

# イヌ膵静脈血中 C-ペプチドの動態

## 第一編

イヌ C-ペプチドの測定法の検討ならびに、  
ブドウ糖およびアルギニン負荷による C-ペ  
プチドの変動

岡山大学医学部第三内科（主任：大藤真教授）

仁 科 喜 章

（昭和55年1月28日受稿）

**Key word** イヌ C-ペプチドラジオイムノアッセイ  
イヌ膵静脈血中 C-ペプチド濃度 (CPR)  
イヌ膵静脈血中インスリン濃度 (IRI)

### 緒 言

Oyer<sup>1)</sup> がヒト膵より、C-ペプチドを抽出精製し、そのアミノ酸構造を決定して以来、C-ペプチドはその種族特異性<sup>2),3),4),5)</sup> が注目され、インスリンと等モルが膵β細胞より分泌される<sup>6)</sup> ことが報告された。そしてC-ペプチド自体はインスリン抗体と免疫学的交叉性を有しないことより、C-ペプチドの測定は、インスリン治療を受けている糖尿病患者での内因性膵β細胞分泌機能の指標として重要視されている。そして既に、Melani<sup>7)</sup> と Block<sup>8)</sup> らはヒト膵より抽出したC-ペプチドを用い、また、兼子ら<sup>9)</sup> が、矢内原ら<sup>10)</sup> により合成された合成ヒトC-ペプチドを用いた二抗体法によるC-ペプチドのRadioimmunoassayをそれぞれ発表している。

今回、著者は、合成イヌC-ペプチドとその抗血清を用い、操作が簡単で、より多くの検体が安価に処理できる一抗体法によるRadioimmunoassayを開発し、その基礎的検討を行い動物実験でイヌ末梢血中および膵静脈血中のC-ペプチド濃度(CPR)とインスリン濃度(IRI)を比較するとともに、イヌ膵動脈内に、ブドウ糖とアルギニン投与した時の膵静脈血中CPRとIRIの分泌動態を測定したので報告する。

### 実験材料と実験方法

#### [1] イヌC-ペプチドの Radioimmunoassay

##### ① 材料および方法

合成イヌC-ペプチド、チロシン結合イヌC-ペプチドおよびモルモット抗イヌC-ペプチド抗血清は、静岡薬科大学の矢内原昇教授より提供されたものを使用した。

##### 標識方法

チロシン結合イヌC-ペプチド 3 μg を Hunter-Greenwood の方法<sup>11)</sup> に準じたクロラミン T 法にて<sup>125</sup>I-Na (New England Nuclear Corp) 2 mCi で標識した後、Bio-Gel P30 カラム (1 × 50 cm) を用い、3 M 酢酸にて標識イヌC-ペプチドを分離精製した。

##### 測定方法

測定法の大要は〔表-1〕に示した。抗原抗体複合物の分離は、Herbert ら<sup>12)</sup> の方法に準じたデキストランチャーコールを用いる一抗体法で行った。測定用の緩衝液は、0.15 M の NaCl と 0.5% ウシアルブミン (Fraction V) を含む 0.05 M のリン酸緩衝液 PH 7.5 を使用し、標準C-ペプチドおよびサンプルは 0.1 ml の量を用いた。

##### ② 基礎的検討

##### 抗体濃度〔図-1〕

抗血清を最終濃度 2000 倍、4000 倍、8000 倍、16000 倍とした時の各々の標準曲線を〔図-1〕に

表1. イヌC-ペプチドの免疫学的測定法の概要

## METHOD OF DOG-CPR RADIOIMMUNOASSAY

Buffer (0.05M Phosphate Buffer, 0.15M NaCl, pH 7.5, 0.5% BSA)	0.5ml
Antiserum (Rabbit Anti-Dog C-Peptide, 1:4000)	0.1ml
Sample or Standard	0.1ml
<sup>125</sup> I-Dog C-Peptide	0.1ml
↓ 4 °C, 2 Days	
Dextran-Charcoal	0.5ml
(0.5% Charcoal, 0.25% Dextran)	
↓ 4 °C, 30 minutes	
Centrifuge (4 °C, 3000rpm, 15min.)	
Aspirate Supernatant	
↓	
Count Precipitate	

