

中枢神経系作動物質の膵グルカゴン 分泌に対する効果

第一編

Substance P 負荷時のイヌ膵静脈血中の膵グルカゴンの変動

岡山大学医学部第三内科学教室（主任：大藤 眞教授）

町 田 周 治

（昭和56年8月24日受稿）

Key words: substance P
グルカゴン
インスリン

緒 言

生理活性ペプチドで脳内アミンの1つである substance P は、1931年 von Euler と Gaddum¹⁾ により、馬の脳と腸より抽出され、降圧作用、腸管収縮作用をもつことが判明した。その後、中枢神経系や脊髄後根にも同様の物質が存在することが確認されたが^{2,3)}、その構造は不明であった。1967年、Leeman ら^{4,5)}は、催唾作用をもつ脳下垂体抽出物の研究をしていたときに、その抽出物が substance P であることを立証した。その後、彼女ら^{6,7)}により本物質の11個のアミノ酸配列が明らかにされるとともに、Tregear ら⁸⁾により合成されるにいたり、さらに radioimmunoassay が確立された⁹⁾ことによって、その研究は急速に進歩してきた。そして、最近では、その疼痛に対する研究¹⁰⁻¹³⁾ が注目されてきている。

substance P などの中枢神経系作動物質は、他の内分泌機能に対しても少なからぬ影響を及ぼすと思われるが、substance P の膵内分泌に対する効果については、諸家の研究成績は必ずしも一致していない。例えば、in vivo では、末梢静脈のインスリンは減少し、門脈血中のインスリンは変化せず、グルカゴンは両血中共に増加するという Brown らの報告^{14,15)}、少量で D-

glucose に対するインスリン放出を抑制し、大量では抑制効果が消失するという Lundquist らの報告¹⁶⁾、インスリン、グルカゴン共に増加するという Kaneto らの報告¹⁷⁾ などがあり、in vitro では、グルカゴンは増加するという報告^{18,19)} と逆に減少するという報告^{20,21)} とがある。これらは、それぞれの動物の種の違い、投与方法、投与量の違いなどに起因すると思われる。また、肝臓は substance P を不活性化させるという報告²²⁻²⁴⁾ もある。

そこで、今回、著者は、substance P の各種濃度をイヌの上膵十二指腸動脈より直接膵臓に投与し、上膵十二指腸静脈より採血して膵グルカゴンを測定し、膵 α 細胞のグルカゴン分泌動態を観察したので、以下に報告する。

実験材料および方法

1) 実験動物手術手技

i) 腹腔内手術

体重 8 ~ 16kg の成熟雑犬を各群 7 匹ずつ使用し、24時間絶食後、ペントバルビタール 25 mg/kg を腹腔内に注射して麻酔をした。麻酔後開腹し、substance P を投与するために上膵十二指腸動脈（以下膵動脈）に、また、採血するために上膵十二指腸静脈（以下膵静脈）に T 字型のシリコンチューブを設置し、一側の大腸静脈に

も採血するためのカテーテルを挿入した。そして、術後2～3時間して血糖値が安定してから下記の負荷実験を開始した。

ii) 血圧および膵実質内のインピーダンス測定
血圧は、大腿動脈の細い分枝にポリエチレン製カテーテルを挿入し、その他端を圧 transducer に連結し、carrier amplifier で増幅して、ペン書き記録計に記録させた。

インピーダンスは、Tasaka らの方法²⁵⁾によって測定した。上記開腹術後、約4mm間隔に固定した二本の針電極を膵体部組織中に刺入し、impedance plethysmograph を使用して行った。この装置は搬走波の周波数が50 KHzで、1 mAの定常電流が動物組織内を流れるようになっていて、出力信号は最終段階でDC出力とし、ペン書き記録計に書かせた。なお、インピーダンスの変化は、組織の血流の変化を反映し、血流の増加に伴い、インピーダンスは逆に減少する。

2) substance P の持続注入法

substance P の各種濃度 (100, 50, 25, 5, 0.5 ng/kg/min) を、膵動脈よりインフュージョンポンプで30分間持続注入し、膵静脈と大腿静脈より、負荷前15分, 10分, 直前(0分), 負荷開始後2分, 5分, 10分, 20分, 30分, 45分, 60分, 90分, 120分と経時的に採血したが、膵静脈の場合には門脈血の流入を避けるために、採血時には門脈側を一時的に遮断して採血を行った。そして、膵静脈血中のグルカゴンとインスリン、大腿静脈血中の血糖を測定した。グルカゴン測定用には、血液1mlあたりEDTA 1.2mgとトラジロール500 K.I.U. のはいたチューブに採血し、低温下で遠沈分離し、血漿を測定まで-20℃以下に貯蔵した。

