Glucocorticoid 投与による単離ラ氏島の インスリン分泌について

—— 特に単離ラ氏島の周辺灌流を用いた検討 ——

東京医科大学 内科 第三講座

(指導: 梅原 千治教授)

植 木 彬 夫

Hyperinsulinism Induced with Glucocorticoid — A Study on Using A Perfusion System of Isolated Islets in Rats —

Akio UEKI

The Third Department of Internal Medicine,

Tokyo Medical College

(Director: Prof. Senzi Umehara, M.D.)

In order to elucidate the mechanism of hyperinsulinism following a treatment with glucocorticoid, insulin secretion induced with glucose or tolbutamide was investigated by a perfusion experiment on isolated islets of rats. The results are summarized as follows;

1. The fasting blood glucose level was significantly higher on the 2nd day (174.0 ± 11.8 mg/dl) and 3rd day (179.6 ± 9.5 mg/dl) in the glucocorticoid treated rats, than it was in the control rats (129.0 ± 12.0 mg/dl). The serum insulin levels began to increase from the first day following the glucocorticoid treatment (17.2 ± 1.3 μ U/ml in the control rats, 27.6 ± 2.1 μ U/ml on the 1st day, 32.4 ± 3.9 μ U/ml on the 2nd day, and 34.5 ± 1.4 μ U/ml on the 3rd day).
2. The insulin content of the islets decreased with the glucocorticoid treatment (765.6 ± 34.5 μ U/islet in the control rat, 576.6 ± 25.0 μ U/islet on the 1st day, 629.2 ± 36.9 μ U/islet on the 2nd day, and 482.0 ± 43.5 μ U/islet on the 3rd day).
3. In the perfusion experiment, a biphasic pattern of insulin secretion was demonstrated with the stimulation of glucose in the control and glucocorticoid treated rats.

A remarkable enhancement of insulin secretion was observed by the stimulation of 100 mg/dl glucose.

The amount of insulin secretion at the first phase (up to 7 min. after the glucose stimulation) was 2.9 ± 0.5 μ U/islet on the 1st day, 2.7 ± 0.3 μ U/islet on the 2nd day and 3.8 ± 0.1 μ U/islet on the 3rd day; these amounts were high compared with that of 1.8 ± 0.1 μ U/islet in the control rat. The amount of insulin secretion at the second phase (8 to 60 min. after the glucose stimulation) was 28.5 ± 2.5 μ U/islet on the 1st day, 37.1 ± 3.3 μ U/islet on

the 2nd day and $41.3 \pm 1.8 \mu\text{U}/\text{islet}$ on the 3rd day; these amounts were higher when compared with that of $24.7 \pm 0.7 \mu\text{U}/\text{islet}$ in the control rat.

4. The monophasic insulin secretion from isolated islets by the stimulation of tolbutamide was enhanced with the treatment of glucocorticoid.

These results indicate that glucocorticoid directly enhances insulin secretion from the pancreatic islets at the physiological concentration of blood glucose, which seems to be an important factor in the occurrence of hyperinsulinemia associated with glucocorticoid therapy.

I 諸 言

1941年 Ingle⁷⁾が glucocorticoid をヒトに投与すると糖尿病が起きることを報告して以来, glucocorticoid 投与による血中インスリンの増加やぶどう糖, 各種アミノ酸刺激によるインスリン分泌の亢進等が報告されている^{3) 15) 16)}。

また同時に耐糖能の異常を招来することもよく知られている⁸⁾。

この様なインスリン分泌促進作用が glucocorticoid の膵 β 細胞への直接作用によるのか, 末梢組織での糖利用の抑制や, 肝臓での糖新生の促進が glucocorticoid によってもたらされ, その結果生じた過血糖が膵 β 細胞を刺激したためであるのか, いまだその機序は不明の点が多い。

Marco¹⁵⁾らは, 脂肪組織, 胸腺細胞などでは, glucocorticoid がインスリンの糖代謝促進作用に拮抗的に働き, 糖代謝の平衡維持のために代償的にインスリン分泌刺激がおこり, その結果, 高インスリン血症が出現するのではないかと説明している。

しかし最近, 川合⁸⁾らはラットに dexamethasone を投与したとき, 高インスリン血症が glucocorticoid の糖代謝抑制作用とは独立して起こることを示唆している。

