

Acute inhibition of PI3K-PDK1-Akt pathway potentiates insulin secretion through upregulation of Newcomer granule fusions in pancreatic β -cells

青柳 共太 永松 信哉

杏林大学医学部生化学教室

膵 β 細胞をグルコースで刺激すると、急峻で一過的な第1相分泌とそれに続く第2相分泌からなる2相性インスリン分泌が観察される。インスリンは膵 β 細胞のインスリン顆粒に内包されており、グルコース刺激による細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇に応じて分泌顆粒膜と細胞膜が融合する、いわゆる開口放出機構により細胞外へと分泌される(1)。

我々は全反射型蛍光顕微鏡を用いたインスリン分泌可視化解析から、挙動の異なる2種類のインスリン顆粒、すなわち刺激前から細胞膜へドッキングしていて syntaxin1A 依存的に開口放出を行う顆粒 (Pre-docked 顆粒) と、刺激後に細胞膜近傍へと移行してきて、細胞膜に到達すると速やかに開口放出される顆粒 (Newcomer 顆粒) の2種類がグルコース刺激依存的なインスリン分泌に関与することを明らかにしてきた(2)。このうち Newcomer 顆粒からの分泌機構についての詳細は未だ明らかになっていないが(3)、我々は PI3K 阻害剤処理が第2相分泌を選択的に増強することを見いだした(4)。そこで本研究では Newcomer 顆粒からの分泌制御に関わる PI3K を介したシグナル伝達経路の探索を行い、PI3K-PDK1-Akt 経路が Newcomer 顆粒からの分泌を抑制的に制御することを明らかにした(5)。

PI3K 阻害剤によるインスリン分泌増強作用は複数のグループから報告されている(6-8)。他方では、PI3K の遺伝子欠失マウス膵島では SNARE タンパク質が減少し、グルコース刺激依存的なインスリン分泌が減弱することが報告されている(9,10)。我々は本研究において、それぞれの報告の違いが、PI3K 活性阻害時間の違いによって生じることを見いだした。すなわち、PI3K 阻害剤を用いて PI3K 活性を急性阻害するとインスリン分泌

の増強が観察されたのに対し、PI3K 活性を慢性的に阻害すると SNARE タンパク質発現量の減少とインスリン分泌の減弱が観察された。従って膵 β 細胞自身が分泌したインスリンの autocrine 作用などによる急性的な PI3K 活性の制御が Newcomer 顆粒からの分泌の抑制的な制御に関与していることが示唆された。

神経細胞や副腎髄質細胞など、他の興奮性分泌細胞では PI3K-Akt 経路を阻害することにより刺激依存的な分泌の減少が報告されている(11,12)。本研究においても PI3K-PDK1-Akt 経路を急性阻害することにより Newcomer 顆粒からの分泌が増加する一方、Pre-docked 顆粒からの分泌は減少することを見いだした。このことは Pre-docked 顆粒からの分泌が他の興奮性分泌細胞で観察される分泌と類似した機構により制御されていることを示唆すると共に、Newcomer 顆粒からの分泌が Pre-docked 顆粒からの分泌とは全く異なる機構により制御されていることを示す結果である。

本研究において Newcomer 顆粒からの分泌の制御には PI3K-PDK1-Akt 経路が重要であることが示されたが、Akt のさらなる下流においてどのような分子が関与しているのかについては未だ明らかではない。Akt の基質となる分泌関連分子として CSP α , Synip, AS160, Slp1, MyosinVa などが報告されている(13-17)。今後はこれら既知の Akt 基質分子を含めどのような分子機構により Newcomer 顆粒からの分泌が制御されているか明らかにしていくことが必要である。

Reference

1. Rorsman P, Renström E, Diabetologia, 46: 1029-1045 (2003)
2. Ohara-imaizumi M, et al, J Cell Biol, 177: 695-705 (2007)

3. Aoyagi K, et al, *Front Biosci*, 16: 1197-1210 (2011)
4. Aoyagi K, et al, *Biochem J*, 432: 375-386 (2010)
5. Aoyagi K, et al, *PLoS One*, 7: e47381 (2012)
6. Eto K, et al, *Diabetes*, 51: 87-97 (2002)
7. Zawalich WS, et al, *Endocrinology*, 141: 3287-3295 (2000)
8. Hasegawa S, et al, *Biochem Biophys Res Commun*, 214: 51-59 (1995)
9. Kulkarni RN, et al, *Cell*, 96: 329-339 (1999)
10. Kaneko K, et al, *Cell Metab*, 12: 619-632 (2010)
11. Itakura M, et al, *J Neurochem*, 94: 502-509 (2005)
12. Yang F, et al, *Nat Neurosci*, 4: 19-28 (2001)
13. Evans GJ, et al, *J Biol Chem*, 281: 1564-1572 (2006)
14. Yamada E, et al, *J Cell Biol*, 168: 921-928 (2005)
15. Bouzakri K, et al, *Diabetes*, 57: 1195-1204 (2008)
16. Johnson JL, et al, *Traffic*, 6: 667-681 (2005)
17. Yoshizaki T, et al, *Mol Cell Biol*, 27: 5172-5183 (2007)