## DILUTION CURVE OF DOG C-PEPTIDE ANTISERUM

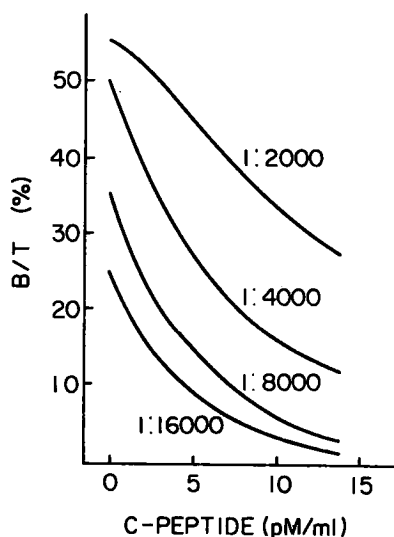


図1. 抗体濃度の検定: 抗イヌC-ペプチドモルモット血清を最終濃度2000倍, 4000倍, 8000倍, 16000倍とした時の標準曲線

示した。この図より、以後の測定系には、最終濃度4000倍の抗血清を使用した。

反応時間および温度(図-2)

反応時間と温度による影響は(図-2)に示した。この結果より、以後、4 °C, 48時間で測定した。

標準曲線, 稀釈曲線および交叉試験(図-3)標準曲線を(図-3)の実線で、また、6.8pM/

## INCUBATION TIME

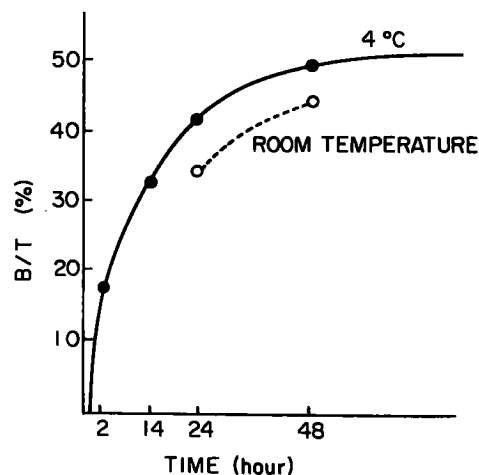


図2. 反応時間および温度: 室温(破線)および4 °C(実線)における反応時間の検討

mlのCPRを示すサンプルを、2倍、4倍、8倍、16倍に稀釈したときの稀釈曲線を破線で示した。ウシ、ブタインスリンおよびヒトC-ペプチドとイヌC-ペプチド抗血清との交叉反応は認められなかった。

精度および回収率(表-2)

2.6pM/mlと6.1pM/mlのCPRを示す2つのサンプルを各々8本づつ同一測定系で測定したときの変動係数は、それぞれ3.8%および4.9%と良好な結果を得た。また、0.6pM/mlと2.0pM/

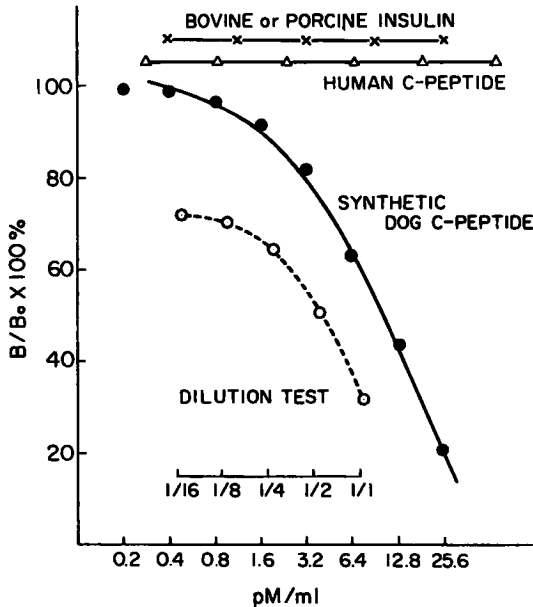


図3. 標準曲線, 稀釈曲線および交叉試験: 標準曲線(実線)と6.8pM/mlのCPRを示すサンプルの2倍, 4倍, 8倍, 16倍に稀釈したときの稀釈曲線(破線)とウシブタインスリン(x-x-x)およびヒトC-ペプチド(Δ-Δ)との交叉反応

表2. 回収率: 0.6pM/mlのCPRを示すサンプルに合成イヌC-ペプチド0.5pM/mlと1.4pM/mlを各々添加したときの回収率.

