

糖尿病に於ける末梢血単球に関する研究

第 1 編

単球走性について

岡山大学医学部第 2 内科教室 (主任: 木村郁郎教授)

宮 原 潔

(昭和57年11月24日受稿)

Key words: 糖尿病, 単球, 走性

緒 言

従来より糖尿病患者は感染症に罹病し易いと言われており¹⁻³⁾, その合併により感染症は重症化, 治癒遷延化を来し易く, 一方糖尿病状態は悪化, インスリン需要量の増加を来すことは周知の事実である。この様な臨床上重要な問題を含む糖尿病の易感染性については, 免疫異常の立場から種々の研究がなされている。主に免疫グロブリン^{4,5)}, リンパ球⁶⁻¹⁰⁾, 多核白血球¹¹⁻¹⁶⁾の異常に関する研究が多いが, 免疫担当細胞のひとつである単球についての研究は極めて少ない¹⁷⁾。

近年免疫学研究の進歩に伴い, 従来その役割に関してほとんど明らかにされていなかった末梢血単球がTリンパ球やBリンパ球との関連に於いて抗体産生, 細胞性免疫に重要な役割を持つことが認識されている¹⁸⁾。ところでこれまで糖尿病では慢性感染症, 悪性腫瘍の合併が多い事実が報告されているが, 最近いずれの場合に於いても細胞性免疫機構の異常或いは劣性が重要視されるようになってきている。しかし一連の免疫反応機構は充分に解明されておらず, 未だ詳細な検討を行う段階には至っていない。事実糖尿病の単球については最近では免疫学的立場からの研究はなく, 一部に単球自身の特異性と易収集性から膜インスリン受容体の研究¹⁹⁾に用いられている研究があるに過ぎない。こうしたなかで細胞性免疫への導入部分である単球の走性を糖尿病状態において検討した。

対象と方法

第1節 対象

健常成人27例(男15例, 女12例)に対し糖尿病患者48例(男24例, 女24例)を対象に用いた。平均年齢はそれぞれ 41.0 ± 15.0 才と 54.2 ± 17.0 才であった(表1-a)。糖尿病群の治療内容は食事療法のみは25例, 経口血糖降下剤使用は5例, インスリン使用は18例であった(表1-b)。糖尿病のコントロール状況は空腹時血糖を指標として走性検査前後の値も参考にし, 良好(FBS ≤ 140 mg/dl)26例, 不良(FBS > 140 mg/dl)22例である。健常群および糖尿病群の平均空腹時血糖は表1-a, bに示した。なお慢性炎症性疾患, 悪性腫瘍, 自己免疫疾患など細胞性免疫の賦活ないし抑制状態にあると思われる疾患を合併するものと著明な肥満を有する糖尿病はすべて除外した。

第2節 方法

第1項 単球分離

末梢血単球の分離は Boyüm の方法に準じた。早朝空腹時新鮮末梢静脈血はヘパリン加採血(10 unit/ml)し0.9%食塩水で3倍希釈してFicoll (Pharmacia, Upsala, Sweden) と sodium metrizoate (Nyegard & Co. A/S, Oslo, Norway) の混液 (sg=1.078) に重層し400g 40分間室温で遠心後, 単核球細胞層をシリコン被覆化したパスツールパイペットにて採取した。さらに Medium 199 (千葉県血清研究所) で3

Table 1a. Sex, and fasting blood sugar of normal and diabetic subjects.

subjects	N	(M)	(F)	Age	FBS(mg/dl)
Normal	27	15,	12	41+15	91±11
Diabetics	48	24,	24	54+17	166+84

Table 1b. Diabetic control status, treatment and fasting blood sugar.

Therapy	N (FBS)	Well controlled	Poorly controlled
Diet	25 (146)	16 (110)	9 (210)
Oral agents	5 (185)	3 (111)	2 (296)
Insulin	18 (188)	7 (109)	11 (239)
total,	48 (166)	26 (110)	22 (232)

回遠心洗浄した後、一定数の単球浮遊液に調製して実験に用いた。単核球の細胞分類同定はGiemsa 単染色による塗抹標本を作製し、1,000倍光顕下で行った。この方法によって得られた単核球浮遊液は、単球11.3±5.4% (mean±SD)、リンパ球86.7±6.1%、好酸球0%、好塩基球0.1±0.3%、好中球2.0±2.9%を含んでいる。

