合成ソマトスタチンのラット摘出膵島および 末梢組織におよぼす作用

東京慈恵会医科大学第3内科

(主任: 阿部正和教授)

阪 本 要 一, 井 出 幸 子, 南 信 明, 田 嶋 尚 子
山 田 治 男, 池 田 義 雄, 種 瀬 富 男, 阿 部 正 和

Effects of Somatostatin on Pancreatic Islets and Peripheral Tissues of Rats

**Yoichi SAKAMOTO, Yukiko IDE, Nobuaki MINAMI, Naoko TAJIMA,
Haruo YAMADA, Yoshio IKEDA, Tomio TANESE and Masakazu ABE**

The 3rd Department of Internal Medicine,
Jikei University School of Medicine,
Tokyo, Japan
(Director, Prof. Masakazu ABE, M.D.)

This study was performed in order to evaluate the effects of somatostatin on insulin releasing mechanisms and on glucose uptake in peripheral tissues using isolated pancreatic islets, isolated rat diaphragms and epididymal fat pads.

Insulin release by various concentrations of glucose were examined, and it was found that 100 ng/ml of somatostatin significantly inhibited insulin release at the glucose concentration of 200 mg/dl.

Somatostatin also significantly inhibited insulin release by the administration of 5 μ g/ml of glucagon with 200 mg/dl of glucose concentration and 20 mM of arginine with 200mg/dl of glucose concentration. But at the glucose concentration of 50mg/dl, no significant inhibition of somatostatin on insulin release was observed even when various concentrations of glucagon or arginine were added.

The influence of somatostatin on peripheral tissues was examined in vitro, and no significant change on glucose uptake compared with the control group was shown in either tissues.

The results indicated that somatostatin directly inhibited insulin release from rat pancreatic islets but had no effect on glucose uptake in peripheral tissues.

The inhibitory effect of somatostatin on insulin release may act through the common mechanism of both glucose and other substances in leading to insulin release.

緒 言

ソマトスタチン (somatostatin, GHRIH) はインスリンをはじめとする各種のホルモン分泌を抑制することが知られている¹⁾¹⁷⁾。私たちはソマトスタチンのインスリン分泌抑制効果が膵島に作用して起きるのか否かをラット摘出膵島を用いる in vitro の実験で観察した。同時にインスリン分泌刺激物質であるグルカゴン、アルギニンによるインスリン分泌に対してソマトスタチンがどのように影響するかについても観察した。

一方、ソマトスタチンには血糖降下作用のあることが認められているが⁹⁾¹⁴⁾、その作用が末梢組織に対する直接効果によるものなのか否かを知るために、ラットの摘出横隔膜および、副辜丸脂肪組織（以下副辜脂と略す）を用いる in vitro の実験で、組織へのブドウ糖取り込みに対する効果の有無について観察した。以上の実験結果をもとにソマトスタチンのインスリン分泌抑制および血糖降下作用の機序に関して考察を加えた。

実 験 方 法

1) 摘出膵島の実験

自由に食餌を与えた体重 300～400 g の Donryu 系雄性ラットから Lacy らの方法の変法¹⁸⁾で膵島を摘出した。すなわち、切除した膵臓を 5 ml の Hank's 液中で小フラスコに移し、37℃に保った温水中で約 7～8 分間強振し、collagenase 30mg で膵臓を消化させ、膵島を鏡検下で摘出した。摘出膵島を 5 コずつブドウ糖 50mg/dl を含む pH7.4 の Krebs Ringer Bicarbonate Buffer（以下 KRB と略す）2 ml 中で 37℃、95%O₂、5%CO₂ の気相下で 30 分間予じめ孵置した。このさい KRB 中には 0.2% 牛血清 albumin、10% Trasylol を添加した。その後 60 分間にわたって分泌されるインスリン量を各種ブドウ糖濃度（50, 100, 200, 400 および 800 mg/dl）で観察する単独群とソマトスタチン 100 ng/ml を含む添加群とで比較した。さらにブドウ糖濃度 50 および 200 mg/dl の条件下でインスリン分泌刺激物質としてグルカゴン（1.67, 5 μg/ml）またはアルギニン（5, 10 および 20 mM）を添加したさいのインスリン分泌に 100 ng/ml のソマトスタチンがどのように影響するかを検討した。

