

機関番号：32202
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：###+~##\$#
 課題番号：20591071
 研究課題名（和文）IKdelay 電流の KATP 非依存性インスリン分泌への関与と新規 GLP-1 経路
 研究課題名（英文） IKdelay is related to a novel GLP-1 pathway that is KATP-independent insulin secretion.
 研究代表者
 加計正文（KAKEI MASAFUMI）
 研究者番号：90214270

研究成果の概要（和文）：膵β細胞の電位依存性 K⁺チャンネル電流（IKdelay）はグルコース刺激時のインスリン分泌に重要な働きをしている。この電流はβ細胞が活動電位を発生している時のみ開口している。IKdelay は高グルコース還流下で電流は増加するがそれは陽電位側で見られる。負電位域では逆に減少している。この負電位側は活動電位発生時の IKdelay が関与する膜電位領域であるので生理的にはこちらの方が重要である。グルコース濃度が減少すると IKdelay は逆に増加した。グルコースを低下させる代わりに代謝を FCCP や AMPPNP、ATP フリー液で抑制しても同様の IKdelay の増加がみられた。また alkaline phosphatase で細胞内適用すると同じ電流変化がみられた。Kv2.1 チャンネルを HEK293 細胞に発現させて同様の代謝抑制をすると Kv2.1 チャンネル電流は負電位側で電流増加がみられた。従って、β細胞で観察した IKdelay の変化は Kv2.1 チャンネル電流の代謝性調節の結果でありその制御にはチャンネルのリン酸化・脱リン酸化が関与していると思われた。これらの結果は GLP-1 作用に Kv2.1 チャンネルが関与していることを示唆している。

研究成果の概要（英文）：IKdelay in pancreatic β-cells plays important roles in glucose-stimulated insulin secretion. IKdelay current is active during action potentials produced by glucose stimulation. Amplitudes of IKdelay are increased by increasing glucose concentrations from 2.8 mM to 16.7 mM. These increases were observed only at positive potentials were accompanied by the current decreases in the ranges of negative potentials. Conversely glucose reduction or metabolic inhibition by using FCCP, AMPPNP or 0 mM ATP exposure at cytoplasm produced IKdelay increases at negative potentials associated with current decreases at positive potentials. We further observed the similar results in the HEK293 cells expressed with Kv2.1 channels during metabolic inhibition. Exposure to alkaline phosphatase at the cytoplasm showed current increases at negative potentials in Kv2.1 channel-expressed HEK293 cells. Thus, IKdelay changes observed in pancreatic β-cells during metabolic inhibition were resulted from the dephosphorylation of Kv2.1 channels because the channel protein has amino acid residues that can be highly phosphorylated at basal state. We concluded that Kv2.1 channel current is regulated by phosphorylation/dephosphorylation of the channel. These results may suggest that Kv2.1 channel regulation is involved in GLP-1 effect that is revealed with increases insulin secretion in the presence of the hormone.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
###+ 年度	\$Z*##Z###	(\$Z###	%Z\$#Z###
##, 年度	, ##Z###	% #Z###	\$Z\$* #Z###
##\$# 年度	, ##Z###	% #Z###	\$Z\$* #Z###
年度			
年度			
総計	&Z(##Z###	\$Z#(#Z###	Z((#Z###

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：エネルギー・糖質代謝異常

1. 研究開始当初の背景

膵β細胞のイオンチャネルはインスリン分泌の開始あるいは停止において重要な働きをしています。ATP感受性K⁺チャネル(KATPチャネル)は静止膜電位を決定しているチャネルである。グルコース刺激はKATPチャネルを閉鎖して膜を脱分極する。その結果電位依存性Ca²⁺チャネルが活性化され活動電位が発生する。この活動電位は短い持続時間(約50 msec)であるが、この速い電気活動変化には電位依存性K⁺チャネル(IKdelay)が必要である。IKdelayはその大部分はKv2.1チャネルで運ばれる電流である。インスリンは血糖値を下げる唯一のホルモンであるが、血糖値を繊細に調節するためには代謝を敏感に感知するイオンチャネル機構が必要である。今まではKATPチャネルにのみ代謝感知能を有するチャネルとして認識されていたが、その他のチャネルの代謝感知機能についての研究は遅れていた。

