

論 文 要 旨

Pharmacological polysulfide suppresses glucose-stimulated insulin secretion in an
ATP-sensitive potassium channel-dependent manner
(ポリスルフィドはATP感受性カリウムチャネル依存的にグルコース刺激インス
リン分泌を抑制する)

関西医科大学 麻酔科学講座
(紹介： 上林 卓彦 教授)
関西医科大学 附属生命医学研究所 侵襲反応制御部門
(指導： 廣田 喜一 学長特命教授)

正 司 智 洋

【はじめに】

硫化水素 (H_2S) は、細胞内で合成される内因性気体伝達物質であり、血管平滑筋の弛緩、神経伝達作用、そしてインスリンシグナル伝達の制御など、多彩な生理的プロセスで機能している。近年、硫黄原子同士が共有結合して構成されるポリスルフィド (H_2S_n) が、酸素存在下で内因性に生成されることが確認されている。ポリスルフィドは、抗酸化遺伝子を標的とする転写因子の活性化や、血管平滑筋の弛緩作用が報告されている。 H_2S は血糖コントロールの調節因子でもあり、血中グルコース濃度の恒常性に寄与している。しかし、ポリスルフィドがグルコース刺激インスリン分泌 (GSIS) へ与える影響に関する報告はない。本研究では、二硫化ナトリウム (Na_2S_2)、三硫化ナトリウム (Na_2S_3)、四硫化ナトリウム (Na_2S_4) を含むポリスルフィドが GSIS へ及ぼす効果を検討し、その機序を解明した。

【方法】

マウスインスリノーマ MIN6 細胞を用いて、低濃度および高濃度グルコース条件下で、ポリスルフィドを $1.5\sim 50\mu\text{M}$ の濃度で曝露させ、インスリン分泌を ELISA 法で測定した。同様に、ラットインスリノーマ INS-1 細胞およびマウス膵島 β 細胞でもインスリン分泌を測定した。ポリスルフィド曝露による MIN6 の細胞死と生存率について、trypan blue 染色およびフローサイトメトリー法で評価した。また、細胞内 ATP 濃度をルシフェラーゼ反応法を用いて、細胞内酸素消費速度 (OCR) と細胞外酸性化速度 (ECAR) を Extracellular Flux Analyzer を用いて測定した。さらに、糖輸送担体およびイオンチャネルの mRNA 発現を qRT-PCR を用いて評価した。ポリスルフィドがイオンチャネルに与える影響について、パッチクランプ法を用いて検討した。

【結果】

ポリスルフィドは濃度依存性かつ可逆的に GSIS を抑制した。S-S bond を切断する酵素 Immobilized TCEP で前処置したポリスルフィドを曝露させたところ、GSIS は抑制されなかった。一方、 H_2S ドナーである Na_2S と NO ドナーである DEA/NO の混合物を曝露させたところ、 Na_2S 単独と比べて GSIS は有意に抑制された。ATP 感受性カリウムチャネル (K_{ATP} チャネル) 遮断薬であるグリベンクラミド併用下でポリスルフィドを曝露させたところ、低濃度および高濃度グルコース条件下のいずれにおいても、グリベンクラミドによるインスリン分泌促進および GSIS を抑制した。ポリスルフィド曝露による明らかな細胞死や、細胞内 ATP 濃度、OCR、ECAR などエネルギー代謝、mRNA 発現への影響は認めなかった。パッチクランプ法においては、ポリスルフィドはグリベンクラミドに対して拮抗的かつ ATP と非競合的に、 K_{ATP} チャネルを可逆的に活性化させた。

【考察】

ポリスルフィドは濃度依存性かつ可逆的にGSISを抑制した。その機序として、ポリスルフィドが K_{ATP} チャンネルを可逆的に活性化させて開口率が上昇することにより、細胞膜電位の過分極を引き起こし、 Ca^{2+} の細胞内への流入が阻害され、インスリン分泌が抑制されると考えられる。 H_2S がタンパク質中のシステイン残基を還元することで、TRPA-1やT-type Ca^{2+} などのイオンチャンネルに作用することが報告されている。膵臓 β 細胞における K_{ATP} チャンネルは、Kir6.2とSUR1の2種類のサブユニットからなるヘテロ8量体である。そのため、ポリスルフィドはKir6.2やSUR1のシステイン残基を還元修飾することで K_{ATP} チャンネルを活性化すると推測される。