

主論文の要旨

**Functional adenosine triphosphate-sensitive
potassium channel is required in high-carbohydrate
diet-induced increase in β -cell mass**

〔 KATP チャンネルは高炭水化物食による β 細胞量の増加に必要である 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態内科学講座 糖尿病・内分泌内科学分野

(指導：有馬 寛 教授)

村瀬 正敏

【緒言】

インスリンは膵臓の β 細胞から分泌され、グルコース恒常性の維持に重要な役割を果たしている。膵臓の β 細胞量は、インスリン需要の増加を補うために増大することが知られている。

グルコースはグルコース輸送体を介して膵臓 β 細胞内に輸送され、その後代謝されて β 細胞内 ATP 濃度が増加する。ATP 濃度の増加により、Kir6.2 およびスルホニル尿素受容体 1 (SUR1) サブユニットで構成される ATP 感受性 K⁺ (KATP) チャネルが閉じる。KATP チャネルの閉鎖は、 β 細胞膜の脱分極を誘発し、電位依存性カルシウムチャネルを通る Ca²⁺ の流入を引き起こしインスリン分泌が生じる。グルコースは β 細胞量を増加させることは知られているが、グルコース応答性インスリン分泌 (GIIS) に必須の役割を果たす KATP チャネルが、グルコースによる β 細胞量増加に関与しているかどうかはよく知られていない。

一方、高炭水化物食を慢性的に摂取すると、高インスリン血症を伴う肥満を引き起こすことはよく知られているが、高炭水化物食の膵 β 細胞量に対する影響に関してはほとんど知られていない。今回、野生型マウス (WT) および KATP チャネル欠損マウス (Kir6.2KO) を用いて、高炭水化物食の膵 β 細胞量に対する影響に関して検討することを目的とした。

【方法】

WT、Kir6.2KO に通常食 (NC : 蛋白質 29.2%、脂質 12.6%、炭水化物 58.2%) または高スターチ食 (ST : 蛋白質 13.1%、脂質 12.6%、炭水化物 74.3%) を負荷し、体重の推移、血糖値、血清インスリン値を検討した。さらに餌負荷 22 週後に膵臓のインスリン含有量を測定するとともに免疫組織化学法により β 細胞量と膵島数を解析し、単離膵島を用いた qPCR 法による遺伝子発現解析を行った。また MIN6-K8 β 細胞に、2.8 mmol/L グルコース (LG)、16.7 mmol/L グルコース (HG)、LG に KATP チャネル阻害薬 (スルホニル尿素薬) であるグリメピリド 100 nmol/L を加えたもの、HG に L タイプカルシウム拮抗薬であるニフェジピン 10 μ mol/L を加えたものを添加し、4 時間後に RNA を回収し qPCR 法による遺伝子発現解析を行った。

【結果】

まず NC または ST を負荷した WT の解析を行った。ST 群では、NC 群と比較して体重は、餌負荷後 12 週以降で有意に重かった (Figure 1a)。ST 群で NC 群と比較して、餌負荷 15 週後の随時血糖値ならびに血漿インスリン値 (Figure 1b、c)、餌負荷 22 週後の膵臓インスリン含有量は、有意に高かった。膵島に対する高スターチ食の影響を検討するために、餌負荷 22 週後の膵島の形態解析を行った。ST 群では、NC 群と比較して β 細胞量と膵島数が有意に増加した (Figure 2a、b)。

さらに、膵島のサイズ別に膵島数を検討した所、大きなサイズの膵島 (直径 200 μ m 以上) 数は、両群間で差は見られなかったが、小さなサイズの膵島 (直径 200 μ m

まで) 数は、ST 群で NC 群と比較して有意な増加がみられた。膵島における遺伝子発現レベルを検討したところ、ST 群では、NC 群と比較して *insulin1*、*insulin2*、*Irs2*、*Pdk1*、*Akt1*、*cyclinD1*、*D2*、*cyclinE1* の mRNA の発現上昇がみられた (Figure 3)。

次に KATP チャンネルの関与を調べるために NC または ST を負荷した *Kir6.2KO* の解析を行った。ST 群では、NC 群と比較して体重は、餌負荷後 13 週以降で有意に重かった (Figure 4a)。ST 群で NC 群と比較して餌負荷 15 週後の血漿インスリン値は高かった (Figure 4c) が随時血糖値 (Figure 4b)、餌負荷 22 週後の膵臓インスリン含有量は、2 群間で差は見られなかった。また、 β 細胞量、膵島数、膵島のサイズ別膵島数は 2 群間で差を認めず (Figure 5a、b)、膵島の遺伝子発現も両群間で差がみられなかった (Figure 6)。

一方、MIN6K8 細胞において、グルコース刺激やグリメピリドによる刺激により *CyclinD2* mRNA 発現は上昇し、ニフェジピンの刺激によりグルコースによる *CyclinD2* mRNA 発現上昇が抑制されたが、*Irs2* mRNA 発現に関してはグルコースにより上昇するもののグリメピリドの刺激では上昇がみられなかった (Figure 7)。

【考察】

本研究では、恒常的にスターチを過剰摂取したマウスにおいて、サイズの小さい膵島数の増加により β 細胞量の増加を示した。スターチの最終産物はグルコースであり、高スターチ食では体内に供給されるグルコース量が多いため膵島数が増加したと考えられる。*cyclinD2* や *Irs2* は各々の遺伝子欠損マウスの解析から β 細胞量の増加に重要な役割を果たしていることが知られているが、グルコース代謝の最初のステップに重要なグルコキナーゼの活性がげっ歯類の膵島の *cyclinD2* や *Irs2* の発現を上昇させることやグルコキナーゼを活性化する遺伝子異常患者では膵島のサイズが増加していることから、グルコキナーゼは膵 β 細胞増殖に寄与していると考えられている。さらにジアゾキサイドによる KATP チャンネルの活性化がグルコキナーゼによって引き起こされる β 細胞増殖を抑制することや、逆にスルホニル尿素薬により KATP チャンネルを閉鎖すると β 細胞特異的なグルコキナーゼ欠損マウスにおいても β 細胞の増殖が起こることが報告されており、KATP チャンネルはグルコキナーゼと独立して β 細胞の増殖に関与すると考えられる。我々は、*in vitro* の実験系で KATP チャンネルの閉鎖による細胞内カルシウム濃度の上昇が *cyclinD2* 発現に重要な役割を果たしていることを明らかにした。また、22 週のスターチの長期負荷マウスモデルにおいては、高脂肪食の長期負荷マウスモデルと同様に *cyclinD2* が膵 β 細胞量の増加に寄与し、*Kir6.2KO* マウスの解析から高スターチ食による膵 β 細胞量の増加は KATP チャンネル依存的に生じることも明らかとなった。

一方、*Kir6.2KO* マウスにおいても高スターチ食では高インスリン血症を伴う肥満が誘導されることから、高スターチ食による体重増加は KATP チャンネル非依存性であることが分かった。高スターチによる KATP チャンネル非依存性のインスリン分泌促進機構に関しては迷走神経による制御も含めて今後の解明が待たれる。

【結語】

恒常的にスターチを過剰摂取したマウスでは KATP チャンネル依存的に β 細胞量が増加する。