2. 研究の目的

本研究ではIKdelay(Kvチャネル電流)の代謝性調節機構の有無を検証しその機序を明らかにすることである。

3. 研究の方法

ラットβ細胞を単離し、パッチクランプ法によりIKdelayを記録し細胞外グルコース濃度の変化あるいは代謝抑制下でのチャネル電流の変化を観察する。

4. 研究成果

IKdelayは高グルコースで電流が増加するが、これは陽電位側でみられ、負電位域では逆に減少している。この負電位側は活動電位発生時のIKdelayが関与する膜電位領域であるので生理的にはより重要である。グルコース濃度が減少するとIKdelayは負電位側で増加している。グルコースを低下させる代わりに代謝をFCCPやAMPPNP、ATPフリー液で抑制しても同様のIKdelayの変化がみられた。また脱リン酸化酵素であるalkaline phosphataseで細胞内透析をすると同じ電流変化がみられた。Kv2.1チャネルをHEK293細胞に発現させて同様の代謝抑制をしてもKv2.1チャネル電流は負電位側で電流増加がみられた。従って、β細胞で観察したIKdelayの変化はKv2.1チャネル電流の代謝性調節の結果である。

5. 主な発表論文等

(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7件)

1. Iwasaki, Y., Nakabayashi, H., Takei, M., Shimizu, H., Mori, M. and Yada, T. Nesfatin-1 evokes Ca²⁺ signaling in isolated vagal afferent neurons via Ca²⁺ influx through N-type channels. *Journal*. 2009
2. Yoshida, M., Dezaki, K., Yamato, S., Aoki, A., Sugawara, H., Toyoshima, H., Ishikawa, S. E., Kawakami, M., Nakata, M., Yada, T. and Takei, M. Regulation of voltage-gated K⁺ channels by glucose metabolism in pancreatic beta-cells. *Journal*. 583: 2225-30. 2009
3. Yoshida, M., Nakata, M., Yamato, S., Dezaki, K., Sugawara, H., Ishikawa, S. E., Kawakami, M., Yada, T. and Takei, M. Voltage-dependent metabolic regulation of Kv2.1 channels in pancreatic beta-cells. *Journal*. 396: 304-309. 2010
4. Kaneko, K., Ueki, K., Takahashi, N., Hashimoto, S., Okamoto, M., Awazawa, M., Okazaki, Y., Ohsugi, M., Inabe, K., Umehara, T., Yoshida, M., Takei, M., Kitamura, T., Luo, J., Kulkarni, R. N., Kahn, C. R., Kasai, H., Cantley, L. C. and Kadowaki, T. Class IA phosphatidylinositol 3-kinase in pancreatic beta cells controls insulin secretion by multiple mechanisms. *Journal*. 12: 619-32. 2010
5. Ohara-Imaizumi, M., Yoshida, M., Aoyagi, K., Saito, T., Okamura, T., Takenaka, H., Akimoto, Y., Nakamichi, Y., Takanashi-Yanobu, R., Nishiwaki, C., Kawakami, H., Kato, N., Hisanaga, S., Takei, M. and Nagamatsu, S. Deletion of CDKAL1 affects mitochondrial ATP generation and first-phase insulin exocytosis. *Journal*. 5: e15553. 2010
6. Aoki, A., Muneyuki, T., Yoshida, M., Munakata, H., Ishikawa, S. E., Sugawara, H., Kawakami, M. and Takei, M. Circulating osteocalcin is increased in early-stage diabetes. *Journal*. 2011
7. Nakajima, K., Nemoto, T., Muneyuki, T., Takei, M., Fuchigami, H. and Munakata, H. Low serum amylase in association with metabolic syndrome and diabetes: A community-based study. *Journal*. 10: 34. 2011

〔学会発表〕（計4件）

1. 吉田昌史、出崎克也、青木厚、菅原斉、豊島秀男、石川三衛、川上正舒、中田正範、矢田俊彦、加計正文 膵β細胞 Kv2.1 チャネルのブドウ糖代謝による新規調節機構. 第52回日本糖尿病学会総会 2009年5月、大阪
2. 加計正文、吉田昌史、大和志保、石川三衛、川上正舒 シンポジウム9：膵β細胞研究の最前線（1）「インスリン分泌」 Cell metabolism-dependent regulation of Kv channels in pancreatic β-cells. 第53回日本糖尿病学会総会、2010年5月、岡山
3. 加計正文、吉田昌史、出崎克也、青木厚、菅原斉、豊島秀雄、石川三衛、川上正舒、中田正範、矢田俊彦 膵β細胞 Kv2.1 チャネルの代謝依存性調節機構 第53回日本糖尿病学会総会 2010年5月、岡山
4. Yoshida, M, Yamato, S, Nakata, M, Ishikawa S, Kawakami, M, Yada, T, and Takei, M. Voltage-gated Potassium Channels in Pancreatic β-cells are Regulated via Phosphorylation/dephosphorylation and Divalent Cations. 71st The Meeting of American Diabetes Association, San-Diego, 2011. June.

〔図書〕（計#件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計#件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計#件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

加計正文 (KAKEI MASAFUMI)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：90214270

研究分担者

矢田俊彦 (YADA TOSHIHIKO)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：60166527

(3)連携研究者

()

研究者番号：