膵内分泌の調節機構にかんする研究 糖負荷後における家兎膵島亜鉛および β 顆粒の変動について

東京大学医学部中尾内科教室

三 浦 恭 定

HISTOPHOTOMETRICAL STUDIES ON ZINC WITHIN PANCREATIC ISLETS FOLLOWING GLUCOSE ADMINISTRATION AND THE EFFECT OF VAGOTOMY ON IT

Yasusada MIURA

The Third Department of Internal Medicine, University of Tokyo

Faculty of Medicine, Tokyo

(Director: Prof. Kiku Nakao)

概要 インスリン分泌と膵島 β 細胞のdithizone可溶性亜鉛乃至 β 顆粒の増減との関係を追究する目的で、家兎を用い、dithizone静注、透過光線測定法により糖負荷後の膵島亜鉛を測定し、Aldehyde-Fuchsin染色法による β 顆粒と比較した。まずWolffらによる大量糖負荷後の膵島亜鉛減少を追認したが、この際実験動物の消耗が甚しく、生理的条件下における糖負荷後の特異的变化と判断することは不適當と考え、グルコース体重kg当り1 g静注を行ない、4時間後膵島亜鉛が有意に減少し、その後回復することをみとめた。この際 β 顆粒もこれと並行した変動を示した。予め右迷走神経を切断した家兎ではグルコース1 g/kg負荷4時間後の亜鉛減少がみとめられなかつた。以上の成績から、糖負荷後膵島亜鉛および β 顆粒が減少し、右迷走神経がこれに関与することを結論した。これはさきの迷走神経刺激下の実験とともに、インスリン分泌と膵島亜鉛および β 顆粒の変動が並行していることを示しているが、これらの細胞内におけるメカニズムについては尚検討を要する。

目 次

- I. 緒 言
- II. 実験方法
- III. 実験成績
 - 1) 空腹後の家兎膵島亜鉛量
 - 2) グルコース大量負荷後の膵島亜鉛量
 - 3) 尿素大量負荷後の膵島亜鉛量
 - 4) グルコース1 g/kg静注後の膵島亜鉛量
 - 5) グルコース1 g/kg静注後の β 顆粒量
 - 6) 迷走神経切断実験
- IV. 考 案
- V. 結論並びに要約

I. 緒 言

1943年岡本¹⁾がdithizoneを用いて膵Langerhans島の亜鉛を染色することに成功して以来、Gomori法による β 顆粒と共に、亜鉛はインスリン（以下ins.と略）分泌動態と何らかの関係にあることが想定され、岡本¹⁾²⁾、Maske³⁾⁴⁾らをはじめとして数多くの業績が発表されている^{1)~6)11)16)}。しかしながら哺乳類にあつてはLangerhans島が膵内に点在してその容積は外分泌部分に比してごく一部分を占めるにすぎないことが、生理化学的実験に対する大きな障害となつており、ためにins.分泌動態にかんする亜鉛の詳細な機転については不明

の点が多く、研究は端緒についたにすぎないといえよう。

1955年Wolffら⁵⁾はdithizone静注法による亜鉛の生体染色法を考案し、基礎的実験を重ねた結果、膵臓内においてdithizoneにより染色される物質は殆ど全部膵島亜鉛であり、この可染性亜鉛は膵島内に顆粒状をなしているが、10乃至20 μ の厚い標本では膵島内に一様に分布しているものとみなすことが出来るので、Lambert-Beerの法則を適用し、透光度測定法によつて膵島内亜鉛を定量的に測定することが可能であることを証明した。次いでWolffはこの方法によりins.分泌と膵島亜鉛の変動について追究し、糖大量負荷後、高血糖のなお持続している時期に膵島亜鉛が著しく減少することを報じた。この成績は追試されることなきまゝに、糖負荷後における膵島亜鉛を論ずる場合、常に引用され、殆ど定説とさえなっている。また二宮⁶⁾はWolffらの方法を用いてins.分泌と関係の深い自律神経系と膵島可染性亜鉛量、および β 顆粒の増減との関係について検討し、膵島亜鉛および β 顆粒の変動は自律神経系およびins.分泌動態と密接な関係を有することを報じた。

