栄養素によるインスリン分泌抑制機構と 糖尿病における異常*

清 野 裕**

Mechanism of Insulin Secretion Induced by Nutrient Abnormalities in Diabetes Mellitus

Yutaka Seino

J Jpn Soc Nutr Food Sci **53**: 119-122 (2000)

Nutrients ingested orally are important physiological insulin secretagogues: a much greater insulin response is observed after oral glucose loading than after intravenous injection of the same amount of glucose. Gastrointestinal inhibitory polypeptide (GIP) is the primary hormonal messenger relaying information from the gut to pancreatic β cells. To investigate the role of GIP as an incretin, we have generated mice with a targeted mutation of the GIP receptor gene. GIPR^{-/-} mice have higher blood glucose levels with an impaired insulin response after an oral glucose load, suggesting that the early insulin secretion mediated by GIP determines glucose tolerance after oral glucose loading *in vivo*. In the Goto-Kakizaki rat, a new genetic model of type 2 diabetes, the insulin response to glucose is selectively impaired. We examined the properties of ATP-sensitive K⁺ channels, whose inhibition is a key step in insulin secretion induced by fuel substrates, using the patch-clamp technique. The sensitivity of the K_{ATP} channels to glucose is considerably reduced in GK rats. It appears that the impaired insulinotropic action of glucose in the β cells of GK rats is insufficient closure of the K_{ATP} channels, probably because of deficient ATP production due to impaired glucose metabolism. In order to elucidate which step in ATP production by the metabolic pathway is responsible in diabetic β cells, we tested glyceraldehyde and KIC (ketoisocaproate, which can be metabolized in mitochondria via acetyl-CoA). K_{ATP}-channel activities in both control and diabetic β cells were equally suppressed by glyceraldehyde and 2-ketoisocaproate. We also investigated the insulin-secretory capacity of β cells by stimulation with dihydroxyacetone (DHA), which is known to be directly converted to DHA-phosphate and preferentially enter the glycerol phosphate shuttle. The DHA sensitivity of the K_{ATP} channels was found to be reduced in the β cells of GK rats. These results suggest that the intracellular sites responsible for the impaired glucose metabolism in pancreatic β cells of GK rats are located both in the glycolytic pathway proximal to glyceraldehyde and in the glycerol phosphate shuttle.

Key Words GIP, insulin, glucose, arginine, K_{ATP} channel, diabetes mellitus.

(Received January 31, 2000 ; Accepted January 31, 2000)

糖代謝に最も重要な因子はインスリンであり、インスリンの分泌調節は生理的には栄養素によって行われている。栄養素のうちグルコース、アミノ酸はインスリン分泌に促進的に働く。糖尿病ではこのうちグルコースによ

るインスリン分泌が、選択的に障害される¹⁾⁻⁴⁾。グルコースを経口的に投与した場合と静脈内投与を行った場合に促進されるインスリン分泌は、静脈投与の場合に著しい血糖上昇が見られるにもかかわらず、インスリン分

* 本総説は平成 11 年度日本栄養・食糧学会学会賞の対象となったものである。

** 連絡・別刷請求先 (Corresponding author)

京都大学医学研究科病態代謝栄養学 (606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54)

Department of Metabolism and Clinical Nutrition, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Shogoin Kawaharacho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan

泌はさほど上昇をしない⁵⁾⁶⁾。この事実はグルコースを経口投与した場合に、吸収されたグルコース以外に消化管によりインスリン分泌促進因子が放出されこれがインスリン分泌を促すと考えられ、インクレチンと命名されている⁷⁾。現在、インクレチンとしては gastric inhibitory polypeptide (GIP), glucagon like peptide 1 (GLP-1) が知られており、GIP, GLP-1 はともにグルコースによるインスリン分泌を促進する。糖尿病では、経口グルコース投与によるインスリン分泌も障害されているので当初はこのインクレチン効果が減弱していると考えられていた。しかし、血中 GIP, GLP-1 を測定するとこれらのホルモンレベルは正常かむしろ過剰であり⁸⁾⁹⁾、これらインクレチンの分泌が減弱するためにインスリン分泌が低下するとは考えられない。さらに、糖尿病患者に GIP あるいは GLP-1 を投与して血中インスリンを測定すると、GIP に対する反応は不良であったが GLP-1 に対する反応は良好に保たれている¹⁰⁾。従って GIP に対するインスリン反応の障害が糖尿病におけるインスリン分泌不全の一因であると推定された。