第2項 chemoattractant の調製

健康成人O型新鮮血清を分離後、Zymosan (Sigma, St. Louis, Mo) を0.5mg/ml血清濃度に加え、37°C45分間振盪保温し更に30分間56°Cに加熱した。これにより活性化した補体系をchemoattractant²¹⁾として使用した。実験にはMedium 199で希釈して用いた。

第3項 chemotaxis assay system

Boyden chamber²²⁾を用いた Snyderman の方法²³⁾を採用した。膜は5μmの孔径を持つ直径13mmのpolycarbonate membrane (Nuclepore corp, Pleasanton, CA)を使用した。膜で境された下室には20%濃度のchemoattractantを満たし、上室には5×10⁵単球/mlに調製された単核球浮遊液を0.5ml入れ95%酸素、5%二酸化炭素の培養環境で37°C、90分間保温した。その後膜はメタノール固定、更にGiemsa単染色してスライドグラス上にBioliteで包理した。膜下面で完全に遊走した単球を400倍の光顕下で10視野数え、1視野平均の単球数

で走性を表現した。本実験はすべてduplicateでおこなった。

第4項 空腹時血糖

早朝空腹時静脈血糖は同時採血し酵素法によるglucose auto-analyzerで測定した。

成 績

第1節 Boyden chamber法による assay system の検討

健康成人を用いて大量の単核球浮遊液を前述の分離により作製しこの検討に用いた。

chemoattractant濃度と走性細胞数の変化：Zymosan 活性化した血清をMedium 199にて、

80, 40, 20, 10, 5, 2.5, 0%に希釈して下室に満たし、上室には2.5×10⁵単球を入れ、37°C90分間保温して走性細胞数を算定した(図1-a)。chemoattractantの無い状態すなわちrandom migrationに相当する条件下では膜下面に移動した単球は認められなかった。chemoattractantが5%濃度までは有意の走化単球は認められず、10%から80%濃度まではゆるやかな曲線的に走性細胞数は増加する。

Table 2. Monocyte chemotaxis and diabetic treatments

Therapy	N	Chemotaxis index	
Diet	25	61.5±34.5	n.s.
Oral agents	5	41.5±20.8	n.s.
Insulin	18	41.7±39.5	n.s.

上室に於ける単球数と走性細胞数の変化：上室に入れる単球数を1.25, 2.5, 5.0×10⁵および1.0×10⁶に調製して20%濃度chemoattractantを使用、37°C90分間培養の条件下で走性単球数を算定した。その結果(図1-b)上室の細胞数に応じてゆるやかな曲線を描き走性細胞数も増加する。5×10⁵以上の単球数を用いると膜下面に遊走した細胞の分布は過密となり細胞同志の重り合いなどの不均一性が生じる。