著者はWolffらの実験条件を検討批判し、より生理的条件下における糖負荷後の亜鉛および β 顆粒の変動並びにこれに対する迷走神経の関与について検索し、若干の知見を得たので報告する。

II. 実験方法

1) 実験動物

オリエンタル酵母株式会社製の固型飼料と水をもつて数日間飼育した体重1.8乃至2.5kgの雄家兎を18時間絶食せしめた後、無麻酔下を使用した。

2) 膵島亜鉛測定法

Wolffらの方法⁵⁾にならい、diphenylthiocarbazone (dithizone) (純正化学製特級) のアムモニヤアルコール溶液を調製、家兎に徐々に静注し、2分以上を経て後瀉血致死せしめ、直ちに開腹、膵を摘出した(この際腹腔内の脂肪は濃緑色を呈していたことから、充分dithizoneが腹腔臓器内に進入したものと判断された)。

摘出した膵の膵島は赤紫色の点状に染色され、顕微鏡所見ではdithizone亜鉛が顆粒状にみとめられる。直ちに10%中性ホルマリン溶液により固定した。この際dithizoneの溶出をみとめないことは、二宮⁶⁾によつて示されている。数分以後30 μ の厚さの凍結切片を作製、pH 7.0に調製したApáthyのゴムシロップにより封入し、直ちにWolffらの方法にならつて透過光線測定法により膵島亜鉛量を測定した。その詳細は二宮⁶⁾が報告したところであるが、膵島部分の透過光線をその直近の外分泌部分と比較することにより、亜鉛量を測定するもので、各実験動物について5枚以上の切片を作製し、おのおのにつき視野の端から順に10コ以上、計約50コの膵島につき測定し、そのextinctionの平均値をもつてその個体の膵島亜鉛量とした。

各実験群間の差の有意性の検討には玉置⁷⁾の方法にしたがつてF検定を行ない、 $P < 0.05$ を推計学的に有意と判定した。

3) 耳静脈血糖値の測定

実験中耳静脈血を穿刺採血し、Hagedorn-Jensen法により測定した。

4) 膵島 β 顆粒の染色法

別の個体についてdithizone注入法に供した動物と同一の処置を行なつた家兎を瀉血致死せしめ、Bouin固定の後、GomoriのAldehyde-Fuchsin

1. 無処置のものをふくめ同時に固定

2. 図のように切片をならべてAF染色

C: 無処置のもの

3. 無処置のものと比較して下記のように判定、仮に点数をつける

β顆粒減少		
—	+	++
0	-1	-2

4. 10枚前後の標本の点数を平均し総合判定

例 A: $-2-2-1-2-2-2-1-2-2-2/10 = -1.8 \rightarrow ++$

B: $-1-1-1+0-1-1+0-1-2-1/10 = -0.9 \rightarrow +$

5. 無処置のものとを比較し、染色性不良の場合は別の無処置のものと比較、調整

第1図. β 顆粒判定の方法

法（二宮変法）⁶⁾⁸⁾により染色し、鏡検比較した。この際、 β 顆粒量の多寡を客観的に判断する為、次の方法を採用した（第1図）。

各実験時には対照として常に無処置兔の脾を同時に固定し、同一スライドガラス上に無処置のものを含めて種々の組合せで3枚の切片を並べて貼り、同時に染色した標本を鏡検し、 β 顆粒量を相互に比較した。無処置の対照に比し、 β 顆粒量の著明に減少したものを-2、軽度、しかし明らかに減少したものを-1、変化のみとめられないものを0、逆に濃染したと思われるものは、同様にその程度によつて+1、+2と点数をつけた。約10枚の標本について求めた点数の平均値をもつて該実験脾の β 顆粒量の変化とみなした。又無処置群同志を同様の方法で比較し、染色不良の場合は別の無処置の個体と実験群とを比較し、総合的に判定を下した。