3) 血糖, グルカゴン, インスリンの測定法

血糖は、reflectance meterを用いるGlucose-Oxidase法²⁶⁾で測定した。

グルカゴンは、Ungerらの方法²⁷⁾に準じ、膵特異抗体30Kを用いるcharcoal-dextran法にて測定した。

インスリンは、Morganらの方法²⁸⁾による二抗体法で測定した。

各測定値は、Mean ± SEM で図示し、有意差は、負荷直前値に対し、Wilcoxon's matched-

pairs signed-ranks test で検定した。

結 果

1) substance P 100 ng/kg/min 膵動脈内30分間持続投与群 (Fig. 1)

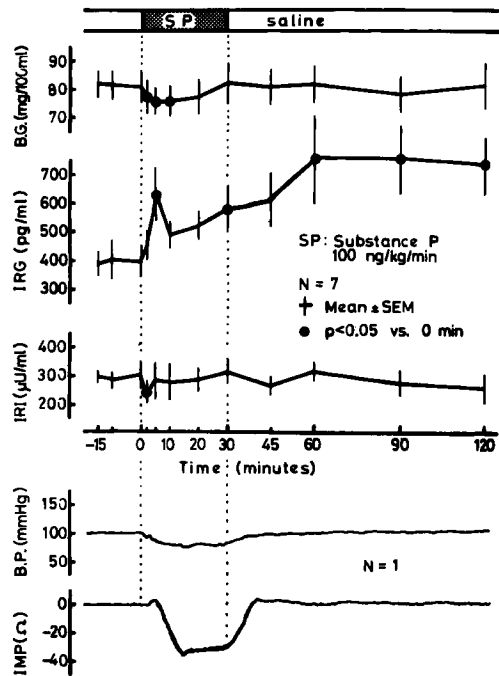


Fig. 1. Effect of intrapancreatic infusion of substance P (SP) at a dose of 100 ng/kg/min for 30 min on the levels of femoral venous blood glucose (B.G.), pancreatic venous plasma immunoreactive glucagon (IRG) and immunoreactive insulin (IRI), femoral arterial blood pressure (B.P.) and impedance (IMP) in pancreatic tissue.

大腿静脈血で測定した血糖は、投与開始により有意の一過性の減少をきたし、5分で前値の93.3%を示したが、投与終了時にはほぼ前値に復し、その後はほぼ一定の値を示した。

膵静脈血中グルカゴンは、投与開始後急速に上昇し、5分で前値の158.6%と有意の増加を示し、10分では一時122.4%まで軽度低下したが、その後は漸増し、30分, 60分, 90分, 120分では明らかな増加がみられた。

膵静脈血中インスリンは、投与開始後2分でのみ前値の80.7%と一過性の有意な減少を示したが、その後は著明な変動はみられなかった。

大腿動脈分枝における血圧は、投与開始により徐々に低下し、7分で前値の約70%の値を示したが、25分にはほぼ前値に復した。

膵組織のインピーダンスは、負荷開始後3分で一過性の軽度の上昇を示したのち、5分からは急速に減少し、負荷開始後15分で最低値を示したが、負荷終了直後より急速に前値に復し、40分以後は前値とほぼ同じ値を示した。なお、上述のように、インピーダンスの減少は血流の増加を、反対にその増加は血流の減少を反映する。

2) substance P 50 ng/kg/min 臍動脈内30分間持続投与群 (Fig. 2)

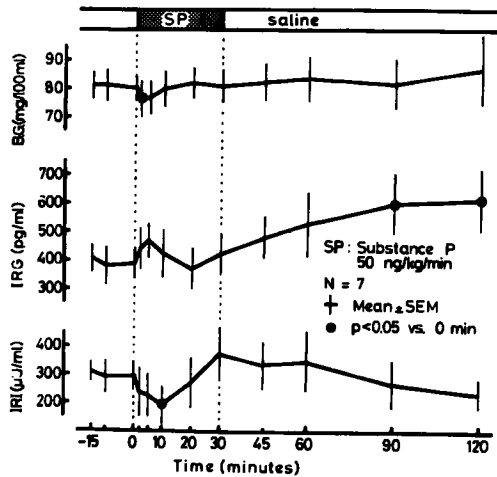


Fig. 2. Effect of intrapancreatic infusion of SP at a dose of 50 ng/kg/min for 30 min on the levels of femoral venous B.G. and pancreatic venous plasma IRG and IRI. Abbreviations are as Fig. 1.

血糖は、負荷開始後一過性の軽度の減少を示し、2分で前値の95.2%となったが、その後は前値に比し有意の変動を示さなかった。

膵静脈血中グルカゴンは、負荷開始後5分で前値の120.5%まで増加し、20分でほぼ前値に復したが、有意の変動ではなかった。その後は漸増していき、90分以後では前値に比し明らかに高値を示した。

膵静脈血中インスリンは、負荷開始後10分で前値の64.3%と有意に減少したが、substance P 注入終了時にはほぼ前値に復し、以後もほぼ同一の値を示していた。

3) substance P 25 ng/kg/min 臍動脈内30分間持続投与群 (Fig. 3)

