

糖尿病患者の血中膵グルカゴン動態

東京女子医科大学内科学教室 (主任 鎮目和夫教授)

講師 田坂 仁正・関根万喜男・岩谷 征子・横須賀智子
タサカ ヨシマサ セキネ マキオ イワタニ マサコ ヨコス カトモコ

(受付 昭和50年7月28日)

Plasma Pancreatic Glucagon in Diabetic Patients

**Yoshimasa TASAKA, M.D., Makio SEKINE, M.D., Masako IWATANI, M.D. and
 Tomoko YOKOSUKA, M.D.**

Department of Internal Medicine (Director: Prof. Kazuo SHIZUME)
 Tokyo Women's Medical College

The response of plasma pancreatic glucagon was investigated in 25 diabetic subjects, 10 normal healthy subjects, 3 subjects with low insulin response and one case of diabetic coma. They were infused intravenously 300 ml of 10% L-arginine solution over 30 min and the blood samples were taken at 0, 15, 30, 45, 60, 90 and 120 min except one case of diabetic coma. The plasma glucose, IRI and IRG were determined. The followings are the results of present investigation.

1. Fasting levels of plasma IRG and the response of plasma IRG after arginine infusion in diabetic subjects were significantly higher compared with those of normal subjects. Among diabetics, the group with more than 200 mg/dl of fasting plasma glucose level showed a little higher IRG response than that with less than 200 mg/dl of plasma glucose, but not significantly.
2. The plasma IRI response after arginine infusion in diabetics was significantly lower than that in normal subjects, especially in the diabetics with more than 200 mg/dl of fasting plasma glucose level.
3. The mean total net increase of IRG after arginine infusion was high in diabetics with more than 200 mg/dl of fasting plasma glucose level, those with less than 200 mg/dl and normal subjects in this order.
4. The IRG response in subjects with normal fasting blood sugar level in spite of low insulin response was similar to that in normal subjects.
5. The high IRG response was normalized after treatment of diabetes with insulin or sulfonylurea.
6. High level of plasma IRG in a case of diabetic coma improved rapidly after treatment with insulin and fluid therapy together with the decrease of blood sugar.

I. はじめに

近年種々ホルモンの免疫学的測定法の進歩と共に血中グルカゴンの免疫学的測定法も開発され^{1)~4)}、その成績は数多く発表されている。

免疫学的測定法による血中グルカゴンは、従来

腸管由来による enteroglucagon または glucagon-like immunoreactivity (以下 GLI) と膵より分泌される膵グルカゴンがあり、通常の抗グルカゴン血清による測定では、測定されるグルカゴン値の約90%は膵よりも腸管由来のものであり⁵⁾、両

者の区別は困難であつたが、Eisentraut ら⁶⁾は膵グルカゴンに特異的抗血清を作成し、この抗血清の使用により膵より分泌されるグルカゴンの測定が可能となつた。

本研究ではかかる抗血清30Kを用いて糖尿病患者と健常者のアルギニン負荷に伴う血中膵グルカゴン反応を検討し、糖尿病の治療に伴う膵グルカゴン反応の推移の臨床的意義を追求すると共に、糖尿病昏睡1例の治療にともなう膵グルカゴンの変動を追求した。

II. 対象並びに方法

当内科入院中または当糖尿病専門外来通院中の未治療糖尿病患者25名(男子12名, 女子13名), 健常対照者10名(男子8名, 女子2名)ならびに糖尿病昏睡1名である。糖尿病25名はいずれも未治療者で、肝腎その他に著患なく、100g経口ブドウ糖負荷試験のその他が日本糖尿病学会の定める基準に属し、かつ食前血糖値120mg/dl以上(glucose oxidase法)の確実な糖尿病に属すると思われる症例である。

L-アルギニン負荷試験として、早朝空腹時(約15時間絶食)約30分の安静臥床後10% L-アルギニン 300mlを30分で肘静脈より点滴静注し、他側の肘静脈より0, 15, 30, 45, 60, 90および120分にヘパリン加試験管に採血して直ちに氷水中に入れ、速やかに冷却遠沈し、血漿を -20°C に凍結保存した。膵グルカゴン測定用の血漿にはトラジロール(Bayer, Leberkusen, 10000KIU/ml)を血液中に5%となるように加えたものを用いた。血糖測定には血漿をglucose oxidase法、血漿膵グルカゴン測定はUngerらの方法⁷⁾、血漿インスリンは二抗体法⁸⁾によつて測定した。抗グルカゴン血清30KはTexas Southwestern University (Dallas)のDiabetes Research Fundより購入した。この抗グルカゴン血清30Kは腸管グルカゴン1.25ng/ml以下では殆ど交叉反応を示さないといわれるものである⁹⁾。