RECOVERY RATE		
SAMPLE (N = 6)	C-PEPTIDE (pM/ml)	RECOVERY(%) MEAN ± 12.
0.6pM/ml	+0.5	97.2 ± 16.1
2.0pM/ml	+0.5	103.5 ± 13.9
	+1.4	97.6 ± 12.9

mlのCPRを示すサンプルに, 0.5pM/mlと1.4pM/mlの標準C-ペプチドを添加したときの回収率は〔表-2〕に示したごとく97.2~103.5%であった。各測定系におけるバラツキ〔表-3〕,〔表-4〕同一サンプルの within-Assay〔表-3〕および Between-Assay〔表-4〕での実測値の変動係数は, それぞれ3.3~6.0および8.2~10.8%とほぼ満足すべき結果を得た。

二抗体法との比較〔図-4〕

本法と二抗体法との相関を調べると, 相関係

表3. Within Assay: 同一測定系でのバラツキ

WITHIN ASSAY (pM/ml)		
1	2.5	5.5
2	2.7	5.8
3	2.6	5.8
4	2.6	5.7
5	2.7	5.1
6	2.6	4.9
7	2.7	5.4
8	2.8	5.6
MEAN	2.7	5.5
± SD	±0.09	±0.33
C. V.	3.3 %	6.0 %

表4. Between Assay: 各測定系間におけるバラツキ

BETWEEN ASSAY (pM/ml)		
1	2.1	1.2
2	1.9	1.3
3	2.1	1.4
4	2.3	1.1
5	2.4	1.1
6	2.2	1.2
MEAN	2.2	1.2
± SD	±0.18	±0.13
C. V.	8.2 %	10.8%

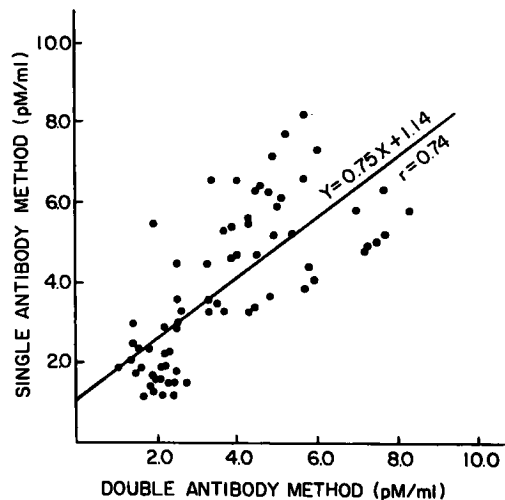


図4. 本法(一抗体法)と二抗体法との比較

数0.74とほぼ良好な相関々係を示した。

## 〔2〕動物実験

### 1) 実験動物および方法

体重8～16kgの成熟雑犬を使用し、24時間絶食後、ネプタール麻酔下に開腹し、上膵十二指腸動脈(膵動脈)および上膵十二指腸静脈(膵静脈)にT字型のシリコンチューブを挿入した。〔図-5〕また、大腿静脈にはカテーテルを挿入

## PROCEDURE OF OPERATION AND BLOOD SAMPLING

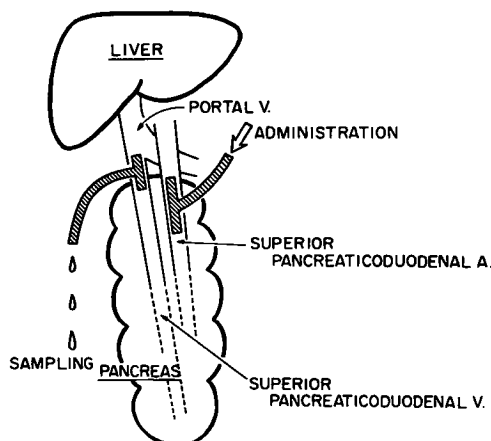


図5. 術式と採血方法

した。術後、血糖の安定化する2～3時間後に下記の実験を行った。なお、膵静脈より採血の際、門脈血の混入を防ぐ目的で、T字管の門脈側をコッヘルで閉塞して採血を行った。