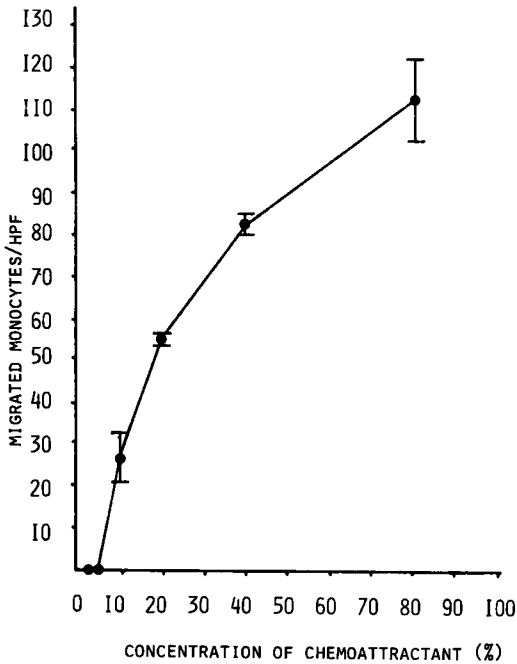


図1-a Chemoattractant concentration in lower chamber and migrated cell number

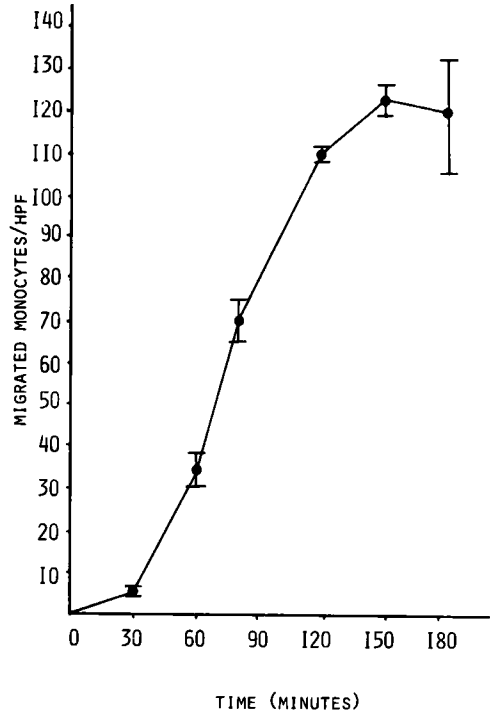


図1-c Incubation time and migrated cell number

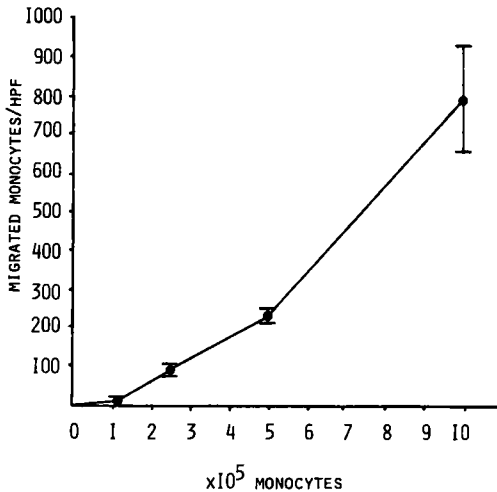


図1-b Monocytes in upper chamber and migrated cell number

培養時間による走性細胞数の変化： 2.5×10^5 単球数を用いて 37°C 、20% chemoattractant 濃度で30, 60, 90, 120, 150, 180分と培養し走性単球数を算定した。その結果(図1-c) 30分

から120分まではほぼ直線的に増加、以後はややプラトーに達する。

以上より本実験に必要な諸条件は、採血量の少量化に加えて顕微鏡下細胞算定の便宜上の理由の為、上室に使用する単球数は 0.25×10^6 、下室に用いる chemoattractant 濃度は20%、培養時間は90分間と定めた。

第2節 糖尿病患者の単球走性

第1項 年齢と単球走性

健常人では加齢に伴う単球走性には一定の増減傾向は認めなかった(図2-a)。一方糖尿病患者では50歳以上と高齢になるに従って走性の著しい低下を認める例があった(図2-b)。

第2項 糖尿病状態と単球走性

前述のごとく糖尿病のコントロール状況を血糖指標に良好と不良に分け、その走性を検討すると健常成人 71.3 ± 29.9 単球/HPF(強視野)に対し、良好状態にある糖尿病では 61.4 ± 36.2 単球/HPFと平均値は低下傾向に有るが有意差は無い。一方不良状態にある糖尿病では $40.1 \pm$