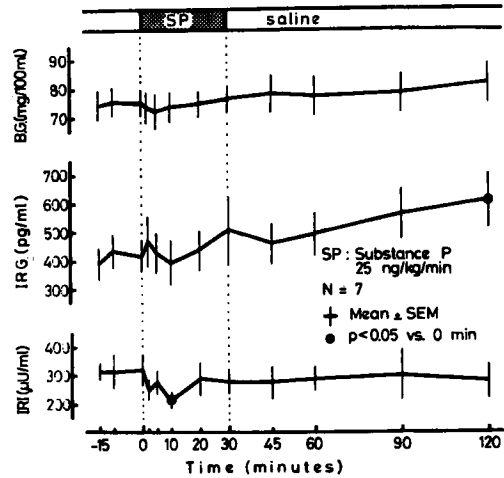


Fig. 3. Effect of intrapancreatic infusion of SP at a dose of 25 ng/kg/min for 30 min on the levels of femoral venous B.G. and pancreatic venous plasma IRG and IRI. Abbreviations are as Fig. 1.

血糖は、負荷開始後軽度の一過性の減少傾向を示したにすぎなかった。

膵静脈血中グルカゴンは、負荷開始後軽度の増加傾向を示したが、すぐに前値に復し、その後漸増していき120分では有意の増加がみられた。

膵静脈血中インスリンは、10分で前値の66.5%と一過性の有意な減少を示したが、その後は前値とほぼ同一の値を示した。

4) substance P 5 ng/kg/min 臍動脈内30分間持続投与群 (Fig. 4)

実験の期間中、血糖は、殆んど変動を示さなかった。

膵静脈血中グルカゴンは、substance P 注入開始後徐々に増加傾向を示していき、90分以後では前値に較べ有意の上昇がみられた。

膵静脈血中インスリンは、負荷開始後2分、5分で前値の約80%と軽度の一過性減少を示したのみであった。

大腿動脈の血圧は、substance P 負荷によっても殆んど変動しなかった。

膵組織のインピーダンスは、投与開始直後よりゆるやかに減少し続け、投与中止時の30分で最低値を示した。その後、緩徐に増加し、60分

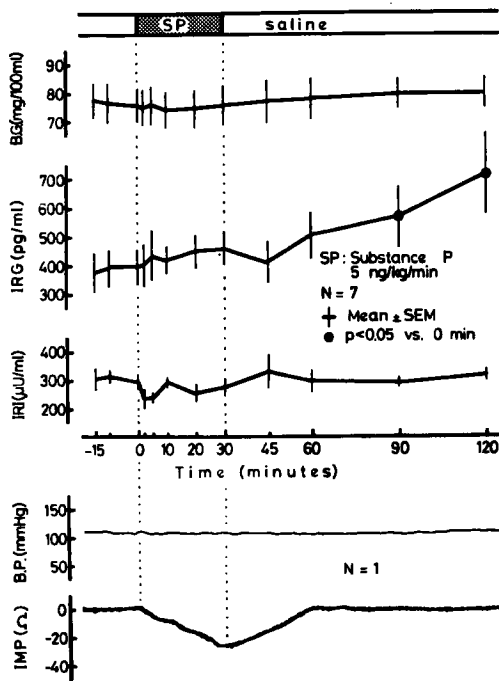


Fig. 4. Effect of intrapancreatic infusion of SP at a dose of 5 ng/kg/min for 30 min on the levels of femoral venous B.G., pancreatic venous plasma IRG and IRI, and femoral arterial B.P. and IMP in pancreatic tissue. Abbreviations are as Fig. 1.

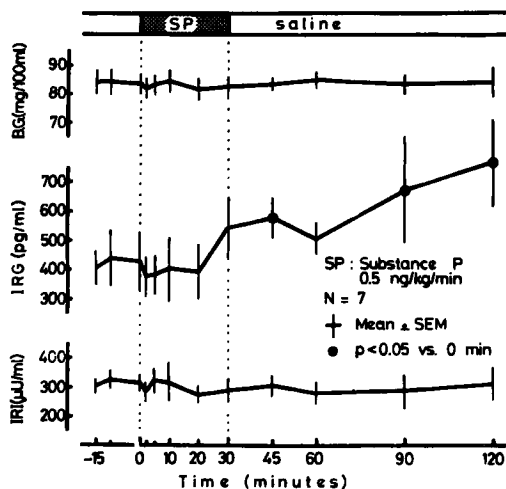


Fig. 5. Effect of intrapancreatic infusion of SP at a dose of 0.5 ng/kg/min for 30 min on the levels of femoral venous B.G. and pancreatic venous plasma IRG and IRI. Abbreviations are as Fig. 1.