2) 摘出横隔膜および副辜脂の実験

(1) ラット摘出横隔膜の実験：体重 80～100 g の Donryu 系雄性ラットを断頭後直ちに開腹、横隔膜を摘出、左右に 2 分し、それぞれを氷冷した KRB にひたしておく。30 分後、100mg/dl の濃度のブドウ糖を含む KRB 1 ml を入れたフラスコに、左右半片の横隔膜をそれぞれ一片ずつ移しかえる。それから 90 分間、37℃の好氣的条件下で孵置し、その前後のブドウ糖濃度差から組織へのブドウ糖とりこみ量を測定した。その際、インスリン 1000 μU/ml をメジウムに添加し、このインスリン効果に及ぼすソマトスタチン（5.5, 55, 550 μg/ml）の影響を観察した。なおブドウ糖のとりこみ（glucose uptake）は mg/100mg 乾燥重量/90 分として表現した。

(2) ラット摘出副辜脂の実験：体重 80～100 g の Donryu 系雄性ラットを断頭後直ちに開腹、副辜脂を摘出、KRB にひたし、室温で湿重量約 30mg の組織片に調整する。各一片を KRB 1 ml を入れたフラスコに入れ、摘出横隔膜の場合と同じ要領でソマトスタチンのインスリン効果に対する影響を観察した。ただし、副辜脂の場合は孵置時間を 240 分とし、インスリン添加量は 100 μU/ml とした。

なおラットの摘出横隔膜および副辜脂を用いる in vitro の実験の詳細は、竹内²²⁾、池田¹¹⁾の報告にならった。

使用したソマトスタチンは環状型合成ソマトスタチンで、血糖はブドウ糖酸化酵素法、インスリン（IRI）はファデバス・インスリンキットを用いた。

実験成績

1) 摘出膵島の実験

各種ブドウ糖濃度群およびソマトスタチン100ng/ml添加群について、5コの膵島よりの60分間におけるインスリン分泌量を比較した成績をFig. 1に示した。ブドウ糖濃度200mg/dlでの単独群におけるインスリン分泌量は 40.17 ± 3.72 ngであるのに対して、ソマトスタチン添加群は 24.84 ± 2.90 ngと有意($P < 0.01$)の抑制を認めた。しかしその他のブドウ糖濃度、すなわち50, 100, 400および800mg/dlでは両群間に有意差を認めなかった。

Fig. 1 Effect of somatostatin on glucose induced insulin release from isolated rat islets after 60 min. of incubation

Fig. 2 Effect of somatostatin on glucagon stimulated insulin release from isolated rat islets after 60 min. of incubation

次にインスリン分泌刺激物質としてグルカゴンを添加した場合の成績を Fig. 2 に示した。まず、グルカゴンのインスリン分泌刺激効果はブドウ糖濃度 50mg/dl の条件下では確認できなかった。すなわち、グルカゴン 1.67, および 5 μ g/ml の添加では摘出膵島からのインスリン分泌量が、グルカゴン無添加の場合と差のないことが分かった。またこの条件下ではソマトスタチンのインスリン分泌抑制効果もみられなかった。ブドウ糖濃度 200mg/dl では、5 μ g/ml のグルカゴン添加でインスリン分泌量の増加が認められた。すなわち、ブドウ糖 200mg/dl の単独添加では 40.17 ± 3.72 ng であるものが、これにグルカゴン 5 μ g/ml を添加すると 64.63 ± 5.54 ng に増加した ($P < 0.01$)。この条件下でさらにソマトスタチン 100ng/ml を添加すると、有意なインスリン分泌の抑制を認めた。すなわち 64.63 ± 5.54 ng のインスリン分泌量がソマトスタチンの添加により 45.56 ± 3.61 ng と減少した ($P < 0.02$)。