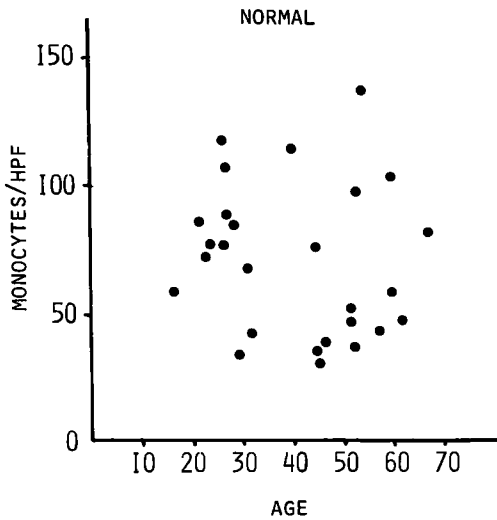


図2-a Age and monocyte chemotaxis in normal

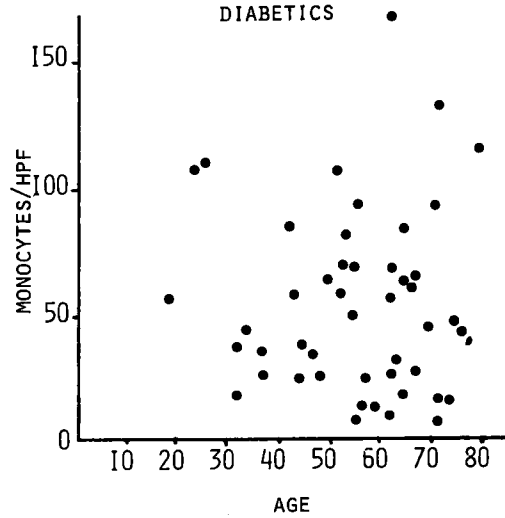


図2-b Age and monocyte chemotaxis in diabetics

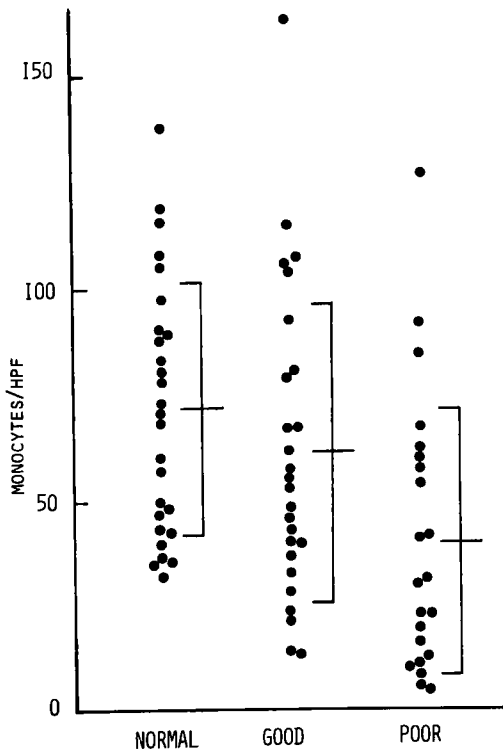


図3 Monocyte chemotaxis in normal controls, good controlled and poorly controlled diabetics

32.4単球/HPFで健常人に比べ有意($p < 0.005$)の低下を認めた。これは良好糖尿病とも有意($p < 0.05$)の差を有している。個々の例で検討すると不良糖尿病群の50%が健常人の最低値よりも更に低い走性を示した。

この中には若年者も含まれるが特に45才以上の高令者の存在が目立つ(図3)。

第3項 糖尿病治療方法と単球走性

食事療法群は 61.5 ± 34.5 単球/HPF, 経口血糖降下剤群 41.5 ± 20.8 単球/HPF, インスリン群 41.7 ± 39.5 単球/HPFであった。各群間統計的有意差は無い(表2)。

第4項 治療経過と単球走性

検討期間の長短は有るか空腹時血糖を中心に1日尿糖量その他の全身症状も参考にしてコントロール不良状態から良好状態に移行したものの9例につき単球走性を経過と共に検討した。治療内容は食事療法を基礎に全例インスリンを使用し、良好状態になった時点で内2例が食事療法のみに変更している。その結果検討対象となった9例の糖尿病の内6例が糖尿病状態の改善により単球走性の増強を認めた(図4)。なお健康人の検討では時期を変えて測定した単球走性はほぼ近似の値を示した。

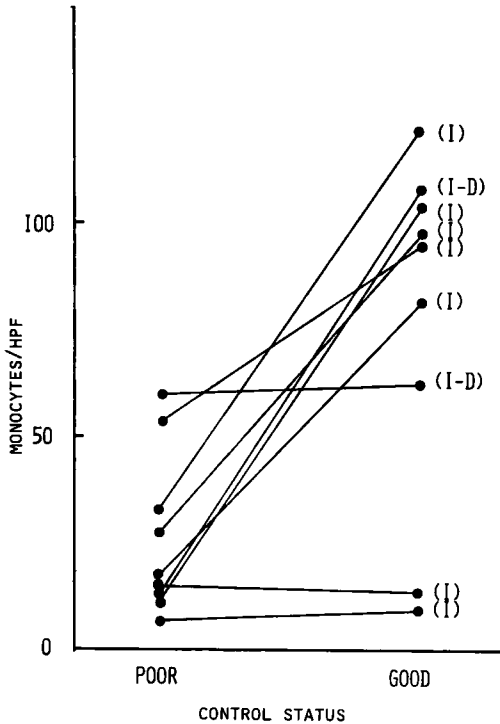


図4 Monocyte chemotaxis in diabetics before and after insulin therapy. Poorly controlled patients were selected for this assay. (I); insulin therapy (I-D); insulin therapy was changed to diet alone therapy in good controlled status