でほぼ前値に復してからは、負荷前とほぼ同じ抵抗を示し続けた。

5) substance P 0.5 ng/kg/min 膵動脈内30分間持続投与群 (Fig. 5)

血糖、膵静脈血中インスリン共に、実験の間中有意の変動はみられなかった。

膵静脈血中グルカゴンは、前4群とは逆に、負荷開始後減少傾向を示したが、substance P 注入終了後より漸増していった。

考 接

substance P の膵内分泌に対する作用として前述のように一定の所見がえられていないために、今回著者はイヌを用いて、種々の濃度の substance P を膵動脈から直接的に膵組織内へ注入することによって、膵静脈血中へ放出されてくる膵グルカゴンと膵インスリンを測定して substance P の膵内分泌への影響を観察した。

まず、大腿静脈血中の血糖は、substance P 100 ng/kg/minあるいは50 ng/kg/minという高濃度では軽度の低下を示し、かつ、前者の用量ではより著明であった。しかし、25 ng/kg/min以下の低濃度では血糖の変化はみられず、用量反応的变化がみられた。一方、substance P 100 ng/kg/minと5 ng/kg/min投与時に測定された膵組織インピーダンスをみると、両者の場合いずれも血圧の低下とともに組織中の血流の増加が反映されていた。この血流の増加のことを考慮するならば、各実験での血糖の実際の値は、測定された値よりも高値を示すものと思われる。従って大量の substance P 投与の際には血糖の低下は認められるであろうが、25 ng/kg/min以下の少量投与ではむしろ血糖は上昇している可能性がある。事実、ラットやイヌを用いての他の実験では substance P 投与によって血糖が上昇するという報告が多い^{14,15,17)}。

膵静脈血中グルカゴンは、100 ng/kg/min負荷時には負荷直後に明らかな増加を示した。50 ng/kg/minから5 ng/kg/minまでの投与量においても投与後10分で上昇傾向を示した。その後一過性に低下傾向を示した後、再び漸増傾向を示した。100 ng/kg/minのような大量では substance P 注入終了直後から持続的に高値を示していた。

この初期における膵静脈血中グルカゴンの変動も、血流を考慮した場合には、測定した値よりも実際にはさらに高値を示したものと思われる。substance P 0.5 ng/kg/minの注入量では、初期に軽度の低下がみられたが有意ではなく、血流を考慮に入れると殆んど変動がみられなかったと思われる。注入終了後の漸増は、5 ng/kg/min以上の投与量の場合と同様であった。これらのsubstance P 投与初期の膵静脈血中グルカゴンの上昇は、substance P の用量反応的な関係を示していた。

substance P の膵グルカゴンについての報告は、前述の如く、in vivo 実験では、Brownら^{14,15)}は、ラットの外頸静脈への substance P 6 μ gの急速投与で門脈血中と末梢血中とともにグルカゴン濃度の増加がみられたと報告している。また、イヌを使用した実験では、Sasakiら^{23,24)}は、股静脈より substance P 8 ng/kg/minを投与した場合、末梢血および門脈血中グルカゴンはともに減少したが、血流を考慮すると実際には増加しており、門脈より substance P 16 ng/kg/minを投与した場合には、グルカゴンの変動はみられなかったとしており、肝での substance P の不活性化が著明だとしている。さらに、Kanetoら¹⁷⁾も、膵動脈内に substance P を20 pmol/kg/minの割合で10分間持続注入する方法により、非特異抗体を使用して測定した膵静脈血中のグルカゴンの増加がみられたと報告している。また、電気的変化を生ぜず神経節を遮断するとされる baclofen を2 nmol/kg/minで9分間投与しておいても、 β -アドレナリン受容体遮断剤である propranolol を0.2 mg/kg急速投与後0.02 mg/kg/minで9分間投与する前処置をしておいても、substance P のグルカゴン分泌亢進作用には影響がなかったとしており、彼らは、substance P の刺激作用は膵内分泌組織に局在する神経系の影響を受けないだろうと結論している。

一方、in vitro 実験では、Moltzら¹⁹⁾は、ラットの isolated pancreas islets 10ヶに substance P 0.1または1.0 n mole/ml で incubate し、グルカゴンは substance P の mole による差がなく増加したと報告している。しかし、同じラットでも田中ら²⁰⁾は、腹腔内に留置した灌

流膵で、substance P を1または5 n mole/minの割合で10分間流し、グルカゴンは減少したとしている。また、大野ら²¹⁾も、ラットの灌流膵を用い、substance P 2.8 n mole/mlを含む液を1.8 ml/minの速度で20分間刺激したところ、グルカゴンの著しい分泌の抑制がみられたことを報告している。一方、イヌにおいては、Pattonら¹⁸⁾は、isolated pancreas で perfuse し、substance P 100 pmol/min以上でグルカゴンの増加が強く、膵における直接作用であると結論している。

以上のように、substance P のグルカゴン分泌作用についてのこれらの報告結果は、必ずしも一致していない。その理由として、各々の実験における実験動物および実験方法の差異をあげることができよう。今回著者のえた各種濃度の substance P 持続注入投与の結果は、同じイヌでえた in vivo 実験^{17,23,24)}と in vitro 実験¹⁸⁾の結果と一致している。しかし、著者のえた substance P がグルカゴンに対し用量反応的な関係を示したことは、これまでの報告ではみられていない。

