脈血中 IRI の減少 (%) も 5, 10, 15, 20 分で有意 ($P < 0.001$) で, 中止 10 分後も有意低下 ($P < 0.05$) を示した。

2) グルカゴン分泌: Fig. 3 に示す如く膵静脈血中 IRG も前値平均 618 pg/ml より somatostatin 注入開始 5 分, 10 分, 15 分と漸次減少度がつよくなり, 20 分の平均値は 224 pg/ml と最低値を示した (各時点とも $P < 0.01$ で有意低下)。注入中止後は IRI の場合と同じく再上昇したが前値をしのぐレベルには達しなかった。

Fig. 2. The effect of somatostatin on the insulin secretion in dogs. Each figure shows per cent decrease of plasma insulin and insulin output in the pancreaticoduodenal vein and those of plasma insulin in the femoral artery.

IRG 放出量で算出した結果も同様の傾向であった。一方、股動脈血中 IRG 濃度は前値平均 379 pg/ml より注入開始後次第に下降傾向を示し、注入中止後も低下状態を維持した点は IRI の場合と同様であったが、各例の実測値のバラツキが大きく推計学的有意差はみとめられなかった。

Fig. 4 は以上の結果を前述の IRI と同様に -3, 0 分平均値に対する百分率で示したもので、臍静脈血 IRG は濃度、放出量ともに 5 分より 20 分を谷とする有意 ($P < 0.01 \sim 0.001$) の下降を示したが、濃度において最低 37.5%，放出量において最低 29% と IRI の分泌抑制制度それぞれ 4.3%，4.8% に比較すると軽度であった。股動脈血 IRG 減少率 (%) も 5 ～ 20 分の各時点でも有意 ($P < 0.05 \sim 0.01$) 低下を示した。

2. グルコース少量投与下のインスリン分泌に与える SRIF の効果について

Fig. 5 に示す如く、somatostatin を 1.25 µg/ml/min の速度で 40 分間にわたり上臍十二指腸動脈に注入しつつ、20 分目に 50 % グルコース 0.4 ml を同動脈内に注入した。対照実験として somatostatin の代りに生食水を同一速度で注入しつつ、注射開始 20 分後上記同様グルコース負荷を試みた。グルコース負荷によって股動脈血糖に有意の上昇は認められず、またグルコース注入時の臍静脈血における血糖上昇の程度は somatostatin 注入と生食注入実験の間で有意差はなかった。

1) インスリン分泌：対照実験の生食注入下に少量グルコースを負荷した際の臍静脈 IRI の変動 (Fig. 5 実線) に比較し、somaostatin 注入実験 (Fig. 5 点線) では 5, 10, 20 分と IRI が漸減し ($P < 0.05$)、さらに 20 分目に投与した少量グルコースに対する IRI 反応も有意の減少 (10 分, 20 分後 $P < 0.05$) を示した。somatostatin 注入中止後 10 分では前述の基礎分泌で検討した際と同様 rebound がみられた。以上の結果はインスリン放出量で表わしても同様の成績であった。Fig. 6 はグルコース投与開始後 20 分間における臍静脈血中グルコース濃度および IRI を Σ BS, Σ IRI で表わした結果で、対照実験 (PS+G) と somatostatin 注入実験 (somatostatin+G) とでは Σ BS に有意差はないが、 Σ IRI は後者で有意 ($P < 0.05$) に減少を認めた。

Fig. 3. The effect of somatostatin infused at a speed of $2.5 \mu\text{g}/\text{minute}$ into the superior pancreaticoduodenal artery on the plasma levels of glucose and glucagon (IRG) in the pancreaticoduodenal vein and femoral artery of dogs. Glucagon output was illustrated in the left bottom corner. Each figure shows the mean of results obtained from 5 experiments.

