

豚ラ氏島におけるグルコース代謝と インスリン分泌に対する細胞膜脱分極の効果

石原 藤 樹

信州大学医学部老年医学教室

(主任: 橋爪 潔志教授)

Effects of Membrane Depolarization on Glucose Metabolism and Glucose-Induced Insulin Release in Pancreatic Islets

Fujiki ISHIHARA

Department of Geriatrics, Endocrinology and Metabolism,

Shinshu University School of Medicine

(Director Prof. Kiyoshi HASHIZUME)

Effects of membrane depolarization on glucose metabolism and glucose-induced insulin release were investigated in pancreatic islets obtained from rats fasted for 96h, and in islets incubated at 22°C. Islets from fed rats incubated at 37°C were used as control. As indices of glucose metabolism, glucose utilization ($^3\text{H}_2\text{O}$ formation from $[5\text{-}^3\text{H}]$ glucose) and glucose oxidation ($^{14}\text{CO}_2$ formation from $[^{14}\text{C}(\text{U})]$ glucose) were measured. High concentration glucose-induced insulin release was absent in the islets obtained from the fasted rats and the islets incubated at 22°C. However, when these islets were exposed to 50mM K^+ , there was a clear-cut increase in insulin release. When these islets were stimulated with 16.7mM glucose in the presence of 50mM K^+ , there was a marked increase of insulin release on top of the stimulation produced by K^+ alone. Glucose utilization and oxidation were suppressed in the islets obtained from fasted rats and the islets incubated at 22°C, and these suppressions were not relieved by K^+ -induced depolarization. In conclusion, membrane depolarization potentiates glucose-induced insulin release at a site distal, or unrelated, to the step of glucose metabolism. *Shinshu Med J* 42: 135-142, 1994

(Received for publication December 3, 1993)

Key words: membrane depolarization, glucose metabolism, glucose-induced insulin release

細胞膜脱分極, グルコース代謝, インスリン分泌

I 緒 言

インスリン分泌刺激物質の中で、生理的に最も重要なグルコースは、膵B細胞において、一連の化学反応を介して細胞膜の脱分極を来し、インスリンを放出さ

せる¹⁾²⁾。すなわち、グルコースはまず、グルコーストランスポーターである GLUT2 の働きで、B細胞内へと運ばれ³⁾、解糖系にて代謝される⁴⁾。代謝の結果生じた細胞内 ATP、ATP/ADP 比、もしくはその他の生理活性物質の上昇により、細胞膜の ATP 感受性 K^+ チャンネルが閉じ⁵⁾、細胞膜の脱分極がおこる⁵⁾。この細胞膜脱分極およびそれに伴う細胞外カルシウムイオン

別刷請求先: 石原 藤樹

〒390 松本市旭3-1-1 信州大学老年医学教室

の細胞内への流入が、他の内分泌細胞と同様、B細胞においても、ホルモン放出刺激のためのシグナルとして、きわめて重要であることはよく知られている⁹⁾。

ところで、ここに興味深い1つの現象がある。

通常、ラット膵B細胞においては、ATP感受性K⁺チャネルの opener であるジアゾキサイド150 μ Mの存在下では、グルコースによるインスリン分泌刺激は完全に阻止される⁷⁾。しかし、ジアゾキサイドの存在下でも、高濃度K⁺で細胞膜を強制的に脱分極させた上で、グルコースを作用させると、グルコースによって刺激されるインスリン分泌反応が明らかに復活する⁸⁾という現象である。このことから、ラット膵B細胞において、細胞膜の脱分極とそれに伴う細胞外カルシウムの流入は、インスリン分泌に対して、同時に2つの役割を果たしている可能性が想定されている⁹⁾。すなわち、細胞膜の脱分極とそれに伴うカルシウムの流入は、一方でインスリンの放出を直接刺激し、他方で、ATP感受性K⁺チャネルを介さない、グルコースによって刺激されるインスリン分泌経路を活性化する⁹⁾という仮説である。しかし、このATP感受性K⁺チャネルを介さないグルコースによるシグナリングに対する細胞膜脱分極の効果の詳細な機構は明らかではない。また、ATP感受性K⁺チャネルを介するインスリン分泌経路にとって、グルコース代謝は必須と考えられているが、ATP感受性K⁺チャネルを介さないシグナリングにとって、グルコース代謝がどのような役割を果たしているかも明らかではない。

