

膵ソマトスタチン受容体の結合特性に関する研究(第2報)

Phorbol ester, 及びDiacylglycerolのラット膵腺房細胞細胞膜への
ソマトスタチン結合に及ぼす効果

神戸大学医学部 第2内科学教室

的 崎 尚, 坂 本 長 逸
長 尾 宗 彦, 馬 場 茂 明

Phorbol Ester or Diacylglycerol Modulates Somatostatin Binding to
Its Receptors on Rat Pancreatic Acinar Cell Membranes

**Takashi MATOZAKI, Choitsu SAKAMOTO,
Munehiko NAGAO and Shigeaki BABA**

The Second Department of Internal Medicine,
Kobe University School of Medicine,
Kobe 650, Japan

To clarify the precise mechanism by which unrelated peptides, cholecystokinin or carbamylcholine, modulate the somatostatin binding, the effect of a phorbol ester, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) or a synthetic diacylglycerol analog, 1-oleyl-2-acetyl-glycerol (OAG) on [^{125}I -Tyr 1] somatostatin binding to pancreatic acinar cell membranes was examined.

Pretreatment of pancreatic acini for 120 min at 37°C with 100 ng/ml TPA maximally reduced subsequent labeled somatostatin binding to acinar membranes. The inhibitory effect of TPA on the somatostatin binding was dependent on the dose used, or the time and temperature of pretreatment. These effects of TPA were almost mimicked by the treatment of acini with OAG. Scatchard analysis of [^{125}I -Tyr 1] somatostatin binding demonstrated that the decrease in the labeled somatostatin binding induced by TPA or OAG pretreatment was due to the decrease in the maximum binding capacity without a significant change in the binding affinity.

A specifically labeled single band of the Mr = 90 K obtained with a photoaffinity cross-linking study indicates that the somatostatin binding sites are the same somatostatin receptor as previously described. Moreover, the intensity of the Mr = 90 K band was dramatically decreased when acini were treated with increasing concentrations of TPA, a finding consistent with TPA-induced decrease in binding capacity. Such an inhibitory effect of TPA was abolished when pretreatment of acini with TPA was performed in the presence of Ca $^{2+}$ chelating compounds such as EDTA and EGTA.

Interestingly, the combined treatment of TPA and Ca $^{2+}$ ionophore A23187 caused

synergistic inhibition of the subsequent labeled somatostatin binding to acinar membranes, although Ca^{2+} ionophore itself almost failed to affect the somatostatin binding.

These results suggest, therefore, that 1) TPA or OAG can modulate somatostatin binding to its receptors on rat pancreatic acinar cell membranes, presumably through activation of Ca^{2+} -activated, phospholipid-dependent protein kinase (protein kinase C) and 2) the activated protein kinase C and intracellular Ca^{2+} mobilization presumably act to modulate pancreatic acinar somatostatin receptors synergistically.

I. 緒 言

我々は、本研究第1報¹⁴⁾において、ラット単離膵腺房細胞細胞膜に対するソマトスタチン結合が cholecystokinin (CCK) 及び carbamylcholine により活性化された Ca^{2+} 依存性の細胞内過程により制御される事を明らかにした。CCK やコリン作動薬は、従来より細胞内 Ca^{2+} 移動を介して、酵素分泌等の細胞内応答反応を惹起する¹⁹⁾とされているが、血小板⁶⁾や、膵ラ氏島B細胞²⁰⁾を用いた最近の一連の研究によれば、細胞内 Ca^{2+} 移動を伴う刺激伝達系において、同時に細胞膜リン脂質の分解が促され、この結果活性化された Ca^{2+} リン脂質依存性蛋白キナーゼ (Cキナーゼ) が、種々の生物学的反応を誘導する事¹⁰⁾が明らかにされている。CCK やコリン作動薬も、細胞膜リン脂質代謝回転を刺激する事¹⁷⁾が報告されており、従って、活性化されたCキナーゼが直接、膵ソマトスタチン受容体結合を制御する可能性が想定される。

そこで今回、我々は、これらCCK及びコリン作動薬が膵ソマトスタチン結合に与える影響のより詳細な機構を明らかにする目的で、Cキナーゼを直接活性化するとされる代表的 phorbol ester である 12-0-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA), 及び diacylglycerol の合成 analog, 1-oleyl-2-acetylglycerol (OAG) を用い、活性化されたCキナーゼの膵ソマトスタチン結合へ及ぼす効果につき検討した。