III. 成績

1. 健常者並びに糖尿病患者25名のL-アルギニン負荷による血中インスリン(以下IRI), 膵グルカゴン(以下IRG)および血糖の変化は図1に示す通りである。IRI反応は健常者では30分において $55 \pm 9 \mu\text{U/ml}$ (平均値 \pm 標準誤差)と上昇したが、糖尿病では前値はほぼ健常者と同値であつたが、30分の頂値 $29 \pm 4 \mu\text{U/ml}$ であり、健常

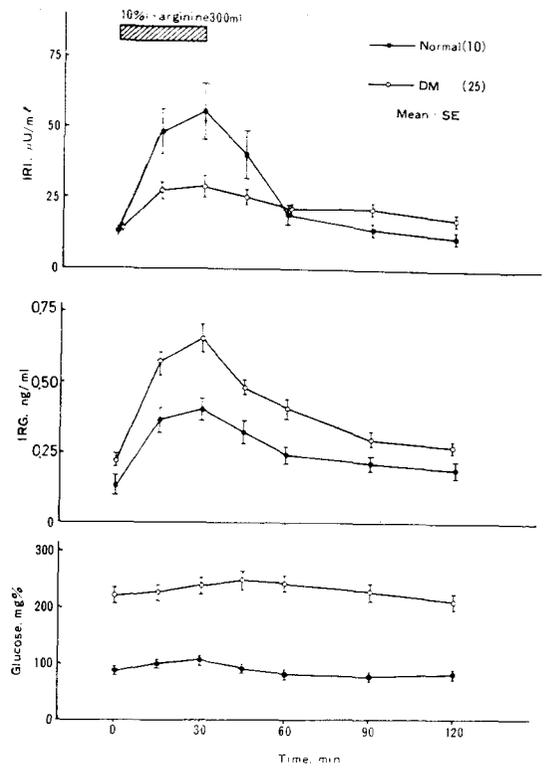


図1 アルギニン負荷に伴う血漿IRI, IRG, 並びに血糖の変化

者に比べ明らかに低値を示した($P < 0.05$). IRGは之と反対に前値は糖尿病 $0.219 \pm 0.025 \text{ng/ml}$, 健常者 $0.125 \pm 0.020 \text{ng/ml}$ と糖尿病で高値を示し、30分の頂値も糖尿病 $0.650 \pm 0.048 \text{ng/ml}$, 健常者 $0.397 \pm 0.036 \text{ng/ml}$ と糖尿病患者において有意に高値を示した($P < 0.05$).この高反応は2時間に亘つて継続した。なお対象とした糖尿病患者の前値の血糖は平均 $221 \pm 14 \text{mg/dl}$ と高く、本糖尿病の症例が糖尿病として比較的重症のものであつたと考えられる。

次に糖尿病患者を空腹時血糖 $\geq 200 \text{mg/dl}$ の14名($275 \pm 11 \text{mg/dl}$)と 200mg/dl 以下の11名($153 \pm 8 \text{mg/dl}$)にわけ検討すると(図2)IRIは空腹時血糖の高い群程低反応を示し、前者の頂値は $22 \pm 3 \mu\text{U/ml}$, 後者の頂値は $39 \pm 7 \mu\text{U/ml}$ であつた。IRG反応は之と逆に空腹時血糖 $\geq 200 \text{mg/dl}$ の群は頂値 $0.665 \pm 0.070 \text{ng/ml}$, 200mg/dl 以下