次にアルギニン添加の実験成績を Fig. 3 に示した。グルカゴンの場合と同様にブドウ糖濃度 50mg/dl ではアルギニン添加の有無にかかわらず膵島からのインスリン分泌量に差はみられなかった。またこの条件下ではソマトスタチンのインスリン分泌抑制効果もみられなかった。ブドウ糖濃度を 200mg/dl にすると、アルギニン 20mM の添加によりインスリン分泌量の増加が認められた (40.17 ± 3.72 ng $\rightarrow$ 56.94 ± 3.58 ng, $P < 0.01$)。この条件下で 100ng/ml のソマトスタチンを添加すると有意のインスリン分泌の抑制を認めた (56.94 ± 3.58 ng $\rightarrow$ 17.09 ± 3.08 ng, $P < 0.001$)。

2) 摘出横隔膜および副睪脂の実験

ブドウ糖濃度 100mg/dl の条件におけるラット摘出横隔膜へのブドウ糖とりこみはインスリン 1000 μ U/ml の添加により促進するが、この条件で各種濃度のソマトスタチンを添加し、インスリン効果に対する影響をみた。その結果は Fig. 4 に示すようである。

インスリン単独添加群のブドウ糖とりこみは 0.96 ± 0.05 , (mg/100mg dry tissue/90min.) であり、ソマトスタチン 5.5, 55 および 550 μ g/ml を添加した群ではそれぞれ 0.94 ± 0.07 , 0.87 ± 0.04 , 0.94 ± 0.04 とソマトスタチン添加の有無により有意差は認められなかった。

次に副睪脂を用いた in vitro の実験成績を Fig. 5 に示した。インスリン 100 μ U/ml と、それにソマトスタチン 550 μ g/ml を加えた時のブドウ糖取り込みはそれぞれ 0.64 ± 0.06 , (mg/100mg dry tissue/4hrs.) および 0.58 ± 0.04 で、横隔膜の場合と同様にソマトスタチン添加の有無により有意差は認められなかった。

Fig. 3 Effect of somatostatin on arginine stimulated insulin release from isolated rat islets after 60 min. of incubation

Fig. 4 Effect of somatostatin and insulin on glucose uptake by rat hemidiaphragms *in vitro*

実験成績に対する考察

1973年 Brazeau ら²⁾によって抽出、精製されたソマトスタチンは、その後 Alberti ら¹⁾によってヒトでインスリンの基礎分泌と、ブドウ糖静注後の追加分泌を抑制することが明らかにされた。彼らはまた、イヌの脾灌流実験でもソマトスタチンがブドウ糖刺激によるインスリン分泌の第1相および第2相のいずれをも抑制することを認めた。その後 Mortimer ら¹⁷⁾により、正常者および糖尿病患者で、ソマトスタチンはグルカゴンの基礎分泌とアルギニン静注後の追加分泌を抑制することが明らかにされた。これらの事実からソマトスタチンは脾臓に直接作用して、インスリンやグルカゴンの分泌を抑制する作用を有するものと考えられるに至った。

Fig. 5 Effect of somatostatin and insulin on glucose uptake by rat adipose tissue *in vitro*

一方, Luft ら¹⁶⁾は免疫組織学的研究によりモルモット, ラットの膵島内にソマトスタチン様の活性を持った細胞の存在を証明した。以上の事実よりソマトスタチンは単に成長ホルモンの分泌抑制因子として作用するのみならず, 膵島内にあってインスリンおよびグルカゴンの分泌を調節し, 広く生体内に関与している可能性のあることが示唆され, 急激に関心が高まってきたのである。

今回の私たちの実験は, ラット摘出膵島を利用して, さらに直接的にソマトスタチンのインスリン分泌抑制効果に検討を加えてみたものである。その結果, ソマトスタチンは100ng/mlの濃度で200mg/dl のブドウ糖濃度における摘出膵島からのインスリン分泌を有意に抑制することが分かった。摘出膵島を利用した実験

