

平滑筋の高濃度  $K^+$ 誘発性収縮反応  
およびグルコース取込み機構の解析

(Analysis on mechanisms of glucose uptake on high  $K^+$ -induced  
contraction in smooth muscle)

学位論文の内容の要約

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科

獣医学専攻博士課程平成 25 年入学

神田 秀憲

(指導教授：鈴木 浩悦)

## 要約

グルコースは細胞活動を維持する重要なエネルギー基質の1つである。細胞内へのグルコース取込みは主に  $\text{Na}^+$ -グルコース共輸送体 (SGLT) およびグルコーストランスポーター (GLUT) を介して行われる。

平滑筋は、その電気生理学および機械的応答から phasic 筋と tonic 筋に大別される。また、phasic 筋および tonic 筋の差異には好氣的代謝への依存性も異なることが示唆されてきた。さらに、平滑筋の収縮応答は臓器・組織によりグルコース取込み機構の関与が異なる可能性が示されてきた。

一方、平滑筋において SGLT 阻害薬である phloridzin は、高濃度  $\text{K}^+$  収縮を抑制するが、その抑制は平滑筋のタイプにより異なる。その収縮抑制機序は、SGLT を介したグルコース取込み抑制であると考えられてきたが、平滑筋において phloridzin によるグルコース取込みの変化について検討した報告は無い。また、tonic 筋である大動脈平滑筋には骨格筋や脂肪細胞と同様に GLUT4 が発現しており、インスリン刺激および受容体作動薬によりグルコースを取込むことが報告されている。GLUT4 の活性化シグナルは、刺激経路あるいは臓器により異なる。しかしながら、血管平滑筋において、GLUT4 の活性化シグナルや低酸素状態での活性化を示した報告はほとんどない。

そこで本論文は、ショック時、飢餓状態あるいは糖尿病などの病態における

組織機能の基礎的知見を得ることを目的として、**phasic** 筋である虹彩括約筋および回腸平滑筋の高濃度  $K^+$ 収縮に対する **phloridzin** による収縮抑制とグルコース取込みの関係について調べ、さらに、**tonic** 筋である大動脈平滑筋においてインスリン、高濃度  $K^+$ 収縮および好氣的代謝抑制による GLUT4 の活性化シグナルについて検討した。

### **Phasic 平滑筋の高濃度 $K^+$ 誘発性収縮とグルコース取込みの関連性**

本研究において、好氣的代謝の抑制は平滑筋の高濃度  $K^+$ 誘発性収縮を抑制した。その抑制は、**phasic** 筋であるブタ虹彩括約筋およびラット回腸平滑筋で顕著であり、**tonic** 筋であるラット大動脈平滑筋ではわずかであった。同様に、SGLT 阻害薬である **phloridzin** は、虹彩括約筋およびラット回腸平滑筋の高濃度  $K^+$ 誘発性収縮を顕著に抑制したが、大動脈平滑筋に対する影響は小さかった。また、ラット回腸平滑筋には SGLT1 mRNA の発現が多く、SGLT2 mRNA 発現量は少なかった。一方、大動脈平滑筋の SGLT mRNA 発現量は低かった。さらに、ラット回腸平滑筋における高濃度  $K^+$ 適用は、グルコース取込みを有意に増加させた。それに加えて、**phloridzin** 追加適用は、解糖系の活性化を伴って高濃度  $K^+$ 誘発性グルコース取込みの増加を抑制した。これらの結果は、**phasic** 筋であるラット回腸平滑筋の高濃度  $K^+$ 誘発性収縮は好氣的代謝への依存度が高

く、収縮反応の維持に SGLT1 を介したグルコース取込みの関与が大きいことを示唆する。

### **Tonic 平滑筋の高濃度 K<sup>+</sup>誘発性収縮とグルコース取込みの関連性**

GLUT4 は骨格筋および脂肪細胞に多いが、血管平滑筋にも存在する。本研究はラット大動脈平滑筋において GLUT4 mRNA の発現を示した。さらに、血管平滑筋におけるインスリン適用は、グルコース取込みを増加および GLUT4 の細胞膜上へのトランスロケーションを惹起した。その増加は、PI3K および Akt 阻害薬により抑制されたが、AMPK 阻害薬では抑制されなかった。この結果より、骨格筋と同様に大動脈平滑筋は、PI3K/Akt 経路を介して GLUT4 を活性化することが示唆された。しかしながら、大動脈平滑筋に対する高濃度 K<sup>+</sup>適用は、グルコース取込みに影響しなかった。これは、骨格筋と異なり大動脈平滑筋収縮は、外因性のエネルギー基質ではなくグリコーゲンなどの内因性のエネルギー基質の関与が大きい可能性が示唆された。大動脈平滑筋の高濃度 K<sup>+</sup>および NaCN 同時適用による低酸素状態は、グルコース取込みおよび細胞膜上への GLUT4 トランスロケーションを増加させた。高濃度 K<sup>+</sup>および NaCN 同時適用によるグルコース取込みの増加は、AMPK 阻害薬によってのみ抑制されたが、GLUT4 トランスロケーションは PI3K/Akt 阻害薬および AMPK 阻害薬により

抑制された。これらの結果より、大動脈平滑筋の収縮反応には GLUT4 以外の AMPK 依存性グルコース輸送体の関与が示唆された。しかしながら、その輸送体を明らかにするためには、さらなる研究が必要である。以上より、tonic 筋であるラット大動脈平滑筋は、骨格筋と同様に、インスリン依存性および非依存性の GLUT4 活性化経路が存在することが示唆された。一方、大動脈平滑筋における高濃度  $K^+$  誘発性収縮は、内因性のエネルギー基質に依存するが、好氣的代謝抑制は複数のグルコース輸送体を活性化することが示唆された。特に GLUT4 トランスポーターは、強い AMPK 刺激により活性化されることが示唆された。本研究により、大動脈平滑筋の高濃度  $K^+$  誘発性収縮および好氣的代謝抑制における GLUT4 関連シグナルおよびグルコース取込み機構について初めて明らかにした。

## まとめ

以上のことから、phasic 筋である虹彩括約筋および回腸平滑筋の高濃度  $K^+$  誘発性収縮は好氣的代謝に依存性が高く、また収縮時に SGLT1 を介したグルコース取込みが活性化されることが示唆された。

一方、tonic 筋である大動脈平滑筋では、骨格筋や脂肪細胞と同様にインスリンに感受性である GLUT4 を介したグルコース取込み機構の存在が示された。

しかしながら、骨格筋と異なり GLUT4 は大動脈平滑筋において収縮によって活性化されなかった。さらに、大動脈平滑筋において、シアン化合物による好氣的代謝の抑制は高濃度  $K^+$ 誘発性収縮をわずかに抑制し、GLUT4 を介したグルコース取込みを活性化したことから、大動脈平滑筋では、低酸素状態は骨格筋と同様に GLUT4 を介したグルコース取込みを活性化することが示唆された。また、平滑筋収縮におけるグルコース取込み機構には、臓器差があることがはじめて示された。これらの知見は、ショック時や飢餓状態における内臓機能の病態の解明に寄与する可能性が考えられた。