II. 実験方法

1. 単離膵腺房小葉の作製と各種薬物による前処理

ラット単離膵腺房小葉を、Williams らの方法¹⁸⁾に準じて作製した。この単離膵腺房小葉を、10% O_2 で通気した 10mM Hepes, 129mM NaCl, 0.58mM MgCl_2 , 1mM Na_2HPO_4 , 4.7mM KCl, 1.28mM CaCl_2 , 11.1mM glucose, essential amino acid solution, 0.5% bovine serum albumin (fraction V) (Miles Laboratorjes, EIKhart, IN), 0.02% soybean trypsin inhibitor (Type 1-S, Sigma Chemicals Co, St. Louis, MO) からなる Hepes-buffered Ringer solution (pH 7.4) に浮遊させた。この 10ml 浮遊液に、各種濃度の TPA (Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO), OAG (神戸大学医学部第1生化学高井教授より提供), Ca^{2+} ionophore A 23187 (Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO) を各々単独で、あるいは各種濃度の TPA と $1\mu\text{M}$ Ca^{2+} ionophore を同時に添加し、37°C で一定時間単離膵腺房小葉を前処理した。又、TPA の効果を検討した実験では、15°C の条件下での前処理も行った。さらに、上記前処理 medium 中の Ca^{2+} を除去する目的で、1mM EDTA あるいは 1mM EGTA を Ca^{2+} を含まない上記前処理 medium に添加した条件下でも、TPA の効果を検討した。

2. 膵腺房細胞細胞膜標品の作製及び標識ソマトスタチンの膜標品への結合反応

前処理の後、膵腺房小葉より Ponnappa らの方法¹¹⁾に準じ、既報¹⁴⁾の如く膵腺房細胞細胞膜標品を作製した。 $[^{125}\text{I-Tyr}^1]$ somatostatin の膜標品への結合反応は、10mM HEPES, 120mM NaCl, 4.7mM KCl, 5mM MgCl₂, 1mM EGTA, 5mg/ml bovine serum albumin, 1mg/ml bacitracin (Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO), 0.2mg/ml soybean trypsin inhibitor を含む溶液中にて、24°C, 60分間行なった。この際、反応液中の膜標品蛋白濃度は0.3mg/ml とし、 $[^{125}\text{I-Tyr}^1]$ somatostatin は50pM の濃度を用いた。遊離及び結合標識ソマトスタチンの分離は、遠心法にて行ない、pellet の放射活性を γ -シンチレーションカウンターにて測定した。得られた結果の統計学的有意差検定には、Student の t 検定を用いた。

3. 膵腺房細胞細胞膜標品への $[^{125}\text{I-Tyr}^1]$ somatostatin 交差結合の作製

0.2mg/ml 膵腺房細胞細胞膜標品及び0.3nM $[^{125}\text{I-Tyr}^1]$ somatostatin を前述の10mM HEPES binding buffer 中にて、24°C, 60分間反応させた。 $[^{125}\text{I-Tyr}^1]$ somatostatin 結合膜標品を、10000 \times g, 5分間の遠沈にて回収し、pellet を phosphate buffered saline (PBS) (pH 7.4) にて洗浄後、PBS 中に懸濁させ、直ちに dimethyl sulfoxide に溶解した0.1mM n-hydroxy-succinimidyl-4-azido benzoate (HSAB) (Pierce Chemical Co. Rockford, IL) を添加し、4°C にて、10分間紫外線を照射した。照射終了後、再び遠沈して得られた pellet を50mM dithiothreitol 存在下で、4.6% sodium dodecyl sulfate (SDS) を含む、62.5mM Tris-HCl (pH 6.8) 中で可溶化した。可溶化された標識ソマトスタチン結合膜蛋白の解析は、Laemmli の方法⁷⁾に準じ、SDS スラブ電気泳動法にて行い、乾燥ゲルを enhancing スクリーンを用いて、kodak x-Omat AR フィルムに感光させ標識ソマトスタチン交差結合蛋白の autoradiogram を得た。