でソマトスタチンのインスリン分泌抑制効果を検討したこれまでの報告はいくつかある。すなわち, Oliver¹⁹⁾, Okamoto¹⁸⁾, Taminato²³⁾, Efendic⁶⁾らは, インスリン分泌に対して有意な抑制作用のあることをみているが, 一方 Efendic⁴⁾, Johnson¹³⁾, Sieradzki²⁰⁾は抑制をみなかったという成績を得ている。このように一定しない成績が得られている原因は膵島摘出操作にあることがまず考えられる。すなわち, 膵組織に対する collagenase 処理によって A, B 細胞が障害されることに原因のあることが考えられるのである。そこで私たちは collagenase 処理時間を Lacy らの原法¹⁵⁾のように20分間とした摘出膵島と, 7~8分と短時間で処理した膵島について, ブドウ糖濃度200mg/dl, ソマトスタチン100ng/mlの条件で比較してみた。その結果は Fig. 6 で示す如く, 7~8分間の短時間処理群では, ソマトスタチンが摘出膵島からのインスリン分泌を有意に抑制したにもかかわらず, 20分間処理群では有意な抑制を認めなかった。この事実からも collagenase による B 細胞の障害がインスリン分泌に影響していることが理解できる。

Fig. 6 Difference in IRI release by preparation time with collagenase (glucose 200mg/dl)

次にインスリン分泌刺激物質であるグルカゴンおよびアルギニンによるインスリン分泌促進作用がソマトスタチンによってどのような影響を受けるかを検討した。その結果グルカゴンおよびアルギニンともにブドウ糖濃度が低濃度の場合は、摘出膵島からのインスリン分泌刺激効果はみられないこと、またこの条件下ではソマトスタチンのインスリン分泌抑制効果もみられないことが分かった。しかし、ブドウ糖濃度を 200 mg/dl と高濃度にすると、5 μ g/ml のグルカゴン、20mM のアルギニンいずれもインスリン分泌量を増加させ、その条件で 100ng/ml のソマトスタチンを添加すると有意なインスリン分泌の抑制をみた。ヒトでグルカゴン静注時のインスリン分泌がソマトスタチンによって抑制されることは、Gerich⁷⁾らにより認められているが、私たちの摘出膵島の実験でも同様に認められたといえよう。グルカゴンのインスリン分泌刺激効果は c-AMP を介して発揮されると解されているので、ソマトスタチンによるグルカゴンのインスリン分泌刺激効果の抑制は、c-AMP 系が強く関与していることが予想される。

一方、Sieradzki ら²⁰⁾は、ソマトスタチンのインスリン分泌抑制効果は A 細胞を介してグルカゴン分泌をまず抑制し、その結果インスリン分泌が抑制される可能性を述べている。しかし、ブドウ糖およびグルカゴン刺激による摘出膵島からのインスリン分泌がソマトスタチンによって抑制されるという結果から考えると、その可能性は否定的といえる。アルギニン刺激¹⁷⁾によるインスリン分泌もソマトスタチンによって抑制されることがヒトで観察されているが、私たちの摘出膵島実験においても同じような事実が認められた。このように、ソマトスタチンは、機序が異なると思われる各種インスリン分泌刺激物質によるインスリン分泌を抑制したが、これはソマトスタチンの作用効果が多方面にわたっているか、あるいはインスリン分泌刺激物質に共通する作用部位があって、それにソマトスタチンが作用してインスリン分泌を抑制するとも考えられる。以下この点について考察してみよう。

Fig. 7 Effect of somatostatin on glucose-insulin dose-response relation (Lineweaver-Burke plot)

ソマトスタチンのインスリン分泌抑制機序に関しては、従来さまざまな面から検討が加えられている。E-fendic ら⁵⁾は、膵灌流実験でブドウ糖刺激によるインスリン分泌に対してソマトスタチンはブドウ糖と競合的に作用して、インスリン分泌を抑制することを観察している。この事実により、ソマトスタチンがB細胞膜のグルコ・リセプターでブドウ糖と競合し、インスリン分泌を抑制する可能性があると述べている。今回

の私たちの摘出臓島を用いた実験成績を Lineweaver-Burke のプロットに表わしてみると, Fig. 7 に示すように, ソマトスタチンとブドウ糖とが競合的に作用している可能性を示唆している. さらにまた, collagenase 処理時間により成績が異なることは, collagenase が B 細胞膜のグルコ・リセプターを破壊したためとも説明できよう.