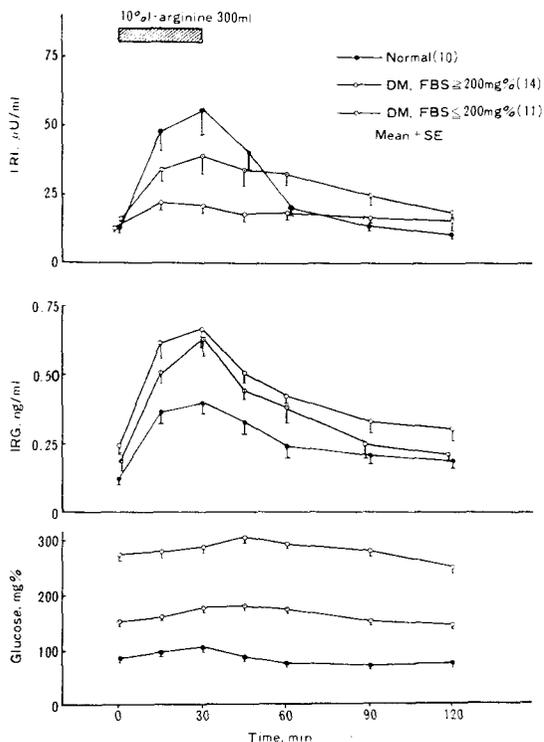


図2 アルギニン負荷に伴う血漿 IRI, IRG 並びに血糖の変化

の糖尿病群では $0.633 \pm 0.069 \text{ ng/ml}$ であったが、両群間に有意差はなかった。

糖尿病患者の高 IRG 反応が負荷前の膵グルカゴン高値に単に加算されたものであるのか、あるいは反応そのものがより大であるのかを検するため、各時点における IRG 値より負荷前の IRG 値を差引き、それらの値の 120 分値までの和を膵グルカゴンの total net increase (ΣIRG) として計算し、同様な計算を血糖並びに ΣIRI についても行なった (図 3)。糖尿病では、IRI は空腹時血糖値 $\geq 200 \text{ mg/dl}$ の群において最も低く、IRG の total net increase は極めて僅かであるが糖尿病の程度の高度な者程高値を示す傾向がみられた。血糖増加度に関してはむしろ空腹時血糖 200 mg/dl 以下の糖尿病患者に大であった。

2. L-アルギニン反応の糖尿病治療に伴う変化
糖尿病患者の高 IRG 反応の治療に伴う変化を

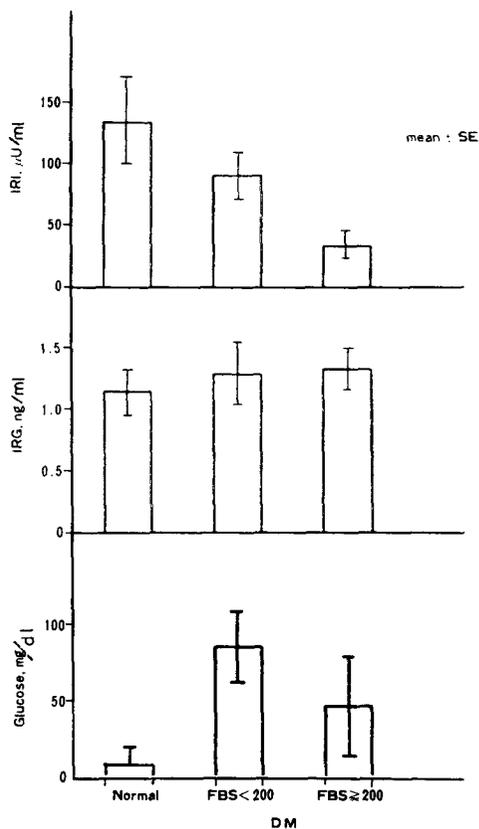


図3 アルギニン負荷後の IRI, IRG 並びに血糖の total net increase.