5) グルコース静脈内注射法

グルコースは50%溶液として、耳静脈よりそれぞれ一定の時間内（実験成績の項参照）に注入した。

6) 尿素静脈内注射法

（5）のグルコース溶液と同等のモル濃度即ち50/3%の尿素溶液を作製し、（5）と同様に注射した。

7) 迷走神経切断法

家兔を無麻酔下に固定し、上腹部正中切開により開腹し、食道下部において腹部背側迷走神経（右側）を切断した後縫合、7乃至13日間飼育した。実験に供した家兔はこの間よく摂食し、全身状態良好であつた。グルコース負荷前18時間絶食させて実験に供した。使用した家兔は剖検し、背側迷走神経の切断を確認した。

III. 実験成績

1) 18時間空腹後の家兔脾島亜鉛量

第1表に示すように、13例の平均値およびその標準誤差は 0.267 ± 0.009 であり、Wolff, 二宮による実験値ともよく一致した。

2) グルコース大量負荷後の脾島亜鉛

家兔15匹に体重kg当り5乃至10gのグルコース

溶液を約15分間に静注した場合、3乃至4時間後の亜鉛は第2図、第3図、第2表、第3表にみるように、対照群に比し、著明に減少した。この際家兔は大量の排尿をおこし、全身衰弱も著しいので、体液、循環系、従つて脾局所の血行状態にも、多大の非特異的影響を蒙っていることが想像された。

3) 尿素大量負荷後の脾島亜鉛量

家兔10匹を用いて50/3%尿素溶液を上記実験のグルコース溶液と同量（即ち5/3g/kg乃至10/3g

第1表. 18時間空腹後家兔脾島亜鉛量

Extinction±標準偏差

0.265±0.071

0.294±0.087

0.247±0.050

0.231±0.048

0.247±0.067

0.236±0.051

0.263±0.056

0.299±0.068

0.271±0.019

0.285±0.040

0.252±0.062

0.269±0.037

0.312±0.059

0.267±0.031

標準誤差 0.009

第2図

/kg)を同時間に静注し、3乃至4時間後の膵島亜鉛を測定してみると、第2図、第3図、第2表、第3表に示すように、グルコース大量負荷後と同様の膵島亜鉛の減少がみとめられた。この際も家兎は大量の排尿を行ない、全身の消耗が甚しかった。

4) グルコース 1 g/kg 静注後の膵島亜鉛量
家兎28匹を用い、グルコース 1 g/kgを約10分間

第2表. グルコース又は尿素大量静注後の膵島亜鉛 (1)

処置	グルコース 10g/kg 静注3時間後	尿素 10g/kg 静注3時間後
膵島亜鉛量 (Extinction)	0.111	0.112
	0.227	0.201
	0.183	0.151
	0.221	0.181
	0.147	0.174
平均値	0.178	0.164
±標準誤差	±0.022	±0.015
平均血糖値(mg/dl)	463	124
±標準誤差	±99.6	±19.5

第3図

第3表. グルコース又は尿素大量静注後の膵島亜鉛 (2)

処置	グルコース 5g/kg 静注		尿素 5g/kg 静注
	3時間後	4時間後	4時間後
膵島亜鉛量 (Extinction)	0.193	0.155	0.288
	0.202	0.300	0.158
	0.252	0.152	0.248
	0.194	0.216	0.134
	0.249	0.186	0.151
平均値	0.218	0.202	0.196
±標準誤差	±0.013	±0.027	±0.030
平均血糖値(mg/dl)	282	219	122
±標準誤差	±40.4	±38.2	±8.7