1. GIP とインスリンの関係

GIP によるインスリン分泌の糖代謝における位置づけ、グルコース投与時の GIP とインスリン分泌の関係を明らかにするため、GIP 遺伝子¹¹⁾¹²⁾、GIP 受容体¹³⁾¹⁴⁾ 遺伝子の構造を決定すると共に、GIP 受容体欠損マウスを作成し検討した¹⁵⁾。GIP 受容体欠損マウスでは単離膵ラ氏島を用いた実験で GIP によるインスリン分泌は完全に欠如し、受容体欠損が確認された。ブドウ糖負荷後の血糖曲線は悪化し、血中インスリンはグルコース投与後 15 分、30 分とも野生型マウスに比し有意に低下した。従って GIP 受容体欠損マウスにおける経口グルコースによる初期のインスリン分泌の低下は、その後の血糖上昇に大きな与えることが明らかになった。すでに著者ら¹⁶⁾ はヒト GIP 受容体異常症を発見しておりこれらの受容体異常症では、耐糖能低下と共に GIP に対する cAMP の上昇が不良であることを確認している。今回の研究で GIP 受容体の障害が糖尿病における膵 β 細胞におけるインスリン分泌の障害と関連していることを明らかにした。

2. 膵 β 細胞におけるグルコースによるインスリン分泌機構

一方、すでに述べたように糖尿病の大きな特徴の一つはグルコースに対するインスリン分泌不全であり、この機構を明らかにすることは糖尿病の成因解明にとって極めて重要である。

グルコースによるインスリン分泌機構には仁木ら¹⁷⁾ により提唱された「グルコースレセプター説」と「代謝説」がある。筆者らは新しい技法を駆使することにより代謝説の裏付けを試みた。

代謝説は膵 β 細胞にグルコースが流入し代謝され、その代謝産物がシグナルとなってインスリン分泌が生ずるという考え方である。この経路は膵 β 細胞の糖輸送担体、 K_{ATP} チャネル、電位依存性カルシウムチャネル (VDCC)、細胞内カルシウムの上昇などが関与する。そこでまず膵 β 細胞の糖輸送担体 (GLUT2)¹⁸⁾、VDCC (ラット)¹⁹⁾ の分子基盤を明らかにした。また Fura 2 を用いる膵 β 細胞内カルシウム測定法、パッチクランプ法を用いる膵 β 細胞イオンチャネルの解析法を確立した。これらの所見や手技を用いてグルコースによるインスリン分泌には GLUT2 によるグルコースの認識と輸送、さらに膵 β 細胞内でのグルコース代謝と ATP など代謝シグナルの産生、ATP による K_{ATP} チャネルの閉鎖、引き続く β 細胞膜の脱分極と VDCC の活性化、細胞内カルシウムの上昇が極めて重要な役割を果たしていることを立証した¹⁹⁻³³⁾。

なかでも K_{ATP} チャネルはこの経路の鍵で ATP によるこのチャネルの閉鎖がグルコースによるインスリン分泌に極めて重要であることを確認し、 β 細胞内グルコース代謝と代謝シグナルに対する K_{ATP} チャネル²³⁾²⁷⁾³⁴⁾、VDCC の応答が必須であることを示した²⁴⁾²⁸⁾³³⁾。

3. 糖尿病におけるグルコース代謝の破綻とチャネル応答障害

日本人 NIDDM とその病態が極めて類似する遺伝性非肥満 NIDDM モデルである GK ラットにおける膵 β 細胞の障害部位の同定は、日本人 2 型糖尿病成因解明の糸口となると考えこれを用いて実験を行い、以下の知見を得た。