本研究は、ラット膵B細胞において、細胞膜の脱分極が、グルコース代謝とグルコースによって刺激されるインスリン分泌に対して、どのような影響を与えるかを明らかにすることを目的とした。その目的のために、本研究ではグルコース代謝を強く抑制し、グルコースによって刺激されるインスリン分泌を消失させる2つの条件について検討を加えた。すなわち、96時間絶食させたラットの膵ラ氏島を用いることと、22°Cの低温下で膵ラ氏島を刺激することを行った。本研究では、これらの条件下で、高濃度K⁺による細胞膜の脱分極が、グルコース代謝とインスリン分泌に与える影響を詳細に検討した。

II 材料と方法

雄ウイスターラット膵臓より、コラゲナーゼ法¹⁰⁾で単離したラ氏島を用い、Krebs-Ringer-bicarbonate (KRB) 緩衝液中で、インスリン分泌、グルコース利

用、およびグルコース酸化を測定した。KRB緩衝液の組成は原則としてNaCl 118.4mM, KCl 4.7mM, MgSO₄ 1.3mM, KH₂PO₄ 1.2mM, CaCl₂ 1.9mM, NaHCO₃ 25mMとし、5% CO₂-95% O₂の存在下でpH7.4に調節した⁹⁾¹¹⁾¹²⁾。一部の実験を除き、グルコースの基礎濃度は、それ自体ではインスリン分泌を刺激しない3 mMもしくは3.5mMとした。高濃度グルコース、高濃度K⁺を緩衝液中に加える場合、従来の報告⁹⁾¹¹⁾¹²⁾と同じく、浸透圧の補正は行っていない。本実験に用いた範囲内の浸透圧の変化はインスリン分泌に影響を与えないことを確認している。ラ氏島よりのインスリン分泌は、各ラ氏島の条件を一定にするための30分間のプレインキュベーション後、それぞれの実験結果の項目で述べるような条件下で60分間のインキュベーションを行い、radioimmunoassay (RIA)にて測定した。

ラ氏島におけるグルコース利用は、D-[5-³H] glucoseからの³H₂O産生を指標とし、Miwaら¹³⁾が発表した方法に一部改変を加えて施行した。試験管1本あたり20個のラ氏島を用い、KRB緩衝液中にて各ラ氏島の条件を一定にするための30分間のプレインキュベーション後、緩衝液を吸引し、111.0KBqのD-[5-³H] glucose (New England-Nuclear, specific activity 580.9GBq/mmol)を添加した80 μ lの新しいKRB緩衝液を加えて、それぞれの実験結果の項目で述べるような条件下で60分間のインキュベーションを行った。グルコース利用の反応は3NのHClを10 μ l加えることにより終了させた。試験管中から、放射性グルコースの代謝の結果生じた³HでラベルされたH₂O (³H₂O)を分離するため、試験管を0.5mlの蒸留水を入れたバイアル中に密閉し、24時間30°Cの条件下で静置した。この操作により試験管内の培養液と外側の蒸留水とが平衡状態に達し、一定の割合で試験管内の³H₂Oが蒸留水へと移行する¹³⁾。その蒸留水へと移行した³H₂Oを、液体シンチレーションカウンターを用い、測定した。

ラ氏島におけるグルコース酸化は、D-[¹⁴C(U)] glucoseからの¹⁴CO₂産生を指標とし、McDanielら¹⁴⁾の方法に一部改変を加えて施行した。試験管1本あたり25個のラ氏島を用い、通常のKRB緩衝液よりNaHCO₃濃度を15mMに減じ、代わりに10mMのHEPESを加えたmodified KRB緩衝液(pH7.4)中で、各ラ氏島の条件を一定にするための30分間のプレインキュベーションを行った。この前処置後緩衝液を