Smith ら²¹⁾は, イヌに α -ブロッカーである phentolamine を使用し, ソマトスタチンの効果が phentolamine によって妨げられることを見出した. そしてソマトスタチンは α -リセプターを介して作用すると主張したのである.

一方, Efendic ら⁶⁾は, 摘出臓島を用いる実験でメジウム中の c-AMP の貯留に及ぼすソマトスタチンの影響を観察した. その結果, 500ng/ml のソマトスタチンは, 500mg/dl のブドウ糖刺激による摘出臓島からのインスリン分泌を抑制し, 同じ条件下でメジウム中への ³Hc-AMP の蓄積が有意に減少したという成績を得ている. このことからソマトスタチンは B 細胞内での c-AMP の産生を抑制することを介して作用を発揮すると考えることができる. ところが dbc-AMP によるインスリン分泌効果がソマトスタチンによって抑制される事実²³⁾や, アデニールサイクラゼの活性因子である isoproterenol や, 細胞内 c-AMP の不活性化促進因子である theophylline のグルカゴン分泌効果をソマトスタチンが抑制するという事実から, Gerich¹⁰⁾らは, ソマトスタチンは直接細胞内の c-AMP レベルを変化させると考えるより, c-AMP 依存系に作用してその効果を発現すると考える方がよいと述べている.

Curry ら³⁾は, ラット灌流臓を用いた実験で, また Taminato ら²³⁾も摘出臓島を用いた実験で, メジウム中の Ca イオン濃度を高濃度にするソマトスタチンのインスリン分泌抑制効果が消失することを見出し, ソマトスタチンのインスリン分泌抑制効果はインスリン分泌における Ca 作用の阻害にもとづいてると述べている.

ここでソマトスタチンのインスリン分泌抑制機序をまとめてみると次のようになる. すなわち, ① B 細胞膜のグルコ・リセプターでブドウ糖と競合する, ② 細胞膜の α -リセプターを介して作用する, ③ c-AMP の産生を抑制して作用する, ④ c-AMP 依存系を介して作用する, ⑤ インスリン分泌における Ca イオンの作用を阻害する, などのいろいろな機序が考えられることになる. おそらく複雑な機序が予想されるが, 今後さらに検討され解明されることが期待される.

次にソマトスタチンの in vivo における血糖降下作用について考察をすすめてみたい. この効果は, ヒトやヒトでとくに強力に発揮されるというように, 作用に種差が認められているが, インスリン分泌を抑制するにもかかわらず血糖を降下させることはきわめて興味のある点である. 井村ら¹²⁾は, その血糖降下作用の発現機序として, ① グルカゴン分泌を抑制し, それによって肝よりのブドウ糖産生を抑制する, ② 肝に直接作用してブドウ糖産生を抑制する, ③ 末梢組織における糖利用を促進する, ④ 成長ホルモン分泌を抑制して糖利用を促進するなどのいくつかの可能性を考えている.

私たちはラットの摘出横隔膜および摘出副辜脂を利用する in vitro の実験で, ソマトスタチンが末梢組織におけるブドウ糖利用を促進する作用を有するか否かを検討した. その結果, ソマトスタチンはいずれの組織においてもブドウ糖利用に対して促進的效果を発揮しなかった. 私たちの使用したソマトスタチンは 5.5 ~ 550 μ g/ml と非生理的な高濃度ではあったが, 生理的にも末梢組織におけるブドウ糖利用は促進しないものと考えられる. Gerich ら⁹⁾も私たちと同様に, ラットの横隔膜を使用した実験で, ソマトスタチンが末梢組織における糖利用に影響しなかったと報告している.