考 按

リンパ球系の先天性障害による免疫不全症候群はその繰り返す感染症を特徴とする。又補体系のC₃欠損症、細胞性免疫の障害とされるWiskot Aldorich syndrome, chronic granulomatous diseaseなどは近年その免疫防禦機構の障害部位が明らかになって来た。これらの主に小児に見られる先天性免疫異常症に対して成人では従来より白血病、副腎機能不全、骨髓腫などに加えて糖尿病で感染症を合併し易いとされている。特に糖尿病ではその死因としての感染症が28%と高率であったがインスリンの発見、治療への導入により8.5%と著明に低下して²⁴⁾来た。しかし依然として感染症を合併することは糖尿病の代謝状態を更に悪化させ、コントロールを困難ならしめる臨床上重要な問題である。こ

した糖尿病と感染の密接な関連性を従来のアプローチとは異なり免疫担当細胞の1つである末梢血単球の機能を指標に検討を試みた。

貪食能を有する細胞が細菌、炎症巣、抗原性物質などへ近づくことは異物処理、免疫反応活性化に重要である²⁵⁾。この様な時の遊走細胞が示す動きには厳密には random migration not chemically stimulated, chemokinesis, chemotaxis とに区別される²⁶⁾。著者は単球の動きを検討する手段として厳密には chemokinesis も含まれた結果が出る Snyderman²³⁾ の方法を採用した。この方法を用いて chemotaxis のみを表現するには更に複雑な操作を要する²⁷⁾。一般には生体組織内では chemoattractant の濃度勾配は周囲の組織構築に影響されて単一でなく、常に濃度勾配条件は変化すると考えられる。又走性を有する細胞の活性化には chemokinesis も不可欠の動きであり chemotaxis と chemokinesis を区別することは意味がないと言われる。chemoattractant 濃度による実験成績(図1-a)では random migration は探知出来なかった。従って単球走性を知る今回の目的には Boyden chamber を用いる方法で充分であると考えた。

これ迄単球走性は担癌体²⁸⁻³⁰⁾、黒色腫³¹⁾、アトピー疾患⁵²⁾で低下することが知られており、細胞性免疫又は腫瘍免疫の低下を意味すると言われている。ところが糖尿病に於ける単球走性に関する報告は全く見られない。糖尿病では多核白血球の走性は既に検討され、Mowat¹³⁾、Niethaner¹⁴⁾、Molenaar¹⁵⁾らは若年型糖尿病、コントロール不良糖尿病で健常対照に比し低下を認めたと興味深い報告がある。今回の結果は糖尿病の代謝異常が著明になる程、単球走性の低下を認め、更にインスリンによる代謝異常の是正は単球走化能を増強させることを示している。これらの理由を考えてみるに、まず第1に細胞のエネルギー代謝異常がその細胞機能を低下させる事が考えられる。特に単球は貪食など活性化された状態での酸素消費は著しい³³⁾ものがあり十分な機能を営む為には円滑なエネルギー代謝が必要であり、糖尿病状態では糖利用障害が強く機能に影響すると考えられる。しかしこの様な代謝障害がすべての細胞機能を低

下させることは断言出来ず、逆に亢進している機能¹⁷⁾もある。

第2に単球の膜受容体の質的、量的変化に関する問題がある。単球には膜受容体として C₃, Fc, インスリン受容体などが知られているが、中でも最近の研究から明らかになった如く細胞表面のインスリン受容体は糖尿病状態や肥満では親和性又は数の減少が起っている³⁴⁾。自己受容体に対する抗体が結合して受容体機能が障害を受ける糖尿病も存在する³⁵⁾。又ある種の合成ペプチドを chemoattractant として用いた単球受容体の実験ではインスリン受容体同様の質的、量的変化が様々な状態でおこり得ることが知られる³⁶⁾。このような事実は糖尿病状態での単球の chemoattractant に対する認識機構、換言すれば感受性の異常が存在する可能性を仮想させるかも知れない。

