



Somatostatin release isolated perfused rat pancreas : Possible role of endogenous somatostatin on insulin release

門脇, 誠三

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1979-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0288

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000288>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	かど わき せい ぞう 門 脇 誠 三 （兵庫県）
学位の種類	医学博士
学位記番号	医博い第 280 号
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の日付	昭和 54 年 3 月 31 日
学位論文題目	Somatostatin Release from Isolated Perfused Rat Pancreas Possible Role of Endogenous Somatostatin on Insulin Release ラット灌流膵よりのソマトスタチン分泌 内因性ソマトスタチンのインスリン分泌への役割につ いて
審査委員	主査教授 藤田 拓 男 教授 山口 延 男 教授 木村 修 治

論文内容の要旨

目 的

羊の視床下部より成長ホルモン分泌抑制因子として抽出，同定されたソマトスタチンは，近年ラジオイムのアッセイおよび組織化学的手法によって，膵，消化管にも存在することが明らかとなった。ソマトスタチンは成長ホルモン分泌抑制作用を有するばかりでなく，インスリン，グルカゴン分泌も抑制することならびに，膵ラ氏島においては解剖学的に A，B 細胞に近接した D 細胞に存在する事実より，直接パラクリンの機序によって A，B 細胞と密接な相互関係を有し，A，B 細胞機能を調節している可能性が考えられる。

本研究はソマトスタチン特異抗体を用いたラジオイムノアッセイ系で，ラット灌流膵よりのソマトスタチン分泌をインスリン，グルカゴン分泌との関連において観察することによって，内因性ソマトスタチンの役割を知ることがを目的とした。

方 法

実験には一夜絶食した Wistar 系雄ラット（300～350 g）を用いた。膵標本の作製は Grodsky の方法を一部改変して行った。すなわち上記ラットをベントバルビタール（30 mg/kg）麻酔下に開腹し，膵十二指腸より，胃，脾を切除し，膵十二指腸部のみの灌流を行った。灌流液は 5.5 mM ブドウ糖，4.6 % デキストラン，0.25 % 牛血清アルブミンを含む Krebs-Ringer Bicarbonate Bu-

fferを用い、95%O₂ 5%CO₂の通気下に毎分2 mlの流量を保ちながら臍灌流を行った。臍標本を37℃にて20分間の前灌流後、以下の実験を行った。

- ① Porcine glucagonを最終濃度 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} Mとなるように15分間にわたって注入し、門脈よりの流出液を経時的に採取し、流出液中ソマトスタチン、インスリンを測定した。
- ② Porcine insulinを最終濃度 10^{-7} , 10^{-6} Mとなるよう15分間にわたって注入し、門脈よりの流出液を経時的に採取し、流出液中ソマトスタチン、グルカゴンを測定した。

流出液の採取は2000 Uトラジロールおよび 10^{-5} Mバントラシンを含む氷冷下のシリコン処理試験管に採取し、ホルモンの測定時まで-20℃にて冷凍保存した。ソマトスタチンの測定は合成ソマトスタチンを牛血清アルブミンと結合させた後、これを家兎に免疫することにより得られた抗血清RA 823を用いた。抗血清RA 823は種々のペプチドとの間に交叉反応は認めないソマトスタチン特異抗体であった。B/Fの分離はデキストラン炭末法で行った。我々のアッセイ系におけるソマトスタチンの最少検出量は10 pg/mlであった。インスリンの測定はポリエチレングリコール法、グルカゴンは臍グルカゴン特異抗体30Kを用いるタルク法にて行った。統計学的処理はStudent's "t" test, およびDuncan's multiple range testを用いて行った。

成績および考察

- ① 外因性グルカゴンに対するソマトスタチン、インスリン反応。

グルコース5.5 mM存在下にグルカゴン(10^{-8} M~ 10^{-6} M)を外因性に添加すると、ソマトスタチン分泌は、グルカゴン添加後5分以内に出現する第一相と、5分以降に出現する第二相が認められた。グルカゴン濃度を 10^{-8} Mより 10^{-7} M, 10^{-6} Mと漸次増加させるとソマトスタチン分泌は容量反応的に増加した。一方インスリン分泌もグルカゴン添加5分以内に出現する第一相と、それに続く第二相が認められた。グルカゴン濃度を 10^{-8} Mより 10^{-7} M, 10^{-6} Mと増加させるに従いインスリン分泌は漸次低下し、特に第一相で著明な分泌抑制が認められた。すなわち添加するグルカゴン濃度の増加に伴いソマトスタチン分泌は容量反応的に増加するが、インスリン分泌は逆に抑制されることが観察された。このことは、グルカゴンによって分泌促進された内因性ソマトスタチンがインスリン分泌を抑制した可能性が示唆される。又インスリン分泌の第一相は第二相に比べて、外因性に投与されたソマトスタチンに対してより鋭敏であるという事実があり、もし内因性ソマトスタチンと外因性ソマトスタチンが本質的に差がないものとすれば、我々の得た成績すなわちインスリン分泌の第一相の抑制が第二相に比べてより顕著であることの一つの説明になるかもしれない。