そこで著者は glucocorticoid 投与後の高インスリン血症の発現の機序を解明する目的で, ラットに cortisone-acetate を 1~3 日間腹腔内投与し, その空腹時血糖値, 血中インスリン値, 膵ラ氏島内インスリン含有量を測定すると共に, ラ氏島を単離して in vitro でぶどう糖, トルブタマイドによる刺激を行い, そのインスリン分泌動態から glucocorticoid のインスリン分泌に及ぼす作用について検討を加えた。

II 実験材料と方法

A. 実験動物

実験には体重 250~350 g の Wistar 系雄性ラットを用い, 一週間以上市販の固型飼料を与え, 水は自由に与えて, 次の 4 群に分けた。

I 群. 対照群

II 群. cortisone 1 日投与群

III 群. cortisone 2 日投与群

IV 群. cortisone 3 日投与群

cortisone は cortisone acetate 水性懸濁液を 25 mg/kg 腹腔内投与した。

B. 実験方法

空腹時血糖，血中インスリン，および膵ラ氏島内インスリン含有量の測定。

12時間絶食後，頸静脈より採血し，血糖値，および血中インスリン値の測定を行った。

血糖値の測定はOTB法（オルト，トルイジン，ホウ酸法）で行い，インスリンの測定は，Wide考案の固相法によるradio immunoassayで行った²⁰。

膵ラ氏島内インスリン含有量は，後述する方法で得た単離ラ氏島5ヶを，4 mlのKrebs-Ringar-bicarbonate buffer (K.R.B.B)と共にincubation tubeに入れ，ソニケーター（OHOTAKE製）を用いてラ氏島を破壊して測定した。

膵ランゲルハンス島の単離

ラ氏島の単離はLacy¹⁰らの方法に準じcollagenase法にて行った。12時間絶食後，ラットをエーテル麻酔下に開腹し，総胆管の十二指腸部よりポリエチレン・カテーテルを挿入し，肝門部付近の総胆管を結紮した後，Hanks液を10～20ml注入した。膨化した膵臓を摘出しHanks液中で眼科用手術鉗で細断，この膵片と25mg/膵のcollagenaseをincubation tubeに入れ，5%CO₂，95%O₂ガス通気後，用手にて5分間強振し，その後37℃のincubatorにて60c/minのstrokeでincubateし膵臓を消化し，ラ氏島をHanks液で充分洗滌した後単離した。

周辺灌流装置および方法

周辺灌流装置（perifusion system）はLacy¹¹らの方法に準じて行った。

装置を（図-1）に示した。chamberはMillipore-filter-unit（Millipore-Corp）を使用し，内容積が0.5mlになるように改良した。

装置に使用する接続チューブ，三方活栓などはすべてシリコン加工したものを用いた。

前述した方法で単離した，ラ氏島50ヶをchamber内に入れ，chamber全体を37℃のwater-bathの中に沈め，実験施行中灌流液が一定の温度を保つようにした。

灌流液にはK.R.B.Bを用い，これに0.2%牛血清アルブミン(fraction V)，sodium glutamate 84.55mg/dl，sodium fumarate 80.0mg/dl，sodium pyruvate 55mg/dlを添加し，5%CO₂，95%O₂ガスを通気し，ガスで飽和されるようにし，pH7.2～7.4に維持した。

灌流速度は1 ml/minで行った。

周辺灌流における各種刺激方法

ぶどう糖(100mg/dl, 300mg/dl, 500mg/dl)による刺激は，30mg/dlぶどう糖添加K.R.B.Bにて60分間preperifusionを行い，ラ氏島よりのインスリン分泌を安定させた後におこなった。preperifusion開始後49分，54分，59分の各時点での1分間のインスリン分泌量を基礎値とした。preperifusionの後autoinjectorより100mg/dl, 300mg/dl, 500mg/dlの各濃度のぶどう糖添加K.R.B.Bで刺激を行った。刺激後15分までは1分間隔，その後30分までは5分間隔，以後60分まで10分間隔で採液を行った。

トルブタマイド(40mg/dl)による刺激は，ぶどう糖100mg/dl添加K.R.B.Bにて60分間pre-perifusionした後，Lacy¹¹らに準じて，同濃度のぶどう糖と40mg/dlのトルブタマイドを添加したK.R.B.Bをauto-injectorより注入して行った。刺激後15分までは1分間隔で，その後30分までは5分間隔で，灌流液を採液した。

以上の方法で行った，ぶどう糖およびトルブタマイド刺激における灌流液中のインスリン量を測定し，単離ラ氏島よりのインスリンとして，その経時の変化を観察し，ぶどう糖単独の場合と，トルブタマイド添加時におけるインスリン分泌様式と分泌量を比較観察した。

Fig. 1. Perifusion system.