第4表. グルコース 1 g/kg 静注後の膵島亜鉛

時間	1	2	3	4	5	6
亜鉛量 (Extinction)	0.266	0.286	0.286	0.166	0.318	0.228
	0.240	0.229	0.299	0.181	0.158	0.253
		0.230	0.266	0.210	0.264	0.226
		0.222	0.134	0.222	0.220	
		0.266	0.202	0.277		
		0.199	0.188	0.202	0.147	
平均値	0.252	0.237	0.229	0.201*	0.240	0.236
±標準誤差	—	±0.013	±0.029	±0.021	±0.034	±0.009
平均血糖値(mg/dl)	163	115	113	102	109	101
±標準誤差	±14.8	±6.6	±3.5	±4.5	±6.5	±7.0

* $P < 0.01$ (無処置群と比較)

第4図. グルコース (1 g/kg) 静注後の膵島亜鉛

第5表. グルコース (1 g/kg) 静注後の β 顆粒の変動

時間	β 顆粒減少			Zn量 平均値
	-	+	++	
前	10	3	2	.267
2時	1	4	0	.237
3	1	2	2	.229
4	2	2	3	.201
5	2	1	0	.240
6	3	1	0	.238

(数字は例数を示す)

に静注した. その後の睪島亜鉛量は第4表および第4図に示すように, 静注終了後2~3時間後減少の傾向を示し, 4時間後の7例では無処置群に比して有意の減少を示した ($P < 0.01$). その後亜鉛量は回復の傾向を示した.

この際耳静脈血糖値は2時間後にはすでに処置前値に復した. なお家兎の全身状態には変化はみとめられなかった.

5) グルコース 1g/kg 静注後の β 顆粒量

実験4と同一の処置を行なった家兎24匹について, β 顆粒を染色し, 第5表のような結果を得た. β 顆粒はグルコース負荷後2乃至4時間後に減少の傾向を示し, 5乃至6時間後には回復の傾向が

第5図. 腹部背側迷走神経(右)切断, グルコース (1 g/kg) 負荷4時間後の睪島亜鉛

第6表. 腹部背側迷走神経(右)切断, グルコース 1 g/kg 負荷4時間後の睪島亜鉛

睪島亜鉛量 (Extinction)	0.262 0.223 0.291 0.283 0.275 0.262*
平均値	0.266*
±標準誤差	±0.010

* $P < 0.01$ (迷走神経非切断群と比較)

■ 両側迷走神経切断例

平均血糖値

負荷前 : $111 \pm 6.5 \text{ mg/dl}$ 負荷4時間後 : $107 \pm 4.9 \text{ mg/dl}$

みられる. 即ちグルコース 1g/kg 負荷後の β 顆粒の変動は, 亜鉛のそれとほぼ並行した.

6) 迷走神経切断実験

糖負荷後の睪島亜鉛量の変動に対する迷走神経切断の影響を観察するため, 予め腹部背側迷走神経を切断した家兎6匹にグルコース 1g/kgを静注したところ, 4時間後の睪島亜鉛は第5図, 第6表の通り減少せず, 迷走神経非切断群(実験(4))との間に有意の差がみられた ($P < 0.01$). 1例は剖検により両側迷走神経が切断されていることを知った(図中■印).

なおdithizone静注後の睪島組織で β 顆粒を染色してみると, 2例に軽度の β 顆粒減少がみとめられたのみで, その他は濃染した.