第3に老化の問題が挙げられる。図2-bに示したごとく高令糖尿病患者では走性低下の著しいものが存在する。一般に骨髓造血機能は老化に伴い低下し易く、その様な状況下で産生される単球は著しい代謝異常の存在下では著明な機能不全を呈し易いのかも知れない。

第4に cyclic nucleotide の問題が有る。最近単球走性に影響する薬剤が検討され、それによると単球細胞内 cyclic GMP を増加させ、拮抗的に cyclic AMP を減少させる物質例えばセロトニンが走性を増強させる³⁷⁾。逆に cyclic GMP を減少、cyclic AMP を増加させる物質は走性を低下させる。ところでインスリンは肝³⁸⁾、脂肪組織³⁹⁾で cyclic AMP を減少させることが知られており、この作用が単球でも同様におこると考えればインスリン欠乏の糖尿病状態では cyclic AMP が増加する故に走性は低下するかも知れない。又インスリンで良好にコントロールされれば走性の正常化が想定できる。この様に考えると今回の成績は理にかなっているかも知れない。しかし単球走性には cyclic AMP は無関係で cyclic GMP の増加が重要であるとの報告⁴⁰⁾もあり糖尿病に於ける単球内 cyclic nucleotide は今後の研究課題である。

第5に単球の subpopulation が問題になる。近年末梢血単球はその形態の大きさから 2-3

種の集団に分類可能になった。その結果、大きさのみならず機能にも差が認められ、なかでも大型の単球は走性も著しいことが分った⁴¹⁾。更に chemoattractant に反応を示す単球は多い場合でもその population の約60%であるとする報告⁴²⁾もある。このような事実を考慮すると今回の成績も更に詳細な検討を要する。すなわち単球走性の低い例では単球の subpopulation が大いに異っている可能性も否定出来ず、糖尿病コントロール不良が直接的に単球機能に結びつかない可能性もある。

単球の研究はその分離法の困難なことが障害となりその発展を阻んでいる。又最近では糖尿病の成因として自己細胞性免疫の関与がクローズアップされており、研究はもっぱらリンパ球を中心に展開しているが、相互に作用を有する単球も当然重要な役割を持つと考えられる。糖尿病の単球についても更に一層詳細な研究が期待される。

結 論

末梢血単球機能の一つである走性を Boyden chamber を用いて糖尿病状態で検討した。その結果、

- 1) 健常対照群に比べて糖尿病状態では単球走性の低下する例が見られた。
- 2) 糖尿病のコントロール不良群では走性の低下が著しい。
- 3) 食事療法、経口血糖降下剤、インスリンなどの治療手段による単球走性の相異は認められなかった。
- 4) 糖尿病状態不良例をインスリン療法で良好にコントロールした場合、9例の内6例に走性の改善をみた。

以上より糖尿病の代謝異常状態は単球の部分的機能異常を来たし単球の関与する細胞性免疫を低下せしめ、感染を助長する原因になる可能性があり、又この異常は糖尿病代謝異常を是正することで改善されることが示唆された。

謝 辞

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜った恩師木村郁郎教授ならびに木畑正義講師に深謝致します。