Table 1. The effect of glucocorticoid on blood glucose, serum insulin and islet insulin contents. (M $\pm$ SE)

	Control group (n)	Cortisone-treated 1 day group (n)	Cortisone-treated 2 days group (n)	Cortisone-treated 3 days group (n)
Blood glucose (mg/dl)	129.0 $\pm$ 12.0 (8)	134.6 $\pm$ 11.0 (9)	174.0 $\pm$ 11.8 * (12)	179.6 $\pm$ 9.5 * (5)
Serum insulin (μ u/ml)	17.2 $\pm$ 1.3 (9)	27.6 $\pm$ 2.1 ** (10)	32.4 $\pm$ 3.9 ** (8)	34.5 $\pm$ 1.4 ** (5)
Islet insulin content (μ u/islet)	765.5 $\pm$ 34.5 (8)	576.6 $\pm$ 25.0 ** (5)	629.2 $\pm$ 36.9 * (6)	482.0 $\pm$ 43.5 ** (3)

* P < 0.05 ** P < 0.01

III 実験成績

A. 空腹時血糖値, 血中インスリン値

空腹時血糖値 (表-1) は, 対照群では $129.0 \pm 12.0 \text{ mg/dl}$ (M $\pm$ SEM), cortisone 1 日投与群 $134.6 \pm 11.0 \text{ mg/dl}$, 2 日投与群 $174.0 \pm 11.8 \text{ mg/dl}$, 3 日投与群 $179.6 \pm 9.5 \text{ mg/dl}$, と cortisone 投与後の血糖値は増加傾向を示した, (対照群と比べて, 1 日投与群 P = NS, 2 日, 3 日投与群 P < 0.05)。

空腹時血中インスリン値 (表-1) は, 対照群 $17.2 \pm 1.3 \mu\text{u/ml}$, cortisone 1 日投与群 $27.6 \pm 2.1 \mu\text{u/ml}$, 2 日投与群 $32.4 \pm 3.9 \mu\text{u/ml}$, 3 日投与群 $34.5 \pm 1.4 \mu\text{u/ml}$ であった。対照群と比較し, cortisone の投与回数に応じて血中インスリンは増加した, (対照群と比べて 1 日投与群, 2 日投与群, 3 日投与群共に P < 0.01)。

すなわち, 血糖値は cortisone 投与 1 日群の増加は有意差ではなかったが, 血中インスリンは投与後 1 日群よりすでに明らかな上昇を認めた。

B. ラ氏島内インスリン含有量

脾ラ氏島内インスリン含有量 (表-1) は, 対照群 $765.5 \pm 34.5 \mu\text{u/islet}$, cortisone 投与 1 日群 $576.6 \pm 25.0 \mu\text{u/islet}$, 2 日投与群 $629.2 \pm 36.9 \mu\text{u/islet}$, 3 日投与群 $482.0 \pm 43.5 \mu\text{u/islet}$, であった。対照群と比較し cortisone 投与群は, 血中インスリンの増加にもかかわらず, ラ氏島内インスリン含有量は減少していた, (対照群と比べて 1 日投与群, 3 日投与群 P < 0.01, 2 日投与群 P < 0.05)。

Table 2. The effect of glucocorticoid on glucose induced insulin secretion in perfused rat islets. ($M \pm SE$)

Stimulated glucose concentration	Control group (n)	Cortisone-treated 1 day group (n)	Cortisone-treated 2 days group (n)	Cortisone-treated 3 days group (n)
30mg/dl (μ u/islet/min)	0.22 $\pm$ 0.08 (9)	0.23 $\pm$ 0.08 (7)	0.23 $\pm$ 0.03 (7)	0.46 $\pm$ 0.13 *** (5)
100 mg/dl				
1st phase	1.8 $\pm$ 0.1	2.9 $\pm$ 0.5 *	2.7 $\pm$ 0.3 **	3.8 $\pm$ 0.1 ***
2nd phase	24.7 $\pm$ 0.6 (10)	28.5 $\pm$ 2.5 (3)	37.1 $\pm$ 3.3 *** (3)	41.3 $\pm$ 1.8 *** (3)
300 mg/dl				
1st phase	3.7 $\pm$ 0.5	3.9 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.4	4.9 $\pm$ 0.7
2nd phase	52.6 $\pm$ 0.2 (4)	58.1 $\pm$ 7.9 (3)	61.2 $\pm$ 5.6 (3)	78.5 $\pm$ 9.5 (3)
500 mg/dl				
1st phase	3.8 $\pm$ 0.3	3.8 $\pm$ 0.3	5.0 $\pm$ 0.1	4.0 $\pm$ 0.1
2nd phase	51.7 $\pm$ 2.5 (3)	59.7 $\pm$ 10.5 (2)	63.1 $\pm$ 5.4 (2)	91.3 $\pm$ 3.7 *** (2)