成熟雑犬44匹の空腹時における大腿静脈血中と膵静脈血中のCPRおよびIRIを測定した。血糖はglucose Oxidase法<sup>23)</sup>、IRIは二抗体法<sup>22)</sup>で測定した。

### 2) 負荷実験

まず、コントロール実験として、生理的食塩水負荷を行い、ついで、既知の膵β細胞分泌刺激物質であるブドウ糖とアルギニンの負荷を行った。

#### ①生理的食塩水負荷

生理的食塩水(0.4ml/min)を、膵動脈内に5分間持続注入を行い、注入前10分、0分、注入開始直後より、20秒間隔で連続的に膵静脈より採血し、膵静脈血中CPR(膵CPR)、および膵静脈血中IRI(膵IRI)を測定した。

#### ②ブドウ糖負荷

ブドウ糖(10ml/kg/min)を、膵動脈内に5分間持続注入し、膵静脈より実験①と同様に採血し膵CPRと膵IRIの値を測定した。

#### ③アルギニン負荷

アルギニン(250mg/kg/min)を、膵動脈内に5分間持続注入を行い、実験①②と同様にして、膵CPRおよび膵IRIの値を測定した。

各データはM±SEMで表わしWilcoxonのSigned-rank testにより統計的処理を行なった。

## 結 果

### 〔1〕イヌC-ペプチドRadioimmunoassayの評価

本測定法は、標準イヌC-ペプチド(測定用サンプル)0.1mlに対し、抗体濃度4000倍を使用し、4℃、48時間のincubation後、0.25%デキストランを含む0.5%チャーコールで分離した結果、イヌC-ペプチド濃度が0.4～25.6pM/mlの範囲で測定可能な標準曲線が得られ、稀釈曲線もよく平行した。交叉試験で、ヒトC-ペプチド、ブタおよびウシインスリンと免疫学的交叉反応を示さなかった。また、精度は変動係数3.8～4.9%、そして回収率97.2～103.5%と良好で、再現性も、Within-AssayとBetween-Assayでの変動係数は、それぞれ3.3～10.8%とほぼ満足すべき結果を示した。二抗体法と本法との比較でも、相関係数0.74と良好な相関が得られた。以上より、本法は、イヌC-ペプチドの測定法として充分評価できるものであることがわかった。

### 〔2〕動物実験成績

1) 空腹時大腿静脈血中および膵静脈血中CPRとIRIの平均値〔表-5〕

表5. 空腹時イヌ末梢血中および膵静脈血中CPR濃度の平均値

FASTING DOG C-PEPTIDE AND INSULIN LEVELS (N=44)  
(MEAN ± SD (pM/ml))

	PERIPHERAL V.	PANCREATIC V.
CPR	0.67 ± 0.03	2.73 ± 0.46
IRI	0.11 ± 0.66	1.92 ± 0.51
CPR/IRI	6.09	1.42

成熟雑犬44匹における空腹時大腿静脈血中CPRとIRIの平均値は、それぞれ0.67 ± 0.03pM/

mlおよび $0.11 \pm 0.66 \text{ pM/ml}$ であり、膵CPRと膵IRIの平均値は、それぞれ $2.73 \pm 0.51 \text{ pM/ml}$ および $1.92 \pm 0.51 \text{ pM/ml}$ であった。