また, 下垂体摘出患者⁹⁾においてもソマトスタチンは血糖を降下させることから, 成長ホルモンを介して血糖を降下させることも考えにくい. そこでソマトスタチンの血糖降下作用はグルカゴン分泌を抑制し, 肝よりのブドウ糖産生を抑制することと, 肝に直接作用してブドウ糖産生を抑制するという2つの機序が考えられる. そのうらづけとしては Gerich ら^{8) 9)}によるヒトでソマトスタチンを静脈内に投与すると, グルカ

ゴンの値が低下するとともに、血糖値が下降するという成績や、インスリン依存性の糖尿病患者で、アルギニンと同時にソマトスタチンを投与するとグルカゴンの分泌が抑制され血糖上昇が抑えられるという成績、O-liver¹⁹⁾による遊離肝細胞を用いる実験でソマトスタチンがグルカゴンによるグリコーゲン分解促進作用を抑制した成績などがあげられる。

総 括

合成ソマトスタチンを利用し、ラット摘出膵島からのインスリン分泌およびラット摘出横隔膜、摘出副睾丸脂肪組織におけるブドウ糖利用に対する作用を検索し、次の結果を得た。

1) ラット摘出膵島を用いる実験で、100ng/mlのソマトスタチンは、200mg/dlのブドウ糖刺激によるインスリン分泌を抑制した。

2) インスリン分泌刺激物質であるグルカゴンおよびアルギニンを用いた実験でも、100ng/mlのソマトスタチンは、200mg/dlブドウ糖の条件下で、5 μ g/mlのグルカゴン、20mMのアルギニンによるインスリン分泌を抑制した。

3) ラット横隔膜および副睾丸脂肪組織を用いた実験で、これらの組織におけるブドウ糖利用におよぼすソマトスタチンの効果は認められなかった。

合成ソマトスタチンを御提供下さった静岡薬科大学矢内原昇教授に厚く感謝します。

なお本論文の要旨は第2回神経内分泌シンポジウム(1975年10月, 神戸)および第49回日本内分泌学会総会(1976年6月, 東京)において発表した。

文 献

- 1) Alberti, K.G.M.M., Christensen, N.J., Christensen, S.E., Hansen, A.P., Iversen, J., Lundbaek, K., Seyer-Hansen, K. and Ørskov, H.: Inhibition of insulin secretion by somatostatin. *Lancet* ii: 1299–1301, 1973.
- 2) Brazeau, P., Vale, W., Burgus, R., Ling, N., Butcher, M., Rivier, J. and Guillemin, R.: Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 179: 77–79, 1973.
- 3) Curry, D.L., and Bennett, L.L.: Reversal of somatostatin inhibition of insulin secretion by calcium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 60: 1015–1019, 1974.
- 4) Efendic, S., Luft, R. and Grill, V.: Effect of somatostatin on glucose induced insulin release in isolated perfused rat pancreatic and isolated rat pancreatic islets. *FEBS Letters* 42: 169–172, 1974.
- 5) Efendic, S. and Luft, R.: Studies on the inhibitory effect of somatostatin on glucose induced insulin release in the isolated perfused rat pancreas. *Acta Endocrinol.* 78: 510–515, 1975.
- 6) Efendic, S. and Grill, V. and Luft, R.: Inhibition by somatostatin of glucose induced 3':5'-monophosphate (cyclic AMP) accumulation and insulin release in isolated pancreatic islets of the rat. *FEBS Letters* 55: 131–133, 1975.
- 7) Gerich, J.E., Lorenzi, M., Schneider, V. and Forsham, P.H.: Effect of somatostatin on plasma glucose and insulin responses to glucagon and tolbutamide in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39: 1057–1060, 1974.
- 8) Gerich, J.E., Lorenzi, M., Schneider, V., Kwan, C.W., Karam, J.H., Guillemin, R., and Forsham, H.: Inhibition of pancreatic glucagon responses to arginine by somatostatin in normal man and in insulin-