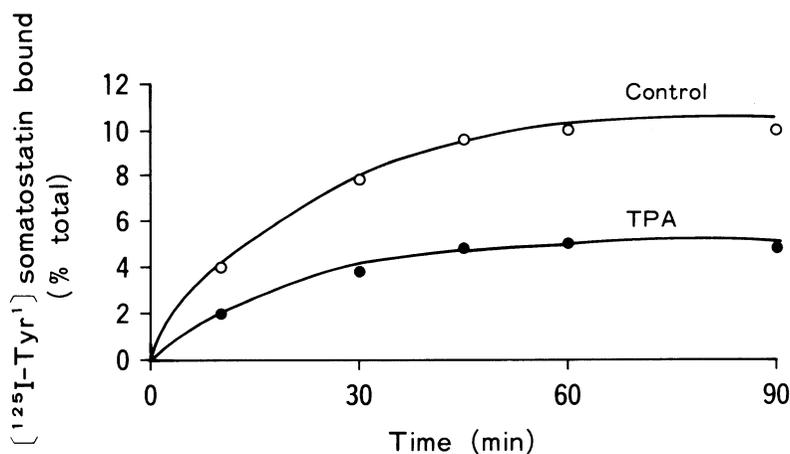


Fig. 1. Time course of $[^{125}\text{I-Tyr}^1]$ somatostatin binding to pancreatic acinar membranes and the effect of TPA. After acini were preincubated for 120 min in the presence or absence of 100 ng/ml TPA, the determination of labeled somatostatin binding was carried out.

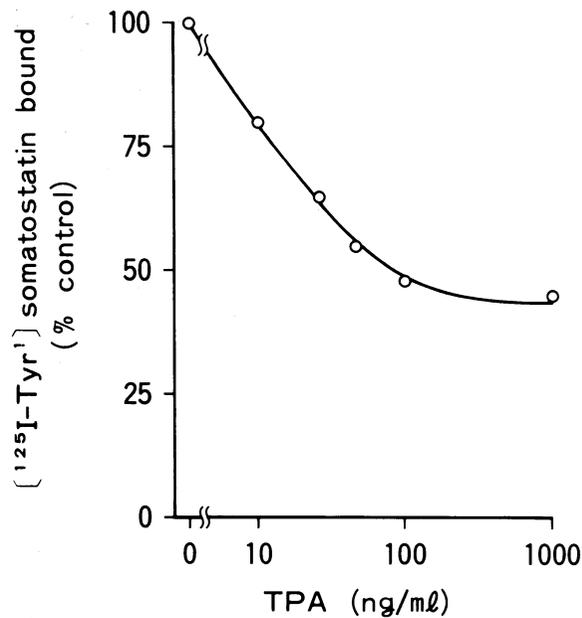


Fig. 2. Dose dependent inhibition of [¹²⁵I-Tyr¹] somatostatin binding by TPA.

Acini were preincubated in the presence of varying concentrations of TPA for 120 min, and labeled somatostatin binding to pancreatic acinar membranes was determined.

III. 実験結果

I. TPA及びOAG前処理の膵腺房細胞細胞膜標品に対する標識ソマトスタチン結合に及ぼす効果

最初に, TPA前処理の膵ソマトスタチン結合へ及ぼす効果を検討した。100ng/ml TPA及び対照としてTPAを溶解する為に用いた0.01% dimethyl sulfoxideのみを添加し, 単離膵腺房小葉を, 120分間前処理し, これら膵腺房より作製した膜標品に対する [¹²⁵I-Tyr¹] somatostatin結合を検討した。TPA前処理及び対照の膜標品に対する標識ソマトスタチンの結合は, 共に60分間の結合反応において, 平衡に達したが, TPA前処理細胞膜標品に対する [¹²⁵I-Tyr¹] somatostatin結合は, 60分間の結合反応にて, 対照の47±3% (mean±S.E., n=3)と, 有意に (P<0.001) 抑制された (Fig.1)。

次に, 種々の濃度のTPAを添加し, 120分間, 膵腺房小葉を前処理し, 標識ソマトスタチンの結合反応を検討した。標識ソマトスタチン結合は, 添加したTPA濃度に依存して抑制され, 100ng/ml TPAにて最大抑制効果を認めた (Fig.2)。さらに, 100ng/ml TPA添加による前処理時間にも依存して標識ソマトスタチン結合は抑制された。すなわち, 10分間の前処理にて初めて抑制効果を観察し, 120分間の前処理にて最大抑制効果を認めた (Fig.3)。100ng/ml TPAによる膵腺房小葉の前処理を, 15°Cの条件で, 120分間行っても, その後の膜標品に対する [¹²⁵I-Tyr¹] somatostatin結合は対照の97±2% (mean±S.E., n=3)しか抑制されず, TPAの効果は, 前処理における温度にも依存しているといえる。

