Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-11

Glutamine amplifies insulin secretion through its conversion to glutamate and intracellular calcium

Han, Guirong

(Degree)
博士（保健学）
(Date of Degree)
2021-03-25
(Date of Publication)
2022-03-01
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲第8048号
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1008048

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

（様式３）

論文内容の要旨

専攻領域　病態解析

専攻分野　病態代謝学

氏　　名　韓桂栄

題目

Glutamine amplifies insulin secretion through its conversion to glutamate and intracellular calcium

(グルタミンはグルタミン酸への変換と細胞内カルシウムを介してインスリン分泌を増強する)

論文内容の要旨（1,000字～2,000字でまとめること。）

【背景と目的】

膵β細胞からのインスリン分泌は、全身の糖恒常性維持において重要であり、その破綻は糖尿病の原因となる。インスリン分泌において、グルコース代謝が基本的なシグナルであるが、インクレチンなどのホルモンや神経入力などの制御も受けており、これにより血糖値を正常の範囲内に維持している。一方、種々のアミノ酸によるインスリン分泌制御も知られており、特にアルギニンやロイシン、グルタミンによるインスリン分泌制御については古くから報告がある。グルタミンによるインスリン分泌については、これまではロイシンとの組み合わせによる分泌増強効果の報告が多く、その機序として細胞内でグルタミナーゼ（GLS）によりグルタミン酸に変換された後グルタミン酸デヒドロゲナーゼ（GDH）によりα-ケトグルタル酸（α-KG）に変換され、ATP産生を介してインスリン分泌を増強することが知られている。私達の研究室では、以前に細胞質のグルタミン酸がグルコース代謝とインクレチン/cAMPシグナルをつなぐ鍵となるシグナルであることを見出した。細胞質のグルタミン酸は、高濃度グルコース存在下ではグルコース代謝のリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルにおいてα-KGから産生される。一方、GLSにより変換されたグルタミン由来のグルタミン酸がインスリン分泌におけるシグナルとして働くかどうかは不明である。本研究では、インスリン分泌細胞株であるMIN6-K8およびマウス膵島を用い、グルコース応答性インスリン分泌（GIIS）に対するグルタミンの効果および細胞内シグナルを検討した。

【結果と考察】

MIN6-K8細胞において、グルタミンは濃度依存的に高濃度グルコース（8.8 mM）によるインスリン分泌を増強した。また、マウス膵島においても2 mMグルタミンによりGIISが有意に増強した。また、グルタミン酸からα-KGへの変換がグルタミンによるGIISの増強において必須かどうかを明らかにするために、CRISPR/Cas9システムを用いて樹立した

GDH 欠損細胞株（*Gludl*KOβCL）を用いて検討した。*Gludl*KOβCLにおいてもMIN6-K8細胞と同様に、グルタミン刺激によりGIISの増強効果が認められた。次に、グルタミンの効果が細胞内でのグルタミン酸への変換を介しているかを検討した。MIN6-K8細胞において腎臓タイプおよび肝臓タイプのグルタミナーゼ（GLSおよびGLS2）の発現が認められた。MIN6-K8細胞で、GLSとGLS2の発現抑制または阻害により細胞内グルタミン酸含量の増加が抑えられ、インスリン分泌増強効果が顕著に抑制された。また、グルタミンはグルコースによって惹起される細胞内 Ca^{2+}濃度の上昇を有意に増強した。一方、高濃度グルコース下ではグルタミンは細胞内 ATP 含量を増加させないが、MIN6-K8 細胞および*Gludl*KOβCL においてグルコースによって惹起される細胞内 Ca^{2+}濃度の上昇を有意に増強した。以上より、細胞内でグルタミンから産生されたグルタミン酸が細胞内 Ca^{2+}濃度の上昇を介してインスリン分泌を増強することが示唆された。さらに、グルタミンによる細胞内 Ca^{2+}濃度の上昇およびインスリン分泌増強は細胞外 Ca^{2+}非存在下および電位依存性カルシウムチャネル（VDCC）の阻害剤の存在下でほぼ消失した。この結果から、グルタミンによるインスリン分泌増強はVDCCを介した細胞外からの Ca^{2+}の流入に依存していることが示された。