尚本論文の要旨は第21回日本糖尿病学会総会（1978 年神戸）において発表した。

文 献

1. Marble, A., White, H.J. and Fernald, A.T.: The nature of lowered resistance to infection in diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 17, 423—430, 1938.
2. Robbins, S.L. and Tucker, A.W.Jr.: The cause of death in diabetics; A report of 307 autopsied cases. *N. Eng. J. Med.* 231, 865—868, 1944.
3. Sharky, T.P. and Root, H.F.: Infection of urinary tract in diabetes. *J. Am. Med. Assoc. (J.A.M.A.)* 104.2231—2234, 1935.
4. Van Thiel, D.H., Smith, W.I., Rabin, B.S., Fisher, S.E. and Lester, R.A.: Syndrome of immunoglobulin A deficiency, diabetes mellitus, malabsorption and common HLA halotype. *Ann. Inter. Med.* 86. 10—19, 1977.
5. Ludwig, H., Eibl, M., Scherthaner, G., Erd, W. and Mayer, W.N.: Humoral immunodeficiency to bacterial antigens in patients with juvenile onset diabetes mellitus. *Diabetologia* 12, 259—262, 1976.
6. Ragab, A.S., Hazlett, B. and Cowan, D.H.: Responce of peripheral blood lymphocytes from patients with diabetes mellitus to phytohemagglutinin and candida albicans antigen. *Diabetes* 21, 906—907, 1972.
7. Casey, J.I., Heeter, B.J. and Klishevich, K.A.: Impaired response of lymphocytes of diabetic subjects to antigen of Staphylococcus Aureus. *J. Infect. Dis.* 136, 495—501, 1977.
8. MacCuish, A.C., Urbariak, S.J., Campbell, C.J., Duncan, L.J.P. and Irvine, W.J.: Phytohemagglutinin transformation and circulating lymphocyte subpopulations in Insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes* 23, 708—712, 1974.
9. Cattaneo, R., Saibene, V. and Pozza, G.: Peripheral T-lymphocytes in juvenile-onset-diabetes *Diabetes* 25, 223—226, 1976.
10. Hann, S, Kaye, R. and Falkner, B.: Subpopulations of peripheral lymphocytes in juvenile diabetes. *Diabetes* 25, 101—103, 1976.
11. Bybee, J.D. and Rogers, D.E.: The phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes obtained from patients with diabetes mellitus. *J. Lab. Clin. Med.* 64, 1—13, 1964.
12. Bagdade, J.D., Root, R.K. and Bulger, R.J.: Impaired leukocyte function in patients with poorly controlled diabetes. *Diabetes* 23, 9—15, 1974.
13. Mowat, A.G. and Baum, J., Chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes from patients with diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 284, 621—627, 1971.
14. Niethammer, D., Heinze, E., Teller, W., Kleihaver, E.: Impairment of granulocyte function in juvenile diabetes. *Klin. Wochenschr.* 53, 1057—1060, 1975.
15. Molenaar, D.M., Palunibo, P.J., Wilson, W.R. and Ritts, R.E.: Leukocyte chemotaxis in diabetic patients and their non-diabetic first degree relatives. *Diabetes* 25, 880—883, 1976.
16. Fikrig, S.M., Redy, C.M. and Orti, E.: Suntharalingum, L.H.K. Diabetes and neutrophil chemotaxis. *Diabetes* 26, 466—468, 1977.
17. Kitahara, M., Eyre, H.J., Lynch, R.E., Rallison, M.L. and Hill, H.R.: Metabolic activity of diabetic monocytes. *Diabetes* 29, 251—256, 1980.
18. Golub, E.S.: *The Cellular Basis of the Immune Response.* Sibauer Associates, Inc. Sunderland, Mass. 146—158, 1977.