考 按

われわれのえた somatostatin の膵インスリン, グルカゴン分泌に対する抑制作用は, すでに報告された成績と本質的には差はないが, 本物質が *in vivo* のより生理的実験条件下に膵内分泌を直接抑制することを示した点で意義がある。

われわれの somatostatin 投与量 ($2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$) は Sakurai et al.¹⁵ のイヌを用いた 経静脈的全身投与量 ($3.3 \mu\text{g}/\text{ml}$) に比べやや少ないが, 上膵十二指腸動脈内への直接注入法である点を考慮すると十分な量であったものと理解される。

最近 Leblanc ら¹⁰⁾ は人に経静脈性に c-somatostatin, l-somatostatin を与えた場合のインスリン, グルカゴン分泌抑制能を比較検討し, グルカゴン分泌抑制効果については2つの化合物による差は認めなかった。

Fig. 4. The effect of somatostatin on the glucagon secretion in dogs. Each figure shows per cent decrease of plasma glucagon and glucagon output in the pancreaticoduodenal vein and those of plasma glucagon in the femoral artery.

が、インスリン基礎分泌に対しては c-SRIF の方がより強い作用をもち、いずれの形の SRIF もグルカゴンよりインスリン分泌をより強く抑制するという結果を報告している。われわれの実験成績においてもインスリン分泌に対する抑制効果がグルカゴンに対するより著明に現れた。腸管グルカゴンに与える somatostatin の効果については目下のところ確たる成績がないとはいえ、われわれの使用した抗グルカゴン抗体は膵グルカゴンに特異的でないので問題はあろう。

上記の実験の結果で注目すべきことは、somatostatin 注入によるインスリン、グルカゴン基礎分泌への直接的な抑制作用が膵静脈血中のそれぞれのホルモン濃度の低下で示されたとはいえ、膵からのホルモン放出量という観点からみると、somatostatin 投与後膵の血流量が明らかに減少している点である。何故かように血流量が減少するかの機序は詳ではないが、同時に測定した膵静脈血糖が有意ではないにしろ somatostatin により減少傾向を示した事実と合わせ、今後検討の要があると思われる。なお、somatostatin 注入終了後に両ホルモンとも跳躍的再上昇を示し、特にインスリン分泌の rebound が著明であった点は、われわれがすでに糖尿病患者についてえた結果¹⁴⁾と同様であるが、この rebound の時点でも膵血流量減少は十分に回復していない事実から推定すると血流減少にも somatostatin が関与しており、somatostatin 注入中止後のホルモン上昇は somatostatin 自体の抑制効果の解除によることは明らかであろう。

結 論

Somatostatin (cyclized SRIF) をイヌの上脘十二指腸動脈内に直接注入し、基礎および少量のグルコース負荷時の上脘十二指腸静脈血中インスリン、グルカゴン分泌に与える影響を検討した。

1) Somatostatin は上脘十二指腸静脈血中 IRI, IRG 濃度および放出量を有意に抑制し、somatostatin 注入終了後著しい再上昇を惹起した。

Fig. 5. The effects of somatostatin infused at a speed of 1.25 μ g/minute into the pancreaticoduodenal artery on the glucose-induced insulin release from the pancreaticoduodenal vein. The solid circles show the mean of results obtained from 4 control experiments under infusion of physiologic saline without somatostatin. The open circles show the mean of results obtained from 4 experiments under infusion of somatostatin. "G" shown in the middle of period of somatostatin infusion illustrates the injection of 0.4ml of 50% glucose. Significant inhibition of glucose-induced insulin release and insulin output from the pancreaticoduodenal vein was seen under somatostatin infusion. No significant changes in the plasma glucose and insulin in the femoral artery were seen.

Fig. 6. The effects of somatostatin on the glucose-induced rises of blood sugar and insulin in the pancreaticoduodenal during 20 minutes after glucose-load. The results were shown as ΣBS and ΣIRI .

これらホルモンの放出量減少には膵血流量の減少も一部関与すると考えられた。

2) 全身血血糖に影響を与えない程度の少量グルコースを上十二指腸動脈内に負荷した際のインスリン分泌も somatostatin 注入下では有意に抑制され、注入中止と共に rebound を示した。

以上の成績から、somatostatin は in vivo において膵内分泌に直接抑制作用をもっており、膵血流にも一部影響を与えるのではないかと推定された。

本論文の要旨は第48回日本内分泌学会総会（京都）において口演した。

終りにインスリン、グルカゴン結晶、抗グルカゴン抗体を提供いただいた Dr. Heding, Dr. Roof, 金東博士、ならびに本実験に側面的御助力をいただいたミドリ十字研究所所長須山博士に謝意を表します。

