

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 5 月 23 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461338

研究課題名(和文) 腸管内分泌細胞、吸収上皮細胞におけるKATPchannelの役割の解明

研究課題名(英文) Role of the KATP channel in enteroendocrine cells and absorptive epithelial cells

研究代表者

清野 祐介 (Yusuke, Seino)

名古屋大学・医学(系)研究科(研究院)・特任助教

研究者番号：80534833

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：(1)正常血糖条件下においては、KATP channelはGIP分泌に関与しない。(2)ストレプトゾトシン誘導性高血糖状況下においては、グルコース応答性GIP分泌に関しては一部、KATP channelが関与する。(3)ストレプトゾトシン誘導性高血糖状況下においては、フルクトースはGIP分泌を有意に増加させるが、KATP channelは関与しない。(4)高炭水化物の慢性摂取において十二指腸の糖輸送体であるsodium-glucose co-transporter 1(SGLT1)の発現が上昇するが、KATP channelは、SGLT1の発現制御には関与しない。

研究成果の概要(英文)：The KATP channel plays an essential role in glucose-induced insulin secretion from pancreatic beta-cells. KATP channels are also found in GIP-secreting K-cells, but, the physiological role of the KATP channels in K-cells is not known. We have clarified that (1)these KATP channels do not participate in GIP secretion under normoglycemic condition, (2)but contribute to glucose-induced GIP secretion under the streptozotocin-induced diabetic state, (3)fructose does not significantly stimulate GIP secretion in the normal state, but significantly enhances the GIP secretion in the streptozotocin-induced diabetic state, However, these KATP channels do not contribute to fructose-induced GIP secretion under hyperglycemic condition, and (4)while the expression levels of sodium-glucose co-transporter 1(SGLT1) mRNA in duodenum are increased by chronic loading of high-carbohydrate diet in mice, the KATP channels do not participate in this.

研究分野：Diabetes

キーワード：KATP channel glucose fructose GIP GLP-1 SGLT1 insulin

## 1. 研究開始当初の背景

膵細胞においてATP感受性カリウムチャネル(KATP channel)は、SUR1とKir6.2の2つのサブユニットから成りグルコースセンサーとしてグルコース応答性インスリン分泌に必須の役割を果たす。腸管上皮は、吸収上皮細胞、パネート細胞、杯細胞、内分泌細胞の4種類の分化細胞から成り立っている。糖代謝における腸管の役割は、糖吸収のみならず、Glucose-dependent insulintropic polypeptide(GIP)やGlucagon-like peptide-1(GLP-1)などのインクレチンと呼ばれる消化管ホルモンを腸管内分泌細胞より分泌することが知られている。近年、KATP channelが、GIPやGLP-1分泌に関連することが単離GIP分泌K細胞や単離GLP-1分泌L細胞を用いた細胞レベルの実験で報告されている(Reimann F. Cell Metab. 2008. Parker HE. Diabetologia. 2009)。一方、腸管からのグルコース吸収機構には、Sodium-glucose co-transporter 1(SGLT1)とGlucose transporter 2(GLUT2)の2種類のグルコーストランスポーターが重要な役割を果たしている。しかしながら、生体内におけるGIPやGLP-1分泌機構や腸管吸収上皮細胞におけるKATP channelの役割に関しては報告がない。

## 2. 研究の目的

生体内におけるインクレチン分泌機構や糖吸収を担う腸管吸収上皮細胞におけるKATP channelの役割を解明することを目的とする。

## 3. 研究の方法

野生型マウス、KATP channel 欠損(Kir6.2K0)マウスを用いて以下の実験を行う。

- (1) グルコース、フルクトースなどの栄養素や各種薬剤を投与した時のGIP、GLP-1分泌に関する検討
- (2) ストレプトゾトシン(STZ)により高血糖としたマウスにおけるGIP分泌に関する検討
- (3) 慢性的高炭水化物摂食時の糖輸送体発現に関する検討
- (4) 免疫染色による糖輸送体発現部位に関する検討
- (5) 糖吸収に関する検討

## 4. 研究成果

(1) 正常血糖条件下においては、KATP channel阻害薬であるスルホニル尿素薬単独では、GIP分泌は惹起されず、経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)施行時のグルコース応答性GIP分泌はKATP channel活性化薬であるジアゾキサイド前投与にて阻害されなかった。OGTT施行前のGIP分泌はジアゾキサイド単独投与にて減少がみられた。一方、OGTT施行時のグルコース応答性GIP分泌は、SGLT1阻害薬である