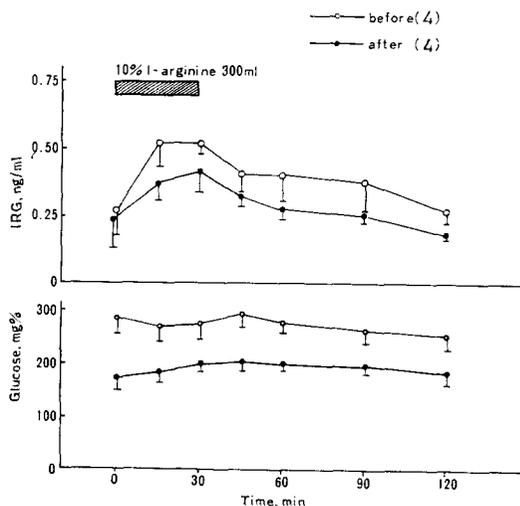


図4 インスリン治療後の血漿 IRG, 血糖の変化

検討するために、空腹時血糖値 $\geq 200\text{mg/dl}$ の未治療糖尿病患者 4 名の同一患者につき、インスリン治療前後の L-アルギニン負荷反応の検討を行なった (図 4)。症例のインスリン使用開始後再検査までの期間は 40 日以内である。血中 I R G 反応は血糖値の改善と共に低下したが、本症例数では有意ではなかつた。同様の検討を経口糖尿病薬使用患者 6 名 (初回負荷より再検まで 20 日以内, H B 419 使用者 5 名, D 860 使用者 1 名) につき検討すると (図 5), 血中 I R I 反応は著変をみない

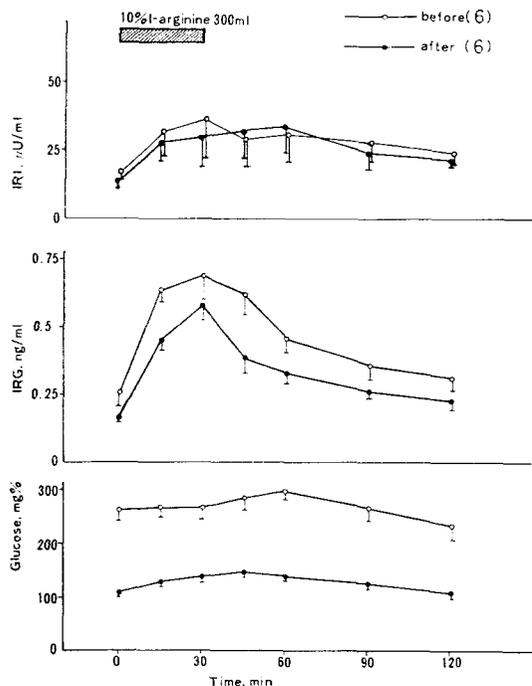


図 5 経口糖尿病薬治療後の血漿 I R I, I R G 並びに血糖の変化

が, I R G 反応は有意の改善をみた (15 分並びに 45 分値 $P < 0.05$)。

3. low insulin response 3 名の IRG 反応

空腹時血糖値は正常で 100 g G T T において血中 I R I 反応の低下を認めた症例 3 名について, L-アルギニン負荷に伴う血中 I R G 反応を検討した。3 名中 2 名は 100 g G T T が検査時境界型に属したが, 1 名には糖尿病性網膜症があり (Scott I 度), 1 名は数カ月前の空腹時血糖値 173mg/dl

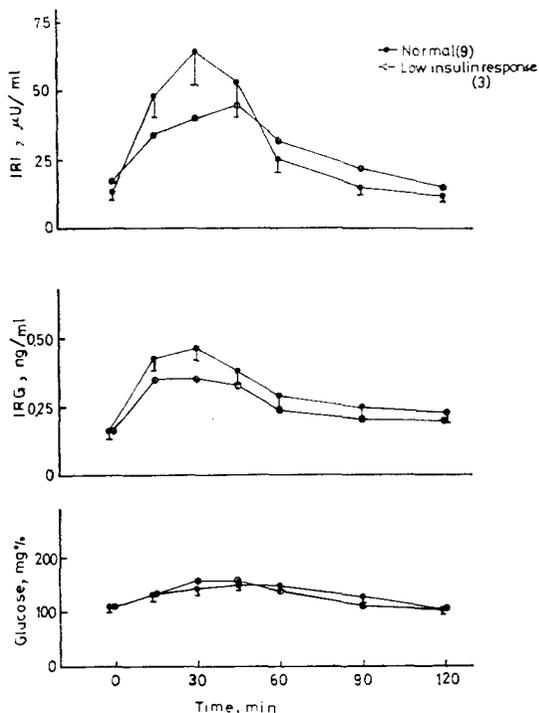


図 6 low insulin response の者の血漿 I R I, I R G 並びに血糖の変化

を呈し insulinogenic index は 30 分において各々 0.13 および 0.15 であり, この 2 名は糖尿病と診断してよいと思われた。残りの 1 名は 25 歳男子で 100 g G T T は境界型であるが, I R I 反応は再度に亘り低反応で, 30 分の insulinogenic index は 0.25 である。以上 3 例の I R G 分泌は図 6 に示す如く健常者 9 名に比べて高反応は示さなかつた。