1) 単離ラ氏島よりのインスリン分泌は対照群ではグルコース濃度に依存して増加するが、GK ラットではグルコース濃度が上昇してもインスリン分泌は増加しなかった²⁷⁾³³⁾。一方、アルギニンや KCl などの刺激に対しては GK ラットでむしろ分泌が亢進しており、グルコースに対するインスリン分泌の選択的な低下が認められた³³⁾。

2) 膵 β 細胞のグルコース認識機構と想定されている GLUT2 ならびにグルコキナーゼの発現量は GK ラットと正常対照群で差を認めなかった。

3) K_{ATP} チャネルの ATP に対する応答は対照と GK ラットの間に差を認めなかった²⁷⁾。

4) グルコースによる K_{ATP} チャネルの閉鎖は不全であるが、グルコース中間代謝産物である acetyl coA, グリセロアルデヒド 3 リン酸によって K_{ATP} チャネルは対照同様閉鎖された²⁷⁾。

5) GK ラットでは一酸化窒素 (NO) の産生は過剰であること、NO はフォスホフルクトキナーゼの活性を阻害して解答系を障害し、グルコースによる K_{ATP} チャネルの閉鎖不全を惹起する可能性がある³⁰⁾。

6) GK ラットでは解毒系で生じた還元当量をミトコ

ンドリア内に運び込むことにより ATP 産生に寄与するグリセロールリン酸シャトル (GP シャトル) が障害され、そのために K_{ATP} チャネルの閉鎖不全とインスリン分泌障害を生ずる²⁹⁾。

7) VDCC は基礎レベルは $GK\beta$ 細胞で活性が増強している。しかし、強制脱分極 (VDCC の活性を直接観察する) 条件下ではグルコースによるチャネル活性の増強が障害されている³³⁾。

8) GK ラット膵 β 細胞内の $[Ca^{2+}]_i$ 上昇はグルコースに対して選択的に障害されているが³²⁾³³⁾, VDCC 以降の系はむしろ亢進している³²⁾。

これらの事実は膵 β 細胞のグルコース代謝によるシグナル (ATP など) が K_{ATP} , VDCC などの機能維持に重要であることを示している。糖尿病では β 細胞内のグルコース代謝に障害が存在し, ATP をはじめとするシグナルの低下がチャネル機能の障害を生じ, その結果グルコースによるインスリン分泌が低下することが明らかになった。