フロリジン投与にて完全に抑制された。これらのことから、正常血糖下において、K細胞におけるKATP channelは閉鎖しているため、GIP分泌には関与しない、グルコース応答性GIP分泌にはSGLT1が必須であることが明らかとなった(図1)。

(2) 野生型マウスにSTZを投与して高血糖条件下で実験を行った。STZ誘導性高血糖マウスにおいては、正常血糖マウスと比較して、随時のGIP分泌ならびにOGTT施行時のグルコース応答性GIP分泌が増加していた。STZ誘導性高血糖マウスにおいては、グルコース応答性GIP分泌は、フロリジンにて完全には抑制されず、ジアゾキサイドの前投与とフロリジンの投与にて完全に抑制された。これらのことから、高血糖下においては、KATP channelがGIP分泌に関与することが明らかとなった(図1)。

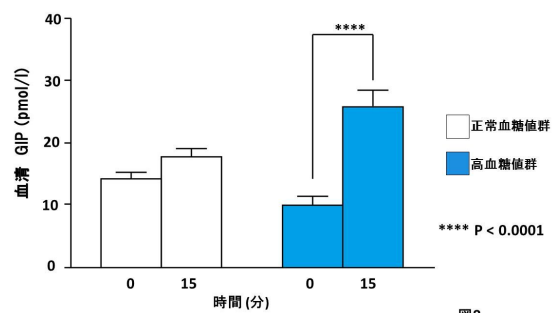
(3) フルクトースの経口投与において、野生型マウスではインスリン分泌が惹起されたが、Kir6.2K0マウスにおいては全くインスリン分泌が惹起されなかったことから、膵細胞において、フルクトース応答性インスリン分泌にはKATP channelが必須の役割を果たすことが明らかになった。正常血糖条件下の野生型マウスにおいては、フルクトースは、GIP分泌をほとんど惹起しない。一方、STZ誘導性高血糖状況下においては、フルクトースはグルコースと比較して少ないものの、GIP分泌を有意に増加させたが(図2)、ジアゾキサイドの前投与を行っても、フルクトースによるGIP分泌は全く抑制されなかった(図3)。これらのことから、高血糖下においてフルクトースはGIP分泌を増加させるがKATP channelは関与しないことが明らかとなった。また、フルクトースは正常血糖条件下において野生型マウスにおいても、Kir6.2K0マウスにおいても同程度GLP-1分泌を惹起することから、フルクトースによるGLP-1分泌にはKATP channelが関与しないことが明らかとなった。

(4) 野生型マウスに5週間の高炭水化物の慢性摂取を行うと、通常食を负荷した野生型マウスと比較して十二指腸におけるSGLT1, GLUT2の発現上昇が見られたが、Kir6.2K0マウスにおいても5週間の高炭水化物の慢性摂取を行うと通常食を负荷したKir6.2K0マウスと比較して十二指腸におけるSGLT1, GLUT2の発現の上昇が見られた。これらのことから、KATP channelは、食事摂取によるSGLT1, GLUT2の発現制御には関与しないことが、明らかとなった。

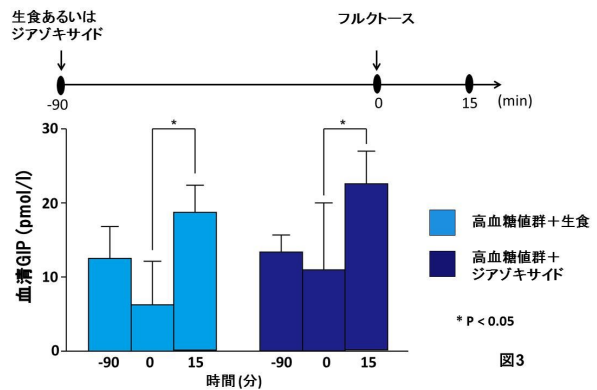
(5) Kir6.2K0マウスにおいては、野生型マウスと比較してOGTT施行時のグルコース応答性GIP分泌やキシロース負荷試験で評価したグルコース吸収の亢進を認めた。Kir6.2K0マウスにおいて、グルコース応答性GIP分泌はフロリジン投与により完全に抑制された。

