

Goto-Kakizaki ラットにおける糖尿病発症 初期の膵 B 細胞機能異常

鈴木 尚美

信州大学医学部老年医学教室

(指導: 橋爪 潔志教授)

Pancreatic B Cell Abnormalities during Progression of Diabetes in Goto-Kakizaki Rats

Naomi SUZUKI

Department of Geriatrics, Endocrinology and Metabolism, Shinshu University School of Medicine

(Director: Prof. Kiyoshi HASHIZUME)

To delineate early B cell abnormalities in diabetes, Goto-Kakizaki (GK) rats at the age of 3.5 weeks were studied as a model of non-insulin dependent diabetes. The young GK rats were non-obese, hyperglycemic, but normoinsulinemic and with normal fructosamine in plasma. Pancreatic islets of GK rats were morphologically normal and isolated islets showed reduction of 33% in insulin content and normal DNA content. In *in vitro* insulin release experiments, glucose sensitivity was reduced in GK rats' B cells, that is, the EC50 values were 19.5 and 15.9 mM in the islets of GK and control rats, and the Hill constants for positive cooperativity 2.0 and 4.4, respectively. Insulin release in response to maximum glucose stimulation was not reduced in GK rats' B cells, indicating that glucose responsiveness was not significantly suppressed. Non-glucose stimulated insulin release and the release in response to K⁺ depolarization, and ATP-sensitive K⁺ channel-independent glucose action were not significantly different between the two groups of islets. In conclusion, during the progression of diabetes in GK rats, the islet insulin content is reduced and the B cell sensitivity to glucose is suppressed. *Shinshu Med J* 44: 239-245, 1996

(Received for publication March 22, 1996)

Key words: non-insulin dependent diabetes, GK rat, pancreatic islet, ATP-sensitive K⁺ channel
インスリン非依存型糖尿病, GK ラット, 膵ランゲルハンス島, ATP 感受性 K⁺ チャネル

I はじめに

インスリン非依存型糖尿病 (non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM) は、膵 B 細胞機能障害、筋肉や脂肪組織でのインスリン抵抗性、および肝糖新生の増加が様々な程度に影響し合って発症するが¹⁾、これらのうちどの異常が糖尿病の真の原因で、どの異常が高血糖の結果、すなわち glucose toxicity²⁾として二次的に生ずるのかは明らかではない。NIDDM の原

因となる膵 B 細胞の異常を見出すためには、糖尿病が確実に発症する個体を糖尿病発症前に分析する方法が有効であり、糖尿病モデル動物はこの目的にかなっている。Goto-Kakizaki (GK) ラットは、自然発症の非肥満 NIDDM モデル動物で、生後8-10週で全ての個体が糖尿病を発症し、やがて糖尿病性腎症、網膜症、神経症を合併する^{3,4)}。これまでに、明らかに糖尿病となった成熟 GK ラットで、ブドウ糖刺激に対するインスリン分泌の低下、その原因として膵ラ氏島 glycerol phosphate shuttle の律速酵素である glycerophosphate dehydrogenase 活性低下⁵⁾や、B 細胞の

別刷請求先: 鈴木 尚美

〒390 松本市旭3-1-1 信州大学医学部老年医学

ATP感受性K⁺チャンネルの異常⁹⁾が報告されている。しかし、こうしたGKラットで報告されているB細胞機能の異常が糖尿病の「原因」であるのか、あるいはglucose toxicityによって二次的に生じた「結果」であるのかは明らかでない。

本研究は糖尿病発症の「原因」となるB細胞機能の異常を見出すことを目的とし、このために糖尿病発症初期の3.5週齢の幼若GKラットのB細胞機能を検討した。ラット膵B細胞のブドウ糖に対するインスリン分泌は、生後3.5週までには質的に成熟ラットと等しくなることが知られているが⁷⁾、これまでにこうした週齢の幼若GKラットの膵B細胞機能を系統的に調べた報告はない。