4. 糖尿病昏睡の 1 症例について治療前後における血中 IRG の変化

症例: H.S., ♀ 73 歳。

昭和 38 年 (62 歳) より口渇, 多尿が出現し, 昭和 39 年 9 月より昭和 40 年 2 月までレンテインスリン朝 20 単位, 夕 8 単位を続けていたが, 3 月に糖尿病性ケトアシドーシスにて救急入院し, インスリンにて再びコントロール良好となつた。以後当科糖尿病外来に通院していたが, 都内某大学病院に転院した。昭和 48 年 8 月頃より疲労感があつて入院を希望したがベッドがなく, 入院できなかつ

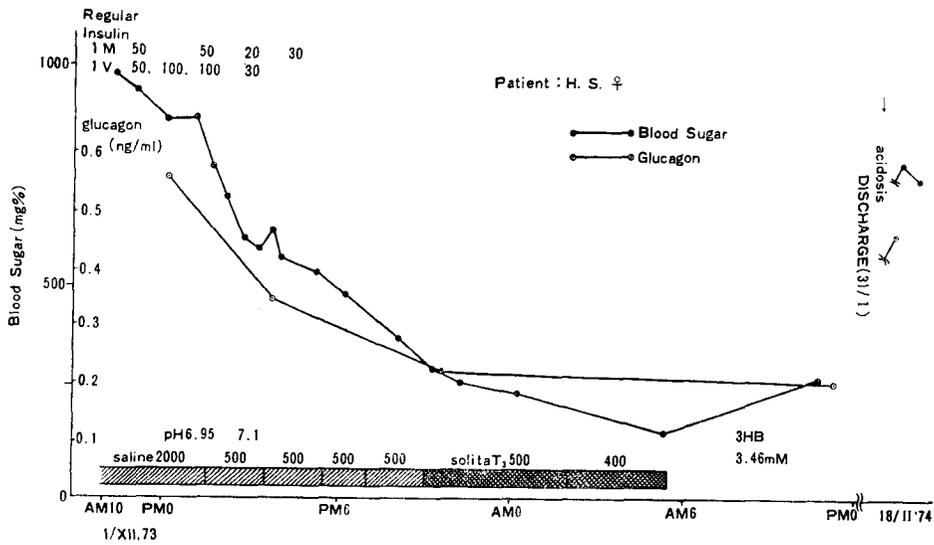


図7 糖尿病性アンドーシスの症例の血漿 I R G の変化

た。その当時空腹時血糖値は 180mg/dl であり、風邪といわれ投薬を受けた。其後食欲低下し低血糖を恐れてインスリン注射を勝手に中止したところ、以後自分でトイレに行けなくなり、悪心・嘔吐強く、意識も薄れてきて、昭和48年12月1日に救急入院となった。入院時興奮気味で、血圧84/44mmHg、皮膚乾燥し腹部全体に疼痛を訴えた。入院時血糖値 985mg/dl、動脈血pH 6.95、尿中アセトン(卅)と典型的糖尿病性アンドーシスであった(図7)。直ちに図に示すようなインスリン並びに輸液療法を行なつて、血糖値、動脈血pHを始め全身臨床症状の改善をみた。静脈血中の I R G は初診時0.56ng/ml であつたが、インスリン並びに輸液により血糖値が改善すると共にほぼ平行して低下し、入院後12時間で血糖値 270mg/dl、血中 I R G 0.22ng/ml に低下した。昭和49年1月に入り全身状態も改善し、血糖値 100~250mg/dl、レンテインスリン12単位/日にて退院した。退院後2月16日頃より再び嘔吐・食欲不振が出現し、感冒気味であつた。外来における食前血糖値 776mg/dl となり、再び入院しこの時の血中 I R G は再び0.47ng/ml に増加した。

考 按

糖尿病患者の血中 I R G に関しては既に多数の

報告がみられ⁷⁾¹⁰⁻¹⁸⁾、未治療の糖尿病患者、殊に糖尿病性アンドーシスにおいて著明な高グルカゴン血症が報告されている¹⁴⁾が、糖尿病の治療に伴う血中 I R G の変化に関しては比較的報告が少ない。本報告でもみるように、未治療殊に食前血糖値 200mg/dl 以上の症例においては、200mg/dl 以下の症例に比し平均値としては高 I R G 血症がみられ、糖尿病では健常者より有意の高値を呈した。Heding ら¹⁰⁾は健常群、成人型並びに若年型糖尿病の順に I R G の高値を認め、Pek ら¹¹⁾は健常者、潜在性糖尿病、糖尿病の順に高値を認めたが、高 I R G 血症は糖尿病の重症度と関係のないという人もいる¹⁷⁾。しかしながら健常者では糖尿病患者のような高血糖では I R G の遙な低値をみることから、糖尿病では相対的高 I R G 血症の存在することにおいては一致している。

