

択的な増強, 逆にDynamamin2の遺伝子欠失膵β細胞ではF-actinの増加と第2相インスリン分泌の選択的な減弱が報告されている<sup>27, 28)</sup>.

さまざまな興奮性分泌細胞を用いた解析から, アクチン骨格は細胞膜直下においてcortical actin層を形成し, 分泌小胞が細胞膜へ近接する障壁として機能する一方, SNARE蛋白や脂質分子などの局在を調節することにより分泌小胞が細胞膜近傍へ移動する過程などの制御にも関与することが近年報告されている<sup>29)</sup>. 膵β細胞においてはさまざまな実験条件においてアクチン骨格の重合剤・脱重合剤処理のいずれにおいてもインスリン分泌の増強が報告されており<sup>30)</sup>, 他の興奮性分泌細胞同様, アクチン骨格の動的な重合・脱重合の制御が2相性インスリン分泌の制御に関与していると考えられる. 今後, グルコース刺激依存的なアクチン動態とインスリン顆粒の動態について解析し, これらのアクチン骨格制御関連因子によってどのような制御を受けることがnewcomer顆粒からのインスリン分泌ならびに第2相インスリン分泌にとって重要なのか明らかにすることが求められる.

上述のアクチン骨格の他に, 第2相インスリン分泌を選択的に制御する機構としてR-type VDCCを介したCa<sup>2+</sup>流入<sup>31)</sup>, アシルCoAやTCA回路の中間産物, NAD(P)Hなどのグルコース代謝産物<sup>32)</sup>, また筆者らが明らかにしたPI3K経路<sup>33)</sup>やミトコンドリア内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇<sup>34, 35)</sup>などの関与が報告されている. このうち, NAD(P)Hについては, 近年, グルタチオンの還元を促進することを介して脱SUMO化酵素SENPIを活性化することでグルコース刺激依存的なインスリン分泌を制御していることが報告されており, 第2相インスリン分泌の制御機構である可能性が示唆されている<sup>36)</sup>. しかしながら, これらの分子・経路がどのようにしてNewcomer顆粒からのインスリン分泌を制御し, 第2相インスリン分泌を制御しているのかについては検討すべき課題として残されている.

## 第1相インスリン分泌の極性について

膵島内の膵β細胞は静脈系毛細血管を取り囲むように配置されており, 刺激後ではインスリン顆粒が毛細血管方向へ集約されていることから, インスリンは毛細血管方向へ極性分泌されることが組織化学実験により示唆されている<sup>37)</sup>. またインスリンが膵β細胞膜の毛細血管に面した領域から毛細血管方向へ極性分泌されることは, 二光子励起顕微鏡による三次元解析においても報告されている<sup>38)</sup>. 最近, 筆者らはインスリン極性分泌のメカニズムの一端を明らかにするとともに, 第1相インスリン分泌が毛細血管方向へ極性分泌されることを示唆した<sup>39)</sup>.

神経終末からの神経伝達物質放出はプレシナプス膜直下にあるアクティブゾーン(AZ)と呼ばれる限局した部位で起こる. このAZにはVDCCとともに, AZ蛋白質と呼ばれるBassoon, Piccolo, RIM, Munc13-1, ELKS/CASTが局在しており, プレシナプスからポストシナプスへの神経伝達物質の極性分泌を調節していることが知られている. AZ蛋白質のなかでとくにELKSは, 他のAZ蛋白質と直接または間接的に結合することから, ELKSはAZ蛋白質複合体形成のプラットフォームと考えられている<sup>40)</sup>.

ELKSは膵β細胞にも発現している<sup>41)</sup>. Syntaxin 1AやL-type VDCCは膵β細胞膜全体に発現しているが, 興味深いことにELKSは毛細血管側の膵β細胞膜に局在している. 筆者らはインスリン極性分泌機構を明らかにする目的で, ELKSによるインスリン分泌調節について膵β細胞特異的ELKS遺伝子欠失マウスを用いて調べた<sup>39)</sup>. ELKS遺伝子欠失マウスの膵灌流実験ではグルコース刺激による第1相インスリン分泌が低下していた. 免疫沈降実験を行った結果, ELKSはVDCC-βサブユニットと直接相互作用していること, またELKS遺伝子欠失膵β細胞ではL-type VDCCを介したCa<sup>2+</sup>電流密度がコントロールマウス膵β細胞に比べて減少していたことから, ELKSは