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

C. 周辺灌流による成績

1. 30mg/dl ぶどう糖の preperifusion における基礎インスリン分泌

preperifusion 開始後49分, 54分, 59分の各時点での1分間のインスリン量を基礎分泌量とし, その平均値(表-2)は, 対照群 $0.22 \pm 0.08 \mu\text{u}/\text{min}/\text{islet}$, cortisone 1日投与群 $0.23 \pm 0.08 \mu\text{u}/\text{min}/\text{islet}$, 2日投与群 $0.23 \pm 0.03 \mu\text{u}/\text{min}/\text{islet}$, 3日投与群 $0.46 \pm 0.13 \mu\text{u}/\text{min}/\text{islet}$ であった。対照群と比較すると cortisone 投与群の30mg/dl ぶどう糖に対するインスリン分泌量は3日投与群で有意に増加していた, (1日, 2日投与群 $P = \text{NS}$, 3日投与群 $P < 0.01$)。

Fig. 2. The pattern of insulin secretion following stimulation of perfused control and treated rat islets with 100mg/dl glucose.

2. 100mg/dl ぶどう糖刺激におけるインスリン分泌反応

100mg/dl ぶどう糖刺激による対照群のインスリン分泌曲線 (図-2) は, 刺激後 3~4 分に初期相の頂値が出現し, 以後 7~8 分で一旦低下した後, 20~30 分まで漸増して行き, その後平坦化する 2 相性のインスリン分泌曲線を示した。

対照群ラットのラ氏島と比べて cortisone 投与後のラ氏島からのインスリン分泌は高値を示している。

ここで, 単離ラ氏島からのインスリン分泌量を初期相と後期相に分けて, そのインスリン累積量を積算してみると (表-2), 対照群の初期分泌量 (ぶどう糖刺激後 1~7 分の累積量) $1.8 \pm 0.1 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 (8~60 分の累積量) $24.7 \pm 0.6 \mu\text{u}/\text{islet}$ であった。

cortisone 投与各群のインスリン分泌量は, 1 日投与群の初期分泌量 $2.9 \pm 0.5 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 $28.5 \pm 2.5 \mu\text{u}/\text{islet}$, 2 日投与群の初期分泌量 $2.7 \pm 0.3 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 $37.1 \pm 3.3 \mu\text{u}/\text{islet}$, 3 日投与群の初期分泌量 $3.8 \pm 0.1 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 $41.3 \pm 1.8 \mu\text{u}/\text{islet}$ であった。これらの値を対照群と比較すると cortisone 投与群の初期分泌量は有意に増加した。(1 日投与群 $P < 0.05$, 2 日, 3 日投与群 $P < 0.01$)。後期分泌量では 1 日投与群では有意の増加を認めないが, 2 日, 3 日投与群では明らかな増加を認めた。(1 日投与群 $P = \text{NS}$, 2 日, 3 日投与群 $P < 0.01$)。

Fig. 3. The pattern of insulin secretion following stimulation of perfused control and treated rat islets with 300mg/dl glucose.

3. 300mg/dl ぶどう糖刺激におけるインスリン分泌反応

対照群および cortisone 投与各群における, 300mg/dl ぶどう糖によるインスリン分泌反応は 100 mg/dl ぶどう糖刺激の場合よりさらに明確な 2 相性のパターンを示した (図-3)。

しかし, インスリン分泌が初期相より後期相に移行するとき (刺激後 8~12 分) の一過性の低下が cortisone 投与群では対照群に比較し軽度であった。

Fig. 4. The pattern of insulin secretion following stimulation of perfused control and treated rat islets with 500mg/dl glucose.

Fig. 5. The pattern of insulin secretion following stimulation of perfused control and treated rat islets with 40mg/dl tolbutamide.