2)生理的食塩水負荷〔図-6〕

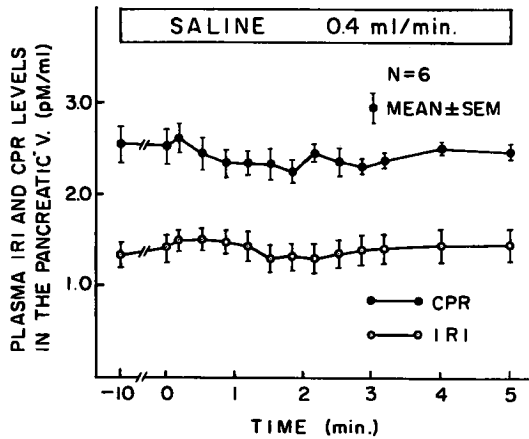


図6. 生食負荷：生理食塩水0.4ml/min膵動脈内5分間持続注入時の血中CPR(●—●)およびIRI(○—○)濃度の変動

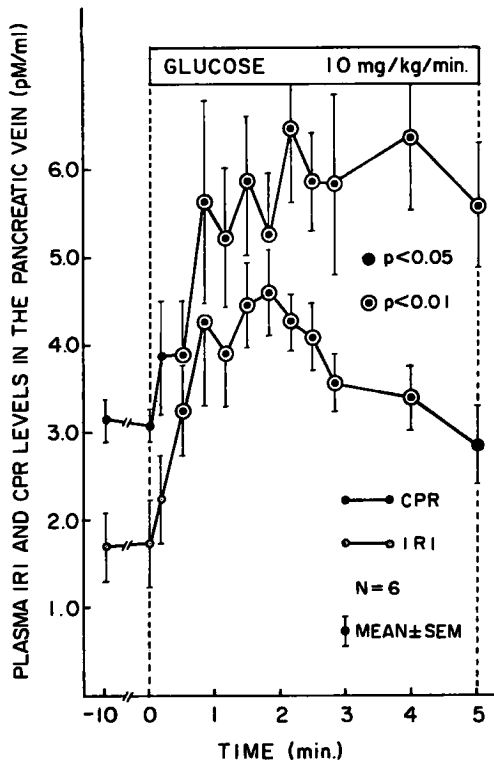


図7. ブドウ糖負荷：ブドウ糖10mg/kg/min膵動脈内5分間持続注入時の血中CPR(●—●)およびIRI(○—○)濃度の変動

生理的食塩水(0.4ml/min)の膵動脈内持続注入により、膵CPRと膵IRIは、ともに基礎値より有意な変動を示さず、ほぼ一定した値を示した。

3)ブドウ糖負荷〔図-7〕

ブドウ糖(10mg/kg/min)の膵動脈内持続注入開始直後より、膵CPRと膵IRIは急速かつ著明に、ほぼ平行して増加し、2~3分後に頂値に達した。ブドウ糖負荷前の膵CPRは $3.1 \text{ pM/ml}$ に対し、頂値は2分20秒後の $6.5 \text{ pM/ml}$ であった。そしてその増加量は $3.4 \text{ pM/ml}$ であった。一方、膵IRIは、負荷前値 $1.7 \text{ pM/ml}$ が2分後に頂値 $4.6 \text{ pM/ml}$ を示し、増加量は $2.9 \text{ pM/ml}$ であった。その後のCPRの反応はIRIに比し、やや高値を維持する傾向を示した。

4)アルギニン負荷〔図-8〕

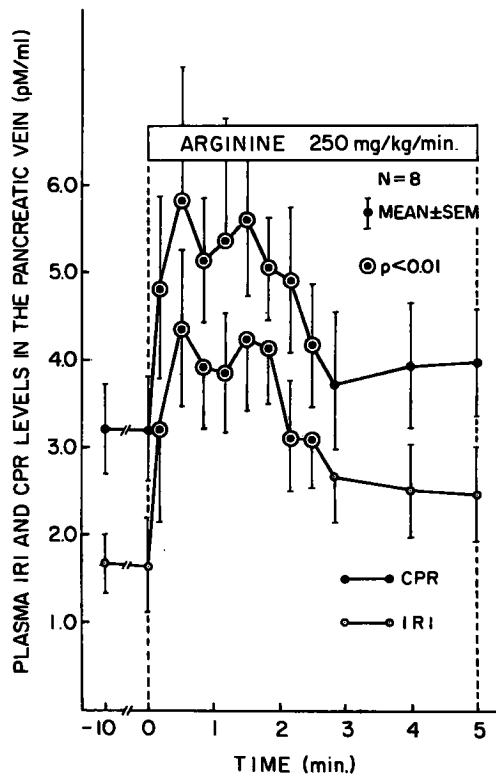


図8. アルギニン負荷：アルギニン250mg/kg/min膵動脈内5分間持続注入時の血中CPR(●—●)およびIRI(○—○)濃度の変動

アルギニン(250mg/kg/min)の膵動脈内持続注入により、膵CPRと膵IRIは急速かつ著明に、ほぼ平行して増加し、40秒で頂値を示した。膵CPRはアルギニン負荷前値 $3.2 \text{ pM/ml}$ が頂値 $5.8$

