

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2009

課題番号：18390272

研究課題名（和文） 膵β細胞における ATP と cAMP のシグナル統合の分子メカニズム

研究課題名（英文）

Mechanism of signal integration between ATP and cAMP in pancreatic beta cells

研究代表者

氏名（ローマ字）：三木 隆司（MIKI TAKASHI）

所属機関・部局・職：千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：50302568

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：糖尿病、膵β細胞、インスリン分泌、cAMP、ATP

1. 研究計画の概要

ATP は生命体のエネルギー源であると共に重要な代謝シグナルとして機能し、膵β細胞ではグルコースによるインスリン分泌を引き起こす引き金として機能する。一方、cAMP は種々の生命体における普遍的な細胞内シグナルであり、膵β細胞ではインスリン分泌を著明に増強させる。グルコースによるインスリン分泌では ATP が重要な代謝シグナルとなっており、細胞内 ATP の増加は ATP 感受性 $K^+(K_{ATP})$ チャネルを閉鎖しインスリン分泌を惹起する(Miki PNAS, 1998)。しかし cAMP によるインスリン分泌増強の分子メカニズムは現在でも不明な点が多い。これまで、 K_{ATP} チャネルは膵β細胞におけるグルコース感知に必須と考えられていたが、申請者らは K_{ATP} チャネル欠損マウスにおいても、GLP-1 の存在下では明らかなグルコース応答性インスリン分泌応答が惹起されることを見出した。そこで本研究では GLP-1 による K_{ATP} チャネル非依存性のグルコース感知機構を解明することを目指した。

2. 研究の進捗状況

申請者らは GLP-1 とグルコースによる K_{ATP} チャネル非依存性のインスリン分泌は、それぞれ、cAMP と ATP が担っていることを直接的に確認した。

次に ATP と cAMP のシグナルの関連を膵灌流法を用いて検討した。ATP と cAMP によるインスリン分泌は L 型伝依存性 Ca^{2+} チャネルの阻害剤である Nifedipine の処置により阻害されることから、cAMP と ATP が細胞膜上に存在するイオンチャネルあるいはトランスポーターに作用し膜の脱分極を介してインス

リン分泌が引き起こされる可能性が示唆された。

そこで、これらの分子を同定を目指して種々の分泌実験を行い、 Cl^- チャネルとカチオンチャネルを阻害するニフルム酸により cAMP 依存性のグルコース依存性のインスリン分泌が阻害されることを見出した。電気生理学的実験でもニフルム酸により cAMP 依存性グルコース依存性の細胞膜脱分極が消失した。これらの結果から、腸管ホルモン存在下ではグルコース応答性にニフルム酸感受性イオンチャネルが活性化しインスリン分泌が惹起することが示された(Fujimoto et al., Diabetologia 2009)。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

K_{ATP} チャネル欠損マウスで GLP-1 とグルコースにより惹起されるインスリン分泌がニフルム酸感受性チャネルの活性化を介していることを解明することができた。この成果はすでに糖尿病専門誌 (Fujimoto et al., Diabetologia 2009) に発表した。一方、ニフルム酸感受性チャネルの分子実態を同定することはできず現在も分子を同定するための実験を続けているところである。

4. 今後の研究の推進方策

ニフルム酸感受性チャネルの分子実態を同定するため、さらに詳細な分泌実験を進める予定である。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 23 件)

1. Oyama K, Minami K, Ishizaki K, Fuse M, Miki T, Seino S (2006) Spontaneous recovery from hyperglycemia by regeneration of pancreatic beta-cells in Kir6.2G132S transgenic mice. **Diabetes** 55, 1930-1938. 査読あり
2. Olson TM, Alekseev AE, Moreau C, Liu XK, Zingman LV, Miki T, Seino S, Asirvatham SJ, Jahangir A, Terzic A (2006) K_{ATP} channel mutation confers risk for adrenergic atrial fibrillation originating from vein of Marshall. **Nat Clin Pract Cardiovasc Med** 4, 110-116. 査読あり
3. Fujimoto W, Shiuchi T, Miki T, Minokoshi Y, Takahashi Y, Takeuchi A, Kimura K, Saito M, Iwanaga T, Seino S (2007) Dmbx1 is essential in agouti-related protein action. **Proc Natl Acad Sci USA** 104, 15514-15519. 査読あり
4. Shibasaki T, Takahashi H, Miki T, Sunaga Y, Matsumura K, Yamanaka M, Zhang C, Tamamoto A, Satoh T, Miyazaki J-I, Seino S (2007) Essential role of Epac2/Rap1 signaling in regulation of insulin granule dynamics by cAMP. **Proc Natl Acad Sci USA** 104 : 19333-19338. 査読あり
5. Seino Y, Miki T, Kiyonari H, Abe T, Fujimoto W, Kimura K, Takeuchi A, Takahashi Y, Oiso Y, Iwanaga T, Seino S (2008) Intestine specific homeobox (ISX) participates in the maintenance of vitamin A metabolism by regulation of beta-carotene 15, 15'-monooxygenase (bcmo1) expression. **J Biol Chem** 283: 4905-4911. 査読あり
6. Ravier MA, Nenquin M, Miki T, Seino S, Henquin JC (2009) Glucose controls

cytosolic Ca^{2+} and insulin secretion in mouse islets lacking ATP-sensitive K^+ channels owing to a knockout of the pore-forming subunit Kir6.2.

Endocrinology 150:33-45. 査読あり

7. Niimura M, Miki T, Shibasaki T, Fujimoto W, Iwanaga T, Seino S (2009) Critical role of the N-terminal cyclic AMP-binding domain of Epac2A in its subcellular localization and function **J Cell Physiol** 219:652-658. 査読あり
8. Fujimoto W, Miki T, Ogura T, Zhang M, Seino Y, Satin LS, Nakaya H, Seino S (2009) Niflumic acid-sensitive ion channels play an important role in the induction of glucose-stimulated insulin secretion by cyclic AMP in mice. **Diabetologia** 52:863-872. 査読あり

その他論文 15 件

[学会発表] (計 13 件)

1. Miki, T. 他 5 名(2006) the 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology (Kyoto)
 2. Fujimoto, W., Miki, T. 他 4 名(2007) 14th Japan-Korea Symposium on Diabetes Mellitus (Kyoto)
 3. Fujimoto, W., Miki, T., 他 4 名(2008) 68th Annual Meeting of the American Diabetes Association (San Francisco)
- 他 国内学会 10 件

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/physio1/>