- dependent diabetics. *Diabetes* 23: 876–880, 1974.
- 9) Gerich, J.E., Lorenzi, M., Hane, S., Gustafson, G., Guillemin, R. and Forsham, H.: Evidence for a physiologic role of pancreatic glucagon in human glucose homeostasis: Studies with somatostatin. *Metabolism* 24: 175–182, 1975.
- 10) Gerich, J.E., Lovinger, R. and Grodsky, G.M.: Inhibition by somatostatin of glucagon and insulin release from the perfused rat pancreas in response to arginine, isoproterenol and theophylline: evidence for a preferential effect on glucagon secretion. *Endocrinology* 96: 749–755, 1975.
- 11) 池田義雄：ラット剔出副率丸脂肪組織法による血中インスリン様活性定量に関する研究，慈恵医大雑誌，82: 1003–1011, 1967.
- 12) 井村裕夫，清野 裕，田港朝彦，桜井英雄：ソマトスタチンと糖尿病，最新医学，30: 1912–1923, 1975.
- 13) Johnson, D.G., Ensink, J.W., Koerker, D., Palmer, J. and Goodner, C.J.: Inhibition of glucagon and insulin secretion by somatostatin in the rat pancreas perfused in situ. *Endocrinology* 96: 370–374, 1975.
- 14) Koerker, D.J., Ruch, W., Chideckel, E., Palmer, J., Goodner, C.J., Ensink, J. and Gale, C.C. Somatostatin: hypothalamic inhibitor of the endocrine pancreas. *Science* 184: 482–484, 1974.
- 15) Lacy, P.E. and Kostianovsky, M.: Method for the isolation of intact islets of langerhans from the rat pancreas. *Diabetes* 16: 35–39, 1967.
- 16) Luft, R., Efendic, S., Hökfelt, T., Johansson, O. and Arimura, A.: Immunohistochemical evidence for the localization of somatostatin-like immunoreactivity in α cell population of the pancreatic islets. *Med. Biol.* 52: 428–430, 1974.
- 17) Mortimer, C.H., Tunbridge, W.M.G., Carr, D., Yeomans, L., Lind, T., Coy, D.H., Bloom, S.R., Kastin, A., Mallinson, C.N., Berrer, G.M., Schally, A.V. and Hall, R.: Effects of growth-hormone release-inhibiting hormone on circulating glucagon, insulin, and growth hormone in normal, diabetic, acromegalic, and hypopituitary patients. *Lancet* i: 697–701, 1974.
- 18) Okamoto, H., Noto, Y., Miyamoto, S., Mabuchi, H. and Takeda, R.: Inhibition by somatostatin of insulin release from isolated pancreatic islets. *FEBS Letters* 54: 103–105, 1975.
- 19) Oliver, J.R. and Wagle, S.R.: Studies on the inhibition of insulin release, glycogenolysis and gluconeogenesis by somatostatin in the rat islets of Langerhans and isolated hepatocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 62: 772–777, 1975.
- 20) Sieradzki, J., Schatz, H., Nierle, C. and Pfeiffer, E.F. Somatostatin-induced inhibition of insulin secretion from isolated islets of rat pancreas in presence of glucagon. *Horm. Metab. Res.* 7: 284–287, 1975.
- 21) Smith, P.H., Woods, S.C. and Porte, D. Jr.: Phentolamine blocks the somatostatin-mediated inhibition of insulin secretion. *Endocrinology* 98: 1073–1076, 1976.
- 22) 竹内節弥：ラット横隔膜法による Insulin 定量法，日本内分泌学会雑誌，34: 13–30, 1958.
- 23) Taminato, T., Seino, Y., Goto, Y. and Imura, H., Interaction of somatostatin and calcium in regulating insulin release from isolated pancreatic islets of rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 66: 928–934, 1975.