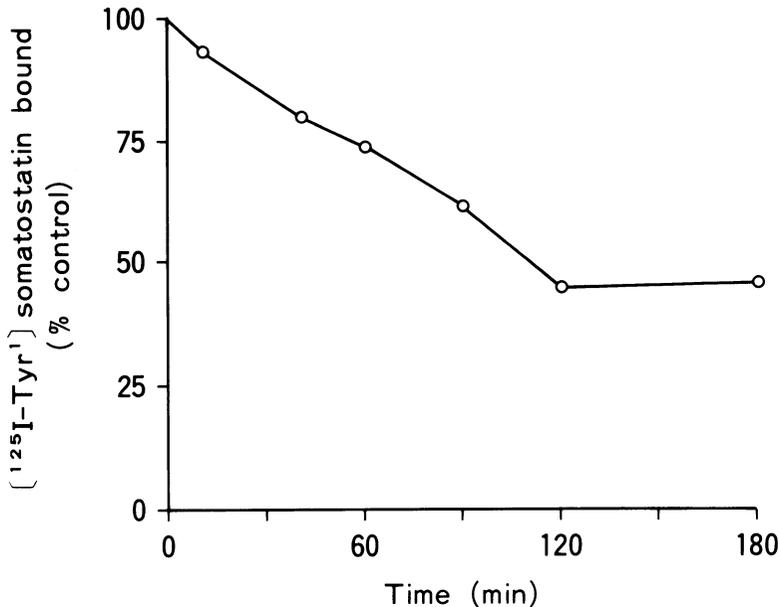


Fig. 3. Time course of the inhibitory effect of TPA on [¹²⁵I-Tyr¹]somatostatin binding.

Acini were preincubated for 10 ~ 180 min in the presence or absence (control) of 100 ng/ml TPA. Then, pancreatic acinar membranes were prepared and the binding of labeled somatostatin was carried out.

標識ソマトスタチンと膜標品の結合反応に際し、TPAを直接反応溶液中に添加しても、標識ソマトスタチン結合には、全く影響を与えず、従ってTPAの効果は、前処理において活性化された細胞内過程を経た結果であると考えられた。

さらに、本研究第1報¹⁴で明らかにした様に、このような細胞内過程がCa²⁺に依存しているか否かを検討した。100 ng/ml TPA添加による前処理に、同時に1 mM EDTAを添加すると、標識ソマトスタチン結合は、対照の80 ± 6% (mean ± S.E., n=3) しか抑制されず、TPA前処理の効果は、有意に (P < 0.005) に解除された。さらに、1 mM EGTAをTPAによる前処理に添加すると、TPA前処理の標識ソマトスタチン結合に与える効果は、完全に解除された (P < 0.001) (Fig.4)。以上の結果は、TPA前処理によるソマトスタチン結合の抑制には、Ca²⁺が必須である事を示している。

次に、diacylglycerolの合成analog, OAGによる前処理のソマトスタチン結合へ及ぼす効果を検討した。TPAを用いた実験と同様に、種々の濃度のOAGを添加し、120分間、膵腺房小葉を前処理した後、これら膵腺房小葉より作製した膜標品に対するソマトスタチン結合を検討した。図には示さないが、対照に比し標識ソマトスタチン結合は、前処理におけるOAG濃度に依存して抑制され、50 μg/ml以上の濃度で最大抑制効果を観察した。

100 ng/ml TPA及び100 μg/ml OAGによる前処理の後、膜標品に対する標識ソマトスタチン結合を、Scatchard分析すると、結合の抑制は主にbinding capacityの減少によるものであり、(対照: 142 ± 20 fmol/mg of protein, TPA処理: 76 ± 5 fmol/mg of protein, OAG処理: 106 ± 4 fmol/mg of protein), Fig.5に示す様に、対照に比し結合親和性には有意の変化はなかった。

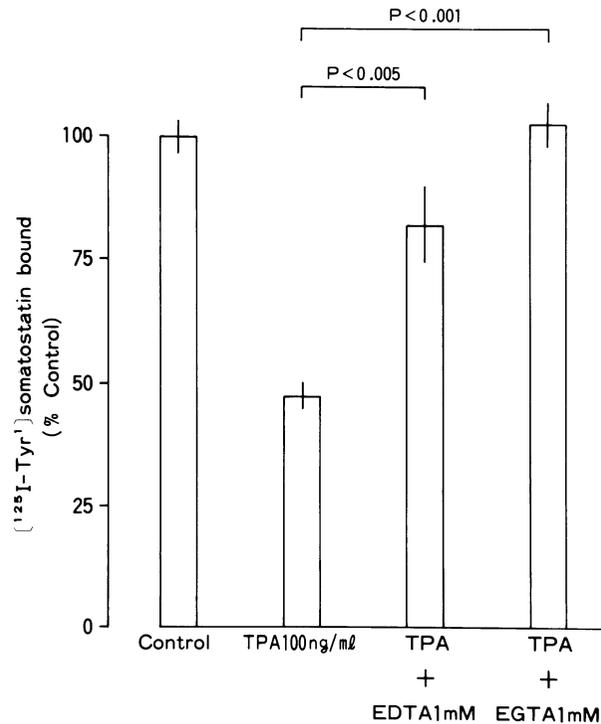


Fig. 4. Effect of Ca^{2+} chelating compounds on the inhibition of [$^{125}\text{I-Tyr}^1$]somatostatin binding induced by TPA.