前述のように、substance P の100 ng/kg/minから0.5 ng/kg/minまでの全ての実験において、substance P 持続注入後徐々に膵静脈血中グルカゴンは有意の漸増を示した。これは、substance P の膵内分泌に対する直接作用以外の二次的なものを受けている可能性が強いと思われる。この理由として、substance P は肝臓でその殆んどが不活性化される^{22,23,24)}ために、半減期がごく短いと思われ、注入中止後のグルカゴン分泌に関与している可能性はないと思われるためである。従って、この実験後半でのグルカゴン分泌亢進は何らかの他の機序によって惹起されていると思われる。Rivierら²⁹⁾は、ラットにおいて substance P がプロラクチンと生長ホルモンの分泌を亢進すると報告している。成長ホルモンのグルカゴンに対する効果はないようであるが、プロラクチンは耐糖能を悪化させる³⁰⁾ために、グルカゴンの分泌を亢進したと考えられる。さらに、substance P の降圧作用など¹⁾による血行力学的影響も否定できない。著者が実験中に行った大腿動脈分枝での血圧の変

動をみると, substance P 100 ng/kg/min では, 10分で前値の約3/4に低下し, 40分でほぼ前値に回復した. 同時に施行した膵組織のインピーダンスの測定では, 100 ng/kg/min, 5 ng/kg/minともに substance P 投与によりインピーダンスの低下がみられ, 膵組織の血流量の増加が示唆された. この結果, カテコラミンなどの分泌が亢進し, そのために二次的にグルカゴン分泌が増大した³¹⁾可能性も考えられる. グルカゴンはストレス時に分泌が亢進されることはよく知られているところである.

膵静脈血中インスリンは, substance P 100 ng/kg/min の30分間持続注入時には, 負荷直後の2分で有意の一過性減少を示した. 50 ng/kg/min および25 ng/kg/min でも, 10分で最低値を示す一過性の減少を示したが, 5 ng/kg/min と0.5 ng/kg/min では, 有意の変動を示していない. 一方, 前述のように, 血流のことを考え合わせれば, 実際の膵静脈血中のインスリンは, substance P 100 ng/kg/min では, 負荷開始直後の2分で有意に減少したが, その後は逆に増加し, 30分以後, 前値に復していったと思われる. しかし, 50 ng/kg/min から0.5 ng/kg/min では, 負荷開始直後には著明な変動はみられず, その後注入終了時の30分を頂値とする増加を示したと思われる.

substance P の膵インスリンについての報告は, in vivo 実験では, Brownら^{14,15)}は, ラットの外頸静脈に substance P 6 μ g を投与した時に, 末梢血中のインスリンは減少したが, 門脈血中のインスリンは変動しなかったとしている. Lockhart-Ewartら³²⁾も, ラットの尾静脈より substance P 100 pmol を注入したが, 門脈血中のインスリンは有意の変動を示さなかったと述べている. マウスにおいては, Lundquistら¹⁶⁾が, 尾静脈より substance P 4.25 nmol/kg 体重を投与したところ, D-glucose 2.78 mmol/kg 負荷によるインスリンの放出が, 眼窩よりの採血では抑制され, 10倍量の substance P 42.5 nmol/kg では抑制効果がみられなかったとしている. これは, 著者の実験で, 25 ng/kg/min または50 ng/kg/minの方が, 100 ng/kg/min よりもみかけ上はインスリン分泌の低下

が長く続いたという結果と一致している. また, 彼らは, D-glucose のかわりに, コリン作動性にインスリンを分泌するといわれる carbachol 0.16 μ mol/kg を用いた場合, インスリン分泌は substance P によっては抑制されなかったと報告している. イヌを用いた実験では, Sasakiら^{23,24)}は, 股静脈より substance P を投与した時には末梢血および門脈血中のインスリンはともに減少したが, 門脈内投与の場合にはインスリンの変動はみられなかったと述べている. Kanetoら¹⁷⁾も, イヌの膵動脈より substance P 20 pmol/kg/min を10分間投与すると, 膵静脈血中のインスリンは増加し, baclofen 2 nmol/kg/min または propranolol 0.2 mg/kg 急速投与直後に0.02 mg/kg/min で前処置してもインスリン増加の抑制は観察されなかったとし, Brownら¹⁴⁾のラットにおけるインスリン減少の結果との差は, 動物の種差, 薬物の投与量, 投与方法の違いなどが考えられるとしている.

ラットを用いた in vitro 実験では, Moltzら¹⁹⁾は, isolated pancreas islets を用い, substance P 0.1 または 1.0 nmole/ml で両者同じ程度のインスリン減少をみている. 一方, 腹腔内留置法における灌流膵を用いた田中ら²⁰⁾および Grodsky らの方法による灌流膵を用いた大野ら²¹⁾は, substance P によるインスリンの変化はみられないとし, Lacy と Kostianovsky の方法による isolated islets を用いた Lockhart-Ewartら³²⁾は, substance P には 7 mM または 20 mM の glucose によるインスリン分泌を抑制する効果はみられなかったと報告している.