II 方 法

A *In vivo* 実験

雄GKラットと、その対照である雄ウイスターラットを生後22日に武田薬品工業株式会社研究所(大阪)より入手し、室温23°Cで通常の飼料により飼育した。生後25日に体重を測定し、GKラット、ウイスターラットを各々2グループに分け、一方のグループでは6時間絶食後に経口ブドウ糖負荷試験を施行した。ブドウ糖負荷試験では、体重1gあたり2mgのブドウ糖を、50%ブドウ糖液で無麻酔で経口投与し、30分後に浅いエーテル麻酔下で皮膚切開し外頸静脈よりヘパリン採血を行った⁸⁾。別のグループでは6時間絶食の後、空腹時採血のみを浅いエーテル麻酔下で同様に行い、それぞれのサンプルで血糖を測定した。エーテル麻酔の血糖への影響を調べるために、正常ウイスターラットに浅くエーテル麻酔をして得られたサンプルと、無麻酔断頭屠殺で得られたサンプルの血糖値を比較したが、有意差はなく、浅いエーテル麻酔の血糖値への影響は無視できるものと考えた。生後26日に膵ラ氏島を実験に供するため一部のGKラット、ウイスターラットを屠殺し、28日に残りのラットを6時間絶食後、無麻酔で断頭屠殺してヘパリン血を採取し、空腹時血中インスリン(IRI)、慢性高血糖の指標となるフルクトサミンの測定用とした。この生後28日に断頭屠殺したラットの膵臓は10%ホルマリンで固定し、ヘマトキシリン-エオジン(H-E)染色とインスリン免疫染色を行った。

B *In vitro* 実験

生後26日に、当教室でこれまで用いてきたコラゲナーゼ法⁹⁾⁻¹¹⁾の変法(以下に詳述)によって膵ラ氏島を

単離し*in vitro*の実験を行った。まず、総胆管の十二指腸入口部を結紮し、氷冷したKrebs-Ringer bicarbonate buffer (KRBB) 2mlを肝門部胆管から注入し、膵外分泌腺を膨張破壊した後に膵を切除した。KRBBは、5.5mMブドウ糖、118.4mM NaCl、4.7mM KCl、1.3mM MgSO₄、1.2mM KH₂PO₄、1.9mM CaCl₂、25mM NaHCO₃を含み、5%CO₂+95%O₂で平衡させpH7.4に調整した。胆管注入に用いたKRBBには、0.2%BSAと0.6mg/mlのコラゲナーゼ(和光純薬)を加えた。切除した膵臓を氷冷しつつ、コラゲナーゼを含まないBSA加KRBBで洗い細切した。3-4匹のラットから同様に得られた約3mlの膵細切片をシリコンコートしたガラス試験管(13×75mm)に移し、新たにBSA(8mg/ml)とコラゲナーゼ(5mg/ml)を加え、直ちに37°Cの水槽で2分間段階的に速度を減らしながら振盪し、1匹のラットにつき約100-200個のラ氏島を回収した。

ラ氏島をサイズを揃えて5個ずつガラス試験管に分注し、インキュベーション実験に供した⁹⁾⁻¹¹⁾。まず3mMブドウ糖、0.5%BSAを含むKRBB 1mlで30分間のpreincubationを行った後に、ブドウ糖によるインスリン分泌を測定するために、緩衝液を0-30mMの濃度のブドウ糖を含むBSA含有KRBB 0.5mlにかえて30分間のexperimental incubationを行った。また別に、ATP感受性K⁺(K⁺ATP)チャンネル非依存性のブドウ糖によるインスリン分泌作用を調べる目的で、K⁺ATPチャンネル開放剤であるダイアゾキシイド(Dz) 150μM(Sigma Co.)と、脱分極濃度のK⁺(25mM)存在下でブドウ糖とともにexperimental incubationを行った。この場合preincubationの段階からDzを共存させた。インキュベーション終了後、緩衝液を吸引しインスリン測定用に、またラ氏島はDNA含量¹²⁾¹³⁾およびインスリン含量測定¹⁰⁾用に、それぞれ-20°Cで保存した。