Acini were preincubated for 120 min in the presence of either 0.01% dimethyl sulfoxide (control), 100 ng/ml TPA, 100 ng/ml TPA plus 1 mM EDTA, or 100 ng/ml TPA plus 1 mM EGTA. Labeled somatostatin binding was subsequently determined.

Statistical analysis was performed with Student-t test.

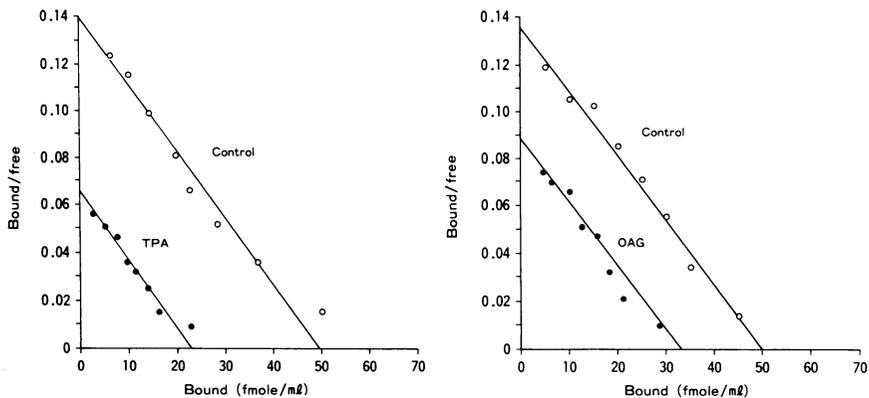


Fig. 5. Scatchard analysis of [$^{125}\text{I-Tyr}^1$]somatostatin binding to pancreatic acinar membranes treated with TPA or OAG.

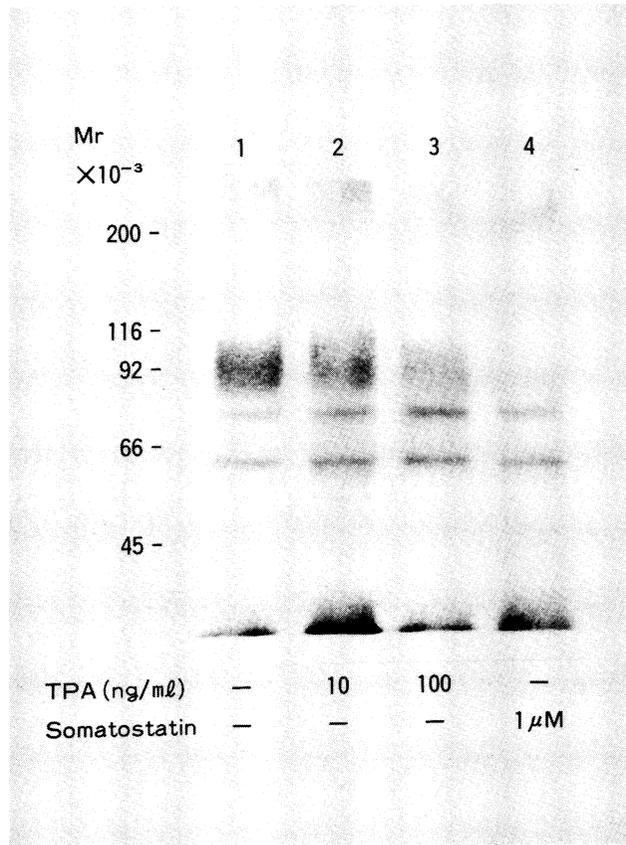


Fig. 6. Autoradiogram of somatostatin cross-linked to its receptors from control and TPA-treated pancreatic acinar membranes.

Acini were preincubated in the absence (lane 1, 4) or presence of TPA (lane 2: 10 ng/ml TPA, lane 3: 100 ng/ml TPA) for 120 min. Then, acinar membranes were prepared respectively and incubated for 60 min with 0.3 mM [¹²⁵I-Tyr¹] somatostatin in the absence (lane 1, 2, 3) or presence (lane 4) of 1 μM cyclic somatostatin. Crosslinking was carried out with 0.1 mM HSAB by exposing the incubation mixture to UV light.