各群のインスリン分泌量 (表-2) は, 対照群の初期分泌量 $3.7 \pm 0.5 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 $52.6 \pm 0.2 \mu\text{u}/\text{islet}$ であるのに対して cortisone 1 日投与群の初期分泌量は $3.9 \pm 0.3 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 $58.1 \pm 7.9 \mu\text{u}/\text{islet}$, 2 日投与群の初期分泌量 $4.5 \pm 0.4 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 $61.2 \pm 5.6 \mu\text{u}/\text{islet}$, 3 日投与群の初期分泌量 $4.9 \pm 0.7 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 $78.5 \pm 9.5 \mu\text{u}/\text{islet}$ であった。

この分泌量を対照群と比べると cortisone 投与群の初期分泌量, 後期分泌量とも平均値では一般に増加しているが, 固々のラ氏島では偏差があり全体として有意の差とは判定できなかった。

4. 500mg/dl ぶどう糖刺激におけるインスリン分泌反応

500mg/dl ぶどう糖によるインスリン分泌 (図-4) は, 対照群, cortisone 投与群とも 300mg/dl ぶどう糖によるインスリン分泌曲線に類似した 2 相性の曲線を示した。

その分泌量 (表-2) は, 対照群の初期分泌量 $3.8 \pm 0.3 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 $51.7 \pm 2.5 \mu\text{u}/\text{islet}$, cortisone 1 日投与群の初期分泌量 $3.8 \pm 0.3 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 $59.7 \pm 10.5 \mu\text{u}/\text{islet}$, 2 日投与群の初期分泌量 $5.0 \pm 0.1 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 $91.3 \pm 3.7 \mu\text{u}/\text{islet}$, 3 日投与群の初期分泌量 $4.0 \pm 0.1 \mu\text{u}/\text{islet}$, 後期分泌量 $91.3 \pm 3.7 \mu\text{u}/\text{islet}$ であった。

この分泌量を対照群と比べると cortisone 投与群の初期分泌量は各群とも有意差ではなかったが, 後期分泌量は 3 日投与群にのみ有意差 ($P < 0.01$) が認められた。

5. トルブタミド刺激によるインスリン分泌反応

トルブタミド刺激は 100mg/dl ぶどう糖添加 K.R.B.B にて 60 分間 preperifusion した後に, 同濃度ぶどう糖と共に 40mg/dl トルブタミドで行った。

対照群, cortisone 投与群ともにトルブタミド刺激後, 典型的な単相性のインスリン分泌曲線を示した (図-5)。このインスリン分泌曲線の立ち上り勾配はぶどう糖刺激による初期相の出現より急峻で, 1 ~ 2 分ですでに頂値に達した。またそのインスリン分泌反応の消褪は速く, 7 分後にはほぼ基礎値に復している。

この結果は, 本装置の dead-space 0.5 ml を考慮すると, トルブタミド刺激直後に急激なインスリン分泌がなされたと推定できる。

Table 3. The effect of glucocorticoid on tolbutamide induced insulin secretion in perfused rat islets. ($M \pm SE$)

	insulin ($\mu\text{u}/\text{islet}/\text{min}$) (n)
Control	4.5 ± 0.2 (4)
Cortisone-treated 1 day group	8.5 ± 2.0 (3)
Cortisone-treated 2 days group	9.0 ± 0.7 ** (3)
Cortisone-treated 3 days group	7.9 ± 1.1 * (3)

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

トルブタマイド刺激によるインスリン分泌量(刺激後1~7分の累積量)(表-3)は、対照群 $4.5 \pm 0.2 \mu\text{u}/\text{islet}$, cortisone 投与1日群 $8.5 \pm 2.0 \mu\text{u}/\text{islet}$, 2日投与群 $9.0 \pm 0.7 \mu\text{u}/\text{islet}$, 3日投与群 $7.9 \pm 1.1 \mu\text{u}/\text{islet}$ であった。これを対照群と比較すると、1日投与群では偏差が大きい、2日、3日投与群では有意の増加と判定し得た、(2日投与群 $P < 0.01$, 3日投与群 $P < 0.05$)。

IV 総括と考案

今回、著者はラットに cortisone-acetate を投与し、その後の血糖値、血中インスリン値の変動とあわせて、ラ氏島内インスリン含有量をみた、またぶどう糖およびトルブタマイド刺激を単離ラ氏島で perfusion-system を用い in vitro で行い、そのインスリン分泌動態について観察した。

本実験では cortisone 25mg/kg と比較的大量を投与したが、これにより空腹時血糖は1日後より上昇傾向を認め、特に2日投与群、3日投与群では対照群に比べ有意の上昇をみた。