Table 1 Insulin release by the islets

Experiment	Glucose mmol/l	K ⁺ mmol/l	Insulin release fmol/islet ⁻¹ ·60 min ⁻¹
I. Islets of fed rats incubated at 37°C			
Group			
1	3	4.7	64.3±21.1
2	10	4.7	99.0±52.6*
3	16.7	4.7	291.9±49.1†
4	3	50	115.7±26.7
5	16.7	50	376.4±108.4
II. Islets of 96 h-fasted rats incubated at 37°C			
Group			
1	3	4.7	44.3±14.7
2	10	4.7	53.0±11.8‡
3	16.7	4.7	67.2±31.8‡
4	3	50	128.2±81.2
5	16.7	50	262.4±62.2§
III. Islets of fed rats incubated at 22°C			
Group			
1	3	4.7	38.7±6.9
2	10	4.7	40.9±8.7‡
3	16.7	4.7	46.0±9.1‡
4	3	50	46.1±14.7
5	16.7	50	69.2±28.6§

The same batch of islets were used in each experiment: number of tubes was 9-13 for each condition. * and †, $P < 0.05$ and 0.01 , respectively, compared to the value of Group 1. ‡ Not significantly different from the value of Group 1. § $P < 0.05$ compared to the value of Group 4.

吸引し、29.6KBqのD-[¹⁴C(U)] glucose (New England-Nuclear, specific activity 85.1MBq/mmol) を添加した100μlのmodified KRB 緩衝液を加えて、それぞれの実験結果の項目で述べるような条件下で60分間のインキュベーションを行った。その後200μlの0.1N HClを加えて反応を止め、グルコース酸化によって発生した¹⁴CO₂を、methylbenzethonium hydroxide (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) にて吸着しカウントした。

一部の実験では、グルコース代謝を強く抑制する条件として、96時間絶食状態においたラットから得たラ氏島を用いての実験、および非絶食ラットから得たラ氏島を22°Cの低温でインキュベーションする実験を行った。長時間の絶食状態においたラットのラ氏島では、グルコースによって刺激されるインスリン分泌は、消失するか強く抑制されることが知られており、その

主因はグルコース代謝の抑制にあると考えられている⁴⁾¹⁵⁾⁻¹⁷⁾。また、低温でのインキュベーションも、グルコースによって刺激されるインスリン分泌およびグルコース代謝を、強く抑制することが知られている¹⁸⁾⁻²⁰⁾。

本実験の有意差検定は、3群以上の差の検定には分散分析を施行した上で Fisher's multiple comparison test²¹⁾を用いて行い、2群の差の検定には Wilcoxon's signed-rank testを用いた。 $P < 0.05$ を有意差が存在するとした。データは全て mean±SD で表示した。

III 結 果

A ラ氏島よりのインスリン分泌

96時間絶食ラットから得たラ氏島を用いた37°Cの実験では、基礎状態(グルコース濃度3mM)におけるインスリン分泌は、非絶食ラットのコントロールラ

Table 2 Glucose utilization by the islets

Experiment	Glucose mmol/l	K ⁺ mmol/l	Glucose converted to H ₂ O pmol/20 islets ⁻¹ 60 min ⁻¹
I. Islets of fed rats incubated at 37°C			
Group			
1	3	4.7	172.0±70.0
2	10	4.7	413.2±166.0
3	16.7	4.7	574.5±133.6
4	27.8	4.7	762.5±135.4
II. Islets of fed rats incubated at 37°C			
1	16.7	4.7	526.7±122.5
2	16.7	50	459.2±96.8
III. Islets of 96 h-fasted rats incubated at 37°C			
Group			
1	3	4.7	165.1±32.0
2	10	4.7	352.0±76.4
3	16.7	4.7	396.0±91.3*
4	27.8	4.7	544.3±135.3†
IV. Islets of 96 h-fasted rats incubated at 37°C			
Group			
1	16.7	4.7	450.9±109.6
2	16.7	50	446.3±93.4‡
V. Islets of fed rats incubated at 22°C			
Group			
1	3	4.7	127.4±62.7
2	10	4.7	220.2±81.6*
3	16.7	4.7	261.2±119.1†
4	27.8	4.7	361.6±79.1†
5	16.7	50	276.0±119.6§

The same batch of islets were used in each experiment: number of tubes was 4-8 for each condition. * and †, $P < 0.05$ and < 0.01 , respectively, compared to the value of the groups with the respective glucose concentrations in Experiment I. ‡ Not significantly different from the values of Group 1. § Not significantly different from the value of Group 3.