以上のように, Kaneto らの報告を除き, ラット, マウス, イヌ共にインスリンは, substance P により減少または不変であり, 今回の著者の結果とほぼ一致した.

最後に, substance P の膵内分泌に対する作用機序に関しては, ヒスタミンが関与しているとの考えもある. これは, substance P の血圧におよぼす影響には, mast cell からのヒスタミンの放出も関与するという考え^{33,34)}から由来したと思われるが, Brownら¹⁵⁾は H₁ ヒスタミン受容体の antagonist である diphenhydramine が neurotensin による門脈血中のグルカゴンと

血糖の上昇を抑制したが、 H_2 ヒスタミン受容体の antagonist である cimetadine は、neurotensin または substance P によるグルカゴンと血糖の上昇を抑制しなかったと述べている。また、彼らは substance P によるプロラクチンや生長ホルモンの上昇を diphenhydramine が抑制したことも報告しており²⁹⁾、このことより substance P の膵内分泌に対する作用にヒスタミンが介在している可能性があることを示唆している。しかし、電気的変化を生ぜずに神経節を遮断する baclofen は、substance P の血糖、グルカゴン上昇作用に影響をおよぼしていない¹⁷⁾。また、Langerhans 島のみ存在下でも、グルカゴンの増加がある^{18,19)}ことから、substance P には、 α 細胞への直接作用もあると考えられる。

substance P は、はじめ馬の脳と腸より抽出された¹⁾が、その後、種々の動物の中枢神経系や消化管に多量に存在することが明らかにされた^{3,35,36,37)}。しかし、substance P は膵組織には殆んど存在せず^{16,37,38)}、 γ -aminobutyric acid (GABA) のように膵組織にも多量に存在する³⁹⁾中枢神経系作動物質とは異なる生理的作用を有するものと思われる。

結 語

中枢神経ペプチドの1つである substance P をイヌの膵動脈内に投与し、大腿静脈血中の血糖とともに膵静脈血中の膵グルカゴンおよびインスリン濃度を測定し、膵内分泌に対する影響を検討して以下の結果をえた。

1) substance P 100 ng/kg/min 30分間持続注入により、血糖およびインスリンは一過性に減少し、グルカゴンは二相性に増加した。血圧は低下し、血流は注入開始6分後より急速に増大した。

2) substance P 50 ng/kg/min 投与では、血糖およびインスリンは一過性の軽度の減少を示したが、グルカゴンは軽度に増加し、負荷終了後に有意に漸増した。

3) substance P 25 ng/kg/min 投与においては、substance P 50 ng/kg/min とほぼ同様の変動を示した。

4) substance P 5 ng/kg/min 30分間持続投与

では、血糖は注入中は変動しなかったが、グルカゴンは投与終了後に有意の漸増を示した。インスリンは一過性に軽度減少したにすぎなかった。血圧は殆んど変化しなかったが、血流は substance P 投与によりゆるやかに増加した。

5) substance P 0.5 ng/kg/min では、血糖およびインスリンは有意の変動をみず、グルカゴンは substance P 持続投与中は軽度に減少したが、投与中止後漸増した。

6) グルカゴン濃度は、substance P 注入開始により、用量反応的に増加したが、これは substance P の膵に対する直接作用によるものと思われた。

7) また、グルカゴン濃度は、substance P 100 ng/kg/min から 0.5 ng/kg/min までの全実験において、substance P 注入終了後に有意の漸増をみたが、これは、substance P による血行力学的変化やプロラクチンなどの他の内分泌的影響などのために、二次的にグルカゴン分泌が刺激されて生じたものと思われた。

8) インスリン濃度は、膵組織中の血流を考慮すると、substance P 100 ng/kg/min 投与では一過性に減少したが、50 ng/kg/min 以下では substance P 投与中は漸増したと思われた。

以上のように、substance P には、膵に対する直接作用のあることが証明され、 α 細胞に対しては用量反応的關係を示した。このように、中枢神経ペプチドである substance P は、薬理的には膵内分泌に関与することが示されたが、生理的にも膵内分泌に対し何らかの影響をおよぼすものと考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師大藤眞教授ならびに直接御教示いただいた河西浩一講師（現香川医科大学内科助教授）をはじめ、御協力いただいた糖尿病研究班の諸先生に厚く感謝の意を表します。そして、血圧、組織インピーダンスの測定の労を取って下さった岡山大学薬理学教室の田坂、赤木両先生に深謝致します。