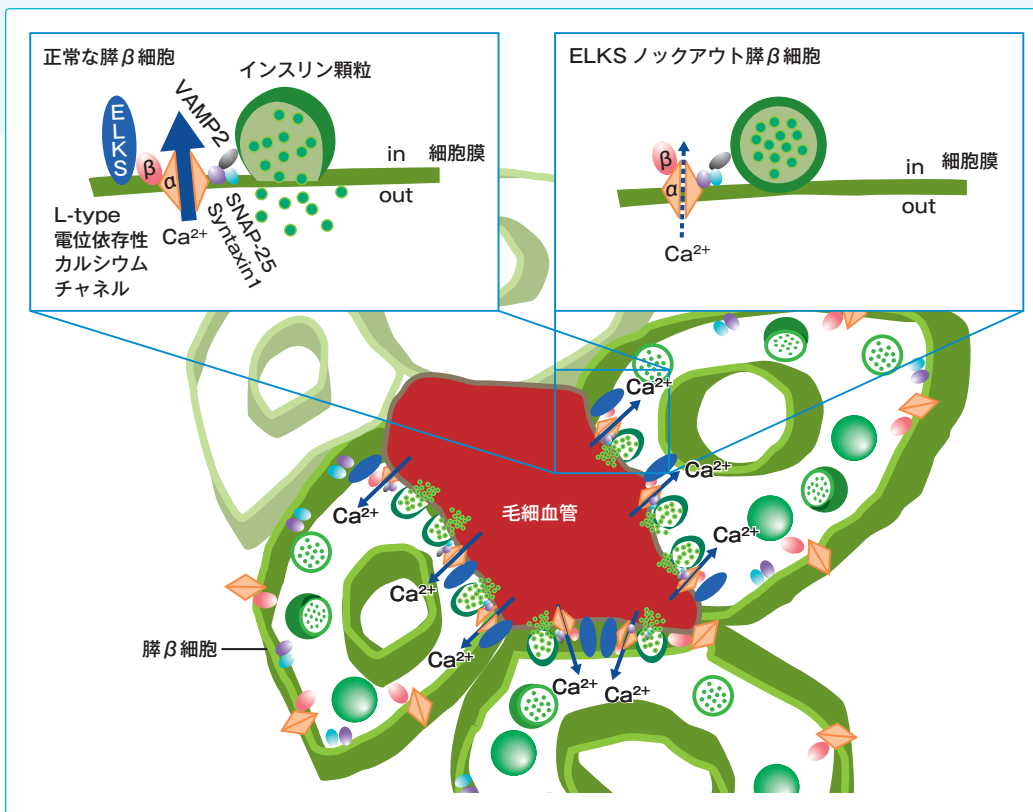


図4 膵島β細胞においてELKSは分泌第1相における毛細血管方向へのインスリン極性分泌をコントロールしている(文献39改変)

L-type VDCCを促進的に調節することで第1相インスリン分泌を増加させることがわかった。膵島内膵β細胞のグルコース応答性*in situ* Ca<sup>2+</sup>イメージングをCa<sup>2+</sup>センサーである膜結合型G-CaMP8bを発現させて行ったところ、グルコース刺激後、ELKSが局在する毛細血管側の膵β細胞膜領域でCa<sup>2+</sup>シグナルが先行して出現したが、ELKS遺伝子欠失膵β細胞ではこの領域でのCa<sup>2+</sup>シグナルが減少していた。これらの結果より、毛細血管側の膵β細胞膜においてELKSはL-type VDCCと直接、またVDCCを介して間接的にSyntaxin 1AなどのSNARE蛋白質と結合することで蛋白質複合体を形成しており、グルコース刺激によりこの部位でのCa<sup>2+</sup>流入を優先的に引き起こすことで、インスリン分泌第1相におけるPre-dockedインスリン顆粒の血管方向への極性開口分泌をコントロールしていることが示唆された(図4)<sup>39)</sup>。

一方、2型糖尿病モデルマウスである*db/db*マウス膵β細胞ではELKSの発現量が低下しており、*db/db*マウス膵島の*in situ* Ca<sup>2+</sup>イメージングでは、ELKS欠失細胞同様、グルコース刺激下の毛細血管側の膵β細胞膜でのCa<sup>2+</sup>上昇が減少していた。これらの結果より、ELKS発現低下

による毛細血管側の膵β細胞膜でのCa<sup>2+</sup>極性上昇の障害は、2型糖尿病での第1相分泌低下の原因の1つではないかと筆者らは推察している。

最近、他のAZ蛋白質(RIM2, Piccolo, Bassoon, Liprin *α*)も毛細血管側の膵β細胞膜に局在しているという報告があり<sup>38, 42)</sup>、AZ蛋白質がどのようにして毛細血管に面した膵β細胞膜領域に局在し、AZ蛋白質複合体によるインスリン極性分泌制御の分子基盤を構築するのかが興味深い(図5)。膵β細胞の極性形成には膵β細胞と血管内皮細胞間のクロストークが必要と考えられ、AZ蛋白質複合体の局在には血管側からのシグナルがトリガーとなる可能性がある。なお、第2相インスリン分泌も第1相分泌同様に毛細血管方向に極性分泌されるのかどうかは、その調節機構も含めていまだ不明である。また、極性分泌はマウスとは異なる形態を持つヒト膵島においても同様に行われているのかについても、今後の課題として残されている。