氏島に比して有意差はないが低い傾向にあった。グルコース濃度を基礎濃度から10mM, 16.7mM と上昇させても、インスリン分泌に有意な上昇は見られなかった (Table 1)。

非絶食ラットから得たラ氏島を用いた22°Cの実験では、基礎グルコース濃度 (3mM) におけるインスリン分泌は37°Cでの実験に比して有意に抑制されており、グルコース濃度を10mM, 16.7mM と上昇させても、インスリン分泌に有意な上昇は見られなかった (Table 1)。

しかし、この絶食、低温いずれの条件下においても、高濃度 K⁺50mM で細胞膜を脱分極させると、インスリン分泌は明らかに刺激された。さらに50mM K⁺の存在下に16.7mM グルコースで刺激すると、グルコースによって刺激されるインスリン分泌反応が明らかに認められた。非絶食ラットを用いた37°Cの条件下においても、50mM の高濃度 K⁺で細胞膜を脱分極させると、グルコースによって刺激されるインスリン分泌が、明らかに認められることは、すでに報告されている⁹⁾。

Table 3 Glucose oxidation by the islets

Experiment	Glucose (mM) mmol/l	K ⁺ (mM) mmol/l	Glucose oxidized to CO ₂ pmol/25 islets ⁻¹ 60 min ⁻¹
I. Islets of fed rats incubated at 37°C			
Group			
1	3.5	4.7	66.9±22.6
2	16.7	4.7	309.2±62.5*
3	16.7	50	297.0±25.0†
II. Islets of 96 h-fasted rats incubated at 37°C			
Group			
1	3.5	4.7	47.7±10.4
2	16.7	4.7	137.9±51.5*
3	16.7	50	113.1±21.9†
III. Islets of fed rats incubated at 22°C			
Group			
1	3.5	4.7	24.0±9.6
2	16.7	4.7	153.6±39.0*
3	16.7	50	167.0±38.2†

The same batch of islets were used in each experiment: number of tubes was 4-5 for each condition. **P* < 0.01 compared to the value of Group 1. † Not significantly different from the value of Group 2.

B ラ氏島細胞によるグルコース利用

96時間絶食ラットから得たラ氏島を用いた37°Cの実験では、グルコース利用は、基礎グルコース濃度(3mM)において、非絶食ラットのラ氏島に比して有意ではないが低い傾向があった(Table 2)。グルコース濃度を10mM, 16.7mM, 27.8mMと上昇させると、グルコースの濃度依存性にグルコース利用は増加した。16.7mM以上の高濃度グルコースの存在下では、絶食ラットラ氏島のグルコース利用は非絶食ラットラ氏島に比して有意に抑制されていた。

非絶食ラットラ氏島を用いた22°Cの実験では、基礎グルコース濃度(3mM)におけるグルコース利用は、37°Cのコントロール実験に比して有意ではないが低い傾向にあった。グルコース濃度を10mM, 16.7mM, 27.8mMと上昇させると、濃度依存性にグルコース利用は増加したが、22°Cの低温条件下でのグルコース利用は、37°Cのコントロール実験に比して有意に抑制されていた。

インスリン分泌実験と同様に、50mMの高濃度K⁺で細胞膜を脱分極させた状態で、16.7mMの高濃度グルコースを作用させると以下の結果が得られた。非絶食ラットのラ氏島を37°Cでインキュベートした場合、96時間絶食ラットのラ氏島を37°Cでインキュベート

した場合、また非絶食ラットのラ氏島を22°Cの低温でインキュベートした場合のいずれの条件においても、細胞膜の脱分極はグルコース利用の基礎値(3mMグルコースの存在下)および刺激時(16.7mMグルコース存在下)の値に有意な変化をもたらさなかった。