糖尿病時の高 I R G 血症は実験的糖尿病、例えばインスリン抗体の注入や、アロキサン糖鼠¹⁵⁾においてもみられ、正常動物では高血糖により I R G 分泌は抑制されるが¹⁶⁾、インスリン不足状態においてはこの A 細胞の抑制が働かないと考えられる。しかし Unger らは¹⁸⁾成人発症糖尿病に大量の糖質食を与えてインスリン注入を45分間持続したものと、持続しない者の I R G 反応を検討

したが、インスリンを付加した症例では血糖値は低下したにも拘らず I R G の低下はみられなかつたという。次に大量のインスリンをグルコースと共に持続注入し、血中 I R I 濃度が $1500 \mu\text{U/ml}$ になると始めて I R G は低下したが、その下降はゆるくかつ軽度であつた。かかる事実よりインスリンの単独欠乏によつてのみでは糖尿病の異常は説明できないとのべ、原因として、糖尿病患者の毛細血管基底膜の肥厚によるグルコースとインスリンの A 細胞内不透過性による A 細胞正常反応の欠如をあげている。糖尿病発症におけるグルカゴンの果す役割りとして最近 Unger¹⁹⁾ は次のような新しい考えを出している。すなわち、膵摘犬を用いて膵摘の術中並びに術後に somatostatin を流してグルカゴンの分泌を抑制しておく、膵摘後も高血糖を生じていない事より糖尿病発症には A 細胞の存在が不可欠であるとのべている。

本研究において報告したごとく、糖尿病の高 I R G 血漿はインスリン治療により改善に向い経口剤使用により有意に低下をみたこと、糖尿病昏睡例においてインスリン治療により血糖値の低下と共に速かに I R G が低下すること、更に空腹時血糖値は正常で血中 I R G 反応の極めて低い3例において健常者と差異をみないことより、I R G 高反応の主因は糖尿病による二次的变化と考えるべきであろう。もつとも S U 剤はグルカゴンの分泌を抑制することが報告されている²⁰⁾が、Marco²¹⁾ は健常者に7日間 S U 剤を投与し、その前後でアルギニン負荷試験を行なつたが I R G 反応の低下を認めなかつた。糖尿病患者の高 I R G 反応は食事療法によつても改善する事が報告されている²²⁾。梶沼ら²³⁾ は糖尿病の管理下にある患者で、網膜症の有無で血中 I R I 反応、I R G 反応をアルギニン負荷で検討したところ、I R I 反応は網膜症(+)の者は(-)の者に比し低下していたが、I R G 反応には両群で相違を認めなかつた。

糖尿病では負荷前値の I R G は若干高値を示すとしても、アルギニン負荷後の I R G の total net increase を検討すると、僅かではあるが前値のみでなく総和も血糖値の高値群程増加している。し

かし正味の分泌増加は極めて僅かなものようである。アルギニン以外の分泌刺激による I R G 反応については、Gerich らはインスリン低血糖により、糖尿病では健常者よりも I R G 反応が低下していることを報告しているが、刺激物によつては必ずしも常に高反応を呈するとはかぎらないと考えられる。

最近膵摘犬において膵グルカゴンに特異的に反応する抗グルカゴン血清 30 K を用いて膵グルカゴンを測定すると、膵グルカゴンは逆に増加する事が報告されている²⁵⁾²⁶⁾。この場合インスリンにて糖尿病を治療すると I R G は直ちに低下する。佐々木ら²⁷⁾ は豚胃腸管には膵グルカゴンと分子量、生物学的活性、物理化学的性状および免疫学的状態が全く区別のできない G L I が存在することを証明している。これらの事実を考慮すると、未治療糖尿病における I R G の高値はその一部は胃腸管からの I R G の放出を意味するものかもしれない。Valverde ら²⁸⁾、Weir ら²⁹⁾ は、高 I R G 中に big big glucagon と称すべきものが存在することを報告しており、この面からも糖尿病における高 I R G は再検討が必要であろう。