また同時に測定した血中インスリンのレベルは、血糖値の上昇がわずかであった1日投与群よりすでに対照群に比べ有意の増加が認められた。

この高インスリン血症の発現機序の一つとして、従来 glucocorticoid が筋や脂肪組織において糖利用を妨げ、肝における糖新生を促進する結果、血糖を上昇させ、この過血糖が膵 β 細胞を刺激して高インスリン血症を2次的に來たす可能性が考えられてきた^{5) 19)}。

しかし、glucocorticoid によって発現した高インスリン血症と血糖値の関係をみるために、血中インスリン値と空腹時血糖値の glucocorticoid 投与前後の増加量の比を算出してみると、1日投与群 $(1.86) > 2$ 日投与群 $(0.34) \div 3$ 日投与群 (0.34) であった。すなわち血糖値の上昇に対するインスリンの増加は1日目でもっとも高い値を示し、血中インスリンの増加は血糖値の上昇とは必ずしも平行するものではなかった。このことは glucocorticoid 投与後に惹起される高インスリン血症が血糖の上昇に依存するとする解釈では充分でなく、 β 細胞へ glucocorticoid が何らかの影響を与えている可能性が考えられよう。

そこで著者は、glucocorticoid 投与ラットからラ氏島を単離し、perfusion-system を用いて、そのインスリン分泌能を in vitro で検討した。

すなわち Hanks 液で十分に洗滌した単離ラ氏島を、低濃度ぶどう糖 (30mg/dl) で60分間 preperfusion した後に、諸種濃度のぶどう糖 (100mg/dl, 300mg/dl, 500mg/dl), およびトルブタマイド (40mg/dl) で刺激し、ラ氏島からのインスリン分泌反応を観察した。

ぶどう糖 100mg/dl, いわゆる生理的濃度に近いぶどう糖刺激では、インスリン分泌初期相(刺激後1~7分)は cortisone 投与1日群よりすでに有意のインスリン分泌亢進を認め、また2日、3日投与群ではこの傾向は更に増強した。また後期相(刺激後8~60分)のインスリン分泌能は cortisone 1日投与群は対照群と大差なかったが、2日、3日投与群では有意に亢進した。

ぶどう糖 300mg/dl, 500mg/dl の高濃度刺激下についてみると、対照群 cortisone 投与群ラットラ氏島ともに 100mg/dl ぶどう糖刺激に比べて、はるかに高いインスリン分泌反応を認めた。しかし、対照群ラ氏島についてみると、300mg/dl, 500mg/dl ぶどう糖刺激では両者間のインスリン分泌に殆んど差をみなかった。これは、臓臓の perfusion-system を用いて、この両ぶどう糖濃度によるインスリン分泌量の関係を検討した Grodsky⁶⁾らの報告にほぼ一致した。

この2種類の高濃度ぶどう糖刺激によるインスリン分泌を対照群と cortisone 投与群で比べると、cortisone 1日、2日、3日の各投与群は初期分泌量、後期分泌量とも対照群と比べインスリン分

泌能の亢進は明らかでなかった。このことは、対照群における 300mg/dℓ, 500mg/dℓ ぶどう糖刺激後のインスリン分泌パターンからみて、300mg/dℓ のぶどう糖刺激に対して膵β細胞のインスリン分泌がすでに最大分泌状態に近づいており、これに cortisone を予め投与しても、それ以上にインスリン分泌を増加させることは少ないものと考えられる。

Steinke¹⁸⁾ らは、ラ氏島を in vitro で incubation し、ぶどう糖を始めとする各種インスリン放出刺激剤を投与した場合の90分間のインスリン放出量はラ氏島内インスリン含有量に支配されると報告している。したがって、glucocorticoid 投与後のラ氏島内インスリン含有量は、その後のインスリン放出量を検討する上で問題となる。

glucocorticoid がラ氏島の過形成、膵内インスリン増加、膵ラ氏島容積の増加をもたらすとする報告がある^{1) 9) 19)}。しかし一方 Campbell¹⁷⁾ らはマウスに cortisone を投与した場合、初期の数日間(8日間まで)は全膵内インスリン量は減少すると報告している。

著者は、ラ氏島よりのインスリン分泌と共にラ氏島内インスリン含有量を測定した。

すなわち1回の実験で2匹のラットの膵細片を混合して単離ラ氏島を作制し、その100ヶを超音波により破壊する実験を3~8回行い、各群の平均インスリン含有量を求めた。

その結果 cortisone 投与後のラ氏島内インスリン含有量は対照群に比べて有意に低下していた。その程度は、対照群>2日群>1日群>3日群の順であった。すなわち、100mg/dℓ ぶどう糖刺激では1日、2日、3日群の cortisone 投与群が対照群より有意に高いインスリン分泌反応を呈するのに、ラ氏島内インスリン含有量は逆に有意の低下を見た。この成績は cortisone 投与がラ氏島内インスリン含有量の支配を受けることなく、比較的低濃度ぶどう糖に対してインスリン分泌反応が直接亢進していたといえよう。