参 考 文 献

1. von Euler, U.S. and Gaddum, J.H.: An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *J. Physiol. Lond.* **72**, 74-87, 1931.
2. Pernow, B.: Studies on substance P: purification, occurrence and biological actions. *Acta Physiol. Scand.* **29**(suppl. 105), 1-90, 1953.
3. Lembeck, F.: Zur Frage der zentralen Übertragung afferenter Impulse. III. Das Vorkommen und die Bedeutung der Substanz P in den dorsalen Wurzeln des Rückenmarks. *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **219**, 197-213, 1953.
4. Leeman, S.E. and Hammerschlag, R.: Stimulation of salivary secretion by a factor extracted from hypothalamic tissue. *Endocrinology* **81**, 803-810, 1967.
5. Lembeck, F. and Starke, K.: Substanz P und Speichelsekretion. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. Exp. Pathol.* **259**, 375-385, 1968.
6. Chang, M.M. and Leeman, S.E.: Isolation of a sialogogic peptide from bovine hypothalamic tissue and its characterization as substance P. *J. Biol. Chem.* **245**, 4784-4790, 1970.
7. Chang, M.M., Leeman, S.E. and Niall, H.D.: Amino-acid sequence of substance P. *Nat. New Biol.* **232**, 86-87, 1971.
8. Tregear, G.W., Niall, H.D., Potts, Jr. J.T., Leeman, S.E. and Chang, M.M.: Synthesis of substance P. *Nat. New Biol.* **232**, 87-89, 1971.
9. Powell, D., Leeman, S., Tregear, G.W., Niall, H.D. and Potts, Jr. J.T.: Radioimmunoassay for substance P. *Nat. New Biol.* **241**, 252-254, 1973.
10. Frederickson, R.C.A., Burgis, V., Harrell, C.E. and Edwards, J.D.: Dual actions of substance P on nociception: possible role of endogenous opioids. *Science* **199**, 1359-1362, 1978.
11. Krivoy, W.A., Couch, J.R., Henry, J.L. and Stewart, J.M.: Synaptic modulation by substance P. *Fed. Proc.* **38**, 2344-2347, 1979.
12. Mark, J.L.: Brain peptides: is substance P a transmitter of pain signals? *Science* **205**, 886-889, 1979.
13. Oehme, P., Hilse, H., Morgenstern, E. and Göres, E.: Substance P: does it produce analgesia or hyperalgesia? *Science* **208**, 305-307, 1980.
14. Brown, M. and Vale, W.: Effects of neurotensin and substance P on plasma insulin, glucagon and glucose levels. *Endocrinology* **98**, 819-822, 1976.
15. Brown, M., Villarreal, J. and Vale, W.: Neurotensin and substance-P: effects on plasma insulin and glucagon levels. *Metabolism* **25** (suppl. 1), 1459-1461, 1976.
16. Lundquist, I., Sundler, F., Ahren, B., Alumets, J. and Håkanson, R.: Somatostatin, pancreatic polypeptide, substance P, and neurotensin: cellular distribution and effects on stimulated insulin secretion in the mouse. *Endocrinology* **104**, 832-838, 1979.
17. Kaneto, A., Kaneko, T., Kajinuma, H. and Kosaka, K.: Effects of substance P and neurotensin infused intrapancreatically on glucagon and insulin secretion. *Endocrinology* **102**, 393-401, 1978.
18. Patton, G., Brown, M., Dobbs, R., Vale, W. and Unger, R.H.: Effects of neurotensin and substance P on insulin and glucagon release by the perfused dog pancreas. *Metabolism* **25** (suppl. 1), 1465, 1976.
19. Moltz, J.H., Dobbs, R.E., McCann, S.M. and Fawcett, C.P.: Effects of hypothalamic factors on insulin and glucagon release from the islets of Langerhans. *Endocrinology* **101**, 196-202, 1977.
20. 田中亮一, 島 健二, 熊原雄一, 松山辰男, 垂井清一郎, 沢崎憲夫: ラット灌流膵における Xenopsin,