IV. 考案

近年生体内微量元素である亜鉛の生理学的意義について関心が高まりつつある⁹⁾. 1934年Scott¹⁰⁾は亜鉛がins.の溶解度や結晶化と密接な関係にあり, 一定のpHをもった緩衝液中に溶解したins.溶液は, 亜鉛を加えることにより結晶化することができ, ins.との結合の比率に常は一定し, その分子の一部をなすのであろうと提唱した. 以

来、主としてin vitroにおいて、ins.と亜鉛との間に密接な関係が存在することがみとめられてきた。

1943年岡本¹⁾はdiphenylthiocarbazone (dithizone)を用いて膵島内の亜鉛を組織化学的に証明することに成功し、また亜鉛と結合する物質のうちalloxan, dithizoneなどのように細胞に毒性のあるものは糖尿病をひきおこし、anthranil酸やquinaldin酸などのように毒性のないものはこれを保護するとの糖尿病亜鉛説を提唱した¹⁾²⁾。岡本の業績は、ins.と亜鉛との関係につき大きな関心をよび、以来数多くの業績が発表された。Maske³⁾⁴⁾、Wolff⁵⁾らはdithizoneの静脈内注入法による生体染色により、膵島内において亜鉛が顆粒状をなして存在することを証明し、この顆粒がins.分泌が亢進しているような条件下では減少し、貯蔵されているような条件下では濃染すること、その変動は従来膵島内ins.の表現と考えられて来た β 顆粒とは別個に、より鋭敏に現われることを報告した。また魚類の膵島に相当するBrockmann小体を用いて細胞成分を各分割にわかし、ins.の大部分はミトコンドリアにふくまれ、これと沈殿をつくるに必要な量の亜鉛もまたミトコンドリアに証明されることを見出した³⁾⁴⁾。亜鉛はなおミクロソームにも多量にふくまれている。更にグエン酸、オキサロ酢酸、グルタチオン、システイン、ヒスチジンなどの生理的代謝物質がin vitroで不溶性のins.亜鉛複合体を溶性とするとの実験⁴⁾をも考慮して、ins.は膵島内に亜鉛と結合して顆粒として貯蔵されているが、膵局所に強力な亜鉛結合性物質が到達すると、これによつて亜鉛が奪われて溶性となり、ins.分泌がおこる。グルコース負荷後においては上記のような亜鉛結合性の代謝物質が生じ、上記のような機転によつてins.分泌をひきおこすことが、一つの可能性として考えられるとの仮説を提唱した。

EDTAなどの亜鉛結合物質を膵動脈中に注入すると、膵静脈血中のins.濃度が上昇するとした二宮の成績はこの仮説に矛盾しないものと思われる¹¹⁾。

かくの如く、膵島内可溶性亜鉛又は β 顆粒の変動は、ins.分泌動態と密接な関係を有するものであろうと想定する学者が多い。

さてins.は生体内の糖代謝機構を調節することを主要な生理作用とし、糖負荷によつてins.分泌が一過性に亢進することは、血糖調節機構上最も基本的な事実とみなされている。従つて膵島亜鉛の変動とins.との関係を検索するにあつても、まず糖負荷の影響を検討することが最も基本的事項の一つと考えられる。

Wolffらはグルコース長時間持続投与法か、あるいはグルコース体重kg当り7.5乃至10gを一時に静注すると、家兎の膵島亜鉛は著しく減少すると報じた。この成績は糖負荷後ins.分泌が一過性に亢進する際の膵島亜鉛の動きとして注目され、以後これを追試するものがなく、膵島亜鉛とins.分泌との関係を考察する上の定説として広く一般的関心を集めている。

著者はまず家兎にグルコース5乃至10g/kg静注後、膵島内可溶性亜鉛の減少することを追試確認した。しかしこの際、実験動物は大量の排尿をひきおこして極度の消耗状態に陥り、全身の体液循環状態の蒙る影響は甚だ大であり、たとえば極度の脱水状態から循環血液量の減少を来たし、膵局所の血流にも変動を来たしてdithizone溶液が充分膵島内にまで到達しえないことも想像に難くない。従つてまた大量のグルコース負荷後におこる膵島亜鉛の減少が、負荷したグルコースの特異的な作用であるか否か充分検討の要がある。こゝろみに代謝終末産物であつてins.分泌作用をもたぬと考えられる尿素により同様の体液条件を作り出してみると、やはり膵島亜鉛は同様に減少した(実験(3))。勿論、滲透圧以外の条件の関与も考慮する必要があるが、これらの事実から上記のような大量の糖負荷条件下における膵島亜鉛の変動を特異な現象とみなし、ins.分泌動態と関連づけて論ずることは不適當ではないかと考えられる。