更に、cortisone 投与ラット膵ラ氏島を用いてトルブタマイド刺激によるインスリン分泌反応を検討した。

前述した perifusion-system を用い、cortisone 投与各群の単離ラ氏島よりのインスリン分泌を Lacy¹¹⁾ らの方法に準じて、ぶどう糖100mg/dℓ と共にトルブタマイド40mg/dℓ の濃度で刺激した。

トルブタマイド刺激ではぶどう糖と異り、単相性の急峻なインスリン分泌をみた。これは従来のラ氏島、または膵の灌流成績には一一致した^{2) 11) 13)}。

この場合の cortisone 投与の影響をみると、cortisone 1日投与群は対照群と比べて大差ないが、2日投与、3日投与群では明らかなインスリン分泌反応の亢進を示した。

Perlery¹⁶⁾ らは、ヒトに dexamethasone 8mg を2日間投与し、トルブタマイドによる末梢血中インスリン濃度の上昇を報告している。

著者の成績では、トルブタマイドの膵ラ氏島に対する直接刺激法を用いても glucocorticoid がインスリン分泌を亢進させている成績が得られた。

インスリン分泌刺激物質により短時間内にβ細胞より放出されるインスリン、すなわちぶどう糖刺激による初期相と、トルブタマイドによる単相性インスリン分泌は全く同じ compartment に属するインスリンではないにしても^{2) 4) 14)}、一般にはβ細胞内の labile (または rapid, immediate) insulin compartment を反映していると考えられている⁶⁾。

この解釈に従えば、ぶどう糖100mg/dℓ 刺激による初期インスリン分泌量やトルブタマイド刺激によるインスリン分泌量が cortisone 投与で増加したことは glucocorticoid が labile insulin compartment を増加させたと考えられる。

labile insulin compartment の大きさは刺激の種類や強さ（刺激物質の濃度）により異り、必ずしも一定したものではない。したがって stable compartment から labile compartment へのインスリンの移動⁶⁾を考えると、glucocorticoid はラ氏島のインスリン生合成を上廻る、ぶどう糖、トルブタマイド刺激によるインスリン分泌亢進をもたらす、これがラ氏島の total insulin content を減少させたと考えられる。

すなわち、glucocorticoid 投与ラットラ氏島では生理的濃度前後のぶどう糖に対するインスリン分泌反応が亢進しており、過血糖による2次的な作用だけでなく、glucocorticoid 自身のインスリン分泌促進作用によって、高インスリン血症が発現したと考えられる。

しかし、本研究から glucocorticoid の作用が膵ラ氏島に対して direct action を果しているのか、あるいは未知の因子を介して β 細胞に影響をおよぼしているのか結論することはむづかしい。これらの点を解明するには *in vivo-in vitro* の実験系でなく、長時間に亘りインスリン分泌能を維持しうる細胞培養実験系の開発によって、glucocorticoid の作用を検討する必要がある。

V 結 語

ラットに glucocorticoid を投与し、その空腹時血糖、血中インスリン、ラ氏島内インスリン含有量、及び単離ラ氏島の *perifusion* によるインスリン放出量より、glucocorticoid の膵ラ氏島に対する作用を検討した。

1. 空腹時血糖は glucocorticoid 2 日、3 日投与で有意の増加を認め、血中インスリンは第一日目より有意に増加した。一方、ラ氏島内インスリン含有量は 1 日投与群より減少していた。

2. 単離ラ氏島の *perifusion* の実験成績よりみると、glucocorticoid 投与は低濃度 (30~100mg/dl) ぶどう糖に対しインスリン放出量を増加させた。

3. 300mg/dl, 500mg/dl ぶどう糖に対するインスリン放出は対照群と glucocorticoid 投与群の両者間に差は認められなかった。これは 300mg/dl ぶどう糖刺激がラ氏島のインスリン分泌に対して最大刺激に近いものと考えられ、この最大刺激に対する glucocorticoid の影響はわずかなものであった。

4. トルブタマイド刺激によるラ氏島からのインスリン分泌は glucocorticoid 2 日、3 日投与で著明に増加した。

以上より、glucocorticoid の短期間大量投与は膵ラ氏島にたいして、生理的濃度前後のぶどう糖やトルブタマイドに対するインスリン分泌を亢進させたといえる。