pM/mlを示した。膵IRIは前値1.7pM/mlに対し、40秒後の頂値は4.4pM/mlを示し、増加量は2.7 pM/mlであった。その後、CPR値はIRI値に比し、やや高値を維持した。

### 考 察

合成イヌC-ペプチドの二抗体法による Radioimmunoassay は、すでに兼子ら<sup>13)</sup>により発表されているが、著者は、一抗体法による測定法を試み、それを確立した。

インスリンとC-ペプチドは、膵β細胞内分泌顆粒中に等モルに存在し<sup>14)</sup>、exocytosisにより分泌<sup>15)</sup>されるが、末梢血中では、両者の代謝の違い<sup>16,17)</sup>により、C-ペプチドがより高値を示すことが知られている。著者の行った実験で、基礎分泌状態でのイヌ膵静脈血中CPRとIRIの比が1.42であり、末梢血中での比は6.09であった。Hedingら<sup>18)</sup>は、空腹時正常人での末梢血中CPRとIRIの比は7.0とし、Horwitzは、ヒトで末梢血中でのCPR、IRIは10.4、門脈血中では4.3の値を報告しているが、Kühlら<sup>20)</sup>は、ブタ門脈血中ではCPRとIRIの比は1.5であるとし、Hedingら<sup>21)</sup>は、ブタ膵静脈血中ではCPRとIRIはほぼ等モル存在していると報告している。今回のイヌにおける成績で膵静脈血中のCPRとIRIの比が、ヒトの門脈血中でのそれより低値を示す理由として、まず第一に門脈内に入ると膵静脈血は、胃や腸等からの循環血液混入のためかなり希釈された状態となっていること、第二にインスリンに比し、C-ペプチドの代謝が遅延していることがあげられる。

Horwitzら<sup>19)</sup>はさらに、ヒトでブドウ糖25gおよびアルギニン30gの静脈内投与時の末梢血中と門脈血中のプロインスリン・インスリンC-ペプチドの変動を観察している。彼らによると、ブドウ糖やアルギニン負荷により、三者とも90-120秒で頂値に達するがインスリンの相対的増加はプロインスリンやC-ペプチドより大であった。しかし、末梢血中では、その増加率に著明な差はみられなかった。そして門脈血中で頂値を示したときCPRとIRIのモル比は、ブドウ糖負荷時に1.17、アルギニン負荷時には1.07と等モルに近い値を示し、ブドウ糖やアルギニン負荷後の末梢血中と門脈血中のプロインスリン濃度には相関はみられなかったが、インスリ

ンとC-ペプチドの間には、全体として相関がみられたとしている。この成績からヒトにおいてもインスリンとC-ペプチドは等モルに分泌されていると結論した。

今回のイヌの実験においては、ブドウ糖およびアルギニン負荷時の膵静脈血中CPRとIRIの頂値における基礎値よりの増加量の比は、それぞれ1.17および0.96であり、負荷後2分間における基礎値からの分泌増加分を面積比( $\Delta$ CPR： $\Delta$ IRI)で表わすと、ブドウ糖負荷で0.93アルギニン負荷で0.95となり、ほぼ等モルの分泌増加が認められた。以上より、今回のイヌを用いての実験においてもHorwitzらのヒトでの成績を裏づける結果を得た。

### 結 語

イヌC-ペプチドの一抗体法によるRadioimmunoassayを確立し、ブドウ糖およびアルギニン負荷後のイヌ膵静脈血中C-ペプチドの分泌動態を観察し、インスリンの分泌動態と比較することにより下記の結論を得た。