そこで著者は次にグルコース体重kg当り1g負荷の実験を行なつた。本条件下における実験動物の全身状態は、大量負荷時のそれと著しく相違し、明らかな異常を示さなかつたが、膵島亜鉛の

有意の減少がみとめられた。この際 β 顆粒も島亜鉛と並行して減少の傾向を示した。これはさきに二宮⁶⁾の行なつた迷走神経刺激による膵島亜鉛の減少その他の自律神経に関する実験とともに、ins. 分泌状態下にあつては膵島亜鉛と β 顆粒とが並行した動きを示すものとして注目される。この成績は、糖大量負荷後に β 顆粒は減少しなかつたとするMaske, Wolff⁵⁾らの知見と趣を異にする所見である。この相違は、彼らの β 顆粒染色が、島亜鉛染色後の脾切片によつて行なわれたことによるのか、あるいは糖負荷の条件の相違による為かは不明である。

更に著者の実験では糖負荷後におこる亜鉛の減少は、糖負荷による高血糖が、負荷前値に復した後にみとめられた。この成績は当教室におけるイヌにグルコースを負荷した場合のins. 追加分泌は、糖負荷後上昇した血糖値が、負荷前値に復した時期に認められるとの業績とともに、従来のins. 分泌には高血糖そのものが直接膵島を刺激し、直ちにins. 分泌をひきおこすとの一般的な考え方と趣を異にする所見であると考えられる。小坂¹²⁾らは、糖負荷後におこるins. 追加分泌の適応刺激は、代謝の進行に伴うins. 需要の増大に求めているが、本実験における亜鉛の変動も、この仮説に矛盾するものではないと考えられる。最近の電子顕微鏡による所見¹⁵⁾では、 β 顆粒はelectron-denseな物質を内容とする嚢状物から成り、高血糖その他のins. 分泌刺激により、まずその内容が失われ、分泌刺激が持続すれば更に嚢も消失するといわれる。又Gomori陽性物質はこの嚢状物であつて、 β 顆粒がins. の変動をそのまま表現しているのではないともいわれており、Maske³⁴⁾らの亜鉛およびins. の細胞内分割にかんする業績と比較するとき、ins. の生成、貯蔵および放出と、亜鉛、 β 顆粒との関係は仮説にのべられるような単純な機転によるものでないことがうかがわれる。糖負荷時における膵島亜鉛の変動は、ins. 分泌とおそらくは密接な関連をもつてであろうが、細胞内外における時間的、空間的にみた亜鉛変動の詳細な機

転については今後尚多くの生理化学的、細胞学的知見の集積が必要であると考ええる。

さきに沖中、井出¹⁴⁾らは、イヌにおいて背側迷走神経(右側)を食道下部において切断すると、糖負荷又はアミノ酸負荷後のインスリン追加分泌が消失することを報じた。家兎においても同一条件下で、ins. 追加分泌の停止が推定される。

著者の実験ではウサギの背側迷走神経切断後においては糖負荷4時間後正常家兎の場合と相異し、膵島亜鉛の減少はみとめられなかつた。この事實は、さきの当教室の迷走神経刺激によりins. 分泌の亢進¹³⁾および膵島亜鉛の減少⁶⁾がみとめられるとの実験成績と共に、膵島亜鉛の減少にもins. 追加分泌と同様、迷走神経が関与していること、およびins. 追加分泌の起こる条件下においては島亜鉛も減少し、両者が並行して変動することを示す新しい知見と考えられる。

なお実験(6)においては β 顆粒の減少も認められなかつたが、dithizone注入後の脾切片について染色を行なつており、実験(5)とは条件が異なるものである点を記載するに止めたい。