結 論

未治療糖尿病患者25名、健常者10名並びに血中 I R I 低反応者3名に、10% L-アルギニン 300ml を30分間に点滴静注し、2時間にわたり血中 I R I、I R G 並びに血糖反応を追究した。またインスリン治療者4名並びに経口糖尿病薬治療者6名に、治療前後に同様の負荷試験を行ない、治療による上記反応の変化を検討した。1名の糖尿病昏睡例で治療状況に伴う血中 I R G の変化も追究した。

1) 未治療糖尿病患者は健常者よりもアルギニン負荷前の血中 I R G は有意に高く、負荷後の反応も高反応であつた。負荷前血糖値 $\geq 200 \text{mg/dl}$ と 200mg/dl 以下の群では、平均値として I R G は前者で高値であるが、両群間に有意差はなかつた。

2) アルギニンに対する I R I 反応は、糖尿病で低反応であり、殊に負荷前血糖値 $\geq 200 \text{mg/dl}$ の群において著明に低下していた。

3) アルギニン負荷後の血中 I R G の total net increase (Σ IRG)は、負荷前血糖値 ≥ 200 mg/dlの群が最も大である。次いで 200mg/dl以下の群、健常者群の順であつたが、その差は極めて僅かであつた。血中 I R Iはこの逆であり、しかも各群の差も著明であつた。

4) 100 g G T Tにて負荷前血糖値が正常で、インスリン低反応を示した3名(2名は明らかに糖尿病)のアルギニン負荷後の血中 I R G反応は、健常者に比べ大きい差異はみられなかつた。

5) 糖尿病患者にインスリン並びに経口糖尿病薬にて治療をすると、糖尿病状態の改善と共に血中 I R G反応は、前者では低下の傾向、後者では有意に低下を示した。

6) 糖尿病昏睡1名をインスリンおよび輸液療法により治療したところ、血糖値が急速に低下すると共に高 I R G血症も速かに低下することを認めた。

稿を終るにあたり、東京女子医大糖尿病センター所長平田幸正教授の御校閲を深謝致します。また I¹²⁵-グルカゴンを提供して下さいました東大第三内科梶沼宏博士に深謝致します。

(本論文要旨は第47回日本内分泌学会総会にて発表した。)

文 献

- 1) Unger, R.H., A.M. Eisentraut, M.S. McCall, S. Keller, H.C. Lanz and L.L. Madison: Glucagon antibodies and their use for immunoassay for glucagon. Proc Soc Exp Biol Med **102** 621 (1959)
- 2) Oprskov, H.: Wick chromatography for rapid and reliable immunoassay of insulin, glucagon and growth hormone. Nature **219** 193 (1968)
- 3) Hazzard, W.R., P.M. Crockford, K.D. Buchanan, J.E. Vance, R. Chen and R.H. Williams: A double antibody immunoassay for glucagon. Diabetes **17** 199 (1968)
- 4) Shima, K. and P.P. Foa: A double antibody assay for glucagon. Clin Chim Acta **22** 511 (1968)
- 5) Unger, R.H., A. Ohneda, I. Valverde, A.M. Eisentraut and J.E. Exton: Characterization of the responses of circulating glucagon-like immunoreactivity to intraduodenal and intravenous administration of glucose. J Clin Invest **47** 48 (1968)
- 6) Eisentraut, A.M., A. Ohneda, E. Aguilar-Parada and R.H. Unger: Immunologic discrimination between pancreatic glucagon and enteric glucagon-like immunoreactivity (GLI) in Tissues and Plasma. Diabetes **17** (Abst) 321 (1968)
- 7) Unger, R.H., E. Aguilar-Parade, W.A. Müller and A.M. Eisentraut: Studies of pancreatic alpha cell function in normal and diabetic subjects. J Clin Invest **49** 837 (1970)
- 8) Morgan, C.R. and M.A. Lazarow: Immunoassay of insulin: two antibody system plasma insulin levels of normal, subdiabetic and diabetic rats. Diabetes **12** 2 (1963)
- 9) 田坂仁正・関根万喜男・若月雅子・岩谷 征子・大河原久子: 健常者の血漿膵グルカゴン、インスリン並びに血糖の日内変動。糖尿病 **17** 525 (1974)
- 10) Heding, L.G. and S.M. Rasmussen: Determination of pancreatic and gut glucagon-like immunoreactivity (GLI) in normal and diabetic subjects. Diabetologia **8** 408 (1972)
- 11) Pek, S., S.S. Fajans, J.C. Floyd, R.F. Knopf, P.N. Weissman and J.W. Conn: Plasma levels of glucagon in patients with diabetes mellitus. Diabetes **21** (Suppl) 324 (1972)
- 12) Ohneda, A., M. Sato, K. Matsuda, A. Yanbe, Y. Maruhama and S. Yamagata: Plasma glucagon response to blood glucose fall, gastrointestinal hormones and arginine in man. Tohoku J exp Med **107** 241 (1972)
- 13) 田坂仁正・関根万喜男・横須賀智子・岩谷 征子・鎮目和夫: 糖尿病患者の血中膵グルカゴン。日内会誌 **50** 247 (1974)
- 14) Müller, W.A., G.R. Faloona and R.H. Unger: Hyperglucagonemia in diabetic ketoacidosis its prevalence and significance. Amer J Med **54** 52 (1973)
- 15) Müller, W.A., G.R. Faloona and R.H. Unger: Effect of experimental insulin deficiency on glucagon secretion. J Clin Invest **50** 1992 (1971)
- 16) Ohneda, A.E., Aguilar-Parada, A.M. Eisentraut and R.H. Unger: Characterization of response of circulating glucagon to intraduodenal and intravenous administration of amino acids. J Clin Invest **47** 2305 (1968)