- 1)イヌC-ペプチドの一抗体法によるRadioimmunoassayを確立し、その基礎的検討を行いその有用性を実証した。
- 2)イヌ末梢血中CPRと膵静脈血中CPRの平均値はそれぞれ、 $0.67 \pm 0.03$ pM/mlおよび $2.73 \pm 0.46$ pM/mlであり、CPRとIRIの比が、それぞれ、6.09および1.42であった。
- 3)ブドウ糖(10mg/kg/min)およびアルギニン(250mg/kg/min)のイヌ膵動脈内5分間持続投与により膵CPRと膵IRIの急速かつ著明な平行した分泌動態を認め、負荷後2分間における基礎値よりの分泌増加分を面積比で示すと $\Delta$ CPR： $\Delta$ IRIがそれぞれ0.93と0.95となり、ほぼ等モルの分泌増加を示した。

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜った恩師大藤真教授ならびに直接御指導下さいました河西浩一講師に深く感謝致します。また御協力いただいた糖尿病研究班の諸先生に厚く感謝致します。なお、合成イヌC-ペプチドおよびその抗血清をこころよく提供していただいた静岡薬科大学の矢内原昇教授に深く感謝致します。

## 文 献

1. Oyer, P. E., Cho, S., Peterson, J. D., and Steiner, D. F.: Studies on human proinsulin. Isolation and amino acid sequence of human pancreatic C-peptide. *J. Biol. Chem.* **246**, 1375-1386, 1971.
2. Steiner, D. F., Hallund, O., Rubenstein, A. H., Cho, S., and Bayliss, C.: Isolation and properties of proinsulin, intermediate forms, and other minor components from crystalline bovine insulin. *Diabetes* **17**, 725-736, 1968.
3. Tager, H. S., and Steiner, D. F.: Primary structures of the proinsulin connecting peptides of the rat and the horse. *J. Biol. Chem.* **247**, 7936-7940, 1972.
4. Peterson, J. D., Nehrlich, S., Oyer, P. E., and Steiner, D. F.: Determination of the amino acid sequence of the monkey, sheep, and dog proinsulin C-peptides by a semi-micro Edman degradation procedure. *J. Biol. Chem.* **247**, 4866-4871, 1972.
5. Chance, R. E.: Amino acid sequences of proinsulins and intermediates. *Diabetes* **21** (Suppl. 2): 461-467, 1972.
6. Rubenstein, A. H., Clark, J. L., Melani, F., and Steiner, D. F.: Secretion of proinsulin C-peptide by pancreatic beta cells and its circulation in blood. *Nature* **224**, 697-699, 1969.
7. Melani, F., Rubenstein, A. H., Oyer, P. E., and Steiner, D. F.: Identification of proinsulin and C-peptide in human serum by a specific immunoassay. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **67**, 148-155, 1970.
8. Block, M. B., Mako, M. E., Steiner, D. F., and Rubenstein, A. H.: Circulating C-peptide immunoreactivity. Studies in normals and diabetic patients. *Diabetes* **21**, 1013-1026, 1972.
9. Kaneko, T., Oka, H., Munemura, M., Oda, T., Yamashita, K., Suzuki, S., Yanaihara, N., Hashimoto, T., and Yanaihara, C.: Radioimmunoassay of human proinsulin C-peptide using synthetic human connecting peptide. *Endocrinol. Jpn.* **21**, 141-145, 1974.
10. Yanaihara, N., Sakagami, M., Sakura, N., Iizuka, Y., Nishida, T., Hashimoto, T., and Yanaihara, C.: Synthetic C-peptides and Proinsulin Synthesis. *Proc. 9th Congr. IDF, New Delhi, 1976*. (in press).
11. Hunter, W. M., and Greenwood, F. C.: Preparation of iodine<sup>131</sup> labelled growth hormone of high specific activity. *Nature London* **194**, 495-496, 1962.
12. Herbert, V., Lau, K. S., Gottlieb, C. W., and Bleicher, S. I.: Coated charcoal immunoassay of insulin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **24**, 1375-1384, 1965.
13. 兼子俊男, 岡 博, 宗村正英, 鈴木晟男, 安田浩子, 織田敏次, 矢内原昇, 山下亀次郎: イヌC-ペプチドの免疫学的測定法. *糖尿病*, **18** (suppl.), 11, 1975.
14. Kemmler, W., Steiner, D. F., and Borg, J.: Studies on the conversion of proinsulin to insulin. III. Studies in vitro with a crude secretion granule fraction isolated from islets of Langerhans. *J. Biol. Chem.* **248**, 4544-4551, 1973.
15. Clark, J. L., and Steiner, D. F.: Insulin Biosynthesis in the rat; Demonstration of two proinsulins. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **62**, 278-285, 1969.
16. Katz, A. I., and Rubenstein, A. H.: Metabolism of proinsulin, insulin, and C-peptide in the rat. *J. Clin. Invest.* **52**, 1113-1121, 1973.
17. Oyama, H., Horino, M., Matsumura, S., Kobayashi, K., and Suetsugu, N.: Immunological half-life of porcine proinsulin C-peptide. *Horm. Metab. Res.* **7**, 520-521, 1975.
18. Heding, L. G., and Rasmussen, S. M.: Human C-peptide in normal and diabetic subjects. *Diabetologia.* **11**, 201-206, 1975.
19. Horwitz, D. L., Starr, J. I., Mako, M. E., Blackard, W. G., and Rubenstein, A. H.: Proinsulin, insulin and C-peptide concentrations in human peripheral blood. *J. Clin. Invest.* **55**, 1278-1283, 1975.
20. Kühn, C., Andersen, O., Jensen, S. L., and Nielsen, O. V.: Effect of ethanol on the glucose-mediated in-