V. 結論並びに要約

Dithizone静注法によつて家兎における糖負荷後の膵島亜鉛の変動を定量的に観察し、Aldehyde-Fuchsine法による β 顆粒の変動と比較し、かつ迷走神経のこれに対する関与につき検索し、次のような結果を得た。

1) Wolffらのグルコース大量静注後の膵島亜鉛の減少を追認したが、この際実験動物は極度に消耗し、又、非代謝性物質である尿素の大量負荷によつても同様の亜鉛減少を認めることから、このような非生理的条件下で糖負荷後の亜鉛の変動につき論ずることは不適當であると考えた。

2) グルコース1 g/kg静注を行ない、膵島亜鉛は4時間後無処置群に比し、有意の減少を示し、その後は回復した。別の個体で、同一操作後の脾で β 顆粒を染色し、亜鉛量と β 顆粒量とは同一の傾向をもつて変動することをみとめた。

3) 腹部背側迷走神経(右側)切断により、グル

コース負荷4時間後において、膵島亜鉛の減少はみとめられず、非切断群との差は有意であった。

以上の成績は、さきの迷走神経刺激下の実験とともに、インスリン分泌と亜鉛および β 顆粒の変動が並行していることを示している。

文 献

- ① 岡本耕造：糖尿病に関する実験病理学的研究（糖尿病亜鉛説）：日内分泌誌, 25, 32, 1949. —2) 岡本耕造：糖尿病の実験病理学：金原出版, 1951.
- 3) Maske, H.: Interaction between Insulin and Zinc in the Islet of Langerhans: Diabetes, 6, 335, 1957. —4) Maske, H.: Über die Beziehungen zwischen Insulin und Zink in den Langerhansschen Inseln des Pankreas: Experimentia, 11, 122, 1955. —5) Wolff, H.P. et al.: Histochemische Untersuchungen über das Inselzink. (II. Histophotometrische Messungen): Z. ges. exp. Med. 126, 390, 1955. —6) 二宮陸雄：膵島局所におけるInsulin分泌調節機構に関する研究, 第1編 Insulin分泌の神経性調節機構における膵島亜鉛の意義, 日内会誌, 50, 781, 1961. —7) 玉置文一：生物学的試験法における統計的方法：化学の領域増, 11, 9, 1953. —8) 藤田恒

男：Histological Studies on the Neuro-Insular Complex in the Pancreas of Some Mammals: Z. Zellforschung 50, 94, 1959. —9) Vallee B.L.: Biochemistry, Physiology & Pathology of Zinc: Phys. Rev. 39, 443, 1959. —10) Scott, D.A.: Crystalline Insulin.: Bioch. J. 28, 1592, 1934. —11) 二宮陸雄：膵島局所におけるInsulin分泌調節機構に関する研究, 第2編 Insulinの局所性分泌に対する自律神経の支持的関与, 日内会誌, 50, 1263, 1961. —12) 小坂樹徳：内分泌の中樞支配—インシュリン分泌を中心として：日本の医学の1959年 I, 737, 1959. —13) 井出健彦：Insulin分泌の神経性調節に関する研究, 迷走神経のInsulin分泌調節機構について, 第1報迷走神経電気刺激のInsulin分泌に及ぼす影響：日内会誌, 48, 1474, 1958. —14) 井出健彦：Insulin分泌の神経性調節に関する研究, 迷走神経のInsulin分泌の分泌調節機構について第2報Insulin分泌亢進におよぼす迷走神経切断の影響：日内会誌, 48, 1480, 1959. —15) Lazarus S.S.: Ultra-microscopic and Histochemical Studies on Pancreatic Beta Cells Stimulated by Tolbutamide; Diabetes, 11, Suppl. 2, 1962. —16) Logothetopoulos, J. et al.: Granulation and Reactive Zinc in the Cells of the Islets of Langerhans: Diabetes, 10, 367, 1961.