

氏名	かじ かわ まり こ 梶 川 麻 里 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2318 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	An insulinotropic effect of vitamin D analog with increasing intracellular Ca^{2+} concentration in pancreatic β -cells through nongenomic signal transduction (膵 β 細胞におけるビタミンD類似化合物の遺伝子非制御下細胞内情報伝達を介する細胞内カルシウム濃度の上昇を伴うインスリン分泌増強効果)
論文調査委員	(主 査) 教 授 井 上 一 知 教 授 野 間 昭 典 教 授 清 野 裕

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】ビタミンDは脂溶性ビタミンの一種で、カルシウムホメオスターシスを調節するホルモンである。核レセプター(nVDR)を介した遺伝子賦活を伴う遺伝子制御下に発現する作用と(genomic action), 細胞膜上のレセプター(mVDR)を介し、遺伝子の賦活を伴わない非遺伝子制御下の作用(non-genomic action)が存在する。ビタミンDはnon-genomic作用を介してRat insulinoma cell line (RIN)を含め種々の細胞内への Ca^{2+} 流入を短時間で増加させることが報告されている。細胞内への Ca^{2+} の流入は膵 β 細胞からのインスリン分泌を惹起する重要なシグナルであることから、膵 β 細胞に対するビタミンDのnon-genomic作用について明らかにするため、 $1\alpha,25(OH)_2$ Vitamin D_3 analogで、mVDRにのみ結合しビタミンDのnon-genomic作用のみを誘導する $1\alpha,25(OH)_2$ lumisterol₃ (アナログコードJN)を用いて正常膵ラ氏島におけるブドウ糖によるインスリン分泌に対する影響とその機序について検討した。

【方法】ラットより膵ラ氏島を単離後、static incubation法及びperfusion法にて分泌されたインスリンを測定した。electrical permeabilizationによって細胞に微少な穴をあけた膵ラ氏島(permeabilized islets)を用いて細胞内 Ca^{2+} 濃度、細胞内ATP濃度を固定した条件下でのインスリン分泌を測定した。単離した膵ラ氏島を単一細胞とした後、蛍光 Ca^{2+} 指示薬であるfura2-AMを負荷し、顕微鏡的分光光度計で細胞内 Ca^{2+} 濃度($[Ca^{2+}]_i$)を測定した。

【結果】JNは16.7mMブドウ糖によるインスリン分泌を濃度依存的に増強したが、3.3mMブドウ糖によるインスリン分泌には影響を与えなかった。JNは16.7mMブドウ糖による2相性インスリン分泌の第2相のみを有意に増強し、この増強効果は30分間のJNの除去によって消失した。JNは200 μ Mジアゾキサイド(Dz), 30mMK⁺存在下(ATP依存性K⁺チャネルを介さず脱分極している条件下)で16.7mMブドウ糖によるインスリン分泌は増強したが3.3mMブドウ糖によるインスリン分泌は増強しなかった。JNは16.7mMブドウ糖, 30mMK⁺, 200 μ MDz存在下での $[Ca^{2+}]_i$ を有意に増強したが3.3mMブドウ糖, 30mMK⁺, 200 μ MDz存在下での $[Ca^{2+}]_i$ には影響を与えなかった。以上のJNによるインスリン分泌, $[Ca^{2+}]_i$ 増強効果はnon-genomic作用の特異的拮抗物質である $1\beta,25(OH)_2$ Vitamin D_3 及び電位依存性 Ca^{2+} チャネル(VDCC) blockerであるnitrendipineによって消失した。30nM, 300nM Ca^{2+} 存在下でのpermeabilized isletsからのインスリン分泌はJNによって増強されなかった。

【結論】ビタミンDのnon-genomic作用を介したインスリン分泌に対する増強効果の存在が示された。JNのインスリン分泌増強効果は高濃度ブドウ糖存在下で認められ、ATP依存性K⁺チャネル非依存性インスリン分泌に対しても認められた。その機序は、 Ca^{2+} 感受性の増強によるのではなく、ブドウ糖代謝と関連したVDCCからの Ca^{2+} 流入の増加によることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

膵β細胞に対するビタミンDの遺伝子の賦活を伴わない非遺伝子制御下の作用 (non-genomic action) について明らかにするため、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{vitamin D}_3$ 誘導体で、細胞膜上のレセプターにのみ結合し、ビタミンDの非遺伝子制御下の作用のみを誘導する $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{lumisterol}_3$ (アナログコード JN) を用いて正常膵ラ氏島におけるブドウ糖によるインスリン分泌に対する影響とその機序について検討を行った。その結果ビタミンDの非遺伝子制御下の作用を介したインスリン分泌に対する増強効果が認められた。JNのインスリン分泌増強効果は高濃度ブドウ糖によるものだけでなく、ATP感受性 K^+ チャネル非依存性のインスリン分泌も増強した。その機序は、インスリン分泌の開口放出機構の Ca^{2+} 感受性の増強によるのではなく、ブドウ糖代謝と関連した VDCC からの Ca^{2+} 流入の増加によることが示された。

以上の研究は、インスリン分泌機構の解明に貢献し、糖尿病学の発展に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成13年1月30日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。