- Neurotensin, Substance P のグルカゴン分泌能. 日内分泌会誌, **54**, 23-28, 1978.
21. 大野恒夫, 神谷文雄, 杉浦 清, 木村 浩, 武内俊彦: 膵内分泌におよぼす Neurotensin, Substance P の影響. 糖尿病, **22**, 301, 1979.
 22. Hallberg, D. and Pernow, B.: Effect of substance P on various vascular beds in the dog. *Acta Physiol. Scand.* **93**, 277-285, 1975.
 23. 蛸谷 功, 鴨井久司, 相沢義房, 佐々木英夫, 佐藤幸示: Substance P の血行動態および消化管ホルモンにおよぼす影響. 日内分泌会誌, **52** (suppl.), 537, 1976.
 24. Sasaki, H.: Effects of substance-P. *Metabolism* **25** (suppl. 1), 1464, 1976.
 25. Tasaka, K. and Akagi, M.: Effects of diphenhydramine, naphazoline and m-amino- α (1-aminoethyl) benzyl alcohol dihydrochloride on the nasal mucosa determined by impedance method: a simple method for evaluation of nasal decongestant. *Pharmacology* **14**, 125-139, 1976.
 26. Kuhl, C.: Dipping procedure for blood glucose determination with Dextrostix and the Eytone reflectance meter. *Acta Med. Scand.* **197**, 467-469, 1975.
 27. Faloona, G.R. and Unger, R.H.: Glucagon. In *Methods of Hormone Radioimmunoassay*, ed. B.M. Jaffe and H.R. Behrman, Academic Press, New York, pp.317-330, 1974.
 28. Morgan, C.R. and Lazarow, A.: Immunoassay of insulin using a two-antibody system. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **110**, 29-32, 1962.
 29. Rivier, C., Brown, M. and Vale, W.: Effect of neurotensin, substance P and morphine sulfate on the secretion of prolactin and growth hormone in the rat. *Endocrinology* **100**, 751-754, 1977.
 30. Landgraf, R., Landgraf-Leurs, M.M.C., Weissmann, A., Hörl, R., von Werder, K. and Scriba, P.C.: Prolactin: a diabetogenic hormone. *Diabetologia* **13**, 99-104, 1977.
 31. Gerich, J.E., Karam, J.E. and Forsham, P.H.: Stimulation of glucagon secretion by epinephrine in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **37**, 479-481, 1973.
 32. Lockhart-Ewart, R.B., Mok, C. and Martin, J.M.: Neuroendocrine control of insulin secretion. *Diabetes* **25**, 96-100, 1976.
 33. Johnson, A.R. and Erdős, E.G.: Release of histamine from mast cells by vasoactive peptide. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **142**, 1252-1256, 1973.
 34. Lembeck, F. and Holzer, P.: Substance P as neurogenic mediator of antidromic vasodilation and neurogenic plasma extravasation. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **310**, 175-183, 1979.
 35. Hökfelt, T., Johansson, O., Kellerth, J.-O., Ljungdahl, Å., Nilsson, G., Nygård, A. and Pernow, B.: Immunohistochemical distribution of substance P. In *Substance P*, ed. U.S. von Euler and B. Pernow, Raven Press, New York, pp.117-145, 1977.
 36. Sundler, F., Håkanson, R., Larsson, L.-I., Brodin, E. and Nilsson, G.: Substance P in the gut: an immunochemical and immunohistochemical study of its distribution and development. In *Substance P*, ed. U.S. von Euler and B. Pernow, Raven Press, New York, pp.59-65, 1977.
 37. Yanaihara, N., Sakagami, M., Sato, H., Yamamoto, K., Hashimoto, T., Yanaihara, C., Ito, Z., Yamaguchi, K. and Abe, K.: Immunological aspects of secretin, substance P, and VIP. *Gastroenterology* **72**, 803-810, 1977.
 38. Larsson, L.-I., Sundler, F. and Håkanson, R.: Pancreatic hormones in the gut and gut hormones in the pancreas. In *Endocrine Gut and Pancreas*, ed. T. Fujita, Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, pp.133-143, 1976.
 39. Gerber, J.C.III. and Hare, T.A.: Gamma-aminobutyric acid in peripheral tissue, with emphasis on the endocrine pancreas. Presence in two species and reduction by streptozotocin. *Diabetes* **28**, 1073-1076, 1979.

Effects of neuropeptides on pancreatic glucagon secretion.

Part I. Changes of pancreatic glucagon concentrations in the dog pancreatic vein after administration of substance P.

Shuji MACHIDA

Third Department of Internal Medicine, Okayama University

Medical School, Okayama 700, Japan

(Director: Prof. T. Ofuji)

It has been reported that substance P influences plasma glucagon concentrations; some investigators reported elevation of glucagon but the results are conflicting. This might be due to the differences in the species of experimental animal, dose of administered substance P, study system (in vivo or in vitro), and other experimental conditions. In this study, various doses of substance P were infused into the superior pancreaticoduodenal artery of anesthetized mongrel dogs for 30 min. Plasma glucagon and insulin concentrations in the superior pancreaticoduodenal (pancreatic) vein were measured by radioimmunoassay. For measuring plasma glucagon, 30K antibodies were used.

Substance P (100 ng/kg body weight/min) infusion brought about mild hypoglycemia. A rapid and significant increase of plasma glucagon level was observed shortly after substance P administration, then plasma glucagon concentrations decreased transiently during the next 10 to 20 min. Gradual increase to a high plateau level followed after discontinuation of the drug. A small transient decrease of plasma insulin level was seen at the beginning of the experiment. Blood pressure decreased during substance P infusion. Impedance in pancreatic tissue was markedly lowered. The lowered impedance reflects increased blood flow in the tissue. Administration of 25 or 50 ng/kg/min of substance P induced mild lowering of blood glucose and plasma insulin, but increase of plasma glucagon. The infusion of substance P at a dose of 5 ng/kg/min for 30 min did not cause any changes in blood glucose, plasma glucagon or insulin levels. But, after discontinuation of the drug, the plasma glucagon level gradually rose to a significantly high level. Blood pressure was not affected, but impedance in pancreatic tissue showed a gradual, marked decrease. During substance P infusion at a dose of 0.5 ng/kg/min, blood parameters did not vary. After ceasing the infusion, the plasma glucagon level gradually increased.

In conclusion, substance P was thought to stimulate dose-related glucagon secretion not only by a neurogenic circulatory action, but also by a direct action on pancreatic alpha cells. The increase in glucagon concentration in the later part of the experiments might be caused by vaso-circulatory changes and other hormonal pharmacological actions of substance P.