C ラ氏島細胞によるグルコース酸化

96時間絶食ラットのラ氏島を用いた37°Cの条件下では、基礎濃度(グルコース3.5mM)におけるグルコース酸化は、非絶食ラットのラ氏島に比して有意ではないが低い傾向にあった(Table 3)。グルコース濃度を16.7mMに上昇させると、グルコース酸化は増加したが、非絶食ラットに比して強く抑制されていた。

非絶食ラットのラ氏島でのグルコース酸化は、22°Cでも、グルコースを基礎濃度(3.5mM)から16.7mMの高濃度に上昇させた場合明らかに増加した。しかし、いずれのグルコース濃度においても、37°Cの場合に比してグルコース酸化は有意に抑制されていた。

つぎに、50mMの高濃度K⁺で細胞膜を脱分極させた状態で、16.7mMの高濃度グルコースの存在下、グルコース酸化を測定した。96時間絶食ラットのラ氏島(37°Cでインキュベーション)においても、また非絶食ラットのラ氏島(37°Cまたは22°Cインキュベーション)においても、細胞膜の脱分極はグルコース

酸化に有意な変化をもたらさなかった。

IV 考 察

長時間の絶食⁴⁾¹⁵⁾¹⁷⁾および低温¹⁸⁾²⁰⁾は、豚ラ氏島でのグルコース代謝を抑制し、同時にグルコースによって刺激されるインスリン分泌を消失させることが報告されている。したがって、これまではこのような条件下においては、グルコース代謝の抑制が、グルコースによって刺激されるインスリン分泌消失の主因であると考えられていた。

一方、豚B細胞では高濃度 K^+ は細胞膜を脱分極させ²²⁾、電位依存性カルシウムチャネルを開放し、細胞内へのカルシウム流入を来し、細胞内カルシウムの上昇の結果インスリン分泌を惹起する²³⁾とされている。また、高濃度 K^+ によって脱分極させたB細胞でもATP感受性 K^+ チャネルは開放しうる⁸⁾ことが知られている。

こうしたこれまで報告された事実を背景として今回の実験結果を解釈すると以下の通りとなる。

前処置としての96時間絶食、または絶食という前処置のない動物での22°Cという条件下では、単離豚ラ氏島での、高濃度グルコースによって刺激されるインスリン分泌反応は消失していた。しかし、そのような条件下においても、50mMの高濃度 K^+ による細胞膜の脱分極は、グルコースによって刺激されるインスリン分泌反応を、明らかに復活させた。

一方、同様の条件下でのグルコース利用およびグルコース酸化は、コントロールに比して抑制されており、その抑制は50mMの高濃度 K^+ によって細胞膜を脱分極させても解除されることがなかった。したがって、細胞膜の脱分極はグルコース代謝を介さないか、グルコース代謝より遠位の反応経路に作用して、インスリン分泌反応を復活させていると考えられる。

また、ここに示したデータから明らかのように、絶食および低温におけるグルコースによって刺激されるインスリン分泌の消失は、単純にグルコース代謝の抑制だけでは説明できない。つまり、96時間絶食および22°Cの低温下において、確かに16.7mMの高濃度グルコース存在下でのグルコース代謝は有意に抑制されているが、同じ条件下でインスリン分泌の抑制は代謝の抑制よりも著明なものである。また、高濃度 K^+ による細胞膜脱分極によって、グルコース代謝はまったく変化しないが、高濃度グルコースによって刺激されるインスリン分泌は復活する。したがって、絶食およ

び低温によって障害されるグルコースによるインスリン分泌刺激のメカニズムには、グルコース代謝以外の因子が関与していることが示された。

Bedoya ら¹⁵⁾は、96時間絶食ラットを用いて、グルコースによって刺激されるインスリン分泌と、グルコースリン酸化との関係を検討した。彼らによると、96時間絶食ラットのホモジネートしたラ氏島におけるグルコースリン酸化は、ほとんど完全に(90%以上)失われている。その一方で、そうした条件下でも、豚灌流系において、16.7mMの高濃度グルコースはインスリン分泌を、弱いながら(コントロールの25%)、明らかに刺激した。彼らのデータは、グルコースのリン酸化が90%以上抑制されるという点で本実験の結果とは異なるものである。ホモジネートしたラ氏島を用いている点は、本研究の方法と異なっているので、これを単純に比較することはできない。しかし多くの報告⁴⁾¹⁶⁾¹⁷⁾においては、長時間絶食ラットから得られたラ氏島細胞でのグルコース代謝は、コントロールの75%程度まで低下しており、これらの報告は、本研究のデータとはほぼ一致している。