Kir6.2KOマウスにおいては、野生型マウスと比較して十二指腸でのSGLT1の発現の上昇を認めた。これらのことより、Kir6.2KOマウスでは、野生型マウスと比較して、十二指腸でのSGLT1を介したグルコース吸収、GIP分泌の亢進が生じていると考えられた。上部小腸から下部小腸に至るまでのSGLT1やK細胞の分布をみると、十二指腸で最も発現が多く見られ (Yoshikawa T Histochemistry and Cell Biology 2011, Damholt AB Cell and Tissue Research 1999)、十二指腸におけるSGLT1-KATP channel-GIP分泌の相互連関作用は、糖代謝の解析においては特に重要と考えられ今後検討を行う予定である。本研究結果を通して、臨床的な観点から以下のことが重要と考えられた。

高血糖時には、スルホニル尿素薬はインスリン分泌促進作用に加えてGIP分泌促進作用がある可能性があること。KATP channel変異による高インスリン血症を伴う低血糖症例に関して、十二指腸のSGLT1を介したGIP分泌が亢進している可能性があり、今後GIP受容体アンタゴニストが治療薬となりうる可能性があること。高血糖時に脂肪細胞におけるGIP作用が保たれている場合、グルコースやフルクトースなどの単純糖質の過剰摂取があれば体重増加を来す可能性があること。



Seino Y, et al. J Diabetes Investig. 2015. 6(5):522-6 改変

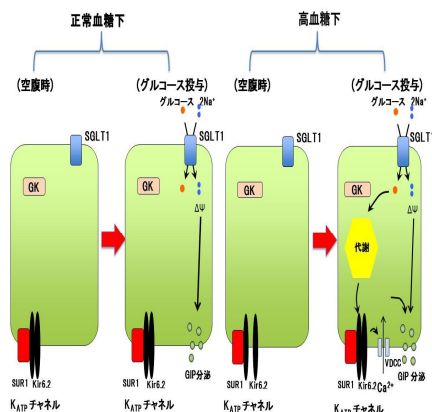


Seino Y, et al. J Diabetes Investig. 2015. 6(5):522-6 改変

## 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4件)

1. Carbohydrate-induced secretion of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1. Seino Y, Maekawa R, Ogata H, Hayashi Y. *J Diabetes Investig* 7 Supple1:27-32, 2016 査読有
2. Endogenous GIP ameliorates impairment of insulin secretion in proglucagon-deficient mice under moderate beta cell damage induced by streptozotocin. Iida A, Seino Y<sup>#</sup>, Fukami A, Maekawa R, Yabe D, Shimizu S, Kinoshita K, Takagi Y, Izumoto T, Ogata H, Ishikawa K, Ozaki N, Tsunekawa S, Hamada Y, Oiso Y, Arima H, Hayashi Y. *Diabetologia* 2016 Apr 6. [Epub ahead of print] #Corresponding author 査読有
3. Fructose induces glucose-dependent insulinotropic polypeptide, glucagon-like peptide-1 and insulin secretion: Role of adenosine triphosphate-sensitive K(+) channels. Seino Y, Ogata H, Maekawa R, Izumoto T,



Seino Y et al. J Diabetes Investig. 2016. 7 suppl1.27-32.改変

- Iida A, Harada N, Miki T, Seino S, Inagaki N, Tsunekawa S, Oiso Y, Hamada Y. *J Diabetes Investig* 6(5):522-6, 2015. doi: 10.1111/jdi.12356. 査読有
4. KATP channel as well as SGLT1 participates in GIP secretion in the diabetic state. Ogata H, Seino Y<sup>#</sup>, Harada N, Iida A, Suzuki K, Izumoto T, Ishikawa K, Uenishi E, Ozaki N, Hayashi Y, Miki T, Inagaki N, Tsunekawa S, Hamada Y, Seino S, Oiso Y. *J Endocrinol* 222(2):191-200, 2014. doi:10.1530/JOE-14-0161. #Corresponding author 査読有

〔学会発表〕(計 13 件)

