

Title	非定常状態におけるインスリン代謝動態の解析：トレーサー法による肝後性インスリン出現速度の計測とその妥当性の検討
Author(s)	森島, 豊彦
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/36768
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	もり 森	しま 島	とよ 豊	ひこ 彦
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8889	号	
学位授与の日付	平成元年11月9日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	非正常状態におけるインスリン代謝動態の解析—トレーサー法による肝後性インスリン出現速度の計測とその妥当性の検討—			
論文審査委員	(主査)			
	教授 鎌田 武信			
	(副査)			
	教授 垂井清一郎 教授 宮井 潔			

論文内容の要旨

〔目 的〕

インスリンが肝臓を経由した後に大循環系に流入する速度、いわゆる肝後性インスリン出現速度（以下Ra）の計測法については現在まで数種のモデルが提唱されているが、非正常状態においても妥当性を有するものは未だないといつてよい。また従来より汎用されてきたヨード化インスリンはトレーサーとしての問題点が少なくない。そこで本研究では、種々の生理的条件下や病態時など非正常状態でも適用可能な普遍的な方法を開発する一助として、トレーサーとしてより優れていると考えられるトリチウムインスリンを用い、インスリン代謝動態のモデルとして2コンパートメントモデルを適用することにより、Ra計測のためのトレーサー法を確立し、その妥当性を検討した。

〔方 法〕

1) トレーサーの調整

ブタインスリンのB₁位のフェニルアラニンをも³H-フェニルアラニンで置換することにより半合成的に作製したトリチウムインスリン ($[^3\text{H}-\text{Phe}^{\text{B}_1}]_{\text{insulin}}$, 以下³H-I) をトレーサーとして用いた。³H-Iは実験前日に μ Bondapak C-18逆相カラム (3.9mm×30cm) を用いるHPLC法によりさらに純化した。純化³H-Iの最終比放射活性は $6.3 \times 10^{11} \sim 1.3 \times 10^{12} \text{Bq}/\text{mmol}$ であった。

2) 対象および実験方法

実験は五頭の雑種成犬 (mean±SD; 23.8±7.3kg) を用い18時間絶食後無麻酔下で施行した。³H-I注入用および非標識ブタインスリン (以下非標識-I) とソマトスタチン注入用カテーテルを両側の前肢静脈に、さらに一側の頸静脈にブドウ糖注入用カテーテルを設置した。混合静脈血を一側の伏在静

脈からカテーテルを介して下大静脈分岐部より採取した。まず、血中³H-Iの単位応答曲線を得るために一定量の³H-I ($1.07 \times 10^7 \sim 1.21 \times 10^7$ dpm)を静脈内 bolus 投与し以後90分まで経時的に採血した。次に、一定量の³H-Iの持続注入 ($7.3 \times 10^4 \sim 1.5 \times 10^5$ dpm/min)を開始し、トレーサー平衡に達した後に、非標識-I注入を種々の量ないしパターンで開始した。同時に、内因性インスリン分泌を抑制する目的でソマトスタチン ($0.5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$)を持続注入し、血糖の変動を防ぐためにブドウ糖注入を行った。採血は非標識-I注入開始前は5~10分間隔で、開始以後は10~15分間隔で行ったが、注入量を急激に変化させる際には採血間隔を適宜短縮するようにした。

3) 血漿インスリンの抽出および測定

2ないし3mlの血漿をC-18Sep-Pakカートリッジに通し、カートリッジに吸着したインスリンをふくむペプチド分画を0.1%のトリフルオロ酢酸(以下TFA)を含む80%アセトニトリルで溶出した(pH2.20)。次に、この溶出液を0.1%TFA溶液で希釈した後に μ Bondapak C-18逆相カラム上で20から40%のアセトニトリル(0.1%TFA含有)の濃度勾配を一時間かけ、1.5ml/minの溶出速度で抽出し、1.5mlずつ分画採取した。プールのインスリン分画は3mlの燐酸緩衝液(0.5%BSAを含む0.1M Na₂HPO₄, pH7.50)を添加した後に一旦凍結乾燥し、脱イオン水で再溶解した後³H-カウントとimmunoreactive insulin(以下IRI)を測定した。回収率は³H-Iが $92.8 \pm 2.4\%$ 、非標識-Iが $90.4 \pm 3.6\%$ であった。³H-Iの放射活性はAquasol 2をシンチレータとして用い、内部標準線源法でクエンチング補正を行い液体シンチレーションカウンターで測定した。

4) 計算法

Raは2コンパートメントモデルに基づいて計算した。コンパートメント1は採血部位である循環血漿スペースを含むコンパートメントである。各コンパートメントにおける非標識-Iと³H-Iの濃度変化率に関する4つの微分方程式をRaについて解き、³H-I bolus 投与後の血中消失曲線の解析で得られた分布容積と移行係数、コンパートメント1のIRIと³H-I濃度、さらに³H-I注入率を代入することによりRaを計算した。インスリンの代謝動態が線形と仮定した場合のRaは、³H-I投与後の血中消失曲線を単位応答と解釈することにより、その後の血中IRI動態曲線からdeconvolution法により数学的に求めた。

〔成績〕

全ての実験において、非標識-I注入開始後血中IRIが上昇するとともに血中³H-Iもほぼ平行して高くなり、この結果、インスリン消失率は低下し、インスリンの代謝動態が非線形であることが示された。各々の計算法の誤差の指標として実際の注入曲線と計算で求めたRa曲線によって囲まれる部分の面積の総和と注入曲線の曲線下面積との比をもとめたが、トレーサー法ではdeconvolution法に比し有意に小さかった(13.1 ± 4.4 vs. $30.4 \pm 8.0\%$; $P < 0.01$)。この事実はインスリン代謝動態が線形と仮定したモデルでは誤差が非常に大きくなることを示している。

〔総括〕

インスリンの代謝動態は非線形であり、その各種パラメータを求めるためにはトレーサー法を導入する必要があることが示された。トレーサー法を2コンパートメントモデルに適用することにより肝後性

インスリン出現速度を良好な精度で計測可能であった。本法はC-ペプチドの代謝動態の解析と併せることにより、肝臓でのインスリン代謝を種々の病態時において in vivo 計測することに応用可能と考えられた。

論文の審査結果の要旨

本研究は、種々の生理的条件下や病態時など非定常状態で、インスリン代謝動態のパラメーターを求め得る普遍的なトレーサー法を得ることを目的とし、トリチウムインスリンを用い、代謝動態のモデルとして2-コンパートメント解析を適用する方法を確立した。

本法により、肝後性インスリン出現速度を計測し、従来の deconvolution method による解析結果と比較せんとした。

その結果、種々の量、パターンで外来性インスリンを注入した際、トレーサー法により初めて測定値が実際の注入値と一致した。従って、インスリンの代謝動態は非線形であり、その各種パラメータを得るためにはトレーサー法を導入する必要があることが示された。

世界的にみて、非定常状態下でのインスリン代謝動態の解析に関する validation study としては本研究が初めてのものであり、また本法は肝臓を中心とするインスリン代謝を種々の病態時において in vivo 計測すること、等に応用可能であり、臨床的にも有用で、学位論文に値するものと考えられる。