2. 標識ソマトスタチンの交差結合反応とTPAの効果

実験方法に述べた如く、標識ソマトスタチンと膜蛋白の交差結合を作製し、autoradiogramを得た。標識ソマトスタチンの結合蛋白は、Mr=92Kの単一バンドとして認められ、我々が既に報告¹³⁾した精製膵腺房細胞細胞膜におけるソマトスタチン受容体蛋白の分子サイズに一致していた。一方、TPA前処理の後作製した膜標品を用いた場合、92Kバンドの出現は、前処理におけるTPA濃度に依存して抑制され、先に述べたTPA前処理によるbinding capacityの減少とよく一致していた。なお、Mr=72K、Mr=54Kの2つのバンドは、1 μM cyclic somatostatin存在下でも認められ、非特異的交差結合蛋白と考えられた (Fig.6)。

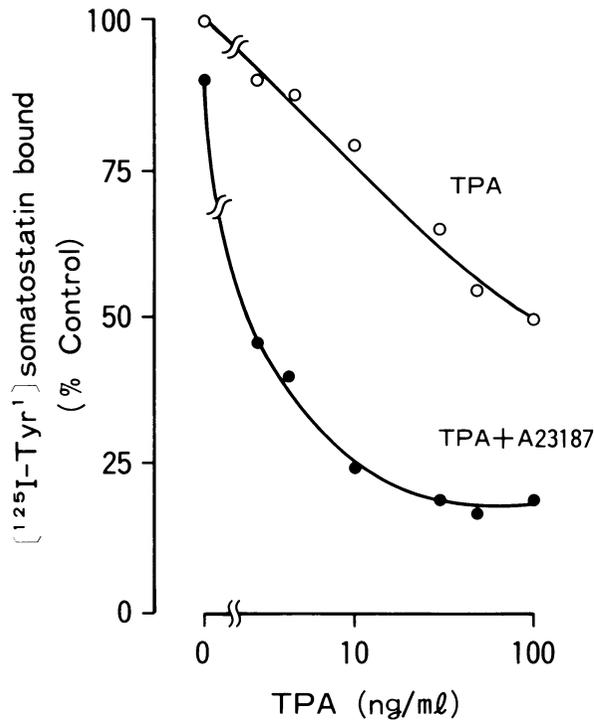


Fig. 7. Synergistic effect of TPA and Ca^{2+} ionophore on [$^{125}\text{I-Tyr}^1$] somatostatin binding.

Pancreatic acini were preincubated with varying concentrations of TPA in the presence or absence of $1\ \mu\text{M}$ Ca^{2+} ionophore A23187 for 120 min, and then labeled somatostatin binding was determined.

3. TPA及び Ca^{2+} ionophore前処理の [$^{125}\text{I-Tyr}^1$] somatostatin結合へ及ぼす相乗的抑制効果

細胞内 Ca^{2+} 移動を引き起すとされる Ca^{2+} ionophore A23187を前処理mediumに添加しても、本研究第1報¹⁴⁾で既に明らかにした様に、その後の標識ソマトスタチン結合は、ほとんど影響を受けなかった。しかしながら、種々の濃度のTPAの存在下で、 $1\ \mu\text{M}$ A23187にて膵腺房を前処理すると、Fig.7に示す如く、TPA単独添加前処理に比して、これら膵腺房より作製した膜標品に対する [$^{125}\text{I-Tyr}^1$] somatostatin結合は、相乗的に抑制された。

IV. 考 案

今回の研究において、我々はTPAを用い単離膵腺房を前処理すると、前処理におけるTPA濃度、前処理時間、及び温度に依存して膵腺房細胞細胞膜標品に対する標識ソマトスタチン結合が抑制される事を示した。OAGによる前処理にても、同様に標識ソマトスタチン結合は抑制され、これらTPA及びOAGの膵ソマトスタチン結合への抑制効果は、共にbinding capacityの減少によるものであることから、TPA及びOAGによる前処理は、同様な細胞内過程を介して膵ソマトスタチ

ン結合を修飾していると考えられる。TPAは、Cキナーゼを直接活性化するとされる代表的な phorbol ester であり¹⁾、OAGは、細胞膜リン脂質代謝回転の代謝産物で、生理的にCキナーゼを活性化するとされる¹⁵⁾ diacylglycerol の合成 analog であることから、TPA及びOAGの膜ソマトスタチン結合へ与える効果は、活性化されたCキナーゼを介するものであることが強く示唆される。

Cキナーゼの活性化には、Ca²⁺が必須とされている¹⁰⁾が、前処理 medium に EDTA あるいは EGTA を添加し、medium 中の Ca²⁺ をキレートした状態で、TPA の効果が減弱又は消失したという結果は、TPA 前処理の標識ソマトスタチン結合に及ぼす効果が活性化されたCキナーゼを介したものであることを支持している。