膵の組織学的検索のために、断頭したラットから膵を切除し、脾門部から膵頭部に向かう長軸方向の厚さ4μmの切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン(H-E)、抗インスリン抗体で染色した。さらに、これらの切片について、ラ氏島の数と全ラ氏島の切片上の直径を顕微鏡下で計測した。

インスリンは、ラットインスリンをスタンダードとしてラジオイムノアッセイで測定し⁹⁾⁻¹¹⁾、血糖はヘキソキナーゼ法で、血漿フルクトサミンとともに自動分析装置(日立7070)で測定した。

データは means±SD で表示し, Fisher's PLSD あるいは, Wilcoxon's rank sum test で有意差検定を行い, $P < 0.05$ を有意とした。

III 結 果

A 幼若 GK ラットの糖代謝状態 (Table 1)

3.5週齢の GK ラットは, 対照のウイスターラットに比べ体重は有意に低く, 空腹時血糖, 経口ブドウ糖負荷後血糖ともに高値を示した。しかしながら, 慢性高血糖の指標となる血中フルクトサミンは, GK ラットでも対照ラットと比べて有意な上昇は認められず, このことは GK ラットが糖尿病発症後まだ間もないことを示すと考えられた⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾。一方, 空腹時 IRI は対照と比べ差がなかった。

B 幼若 GK ラット膵ラ氏島の特徴

膵切片組織像では, ラ氏島の分布, 形, インスリン免疫染色性の諸点において GK ラットとウイスターラットの間には差が認められなかった。H-E 染色を施し

た膵切片の単位面積当たりのラ氏島の数, 全てのラ氏島の直径を計測したが, 両群に差はなかった。単離したラ氏島の DNA 含量は両群で差がないが, インスリン含量は GK ラットで約33%減少していた (Table 2)。

C ラ氏島からのインスリン分泌

ブドウ糖非存在下 (0 mM), 刺激閾値以下の濃度 (3mM) のブドウ糖存在下でのインスリン分泌は両群で差がないが, 高濃度ブドウ糖刺激時のインスリン分泌は GK ラットのラ氏島で低下していた。ブドウ糖によるインスリン分泌の容量反応曲線の50%有効濃度 (EC50) は, GK ラットのラ氏島では19.5mM かそれ以上, 一方対照ウイスターラットのラ氏島では15.9 mM と GK ラットで上昇していた。この数値は実験で用いた最高ブドウ糖濃度, 即ち30mM での反応をインスリン分泌の最大反応とみなして得られたが, GK ラットラ氏島では Fig. 1 に示したように最大反応は更に高濃度のブドウ糖で生ずる可能性もあり, その場合,

Table 1 Phenotypic characteristics of the young GK rats

	Wistar	GK
Body weight (g)	53.9±4.3 (10)	46.2±3.0(10)*
Plasma glucose (mM)		
Fasting	5.6±0.8(5)	11.1±1.0(5)*
30 min †	9.4±1.0(5)	13.5±2.0(5)*
Fasting plasma IRI (pM)	105.5±6.2(5)	112.1±46.2(5)
Plasma fructosamine (mM)	84.8±6.2(5)	93.5±5.1(4)

*, $P < 0.05$. †, 30 min after 2 mg/g B.W. oral glucose load. Number of animals is indicated in the parentheses. GK rats, Goto-Kakizaki rats.

Table 2 Characteristics of pancreatic islets in the young GK rats

	Wistar	GK
Islet number*		
(per mm ² pancreatic section)	2.4±0.4(3)	1.9±0.3(3)
Islet diameter (μm)	57.8±46.0(475)	65.6±45.8(305)
DNA content (ng/islet)	31.9±20.8(10)	29.6±12.9(9)
Insulin content (ng/islet)	53.2±12.3(10)	36.1±6.8(9)†

*, islet number per 3 pancreatic sections. †, $P < 0.01$. Number of determination is shown in the parentheses. Three non-continuous sections, each from different rats, were examined for islet number and islet diameter measurements. For the determination of islet DNA and insulin, the islets used for release experiments were extracted as described in the method. Three tubes (15 islets) were pooled to make a new tube for DNA extraction. Each tube containing 5 islets was used singularly for insulin extraction. See text for the detail of experimental procedures.