1. 清野 祐介: The mechanism of carbohydrate-induced GIP and GLP-1 secretion and its effects on glucose metabolism 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 2016 年 5 月 20 日 国立京都国際会館(京都府京都市)
2. 前川 龍也、清野 祐介、恒川 新、濱田 洋司 他: 高炭水化物食の慢性摂取における GIP 分泌と作用に対する検討 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 2016 年 5 月 20 日 国立京都国際会館(京都府京都市)
3. 飯田 淳史、清野 祐介、恒川 新、濱田 洋司 他: DPP-4 阻害薬は、グルカゴン欠損下では膵 細胞傷害時においても、GIP によるインスリン分泌増強を介して耐糖能を改善させる 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 2016 年 5 月 20 日 国立京都国際会館(京都府京都市)
4. 前川 龍也、清野 祐介、恒川 新、濱田 洋司 他: 高炭水化物食の慢性摂取は GIP とインスリン分泌増加を伴い体重増加を来す 第 30 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 2016 年 3 月 11 日 大宮ソニックシティビル(埼玉県さいたま市)
5. 清野 祐介: 消化管シグナルによる糖・脂質代謝の調整 第 19 回日本病態栄養学会年次学術集会 2016 年 1 月 9 日 パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
6. Yusuke Seino、Tsunekawa Shin、Yoji Hamada、Yutaka Oiso 他: Glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) preserves insulin secretion and contributes to good-glycemic control in proglucagon-deficient mice treated with streptozotocin *Incretin* 2015 2015 年 7 月 30 日 バンクーバー(カナダ)
7. Ryuya Maekawa, Yusuke Seino, Tsunekawa Shin, Yoji Hamada, Yutaka Oiso 他: Glucose-induced glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) secretion in vivo: Role of ATP-sensitive K<sup>+</sup> (KATP) channels *Incretin* 2015 2015 年 7 月 30 日 バンクーバー(カナダ)
8. Yusuke Seino 他: Glycemic control by islet-derived GIP: analysis of mice deficient in the glucagon gene 第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会 2015 年 5 月 23 日 海峡メッセ下関(山口県下関市)
9. 前川 龍也、清野 祐介、恒川 新、濱田 洋司、大磯 ユタカ 他: 高炭水化物を用いた GIP 分泌とその作用に関する検討 第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会 2015 年 5 月 21 日 グランプラス セント・ヴァレンタイン(山口県下関市)
10. 飯田 淳史、清野 祐介、恒川 新、濱田 洋司、大磯 ユタカ 他: GIP はグルカゴン遺伝子欠損マウスにおいて膵 細胞傷害時の血糖値改善に關与する 第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会 2015 年 5 月 21 日 グランプラス セント・ヴァレンタイン(山口県下関市)
11. Yusuke Seino, Tsunekawa Shin, Yoji Hamada, Yutaka Oiso 他: Role of the KATP channel in glucose-induced GIP secretion 10<sup>th</sup> IDF-WPR CONGRESS 2014 6<sup>th</sup> AASD Scientific Meeting 2014 年 11 月 23 日 シンガポール(シンガポール)
12. 尾方 秀忠、清野 祐介、恒川 新、濱田 洋司、大磯 ユタカ 他: 単糖類は KATP チャネル依存性の経路と非依存性の経路により GIP 分泌を惹起する 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会 2014 年 5 月 24 日 大阪国際会議場(大阪府大阪市)
13. 尾方 秀忠、清野 祐介、恒川 新、濱田 洋司、大磯 ユタカ 他: 長期の高ショ糖食と高スターチ食はそれぞれ GIP 分泌増強をもたらすが、異なる体重の変化をきたす 第 17 回日本病態栄養学会年次学術集会 2014 年 1 月 11 日 大阪国際会議場(大阪府大阪市)
14. 〔図書〕(計 1 件)  
清野 祐介 他、Bio Clinica、膵島から分泌されるインクレチンの生理学的意義、北隆館、2016 年 第 31 巻 第 7 号 P28-32

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

清野 祐介 (SEINO, Yusuke)  
名古屋大学・大学院医学研究科・特任助教  
研究者番号: 80534833

##### (2) 研究分担者

濱田 洋司 (HAMADA, Yoji)  
名古屋大学・大学院医学研究科・

特任准教授  
研究者番号：20293706

恒川 新(TSUNEKAWA, Shin)  
名古屋大学・医学部附属病院・  
助教  
研究者番号：40612768

大磯 ヌタカ(OISO, Yutaka)  
名古屋大学・大学院医学研究科・  
教授  
研究者番号：40203707  
(平成 25 年度-平成 26 年度)