- ② 外因性インスリンに対するソマトスタチン、グルカゴン応反。

外因性に 10^{-7} M, 10^{-6} Mのインスリンを添加してもソマトスタチン、グルカゴン分泌はコントロール群に比較して有意の変動は認められなかった。このことは、少なくともインスリンはソマトスタチン、グルカゴン分泌に対して急性の効果はないものと推測される。

以上の成績より、臍ラ氏島A, B, D細胞は相互に密接な関係を有していることが示唆された。すなわちグルカゴン刺激によってD細胞より分泌されたソマトスタチンはラ氏島内で近接するB細胞よりのインスリン分泌を調節することによって、生体内でglucose homeostasisに関与しているもの

と考えられる。従って、ラットと類似したラ氏島を有する人においても、ソマトスタチンがインスリン分泌の local regulator として重要な役割を有している可能性がある。

論文審査の結果の要旨

ソマトスタチンは視床下部から成長ホルモン分泌抑制因子として分離同定された物質であるが、膵、消化管にも存在し、インスリン、グルカゴンの分泌をも抑制し、いわゆる普遍的ホルモン分泌抑制因子として知られているが、膵ではラ氏島中でインスリン、グルカゴンを分泌するA、B細胞に近接したD細胞中に存在して古典的なホルモンの作用様式である血中に分泌されてから作用する機序の他に直接局所でパラクリンの機序によって膵内分泌機能の調節に関与していると考えられている。本研究はソマトスタチンに特異的な抗体を用いたラジオイムノアッセイによってラット灌流膵からのソマトスタチン分泌をインスリン、グルカゴンとの関連において観察することを目的とした。

体重300～350グラムのウイスター系雄ラットを一夜絶食の後ペントバルビタール麻酔下に開腹、胃及び脾を切除して膵十二指腸部のみの灌流を行い、グルカゴン注入に流出液中のインスリン、ソマトスタチンを測定し、又インスリン注入下に流出液中のグルカゴン、ソマトスタチンの測定した流出液は2000単位のトラジロールと 10^{-5} Mのバントラシンを含む氷冷下のシリコン試験管に採取し、 -20°C で保存し、合成ソマトスタチンを牛血清アルブミンと結合させて家兎を免疫して得た抗血清RA823を用い、B/Fをデキストラン炭末で分離してラジオイムノアッセイで測定した。

外因性グルカゴンの添加によってソマトスタチンはグルカゴン添加後5分以内に出現する第一相と5分以后に出現する第二相に分れて分泌され、グルカゴンの量を増加させると容量反応的に増加した。

一方、インスリン分泌も同様に二相に分けられたがソマトスタチンとは逆にグルカゴンの量を増加させると容量反応的に減少した。このことはグルカゴンによって分泌促進された内因性ソマトスタチンがインスリン分泌をパラクリンの抑制したことが考えられる。

外因性に 10^{-7} M、 10^{-6} Mのインスリンを添加してもソマトスタチン、グルカゴンの分泌には有意の変動はなく、インスリンはソマトスタチン分泌に対して急性の効果は持たないものと考えられる。

以上の実験は動物によるきわめて単純化された系であるが膵ラ氏島ではA、B、D細胞が相互に密接な機能的関係を持っていることが明らかである。本研究はグルカゴンの負荷によってインスリンの分泌が減少することを初めて直接実験によって証明したものであって、その際ソマトスタチンの増加が同時にみとめられたことから、グルカゴンが先づソマトスタチンの分泌を刺激し、増加したソマトスタチンがインスリン分泌を抑制する可能性がたつよく、ことにインスリン分泌の第一相の方がソマトスタチンによって抑制され易いことから、本実験の結果と一致する。

即ち、本研究は従来よく理解されていなかった膵ラ氏島におけるインスリン、グルカゴン、ソマトスタチンの相互作用について新しい事実を指摘し、糖代謝調節の研究の上に大きく貢献し、又糖尿病の病態生理の理解の上でも有用な知見を得たものであって価値ある業績であり本研究者は医学博士の学位を得る資格があると認める。