19. Nielsen, H.B., Pederson, O., Kragballe, K. and Sorensen, N.S.: The monocytes as a model for the study of Insulin receptors in man. *Diabetologia* **13**, 563—569, 1977.
20. Boyum, A.: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **21**, 79—89, 1968.
21. Terrifo, M.C. and Cleine, M.J.: Monocyte function in man. *J. Immunol.* **118**, 187—192, 1977.
22. Boyden, S.: The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leukocytes. *J. Exp. Med.* **155**, 453—466, 1962.
23. Snyderman, R., Altman, L.C., Hausman, M.S. and Mergentogen, S.E.: Human mononuclear leukocyte chemotaxis; quantitative assay for humoral and cellular chemotactic factors. *J. Immunol.* **108**, 857—860, 1972.
24. Younger, D. and Hadley, W.B.: Infection and diabetes. In *Joslin's Diabetes Mellitus*. Lea & Febiger Philadelphia. 11 th edition. 621—636,
25. Wintrobe, M.M.: Granulocytes and monocytes. In *Clinical Hematology*. 7th edition. Lea & Febiger Philadelphia pp. 267—277,
26. Wilkinson, P.C.: *Immunology of the Macrophage*. Academic press, N.Y. 349—365,
27. Zigmond, S.H. and Hirsch, J.G.: Leukocyte locomotion and chemotaxis; new methods for evaluation and demonstration of a cell derived chemotactic factor. *J. Exp. Med.* **137**, 387—410, 1973.
28. Boetcher, D.A. and Leonard, E.J.: Abnormal monocyte chemotactic response in cancer patients. *J. Natl. Cancer Inst.* **52**, 1091—1099, 1974.
29. Hausman, M.S. and Brosman, S.A.: Abnormal monocyte function in bladder cancer patients. *J. Urol.* **115**, 537—541, 1976.
30. Norris, D.A., Weston, W.L., Tubergen, D.G., Rose, B. and Odom, L.F.: Monocyte chemotaxis in leukemia patients. *J. Lab. Clin. Med.* **95**, 609—615, 1980.
31. Snyderman, R., Seigler, H.F. and Meadows, L.: Abnormalities of monocyte chemotaxis in patients with melanoma; Effects of immunotherapy and tumor removal. *J. Natl. Cancer Inst.* **58**, 37—41, 1977.
32. Furukawa, C.T. and Altman, L.C.: Defective monocyte and polymorphonuclear leukocyte chemotaxis in atopic disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* **61**, 288—293, 1980.
33. Reiss, M. and Roos, D.: Differences in oxygen metabolism of phagocytosing monocytes and neutrophils. *J. Clin. Invest.* **61**, 486—488, 1978.
34. Olefsky, J.M.: Decreased Insulin binding to adipocytes and circulating monocyte from obese subjects. *J. Clin. Invest.* **57**, 1165—1172, 1976.
35. Kahn, C.R., Flier, J.S., Bar, R.S., Archer, J.A., Gorden, P., Martin, M.M. and Roth, J.: The syndromes of Insulin resistance and acanthosis nigricans. *N. Engl. J. Med.* **294**, 739—745, 1976.
36. Weinberg, J.B., Muscato, J.J. and Nidel, J.E.: Monocyte chemotactic peptide receptor. *J. Clin. Invest.* **68**, 621—630, 1981.
37. Gallin, J.I., Sandler, J.H., Clyman, R.I., Manganello, V.C. and Vaughan, M.: Agents that increase cyclic AMP inhibit accumulation of cyclic GMP and depress human monocyte locomotion. *J. Immunol.* **120**, 492—496, 1978.
38. Jefferson, L.S., Exton, J.H., Butcher, R.W., Sutherland, E.W. and Park, C.R. Role of adenosine 3', 5'-monophosphate in the effects of Insulin and anti-Insulin serum on liver metabolism. *J. Biol. Chem.* **243**, 1031—1038, 1968.
39. Butcher, R.W., Sneyd, J.G.T., Park, C.R. and Sutherland, E.W.: Effect of Insulin on adenosine 3',

- 5'-monophosphate in the rat epididymal fat pad. *J. Biol. Chem.* **241**, 1651—1653, 1966.
40. Sandler, J.A., Clyman, R.I., Mangarriello, V.C. and Vaughan, M.: The effect of serotonin and derivatives on guanosine 3',5'-monophosphate in human monocytes. *J. Clin. Invest.* **55**, 431—435, 1975.
 41. Arenson, E.B.Jr, Epstein, M.B. and Seeger, R.C.: Volumetric and functional heterogeneity of human monocytes. *J. Clin. Invest.* **65**, 613—618, 1980.
 42. Cianciolo, G.J. and Snyderman, R.: Monocyte responsiveness to chemotactic stimuli is a property of subpopulation of cells that can respond to multiple chemoattractants. *J. Clin. Invest.* **67**, 60—68, 1981.

Studies on peripheral monocytes in diabetes mellitus.**Part I. Monocyte chemotaxis in diabetes mellitus.****Kiyoshi MIYAHARA****The second department of internal medicine****Okayama University Medical School, Okayama 700 Japan****(Director: Prof. I. Kimura)**

Chemotaxis of diabetic monocytes was studied. The use of 0.25×10^6 monocytes, 20% Zymosan activated serum and incubation at 37°C for 90 minutes were found to be the optimal assay conditions for the Boyden chamber method using a nuclepore filter. Under these conditions, monocyte chemotaxis was tested in 48 diabetics and 27 normal controls. The results were as follows:

1) Diabetics had low monocyte chemotaxis, especially in aged patients. The normal controls showed no difference with aging.

2) Poorly controlled diabetics showed significantly lower chemotaxis than both normal controls ($P < 0.005$) and good controlled diabetics ($P < 0.05$). The mean values were 40.1 ± 32.4 , 71.3 ± 29.9 and 61.4 ± 36.2 monocytes/HPF, respectively.

3) There was no difference in monocyte chemotaxis between diabetic groups treated with diet alone, oral agents or insulin.

4) Six of nine poorly controlled diabetics showed increased monocyte chemotaxis after being good controlled with insulin.

Key words: diabetes mellitus, monocyte, chemotaxis