文 献

- 1) Alberti, K.G.M., Christensen, S.E., Iversen, J., Hansen, K.S., Christensen, N.J., Hansen, A.A.P., Lundbaek, K., and Orskov, H.: Inhibition of insulin secretion by somatostatin. *Lancet*, II: 1299-1301, 1973.
- 2) De Vane, G.W., Siler, T.M. and Yen, S.S.C.: Acute suppression of insulin and glucose levels by synthetic somatostatin on normal human subjects. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 38: 913-915, 1974.
- 3) Effendic, S., Luft, R. and Grill, V.: Effect of somatostatin on glucose induced insulin release in isolated perfused rat pancreas and isolated rat pancreatic islets. *FEBS Letters*, 42: 169-172, 1974.
- 4) Fujimoto, W.Y., Ensink, J.W. and Williams, R.H.: Somatostatin inhibits insulin and glucagon release by monolayer cell cultures of rat endocrine pancreas, *Life Science*, 15: 1999-2004, 1975.
- 5) Gerich, J.E., Lorenzi, M., Schneider, V., Karam, J.H., Rivier, J., Guillemin, R. and Forsham, P.H.: Effects of somatostatin

- on plasma glucose and glucagon levels in human diabetes mellitus. Pathophysiologic and therapeutic implications. *New Engl. J. Med.*, 291 : 544-547, 1974.
- 6) Greenwood, F.C., Hunter, W.M. and Glover, J.S. : The preparation of ^{131}I -labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem J.* 89 : 114-123, 1963.
- 7) Johnson, D.G., Ensink, J.W., Koerker, D., Palmer, J. and Goodner, C.J. : Inhibition of glucagon and insulin secretion by somatostatin in the rat pancreas perfused in situ. *Endocrinology*, 96 : 370-374, 1975.
- 8) Kanazawa, Y., Kuzuya, T., Ide, T., and Kosaka, K. : Plasma insulin responses to glucose in femoral, hepatic, and pancreatic veins in dogs. *Am. J. Physiol.* 211 : 442-448, 1966.
- 9) Koerker, D.J., Ruch, W., Chideckel, E., Palmer, J., Goodner, C.J., Ensink, J. and Gale, C.C. : Somatostatin : Hypothalamic inhibitor of the pancreatic pancreas. *Science*, 184 : 482-484, 1974.
- 10) Leblanc, H. and Yen, S.S.C. : Comparison of cyclic and linear forms of somatostatin in the inhibition of growth hormone, insulin and glucagon secretion. : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.* 40 : 906-908, 1975.
- 11) Morgan, C.R. and Lazarow, A. : Immunoassay of insulin : two antibody system. Plasma levels of normal, subdiabetic and diabetic rats. *Diabetes*, 12 : 115-126, 1963.
- 12) Mortimer, C.H., Can, D., Lind, T., Bloom, S.R., Mallinson, C.N., Schally, A.V., Tunbridge, W.M.G., Yeomans, L., Coy, D.H., Kastin, A., Besser, G.M. and Hall, R. : Effects of growth-hormone release inhibiting hormone on circulating glucagon, insulin and growth hormone in normal, diabetic, aromegalic, and hypopituitary patients. *Lancet*, I : 697-701, 1974.
- 13) Okamoto, H., Noto, Y., Miyamoto, S., Mabuchi, H. and Takeda, R. : Inhibition by somatostatin of insulin release from isolated pancreatic islets. *FEBS Letters*, 54 : 103-105, 1975.
- 14) 竹田亮祐, 中林肇, 臼倉教臣, 上田操, 岸谷正雄, 岡本宏, 駒井哲男, 細島弘行 : Somatostatin (SRJF) の糖尿病患者・成長ホルモン及び膵内分泌への効果, 最新医学30 : 1410-1417, 1975.
- 15) Sakurai, H., Dobbs, R. and Unger, R.H. : Somatostatin-induced changes in insulin and glucagon secretion in normal and diabetic dogs. *J. Clin. Invest.* 54 : 1395-1402, 1974.