- 17) 堀米 賢・大根田昭・板橋 博・山家 路・千葉正道：糖尿病における膵グルカゴンの分泌反応。糖尿病 16 (Suppl) 192 (1973)
- 18) **Unger, R.H., L.L. Madison and W.A. Müller**: Abnormal alpha cell function in diabetics. Response to insulin. Diabetes 21 301 (1972)
- 19) **Unger, R.H. and L. Orci**: The essential role of glucagon in the pathogenesis of diabetes mellitus. Lancet 1 14 (1975)
- 20) **Samols, E., J.M. Tyler and P. Mialhe**: Suppression of pancreatic glucagon release by the hypoglycemic sulfonylureas. Lancet 1 174 (1969)
- 21) **Marco, J.**: Unaltered glucagon secretion after seven days of sulfonylurea administration in normal subjects. Diabetologia 9 (suppl) 317 (1973)
- 22) 豊島博行・吉田隆司・市原紀久雄・野中共平・垂井清一郎：糖尿病患者の I R G 反応，一とくに治療（食餌療法を含む）による効果について。糖尿病 17 (Suppl) 85 (1974)
- 23) 梶沼 宏・岩本安彦・河津捷二・林 正紀・山東博之・金沢康徳・赤沼安夫・三木英司・金東昭雄・小坂樹徳：糖尿病性網膜症とインスリン反応およびグルカゴン反応。第12回日本糖尿病学会関東甲信越地方会。
- 24) **Gerich, J.E., M. Langlois, C. Noacco, J.H. Karam and P.H. Forsham**: Lack of glucagon response to hypoglycemia in diabetes: evidence for an intrinsic pancreatic alpha cell defect. Science 182 171 (1973)
- 25) **Vranic, M., S. Pek and R. Kawamori**: Increased "glucagon immunoreactivity" in plasma of totally depancreatized dogs. Diabetes 23 905 (1974)
- 26) **Matsuyama, T. and P.P. Foa**: Plasma glucose, insulin, pancreatic and enteroglucagon levels in normal and depancreatized dogs. Pro Soc Exp Biol Med 147 97 (1974)
- 27) 佐々木英夫・伊藤正毅・蛭谷 功・佐藤幸示・**R.H. Unger** : Extra pancreatic glucagonの研究。第1報 Gut glucagon について。糖尿病 18 (Suppl)94 (1975)
- 28) **Valverde, I., M.L. Villanueva, I. Lozano and J. Marco**: Presence of glucagon immunoreactivity in the globulin fraction of human plasma ("big plasma glucagon"). J Clin Endocrinol Metab 39 1090 (1974)
- 29) **Weir, G.C., S.D. Knowlton and D.B. Martin**: High molecular weight glucagon-like immunoreactivity in plasma. J Clin Endocrinol Metab 40 296 (1975)