興味深いことに、低濃度 Ca²⁺ ionophore 単独前処理では、[¹²⁵I-Tyr¹] somatostatin 結合にはほとんど変化を与えなかったにもかかわらず、TPA との同時前処理にて、膵腺房細胞細胞膜標品に対する [¹²⁵I-Tyr¹] somatostatin 結合は、相乗的に抑制された。最近の一連の研究結果によれば、種々の外因性シグナルは、受容体を介して、細胞膜リン脂質代謝回転を刺激し、この結果Cキナーゼの活性化と細胞内 Ca²⁺ 移動が同時に誘導され、この両者が相乗的に作用することにより、様々な生物学的反応を引き起こすとされている¹⁰⁾。実験的には、TPA により活性化されたCキナーゼと Ca²⁺ ionophore により生じた細胞内 Ca²⁺ 移動は、血小板からのセロトニン放出反応⁶⁾、膵ラ氏島 B 細胞からのインスリン放出反応²⁰⁾、あるいは膵腺房細胞からのアミラーゼ放出反応⁴⁾ を、相乗的に刺激しうることが示されている。従って、膵ソマトスタチン結合が、TPA と Ca²⁺ ionophore により相乗的に抑制されることは、外因性刺激により活性化されたCキナーゼと細胞内 Ca²⁺ 移動が、膵ソマトスタチン結合を生理的に制御しうる可能性を示している。

既に、epidermal growth factor (EGF)³⁾⁹⁾ や insulin⁵⁾ の受容体への結合は、TPA あるいは OAG により活性化されたCキナーゼによって抑制されることが報告されている。これらの報告によれば、活性化されたCキナーゼは、EGF あるいは insulin 受容体の有する serine, threonine 残基をリン酸化し、tyrosine 残基を脱リン酸化することにより、ligand の受容体への結合親性を低下させるとされている²⁾⁹⁾¹⁰⁾。このように、主に binding affinity に変化を与えたとする報告⁵⁾⁹⁾ とは異なり、今回我々が明らかにした膵ソマトスタチン結合への TPA あるいは OAG の効果は、主にソマトスタチン受容体の binding capacity を減少させた。さらに、EGF や insulin の結合反応に対し、TPA あるいは OAG は数分以内の極めて短時間に変化を与えた⁵⁾⁹⁾ が、ソマトスタチン結合への効果は、少なくとも10分以上の前処理を必要としている。従って、TPA あるいは OAG により活性化されたCキナーゼが、膵ソマトスタチン受容体結合に与える変化は、EGF や insulin 受容体に与えた変化とは本質的に異なるメカニズムによるものかもしれない。

今回の我々の実験結果から、膵において、インスリンやアミラーゼ等の内、外分泌刺激作用を有すると考えられる⁴⁾²⁰⁾ 活性化されたCキナーゼは、一方で、分泌抑制ホルモンであるソマトスタチン結合を抑制し、刺激疎通を円滑ならしめるという生理的に重要且つ興味深い事実が示されたといえる。

ソマトスタチンが、細胞増殖阻止効果を有するという結果⁸⁾¹²⁾ が最近示されているが、一方活性化されたCキナーゼは、細胞増殖や癌化機構と密接に関連している¹⁰⁾ ことが知られており、今回の我々が示した実験成績は、活性化されたCキナーゼが細胞増殖阻止因子であるソマトスタチンの作用発現を修飾するという可能性をも想定させ、細胞の増殖制御機構に関連して興味深い。

V. 結 論

ラット膵腺房細胞細胞膜に対する標識ソマトスタチン結合へのCキナーゼの効果を検討し、以下の成績を得た。

- 1) TPAによる単離膵腺房の前処理は、標識ソマトスタチン結合を抑制した。このTPAの効果は、前処理におけるTPA濃度、前処理時間、及び温度に依存していた。
- 2) OAGによる単離膵腺房の前処理も、TPA同様、標識ソマトスタチン結合を抑制した。このTPA及びOAGの効果は、共に受容体のbinding capacityの減少によるものであった。
- 3) Ca^{2+} ionophore単独前処理の標識ソマトスタチン結合への効果は、不充分であったが、TPAの存在下では、相乗的に標識ソマトスタチン結合を抑制した。

以上より、膵ソマトスタチン結合を、活性化されたCキナーゼが、直接、制御している可能性が示唆されると同時に、細胞内 Ca^{2+} 移動も、膵ソマトスタチン結合制御に重要な役割を果していることが示された。