EC50 は上記の値よりもさらに高値となる (Fig. 1)。ブドウ糖のインスリン分泌に対する positive cooperativity の指標である Hill 係数は, GK ラットの B 細胞で 2.0, ウィスターラットで 4.4 と GK ラットで低下しており positive cooperativity の低下が見られた。これら EC50 の上昇, Hill 係数の低下は, GK ラットの B 細胞のブドウ糖に対する感受性 (sensitivity) の低下を意味している。

他方, 高濃度ブドウ糖に対するインスリン分泌最大反応も絶対値においては GK ラットラ氏島で明らかに低下していた。また, 脱分極濃度の 25mM K⁺ で刺激時のインスリン分泌および, K⁺ATP チャンネル開放剤である Dz 150 μ M と 25mM K⁺ と 24mM ブドウ糖共存下でのインスリン分泌は測定値のばらつきを認めたが両群のラ氏島間に有意な差がなく (Fig. 2), K⁺

ATP チャンネル非依存性のインスリン分泌機構は正常に保たれている可能性が示された。

IV 考 察

GK ラットでは, 本研究で用いた 3.5 週齢で既に対照ウィスターラットに比べ体重が低く高血糖があるが, 血中フルクトサミンの有意な上昇は見られず, 高血糖の発症は比較的最近のものと考えられた¹⁴⁾¹⁵⁾。従ってここで用いた GK ラットは NIDDM の発症初期にあると判断した。幼若 GK ラットのラ氏島の *in vitro* での分析の結果, ラ氏島のインスリン含量の減少と B 細胞のブドウ糖に対する感受性 (sensitivity) の低下が認められた。他方, 最大刺激濃度のブドウ糖に対するインスリン分泌が減少していたが, ラ氏島のインスリン含量も明らかに減少していたので, B 細胞のブド

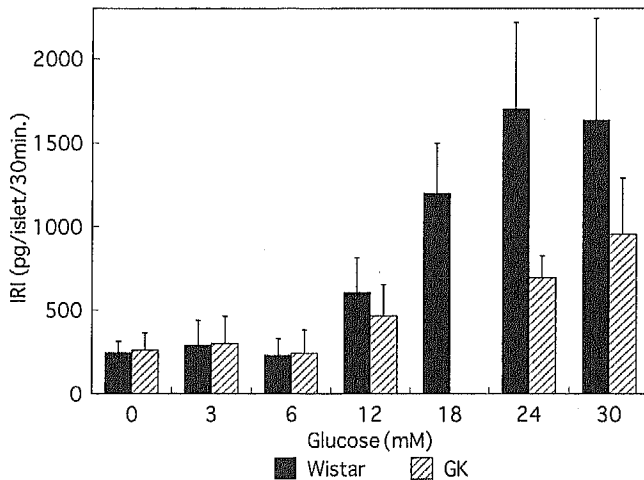


Fig.1 Glucose-induced insulin release in isolated islets. After preincubation in KRBB containing 3 mM glucose for 30 min, the islets were incubated with the indicated concentrations of glucose for 30 min.