文 献

- 1) 清野 裕 (1974) 糖尿病におけるインスリン分泌異常の研究. 糖尿病 17, 221-231.
- 2) Seino Y, Taminato T, Goto Y, Ikeda M, Imura H. (1975) Comparative insulinogenic effects of glucose, arginine and glucagon in patients with diabetes mellitus, endocrine disorders and liver disease. *Acta Diabetol* 12 : 89-9.
- 3) Seino Y, Ikeda M, Seino S, Nakane K, Nakahara H, Imura H. (1977) Amino acid modulation of plasma insulin and glucagon induced by glucose in diabetic patients. *Metabolism* 26 : 911-9.
- 4) Seino Y, Ikeda M, Kurahachi H, Taminato T, Sakurai H, Goto Y, Inoue Y, Kadowaki S, Mori K, Imura H. (1978) Failure to suppress plasma glucagon levels by orally administered glucose in diabetic patients after treatment. *Diabetes* 27 : 1145-50.
- 5) Elrick H, Stimmler L, Hlad CJ, Arai Y (1964) Plasma insulin responses to oral and intravenous glucose administration. *J Clin Endocrinol Metab* 24 : 1076-82.
- 6) Perley MJ, Kipnis DM (1967) Plasma insulin responses to oral and intravenous glucose : studies in normal and diabetic subjects. *J Clin Invest* 46 : 1954-62.
- 7) Creutzfeldt W (1979) The incretin concept today. *Diabetologia* 16 : 75-75.
- 8) Ebert R, Creutzfeldt W (1980) Hypo- and hypersecretion of GIP in maturity-onset diabetics. *Diabetologia* 19 : 271-2.
- 9) Takemura J, Seino Y, Tsuda K, Seino S, Ikeda M, Sakurai H, Imura H (1981) Hypersecretion of gastric inhibitory polypeptide induced by glucose ingestion in diabetes mellitus. *Endocrinol Jpn* 28 : 17-21.
- 10) Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, Holst, JJ, Ebert R, Creutzfeldt W (1993) Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] but not synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 91 : 301-7.
- 11) Takeda J, Seino Y, Tanaka K, Fukumoto H, Kayano T, Takahashi H, Mitani T, Kurono M, Suzuki T, Tobe T, Imura H (1987) Sequence of an intestinal cDNA encoding human gastric inhibitory polypeptide precursor. *Proc Natl Acad Sci USA* 84 : 7005-8.
- 12) Inagaki N, Seino Y, Takeda J, Yano H, Yamada Y, Bell GI, Eddy RL, Fukushima Y, Byers MG, Shows TB, Imura H (1989) Gastric inhibitory polypeptide : structure and chromosomal localization of the human gene. *Mol Endocrinol* 3 : 1014-21.
- 13) Yamada Y, Hayami T, Nakamura K, Kaisaki PJ, Someya Y, Wang C-Z, Sino S, Seino Y (1995) Human gastric inhibitory polypeptide receptor : cloning of the gene (GIPR) and cDNA. *Genomics* 29 : 773-6.
- 14) Yasuda K, Inagaki N, Yamada Y, Kubota A, Seino S, Seino Y (1994) Hamster gastric inhibitory polypeptide receptor expressed in pancreatic islets and clonal insulin-secreting cells : its structure and functional properties. *Biochem Biophys Res Commun* 205 (3) : 1556-62.
- 15) Miyawaki K, Yamada Y, Yano H, Niwa H, Ban N, Ihara Y, Kubota A, Fujimoto A, Kajikawa M, Kuroe A, Tsuda K, Hashimoto H, Yamashita T, Jomori T, Tashiro F, Miyazaki U, Seino Y. (1999) Glucose intolerance due to a defect in the entero-insular axis : a study in GIP-receptor knock-out mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 (26) : 14843-7.
- 16) Kubota A, Yamada Y, Hayami T, Yasuda K, Someya Y, Ihara Y, Kagimoto S, Watanabe R, Taminato T, Tsuda K, Seino Y (1996) Identification of two missense mutations in the GIP receptor gene : a functional study and association analysis with NIDDM : no evidence of association with Japanese NIDDM subjects. *Diabetes* 45 : 1701-5.
- 17) Niki A, Niki H, Miwa I, Okuda J (1974) Insulin secretion by anomers of D-glucose. *Science* 186 : 150-1.
- 18) Fukumoto H, Seino S, Imura H, Seino Y, Eddy R. L, Fukushima Y, Byers MG, Shows TB, Bell GI (1988) Sequence, tissue distribution and chromosomal localization of mRNA encoding a novel human glucose transporter-like protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 85 : 5434-8.
- 19) Ihara Y, Yamada Y, Fujii Y, Gono T, Yano H, Yasuda K, Inagaki N, Seino Y, Seino S (1995) Molecular diversity and functional characterization of voltage-dependent calcium channels ex-