グルコースによって惹起される豚B細胞の反応に、低温がどのような影響を与えるかについては、Atwater ら¹⁹⁾の報告がある。その結果は本研究のデータと一致するものである。すなわち、低温条件はグルコースによって刺激されるインスリン分泌を強力に抑制するが、その一方で、同様の条件下でのグルコースによって惹起される細胞内へのカルシウムイオンの流入や膜脱分極反応は、それほど強くは抑制しない。また、Escolar ら¹⁸⁾も、低温によるインスリン分泌の抑制は、単純にグルコース利用、グルコース酸化の抑制のみでは説明できないことを示している¹⁸⁾¹⁹⁾。

なお、本実験では全て、B細胞以外にもA細胞やD細胞が共存しているラ氏島を使用している。しかし、このような実験系でのラ氏島におけるグルコース代謝はおもにB細胞でのグルコース代謝を反映している²⁴⁾ことが知られており、結果の解釈は妥当であると考えられた。

以上のデータより、本実験の結果は、ラット豚B細胞において、細胞膜の脱分極が2つの役割を持っているというSato ら⁹⁾の仮説を支持する。すなわち、細胞膜の脱分極は、一方でインスリン分泌を直接刺激するが、他方ではグルコース代謝を介することなく、グルコースによって直接刺激されるインスリン分泌のシグナリングを活性化する。ただし、22°Cの低温条件下

では K^+ 脱分極によって活性化されたグルコース刺激によるインスリン分泌の絶対量はごくわずかであり、その意味でグルコース代謝の低下が、インスリン分泌に抑制的に作用している可能性は大きい。また、本実験の結果は、絶食または低温によってインスリン分泌が抑制されるメカニズムが、単純にグルコース代謝の抑制のみでは説明できないことを明らかにした。

V 結 語

ラット膵B細胞において、細胞膜の脱分極が、グルコースによって刺激されるインスリン分泌とグルコース代謝に対して、どのような影響を与えるかを明らかにする目的で実験を行った。そのために、グルコース代謝を強く抑制する絶食、低温という特殊な条件を設

定した。実験の結果、細胞膜の脱分極が、グルコース代謝をまったく促進せずに、グルコースによって刺激されるインスリン分泌を増強することが判明した。また、絶食または低温によるインスリン分泌抑制のメカニズムが、グルコース代謝の抑制のみでは説明できないことが明らかとなった。

本研究の要旨は、第36回日本糖尿病学会年次学術集会(1993年5月, 仙台), The 53rd Annual Meeting of American Diabetes Association (1993年6月, Las Vegas) にて発表した。稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました橋爪潔志教授ならびに相澤 徹助教授に謝意を表します。