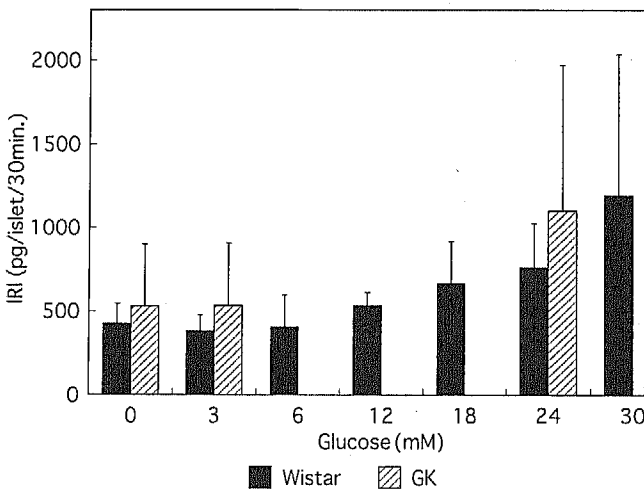


Fig.2 Glucose-induced insulin release in isolated islets in the presence of diazoxide and depolarizing concentration of K⁺. After preincubation in KRBB containing 150 μ M diazoxide and 3 mM glucose for 30 min, the islets were incubated with the indicated concentrations of glucose and 25 mM K⁺ for 30 min in the presence of diazoxide.

ウ糖に対する反応性 (responsiveness) は保たれている可能性が示唆された。

これらの異常のうちどれがGKラットの糖尿病発症に原因として関わっているのかが重要であるが、まず、ここで示したデータは糖尿病発症初期のものであるから、これらのB細胞機能異常は長期に続いた高血糖の結果生ずる glucose toxicity による可能性は少ない。この点をさらに明らかにするために、他の研究者によって、これまでに glucose toxicity のモデルとして研究されている、高濃度ブドウ糖を持続注射したラットのデータと比較検討した。正常ラットにブドウ糖を持続注入すると、ラ氏島のインスリン含量は最初の24時間で減少し、その後徐々に増加し一週間ブドウ糖注入を続けると対照ラットよりも増加する¹⁶⁾。ブドウ糖注入ラット膵B細胞のブドウ糖に対する感受性 (sensitivity) は亢進し¹⁷⁾、一方、高濃度ブドウ糖に対するインスリン分泌の最大反応は減少し、反応性 (responsiveness) は低下する¹⁸⁾¹⁹⁾。こうした特徴は、幼若GKラットのラ氏島でみられた異常、即ちインスリン含量の減少、B細胞のブドウ糖に対する感受性低下とは全く共通性がなく、幼若GKラット膵B細胞の異常は持続する高血糖の結果ではないと考えられた。今後、インスリン治療により血糖を正常化したGKラットでこの点を明らかにする必要がある。

B細胞量の減少と糖尿病の発症については、正常ラットでは90%以上の膵切除をしないと耐糖能障害はおこらないことが確立されており¹⁸⁾¹⁹⁾、我々が得た幼若GKラットラ氏島の33%のインスリン含量低下は、仮にこれがラ氏島あたりのB細胞量の減少によるとしても、程度が軽く糖尿病の原因たりえない²⁰⁾²¹⁾。

これらの事実をふまえると、GKラットの糖尿病発症には、B細胞のインスリン含量またはラ氏島のB細胞量の減少と、B細胞のブドウ糖に対する感受性 (sensitivity) の低下の両者が寄与しているものと推察される。

これまでの報告では、糖尿病がはっきり確立した成熟GKラットのラ氏島では高濃度ブドウ糖刺激時のインスリン分泌は著しく障害されており、ブドウ糖濃度に依存した容量反応性はほとんどみられない³⁾⁻⁵⁾²²⁾⁻²⁴⁾。また、刺激閾値以下のブドウ糖濃度でのインスリン基礎分泌も明らかに低下している。Permeabilize したラ氏島でも、カルシウムによって惹起されたインスリン分泌に対するブドウ糖の増幅効果は障害されているので、K⁺ATPチャネル非依存性のブドウ糖作用も障

害されている²⁵⁾。我々の調べた幼若GKラット膵B細胞にはこうした異常は明らかではないので、成熟GKラットでは、glucose toxicity によってB細胞は著しく疲弊しており、ブドウ糖に対する反応性 (responsiveness) も低下している可能性が高い。

幼若GKラットで、K⁺ATPチャネル非依存性のインスリン分泌機構のみを選択的に調べると明らかな障害は見出せなかった。ラ氏島のインスリン含量の減少を考慮すると、この系を介したブドウ糖作用はむしろ亢進している可能性もある。このことは通常のK⁺ATPチャネル依存性ブドウ糖作用が障害されていることに対する代償とも考えられる。