- pressed in pancreatic β -cell. *Mol Endocrinol* **9** : 121-30.
- 20) Yasuda K, Yamada Y, Inagaki N, Yano H, Okamoto Y, Tsuji K, Fukumoto H, Imura H, Seino S, Seino Y (1992) Expression of GLUT1 and GLUT2 glucose transporter isoforms in rat islets of Langerhans and their regulation by glucose. *Diabetes* **41** : 76-81.
- 21) Inagaki N, Yasuda K, Inoue G, Okamoto Y, Yano H, Someya Y, Ohmoto Y, Deguchi K, Imagawa K, Imura H, Seino Y (1992) Glucose as a regulator of both glucose transport activity and glucose transporter mRNA in a hamster beta cell line. *Diabetes* **41** : 592-7.
- 22) Yano H, Kitano N, Morimoto M, Polonsky KS, Imura H, Seino Y (1992) A novel point mutation in the human insulin gene giving rise to hyperproinsulinemia (proinsulin Kyoto). *J Clin Invest* **89** : 1902-7.
- 23) Tsuura Y, Ishida H, Okamoto Y, Tsuji K, Kurose T, Horie M, Imura H, Okada Y, Seino Y (1992) Impaired glucose sensitivity of ATP-sensitive K^+ channels in pancreatic β cells in streptozotocin-induced NIDDM rats. *Diabetes* **41** : 861-5.
- 24) Okamoto Y, Ishida H, Taminato T, Tsuji K, Kurose T, Tsuura Y, Kato S, Imura H, Seino Y (1992) The role of cytosolic Ca^{2+} in impaired sensitivity to glucose of rat pancreatic islets exposed to high glucose *in vitro*. *Diabetes* **41** : 1555-61.
- 25) Inagaki N, Maekawa T, Sudo T, Ishii S, Seino Y, Imura H (1992) c-Jun represses the human insulin promoter activity that depends on multiple cAMP response elements. *Proc Natl Acad Sci USA* **89** : 1045-9.
- 26) Seino Y, Yamamoto T, Inoue K, Imamura M, Kadawaki S, Kojima H, Fujikawa J, Imura H (1993) Abnormal facilitative glucose transporter gene expression in human islet cell tumors. *J Clin Endocrinol Metab* **76** : 75-8.
- 27) Tsuura Y, Ishida H, Okamoto Y, Kato S, Sakamoto K, Horie M, Ikeda H, Okada Y, Seino Y (1993) Glucose sensitivity of ATP-sensitive K^+ channels is impaired in β cells of the GK rat, a new genetic model of NIDDM. *Diabetes* **42** : 1446-53.
- 28) Kato S, Ishida H, Tsuura Y, Okamoto Y, Tsuji K, Horie M, Okada Y, Seino Y (1994) Increased calcium channel currents of pancreatic β cells in neonatally streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism* **43** : 1395-400.
- 29) Tsuura Y, Ishida H, Okamoto Y, Kato S, Horie M, Ikeda H, Seino Y (1994) Reduced sensitivity of dihydroxyacetone on ATP-sensitive K^+ channels of pancreatic beta cells in GK rats. *Diabetologia* **37** : 1082-7.
- 30) Tsuura Y, Ishida H, Hayashi S, Sakamoto K, Horie M, Seino Y (1994) Nitric oxide opens ATP-sensitive K^+ channels through suppression of phosphofructokinase activity and inhibits glucose-induced insulin release in pancreatic β cells. *J Gen Physiol* **104** : 1079-99.
- 31) Inagaki N, Tsuura Y, Namba N, Masuda K, Gono T, Horie M, Seino Y, Mizuta M, Seino S (1995) Cloning and functional characterization of a novel ATP-sensitive potassium channel ubiquitously expressed in rat tissues, including pancreatic islets, pituitary, skeletal muscle, and heart. *J Biol Chem* **270** : 5691-4.
- 32) Okamoto Y, Ishida H, Tsuura Y, Yasuda K, Kato S, Matsubara H, Nishimura M, Mizuno N, Ikeda H, Seino Y (1995) Hyperresponse in calcium-induced insulin release from electrically permeabilized pancreatic islets of diabetic GK rats and its defective augmentation by glucose. *Diabetologia* **38** : 772-8.
- 33) Kato S, Ishida H, Tsuura Y, Tsuji K, Nishimura M, Horie M, Taminato T, Ikehara S, Okada H, Ikeda H, Okada Y, Seino Y (1996) Alterations in basal and glucose-stimulated voltage-dependent Ca^{2+} channel activities in pancreatic β cells of non-insulin-dependent diabetes mellitus GK rats. *J Clin Invest* **97** : 2417-25.
- 34) Mukai E, Ishida H, Kato S, Tsuura Y, Fujimoto S, Ishida-Takahashi A, Horie M, Tsuda K, Seino Y (1998) Metabolic inhibition impairs ATP-sensitive K^+ channel block by sulfonylurea in pancreatic β cells. *Am. J. Physiol. (Endocrinol. Metab.)* **274** : E38-44.

(2000年1月31日受付・受理)