文 献

- 1) Dean PM, Matthews EK : Glucose-induced electrical activity in pancreatic islet cells. *J Physiol (Lond)* 210 : 255-264, 1970
- 2) MacDonald MJ : Elusive proximal signals of B-cells for insulin secretion. *Diabetes* 39 : 1461-1466, 1990
- 3) Thorens B, Sarker HK, Kaback HR, Lodish HF : Cloning and functional expression in bacteria of a novel glucose transporter present in liver, intestine, kidney and beta-pancreatic islet cells. *Cell* 55 : 281-290, 1988
- 4) Meglasson MD, Matschinsky FM : Pancreatic islet glucose metabolism and regulation of insulin secretion. *Diabetes Metab Rev* 2 : 163-214, 1986
- 5) Cook DL, Taborsky GJJr : B-cell function and insulin secretion. In: Rifkin H, Porte DJr (eds) *Diabetes mellitus*. pp 89-103, Elsevier, New York, 1990
- 6) Ozawa S, Sand O : Electrophysiology of excitable endocrine cells. *Physiol Rev* 66 : 887-952, 1986
- 7) Henquin JC, Charles S, Nenquin M, Mathot F, Tamagawa T : Diazoxide and D600 inhibition of insulin release : distinct mechanisms explain the specificity for different stimuli. *Diabetes* 31 : 776-783, 1982
- 8) Gembal M, Gilon P, Henquin JC : Evidence that glucose can control insulin release independently from its action on ATP-sensitive K^+ channels in mouse B cells. *J Clin Invest* 89 : 1288-1295, 1992
- 9) 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
- 10) Lacy PE, Kostianovsky M : Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. *Diabetes* 16 : 35-39, 1967
- 11) Komatsu M, Aizawa T, Yokokawa N, Sato Y, Okada N, Takasu N, Yamada T : Mastoparan-induced hormone release from rat pancreatic islets. *Endocrinology* 130 : 221-228, 1992
- 12) Komatsu M, Yokokawa N, Takeda T, Nagasawa Y, Aizawa T, Yamada T : Pharmacological characterization of the voltage-dependent calcium channel of pancreatic B-cell. *Endocrinology* 125 : 2008-2014, 1989
- 13) Miwa I, Murata T, Okuda J : Alpha-and beta-anomeric preference of glucose-induced insulin secretion at physiological and higher glucose concentration, respectively. *Biochem Biophys Res Commun* 180 : 709-715, 1991
- 14) McDaniel ML, King S, Anderson S, Fink J, Lacy PE : Effect of cytochalastin B on hexose transport and

- glucose metabolism in pancreatic islets. *Diabetologia* 10 : 303-308, 1974
- 15) Bedoya FJ, Ramirez R, Arrila E, Goberna R : Effect of 2-bromostearate on glucose-phosphorylating activities and the dynamics of insulin secretion in islets of Langerhans during fasting. *Diabetes* 33 : 858-863, 1984
 - 16) Malaisse WJ, Sener A, Levy J : The stimulus-secretion coupling of glucose-induced insulin release. Fasting-induced adaptation of key glycolytic enzymes in isolated islets. *J Biol Chem* 251 : 1731-1737, 1976
 - 17) Malaisse WJ, Malaisse-Lagae F : Hexose metabolism in pancreatic islets. Oxidative response to D-glucose in fed and starved rats. *Acta Diabetol* 29 : 94-98, 1992
 - 18) Escolar JC, Hoo-Paris R, Castex Ch, Sutter BChJ : Effect of low temperatures on glucose-induced insulin secretion and glucose metabolism in isolated pancreatic islets. *J Endocrinol* 125 : 45-51, 1990
 - 19) Atwater I, Goncalves A, Herchuelz A, Lebrun P, Malaisse WJ, Rojas E, Scott A : Cooling dissociates glucose-induced insulin release from electrical activity and cation fluxes in rodent pancreatic islets. *J Physiol (Lond)* 348 : 615-627, 1984
 - 20) Dawson CM, Lebrun P, Herchuelz A, Malaisse WJ, Gocalves AA, Atwater I : Effect of low temperature upon potassium stimulated insulin release and calcium entry in mouse and rat islets. *Horm Metab Res* 18 : 221-224, 1986
 - 21) Keppel G : Correction for multiple comparisons. In : *Design and analysis : a researcher's handbook*. pp 144-166 Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1982
 - 22) Dean PM, Matthews EK : Electrical activity in pancreatic islet cells : effect of ions. *J Physiol (Lond)* 210 : 265-275, 1970
 - 23) Henquin JC, Lambert AE : Cationic environment and dynamics of insulin secretion. II. Effect of a high concentration of potassium. *Diabetes* 23 : 933-942, 1974
 - 24) Mercan D, Delville JP, Leclercq-Meyer V, Malaisse WJ : Preferential stimulation by D-glucose of oxidative glycolysis in pancreatic islets : comparison between B and non-B cells. *Biochem Mol Biol Int* 29 : 475-481, 1993

(5. 12. 3 受稿)