ここで注目される事実は、GKラットの糖尿病発症期にみられたB細胞機能異常の一部は肥満型NIDDMモデルのOLETFラットのB細胞異常と共通している点である。OLETFラットは3.5週齢では体重も正常で糖尿病も発症していないが、B細胞のブドウ糖に対する感受性は低下し、これは主にK⁺ATPチャネル依存性ブドウ糖作用の障害による⁹⁾。従ってB細胞のブドウ糖に対する感受性の低下が、肥満、非肥満NIDDMに共通した糖尿病発症の原因のひとつである可能性も考えられる。

V 結 語

非肥満型NIDDMモデル動物であるGKラットでは、3.5週齢の糖尿病発症初期に既に膵ラ氏島のインスリン含量の低下とB細胞のブドウ糖に対する感受性の低下が認められる。これらの異常は正常ラットにブドウ糖を持続注射した場合には報告されていない。また肥満型NIDDMモデル動物のOLETFラット膵B細胞でも、糖尿病発症前にブドウ糖に対する感受性の低下が存在する。従って、ここに示した幼若GKラットの膵B細胞の異常は、慢性高血糖の「結果」ではなくGKラットの糖尿病発症に「原因」として関与している可能性が高い。

本研究の内容は、第68回日本内分泌学会秋期学術大会(1995年11月山梨)において発表した。

稿を終るにあたり、ご指導ならびにご校閲いただきました橋爪潔志教授に感謝致します。また、本研究に御協力頂きました信州大学老年医学教室 相澤徹助教授、ならびに信州大学第1病理学教室 伊藤信夫先生に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) DeFronzo RA: The triumvirate: β -cell, muscle, liver. *Diabetes* 37: 667-687, 1988
- 2) Simonson DC, Rossetti L, Giaccari A, DeFronzo RA: Glucose toxicity. In: Alberti KGMM, DeFronzo RA, Keen H, Zimmet P (eds), *International textbook of diabetes mellitus*, pp 638-667, John Wiley & Sons, Chichester, 1992
- 3) Goto Y, Suzuki K, Sasaki M, Ono T, Abe S: GK rat as a model of nonobese, noninsulin-dependent diabetes: selective breeding over 35 generations. In: Shafrir E, Renold AE (eds), *Frontiers in diabetes research. Lessons from animal diabetes II*, pp 301-303, John Libbey, London, 1988
- 4) Portha B, Serradas P, Bailbe D, Suzuki K, Goto Y, Giroix M-H: β -cell insensitivity to glucose in the GK rat, a spontaneous nonobese model for type II diabetes. *Diabetes* 40: 486-491, 1991
- 5) Ostenson C-G, Abdel-Halim SM, Rasschaert J, Malaisse-Lagae F, Meuris S, Sener A, Efendic S, Malaisse WJ: Deficient activity of FAD-linked glycerophosphate dehydrogenase in islets of GK rats. *Diabetologia* 36: 722-726, 1993
- 6) Tsuura Y, Ishida H, Okamoto Y, Kato S, Sakamoto K, Horie M, Ikeda H, Okada Y, Seino Y: Glucose sensitivity of ATP-sensitive K^+ channels is impaired in β -cells of the GK rat. *Diabetes* 42: 1446-1453, 1993
- 7) Bliss CR, Sharp GWG: Glucose-induced insulin release in islets of young rats: time-dependent potentiation and effects of 2-bromostearate. *Am J Physiol* 263: E890-E896, 1992
- 8) Aizawa T, Taguchi N, Sato Y, Nakabayashi T, Kobuchi H, Hidaka H, Nagasawa T, Ishihara F, Itoh N, Hashizume K: Prophylaxis of genetically determined diabetes by diazoxide: a study in a rat model of naturally occurring obese diabetes. *J Pharmacol Exp Ther* 275: 194-199, 1995
- 9) Aizawa T, Sato Y, Ishihara F, Taguchi N, Komatsu M, Suzuki N, Hashizume K, Yamada T: ATP-sensitive K^+ channel-independent glucose action in rat pancreatic β -cell. *Am J Physiol* 266: C622-C627, 1994
- 10) Ishihara F, Aizawa T, Taguchi N, Sato Y, Hashizume K: Differential metabolic requirement for initiation and augmentation of insulin release by glucose: a study with rat pancreatic islets. *J Endocrinol* 143: 497-503, 1994
- 11) Sato Y, Aizawa T, Komatsu M, Okada N, Yamada T: Dual functional role of membrane depolarization/ Ca^{2+} influx in rat pancreatic B-cell. *Diabetes* 41: 438-443, 1992
- 12) Hopcroft DW, Mason DR, Scott RS: Standardization of insulin secretion from pancreatic islets: Validation of a DNA assay. *Horm Metabol Res* 17: 559-561, 1985
- 13) Labarca C, Paigen K: A simple, rapid, and sensitive DNA assay procedure. *Anal Biochem* 102: 344-352, 1980
- 14) Johnson RN, Easdale RW, Tatnell M, Baker JR: Significance of variation in turnover of glycosylated albumin on indices of diabetic control. *Clin Chem Acta* 198: 229-238, 1991
- 15) Keymeulen B, Verti M, Gorus F, Vanbrabant B, Pipeleers DG: The effect of insulin treatment on function of intraportally grafted islets in streptozotocin-diabetic rats. *Transplantation* 56: 60-64, 1993
- 16) Bedoya FJ, Jeanrenaud B: Evolution of insulin secretory response to glucose by perfused islets from lean (FA/FA) rats chronically infused with glucose. *Diabetes* 40: 7-14, 1991
- 17) Timmers KI, Powell AM, Voyles NR, Solomon D, Wilkins SD, Bhathena S, Recant L: Multiple alterations in insulin responses to glucose in islets from 48-h glucose-infused nondiabetic rats. *Diabetes* 39: 1436-1444, 1990
- 18) Bonner-Weir S, Trent DF, Weir GC: Partial pancreatectomy in the rat and subsequent defect in glucose-induced insulin release. *J Clin Invest* 71: 1544-1553, 1983