既報論文ではグルタミンによるインスリン分泌増強の機序として、主にロイシンなどによってGDHが活性化された条件下でα-KGに変換されてTCA回路に入り、ATP産生を介する経路が議論されてきた。一方、高濃度グルコース存在下での作用機序については詳細は不明であった。本研究により高濃度グルコースの条件下では、グルタミンは膵β細胞内でグルタミン酸に変換され、その含量が増加することによって、細胞内 Ca^{2+}濃度が上昇し、インスリン分泌を増強することが明らかになった。細胞内のグルタミン酸による細胞内 Ca^{2+}動態の制御はこれまでに知られていないが、細胞内のグルタミン酸がタンパク質脱リン酸化酵素を阻害することが報告されており、細胞内のリン酸化レベルの増加により細胞内 Ca^{2+}上昇やインスリン分泌増強に寄与していることが考えられる。

グルタミンは、グルコース非応答性のβ細胞株 MIN6-m14においても、細胞内 Ca^{2+}濃度の上昇およびインスリン分泌を惹起した。また、グルタミンはスルホニル尿素薬であるグリベンクラミドによるインスリン分泌を顕著に増強した。これらの結果は糖尿病患者の膵β細胞など、インスリン分泌障害がある場合でもグルタミン存在下でインスリン分泌が増加し、さらに糖尿病治療薬の効果を増強することを示唆している。糖尿病患者で血中グルタミン濃度が低下しているとの報告もあり、生体内のグルタミン濃度の維持が膵β細胞機能におい

ても重要であると考えられる。

【結語】

グルタミンは高濃度グルコース下でインスリン分泌を増強する。この増強作用において、細胞内でグルタミンから変換されたグルタミン酸が重要なメディエーターとして働くことが明らかになった。また、グルタミンは膵β細胞の生理的なインスリン分泌機能の維持において重要であることが示唆される。

指導教員氏名：木戸良明

（別紙１）

論文審査の結果の要旨

氏　名	韓　桂栄
論文題目	Glutamine amplifies insulin secretion through its conversion to glutamate and intracellular calcium (グルタミンはグルタミン酸への変換と細胞内カルシウムを介してインスリン分泌を増強する)

審査委員	区　分	職　名	氏　名
	主　査	教　授	木戸　良明
	副　査	教　授	堀　裕一
	副　査		印
	副　査		印

要　旨

[背景]糖尿病は膵β細胞からのインスリン分泌障害或いはその作用不全により発症する。膵β細胞からのインスリン分泌においては、グルコース代謝が基本的なシグナルであるが、アルギニンやロイシン、グルタミンなどのアミノ酸もインスリン分泌を制御することが知られている。低濃度のグルコース下で、グルタミンはロイシンによるインスリン分泌を増強するが、高濃度グルコースにおけるインスリン分泌に対するグルタミンの効果はあまり知られていない。[目的]膵β細胞におけるグルタミンによるグルコース応答性インスリン分泌増強機構を解明することを目的とした。[結果]膵β細胞株において、グルタミンによりグルコース応答性インスリン分泌が増強した。膵β細胞株において、グルタミンにより膵β細胞内Ca^{2+}濃度が上昇した。グルタミナーゼ活性阻害によりインスリン分泌と細胞内Ca^{2+}濃度が低下した。GDH欠損細胞株においてもグルタミンによりインスリン分泌と細胞内Ca^{2+}濃度が上昇した。グルタミンによるインスリン分泌に対する効果はCa^{2+}非存在下およびニフェジピンにより低下した。グルコース非応答性のβ細胞株においてもグルタミンによりインスリン分泌と細胞内Ca^{2+}濃度が上昇した。[結語]グルタミンは細胞内でグルタミン酸に変換され、主に細胞内Ca^{2+}濃度を上昇させることによりグルコース応答性インスリン分泌を増強する。この効果はVDCCを介した細胞外からのCa^{2+}流入に依存していることが示唆される。よって、学位申請者の韓桂栄は、博士（保健学）の学位を得る資格があると認める。

掲載論文名・著者名・掲載（予定）誌名・巻（号），頁，発行（予定）年を記入してください。

Glutamate is an essential mediator in glutamine-amplified insulin secretion.
Han G, Takahashi H, Murao N, Gheni C, Yokoi N, Hamamoto Y, Asahara S, Seino Y, Kido Y, Seino S.
Journal of Diabetes Investigation, in press