これらの作用は glucocorticoid 投与後にみられる高インスリン血症の成因として重要な因子と考えられる。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師梅原干治教授に深謝すると共に、本研究当初より御指導、御教示頂いた杉本民雄助教授ならびに小林成价博士に心より謝意を表します。

なお、本論文の要旨は、第25回日本内分泌学会東部々会、第21回日本糖尿病学会総会で発表した。

文 献

1) Akerblom, H.K., Martin, J.M. and Gary, G.L.: Relative role of cortisone and growth hormone on glucose intolerance and insulin secretion in rat. *Horm. Metab. Res.* 5: 34—

- 37, 1973. 2) Bennett, L.L., Curry, D.L. and Curry, K.: Differences in insulin release in response to glucose and tolbutamide stimulation. *Pros. Soc. Exp. Med. Biol.* 144: 436–439, 1973. 3) Campbell, J., Rastogi, K.S. and Hausler, H.R.: Hyperinsulinemia with diabetes induced by cortisone, and the influence of growth hormone in the chinese hamster. *Endocrinology* 79: 749–756, 1966. 4) Curry, D.L., Bennett, L.L. and Grodsky, G.M.: Dynamics of insulin secretion by the perfused rat pancreas. *Endocrinology* 83: 572–584, 1968. 5) Glenn, E.M., Bowman, B.J., Bayer, R.B. and Meyer, C.E.: Hydrocortisone and some of its effects on intermediary metabolism. *Endocrinology* 68: 386–410, 1961. 6) Grodsky, G.M.: A threshold distribution hypothesis for packet storage of insulin. *Diabetes* 21 (Suppl. 2): 584–593, 1972. 7) Ingle, D.J.: Work performance of adrenalectomized rats treated with 11-desoxycorticosterone sodium phosphate and 11-desoxy-17-hydrocortisone. *Am. J. Physiol.* 133: 676–678, 1941. 8) 川合厚生, 葛谷信貞: グルココルチコイドのもたらす高インスリン血症の機序について, 糖尿病, 18: 372–377, 1975. 9) Kinash, B. and Haist, R.E.: Effect in ACTH and cortisone on islets of Langerhans and pancreas in intact and hypophysectomized rat. *Am. J. Physiol.* 178: 441–444, 1954. 10) Lacy, P.E. and Kostianovsky, M.: Method for isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. *Diabetes* 16: 35–39, 1967. 11) Lacy, P.E., Walker, M.M. and Fink, C.G.: Perfusion of isolated rat islets in vitro. *Diabetes* 21: 987–998, 1969. 12) Lacy, P.E., Klein, N.J. and Fink, C.G.: Effect of cytochalasin-B on the biphasic release of insulin in perfused rat islets. *Endocrinology* 92: 1458–1468, 1973. 13) Lenzen, S.: The effect of hydrocortisone treatment and adrenalectomy on insulin and glucagon secretion from the perfused rat. *Endokrinologie* 68: 189–197, 1976. 14) Lenzen, S.: The immediate insulin-secretory response of the rat pancreas to glucose compared with tolbutamide and other secretagogues. *Diabetes* 27: 27–34, 1978. 15) Marco, J., Melani, F., Goberna, R., Rott, W.H. and Pfeiffer, E.F.: Einfluss der Prednisolonbehandlung auf die Insulisekretion der Ratte. *Diabetologia* 4: 365–369, 1968. 16) Perley, M. and Kipnis, D.M.: Effect of glucocorticoids on plasma insulin. *New Eng. J. Med.* 274: 1237–1241, 1966. 17) Rastogi, K.S. and Campbell, J.: Effect of growth hormone on cortisone-induced hyperinsulinemia and reduction in pancreatic insulin in the mouse. *Endocrinology* 87: 226–232, 1970. 18) Steinke, J., Patel, T.N. and Ammon, H.P.T.: Relationship between glucose- and tolbutamide-induced insulin release and insulin content in single pancreatic rat islets. *Metabolism* 21: 465–470, 1972. 19) Volk, B.W. and Lazarus, S.S.: Ultramicroscopic studies of rabbit pancreas during cortisone treatment. *Diabetes* 12: 162–173, 1963. 20) Wide, L. and Porath, J.: Radioimmunoassay of proteins with the use of Sephadex-coupled antibodies. *Biochem. Biophys. Acta* 130: 257–260, 1966.