- 19) Kaufmann F, Rodriguez RR: Subtotal pancreatectomy in five different rat strains: Incidence and course of development of diabetes. *Diabetologia* 27:38-43, 1984
- 20) Leahy JL, Bonner-Weir S, Weir GC: Minimal chronic hyperglycemia is a critical determinant of impaired insulin secretion after an incomplete pancreatectomy. *J Clin Invest* 81:1407-1414, 1988
- 21) Sandler S, Jansson L, Welsh N: Adaptive response in β -cell function in pancreatic islets isolated from partially pancreatectomized rats. *Mol Cell Endocrinol* 86:149-156, 1992
- 22) Giroix MH, Sener A, Portha B, Malaisse WJ: Preferential alteration of oxidative relative to total glycolysis in pancreatic islets of two rat models of inherited or acquired type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 36:305-309, 1993
- 23) Giroix M-H, Vesco L, Portha B: Functional and metabolic perturbation in isolated pancreatic islets from the GK rat, a genetic model of noninsulin-dependent diabetes. *Endocrinology* 132:815-822, 1993
- 24) Ostenson C-G, Khan A, Abdel-Halim SM, Guenifi A, Suzuki K, Goto Y, Efendic S: Abnormal insulin secretion and glucose metabolism in pancreatic islets from the spontaneously diabetic GK rat. *Diabetologia* 36:3-8, 1993
- 25) Okamoto Y, Ishida H, Tsuura Y, Yasuda K, Kato S, Matsubara H, Nishimura M, Mizuno N, Ikeda H, Seino Y: Hyperresponse in calcium-induced insulin release from electrically permeabilized pancreatic islets of diabetic GK rats and its defective augmentation by glucose. *Diabetologia* 38:772-778, 1995

(8. 3. 22 受稿)