- ulin release in triply catheterized anesthetized pigs. *Diabetes* 25, 752-757, 1976.
21. Heding, L. G., Lavsén, U. D., Markussen, J., Jørgensen, K. H., and Halland, O. : Radioimmunoassays for human, pork and ox C-peptides and related Substances. *Horm. Metab. Res.* 5 (Suppl.), 40-44, 1974.
  22. Morgan, C. R., and Lazzarow, A.: Immunoassay of insulin using a two-antibody system. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 110, 29-32, 1962.
  23. Köhl, C.: Dipping procedure for blood glucose determination with Dextrostix and the Eytone reflectance meter. *Acta Med. Scand.* 197, 467-469, 1975.



**Immunoreactive dog C-peptide levels in pancreatic vein**  
**Part I: Dog C-peptide radioimmunoassay and C-peptide immunoreactivity**  
**in pancreatic vein after loading of glucose and arginine**

**Yoshiaki NISHINA**

Third Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School,  
Okayama, Japan

(Director : Prof. T. Ofuji)

A specific dog C-peptide radioimmunoassay system was established with a single antibody method using synthetic dog C-peptide as standard. The measurable range was between 0.4 pM/ml and 25.6 pM/ml. The coefficients of variation of Within- and Between-assay were 6.0 and 10.8%, respectively.

Dog C-peptide immunoreactivity (CPR) and immunoreactive insulin (IRI) level in the superior pancreaticoduodenal (pancreatic) vein were measured in fasting and after loading of glucose or arginine into the superior pancreaticoduodenal (pancreatic) artery.

Fasting dog CPR level was  $2.73 \pm 0.46$  pM/ml in the pancreatic vein and was  $0.67 \pm 0.03$  pM/ml in peripheral vein. The molar ratio of CPR/IRI was 1.42 in the pancreatic vein and 6.09 in peripheral vein.

Glucose (10 mg/kg/min) infusion into the pancreatic artery evoked a prompt and parallel maximal increase in CPR and IRI within 3 min. The CPR concentration increased from 3.1 pM/ml to 6.5 pM/ml and the IRI concentration increased from 1.7 pM/ml to 4.6 pM/ml at the peak.

Arginine (250 mg/kg/min) infusion resulted in a prompt, parallel increase in CPR and IRI. The CPR concentration increased from 3.2 pM/ml to 5.8 pM/ml, and the IRI concentration from 1.7 pM/ml to 4.4 pM/ml at 40 sec, respectively.

The insulin — to — C-peptide ratio showed approximately equimolarity.