稿を終えるにあたり、1-oleyl-2-acetylglycerolを提供していただいた神戸大学医学部第1生化学教室高井義美教授に感謝致します。

文 献

- 1) Castagna, M., Takai, Y., Kaibuchi, K., Sano, K., Kikkawa, U. and Nishizuka, Y.: Direct activation of calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase by tumor-promoting phorbol esters. *J. Biol. Chem.*, 257: 7847-7851, 1982.
- 2) Cochet, C., Gill, G.N., Meisenhelder, J., Copper, J.A. and Hunter, T.: C-kinase phosphorylates the epidermal growth factor receptor and reduces its epidermal growth factor-stimulated tyrosine protein kinase activity. *J. Biol. Chem.*, 259: 2553-2558, 1984.
- 3) Davis, R.J. and Czech, M.P.: Tumor-promoting phorbol diesters mediate phosphorylation of the epidermal growth factor receptor. *J. Biol. Chem.*, 259: 8545-8549, 1984.
- 4) de Pont, J.J. H.H.M. and Fleuren-Jackobs, A.M.M.: Synergistic effect of A23187 and a phorbol ester on amylase secretion from rabbit pancreatic acini. *FEBS Lett.*, 170: 64-68, 1984.
- 5) Grunberger, G. and Gordon, P.: Affinity alteration of insulin receptor induced by a phorbol ester. *Am. J. Physiol.*, 243: E319-E324, 1982.
- 6) Kaibuchi, K., Takai, Y., Sawamura, M., Hoshijima, M., Fujikura, T. and Nishizuka, Y.: Synergistic function of protein phosphorylation and calcium mobilization in platelet activation. *J. Biol. Chem.*, 258: 6701-6704, 1983.
- 7) Laemmli, U.K.: Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature (Lond.)*, 227: 680-685, 1970.
- 8) Mascard, R.N. and Sherline, P.: Somatostatin inhibits rapid centrosomal separation and cell proliferation induced by epidermal growth factor. *Endocrinology*, 111: 1394-1396, 1982.
- 9) McCaffrey, P.G., Friedmann, B. and Rosner, M.R.: Diacylglycerol modulates binding and phosphorylation of the epidermal growth factor receptor. *J. Biol. Chem.*, 259: 12502-12507, 1984.
- 10) Nishizuka, Y.: The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumour promoting.

- Nature (Lond.), 308: 693–698, 1984. 11) Ponnappa, B.C., Dormer, R.L. and Williams, J.A.: Characterization of an ATP-dependent Ca^{2+} uptake system in mouse pancreatic microsomes. Am. J. Physiol., 240: G122–G129, 1981. 12) Redding, T.W. and Schally, A.V.: Inhibition of growth of pancreatic carcinomas in animal models by analogs of hypothalamic hormones. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81: 248–252, 1984.
- 13) Sakamoto, C., Goldfine, I.D. and Williams, J.A.: The somatostatin receptor on isolated pancreatic acinar cell plasma membranes. J. Biol. Chem., 259: 9623–9627, 1984.
- 14) 坂本長逸, 的崎 尚, 長尾宗彦, 馬場茂明: 膵腺房細胞 somatostatin 受容体特性に関する研究—第1報—C端 octapeptide CCK, carbachol 前処理の somatostatin 結合抑制効果。日内分泌会誌, 62: 818–826, 1986. 15) Takai, Y., Kishimoto, A., Kikkawa, U., Mori, T. and Nishizuka, Y.: Unsaturated diacylglycerol as a possible messenger for the activation of calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase system. Biochem. Biophys. Res. Commun., 91: 1218–1224, 1979. 16) Takayama, S., White, M.F., Lauri, V., Kahn, C.R.: Phorbol ester modulate insulin receptor phosphorylation and insulin action in cultured hepatoma cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81: 7797–7801, 1984.
- 17) Tennes, K.A. and Robert, M.L.: The role of calcium in agonist-stimulated hydrolysis of phosphatidylinositol in mouse pancreas. Biochim. Biophys. Acta, 719: 238–243, 1982.
- 18) Williams, J.A., Korc, M. and Dormer, R.N.: Action of secretagogues on a new preparation of functionally intact, isolated pancreatic acini. Am. J. Physiol., 235: E517–E524, 1978. 19) Williams, J.A.: Regulation of pancreatic acinar cell function by intracellular calcium. Am. J. Physiol., 338: G269–G279, 1980. 20) Zawalich, W., Brown, C. and Rasmussen, H.: Insulin secretion; combined effect of phorbol ester and A23187. Biochem. Biophys. Res. Commun., 117: 448–455, 1983. (受付日; '86. 1. 28)